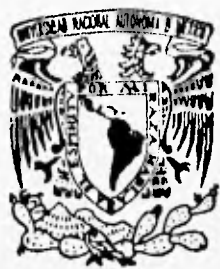


10
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE LOS
CONSTITUYENTES QUIMICOS MAYORITARIOS
PRESENTES EN LAS SEMILLAS DE CIERTAS
PLANTAS ARVENSES.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

Q U I M I C A

P R E S E N T A

MARIA DEL CARMEN / CRUZ LOPEZ



MEXICO, D. F.

1998

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

Presidente	Prof : Yolanda Caballero Arroyo
Vocal	Prof : Maria Isabel Aguilar Laurents
Secretario	Prof : Eduardo Guillermo Delgado Lamas
1er Suplente	Prof.: Ernestina Cervera Flores
2do Suplente	Prof : Jose Manuel Mendez Stivalet

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA :

INSTITUTO DE QUIMICA

ASESOR :

Dr. Eduardo Guillermo Delgado Lamas



SUSTENTANTE :

Maria del Carmen Cruz López



Esta tesis fué desarrollada en el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del Dr. Guillermo Delgado Lamas, como parte del proyecto de investigación : "El Perfil de Metabolitos Secundarios de Malezas y su Relación a la Longevidad en el Suelo (Proyecto IN205892)", Financiado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la propia universidad.

DEDICATORIA

*A mi madre, A mis abuelos, A mis
hermanos, A mis tíos.*

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Guillermo Delgado, por su valiosa asesoría en la elaboración de éste trabajo y por el apoyo e interés en la superación de sus alumnos.

Al Dr. Francisco Javier Espinosa García, del Centro de Ecología de la UNAM, quien proporcionó el material vegetal y por su corresponsabilidad en el proyecto de investigación.

A Yolanda Ríos por su ayuda y comprensión.

A Isabel Aguilar Laurents por brindarme su apoyo.

A los M. en C. María Isabel Chávez Uribe por la obtención de los espectros de resonancia magnética nuclear, Luis Velasco y Javier Pérez Flores, por el registro de los espectros de masas, y Rocío Patiño por la obtención de los espectros de infrarojo.

A mis compañeros y amigos de los laboratorios 1 y 2-7 del Instituto de Química.

Al personal de la biblioteca Jesús Romo Armería.

A mis compañeros de generación.

Al Instituto de Química.

CONTENIDO

1. Introducción.	1
2. Objetivo	3
3. Antecedentes.	4
4. Discusión de Resultados	
1. Del Estudio de los Extractos de :	
a. <i>Malva parviflora</i>	13
b. <i>Salvia tiliaefolia</i>	20
c. <i>Chenopodium murale</i>	22
d. <i>Eleusine multiflora.</i>	24
2. Del Estudio del Residuo de Hidrólisis.	
a. <i>Malva parviflora</i>	25
b. <i>Salvia tiliaefolia</i>	28
c. <i>Chenopodium murale</i>	28
d. <i>Eleusine multiflora.</i>	30
5. Desarrollo Experimental.	31
1. Extracción de las semillas.	
a. <i>Malva parviflora</i>	35
b. <i>Salvia tiliaefolia</i>	42
c. <i>Chenopodium murale</i>	45
d. <i>Eleusine multiflora.</i>	48

2. Hidrólisis de las semillas.	
a. <i>Malva parviflora</i>	50
b. <i>Salvia tiliaefolia</i>	51
c. <i>Chenopodium murale</i>	52
d. <i>Elysiine multiflora</i>	53
6. Resumen y Conclusiones.	54
7. Espectros.	
Espectro 1. IR (CHCl ₃). Triacilglicerol 21.	57
Espectro 2. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz). Triacilglicerol 21.	58
Espectro 3. IR (CHCl ₃). Triacilglicerol 22.	59
Espectro 4. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz). Triacilglicerol 22.	60
Espectro 5. IR (CHCl ₃). β-sitosterol 23.	61
Espectro 6. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) β-sitosterol 23.	62
Espectro 7. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) ácido tetradecanoico (máristico) 24.	63
Espectro 8. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 Mhz) ácido <i>cis,cis</i> , 9-12 octadecadienoico 25. (ácido linoleico)	64
Espectro 9. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) octaacetil β-D-fructopiranosido de α-D-glucopiranososa 26.	65
Espectro 10 COSY (300 MHz) de octaacetil β-D-fructopiranosido de α-D-glucopiranososa 26.	66
Espectro 11. IR (CHCl ₃) de Trisacárido de β-D-glucopiranososa.	67
Espectro 12. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del trisacárido de β-D-glucopiranososa.	68
Espectro 13. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del triacilglicerol 27.	69
Espectro 14. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del ácido oleico 28 (<i>cis</i> ,9 octadecenoico).	70
Espectro 15. RMN ¹ H (D ₂ O, 200 MHz) de β-D-glucopiranososa 29.	71
Espectro 16. IR (CHCl ₃) del hentriacontano 30.	72
Espectro 17. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del hentriacontano 30.	73
Espectro 18. IR (CHCl ₃) del hentriacontanol 31.	74
Espectro 19. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del hentriacontanol 31.	75

Espectro 21. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del 3-hidroxi-4-metoxi cinamato- de metilo 33 .	77
Espectro 22. IR (CHCl ₃) del <i>p</i> -hidroxi cinamato de metilo 34 .	78
Espectro 23. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del <i>p</i> -hidroxi cinamato de metilo 34 .	79
Espectro 24. IR (CHCl ₃) del 3,4-dimetoxi cinamato de metilo 35 .	80
Espectro 25. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del 3,4-dimetoxi cinamato de metilo 35 .	81
Espectro 26. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del 4-hidroxi-3-metoxi cinamato de metilo 36 .	82
Espectro 27. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del <i>p</i> -metoxi benzoato de metilo 37 .	83
Espectro 28. IR (CHCl ₃) del éster de ácido graso oxigenado 38 .	84
Espectro 29. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del éster de ácido graso oxigenado 38 .	85
8. Bibliografía	86

1. INTRODUCCION

Nuestro país posee una de las diversidades biológicas más abundantes del mundo y solo recientemente se ha ponderado el potencial que ésta representa. En particular, la vegetación representa un recurso natural que debe ser aprovechado de manera racional y sostenible preservando el equilibrio ecológico. Generalmente las especies vegetales que presentan alguna utilidad medicinal o económica, despiertan interés y son estudiadas. Pero la biodiversidad mexicana no se constituye sólo por este tipo de plantas, existe además un conjunto de vegetales que crecen en terrenos baldíos, orillas de carreteras, o invaden cultivos de interés que representan un problema ecológico y económico. A este tipo de plantas se les denomina malezas, malas hierbas o plantas arvenses.

Puede decirse que desde los inicios de la agricultura se ha tratado de disminuir o eliminar los efectos negativos causados por este tipo de plantas llegando con ello a integrar una ciencia de las malezas. A pesar de ello, los conocimientos fitoquímicos en torno a algunas especies consideradas como tal es mínimo. Como en el caso de las malezas mexicanas: malva (*Malva parviflora*), chícharo (*Salvia tilliaefolia*), pata de ganso (*Eleusine multiflora*) y chual (*Chenopodium murale*), especies muy comunes y abundantes.

El problema que representan las malezas se asocia con las características particulares mostradas por las mismas como son: a) adaptabilidad a condiciones climáticas adversas, b) resistencia a depredadores como insectos, microorganismos, roedores y c) fácil reproducibilidad.

La resistencia de las plantas arvenses a insectos y microorganismos parece ser la razón de su longevidad en el suelo y por ende, de su reproducibilidad, pero ¿qué las hace tan resistentes?. Se sabe que las interacciones entre las plantas y su entorno, están determinadas por factores físicos y químicos. Estos últimos son los procesos metabólicos mediante los cuales se sintetizan diferentes compuestos que cumplen con una función. Aunque cabe mencionar que en algunas ocasiones la función de ciertos compuestos dentro del vegetal no está completamente establecida.

De ahí que el conocimiento del contenido metabólico de las malezas resulte necesario para establecer si existe una relación entre éste y las propiedades que presentan y tratar de estimar si los factores químicos predominan sobre los factores físicos.

Por esta razón la determinación estructural de los metabolitos presentes en las plantas arvenses puede hacer posible el establecimiento de algún método de control de éstas o generar información sobre una posible utilidad de las mismas. Debido a ello en el presente trabajo se realizará el estudio químico de las semillas de las siguientes malezas: *Malva parviflora* (Malvaceae), *Chenopodium murale* (Chenopodiaceae), *Salvia tiliaefolia* (Labiatae) y *Eleusine multiflora* (Gramineae)

Las semillas de estas especies no han sido estudiadas previamente desde el punto de vista químico, de manera que la presente investigación contribuirá al conocimiento de la flora mexicana.

2. OBJETIVO

El objetivo general de ésta investigación es establecer y comparar la composición química de las semillas de ciertas plantas arvenses (*Malva parviflora*, *Salvia tiliaefolia*, *Chenopodium murale* y *Eleusine multiflora*), pertenecientes a diferentes familias vegetales, y correlacionar su composición con la longevidad de las mismas. Para alcanzar este objetivo resultan necesarios los siguientes objetivos particulares:

1. Recopilación de la información referente a las plantas seleccionadas.
2. Extracción del material vegetal con disolventes orgánicos.
3. Aislamiento de sustancias puras mediante diversos procedimientos químicos y técnicas cromatográficas.
4. Elucidación de la estructura molecular de los compuestos aislados mediante métodos espectroscópicos o químicos.
5. Integración y comparación de los resultados obtenidos.

La hipótesis de que la composición química de las semillas de las plantas arvenses está estrechamente relacionada con la permanencia en el suelo y la resistencia de las mismas al ataque de insectos y microorganismos fué planteada por investigadores del Centro de Ecología e Instituto de Química de esta Universidad.¹ Se postula que la variabilidad y abundancia de componentes químicos en las especies son responsables de las características tan especiales que presentan las malezas.

3. ANTECEDENTES

Las malas hierbas también llamadas malezas o plantas arvenses, constituyen un subconjunto del reino vegetal que por razones prácticas y económicas ha pasado a un primer plano en los últimos años. El estudio de este tipo de vegetales avanza continuamente, sin embargo al ser las malezas miembros de diversas familias resulta difícil analizarlas en detalle. Tal vez éste sea el motivo por el cual la información sobre algunas especies vegetales consideradas como tales, sea mínima, de difícil acceso o bien no existe. Entre las familias a las que pertenecen las plantas arvenses se encuentran: Amarantaceae, Ambrosiaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Compositae, Labiatae, Malvaceae, Papaveracea, Rubiaceae y Gramineae.

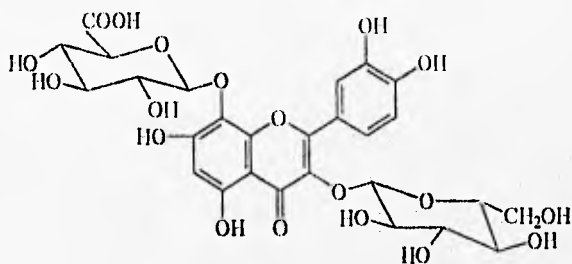
Las especies *Malva parviflora* (Malvaceae), *Salvia tiliaefolia* (Labiatae), *Chenopodium murale* (Chenopodiaceae) y *Eleusine multiflora* (Gramineae) son plantas consideradas como malezas y se encuentran ampliamente distribuidas en México.

Composición Química de los Géneros *Chenopodium*, *Malva*, *Salvia* y *Eleusine*.

Malva

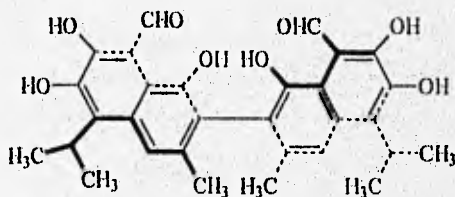
A este género pertenece la especie *Malva parviflora* conocida como malva de castilla, malva común, quesillo. Esta especie es una maleza bianual que invade los cultivos de maíz, nopal, ajo, frijol, vid, soya, girasol, cebada y frutales entre otros.² Como parte de este trabajo se analizarán sus semillas.

El género *Malva* pertenece a la familia Malvaceae del orden Malvales. Dentro de esta familia se encuentran algunas especies que son utilizadas en la medicina tradicional de diversos países, por ejemplo, *Malva silvestris* es usada en Europa para el tratamiento de la tos y padecimientos causados por la inflamación de las membranas mucosas. De esta especie en particular se han aislado flavonoides y derivados que presentan actividad farmacológica como el 3-O-β-D glucopiranosil-8-O-β-D-glucurónido de gossipetina (I).³



1

Uno de los metabolitos secundarios presentes en especies de malváceas, ampliamente estudiado es el gossipol (2), un anticonceptivo masculino, que fué aislado por primera vez de las semillas de algodón (*Gossypium* sp)⁴ y posteriormente se encontró en géneros relacionados como *Cienfuegosia*,⁵ *Hampea*,⁵ *Kokia*, *Montezuma*⁶ y *Thespesia*. Se han realizado investigaciones para determinar la presencia de éste compuesto en diversos géneros de la familia Malvaceae, encontrándose que muy pocas especies lo sintetizan. En el caso de las semillas de *Malva parviflora* los resultados fueron negativos.⁷



2

Sobre éste mismo género se informa el aislamiento de antocianinas^{8,9} y flavonoides¹⁰ de las partes aéreas (hojas, tallos y flores) de algunas especies.

Acerca de la composición química de las semillas de especies de *Malva* únicamente existe como referencia la investigación realizada por Tomoda y su grupo de investigadores sobre el aislamiento de glucanos y polisacáridos de las semillas de *Malva verticillata*. Este tipo de sustancias son ampliamente utilizadas como diuréticos, laxantes o galactopoyéticos dentro de la medicina tradicional china.¹¹

Chenopodium murale

Pertenece a la familia Chenopodiaceae, una de las más desarrolladas del orden Caryophyllal. Es una dicotiledónea conocida como quelite de perro, clnal, lediondilla, es una maleza muy común en los cultivos de maíz, tomate, garbanzo, trigo, alfalfa, frijol, cebada, avena, caña, algodón, soya, cebada y sorgo.⁷ Presenta flores hermafroditas sin brácteas, de color verdoso o rojizo agrupadas en glomérulos axilares o terminales. Germina en primavera y florece en verano.¹²

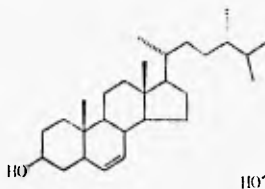
El género *Chenopodium* se constituye por más de 120 especies. Algunas de ellas han sido estudiadas fitoquímicamente. Los informes encontrados describen el estudio de aceites esenciales, haciendo énfasis en la determinación del contenido de ascaridol (que es una sustancia considerada como antihelmíntico), el contenido de flavonoides y saponinas, aislamiento de betacianinas, ecdisteroides, glicósidos y diterpenos.¹³ En la tabla I se muestra el perfil químico de algunas especies.

Tabla I. Compuestos Presentes en Algunas Especies de *Chenopodium*.¹⁴

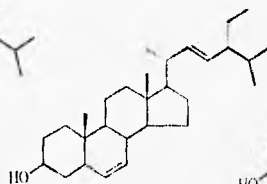
Tipo de Compuesto	No de Fórmula	Especie	Parte estudiada
saponinas	3	<i>Ch. quinoa</i> , <i>Ch. album</i> .	semillas
esteroles	4, 5, 6	<i>Ch. album</i> , <i>Ch. quinoa</i> , <i>Ch. murale</i> ,	---
ecdisteroide	7	<i>Ch. album</i>	semillas
flavonoide	8	<i>Ch. murale</i>	hojas
flavona	9, 10, 11	<i>Ch. botrys</i>	---
flavona	12, 13, 14	<i>Ch. graveolens</i>	---
alcaloide	15	<i>Ch. botrys</i>	---

En una investigación previa en nuestro laboratorio se aislaron como constituyentes químicos de las hojas y tallos de *Ch. nuttalliae* acil glicosil esteroides, alcoholes lineales, hidrocarburos y ésteres de ácidos grasos.¹⁵

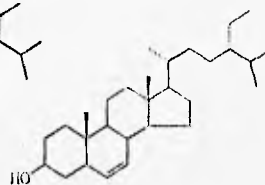
Chenopodium murale ha sido poco estudiado y la información sobre su composición química es mínima.



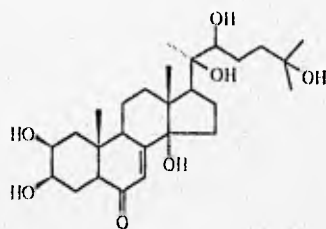
4 campesterol



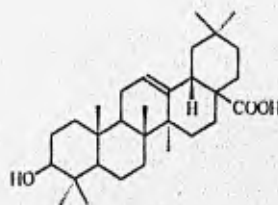
5 estigmasterol



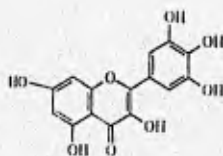
6 β-sitosterol



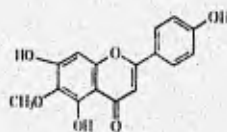
7



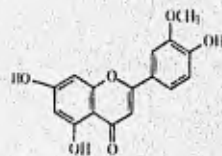
3 ácido oleanólico



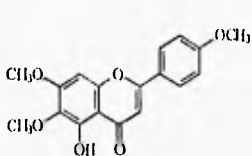
8 mircetina



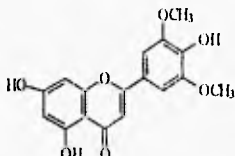
9 hispidulina



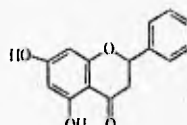
11 crisoeriol



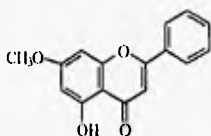
10 salvigenina



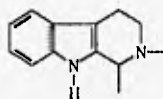
12 tricina



13 pinocembrina



14 pinostrobina



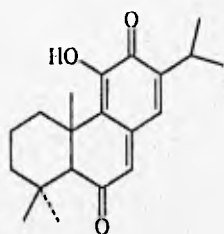
15 Chenopodina

Salvia.

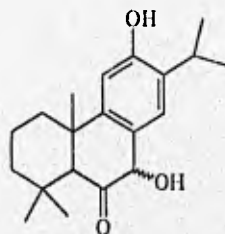
Este género pertenece a la familia de las labiadas. Generalmente las especies de *Salvia* presentan flores azules, violáceas, amarillas o blancas; ordinariamente grandes, que forman largos racimos terminales; caliz tubular o campaniforme, bilabiado, desnudo en el cuello, con el labio superior tridentado y en el inferior bifido; corola bilabiada. Semillas de tamaño comprendido entre 1.8 y 2.0 cm.¹² *Salvia tiliaefolia* se conoce comúnmente como chía. Es una maleza anual que se localiza principalmente en los cultivos de maíz y manzano.²

El género *Salvia* es uno de los más diversos y abundantes de México y también uno de los más ampliamente estudiados,¹⁹ ya que varias especies de salvias han sido utilizadas desde tiempos remotos como auxiliares en el tratamiento de diversas enfermedades debido a sus propiedades bactericidas y antitumorales. La información acerca de la composición química de este género es abundante y en nuestro país ha sido generada principalmente por el grupo de investigación de Rodríguez-Hahn.¹⁹

Dentro de este género se han aislado mono, di- y triterpenos siendo estos últimos los más frecuentes. Ejemplo de ello son la taxodiona (16) obtenida de las hojas de *S. phlomoides* que presenta, actividad citotóxica.¹⁶ La trilobinona (17) se aisló de las raíces de *S. triloba*.¹⁷ De igual manera se han aislado flavonoides como la tricina (12).

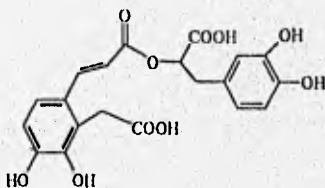


taxodiona 16



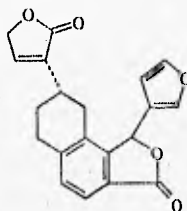
trilobinona 17

Otros metabolitos presentes en especies de salvias son el ácido salvianólico D (18) aislado de las raíces de *Salvia miltiorrhiza*.¹⁸



18

Sobre *Salvia tiliaefolia* se informa el aislamiento de diterpenoides de tipo clerodano (tilifodiólida 19) de las partes aéreas.¹⁹



19

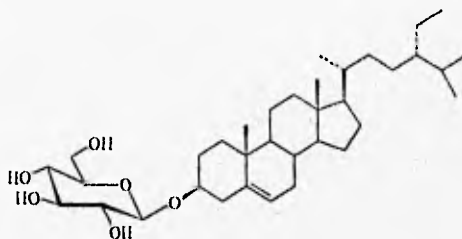
Además se informa la presencia de taninos y procianidinas en algunas especies de salvia y actualmente se realizan investigaciones con el fin de establecer el papel de dichos compuestos en el uso terapéutico de las mismas.²⁰

Eleusine multiflora.

Esta especie, conocida vulgarmente como pata de ganso pertenece a la familia de las gramíneas. Habita en campos de cultivo, bosques de encinos y pinos y en áreas de pastoreo. En México está ampliamente distribuida. Presenta culmos densamente amacollados de 10 a 30 cm de alto, delgados, estriados. Espigas 2-4 de 1-3 cm de largo por 1 cm de ancho, cortas y sésiles. Semilla comprimida lateralmente, profundamente sulcada.²¹

Sobre el género *Eleusine* existen pocos estudios acerca de su constitución química. La mayoría de las investigaciones realizadas sobre este conjunto de vegetales trata sobre la aplicación de nuevos herbicidas para su control.²²

Phuong y colaboradores²¹ informan el aislamiento de 3-O-β-D-glucopiranosil de β-sitosterilo (**20**) de las partes aéreas de *Eleusine indica*, una planta medicinal ampliamente utilizada como diurético y antipirético en Vietnam.



20

Es notable que las semillas son generalmente poco estudiadas, con excepción de algunas que son comestibles (maíz, amaranto, chía), las que son evaluadas con el fin de establecer su valor nutricional,^{24,25} o bien para determinar la presencia de constituyentes que resulten tóxicos para el hombre. Adicionalmente, resulta difícil la colección de las semillas, ya que sólo existen en un periodo de tiempo definido, y la biomasa que representan con respecto al vegetal es mínima.

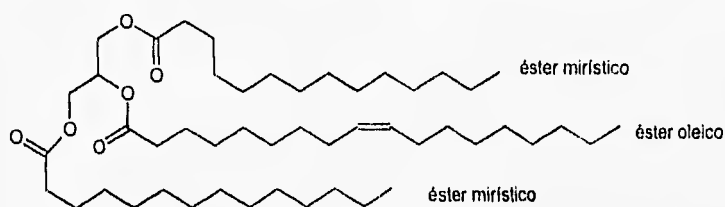
En consecuencia, resulta explicable que las semillas de plantas arvenses sean aún menos estudiadas.

4. DISCUSION DE RESULTADOS

4.1 a. Elucidación Estructural de los Constituyentes de las Semillas de *Malva parviflora*.

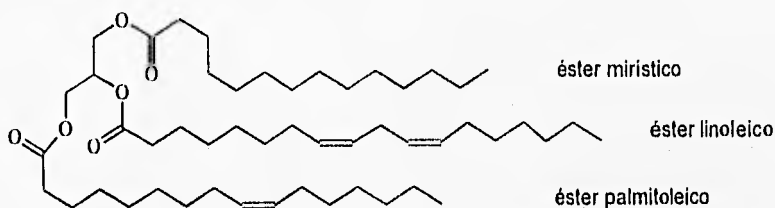
La discusión referente a la determinación de la estructura molecular de los compuestos aislados, se realizará en el orden de polaridad con que fueron obtenidos.

El compuesto de más baja polaridad es un aceite de color amarillo, que constituye aproximadamente el 90% del extracto hexánico, alrededor del 50% del extracto de acetato de etilo y cerca del 20% del extracto metanólico. El espectro de IR (CHCl_3 , espectro 1) muestra señales características de vibraciones C-H saturado en 2929 y 2856 cm^{-1} , una señal en 1736 cm^{-1} que junto con las señales de 1378 y 1166 cm^{-1} indican la presencia de un grupo $-\text{OCOCH}_2$. También se observan bandas en 1600 y 1415 cm^{-1} de baja intensidad que corresponden a un doble enlace disustituido con configuración *cis*. En 1465 cm^{-1} aparece una señal de mediana intensidad que sugiere la presencia de metilenos en una cadena. Consecuentemente, se tiene como hipótesis estructural un éster de ácido graso insaturado. La hipótesis anterior se confirma con las señales atribuibles a hidrógenos de metilo observadas en el espectro de RMN^1H (espectro 2): δ 0.88 (t, $J= 7.5$). La señal simple en δ 1.25 confirma la existencia de hidrógenos de metilenos en una cadena alquílica, cuyo valor del área bajo la curva de esta señal sugiere que probablemente sean tres cadenas con una longitud promedio de 16 carbonos. Asimismo, las señales de δ 2.31 (t, $J= 7.5$ Hz) que corresponden a protones vecinos a carbonilo, junto con el par de doble de dobles centrados en δ 4.14 y 4.29, atribuibles a hidrógenos geminales a oxígeno, llevan a la conclusión de que presumiblemente éste compuesto es un éster del glicerol derivado de los ácidos mirístico y oleico (21). La presencia del doble enlace también es observable (señal múltiple en δ 5.34 asignada a hidrógenos vinílicos que integra para dos protones).



21

La siguiente sustancia aislada de las semillas también es un aceite de color amarillo, cuyas características espectroscópicas son muy similares al triacilglicerol descrito anteriormente (21). En el espectro de IR (espectro 3), se observan las señales correspondientes a un éster insaturado, es decir, bandas en 2926, 2854, 1746, 1655, 1463, 1415, 1377, 1162 y 721 cm^{-1} . En el espectro de RMN^1H (espectro 4) se aprecian las señales correspondientes a hidrógenos vinílicos (δ 5.34), hidrógenos geminales a oxígeno (δ 4.14-4.30), hidrógenos adyacentes a grupo carbonilo (δ 2.31), hidrógenos de metilos y metilenos (δ 1.25), así como hidrógenos alílicos (δ 2.00) y doblemente alílicos (δ 2.77 triplete $J= 7.5$). La multiplicidad y constantes de acoplamiento de las señales mencionadas son similares a las descritas para la primera sustancia (21). La diferencia entre los espectros 2 y 4, es el valor del área bajo la curva de la señal localizada en δ 5.34, asignada a hidrógenos vinílicos misma que integra para seis hidrógenos, y la presencia del triplete en δ 2.77 asignado a hidrógenos doblemente alílicos, con un valor de área bajo la curva correspondiente a dos núcleos. Con lo anterior se concluye que ésta sustancia es, al igual que 21 un triacilglicerol. A diferencia de aquel, ésta sustancia es un éster derivado de los ácidos mirístico, linoleico y palmitoleico, lo cual explica el número mayor de insaturaciones presentes. Los datos del análisis por espectrometría de masas no se consideran en la elucidación estructural, debido a que la presencia de un número mayor de insaturaciones, ocasiona que el compuesto sea fácilmente oxidable, y los resultados obtenidos no son confiables. Esta discusión permite proponer la estructura 22 para este compuesto.

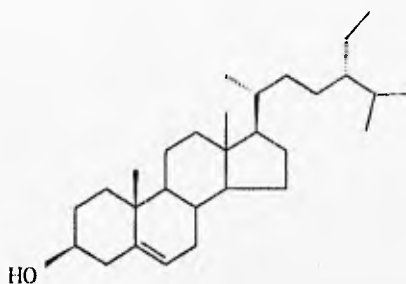


22

Las fracciones subsecuentes obtenidas en el proceso de aislamiento de 21 y 22, estaban constituidas por mezclas de glicéridos, de acuerdo a las características espectroscópicas descritas para estas sustancias. Las variaciones estructurales consisten en:

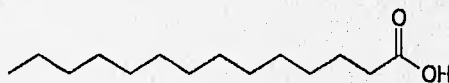
- (a) diferentes grados de insaturación de las cadenas lipídicas
- (b) diferente longitud de los ácidos grasos que esterifican al glicerol
- (c) ubicación relativa de las cadenas lipídicas

De las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo 95:5 se aisló una sustancia que se obtuvo como un sólido amorfo con pf 126-7 °C, que muestra en su espectro de IR (espectro 5) un par de señales en 3612, 3523 cm^{-1} , correspondientes a un alcohol secundario, así como bandas características de vibraciones C-H saturado en 2930 y 2856 cm^{-1} , señales en 3080 y 1411 cm^{-1} , que indican la presencia de un enlace C=C-CH₂, y una señal en 1465 cm^{-1} que sugiere la presencia de metilenos. Por otro lado, en el espectro de RMN¹H (espectro 6) se observa una señal en δ 5.35 (d, J= 5.4 Hz), atribuible a un hidrógeno vinílico. Una señal centrada en δ 3.65 sugiere la presencia de un hidrógeno geminal a oxígeno, y finalmente, un conjunto de señales entre δ 0.65 - 1.0, atribuibles a los hidrógenos de los metilos unidos a carbonos saturados, que son características para compuestos con esqueleto esteroideal llevan a la conclusión de que ésta sustancia es presumiblemente el β -sitosterol (23). La comparación directa con una muestra auténtica, así como el análisis comparativo de los respectivos espectros permiten confirmar la hipótesis estructural.



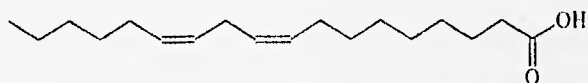
23

De las mismas fracciones se obtuvo como constituyente adicional, un aceite que fué caracterizado como ácido mirístico (24, ácido tetradecanoico), ya que en su espectro de RMN¹H (espectro 7) se aprecian varios conjuntos de señales; uno de ellos es un triplete centrado en δ 2.35 ($J=7.5$ Hz, 2H) que indica la presencia de hidrógenos vecinos a carbonilo. También es observable una señal en δ 1.25, que integra para 22 hidrógenos y se atribuye a hidrógenos de metilenos. El triplete de δ 0.88 corresponde a un grupo metilo terminal. La comparación con una muestra auténtica confirmó la propuesta estructural.



24

En fracciones subsecuentes de la misma columna, se obtuvo como componente principal un líquido denso, que muestra en su espectro de RMN¹H (espectro 8) las siguientes señales: En δ 0.88 se observa un triplete de metilo, en δ 1.25 se manifiesta una señal simple de los hidrógenos de metilenos en una cadena saturada, la cual integra para 18 hidrógenos. En δ 2.31 (t, J=7.2) y δ 2.77 (t, J=5.8, 2H) son apreciables las señales debidas a hidrógenos vecinos a carbonilo y a protones doblemente alílicos, respectivamente. La señal a campo más bajo del espectro es un doblete en δ 5.35, asignada a hidrógenos vinílicos. Esta señal integra para cuatro hidrógenos. Con los datos anteriores es posible establecer que esta sustancia es el ácido linoleico **25** (ácido *cis,cis*-9,12-octadecadienoico).

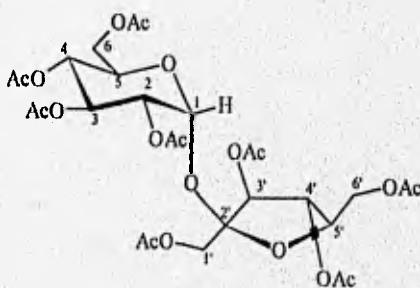


25

El extracto metanólico de *Malva parviflora* fué acetilado con el fin de disminuir la polaridad de los constituyentes presentes en este residuo. El procedimiento de derivatización se describe en la parte experimental. De este residuo metanólico acetilado se obtuvieron tres sustancias. Una de ellas constituye el 50 % del extracto total y fué caracterizada como sacarosa peracetilada (**26**). Esta sustancia presenta las siguientes características espectroscópicas: En el espectro de RMN¹H (espectro 9) se aprecia un conjunto de señales en δ 4.01 a 4.20 que integra para cinco hidrógenos (H-5, H-5', H-6, H-6', H-1). Asimismo se observa una señal con multiplicidad de doble de doble en δ 4.88 (J=3.6, 10.2 Hz), que puede asignarse a H-2; un triplete centrado en δ 5.08 (J=10) que corresponde a H-4.

Además las señales en δ 5.37 (dd, $J=6.6, 10.0$), δ 5.45 (d, $J=6.0$), δ 5.49 (dd, $J=10.0, 10.2$) se atribuyen a H-4', H-3, H-3'. Finalmente en δ 5.69 aparece un doblete característico del hidrógeno del carbono anómérico, que tiene una constante de acoplamiento de 3.6 Hz. Este acoplamiento indica una disposición axial - ecuatorial con H-2.

Con la discusión anterior se puede establecer que dicho compuesto es octaacetilsacarosa (26). Adicionalmente se realizó un experimento de correlación bidimensional homonuclear de hidrógeno (H-H COSY, espectro 10) para este compuesto, observándose la interacción entre la señal del hidrógeno anómérico (δ 5.69), y la señal correspondiente a un hidrógeno en δ 4.88. De igual manera se aprecia la correlación entre H-4' con las ubicadas en δ 5.08 (H-4) y H-3' (δ 5.49). Las observaciones anteriores y la comparación de estos datos con los informados en trabajos previos²⁸ permiten la confirmación de la estructura mencionada.

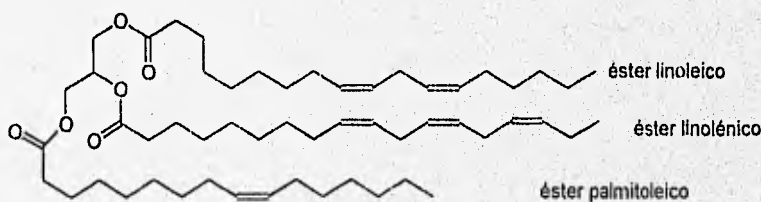


Otro producto de acetilación es un semisólido translúcido que muestra señales en el espectro de IR (espectro 11) en 3025 cm^{-1} que indica la presencia de un metino unido a un oxígeno en un ciclo. La señal en 1150 cm^{-1} confirma la presencia de un eter cíclico. Por otro lado las bandas en 1745 , 1435 y 1379 cm^{-1} sugieren la presencia de grupos acetilo. Asimismo en el espectro de RMN¹H (espectro 12) se manifiesta una señal doble en δ 5.66 que se atribuye a un hidrógeno anómérico. Esta señal integra para dos hidrógenos, lo cual lleva a pensar en la posibilidad de un trisacárido. Además en el espectro son apreciables las señales correspondientes para los hidrógenos de la sacarosa peracetilada entre δ 4.08-5.51. Un grupo de singuletes entre δ 1.93 y 2.18 asignables a hidrógenos de acetato. Con estos datos es posible establecer que presumiblemente se trata de un trisacárido de glucosa. La confirmación de ésta estructura está en proceso.

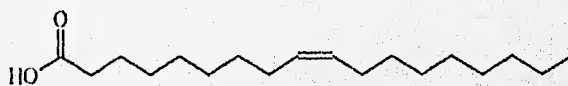
4. 1. b. Elucidación Estructural de los Constituyentes Químicos de las Semillas de *Salvia tiliaefolia*.

Del extracto hexánico de *Salvia tiliaefolia* se aisló el triacilglicerol **22** que también se encuentra presente en el extracto hexánico de *Malva parviflora*, cuya elucidación estructural ya fué discutida.

Además, en este extracto se encuentra un triacilglicerol, el cual de acuerdo a la señal observada en el espectro de RMN¹H (espectro 13) en δ 5.31 (asignada a hidrógenos vinílicos, que integra para doce hidrógenos), posee seis dobles enlaces. Con la señal en δ 2.76 correspondiente a los hidrógenos doblemente alílicos (la cual integra para seis hidrógenos), se deduce que una de las cadenas de este triacilglicerol corresponde al ácido linolénico y las restantes corresponden al ácido linoleico y palmitoleico. Otras señales apreciables en este espectro son las atribuidas a los hidrógenos alfa a carbonilo (δ 2.27, 6 hidrógenos), las debidas a hidrógenos geminales a oxígeno (δ 4.10-4.30) y las correspondientes a la cadena de metilenos y metilos en δ 1.25 y 0.90 respectivamente. Con la discusión anterior se puede considerar la estructura **27** para esta sustancia

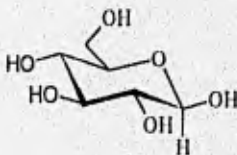


De fracciones subsecuentes se aisló un compuesto de mayor polaridad, el cual muestra en IR las señales correspondientes para un ácido carboxílico en 3371 y 1709 cm^{-1} . De igual manera se observan señales en 2926 y 2854 cm^{-1} que corresponden a enlaces C-H saturado. La señal en 757 cm^{-1} sugiere la presencia de una cadena de metilenos que se confirma por la señal en δ 1.25 del espectro de RMN¹H (espectro 14). En este mismo espectro se observa una señal en: δ 2.35 que corresponde a los hidrógenos alfa a carbonilo y otra en δ 5.35 atribuible a hidrógenos vinílicos, además de un triplete centrado en δ 0.88 que corresponde a un metilo. Estas características indican que la estructura de esta sustancia corresponde al ácido oleico (ácido *cis*,9-octadecenoico 28).



28

Del extracto metanólico de *Salvia tillaefolia* se aisló un compuesto que en su espectro de RMN¹H (espectro 15) presenta una señal doble en δ 5.35 que se atribuye al hidrógeno anomérico (H-1), con constante de acoplamiento que indica una disposición axial. Este acoplamiento y el conjunto de señales entre δ 3.42-4.10 que corresponden a hidrógenos geminales a oxígeno, entre las cuales existen acoplamientos de hidrógenos con disposición axial-axial y axial-ecuatorial llevan a establecer como posible estructura para este compuesto a la β -D-glucopiranososa (29).



29

4. 1. c. Elucidación Estructural de los Metabolitos Presentes en las Semillas de *Chenopodium murale*.

Del residuo orgánico de la extracción de las semillas de *Chenopodium murale* se obtuvieron mediante técnicas cromatográficas diferentes sustancias cuya elucidación estructural se describirá a continuación.

De las fracciones 1-12 de la cromatografía en columna del extracto hexánico se aisló un sólido amorfo con $pf\ 45\ ^\circ C$. El análisis por cromatografía en capa fina de este compuesto reveló que era una sustancia pura. Se obtuvo el espectro de IR (espectro 16) para esta sustancia, el cual muestra señales en $2926, 2854\ cm^{-1}$, características del alargamiento $-C-H$ saturado, una banda en $1467\ cm^{-1}$ correspondiente a la vibración de metilenos, y una señal en $1379\ cm^{-1}$ debida a un grupo metilo. Por otro lado en el espectro de RMN^1H (espectro 17), se observan dos tipos de señales: en $\delta\ 0.88$ aparece un triplete con una constante de acoplamiento de $7.5\ Hz$ que integra para 6 hidrógenos, correspondiente a dos metilos, y en $\delta\ 1.25$ se aprecia un singulete que integra para 58 hidrógenos que constituyen una cadena de metilenos. Del análisis por espectrometría de masas fué posible obtener el peso molecular de esta sustancia el cual resulta ser de 436 y una fórmula mínima de $C_{31}H_{64}$. Con lo anterior se llegó a la conclusión de que esta sustancia tiene una estructura de hidrocarburo saturado que corresponde al hentriacontano (30).



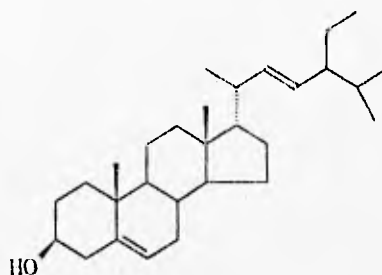
Las fracciones siguientes (14-21) están constituidas de un sólido cuyo *pf* es de 60°C, el cual muestra en el espectro de IR (espectro 18) las señales del hidrocarburo saturado y adicionalmente una banda en 3621 cm^{-1} debida a la presencia de un grupo hidroxilo en la molécula. La presencia de este grupo se confirma por la señal que aparece en δ 3.52 en el espectro de RMN^1H (espectro 19). Esta señal integra para un hidrógeno y presenta una multiplicidad de triplete ($J= 7.5$ Hz), por lo que se infiere la presencia de un alcohol primario. En el mismo espectro son apreciables las señales de los hidrógenos correspondientes al hentriacontano descritas en el párrafo anterior. En consecuencia esta sustancia fué caracterizada como hentriacontanol (31).



31

Adicionalmente se obtuvo un aceite de color amarillo que presenta las características espectroscópicas correspondientes a un triacilglicerol (22), cuya elucidación estructural ya fué discutida en el presente trabajo como constituyente de *Malva parviflora* (vease página 14).

Otra sustancia aislada del extracto hexánico es un sólido con *pf* 142°C para el que se obtuvo el espectro de RMN^1H (espectro 20) en el cual es posible apreciar varios conjuntos de señales. Las señales a campo más alto de δ -0.53 a δ 1.00 (dobletes y tripletes) corresponden al esqueleto de un estero. Además se observa una señal múltiple en δ 3.59 atribuible a un hidrógeno base de oxígeno, que presumiblemente corresponde a un alcohol secundario. Asimismo se aprecia un doble de dobles centrado en δ 5.06 que corresponde a un sistema AB vinílico disustituido con un acoplamiento *cis*. Por otro lado, aparece una señal doble en δ 5.35 que integra para un hidrógeno que sugiere la presencia de un sistema vinílico trisustituido. Con los datos obtenidos de este espectro, y mediante la comparación de los mismos con los obtenidos para una muestra auténtica, fué posible establecer que esta sustancia es el estigmasterol (32).



32

Como constituyente adicional del extracto hexánico de las semillas de *Chenopodium murale* se aisló ácido mirístico 24, cuya discusión estructural fué descrita previamente en este trabajo.

Del extracto metanólico de esta especie se aisló como constituyente principal una sustancia sólida de polaridad alta, la cual fué acetilada. Del producto de acetilación se obtuvo el espectro de RMN¹H, que coincide con el obtenido para la sacarosa peracetilada 26.

4.1.d. Elucidación de los Constituyentes de las Semillas de *Eleusine multiflora*.

Los constituyentes del extracto hexánico de las semillas de *Eleusine multiflora* son : triglicérido 22, β -sitosterol 23, ácido mirístico 24, ácido linoleico 25, hentriacontano 30 y hentriacontanol 31. Estos compuestos también fueron aislados de las diferentes semillas analizadas, por lo que la elucidación estructural correspondiente se discutió en párrafos anteriores.

4. 2. Elucidación Estructural de los Constituyentes Químicos del Residuo de Hidrólisis.

Con el fin de realizar un estudio químico más detallado de las semillas, y suponiendo que el material extraído con disolventes orgánicos aún podría contener material analizable, se decidió hidrolizar las semillas ya extraídas, con el propósito de romper ciertos ésteres poliméricos (presumiblemente taninos) y tratar de aislar y purificar constituyentes manejables de acuerdo a las posibilidades prácticas en el laboratorio.

4. 2. a. *Malva parviflora*.

El residuo de hidrólisis de las semillas de *Malva parviflora*, que fué metilado con diazometano en éter, está constituido principalmente de sustancias lipídicas y tres compuestos que absorben al UV. La elucidación estructural de las mismas se discute a continuación.

El compuesto de menor polaridad muestra en su espectro de RMN ^1H señales múltiples entre δ 6.54 y 5.93 que corresponden a hidrógenos vinílicos, presumiblemente en un doble enlace trisustituido. Se observa otro conjunto de señales entre δ 5.68 y 5.34 con una multiplicidad muy compleja. Este último grupo de señales integra aproximadamente para tres hidrógenos. Entre δ 4.17 y 3.59 se observan aproximadamente ocho hidrógenos geminales a oxígeno. Centrado en δ 2.39 se observa un triplete atribuible a un metilo vecino a carbonilo, y a campo alto (δ 1.31-1.25, 0.86), se manifiestan los hidrógenos de los metilenos y metilos de una cadena hidracarbonada.

La anterior discusión permite deducir la presencia de una cadena con insaturaciones y funciones oxigenadas. Sin embargo, debido a la poca resolución de las señales y a la ausencia de datos adicionales, no es posible establecer una hipótesis estructural concreta.

Otros productos obtenidos en la hidrólisis son dos compuestos de los que se tienen las siguientes observaciones:

Ambas sustancias son ácidos grasos, ya que se observa la banda característica de COOH en 1735 cm^{-1} , una banda ancha de $3500\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$ y otra señal en $2500\text{-}2700\text{ cm}^{-1}$. Asimismo, muestran en su espectro de RMN¹H las señales correspondientes a hidrógenos vinílicos (señal múltiple en δ 5.36), hidrógenos doblemente alílicos (tripleto centrado en δ 2.77), hidrógenos α a carbonilo (señal centrada en δ 2.60), una señal múltiple centrada en δ 1.63, presumiblemente debida a hidrógenos homoalílicos. La señal en δ 1.25 indica la presencia de metilenos y la señal en δ 0.88 corresponde a un metilo. La diferencia entre estas dos sustancias es el área bajo la curva de cada señal, lo cual da evidencia de diferentes proporciones del grado de insaturación de la molécula. La discusión anterior permite establecer que la estructura de éstas sustancias son el ácido mirístico (24) y linoleico (25).

Uno de los compuestos que absorben al UV es un semisólido que presenta señales en su espectro de RMN¹H (espectro 21) correspondientes a un sistema ABC aromático en δ 6.84-7.13, con constantes de acoplamiento *orto* ($J = 8.4$) y *meta* ($J = 2.1$) que sugieren una disposición en el anillo como se muestra en la figura 1. En el mismo espectro son apreciables las señales correspondientes a un sistema vinílico disustituido en δ 6.29 (d, $J = 15.9$), δ 7.60 (d, $J = 15.9$). La magnitud de estas constantes indican una disposición *trans*. Asimismo los desplazamientos de estas señales llevan a la conclusión de que está conjugado con el anillo aromático y un grupo carbonilo. Por otro lado se observan varias señales entre δ 3.72-3.92 que corresponden a hidrógenos geminales a oxígeno. Estas señales tienen la forma característica de metoxilo.

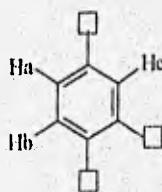
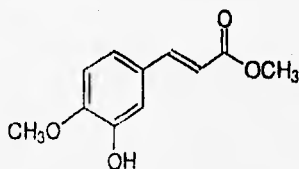


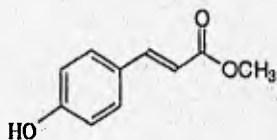
figura 1

El análisis de espectrometría de masas de este compuesto proporciona un peso molecular de 208, que corresponde a un $C_{11}H_{12}O_4$. En este espectro se observan fragmentos en m/z 193 ($M^+ - CH_3$), 177 ($M^+ - OCH_3$, PB), 207 ($M^+ - H$), 105. Esta fragmentación confirma la presencia de un metoxilo y un hidroxilo como sustituyentes del anillo. La discusión anterior hace posible establecer que este compuesto es el 3-hidroxi-4-metoxi cinamato de metilo (33).



33

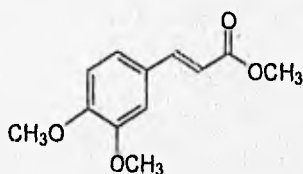
Otra sustancia aislada del residuo de hidrólisis muestra en su espectro de IR (espectro 22) bandas de absorción entre $3000-3100\text{ cm}^{-1}$ debidas a la presencia de enlaces múltiples, las bandas en 1630 y 1606 cm^{-1} sugieren insaturaciones de tipo aromático. Por otro lado, se observan señales de metilo unido a carbonilo en $2950, 2856\text{ cm}^{-1}$. La presencia del carbonilo se confirma por la banda en 1712 cm^{-1} . En el espectro de RMN¹H (espectro 23) se observan, al igual que en el espectro 22, las señales de un doble enlace *trans* disustituído (δ 6.30, 7.65). Otro conjunto de señales dobles en δ 6.85, δ 7.43 con acoplamientos *orto* y *meta*, que integran para cuatro hidrógenos, y la señal fina en δ 3.79 correspondiente a un grupo metoxilo, permiten establecer la estructura 34 (*p*-hidroxi cinamato de metilo) para este compuesto.



34

4.2.b. *Salvia tiliaefolia*.

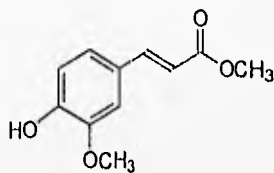
El constituyente principal de este residuo es un sólido para el que se obtuvieron los espectros de IR y RMN¹H. En el primero de ellos (espectro 24) se observan las bandas correspondientes a un éster metílico (2823, 2851, 1735, 1170 cm⁻¹). Además, son apreciables bandas características para compuestos aromáticos entre 1600-1650 cm⁻¹. En el espectro 25 (RMN¹H) se observa al igual que en los compuestos anteriores, las señales atribuidas a un sistema vinílico disustituido con estereoquímica *trans* (δ 6.30, δ 7.66) y las señales de hidrógenos aromáticos (δ 6.83-6.88). La diferencia entre este espectro y los correspondientes para 33 y 34, son las señales que aparecen en δ 3.80 y δ 3.84, que corresponden a los grupos metoxilo unidos al anillo aromático. Se deduce que este compuesto es el 3,4 dimetoxi cinamato de metilo 35.



35

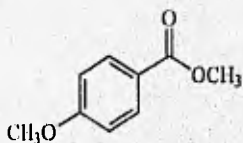
4.2 c *Chenopodium murale*.

En las primeras fracciones de este residuo se obtiene un compuesto sólido de color verde que presenta en su espectro de RMN¹H (espectro 26) una señal en δ 9.86 que se atribuye a un hidrógeno fenólico. Se observan además un sistema ABC aromático entre δ 6.87- δ 7.11 y un sistema AB vinílico en δ 6.31, δ 7.64. Otras señales presentes en el espectro corresponden a dos grupos metoxilo, uno de los cuales (δ 3.80) forma parte de un éster y el otro (δ 3.91) es sustituyente del anillo aromático. Estas características permiten deducir la estructura del ferulato de metilo (4-hidroxi,3-metoxi cinamato de metilo 36).



36

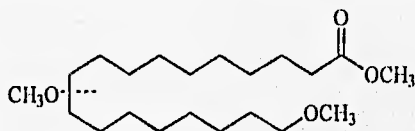
Otro producto de la hidrólisis de las semillas es un compuesto de color naranja, que muestra en su espectro de RMN¹H (espectro 27) un conjunto de señales (δ 6.85, δ 7.95) atribuidas a un sistema aromático A₂B₂ lo cual lleva a suponer una sustitución *para* del anillo. De igual manera son apreciables dos señales en δ 3.80 y δ 3.91 que integran para seis hidrógenos correspondientes a dos metoxilos. Debido a la diferencia de desplazamiento de estas últimas señales, se deduce que este compuesto es *p*-metoxi benzoato de metilo (37).



37

De fracciones subsecuentes se aisló una sustancia de color rojo, para la cual se obtuvieron los datos de IR y RMN¹H. Del espectro de infrarrojo (espectro 28) se tienen las siguientes observaciones: en 3621 y 3573 cm⁻¹ se localizan las señales debidas a OH secundario, en 1731 aparece la señal debida a un carbonilo de éster, y finalmente las bandas de 2933 y 2858 cm⁻¹ indican la presencia de CH saturado. En el espectro de RMN¹H (espectro 29) aparece una señal debida a los hidrógenos de los metilenos de una cadena hidrocarbonada (δ 1.25), una señal atribuible a hidrógenos alfa a carbonilo (δ 2.30) y varias señales de hidrógenos geminales a oxígeno entre δ 3.66-3.92.

Una de estas señales (centrada en δ 3.89) presenta una multiplicidad de quintuplete e integra para un hidrógeno. Con estos datos es posible suponer que se trata del éster metílico de un ácido graso cuya longitud de la cadena puede ser de dieciocho carbonos. Las señales correspondientes a los hidrógenos geminales a oxígeno se atribuyen a un grupo metoxilo sobre la cadena, cuya posición no se ha determinado, y a un metoxilo terminal. Esto último se propone porque en el espectro de resonancia protónica no se observan las señales correspondientes a metilo terminal. Presumiblemente este compuesto tiene una estructura del tipo **38**, aunque está en proceso su completa caracterización.



38

4.2.d. *Eleusine multiflora*.

Del residuo de hidrólisis de ésta especie se obtuvieron triacilgliceroles (**21**, **22**). También se aislaron dos sustancias cuyos espectros de RMN¹H muestran las señales correspondientes a un anillo bencénico trisustituido (δ 6.8-7.65), así como las señales de un sistema AB vinílico (δ 6.30, δ 7.65). La diferencia entre estas sustancias es el número de metoxilos presentes en la molécula, lo cual se manifiesta por el número de señales localizadas en δ 3.60-3.95. En conclusión, después de analizar todas las características espectroscópicas de las sustancias aisladas del residuo de hidrólisis de ésta especie, se determinó que se trata del ferulato de metilo **36** y del 3,4 dimetoxicinamato de metilo **35**, cuyos datos se describieron en la discusión de *Chenopodium murale* y *Malva parviflora* respectivamente.

5. DESARROLLO EXXPERIMENTAL

Materiales y Equipo.

Para la realización de la cromatografía en columna de los diferentes residuos orgánicos, se utilizó gel de sílice como soporte, a menos que se especifique lo contrario. La malla fina se refiere a sílice Merck 60 GF ₂₅₄

Para el análisis por cromatografía en placa fina se utilizaron cromatofolios Alugram Sil G/UV 254, Macherey-Nagel Düren y como reveladores una lámpara de UV Spectroline Modelo ex-20 a 365 y 254 nm de longitud de onda (en el caso de sustancias cromogénicas) y una solución de sulfato cérico amónico al 1% en ácido sulfúrico 2N.

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

Los espectros de RMN¹H se obtuvieron en un espectrómetro analítico Varian XR-300 a 300 MHz, utilizando como disolvente CDCl₃, DMSO y D₂O según el caso, y como referencia interna tetrametilsilano (TMS).

Los espectros de IR se obtuvieron en un espectrómetro Perkin-Elmer 283-B.

Los espectros de masas se obtuvieron en un espectrómetro Hewlett Packard 5985-B, utilizando la técnica de impacto electrónico con un potencial de ionización de 70 eV.

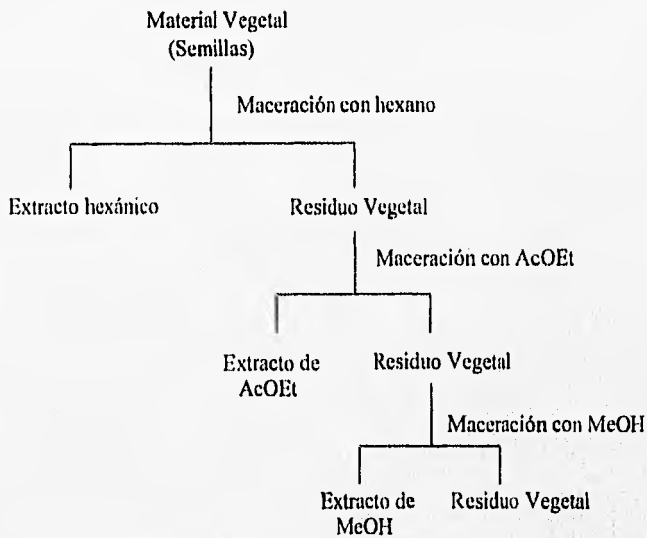
En algunos casos se recurrió a experimentos adicionales para la determinación de la estructura molecular, uno de ellos fué la espectroscopía de correlación homonuclear en dos dimensiones (COSY).

Las partes aéreas de las plantas de *Salvia tiliaefolia*, *Malva parviflora*, *Eleusine multiflora* y *Chenopodium murale* fueron colectadas en el municipio de Texcoco, Estado de México en septiembre de 1992. La colecta e identificación fué realizada por el Dr. Francisco Javier Espinosa García del Centro de Ecología de la UNAM. El material vegetal (aproximadamente 10 Kg de cada planta) se dejó secar a temperatura ambiente en el invernadero del propio Centro de Ecología. Mediante un procesamiento manual, seguido de tamizaciones con diferentes mallas, se obtuvieron las semillas de los vegetales indicados. Las semillas secas fueron trituradas en un molino de mano y extraídas a temperatura ambiente durante 48 hrs por maceración secuencial con hexano, acetato de etilo y metanol, usando aproximadamente 400 ml de cada disolvente, y cuatro extracciones repetitivas de cada uno de ellos. El disolvente se eliminó a presión reducida en el rotavapor. Se utilizó la misma técnica de extracción para cada especie vegetal, y el procedimiento general se muestra en el diagrama 1. Los resultados de este proceso se muestran en la tabla 2

Tabla 2. Rendimiento de la Extracción de Semillas.

Especie	Semillas extraídas (g)	% Extracto hexánico	% Extracto de AcOEt	% Extracto metanólico
<i>Malva parviflora</i>	188.8	8.8	2.1	4.0
<i>Salvia tiliaefolia</i>	114.5	14.0	5.0	5.3
<i>Chenopodium murale</i>	123.4	1.8	0.8	4.2
<i>Eleusine multiflora</i>	123.5	0.7	1.3	1.1

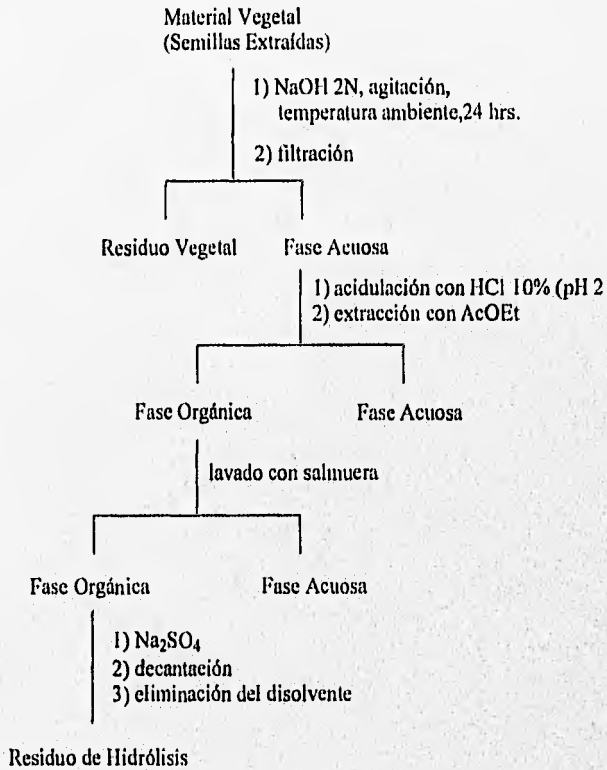
Diagrama 1. Procedimiento General de Extracción de las Semillas



(a) Se realizaron tres extracciones con cada disolvente

El metanol remanente en las semillas de la última extracción se eliminó a temperatura ambiente, y por contacto del material vegetal con el aire. Este material se sometió a una hidrólisis básica. Este proceso consistió en la adición de hidróxido de sodio 2N (aproximadamente 100 ml/g) a las semillas secas, manteniéndolas a temperatura ambiente y con agitación constante durante 24 hrs. Al término de este tiempo se decanta la solución y el sobrenadante fué acidulado con HCl 6N hasta un pH 2. Esta solución ácida fué extraída en varias ocasiones con 400 ml de acetato de etilo. Las fracciones orgánicas se reunieron y mediante lavados con salmuera se les disminuyó la acidez. Finalmente fueron secadas y evaporadas en un rotavapor. Este procedimiento se muestra en el diagrama 2.

Diagrama 2. Procedimiento General de Hidrólisis de las Semillas



Los resultados de la hidrólisis de cada una de las semillas son mostrados en la tabla 3.

Tabla 3. Rendimiento de la hidrólisis de las semillas.

Especie	% de residuo orgánico.
<i>Malva parviflora</i>	0.49
<i>Salvia tiliaefolia</i>	0.88
<i>Chenopodium murale</i>	3.81
<i>Eleusine multiflora</i>	0.42

Los residuos orgánicos obtenidos en la extracción fueron analizados mediante cromatografía en capa fina cualitativa. Con este análisis fué posible establecer que los extractos hexánico y de acetato de etilo obtenidos para cada una de las especies son de composición similar, por lo que sólo se estudió uno de ellos.

Respecto a los residuos de hidrólisis, cabe mencionar que la técnica utilizada está diseñada para la obtención de ácidos fenólicos presentes en el material vegetal. Con base en esto, y debido a que se observa poca resolución de los constituyentes en una cromatoplaaca analítica, los diferentes residuos fueron metilados con diazometano.

Los residuos orgánicos derivados de la extracción y los obtenidos de la metilación del residuo de hidrólisis fueron fraccionados mediante cromatografía en columna y capa fina preparativa. Las condiciones utilizadas para el aislamiento y purificación de las diferentes sustancias presentes en éstos se describen en los párrafos siguientes.

5.1.a ESTUDIO QUIMICO DE LAS SEMILLAS DE *Malva Parviflora*.

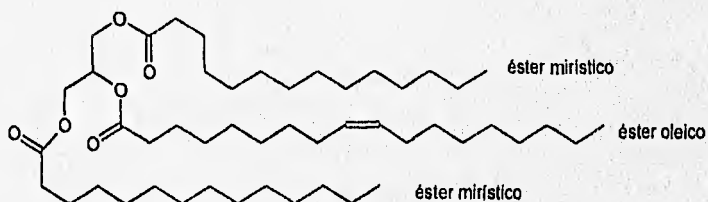
5.1.a.1 Fraccionamiento del Extracto de Acetato de Etilo de *Malva parviflora*.

El extracto de acetato de etilo (4.0 g) se adsorbió en gel de sílice (malla 70-230) en proporción 1:1 y fué aplicado a una columna empacada con sílice (malla fina) en relación 1:5 respecto al extracto. La elución de la columna se realizó a presión reducida siguiendo la técnica informada en la literatura,²⁷ utilizando un gradiente de elución de polaridad creciente de hexano-cloroformo, colectándose fracciones de 100 ml.

De las fracciones 1-11 eluidas con hexano 100% se obtuvo un aceite ligeramente amarillo cromatográficamente homogéneo que fué caracterizado como un triacilglicerol (21), cuyos datos espectroscópicos son:

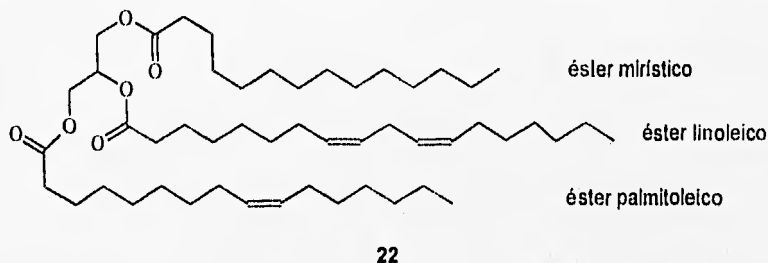
IR ν_{\max} (espectro 1): 3010, 2926, 2854, 1746, 1463, 1162, 721 cm^{-1} .

RMN¹H (300MHz, CDCl₃, espectro 2): δ , asignaciones: 5.34 (m, CH=CH), 4.29 (dd, J=11.7, 3.9 CH₂O), 4.14 (dd, J=11.7, 5.7 CH₂O), 2.31 (t, J=7.5 CH₂CO), 1.25 (s), 0.88 (t, J = 7.5 CH₃).



21

El compuesto **22** constituyente mayoritario de las fracciones eluidas con hexano-cloroformo 98:2 de la columna inicial, fué purificado mediante una cromatoplaqa preparativa de sílice de 2.00 mm de espesor eluida con hexano acetato de etilo 4:1.



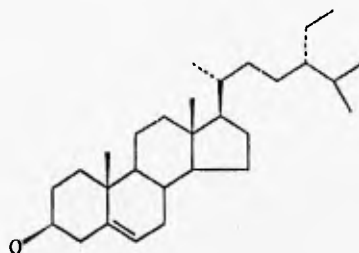
RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, asignación: 0.88 (t, J = 4.5, CH₃), 1.25 (s, CH₂, 56 H), 2.30 (t, J=7.8, CH₂CO), 2.77 (t, J = 5.4, C=C-CH₂C=C, 2H), 4.14 (dd, J = 12.0, 6.3, CH₂O), 4.29 (dd, J=12.0,4.5, CHO), 5.34 (d, J=5.4).

De fracciones eluidas con una polaridad mayor (hexano-cloroformo 95:5) se aisló β-sitosterol (**23**) el cual fué purificado mediante una recromatografía en columna para efectuar el análisis espectroscópico correspondiente. Los datos obtenidos son:

Pf: 134-6 °C

IR_v_{max} (CHCl₃): 3683, 3609, 2936, 2870, 1465, 1379 cm⁻¹

RMN¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ, asignaciones: 5.35 (d, J=5.4 1H), 3.65 (m, 1H), 0.88-1.00 (d, t obs, CH₃, CH₂, 18H)

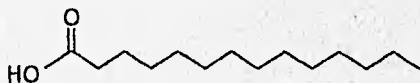


23

En fracciones posteriores a la obtención del β -sitosterol se observó una sustancia de mayor polaridad. Para la obtención de este compuesto, se realizó una cromatografía en capa fina preparativa de dichas fracciones utilizando como sistema de elución una mezcla de hexano-acetato de etilo 95:5. Después de realizar la extracción de la sílice y evaporar el disolvente, se obtuvo la sustancia caracterizada como ácido mirístico (ácido tetradecanoico, 24) cuyos datos espectroscópicos son:

$IR_{\nu_{max}}$ ($CHCl_3$): 3300, 2950, 2830, 1745, 1455, 720 cm^{-1}

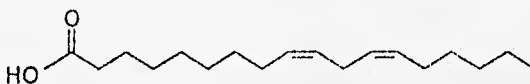
RMN¹H (300 MHz, $CDCl_3$), δ , asignación: 2.30 (t, $J=7.8$, CH_2CO , 6H), 1.25 (s, $-CH_2-$, 42H), 0.95 (t, $J=7.8$, CH_3 , 6H)



24

El ácido linoleico (ácido *cis,cis*-9-12-octadecadienoico **25**) se obtuvo en las fracciones eluidas con hexano-cloroformo 9:1, los datos espectroscópicos de éste son:

RMN¹H (300MHz, CDCl₃), δ, asignación: 5.34 (d, J=5.7, CH=CH, 4H), 2.77 (t, J=7.8, 2H, C=C-CH₂-C=C), 2.30 (t, J=7.8, CH₂CO, 6H), 2.05 (m,6H), 1.25 (s, -CH₂,42H), 0.95 (t, J= 7.8, CH₃, 6H)



25

Las fracciones subsecuentes a la obtención de este ácido no mostraron homogeneidad en su composición y debido a la cantidad de residuo, no fueron analizadas.

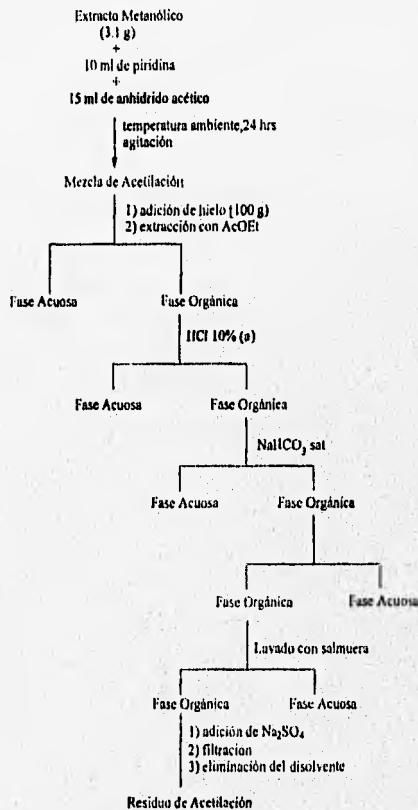
5.1.a.2. Fraccionamiento del Extracto Metanólico de *Malva parviflora*

El extracto metanólico (5.9 g) se particionó en CHCl₃-MeOH (acuoso) por cuatro ocasiones. El residuo clorofórmico fué resuelto en sus componentes mediante una columna cromatográfica empacada con 15 g de sílice para placa, usando como fase móvil hexano y mezclas de hexano-acetato de etilo de polaridad creciente. La elución se realizó a presión reducida, colectándose fracciones de 50 ml.

En las primeras fracciones, eluidas con hexano-acetato de etilo (1:1) se observó un comportamiento cromatográfico muy homogéneo. El constituyente principal fué una sustancia con R_f 0.45 (hexano-cloroformo 95:5). Esta se recromatografió en columna y se obtuvo el compuesto puro que corresponde al β-D- glucopiranosido de β-sitosterol.

El residuo acuoso constituido por sustancias altamente polares se acetyló siguiendo el procedimiento que se muestra en el diagrama 3. Este proceso se llevó a cabo de la forma siguiente : a 3.1 g de residuo orgánico seco contenidos en un matraz redondo de 500 ml se adicionaron 15 ml de anhídrido acético y 10 ml de piridina. Este sistema se tapó y mantuvo en agitación constante a temperatura ambiente. El curso de la reacción se siguió mediante cromatografía en capa fina y después de 24 hrs se detuvo mediante la adición de hielo. La mezcla de reacción fué tratada como se muestra en el diagrama 3 para la obtención de los compuestos acetylados.

Diagrama 3. Diagrama de Acetylación del Extracto Metanólico de *Malva parviflora*.

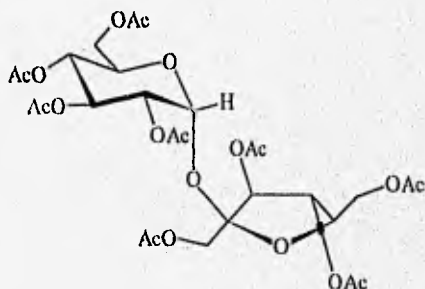


Mediante un análisis por cromatoplasas de sílice se observó que el residuo de acetilación se constituía por tres sustancias, una de las cuales se encontraba en mayor proporción. Para separar estos compuestos se realizó una cromatografía en columna a presión reducida. El compuesto mayoritario eluyó con hexano-acetato de etilo (95:5) y fue caracterizado como sacarosa peracetilada (26). Los datos espectroscópicos obtenidos para esta sustancia son los siguientes y coinciden con los informados en trabajos previos.²⁸

Datos espectroscópicos de octaacetil β -D fructofuranósido de α -D-glucopiranosilo (sacarosa peracetilada 26).

RMN¹H (CDCl₃, 300MHz) δ , asignación: 4.01-4.20 (m,5H), 4.22 (ddd,obs), 4.88 (dd, J=3.6, 10.2 Hz), 5.08 (dd, J=10.0, 10.2 Hz), 5.37 (dd, J=6.6 Hz), 5.45 (d, J=6.0 Hz), 5.49 (dd, J=10.2, 10.0 Hz), 5.69 (d, J=3.6 Hz).

RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ 61.6 (CH₂), δ 62.7 (CH₂), δ 63.5 (CH₂), δ 68.8 (CH), δ 69.4 (CH), δ 70.1 (CH), δ 70.5 (CH), δ 75.5 (CH), δ 77.0 (CH), δ 78.9 (CH), δ 89.8 (CH), δ 103.9 (C cuaternario).



26

De las fracciones subsecuentes se obtuvo un semisólido el cual fué purificado mediante una cromatoplaça preparativa de sílice de 20x20 y 2.00 mm de espesor, eluída dos veces con hexano-acetato de etilo 9:1. De esta cromatoplaça se raspó la zona con Rf 0.63 y la sílice fué extraída en cinco ocasiones con el sistema de elución. El disolvente fué eliminado y se obtuvo como residuo una sustancia que presumiblemente es un trisacárido.

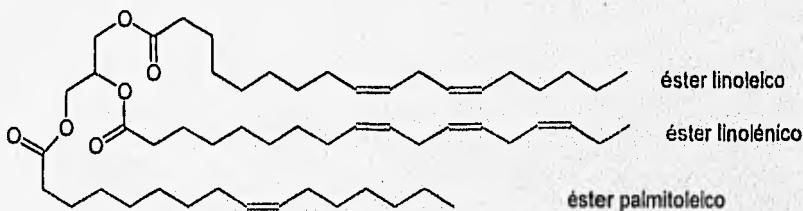
5.1.b.1. Fraccionamiento del extracto hexánico de *Salvia tiliaefolia*.

15.3 g de extracto fueron adsorbidos en gel de sílice (malla 70-230) en proporción 1:1, y se aplicaron a una columna empacada con sílice (malla fina) en proporción 1:5 respecto al extracto. La elución se realizó a presión reducida, se utilizó como fase móvil hexano y mezclas de hexano-acetato de etilo de polaridad creciente. Se colectaron fracciones de 250 ml. El desarrollo de la columna se siguió por cromatografía analítica en capa fina.

De las fracciones 2-45 eluidas con hexano 100 % se aislaron 2 sustancias que fueron caracterizadas como triacilgliceroles (22, 27). El triacilgliceroles con mayor número de insaturaciones (27) se obtuvo después de una recromatografía en capa fina de las fracciones 24-40. Los datos espectroscópicos correspondientes a éste son los siguientes:

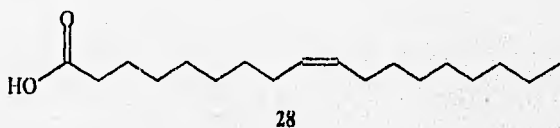
IR_{\max} ($CHCl_3$): 3010, 2926, 2854, 1746, 1655, 1463, 1377, 721 cm^{-1} .

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) δ , asignaciones: 5.31 (m, 2H $CH=CH$), 4.28 (dd $J=11.7, 3.9$ CH_2O), 4.12 (dd, $J=11.7, 6.2$ CH_2O), 2.76 (m, $C=CH_2-C=$, 6H), 2.27 (t, $J=7.8$, CH_2CO , 6H), 1.25 (s, $-CH_2$, 42 H), 0.93 (s, CH_3 , 9H).



Una recromatografía en columna a presión reducida de las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo 95:5 de la columna inicial permite el aislamiento de β -sitosterol (**23**) y ácidos grasos (**25**, **28**). El β sitosterol es aislado en forma pura de las fracciones iniciales eluidas con hexano-acetato de etilo 95:5. De fracciones subsecuentes eluidas con la misma polaridad fué aislado el ácido mirístico.

Las fracciones de mayor polaridad de esta recromatografía se reúnen para aislar mediante una cromatoplaqa preparativa, una sustancia líquida de color ligeramente amarillo, que eluye con hexano-acetato de etilo 9:1. Las propiedades de esta sustancia coinciden con las correspondientes para el ácido oleico (**28**, ácido *cis*-9 octadecenoico).



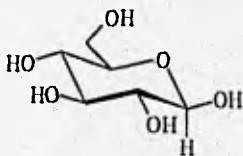
IR_{\max} ($CHCl_3$): 3371, 2926, 2854, 1709, 1466, 757 cm^{-1}

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) δ , asignaciones: 5.35 (m, $CH=CH$, 2H), 2.35 (t, CH_2CO , 2H), 1.25 (s, - CH_3 , 22H), 0.88 (t, CH_3 , 3H).

5.1.b.2 Fraccionamiento del Extracto Metanólico de *Salvia tiliaefolia*.

El extracto metanólico (5.6 g) se analizó por cromatografía analítica observándose que el 20% del extracto estaba constituido por los triacilgliceroles **22** y **28**, aislados del extracto hexánico. También fué posible apreciar, mediante este análisis, que los constituyentes mayoritarios del extracto eran sustancias de mayor polaridad (sacáridos). Un primer intento para separar estos compuestos consistió en la cromatografía en columna de 1.0 g de extracto, utilizando como soporte gel de sílice, los resultados de este procedimiento no fueron satisfactorios, ya que no fué posible lograr la separación de los constituyentes. Posteriormente se realizó una cromatografía en columna a presión reducida en fase inversa, con 500 mg de extracto metanólico, utilizando como fase estacionaria 10 g de Sephadex LH20 Fluka, y como fase móvil MeOH-H₂O en diferentes proporciones. De este proceso se obtienen 20 fracciones que son reunidas de acuerdo a su composición en las fracciones I, II y III. La fracción I y II son aplicadas en una placa preparativa de sílice, de 20x20, que fué eluida con CHCl₃-MeOH-H₂O (2:2:1) en dos ocasiones. Después de raspar las dos zonas diferenciables, la sílice fué extraída con el sistema de elución repetidas veces para obtener finalmente β-D-glucopiranososa (**29**).

RMN ¹H (D₂O, 200 Mhz), δ, 5.35 (d, J=3.8,), 3.42-4.10 (m, CHOH)



5.1.c. ESTUDIO QUIMICO DE LAS SEMILLAS DE *Chenopodium murale*

5.1.c.1. Fraccionamiento del Extracto Hexánico de *Chenopodium murale*.

El residuo hexánico (2.2 g) fué absorbido en gel de sílice 70-230 y se aplicó a una columna cromatográfica empacada con gel de sílice para placa. El desarrollo de esta columna utilizando como fase móvil hexano-acetato de etilo en proporción variable, permitió la obtención de las sustancias **31**, **32**, **33** y **34**.

El compuesto de menor polaridad constituye el 30% del extracto total, fué aislado de las fracciones 1-14 eluidas con hexano 100 %. Dicha sustancia es un sólido de aspecto untuoso que fué caracterizado mediante métodos espectroscópicos como hentriacontano (**31**). Las características espectroscópicas de esta sustancia son:

pf: : 58-60 °C

IR_vmax (CHCl₃): 2926,2854,1467,1379 cm⁻¹

RMN¹H (CDCl₃, 300MHz), δ, asignaciones: 1.25 (s, -CH₂-, 58H), 0.88 (t, -CH₃, 6H)

M⁺: 436



30

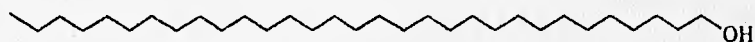
El 3-hentriacontanol (**31**) es un sólido con R_f 0.43 en hexano 100 %, se obtuvo de las fracciones subsecuentes eluidas con hexano-acetato de etilo 98:2 de la columna original. Las características espectroscópicas de este compuesto son las siguientes.

pf: 46 °C

$IR_{\nu_{max}}$ ($CHCl_3$): 3621, 2927, 2854, 1466, 1378 cm^{-1}

RMN¹H ($CDCl_3$, 300MHz), δ , asignaciones: 3.52 (t, CH_2OH , 2H), 1.23 (s, $-CH_2-$, 56H), 0.86 (t, CH_3 , 6H)

EM (IE, 70 eV, 51 °C) m/z : 414 (M^+), 399 ($M^+ - 15$), 369 ($M^+ - 43$), 271, 255



31

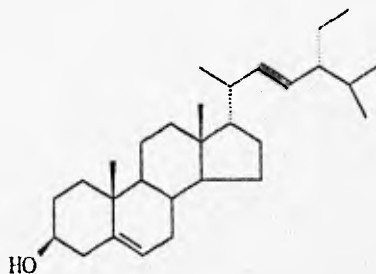
También se aisló el triacilglicerol (**22**) que fué obtenido del extracto de acetato de etilo de las semillas de *Malva parviflora* y que se describió anteriormente (vease página 36).

De esta cromatografía del extracto hexánico se obtuvieron 7 fracciones constituidas por estigmasterol (**32**). Este compuesto fué purificado mediante una reercromatografía en columna a presión reducida.

pf: 136-8 °C

IR_vmax (CHCl₃):

RMN¹H (CDCl₃ 300MHz), δ, asignaciones: 0.88 (m), 1.36 (m), 2.34 (t, J=7.6), 3.59 (m), 5.02 (dd, J=12.3,8.4), 5.17 (dd, J=15, 8.4), 5.35 (d, J=5.1).



32

Además se obtuvieron en este extracto ácido oleico (28), mirístico (24) y linoleico (25).

5.1.c.2. Análisis del extracto metanólico.

A través de un análisis de cromatografía en capa fina se observó que el extracto metanólico (4.5g) estaba constituido por sustancias lipídicas y compuestos de comportamiento cromatográfico similar a los sacáridos obtenidos en los extractos metanólicos de *Salvia tiliaefolia* y *Malva parviflora*. En el extracto de *Chenopodium murale* se formó un sólido al adicionar acetona, éste es separado por filtración a vacío. Dicho sólido constituye el 50% del extracto total y fué acetilado para disminuir su polaridad, siguiendo el procedimiento mostrado en el diagrama 3. Esta sustancia fué caracterizada como sacarosa peracetilada (26).

5.1d.1 Fraccionamiento del Extracto Hexánico de las Semillas de *Eleusine multiflora*.

El extracto hexánico de las semillas de *Eleusine multiflora*, fué analizado mediante cromatografía en capa fina para establecer la posible similitud en composición respecto a las otras especies analizadas. Los resultados de este análisis muestran que los constituyentes principales de este extracto son hidrocarburos de alto peso molecular, glicéridos y ácidos grasos, así como esteroides. Estas sustancias están presentes en los diferentes extractos analizados y el proceso de obtención de las mismas, es análogo al descrito anteriormente.

El residuo orgánico (1.03 g) fué adsorbido en gel de sílice 70-230 y se aplicó a una columna cromatográfica. El desarrollo de ésta columna se realizó a presión reducida mediante un gradiente de hexano-acetato de etilo de polaridad creciente. Se colectaron fracciones de 50 ml. Las fracciones obtenidas son reunidas con base a su composición y finalmente se tienen cuatro fracciones A, B, C y D.

La fracción A (280 mg), la cual está constituida por dos sustancias, se recromatografió mediante una columna empacada con gel de sílice. De la elución con hexano-acetato de etilo 95:5 se obtuvo un sólido blanco con p_f 45°C que fué caracterizado espectroscópicamente como hentriacontano (30). La otra sustancia presente en estas fracciones fué identificada como hentriacontanol (31).

De la fracción B (30 mg) se obtuvo, a través de una cromatografía en placa fina preparativa, un aceite ligeramente amarillo cuyos datos espectroscópicos coinciden con los obtenidos para el triacilglicerol 22.

La siguiente fracción tenía un aspecto semisólido con coloración verdosa. El análisis por cromatografía en capa fina revela a ésta fracción como una mezcla de por lo menos tres sustancias. Por la cantidad de muestra disponible (120 mg) se realiza una recromatografía en columna para la separación de las mismas. Las condiciones de operación para la recromatografía son las utilizadas en el desarrollo de la columna original. Como resultado de esta recromatografía se obtuvo un sólido amorfo blanco que fué identificado como β -sitosterol (23). Adicionalmente, se obtuvieron como constituyentes de la fracción C, los ácidos mirístico (24) y linoleico (25).

Finalmente, se realizó el análisis cromatográfico convencional de la fracción D y no fue posible determinar el número de constituyentes y la naturaleza de los mismos.

En la tabla 4 se resumen los resultados del fraccionamiento del extracto hexánico de ésta especie.

Tabla 4. Resultados de la Cromatografía del Extracto Hexánico de las semillas de *Eleusine multiflora*.

Fracción	Eluyente	Tipo de compuesto	Estructura
A	hexano 100%	hidrocarburo	30, 31
B	hexano-AcOEt 99:1	triacilglicerol	22
C	hexano-AcOEt 95:5	esterol, ácido graso	23, 24, 25

5.1.d.2. Análisis del Extracto Metanólico.

El extracto metanólico de las semillas de *Eleusine multiflora* presenta una composición similar al residuo metanólico obtenido para las semillas de *Salvia tiliaefolia*, de acuerdo al análisis cromatográfico realizado. De igual manera se pudo apreciar que los constituyentes del extracto eran muy polares y presumiblemente se trata de monosacáridos. El análisis químico de este extracto continúa en proceso.

5.2 Hidrólisis de las Semillas de *Malva parviflora*, *Salvia tiliaefolia*, *Chenopodium murale* y *Eleusine multiflora*.

Como se mencionó, las semillas extraídas con disolventes orgánicos, se sometieron a una hidrólisis básica con el fin de romper ciertos ésteres poliméricos.

Los residuos de hidrólisis fueron metilados con diazometano con el fin de disminuir la polaridad de los mismos y lograr una mejor resolución de sus componentes. Estos residuos metilados fueron analizados comparativamente por cromatografía en capa fina, observándose algunas diferencias entre los mismos.

Los residuos de hidrólisis de las especies *Salvia tiliaefolia*, *Malva parviflora* y *Chenopodium murale* fueron fraccionados mediante cromatografía en columna, utilizando como fase estacionaria gel de sílice 70-230 en proporción 1:40 respecto al extracto. En la cromatografía de los residuos de *Malva* y *Salvia* se utilizó como fase móvil un gradiente de hexano-acetato de etilo. La fase móvil usada en el fraccionamiento del residuo de *Chenopodium* fué cloroformo-metanol.

5.2.a. Aislamiento de los Constituyentes Químicos del Residuo de Hidrólisis de las Semillas de *Malva parviflora*.

Las fracciones 15-18 eluidas con hexano-acetato de etilo 9:1 se reúnen y aplican en una placa cromatográfica preparativa de 0.5 mm de espesor. Esta placa se eluye en dos ocasiones con hexano-acetato 7:3. Al observar al UV son diferenciables tres zonas. Estas franjas, que también revelan con sulfato cérico, son cortadas de la placa y la sílice es extraída en cuatro ocasiones con acetona.

Uno de los compuestos obtenidos mediante el procedimiento anterior presenta una coloración café, este compuesto fué caracterizado espectroscópicamente como 3-hidroxi,4-metoxi-cinamato de metilo (33).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) δ , asignaciones: 3.72 (s, OCH₃, 3H), 6.29 (d, J= 15.9, HC=C-), 6.84 (d, J= 8.7, H-6), 7.03 (dd, J= 8.7, 2.1, H-5), 7.13 (d, J= 2.1, H-2), 7.61 (d, J=15.9,HC=C-).

Otro producto de hidrólisis es 34, el cual se identificó como *p*-hidroxi-cinamato de metilo. Este compuesto presenta un coloración amarilla al revelar con sulfato cérico.

IR ν_{\max} (CHCl₃): 3080, 2952, 2850, 1712, 1635, 1606, 1260, 1167, 830 cm⁻¹.

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) δ , asignaciones: 3.79 (OCH₃), 6.30 (d, J= 15.9, HC=C-), 6.85 (dd, J= 8.4, 2.1, H-2), 7.43 (d, J= 8.4, H-3), 7.65 (d, J= 15.9, HC=C-).

5.2.b. Separación de los Compuestos de Hidrólisis de las semillas de *Salvia tiliaefolia*.

600 mg del residuo fueron absorbidos y se aplicaron a una columna cromatográfica para la obtención de 35. Este compuesto se aisló de las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo 95.5 y fué caracterizado como 3,4 dimetoxi cinamato de metilo. Los datos espectroscópicos correspondientes son :

IR ν_{\max} (CHCl₃) : 3000-3100, 2923, 2851, 1735, 1170 cm⁻¹.

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) δ , asignaciones: 3.66 (s), 3.80 (s), 3.84 (s), 6.32 (d, J=15.9), 6.83 (d, J= 8.7), 6.88 (dd, J= 8.7, 1.8), 7.66 (d, J= 16.0).

Como constituyentes minoritarios de este residuo se observan dos sustancias de mayor polaridad. Estas sustancias fueron aisladas y purificadas para la obtención de sus propiedades espectroscópicas. En los espectros de RMN¹H se observan señales complejas y poco resueltas por lo que no fué posible establecer su estructura.

5.2 c. Análisis del Residuo de Hidrólisis de las Semillas de *Chenopodium murale*

De este residuo orgánico (3.0 g) se aislaron triacilgliceroles remanentes de la extracción con disolventes orgánicos, y compuestos fenólicos como constituyentes principales.

De las fracciones 6-8 eluidas con CHCl₃ 100 % se aísla el ferulato de metilo (36), después de aplicar dichas fracciones en una cromatoplaça preparativa, la cual fué eluída en dos ocasiones con acetato de etilo-hexano (1:9). De ésta cromatoplaça, se raspó la zona con Rf 0.4, que fué extraída con acetona. Finalmente después de destilar el disolvente se obtuvo el compuesto 36 como un semisólido verde.

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃), δ , asignaciones : 3.80, 3.91, 6.31 (d, J= 15.9), 6.87 (d, J=8.4), 7.05 (d, J=2.1), 7.1 (dd, J= 8.4, 2.1), 7.64 (d, J=15.9), 9.86 (s).

De las fracciones subsecuentes (28-33, eluidas con cloroformo metanol 99:1) se aisló 37 (*p*-metoxi benzoato de metilo).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃), δ , asignaciones : 3.72 (s), 3.88 (s), 6.85 (d, J= 8.7), 7.95 (dd, J= 8.7, 2.1), 8.10 (s).

Las fracciones 34-38 eluidas con cloroformo-metanol (99:1), se reúnen y aplican en una placa cromatográfica preparativa que es eluida con hexano-acetato de etilo 7:3 en dos ocasiones. De esta placa se obtiene la substancia con Rf 0.4 mediante la extracción repetitiva de la sílice. La hipótesis estructural de este compuesto es 38. La confirmación de la misma está en proceso.

IR ν max (CHCl₃): 3621, 3570, 3034, 3011, 2933, 2858, 1731, 1174 cm⁻¹.

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃), δ , asignaciones: 1.25 (s, CH₂-), 1.83 (m), 2.30 (t, J=7.8, CH₂CO), 3.64 (t, J= 7.8, O-CH), 3.66 (s, OCH₃), 3.86-3.92 (m, CH₂-O).

5.2.d. Análisis del Residuo Orgánico de Hidrólisis de las Semillas de *Eleusine multiflora*

El material vegetal remanente de la extracción con disolventes orgánicos fué sometido a una hidrólisis con hidróxido de sodio acuoso 2N. El resultado de ésta operación es un residuo orgánico semisólido de color café-rojizo, el cual fué metilado y resuelto en sus componentes mediante una cromatografía en columna empleando como fase estacionaria gel de sílice Merck 60 GF y como fase móvil un gradiente de polaridad ascendente de hexano-acetato de etilo. Los resultados de esta cromatografía se resumen en la tabla 5.

Tabla 5 Resultados del Fraccionamiento del Residuo de Hidrólisis de las Semillas de *Eleusine multiflora*

No de Fracción	Eluyente hexano-acetato de etilo	%	Tipo de Compuesto	No. de Fórmula
1-12	100:0		glicéridos	21, 22
13-25	98:2		fenilpropanoide	36
26	95:5		fenilpropanoide	37

6. RESUMEN Y CONCLUSIONES

La presente investigación es parte de un proyecto cuya finalidad es establecer si la longevidad de algunas semillas de plantas arvenses correlaciona con la abundancia y diversidad de metabolitos presentes en las mismas.

Como resultado de la extracción selectiva con disolventes orgánicos de las semillas secas de *Malva parviflora*, *Eleusine multiflora*, *Chenopodium murale* y *Salvia tiliaefolia* y subsecuente hidrólisis del material vegetal, fué posible aislar y caracterizar diferentes sustancias. Logrando con ello establecer el perfil químico de las semillas de las especies en estudio.

Los compuestos aislados de las diferentes especies así como la abundancia de los mismos se resume en la tabla 6.

De la tabla 6 se observa que los constituyentes mayoritarios de las semillas de las malezas mencionadas son hidrocarburos, glicéridos, ácidos grasos, esteroides, azúcares y ácidos fenólicos. la principal diferencia entre las especies estudiadas es la abundancia de los compuestos anteriores. De estos metabolitos, los esteroides y los ácidos fenólicos constituyen, de acuerdo a lo informado en la literatura, una defensa del vegetal contra el ataque de depredadores.²⁹

Respecto a los ácidos grasos y glicéridos que constituyen mayoritariamente las semillas, son materiales de reserva que no pueden correlacionarse directamente con la hipótesis inicial. No obstante, dado que estos compuestos se encuentran en cantidades considerables en las semillas de *Malva parviflora* y *Salvia Tiliaefolia*, es posible considerar la extracción de éstos, ya que recientemente se informa su utilización como sustitutos de disolventes en la extracción de agentes antioxidantes naturales de gran importancia en la industria alimentaria y farmacéutica.³⁰

Tabla 6 Compuestos Aislados de las Semillas de Ciertas Plantas Arvenses.

Compuesto	No. Estructura.	<i>Malva parviflora (%)</i>	<i>Salvia tiliaefolia (%)</i>	<i>Chenopodium murale (%)</i>	<i>Eleusine multiflora (%)</i>
hentriacontano	30			10.70	6.25
hentriacontanol	31			1.36	3.75
glicérido	21	23.0		0.50	
glicérido	22	12.0	15.02	1.23	3.50
glicérido	27		22.87		
β -sitosterol	23	8.0	8.73		
estigmasterol	32			1.13	2.62
ác. mirístico	24	7.2	1.96	*	10.0
ác. linoleico	25	5.4		*	
ác. oleico	28		14.80	*	
glucosa	29		32.01		
sacarosa	26	50.0		*	
fenilpropanoides	33	11.7			
	34	14.2			
	35		52.5		28.5
	36			7.35	13.3
	37			11.82	
	38			3.24	

Nota: Los porcentajes están referidos al total de extracto del que fueron aislados.

* no fué determinada su abundancia.

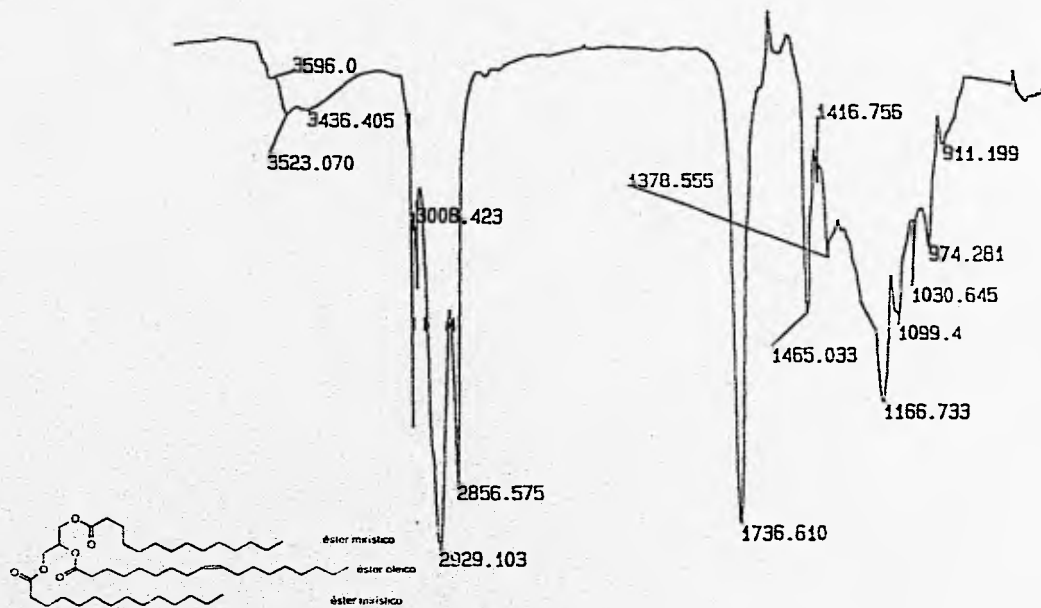
Se sabe que a mayor contenido de ácido linolénico mayor calidad de un aceite.¹¹ Con base en ello puede concluirse que el aceite de la semilla de *Salvia tiliaefolia* es de mejor calidad que los correspondientes de *Malva*, *Chenopodium* y *Eleusine*, ya que su contenido de ácido linolénico es mayor pues se encuentra como parte de los glicéridos aislados de ésta especie. No fué posible determinar si se encuentra en forma libre.

Respecto a los compuestos aislados de los residuos de hidrólisis de las semillas, es conveniente mencionar que existe la posibilidad de que sean productos de reacción entre el ácido ferúlico y el diazometano, aunque un análisis cromatográfico del residuo antes y después de metilar no presentó grandes diferencias. Debido a la dificultad que representa la obtención de las semillas y al factor tiempo no fué posible realizar un experimento adicional para confirmar esta hipótesis.

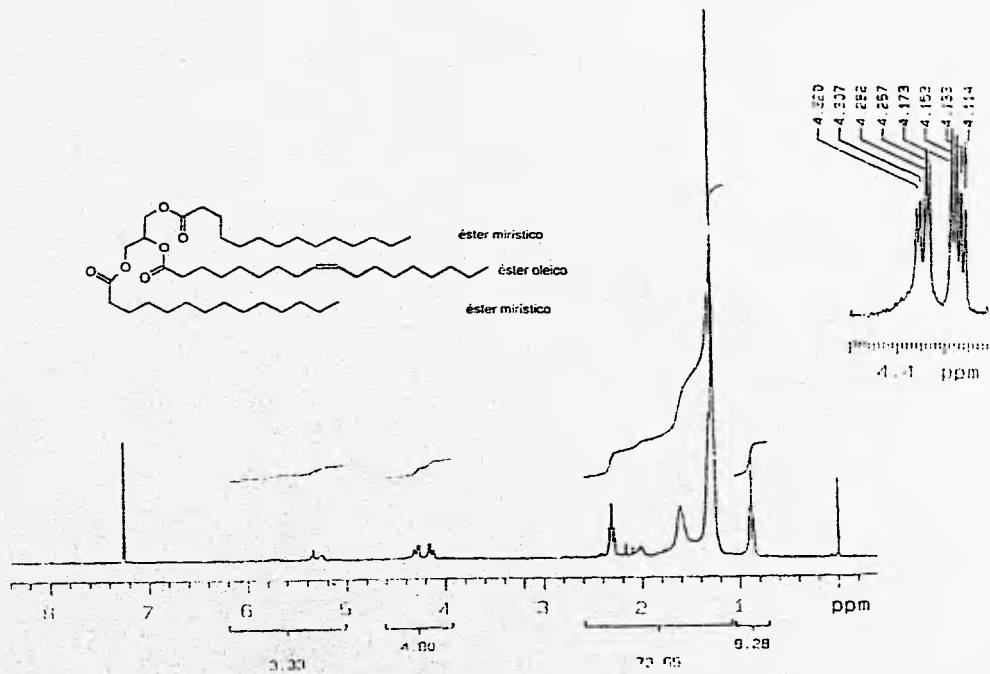
Como se habrá observado, en el residuo de hidrólisis se aprecian diferencias mayores en cuanto a abundancia y composición. Esto parece indicar que los constituyentes de la capa externa de las semillas pueden influir en la longevidad de las semillas en el suelo.

Para poder concluir es necesaria la obtención de los resultados del análisis de semillas de otras especies de plantas arvenses con el fin de realizar las comparaciones referentes a su permanencia en el suelo y su resistencia al ataque de microorganismos.

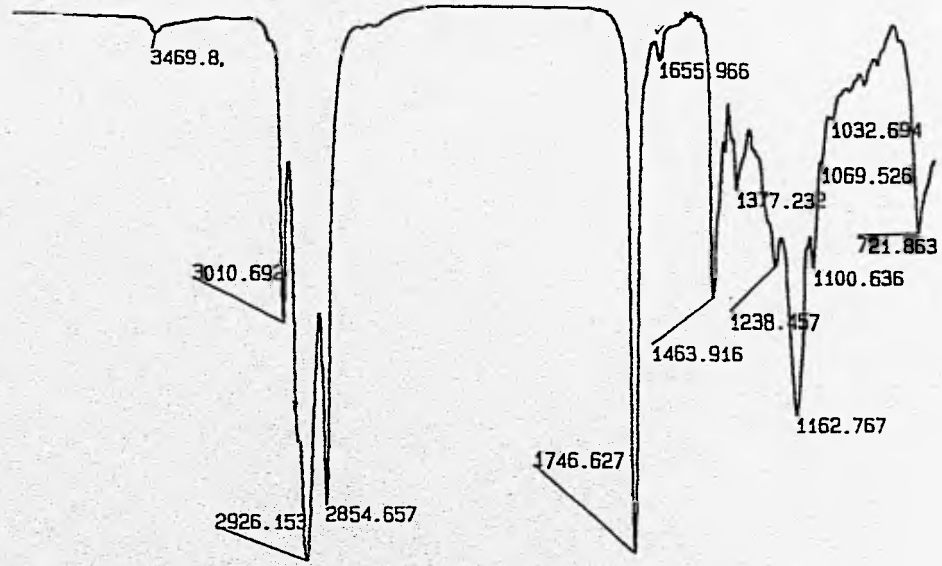
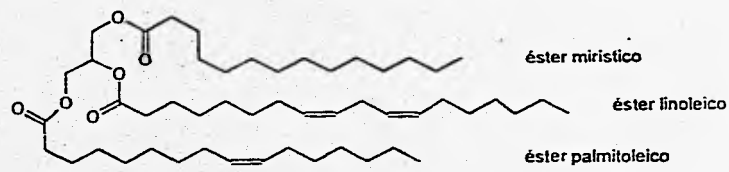
7. ESPECTROS



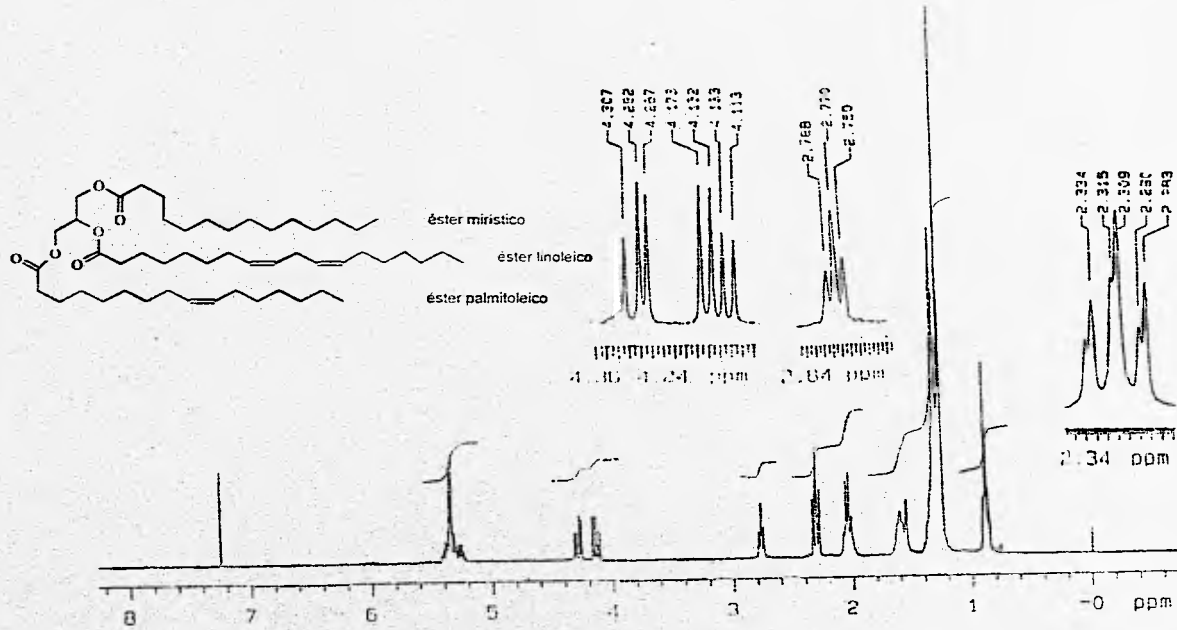
Espectro 1. (IR, CHCl₃). triacilglicerol 21.



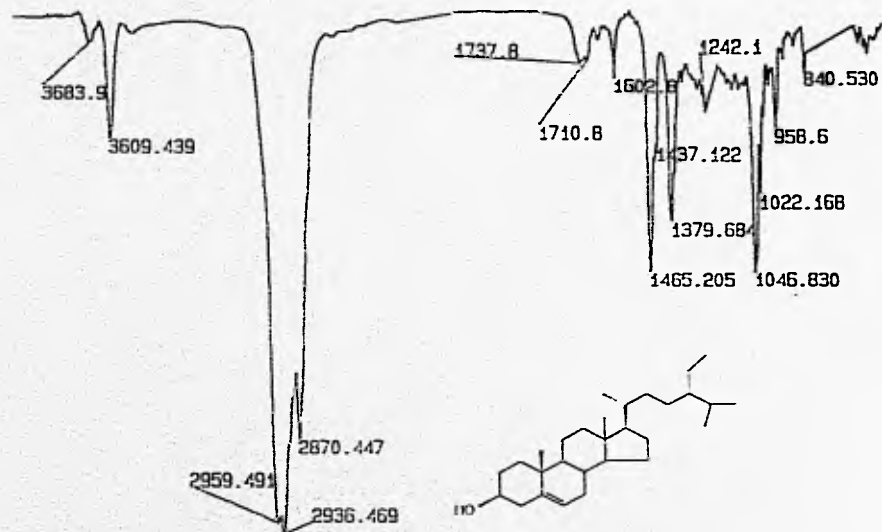
Espectro 2. RMN¹H (CDCl₃, 300 MHz). triacilglicerol 21.



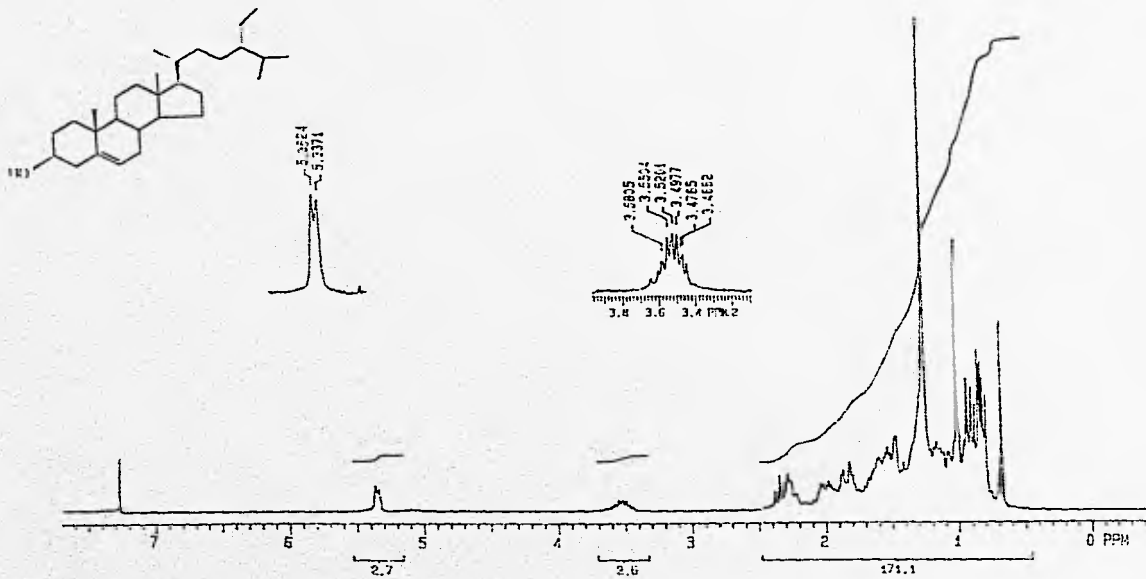
Espectro 3. IR (CHCl₃). Triacilglicerol 22.



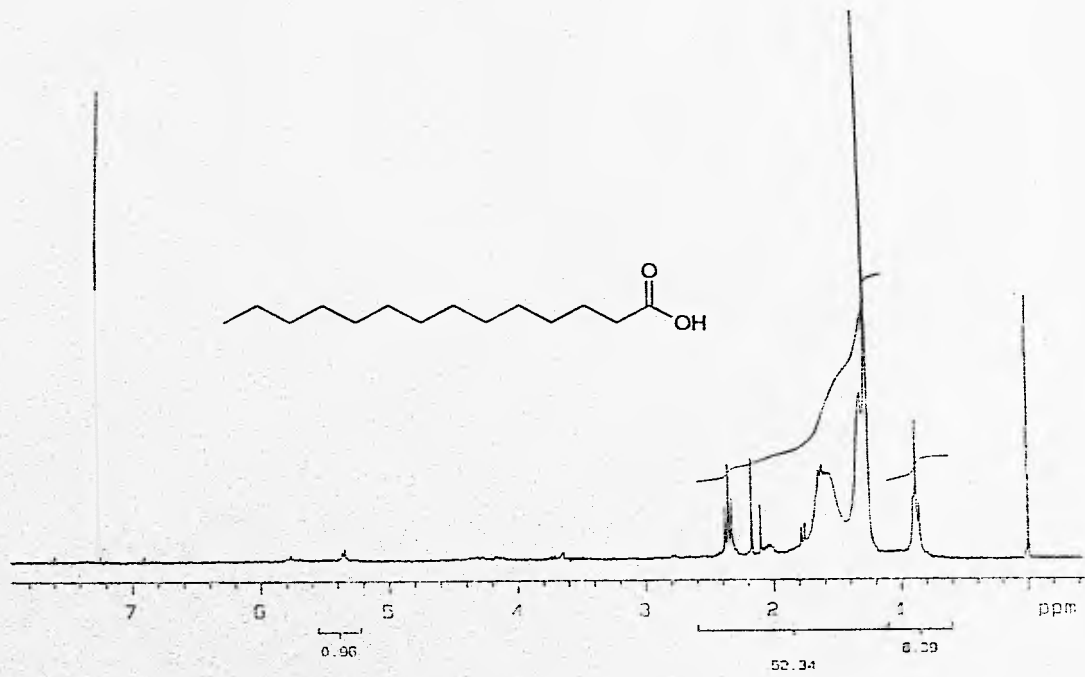
Espectro 4. RMN¹H (CDCl₃, 300MHz), triacilglicerol 22



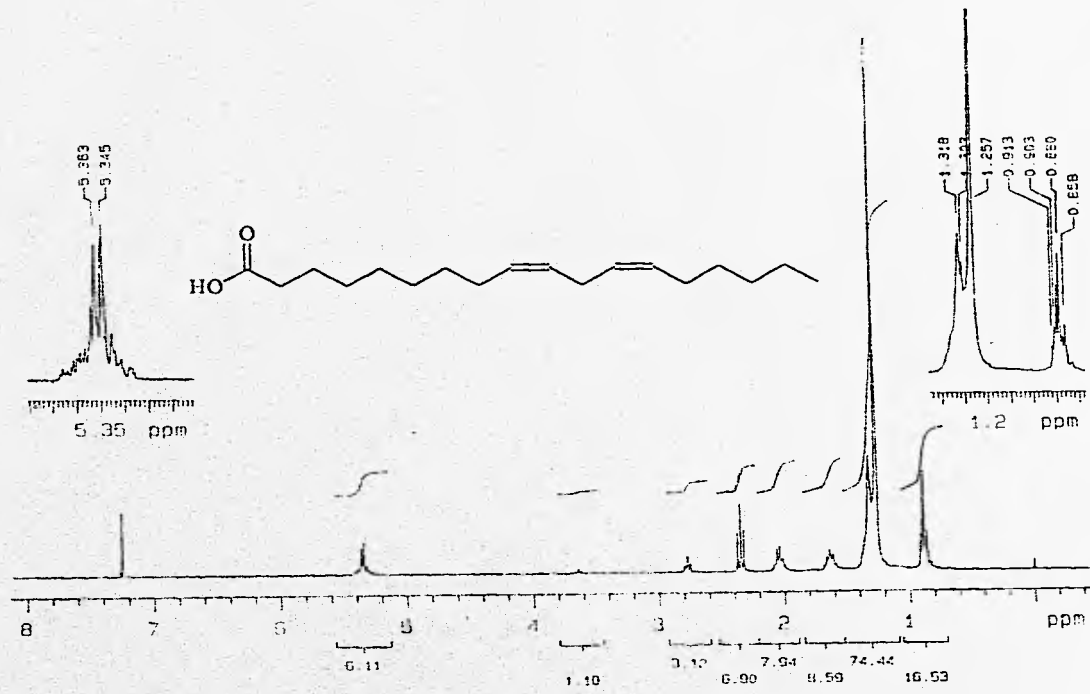
Espectro 5. (IR, CHCl₃). β-sitosterol 23



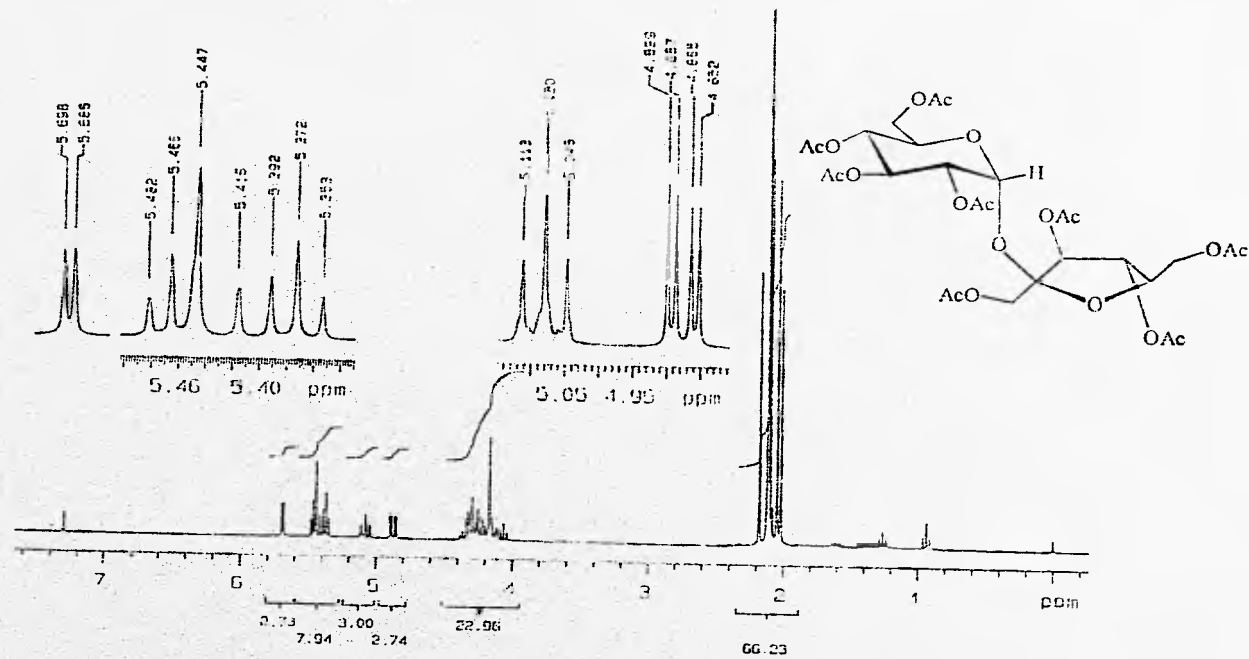
Espectro 6. RMN¹H (CDCl₃, 300 MHz) β -sitosterol 23.



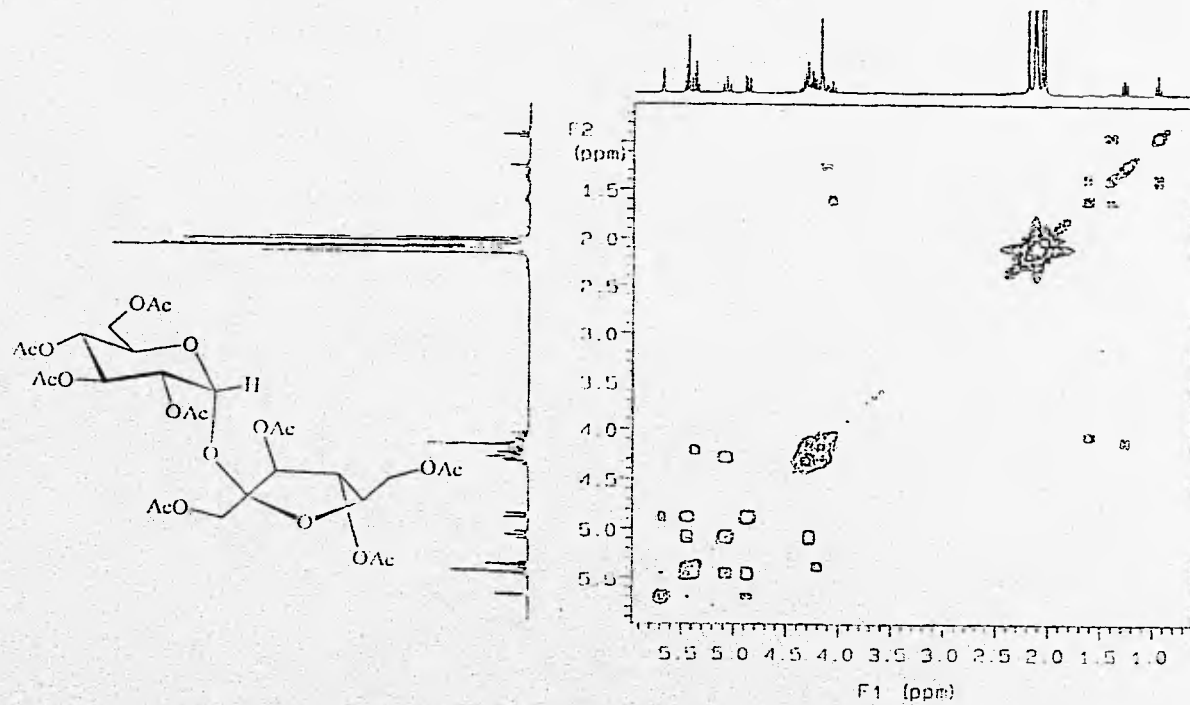
Espectro 7. RMN¹H (CDCl₃, 300 MHz) ácido tetradecanoico (mirístico) 24



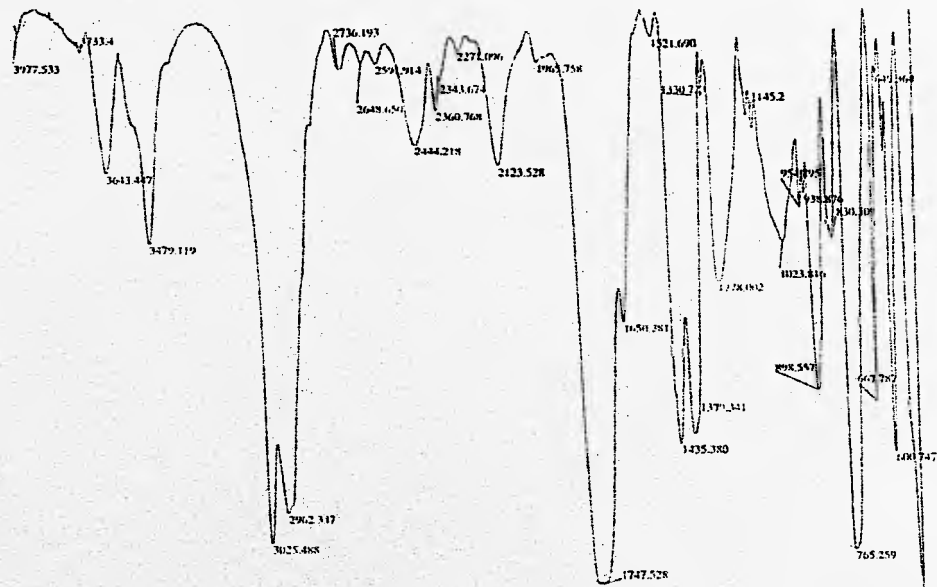
Espectro 8. RMN¹H (CDCl₃, 300 MHz) ácido linoleico (*cis, cis*, 9-12 octadecadienoico) 25



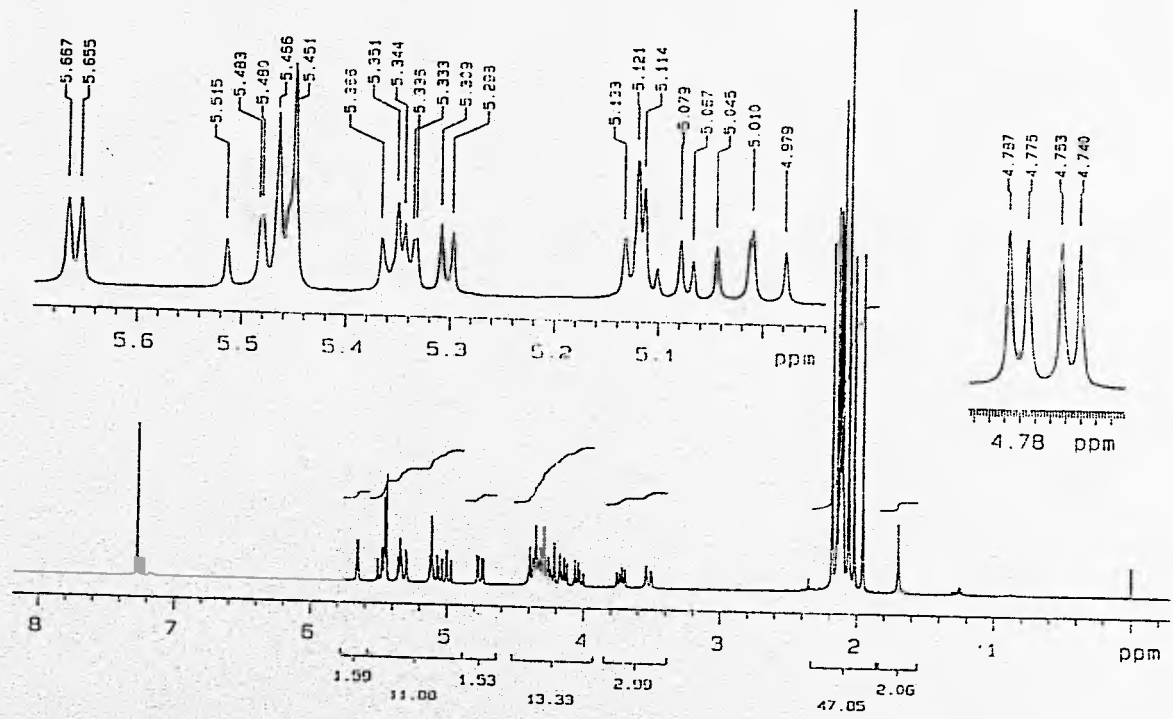
Espectro 9. RMN^1H (CDCl_3 , 300 MHz) octaacetil β -D fructopiranosido de α -D glucopiranososa 26



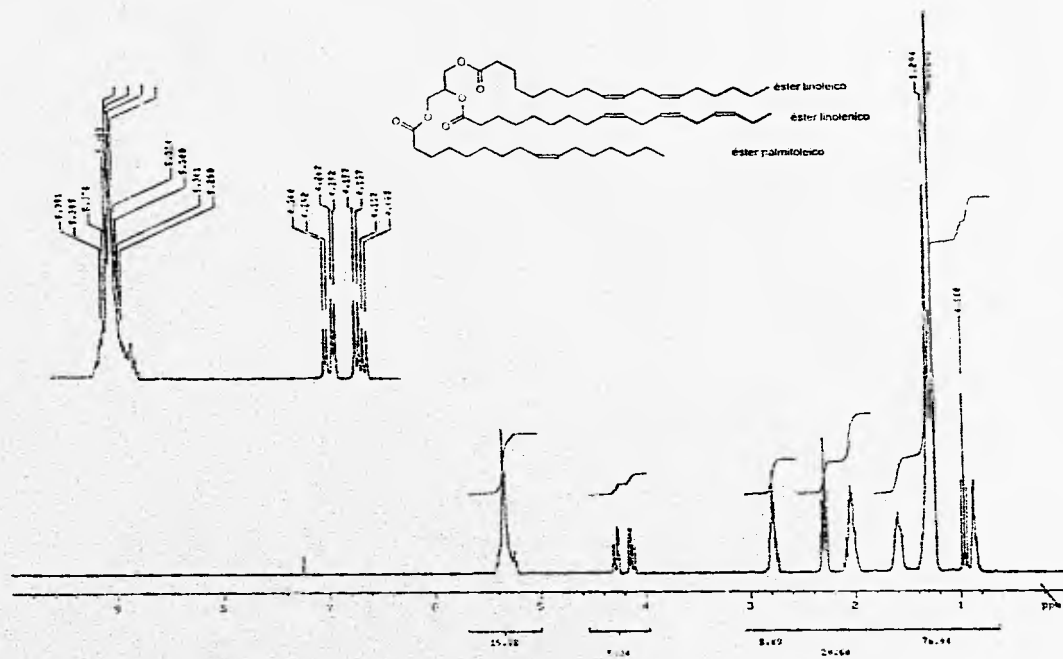
Espectro 10. COSY (CDCl_3 , 300 MHz) octaacetil β -D fructopiranosido de α -D glucopiranososa 26



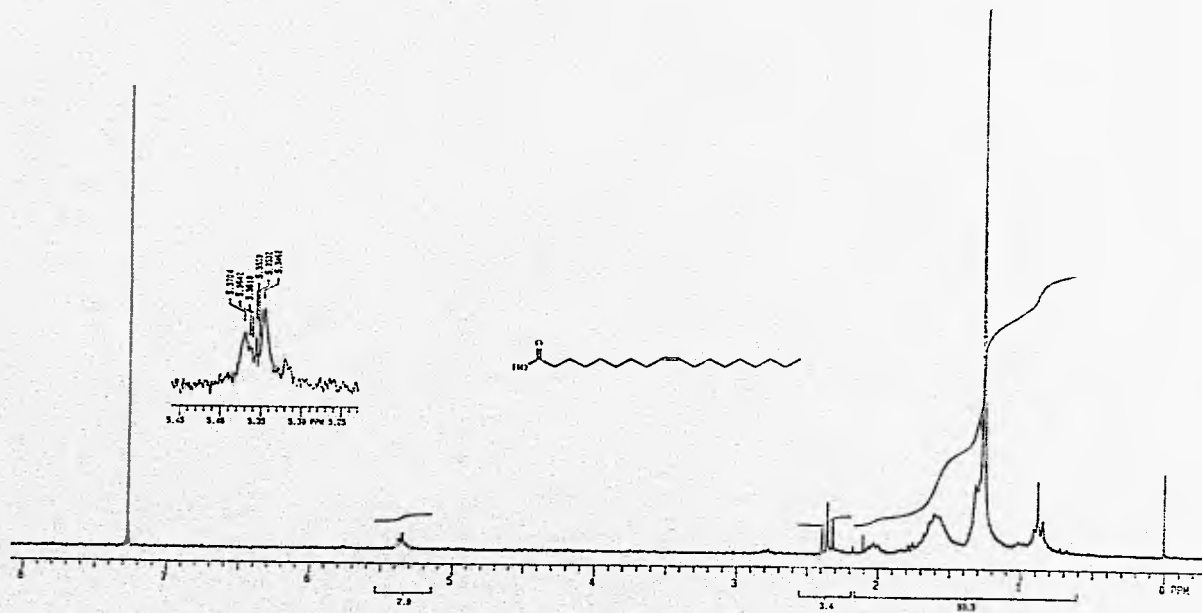
Espectro 11. (IR, CHCl₃). trisacárido de glucopiranososa.



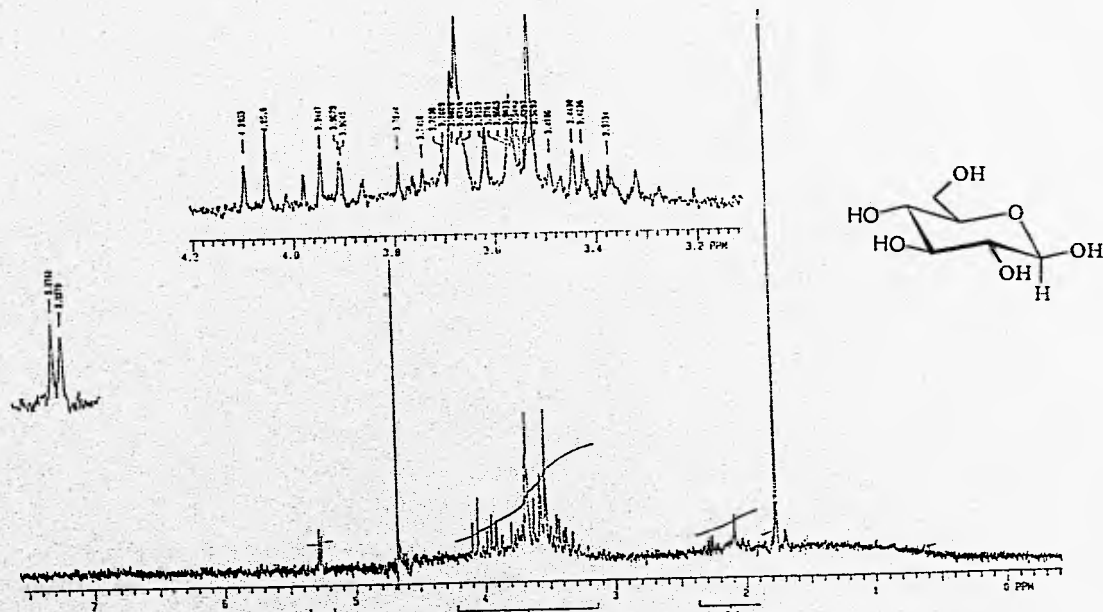
Espectro 12. RMN¹H (CDCl₃, 300 Mhz) trisacárido de glucopiranososa



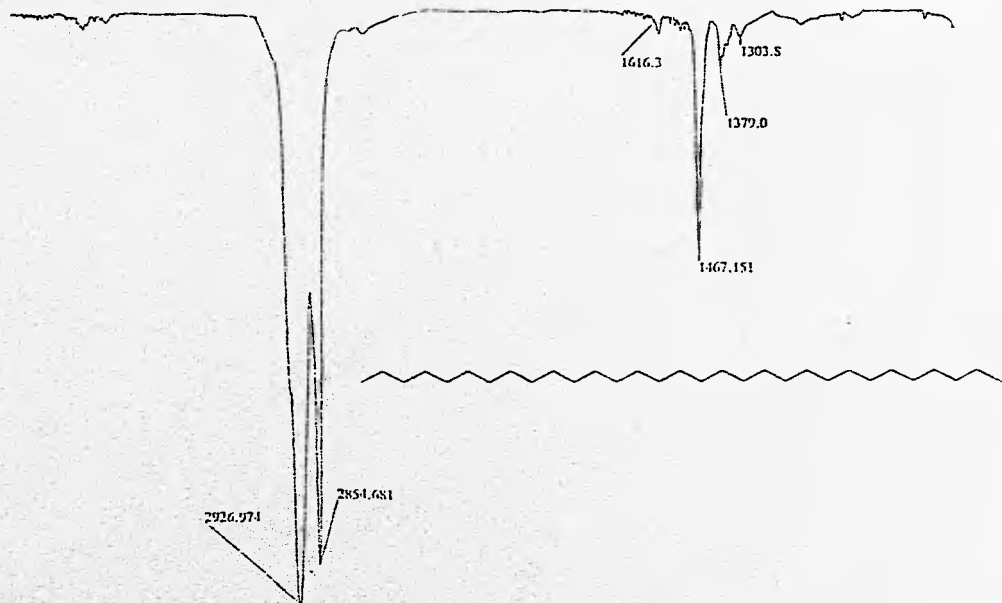
Espectro 13. RMN¹H (CDCl₃, 300 MHz) triacilglicerol 27



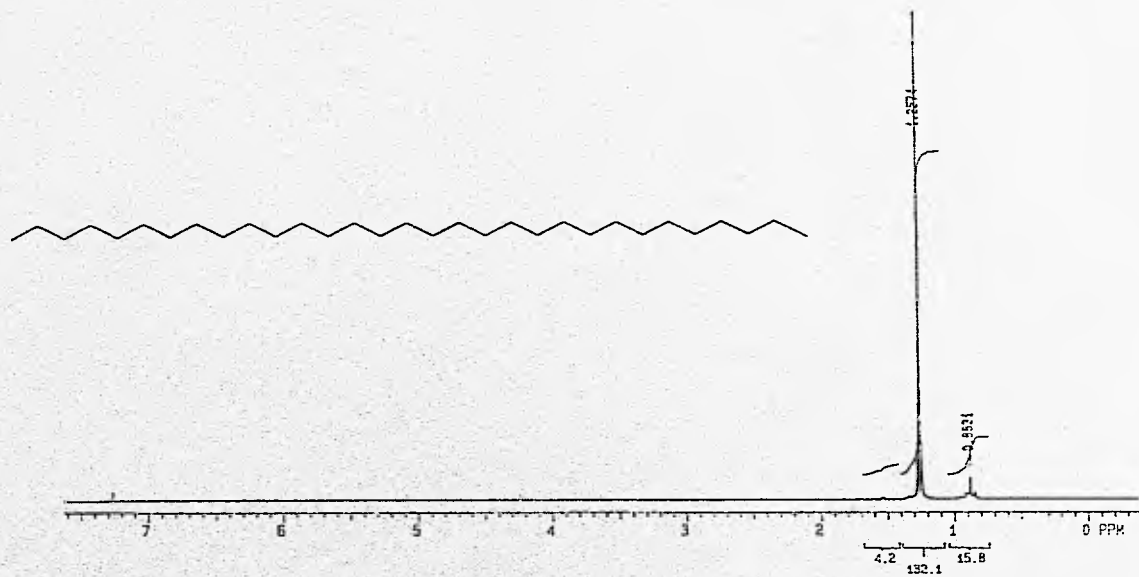
Espectro 14. RMN^1H (CDCl_3 , 300 MHz) ácido oleico (*cis*-9-octadecenoico) 28



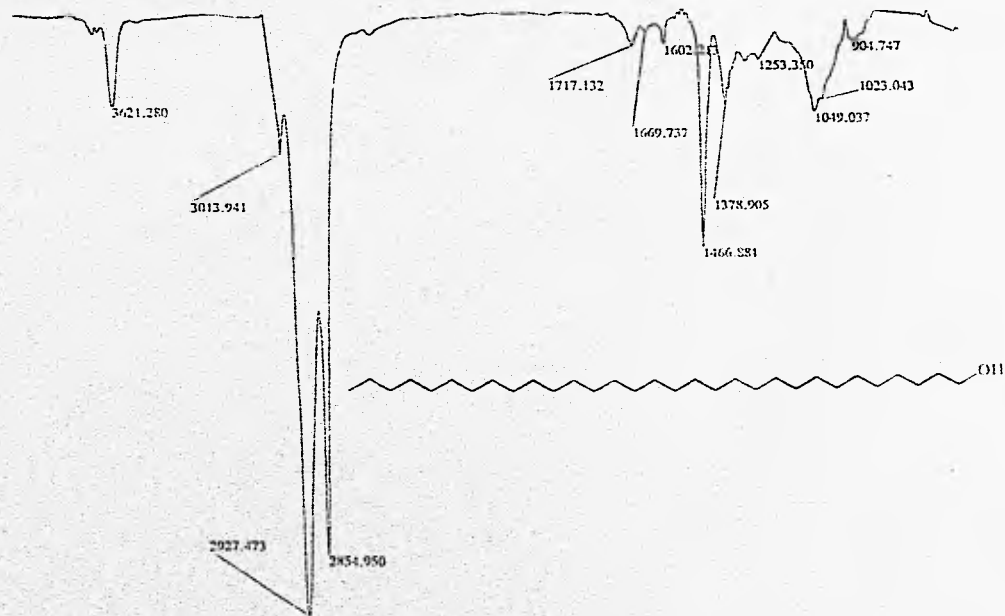
Espectro 15. RMN ^1H (D_2O , 200MHz) β D-glucopiranosia 29



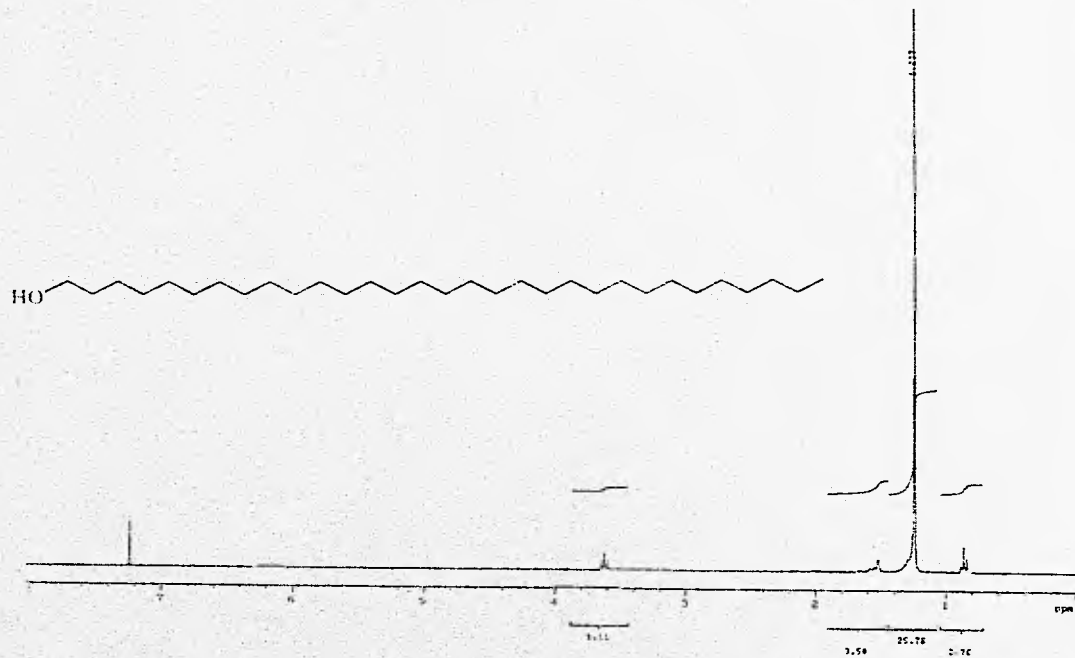
Espectro 16. (IR, CHCl_3). hentriacontano 30



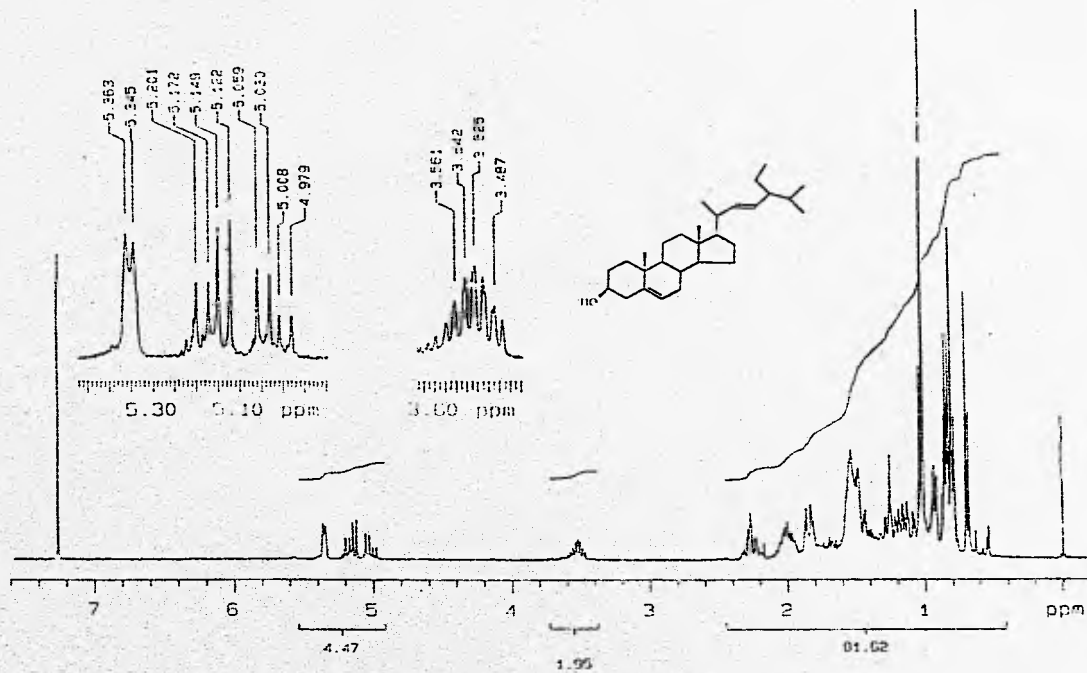
Espectro 17. RMN¹H (CDCl₃, 300 MHz) hentriacontano 30



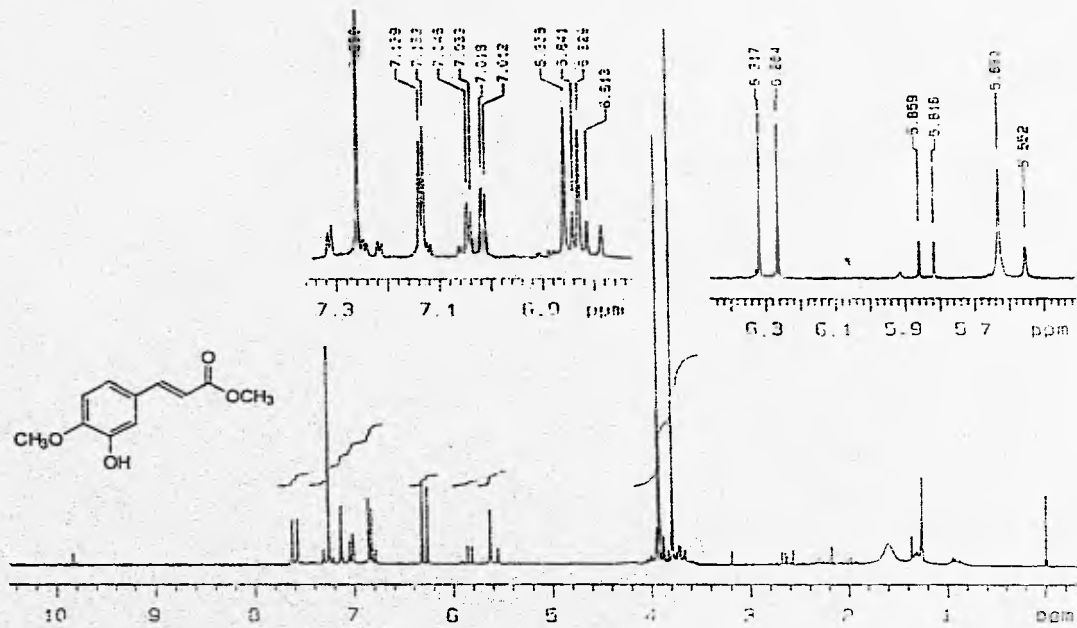
Espectro 18. (IR, CHCl₃). hentriacontanol 31



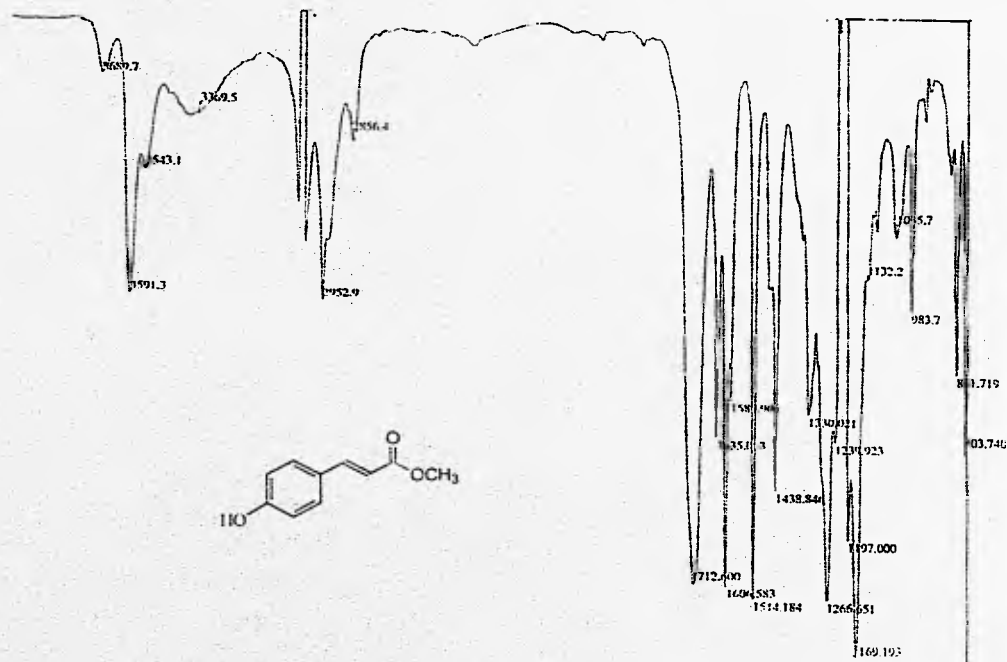
Espectro 19. RMN¹H (CDCl₃, 300MHz) hentriacontanol 31



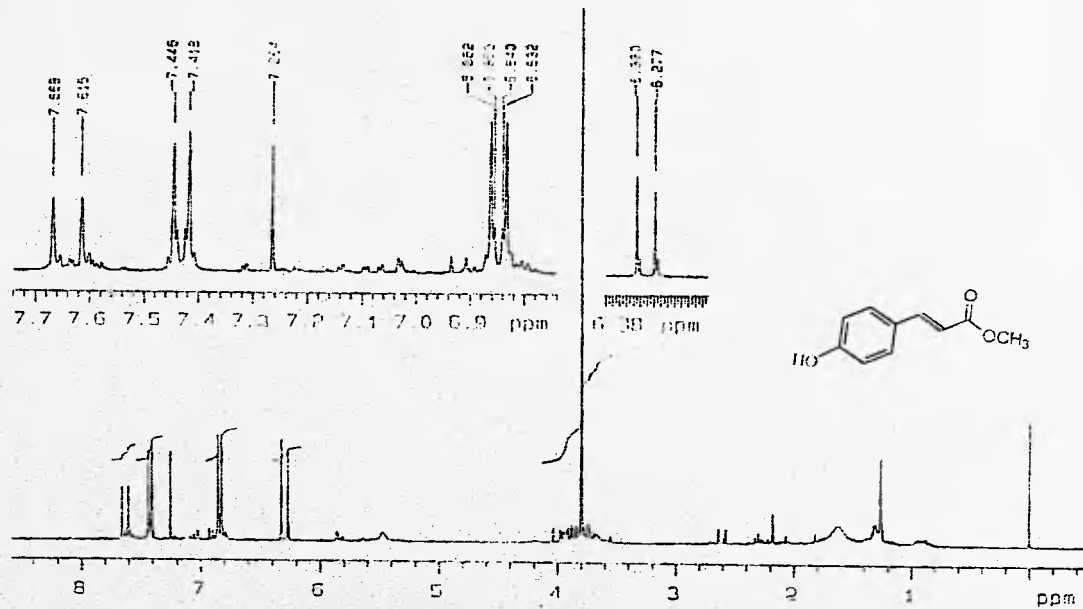
Espectro 20. RMN¹H (CDCl₃, 300 MHz) estigmasterol 32



Espectro 21. RMN¹H (CDCl₃, 300MHz) 3-hidroxi-4-metoxi cinamato de metilo 33

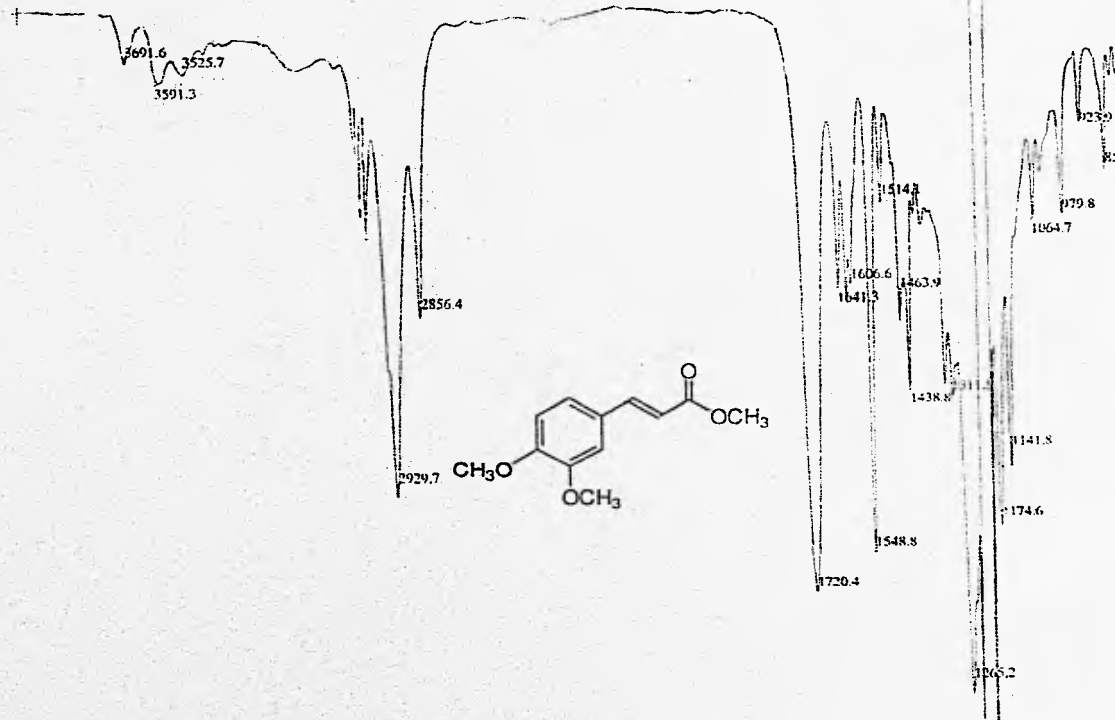


Espectro 22. (IR, CHCl₃). *p*-hidroxi- cinamato de metilo 34

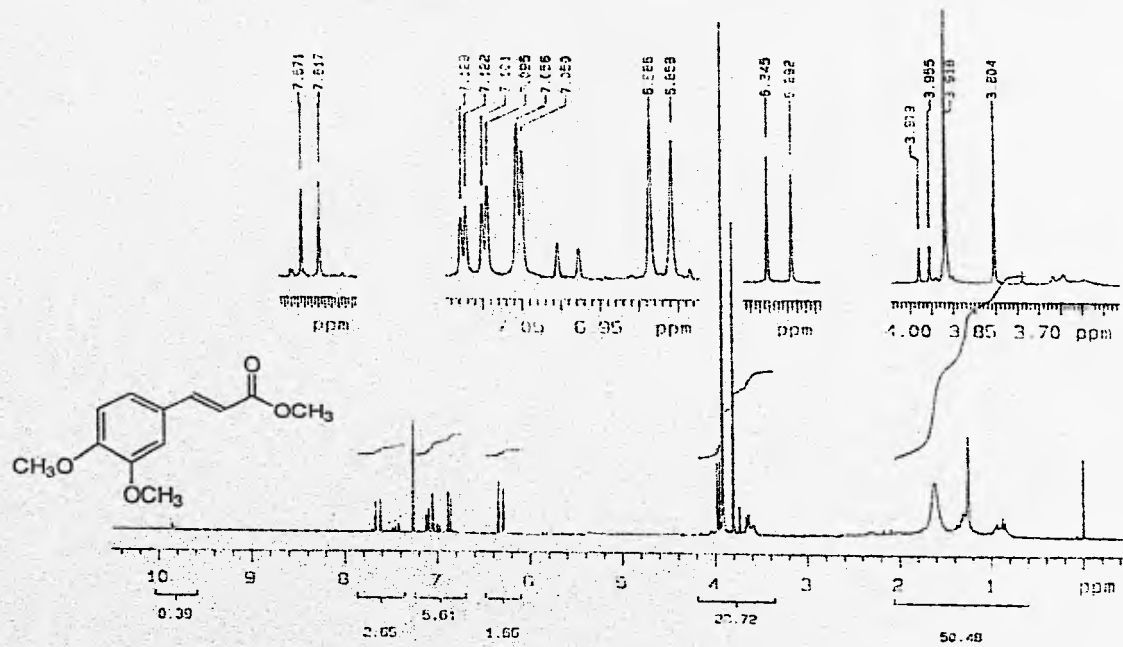


Espectro 23. RMN^1H (CDCl_3 , 300 MHz) *p*-hidroxi- cinamato de metilo 34

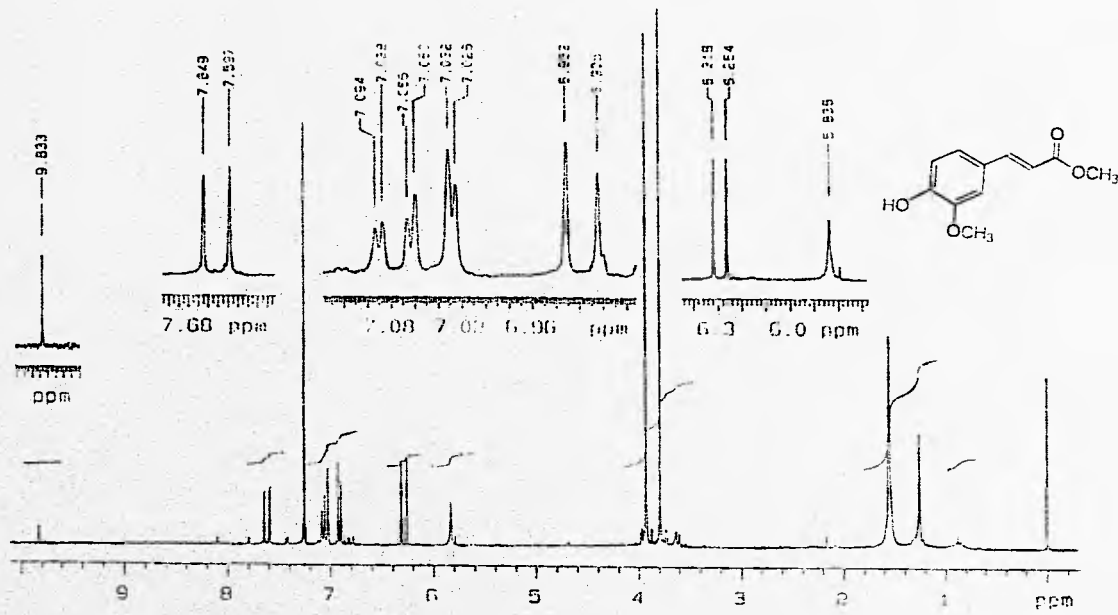
ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA



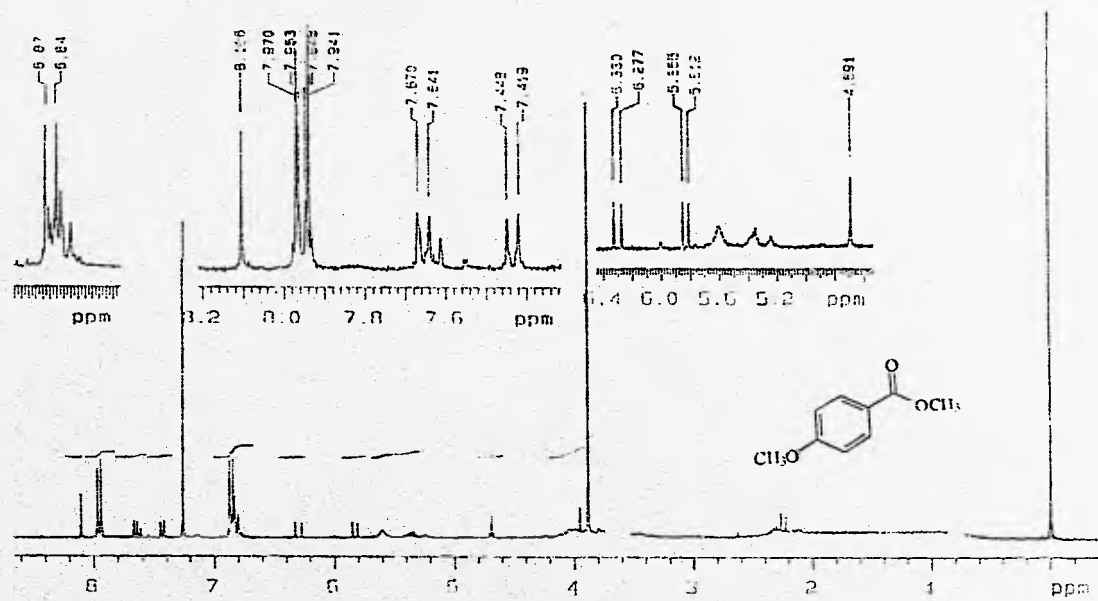
Espectro 24. (IR, CHCl₃). 3,4-dimetoxi- cinamato de metilo 35



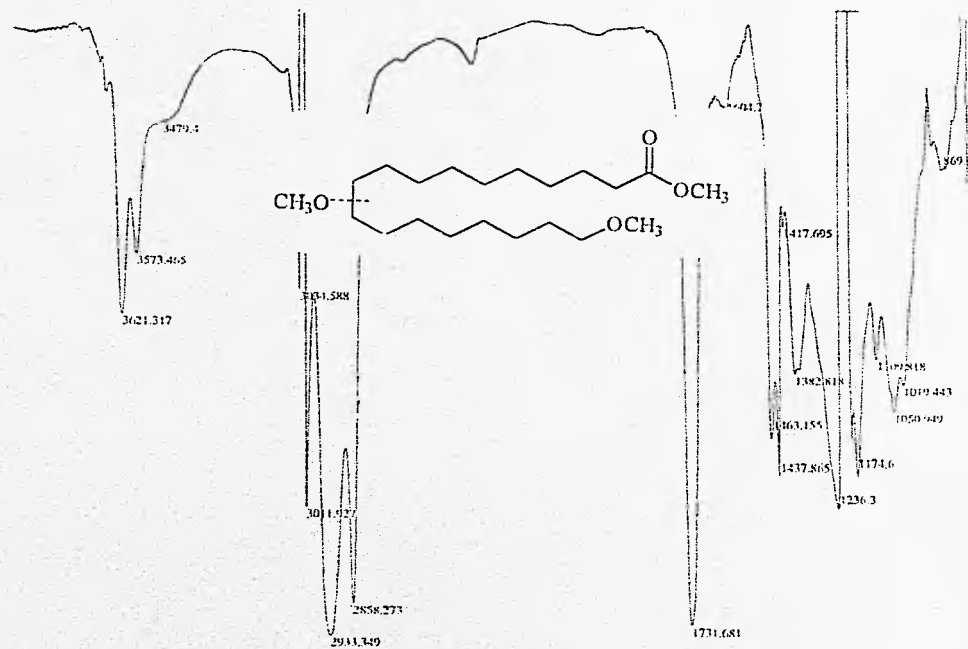
Espectro 25. RMN¹H (CDCl₃, 300 MHz) 3,4-dimetoxi- cinamato de metilo 35



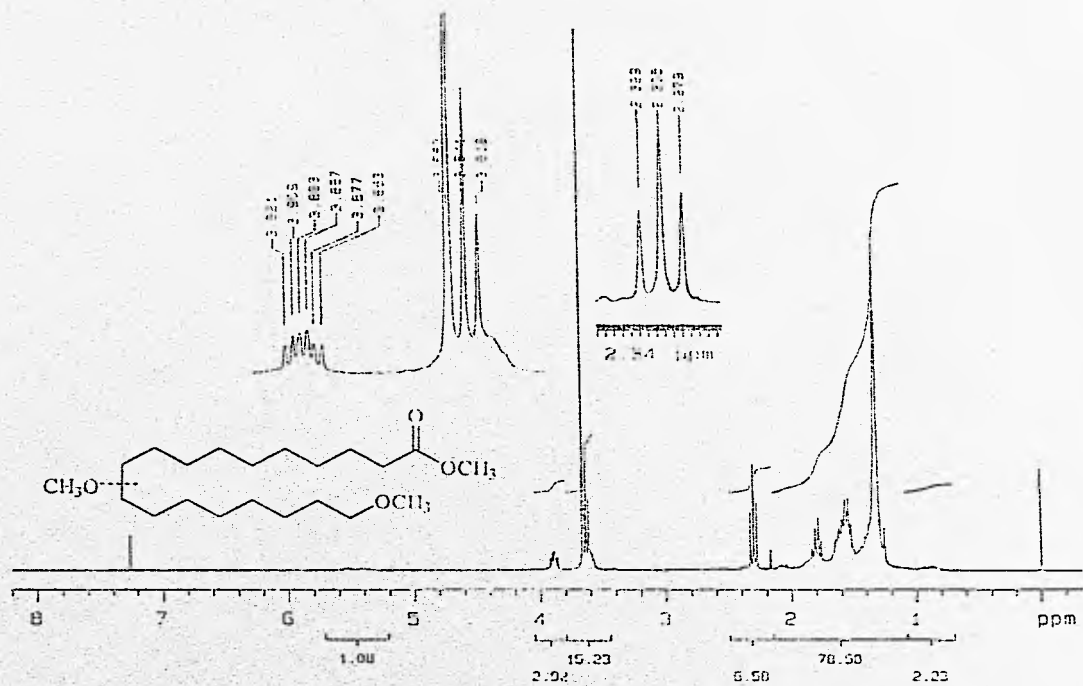
Espectro 26. RMN¹H (CDCl₃, 300 MHz) 4-hidroxi-3-dimetoxi- cinamato de metilo 36



Espectro 27. RMN^1H (CDCl_3 , 300 MHz) *p*-metoxi benzoato de metilo 37



Espectro 28. (IR, CHCl₃). ácido graso oxigenado 38



Espectro 29. RMN¹H (CDCl₃, 300 MHz) ácido graso oxigenado 38

8. BIBLIOGRAFIA

1. Delgado, G. y Espinosa-García, F. Proyecto de investigación: "El Perfil de Metabolitos Secundarios de Malezas y su Relación a la Longevidad y Susceptibilidad a Microorganismos en el Suelo DGAPA. UNAM IN205892".
2. Catálogo de Especies Vegetales Consideradas Maleza. Edición de la Asociación Mexicana de la Ciencia de las Malezas AC. México D.F. Nov/91.
3. Billeter, M.; Meier, B. and Sticher, O.; 8-Hidroxyflavonoids Glucuronides from *Malva sylvestris*. *Phytochemistry* **30**, 987 (1991).
4. Adams, R.; Geissman, T.A.; Edwards, J.D. *Chem. Rev.* **60**, 555 (1960).
5. Bell, A.; Stipanovc, R. D.; O'Brien, D. H.; *Phytochemistry* **17**, 1297 (1978).
6. Marcelle, G. B., Cardell, G. A., Soejarto, D. D., *J. Nat. Prod.* **48**, 162-163 (1985).
7. Jaroszewski, J., Strom-Hansen, T., On the Botanical Distribution of Chiral Forms of Gossypol. *Planta Med.* **58**, 454 (1992).
8. Ciulei, L.; Istudor, V.; Palade, M., Phytochemical and Pharmacological Research on Anthocyanins for Obtaining New Natural Drugs. *An. R. Acad. Farm.* **56**, 531 (1990). *Chem. Abstr.* **116** : 33947f.
9. Pourrat, H.; Texier, O., Identification and Assay of Anthocyanin Pigments in *Malva sylvestris*. *Pharm. Acta. Helv.* **65**, 93 (1990).
10. Matlawska, Y., Investigation of Flavonoid Compounds of Selected Species from Malvaceae family. *Herba Pol.* **36**, 65 (1990). (*Chem. Abstr.* **116**: 18416p).
11. Tomoda, M.; Shimizu, N., Anti-Complementary and Hypoglycemic Activities of the Glycans from the Seeds of *Malva verticillata*. *Planta Med.* **56**, 168 (1990).
12. Villarias, J. L.; Atlas de Malas Hierbas, 2a Edición, Mundiprensa, 1992.

13. Martínez, M. Las Plantas Medicinales de México, Editorial Botas 1964.
14. Al-Jaber, N., Mujahid T., Secondary Metabolites of Chenopodiaceae Species. *Jour. Chem. Soc. Pak.* **14**, 76 (1992)
15. Gutiérrez, P. Aislamiento y Caracterización Estructural de Acil Glicosil Esteroles y otros Constituyentes de *Chenopodium nuttalliae* (Huanzontle). Tesis, UNAM, 1992.
16. Rodríguez-Hahn, L.; Esquivel, B. Diterpenos Abietánicos de Salvias Mexicanas. *Rev. Latinoamer. Quim.* **20**, 105 (1989)
17. Ulubelen, A. , New Diterpenoids from the Roots of *Salvia triloba*. *Planta Med* **56**, 82 (1992).
18. Chun-bo, A. and Lian-niang, L. , Salvianolic Acids D y E. Two New Depsides from *Salvia miltiorrhiza*. *Planta Med.* **58**, 197 (1992).
19. a) Rodríguez, Hahn. L. , O'Reilly, R., Esquivel, B., Maldonado, E., Ortega, A., Cárdenas, J., and Toscano, R. , Tilifodiolide, Tetraline-Type Diterpenoid of Clerodanic Origin of *Salvia thiaefolia*. *J. Org. Chem.* **55**, 3522 (1990) b) Rodríguez-Hanh, L. Esquivel, B., Cárdenas, J., *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* **63**, 107 (1994).
20. Petri, G.; Then, M. and Chanthabout, L. Tannins and Other Polyphenolic Compounds in the Genus *Salvia*. *Planta Med.*, 575 (1988).
21. Las Gramíneas de México, Tomo III. SARH, COTECOCA 1991.
22. Gillespie, R. G. and Natewaja, D. J., Influence of 2,4-D and MCPA Formulations and Oil on diclofon Phytotoxicity. *Weed. Science* **137** (1989)
23. Ngyen-Minh, P. and Tran-Van, S., Sterol Glucosides from *Eleusine indica*. *Planta Med.* **60**, 498 (1994).

24. Soriano, J., Características Químicas de la Semilla de Amaranto. *Ciencia* 43, 113 (1992).
25. Sánchez, M. A. Composición Química de la Semilla del Huauzontle (*Chenopodium nuttalliae*). Tesis, UNAM, 1983.
26. Clasen, D. Arnason, J. T. Serratos, J.A., Correlation of Phenolic Acid Content of Maize to Resistance to *Sitophilus zeamais*, The Maize Weevil in Cimmytis Collections. *J. Chem. Ecol.* 16, 301 (1989).
27. Pelletier, S. W., *J Nat. Prod.* 49, 892 (1986).
28. Castro N. Aislamiento y Determinación de la Estructura Molecular de los Constituyentes Químicos Mayoritarios Presentes en *Lopezia racemosa* (Onagraceae). Tesis, UNAM 1995
29. Laurence, D. Phytoecdysteroids and Insect-Plant Relationships in The Chenopodiaceae. *Ser. Entomol.* 49, 86 (1992) (*Chem. Abstr.* 122: 183122).
30. Aeschbach, R. , Baechler, R. Mechanical Extraction of Plants Antioxidants by Oils. *Fett. Wiss. Technol.* 96, 441 (1994) (*Chem. Abstr.* 122: 212431).
31. Falbe, J. Baumann, H. Hirsinger, F. , Bühler, M., Fochem, H., and Zobelein, H., Natural Fats and Oils -Renewable Raw Materials for the Chemical Industry. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 27, 41 (1988).