

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

19

Tej

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

AISLAMIENTO Y DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA  
MOLECULAR DE LOS CONSTITUYENTES QUIMICOS  
MAYORITARIOS PRESENTES EN  
**Lopezia racemosa** (Onagraceae).

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A  
NELLY NORMA CASTRO TORRES



MEXICO, D. F.

1995

FALLA DE ORIGEN

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**JURADO ASIGNADO:**


<b>PRESIDENTE</b>	Dr. Alfonso Romo de Vivar.
<b>VOCAL</b>	M. en C. María Isabel Aguilar Laurents.
<b>SECRETARIO</b>	Dr. Eduardo Guillermo Delgado Lamas.
<b>1er. SUPLENTE</b>	M. en C. José Gustavo Avila Zárrega
<b>2do. SUPLENTE</b>	M. en C. Perla Carolina Castañeda López

**SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:**

**INSTITUTO DE QUIMICA UNAM.**

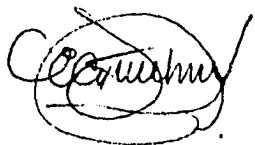
**SUSTENTANTE:**

Nelly Norma Castro Torres



**ASESOR DEL TEMA:**

Dr. Eduardo Guillermo Delgado Lamas.



**SUPERVISOR TECNICO:**

M. en C. María Isabel Aguilar Laurents.



**Dedico mi tesis  
con todo mi amor a mi abuelita María,  
por el cariño y la ternura que siempre me ha dado.**

**A mi mamá  
porque a pesar de todos sus sufrimientos  
siempre ha estado conmigo en todo momento  
brindandome su cariño.**

**A Tita  
por su total apoyo, pero  
principalmente por considerarme  
como su hija.**

A mi papá y a todos mis hermanos  
por apoyarme en toda mi carrera.

A mis sobrinos y sobrinas  
ya que siempre los he visto como mis  
hermanos menores.

A Alfonso  
por estar a mi lado y brindarme  
su cariño y apoyo.

A Roberto, **Paty** y **Manuel**, Alicia,  
Elena, Rita, Elizabeth, y a todos mis amigos y  
amigas de la facultad con los que he  
compartido muy gratos momentos.

A mis maestros y maestras  
por su dedicación y por ser parte de mi formación  
como profesionista y como persona.

## AGRADECIMIENTOS

**A Dios Nuestro Señor:**  
por permitirme terminar mi carrera en vida de mis padres, y este trabajo que representa todo el cariño y esfuerzo de mi familia para la realización de mi carrera.

A la UNAM:

**Esta tesis fué desarrollada en el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del Dr. Eduardo Guillermo Delgado Lamas y la supervisión técnica de la M.en C. María Isabel Aguilar Laurents, con el apoyo económico del proyecto IN205892, otorgado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la propia universidad**

**Al Dr. E. Guillermo Delgado Lamas:**

**Con todo respeto y cariño por permitirme participar en sus proyectos de investigación, y por su apoyo y comprensión que me brindó en la realización de este trabajo.**

**A las maestras Isabel y Yolanda :**

**Por la ayuda que siempre me brindaron para la elaboración de este trabajo, pero sobre todo por su amistad y cariño.**

**Al personal del Instituto de Química:**

**Y especialmente a todas las personas que contribuyeron a la realización de esta tesis.**

**INDICE**



## CONTENIDO

I.	INTRODUCCION.	1
II.	ANTECEDENTES.	3
III.	DESARROLLO EXPERIMENTAL.	9
	a. Estudio químico de partes aéreas (flores, tallos y hojas).	12
	b. Estudio químico de las semillas.	26
IV.	DISCUSION DE RESULTADOS.	
	a. Del estudio químico de partes aéreas (flores, tallos y hojas)	31
	b. Del estudio químico de semillas.	50
V.	RESUMEN Y CONCLUSIONES.	56
VI.	ESPECTROS	
1.	IR (CHCl <sub>3</sub> ) de eicosanoato de etilo (16)	58
2.	RMN <sup>1</sup> H (200 MHz) de eicosanoato de etilo (16)	59
3.	RMN <sup>1</sup> H (200 MHz) de eicosanoato de campesterilo (17)	60
4.	RMN <sup>1</sup> H (200 MHz) de la mezcla de linoleato de β-sitosterilo (18) y palmitato de etilo (19)	61
5.	RMN <sup>1</sup> H (200 MHz) de linoleato de β-sitosterilo (18)	62
6.	RMN <sup>1</sup> H (200 MHz) de palmitato de etilo (19)	63
7.	RMN <sup>1</sup> H (200 MHz) de β-sitosterol (20)	64
8.	RMN <sup>1</sup> H (200 MHz) de acetato de β-sitosterilo (20)	65
9.	RMN <sup>1</sup> H (200 MHz, CDCl <sub>3</sub> +DMSO) de β-D-glucopiranosido de β-sitosterilo (22)	66

10. RMN <sup>13</sup> C (75 Hz) de β-D- glucopiranosido de β-sitosterilo (22)	67
11. RMN <sup>13</sup> C DEPT (75 Hz) de β-D glucopiranosido de β-sitosterilo (22)	68
12. RMN <sup>1</sup> H (200 MHz) de tetraacetil β-D-glucopiranosido de β-sitosterilo (23)	69
13. RMN <sup>1</sup> H (200 MHz) de pentaacetil β-D-glucopiranosida (24)	70
14. RMN <sup>13</sup> C (75 Hz) de pentaacetil β-D-glucopiranosida (24)	71
15. RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) de octaacetil 2-O-(β-D-fructofuranosil)-α-D-fructofuranosa (27)	72
16. RMN <sup>13</sup> C (125 Hz) de octaacetil 2-O-(β-D-fructofuranosil)-α-D-fructofuranosa (27)	73
17. RMN <sup>13</sup> C DEPT (125 Hz) de octaacetil 2-O-(β-D-fructofuranosil)- α-D-fructofuranosa (27)	74
18. IR (CHCl <sub>3</sub> ) de octaacetil 2-O-(β-D-fructofuranosil)-α-D-fructofuranosa (27)	75
19. <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H COSY (500 MHz) de octaacetil 2-O-(β-D-fructofuranosil)- α-D-fructofuranosa (27)	76
20. <sup>13</sup> C HMQC (500 MHz) de octaacetil 2-O-(β-D-fructofuranosil)- α-D-fructofuranosa (27)	77
21. RMN <sup>1</sup> H (200 MHz) de octaacetil β-D-fructofuranosido de α-D-glucopiranosilo (30)	78
22. RMN <sup>13</sup> C (75 Hz) de octaacetil β-D-fructofuranosido de α-D-glucopiranosilo (30)	79
23. RMN <sup>1</sup> H (200 MHz) de triacilglicerol (31)	80
24. RMN <sup>13</sup> C (75 Hz) de triacilglicerol (31)	81
25. RMN <sup>1</sup> H (200 MHz) de oleato de campesterilo (32)	82
26. RMN <sup>1</sup> H (200 MHz) de sacarosa (33)	83
27. RMN <sup>13</sup> C DEPT (75 Hz) de sacarosa (33)	84
Cromatograma 1 de Triacilglicerol (31)	85
Cromatograma 2 de Triacilglicerol (31)	86

VII. BIBLIOGRAFIA

87

## **INTRODUCCION**

## Introducción

En nuestro país, el conocimiento químico relacionado con el aspecto ecológico es de gran importancia, debido a su ampliamente reconocida biodiversidad. Un tema de importancia para la ecología es el estudio de malezas, y puede afirmarse que la práctica del control de las plantas arvenses es tan antigua como la agricultura misma. De hecho, durante cientos de años, el hombre ha luchado para controlarlas y en algunos casos eliminarlas, contando en un principio sólo con sus manos e instrumentos rudimentarios, posteriormente se empleó la fuerza animal y finalmente aparatos mecánicos. A principios del presente siglo se inició el uso de productos químicos elaborados para el control selectivo de las malezas. El uso de herbicidas selectivos empezó hasta mediados de los cuarentas, con el empleo del ácido 2,4-D (ácido 2,4 diclorofenoxiacético),<sup>1</sup> y a partir de este hallazgo, el control de las malezas a base de herbicidas ha tenido algunos avances,<sup>2</sup> aunque todavía hay mucho por hacer al respecto. Actualmente existe la tendencia hacia la búsqueda de productos químicos que se empleen para una cosecha específica.

De lo anterior es posible apreciar la importancia del conocimiento químico aplicado a los fenómenos biológicos. Así es necesario conocer los aspectos estructurales de las malezas y su composición metabólica, ya que algunas se consideran venenosas, o tienen efecto alelopático hacia otras plantas; también pueden causar alergias o envenenamientos tanto en animales como en humanos, pérdidas en las cosechas, o servir como hospederas de insectos que pueden causar daño en la cosecha,<sup>1,3,4</sup> por lo que resulta esencial el conocimiento de la estructura molecular de los compuestos que son responsables de estas acciones, y con ello establecer un eventual control de los efectos que manifiestan, mediante la elucidación de los mecanismos químicos de interacción biológica.

Ciertas plantas arvenses son muy abundantes en cultivos de importancia económica en la parte central de México, las cuales representan un problema principalmente en cultivos de maíz. Entre estas malezas destacan *Lopezia racemosa* (Onagraceae, "alfilerillo"), *Bidens pilosa* (Compositae, "aceitilla"), *Encelia mexicana* (Compositae, "acahualillo"), *Medicago hypsida* (Leguminosae, "carretilla") y *Amaranthus hybridus* (Amaranthaceae, "quelite").<sup>5</sup>

Se ha observado que las semillas de estas malezas pueden permanecer latentes en el suelo durante prolongados periodos de tiempo, por lo que se planteó la hipótesis de que existe una correlación entre el contenido metabólico de las semillas (en cuanto a diversidad estructural y abundancia relativa) y su longevidad en el suelo: a mayor diversidad y abundancia, mayor longevidad.<sup>6</sup>

Considerando la tradición que existe en nuestro país referente al estudio químico de las plantas,<sup>7,8</sup> se consideró viable realizar el análisis químico de ciertas plantas arvenses,<sup>9</sup> y generar conocimiento referente a la estructura molecular de los metabolitos secundarios. Eventualmente, las sustancias aisladas podrán ensayarse biológicamente en diversas pruebas, con el fin de evaluar experimentalmente la hipótesis referente a la longevidad de las semillas en el suelo.

El presente trabajo consiste en la determinación estructural de los constituyentes químicos mayoritarios presentes en las partes aéreas del vegetal *Lopezia racemosa*, diferenciando por un lado las partes aéreas en flores, tallos y hojas, y por otro, las semillas. Esta investigación representa una contribución al conocimiento de los constituyentes químicos de la flora nacional, y pretende coadyuvar al entendimiento de las interrelaciones biológicas de esta especie.

**ANTECEDENTES**

## Antecedentes.

La presencia de malezas en los terrenos de cultivo es una de las causas que originan pérdidas importantes en la agricultura, ya que reducen el valor de las tierras al competir por agua, luz, espacio y nutrientes, con las plantas cultivadas. La competencia del *Solanum nigrum* y *Amaranthus palmeri* con sembradíos de algodón, es bien conocida reduciendo el rendimiento en la cosecha.<sup>3,4</sup>

Las malezas también dificultan la mecanización, y pueden resultar venenosas u hospederas de plagas de insectos que atacan a las plantas del sembradío; por ejemplo, el gorgojo puede hospedarse en zanahorias silvestres, para luego atacar a las zanahorias cultivadas;<sup>1,3</sup> Las plantas venenosas pueden matar a los animales, bajar su tasa de crecimiento, o causar un sinnúmero de problemas. Por otra parte, algunas son difíciles de erradicar de los terrenos de cultivo o no pueden ser separadas de las semillas cosechadas durante el beneficio mecánico. Por lo general, las semillas no pueden moverse, por lo que dependen de otras fuerzas para diseminarse. Así, la propagación de las semillas y su habilidad para permanecer aptas durante muchos años es uno de los problemas más complejos en el estudio de las malezas.<sup>1,5</sup>

Una de las malezas ampliamente distribuida en el valle de México, muy abundante en los cultivos de maíz, frijol, calabaza y alfalfa, así como ruderal, es la planta *Lopezia racemosa*, que pertenece a la familia Onagraceae<sup>5</sup>

Este vegetal se conoce comúnmente como "perilla", "perilla", "alfilerillo", y "aretillo".<sup>5,10</sup>

La familia Onagraceae esta integrada por los géneros *Fuchsia*, *Hauya*, *Epilobium*, *Lopezia*, *Gonglylocarpus*, *Gaura*, *Oenothera*, *Luidwigia* y *Jussiaeu*.<sup>11</sup>

El género *Lopezia* se compone de las siguientes especies: *L. cavanilles*, *L. coronata*, *L. grandiflora*, *L. hirsuta*, *L. racemosa* y *L. miniata*.<sup>11</sup>



*Lopezia racemosa* es una hierba anual o perenne, que se distingue por tener tallos ascendentes o erectos, raramente decumbentes, hojas no suculentas, pubescentes o raramente subglabras, ovadas o lanceoladas y pétalos más o menos anaranjados.

Se localiza en bosques de pino, oyamel, encino, juniperus, mesófilo, también en pastizal y matorral xerófilo a una altitud de 2200 a 3100 m.

Esta especie se distribuye ampliamente en el valle de México, desde Durango y San Luis Potosí hasta El Salvador.<sup>7</sup>

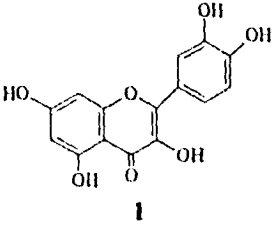
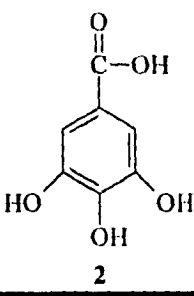
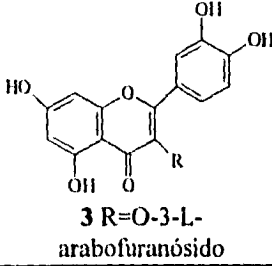
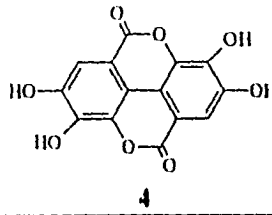
Las semillas de *Lopezia racemosa* tienen tamaño pequeño, aproximadamente de 0.8 a 1.3 mm de largo por 0.6 a 0.9 mm de grosor, de forma ovoide, de aspecto rugoso y de color café.

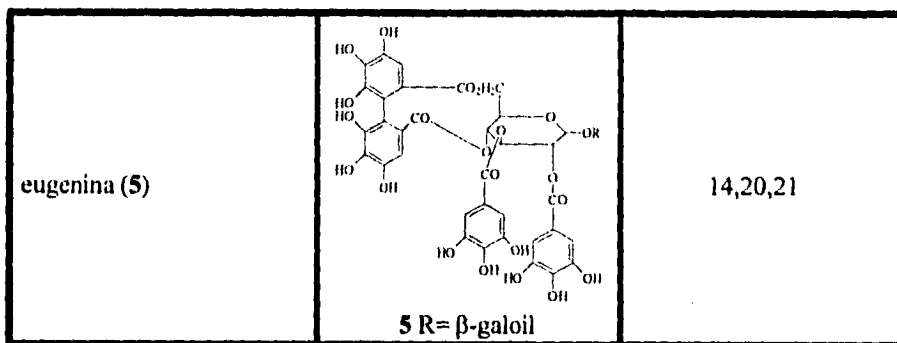
Esta especie presenta una variabilidad morfológica muy amplia al igual que su afín *Lopezia miniata*, con la cual se presenta simpáticamente en algunas localidades. Algunas especies del género *Lopezia*, entre ellas *Lopezia racemosa*, son regularmente visitadas y polinizadas por colibríes y otras aves voladoras.<sup>11,12</sup>

Se han informado algunos usos en la medicina tradicional de este vegetal, como en el tratamiento de algunos padecimientos de garganta, dolor de muelas, para contusiones, y en el tratamiento úlceras. También se emplea como balsámico y diurético.<sup>13,15</sup>

Existe un informe en la literatura referente a los constituyentes químicos de *Lopezia racemosa*. Esta investigación fué realizada por el grupo de investigaciones químico-biológicas de la Universidad Michoacana. En este estudio se encontró quercetina(1), ácido gálico (2), avicularina (3), ácido elágico (4) y eugenina (5), y se informa en particular que este vegetal es útil en el tratamiento de padecimientos de garganta, como hemostático y para tratamientos de úlceras. La planta analizada proviene de Cointzio, Michoacán.<sup>13</sup> No existen informes químicos adicionales sobre esta especie. En la tabla 1 se muestran esquemáticamente los resultados de esta investigación.

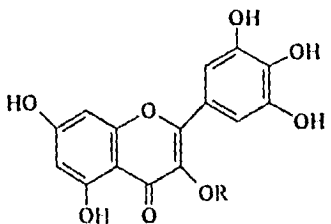
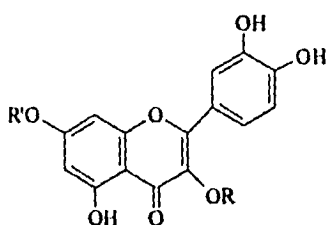
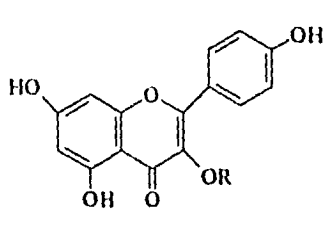
Tabla 1

Compuesto	Estructura Química	Referencia
quercetina (1)	 <p style="text-align: center;">1</p>	14,16
ácido gálico (2)	 <p style="text-align: center;">2</p>	14
avicularina (3)	 <p style="text-align: center;">3 R=O-3-L-arabofuranósido</p>	14,17,18
ácido elágico (4)	 <p style="text-align: center;">4</p>	14,19



Referente a la familia Onagraceae, sólo existen informes fragmentarios en la literatura. Un estudio de interés quimio-sistemático que incluyó a las familias Ranunculaceae, Onagraceae y Valerianaceae fué realizado por Seitz en 1979.<sup>22</sup> En él se hacen comparaciones basadas en las cromatoplasmas analíticas de diversas especies. En particular, se incluyeron varias especies (agrupadas en la series Renneria, Allochroa y Clelandia del género *Oenothera*) de la familia Onagraceae. La tabla 2, muestra algunos ejemplos selectos referente a los flavonoides presentes en el género *Oenothera*.

Tabla 2

Nombre	Estructura Química	Referencia
<p>3-O-glucósido de miricetilo (6)</p> <p>3-O-rhamnósido de miricetilo (7)</p>	 <p>6 R= glucosil 7 R= rhamnosil</p>	<p>22</p>
<p>3-O-glucósido de quercetilo (8)</p> <p>3-O-galactósido de quercetilo (9)</p> <p>3-O-rhamnósido de quercetilo (10)</p> <p>3-O-rhamnoglucósido de quercetilo (11)</p> <p>3,7-O-diglucósido de quercetilo (12)</p>	 <p>8 R= glucosil, R'= H 9 R= galactosil, R'= H 10 R= rhamnosil, R'= H 11 R= rhamnoglucosil, R'= H 12 R=R'= glucosil</p>	<p>22</p>
<p>3-O-glicósido de kaemferilo (13)</p> <p>3-O-galactósido de kaemferilo (14)</p>	 <p>13 R= glicosil 14 R= galactosil</p>	<p>22</p>



## **DESARROLLO EXPERIMENTAL**

## **Desarrollo Experimental**

La planta *Lopezia racemosa*, fué colectada en el municipio de Chapingo, Edo. de México, en 1992, y su identificación botánica fué realizada por el Dr. Francisco Javier Espinosa García, del Centro de Ecología de la UNAM. Una muestra del material vegetal se depositó en el Herbario del Instituto de Biología de la UNAM. El material vegetal se dejó secar a temperatura ambiente, y posteriormente fué molido, obteniéndose 1.18 Kg de planta, que fueron extraídos con hexano mediante tres maceraciones, empleando 5 litros de disolvente por 48 hrs. El disolvente fué eliminado por destilación a presión reducida, obteniéndose 10.93 g de residuo. Posteriormente el material se sometió a dos maceraciones adicionales, utilizando acetato de etilo y metanol, siguiendo el mismo procedimiento descrito para el extracto hexánico, obteniéndose 9.94 g y 112.72 g de extracto, respectivamente. Diagrama 1.

Cada extracto obtenido se fraccionó en mezclas menos complejas, mediante cromatografía en columna. Las fracciones se analizaron por cromatografía en capa fina analítica, y se reunieron de acuerdo con sus características cromatográficas. Los diversos conjuntos de fracciones se resolvieron en sus componentes mediante cromatografías sucesivas en columna y/o en placa preparativa.

Para las cromatografías en columna se utilizó como fase estacionaria Sílica-gel para placa Merck, malla 70-230. El análisis por cromatografía en placa fina analítica se llevó a cabo en cromatofolios Alugram Sil G/UV 254, Macherey-Nagel Düren y una lámpara de UV Spectroline Modelo ex-20 a 365, 254 nm de longitud de onda, utilizando como revelador sulfato cérico amónico al 1% en ácido sulfúrico 2N. La cromatografía en placa se realizó en placas preparativas Merck de 2 mm de grosor una superficie de 20 x 20 cm.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns, y no están corregidos.

Los espectros de RMN<sup>1</sup>H se obtuvieron en un espectrómetro analítico Varian-Gemini 200 y Varian XR-300, a 200, 300 y 500 MHz, utilizando como disolvente CDCl<sub>3</sub>, DMSO y D<sub>2</sub>O, según el caso, y como referencia interna tetrametilsilano (TMS)

Los espectros de RMN<sup>13</sup>C se obtuvieron en un equipo Varian XR-300 a 75 y 125 Hz

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.

Los espectros de UV se determinaron en un espectrofotómetro Shimadzu UV 160.

En algunos casos se recurrió a experimentos en RMN<sup>13</sup>C con Desacoplamiento Electrónico por Transferencia de Polarización (DEPT) y (HMQC), y en RMN<sup>1</sup>H (COSY).



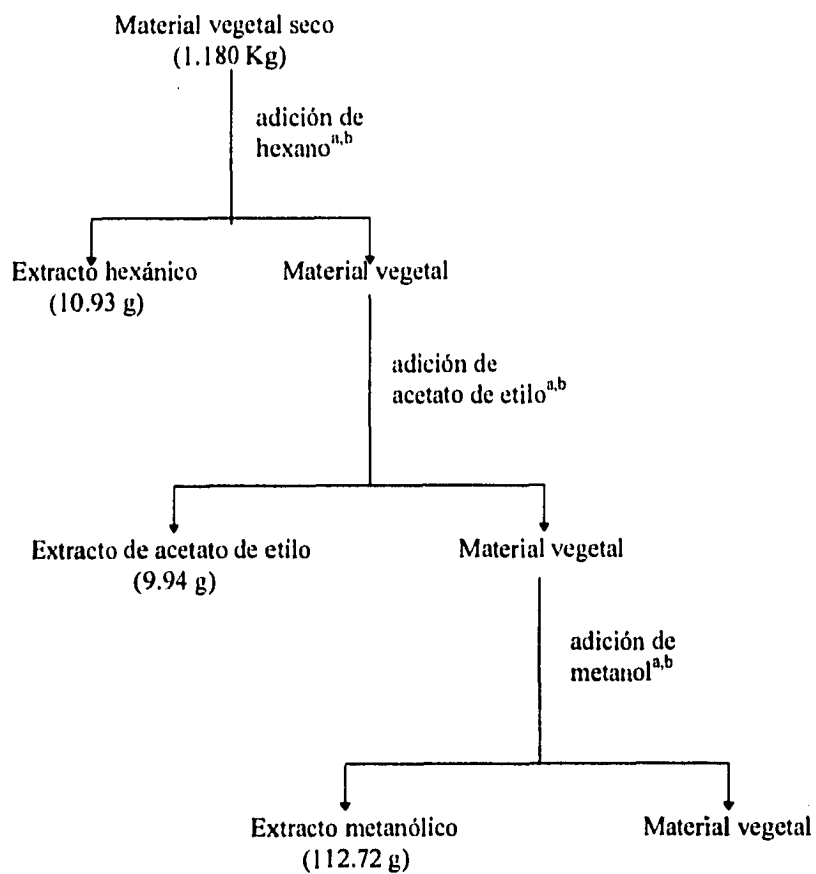


Diagrama 1. Extracción de las partes aéreas (tallos, hojas y flores) de *Lopezia racemosa*.

<sup>a</sup> se realizaron 3 extracciones con cada disolvente.

<sup>b</sup> a temperatura ambiente por 48 hrs.

### Fraccionamiento del extracto hexánico.

El extracto hexánico (10.93 g) se adsorbió en gel de sílice en relación 1:1, y se aplicó a una columna empacada con gel de sílice en relación 1:20, con respecto al extracto. La columna se eluyó con hexano y mezclas de hexano-acetato de etilo ambos en orden creciente de polaridad obteniéndose 102 fracciones de 250 ml. Como resultado de este fraccionamiento, se reunieron tres grupos de fracciones, cuyo agrupamiento, sistema de elución, y clave de su recromatografía, se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Columna EH

Fase móvil	Proporción	Fracciones	Recromatografía
hexano-AcOEt	90:10	27-29	EHR-1
hexano-AcOEt	80:20	30,31	EHR-2
hexano-AcOEt	80:20	32-37	-

La recromatografía de las fracciones 27-29 (3.94 g, EHR-1), se realizó en una columna empacada con sílica-gel, en relación 1:30 respecto al extracto. El resultado de este fraccionamiento se muestra en la tabla 4.

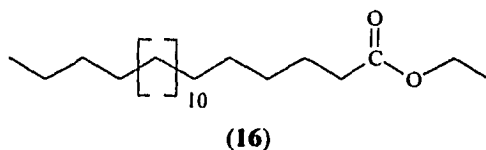
Tabla 4. Recromatografía EHR-1.

Fase móvil	Proporción	Fracciones	Peso (mg)
hexano	100%	30	13.8
hexano	100%	78	12.0
hexano	100%	82-94	79.2
hexano	100%	95-104	55.2
hexano-AcOEt	98:2	122-173	82.16

De la fracción 30 se obtuvo un residuo aceitoso homogéneo en cromatografía analítica, que fué caracterizado como eicosanoato de etilo (16).

IR  $\nu_{\max}$  (CHCl<sub>3</sub>): 2924, 2852, 1733, 1464, 1375 y 758 cm<sup>-1</sup>

RMN<sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ , asignación; 0.879 (t, J=6.3 Hz, CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>), 1.29 (s, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-), 2.29 (t, J=7.5 Hz, CH<sub>2</sub>-COO), 4.12 (m, CH<sub>2</sub>-O).

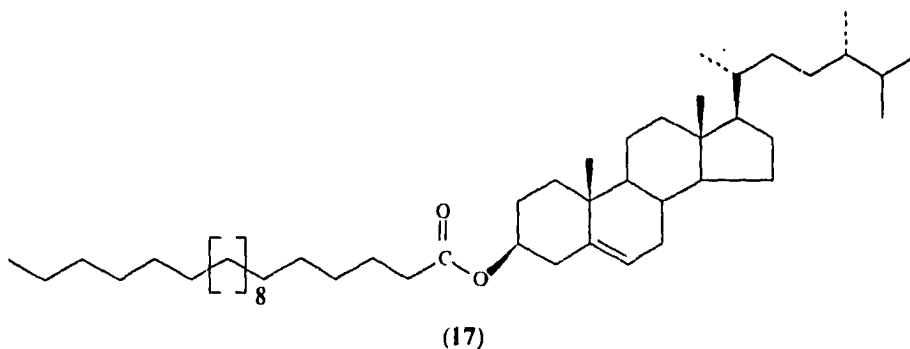


La fracción 78 de la columna EHR-1 mostró un componente mayoritario, que fué la mezcla compuesta por el eicosanoato de campesterilo (17) más un éster análogo al eicosanoato de etilo (16), descrito anteriormente. Esta mezcla presentó las siguientes constantes físicas y espectroscópicas:

Pf 46 °C

IR  $\nu_{\max}$ (CHCl<sub>3</sub>): 3429, 2928, 2854, 1733, 756 cm<sup>-1</sup>

RMN<sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ , asignación; 0.678 (3H, s, H-18), 0.81 (3H, d, J=6.8 Hz, H-27), 0.83 (d, J=6.5 Hz, H-26), 0.88 (3H, d, H-28), 0.92 (d, J= 6.8 Hz, H-21), 1.02 (3H, s, H-19), 1.25 (señal intensa, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-), 2.29 (t, 2H), 2.76 (m, CH<sub>2</sub>-COO), 4.13 (q, J=3.0 Hz), 4.6 (1H, m, H-3), 5.36 (1H, m, H-26).

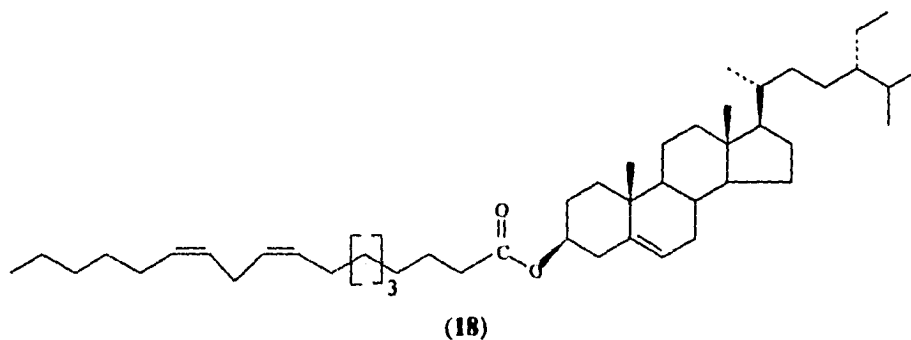


La fracción 87 (13.9 mg), de la columna EHR-1, consistió de una mezcla representada por dos manchas difusas en la cromatografía analítica, por lo que se procedió a realizar su separación mediante la aplicación de las fracciones 82-94 (49.1 mg) en placa preparativa, utilizando como fase móvil hexano-AcOEt (95:5). Mediante este procedimiento se obtuvieron dos compuestos. El de mayor polaridad, se identificó como linoleato de  $\beta$ -sitosterilo (**18**). Sus características físicas y espectroscópicas son las siguientes :

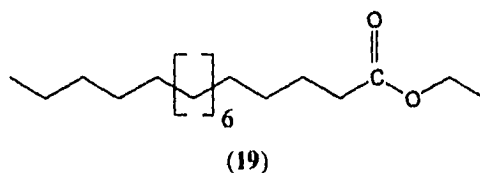
Pf 48 °C

RMN<sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ , asignación; 0.67 (s, 3H, H-18), 0.81 (d, 3H, H-27), 0.83 (d, 3H, H-26), 0.84 (t, 3H, H-29), 0.93 (d, 3H, H-21), 1.019 (s, 3H, H-19), 2.80 (t, CH<sub>2</sub>-COO), 4.6 (m, H-3), 5.36 (m, -C=CH-).

RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 Hz),  $\delta$ , asignación : 11.84 (C-18), 18.76 (C-21), 19.05 (C-27), 19.3 (C-19), 73.69 (C-3), 122.5 (C-6), 127-131 (-C=C-), 139.6 (C-5), 173.3 (-COO-).



El compuesto de menor polaridad, se caracterizó como palmitato de etilo (**19**).



Las características espectroscópicas de **19** son las siguientes :

IR  $\nu_{\max}$ (CHCl<sub>3</sub>) : 2929, 2856, 1733 cm<sup>-1</sup>

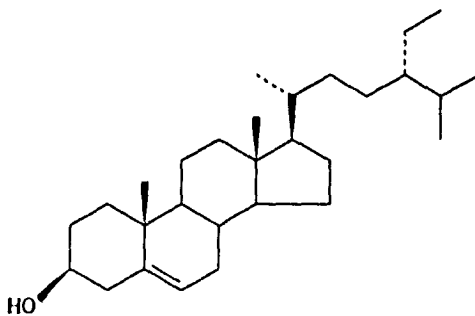
RMN<sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ , asignación: 0.86 (t, CH<sub>3</sub>-), 1.22 (s, 26 H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-), 2.28 (t, 7.5 Hz, CH<sub>2</sub>-COO), 4.12 (CH<sub>2</sub>-O).

De las fracciones 32-37 de la columna inicial (EH), se observó la presencia de cristales en forma de agujas, los cuales se purificaron por recristalización, obteniéndose 337 mg de  $\beta$ -sitosterol (**20**).

Pf 138-140°C

IR  $\nu_{\max}$ (CHCl<sub>3</sub>) : 3067, 3040, 2956, 2868, 1464, 1330 cm<sup>-1</sup>.

RMN<sup>1</sup>H, (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ , asignación; 0.68 (3H, s, H-18), 0.81 (d, H-27), 0.83 (d, J=6.7 Hz, H-26), 0.84 (t; J=7.4 Hz, H-29), 0.97 (d, J=6.4 Hz, H-21), 1.017 (3H, s, H-19), 3.5 (1H, m, H-3), 5.36 (1H, d, H-6).

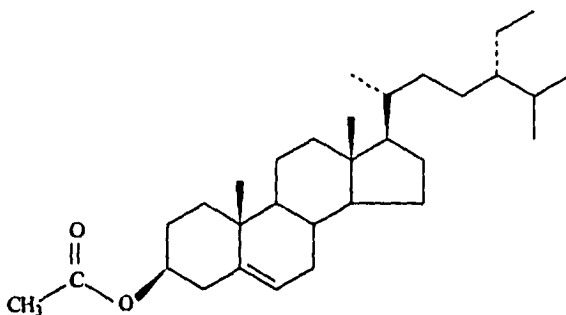


(20)

Para comprobar su identificación se procedió a realizar una reacción de acetilación, para lo cual se hicieron reaccionar 29 mg de la muestra con 2 ml de anhídrido acético y 2 ml de piridina, con agitación constante a temperatura ambiente realizando el seguimiento por CCF. Al término de la reacción se llevó a cabo su extracción de acuerdo a la metodología usual, obteniéndose 29.7 mg del producto de acetilación (**21**).

RMN<sup>1</sup>H, (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ, asignación; 0.68 (3H, s, H-18), 0.83 (d, H-26), 1.018 (3H, s, H-19), 2.03 (3H, s, CH<sub>3</sub>-COO), 4.6 (1H, m, H-3), 5.36 (1H, d, H-6).

RMN<sup>13</sup>C, (CDCl<sub>3</sub>, 75 Hz), δ, asignación ; 11.8 (C-18), 11.9 (C-29), 18.76 (C-21), 19.07 (C-27), 19.3 (C-19), 19.8 (C-26), 79.3 (C-3), 122.6 (C-6), 139.63 (C-5), 170.5 (COO).

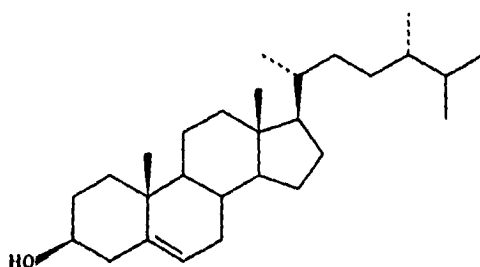


(21)

### Fraccionamiento del extracto de acetato de etilo.

El extracto de acetato de etilo (9.94 g) se adsorbió en celita y se aplicó en una columna de sílice (300 g), eluyendo con hexano y mezclas de hexano-acetato de etilo obteniendo 188 fracciones de 250 ml.

Las fracciones 25-33 (120 mg) presentaron un compuesto mayoritario, el cual se separó por aplicación de 50 mg del peso total de las fracciones en cromatoplaaca preparativa, obteniéndose 37 mg de  $\beta$ -sitosterol (**20**). (Rf 0.45, en hexano-AcOEt (8:2)).



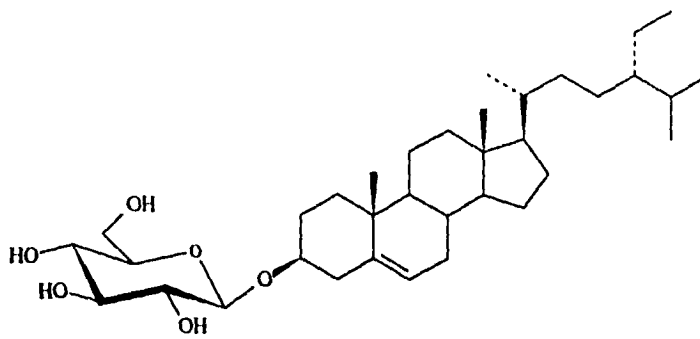
(20)

De las fracciones 171-179 se obtuvo un sólido amorfo de color crema, el cual se sometió a lavados con acetona caliente y se dejó secar a temperatura ambiente. El análisis espectroscópico del polvo obtenido y la comparación con datos reportados<sup>26</sup> anteriormente, permitió caracterizar al  $\beta$ -D-glucopiranosido de  $\beta$ -sitosterilo (**22**), cuyas características espectroscópicas se presentan a continuación:

IR  $\nu_{\max}$  (KBr) : 3380, 2915, 2886, 1460, 1365, 1025  $\text{cm}^{-1}$

RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub> + DMSO, 200 MHz) :  $\delta$  5.39 (d, H-6), 4.91 (2H, m, H-6'), 4.46 (1H, t, H-5'), 4.22 (d, H-1'), 3.6 (m, H-3), 2.9-3.5 (m, H-2', 3', 4'), 0.95 (3H, s, H-19), 0.68 (s, H-18).

RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub> + DMSO, 75 Hz) :  $\delta$  11.6 (C-29), 11.75 (C-18), 19.07 (C-19), 61.05 (C-6'), 70.05 (C-4'), 73.4 (C-3'), 76.7 (C-2'), 76.8 (C-5'), 100.7 (C-1'), 121.1 (C-6), 140.4 (C-5).



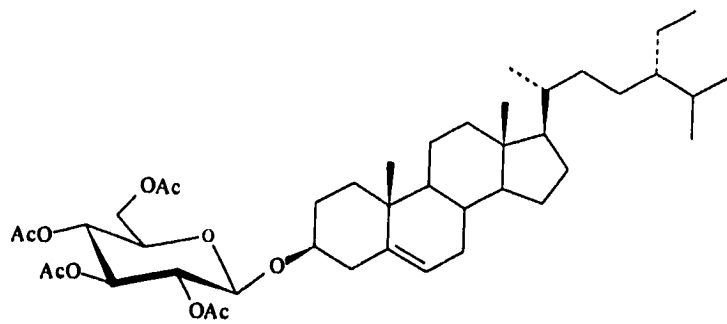
(22)

Se realizó la reacción de acetilación del compuesto anterior (22), haciendo reaccionar 22 mg del compuesto con 3 ml de anhídrido acético y 2 ml de piridina con agitación constante. Al término de la reacción se realizó su extracción de acuerdo al procedimiento usual, obteniéndose 26 mg de un polvo blanco correspondiente al per-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosido de  $\beta$ -sitosterilo (23).

RMN<sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ , asignación: 5.35 (m, H-6), 4.9-5.2 (ddd, H-2',3',4'), 4.59 (d, J=7.9 Hz, H-1'), 4.1 (m, H-6'), 3.66 (m, H-5'), 2.15, 2.22 (s, CH<sub>3</sub>-COO), 0.97 (s, H-19), 0.91 (d, H-21), 0.68 (s, H-18).

RMN<sup>13</sup>C, (CDCl<sub>3</sub>, 75 Hz):  $\delta$  11.86 (C-18), 12.09 (C-29), 18.7 (C-21), 19.06 (C-27), 19.3 (C-19), 19.8 (C-26), 62.14 (C-6'), 69.9 (C-4'), 71.5 (C-2'), 72.6 (C-3'), 72.9 (C-3), 80.07 (C-5'), 99.6 (C-1'), 122.14 (C-6), 140.3 (C-5), 169.3-170.7 (-COO-)





(23)

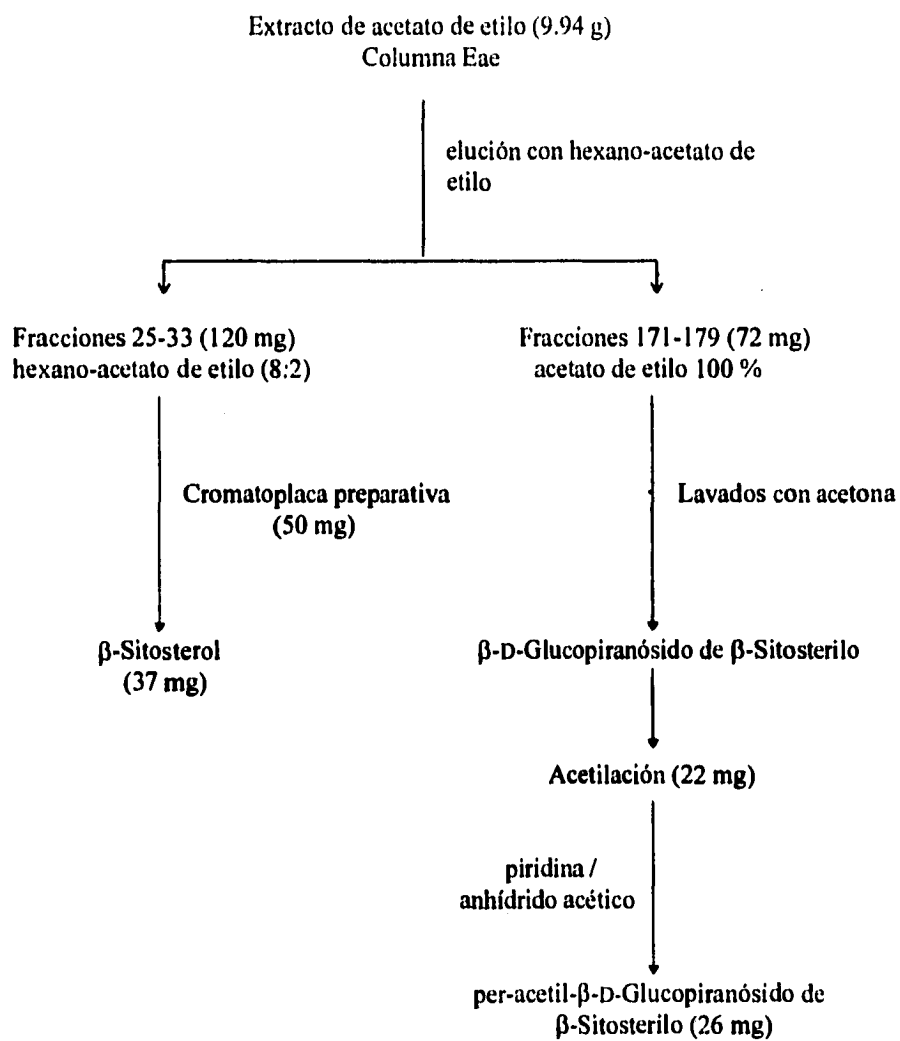


Diagrama 2. Separación cromatográfica de los constituyentes químicos del extracto de acetato de etilo (de hojas, flores y tallos) de *Lopezia racemosa*.

### Fraccionamiento del extracto metanólico

El análisis por cromatografía analítica del extracto metanólico (112.72 g), reveló la presencia de compuestos muy polares, por lo que se decidió llevar a cabo su acetilación. Se realizó primero un ensayo utilizando una alícuota correspondiente a dos gramos del extracto, que se hicieron reaccionar con 3 ml de anhídrido acético y 1.5 ml de piridina con agitación constante. Después de 6 hrs, se concluyó la reacción agregando 5 g de hielo, y se realizó la extracción de acuerdo a la metodología usual. Los resultados obtenidos con este ensayo fueron favorables, por lo que se procedió a acetilar el resto del extracto metanólico, con lo cual se obtuvieron 79.07 g del extracto metanólico acetilado, que se adsorbió en celita en relación 1:2 con respecto al peso del extracto, y con ello se realizó una columna cromatográfica utilizando gel de sílice como fase estacionaria, en proporción 1:3 respecto al extracto. De esta columna se obtuvieron 3 grupos de fracciones, cuyo sistema de elución se muestra en la tabla 5.

Tabla 5.

Fase móvil	Proporción	Fracciones
hexano-AcOEt	70:30	138-161
hexano-AcOet	70:30	166-183
Hexano-AcOEt	60:40	235-257

Como resultado del fraccionamiento del extracto metanólico (diagrama 3) se obtuvieron tres compuestos que se describen a continuación.

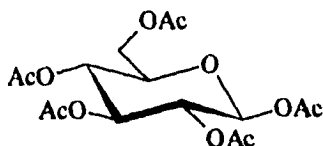
De las fracciones 138-161, se observó la presencia de un sólido blanco, el cual se purificó mediante cristalización de metanol-acetona, y recristalizaciones sucesivas en las mismas condiciones. Se obtuvieron 439.6 mg de pentaacetil  $\beta$ -D-glucopiranososa (**24**), presentando las siguientes constantes físicas:

Pf 126-128 °C

IR  $\nu_{\max}$  (KBr) : 1740, 1365, 1122, 1070, 1038  $\text{cm}^{-1}$

RMN<sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ, asignación: 2.1 (15H, 5s, -CO-CH<sub>3</sub>), 3.84 (1H, ddd, J= 9.72, 4.4, 2.2, H-5), 4.11 (1H, dd, J=12.46, 2.2 Hz, H-6), 4.30 (1H, dd, J=12.46, 4.4 Hz, H-6'), 5.11 (1H, dd, J=9.2, 2.8, H-4), 5.18 (1H, t, J=7.92 Hz, H-2), 5.26 (1H, t, J= 9.2 Hz, H-3), 5.72 (d, J=7.9 Hz, H-1).

RMN<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 20.7-20.4 (-CO-CH<sub>3</sub>), 61.35 (C-6), 67.6 (C-2), 72.6 (C-4), 76.35 (C-3, C-5), 91.63 (C-1), 170.67-169.02 (5, -COO-).



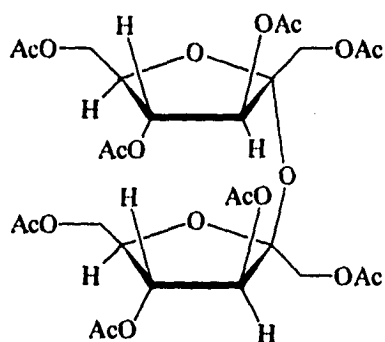
(24)

Las fracciones 166-183 (1.14 g) se adsorbieron en celita en relación 1:1, respecto al extracto y con ello se realizó una columna cromatográfica, empacada con gel de sílice relación 1:20, utilizando como fase móvil hexano acetato de etilo 80:20, obteniéndose 43 fracciones de 50 ml, logrando la purificación, de 56 mg de una sustancia cromatográficamente homogénea, que correspondió al octaacetil 2-O-(β-D-fructofuranosil)-α-D-fructofuranosa (27).

IR  $\nu_{\max}$  (CHCl<sub>3</sub>): 3447, 2958, 1758, 1371 cm<sup>-1</sup>

RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz), δ, multiplicidad, asignación; 2.09-2.15 (s, CH<sub>3</sub>-CO), 4.16 (s, H-6'), 4.17 (ddd, J=5.7, 5.75, 6 Hz, H-5'), 4.24 (d, J= 11.5 Hz, H-1'), 4.29 (dd, J=5, 12 Hz, H-6β), 4.31 (d, J=11.5Hz, H-1), 4.36 (ddd, J=3.5, 5.5, 5.5 Hz, H-5), 4.41 (d, J=11.5Hz), 4.42 (dd, J= 3.5, 12 Hz, H-6α), 4.97 (dd, J= 2, 5 Hz, H-4), 5.31 (dd, J=5, 5.5 Hz, H-4'), 5.312 (d, J=2Hz, H-3), 5.36 (d J= 5.5 Hz, H-3').

RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz); δ 20.7 (CH<sub>3</sub>-), 63.24-65.39 (C-1', 1,6,6'), 76.2 (C-3'), 76.5 (C-4'), 77.76 (C-4), 80.15 (C-3), 79.02 (C-5'), 80.35 (C-5), 169-171 (7,-COO-)



(27)

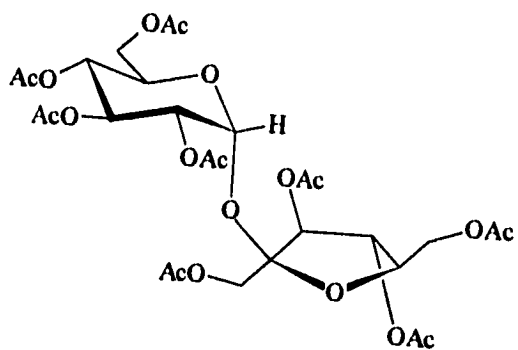
De las fracciones 235-337 (3.06 g), de la columna EM, se tomó una alícuota correspondiente a un gramo, que se adsorbió en celita en relación 1:1, con lo cual se realizó una columna cromatográfica, utilizando gel de sílice relación 1:20 respecto al extracto y como fase móvil hexano-acetato de etilo 70:30, de la cual se obtuvieron 63 mg de sacarosa octaacetilada (30), la cual presenta las siguientes constantes físicas y espectroscópicas.

Pi 70-72 °C

IR  $\nu_{\max}$  (CHCl<sub>3</sub>): 3479, 3020, 2962, 1746 cm<sup>-1</sup>

RMN<sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ , asignación; 4.10-4.35 (m, 8H), 4.87 (dd, 1H), 5.08 (dd, 1H), 5.42 (m, 3H), 5.69 (d, 1H).

RMN<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  28.50 (s, CH<sub>3</sub>), 61.6 (C-6'), 62.81 (C-1), 63.58 (C-6), 68.12 (C-4'), 68.44 (C-5), 69.57 (C-3), 70.21 (C-2'), 74.91 (C-4), 75.62 (C-3'), 79.05 (C-5'), 89.86 (C-1'), 103.94 (C-2), 169.49-170.64 (8, -COO-).



octaacetil sacarosa (30)

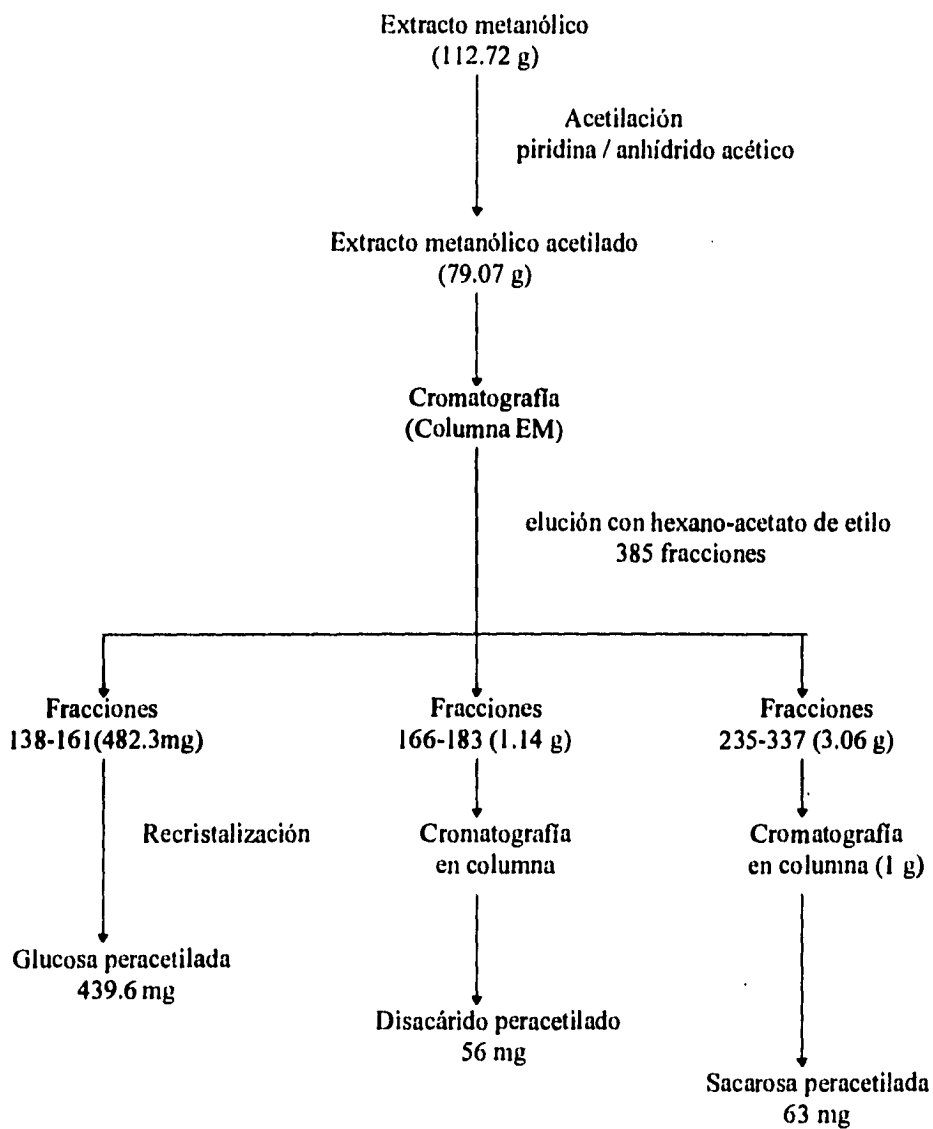


Diagrama 3. Separación cromatográfica de los constituyentes químicos del extracto metanólico (hojas, tallos y flores) de *Lopezia racemosa*.

## Estudio químico de las semillas de *Lopezia racemosa*.

Las semillas de *Lopezia racemosa* fueron recolectadas, al igual que las partes aéreas de la planta, en el municipio de Chapingo, Edo. de México, en 1992.

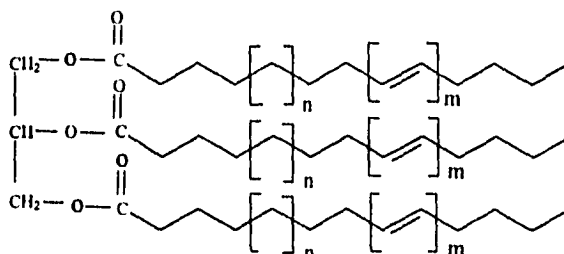
100 g de semillas fueron extraídas con hexano, acetato de etilo y metanol. Para la obtención de cada extracto, se colocaron las semillas en un mortero, adicionando poco a poco el disolvente en cuestión hasta un volumen de 200 ml, y al mismo tiempo se realizó la trituración de las semillas. Posteriormente se filtró el sobrenadante y se repitió el procedimiento dos veces más. Finalmente se reunieron los filtrados y se concentró en rotavapor. Se obtuvieron 7.03 g, 9.66 g, y 6.41 g de los extractos hexánico, de acetato de etilo y metanol, respectivamente.

El extracto hexánico de las semillas de *Lopezia racemosa* se obtuvo en forma de aceite de color amarillo, cuyo análisis en cromatografía en placa fina mostró un componente mayoritario. La separación y purificación se llevó a cabo mediante cromatografía en placa preparativa, aplicando 118.7 mg del extracto y utilizando como sistema de elución hexano-acetato de etilo (9:1). Por este procedimiento se obtuvieron 84.1 mg de un aceite incoloro, cuya identidad corresponde a un triacilglicerol (**31**), que presentó las siguientes características físicas y espectroscópicas.

UV  $\lambda_{\max}$  (hexano): 232 nm (debido a que no se pesó la muestra, no fué posible determinar el coeficiente de extinción).

EM m/z: 467(C<sub>27</sub>H<sub>47</sub>O<sub>6</sub>) 5.1 %, 43 (C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>) 73 %, 57 (C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>) 88%, 69 (C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>O) 100%

RMN<sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>);  $\delta$  0.97 (t, J=7.6 Hz, CH<sub>3</sub>-), 1.25 - 1.30 (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 2.11 (-CH<sub>2</sub>-C=), 2.3 (t, J=7.6 Hz, -CH<sub>2</sub>-COO), 2.77 (doblemente alílicos), 4.29-4.34 (m, CH<sub>2</sub>-O), 5.36 (-C=CH-).



(31)



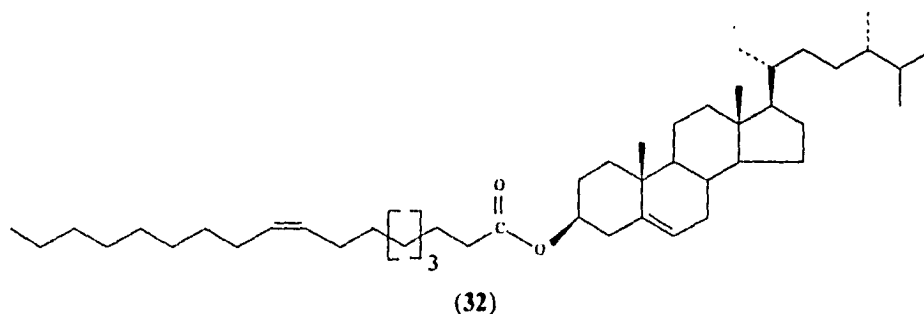
El extracto de acetato de etilo de las semillas se obtuvo como aceite, de color amarillo. Mediante el análisis por cromatografía en placa fina analítica, se observó un compuesto mayoritario, el cual se separó y purificó mediante cromatografía en placa preparativa, aplicando 89.2 mg del extracto y utilizando como sistema de elución hexano-acetato de etilo (9:1). De este modo se obtuvieron 61.7 mg de un compuesto puro que por comparación cromatográfica con el triacilglicerol (31), se obtuvo el mismo Rf 0.57 en hexano-acetato de etilo (9:1), lo cual permite establecer la presencia del triacilglicerol (31) en el extracto de acetato de etilo.

El extracto metanólico obtenido de las semillas (6.41 g) presentó aspecto aceitoso, y una vez que se dejó en reposo, se observó la separación en dos fases. La parte de menor densidad (A), presentó un color amarillo, y la parte de mayor densidad (B) un color verde.

La parte A del extracto se analizó por cromatografía en columna utilizando gel de sílice como fase estacionaria, y como sistema de elución hexano-acetato de etilo en mezclas con orden creciente de polaridad. De las fracciones 2-9 (87.3 mg) de este fraccionamiento se realizó una recromatografía en placa preparativa, por medio de la cual se obtuvieron 55.1 mg de una sustancia, que por comparación cromatográfica con una muestra auténtica se identificó como un éster análogo al eicosanoato de campesterilo (17), caracterizado previamente en las partes aéreas de este vegetal. La comparación de las características espectroscópicas con datos reportados en la literatura permitió la identificación del oleato de campesterilo (32).

Pf 45 °C

RMN<sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>); δ 0.68 (s, H-18), 0.81 (d, J=6.8 Hz, H-27), 0.83 (d, J=6.5 Hz, H-26), 0.88 (d, H-28), 0.92 (d, J=6.8 Hz, H-21), 1.02 (s, H-19), 1.25 (señal intensa), 2.77 (m, CH, COO), 4.58 (m, H-3), 5.36 (m, -CH=CH-).



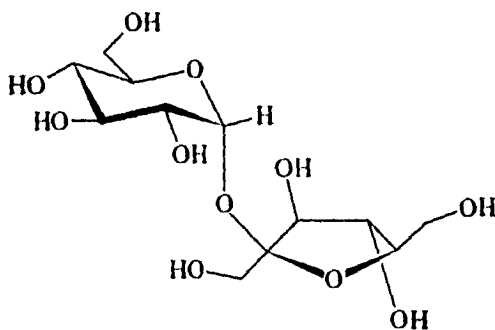
De la fracción 49 del fraccionamiento anteriormente descrito, se logró la purificación de 1.67 g de un aceite incoloro, cuyas características físicas y espectroscópicas permitieron identificar a esta sustancia como un triacilglicerol (31).

De la parte B del extracto metanólico de las semillas, se observó la presencia de un sólido blanco que se separó y purificó mediante lavados con acetona y posteriormente con metanol. El sólido se dejó secar a temperatura ambiente obteniéndose 327.1 mg de un polvo blanco. A una muestra del compuesto se realizó la prueba de Molish, obteniendo un resultado positivo, identificando la presencia de un azúcar. Esta sustancia se identificó como sacarosa (33).

Pf 182-185 °C

RMN<sup>1</sup>H (200 MHz, D<sub>2</sub>O); δ 3.34-4.11 (m, 13 H), 5.3 (d, 1H).

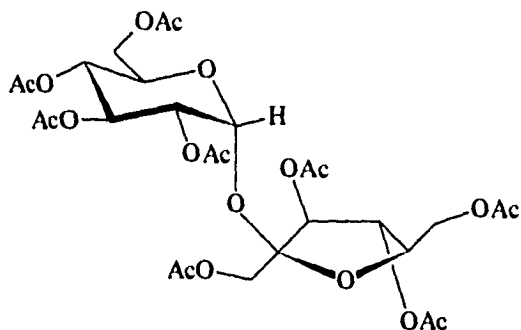
RMN<sup>13</sup>C (75 MHz, D<sub>2</sub>O); δ 61.1 (CH<sub>2</sub>), 62.8 (CH<sub>2</sub>), 63.5 (CH<sub>2</sub>), 82.5 (CH), 70.0 (CH), 71.9 (CH), 73.4 (CH), 73.5 (CH), 75.0 (CH), 77.5 (CH), 92.7 (CH), 104.5 (C cuaternario)



$\beta$ -D-fructofuranósido de  $\alpha$ -D-glucopiranosilo ó  
 $\alpha$ -D-glucopiranosido de  $\beta$ -D-fructofuranosilo  
(33)

Se procedió a realizar la reacción de acetilación usando 20 mg de la sustancia haciéndolos reaccionar con 2 ml de anhídrido acético y 2 ml de piridina, con calentamiento y agitación

constante durante 6 hrs. Al término de la reacción, se procedió a extraer el producto de acuerdo a la metodología usual, obteniéndose 30.9 mg de sacarosa octaacetilada (**30**).



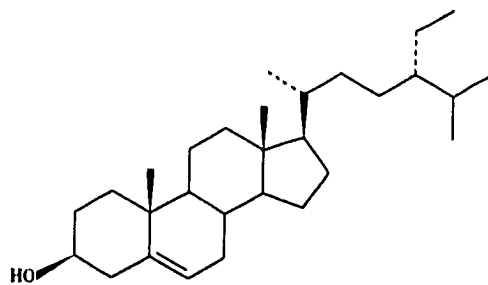
Octaacetil sacarosa (**30**)

Los lavados con acetona y metanol realizados al extracto metanólico, se concentraron en rotavapor, obteniéndose 1.62 g de residuo el cual se adsorbió en celita, y se aplicó a una columna cromatográfica (columna EMS-2).

De las fracciones 2-8 (7.2 mg), de esta columna, se tomaron 5 mg, que se aplicaron en una placa de aluminio de 10 x 20 cm, que se eluyó con hexano-acetato de etilo (9:1). De esta manera se obtuvieron 2.3 mg del oleato de campesterilo (**32**).

De las fracciones siguientes se obtuvo un aceite incoloro, que por comparación en cromatografía en capa fina analítica, se identificó como el triacilglicerol (**31**).

Finalmente, de las fracciones 12-18 de la columna EMS-2, se obtuvieron cristales en forma de agujas que por comparación con una muestra auténtica, correspondieron al  $\beta$ -sitosterol (**20**).



(20)

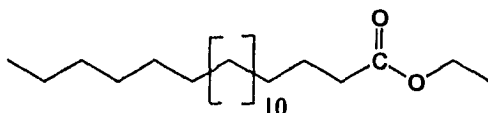
## **DISCUSION DE RESULTADOS**

## Discusión de Resultados

La discusión de la determinación estructural se realizará de acuerdo al orden de polaridad creciente en que se obtuvieron los diversos compuestos.

De fracciones iniciales de la recromatografía del extracto hexánico de las partes aéreas, se obtuvo un residuo de aspecto ceroso, cromatográficamente homogéneo, en cuyo espectro de IR (espectro 1) se observa la presencia de las bandas de absorción en 2924 y 2852  $\text{cm}^{-1}$ , correspondientes a los alargamientos de los enlaces C-H de grupos  $\text{CH}_2$  y  $\text{CH}_3$  de la sustancia; en 758  $\text{cm}^{-1}$  se observa una banda intensa afilada característica de  $-\text{CH}_2-$ ; adicionalmente presenta una banda intensa en 1733  $\text{cm}^{-1}$  de un grupo carbonilo de éster.

El espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de la sustancia (espectro 2) presenta las siguientes señales: en  $\delta$  1.29 (señal intensa) correspondiente por desplazamiento químico a hidrógenos de metilenos, en  $\delta$  2.29 (t,  $J=7.5$  Hz) se observa la señal correspondiente a metilenos geminales a un grupo carbonilo, y en  $\delta$  4.12 se manifiesta una señal múltiple correspondiente a metilenos geminales al oxígeno de grupo carboxilo. Por último la señal en  $\delta$  0.87 (triplete amplio) se asignó a los grupos metilos terminales de la sustancia. El área bajo la curva en el trazo de integración  $\delta$  1.21 a  $\delta$  1.34, permite deducir la estructura del eicosanoato de etilo (16)



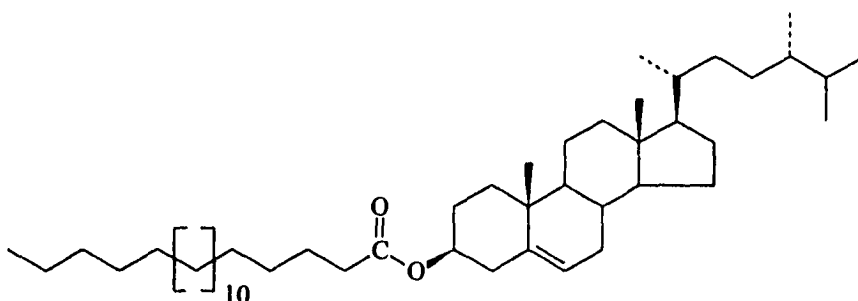
eicosanoato de etilo (16)

De las fracciones siguientes se obtuvo un residuo sólido de consistencia cerosa con  $\text{pf}$  46°C, cromatográficamente homogéneo. Su espectro de IR muestra señales en 2928 y 2850 y 1462  $\text{cm}^{-1}$  correspondientes a estiramientos C-H y flexiones  $-\text{CH}_2-$ , en 1733  $\text{cm}^{-1}$  una señal intensa y afilada característica de un éster, y en 756  $\text{cm}^{-1}$  una señal atribuible a  $(\text{CH}_2)_n$ , con  $n>4$ .

En el espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (espectro 3), se observan señales en  $\delta$  0.67-1.02 correspondientes a grupos metilo, que presumiblemente pueden asignarse a un esteroide, esta suposición está de acuerdo con la señal múltiple localizada en  $\delta$  5.37, la cual puede asignarse al hidrógeno vinílico H-6, y la señal compleja en  $\delta$  4.60 correspondería al hidrógeno geminal de un éster en C-3. Estas señales muestran una notable similitud con las informadas en la literatura para el acetato de campesterilo,<sup>24,25</sup> por lo que puede deducirse

que un éster de este esteroide es el constituyente natural presente en esta especie. Las señales presentes en  $\delta$  4.13 (c,  $J=3.0$  Hz) y  $\delta$  2.29 (triplete amplio) y  $\delta$  1.25 (señal intensa) indican la presencia de un constituyente adicional, que es precisamente un éster análogo al eicosanoato de etilo (16), recién descrito.

La relación de las integraciones sugieren que la mezcla del éster de campesterilo con el éster etílico del ácido graso se encuentran en una relación aproximada 1:1. De acuerdo a la integración del área bajo la curva entre  $\delta$  1.20 y  $\delta$  1.45, se deduce que la longitud de la cadena del éster es correspondiente a un  $C_{20}$ . Lamentablemente el análisis por espectrometría de masas acoplado a cromatografía de gases no permitió la obtención de resultados reproducibles, debido a la dificultad de introducción de la muestra al cromatógrafo. La cantidad de muestra disponible impidió la realización de pruebas químicas. Sin embargo, los datos descritos permiten establecer la estructura del eicosanoato de campesterilo (17)



eicosanoato de campesterilo (17)

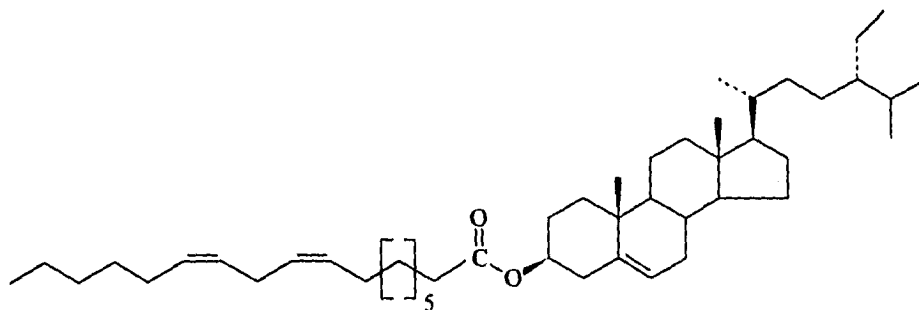
De las fracciones siguientes se obtuvo un residuo que presentó una mancha difusa en cromatografía analítica. En el espectro de  $RMN^1H$  (espectro 4) se observan señales en  $\delta$  0.68-1.02 correspondientes a grupos metilo que presumiblemente se pueden asignar a un esteroide, lo que estaría de acuerdo con la señal múltiple localizada en  $\delta$  4.60, que integra para un hidrógeno, y que correspondería al hidrógeno geminal a grupo éster en C-3. Adicionalmente se observan señales en  $\delta$  2.80 (triplete), correspondiente a hidrógenos doblemente alílicos; en  $\delta$  4.13 se observa una señal que se puede asignar a metilenos geminales a oxígeno y en  $\delta$  5.36 (señal múltiple) de hidrógenos vinílicos. La complejidad del espectro indicó que este residuo estaba constituido por una mezcla, por lo que se realizó su separación mediante una cromatoplaça preparativa, obteniéndose dos sustancias

mayoritarias. La sustancia de menor polaridad presentó las siguientes características espectroscópicas.

En el espectro de RMN<sup>1</sup>H (espectro 5), se observan señales en  $\delta$  0.67 a 2.30 de grupos metilo, que son asignables, como ya se ha mencionado anteriormente, a la estructura de un esteroide, por lo que de acuerdo con esto la señal múltiple localizada en  $\delta$  4.60 correspondería al hidrógeno geminal de éster en C-3. La señal localizada en  $\delta$  5.36, que integra para 5 hidrógenos, se puede asignar al hidrógeno vinílico H-6 del esteroide y cuatro hidrógenos vinílicos adicionales correspondientes al éster. Esto estaría de acuerdo con las señales localizadas en  $\delta$  2.80, que por desplazamiento químico se pueden asignar a hidrógenos doblemente alílicos, cuya integración corresponde a dos hidrógenos. La señal en  $\delta$  1.23 (señal intensa) es asignable a grupos metileno. La comparación de estas características espectroscópicas con los datos informados en la literatura para el acetato de  $\beta$ -sitosterilo (21),<sup>25,26</sup> muestran una notable similitud, lo que permite deducir que un éster de  $\beta$ -sitosterol es el componente natural presente en esta especie.

Por otra parte el espectro de RMN<sup>13</sup>C presenta señales que corroboran lo anterior: de  $\delta$  11.84 a 856.67 presenta señales de grupos metilo y metileno del  $\beta$ -sitosterol (20), así como señales restantes localizadas en  $\delta$  25.02, 25.60, 27.14, 19.12 (señal intensa), 29.57 y 34.69, correspondientes a los metilenos del éster, la señal correspondiente al C-6 del esteroide se localiza en 122.59; y de 127.10 a 131.95 ppm se observan cuatro señales correspondientes a metinos vinílicos que pertenecen a la cadena del éster. La señal localizada en  $\delta$  139.69 se puede asignar al C-5 del esteroide, y la señal correspondiente al carbonilo del grupo éster se sitúa en  $\delta$  173.31. La comparación de las señales de RMN<sup>1</sup>H y de RMN<sup>13</sup>C con las informadas en la literatura para el acetato de  $\beta$ -sitosterilo (21), se muestran en las tablas 6 y 7. De acuerdo a lo anterior se deduce la estructura del linoleato de  $\beta$ -sitosterilo (18).

Dado que el ácido linoleico (cis,cis,9,12-octadecadienoico) es un ácido graso ampliamente distribuido en la naturaleza, es muy probable que este ácido sea el residuo mayoritario que esterifica al C-3. Debe haber residuos adicionales cuya presencia se manifiesta debido a la inexactitud en las integraciones de los protones vinílicos con respecto a los metinos geminales al éster en el espectro de RMN<sup>1</sup>H.

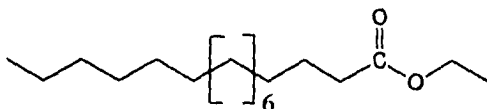


linoleato de  $\beta$ -sitosterilo (18)



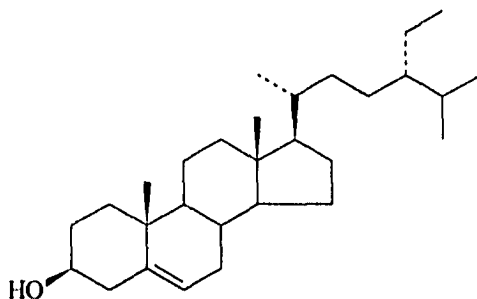
La otra sustancia separada por cromatoplaca, presenta las siguientes características espectroscópicas. El espectro de IR presenta bandas de absorción en 2929 y 2858  $\text{cm}^{-1}$ , correspondientes a alargamientos C-H de metilos y metilenos, y en 1733  $\text{cm}^{-1}$  una banda intensa de grupo éster. Por otra parte, el espectro de RMN<sup>1</sup>H (espectro 6), presenta una señal en  $\delta$  1.29, asignada a los hidrógenos de grupos metileno; en  $\delta$  2.28 (triplete amplio) correspondiente a metilenos adyacentes a grupo carbonilo, y una señal en  $\delta$  4.12 de un grupo metileno geminal a oxígeno. Lo anterior nos permite deducir que se trata de un éster análogo al eicosanoato de etilo ( $\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}_2$ , **16**) anteriormente descrito, y con base en la integración del área bajo la curva de la señal en  $\delta$  1.29 asignable a metilenos, se deduce que la longitud de la cadena del éster es de 16 átomos de carbono, lo cual permite identificar al palmitato de etilo (**19**). Las señales adicionales en  $\delta$  0.9, en  $\delta$  2.80 (múltiplo) y en  $\delta$  5.36 (doblete), indican la presencia del linoleato de  $\beta$ -sitosterilo (**18**), en menor proporción al éster etílico (**19**).

No fué posible realizar el análisis por espectroscopía de masas acoplado a cromatografía de gases por la misma razón que para el éster de campesterilo (**17**).



palmitato de etilo (**19**)

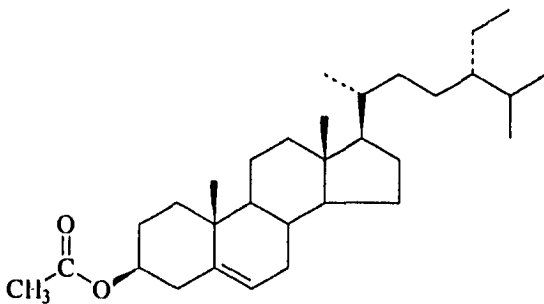
Del fraccionamiento inicial del extracto hexánico se obtuvo un constituyente adicional cuyo espectro de IR, presenta bandas de absorción en 2959 y 2868  $\text{cm}^{-1}$  de alargamientos C-H de metilos y metilenos respectivamente, así como una banda en 3067  $\text{cm}^{-1}$  característica de oxhidrilo. Por otra parte, el espectro de RMN<sup>1</sup>H (espectro 7), presenta señales en  $\delta$  0.68- $\delta$  1.01 de metilos que se pueden asignar a un estero, acorde a la señal múltiple localizada en  $\delta$  3.52, que correspondería al hidrógeno geminal a un oxhidrilo en C-3; y la señal en  $\delta$  5.36 se puede asignar al hidrógeno vinílico H-6 del estero. Las señales anteriores muestran notable similitud con las informadas en la literatura para el  $\beta$ -sitosterol (**20**), lo que permite establecer la identidad de esta sustancia.



$\beta$ -sitosterol (**20**)

El derivado acetilado del compuesto anterior muestra en el espectro de RMN<sup>1</sup>H (espectro 8), un singulete en  $\delta$  2.03 del metilo del acetato, la señal del H-3 del esterol se desplazó a campo bajo, con respecto al alcohol, debido a la esterificación, localizándose en  $\delta$  4.60. Adicionalmente, en el espectro de RMN<sup>13</sup>C, se observan señales en 11.3 a 56.69 ppm de metilos y metilenos del  $\beta$ -sitosterol, en  $\delta$  79.3 la señal correspondiente al C-3, en  $\delta$  122.1 y  $\delta$  139.6 las señales de C-6 y C-5 respectivamente. Finalmente, la señal correspondiente al carbonilo del acetato se localiza en  $\delta$  170. Las tablas 6 y 7 muestran las asignaciones de RMN<sup>1</sup>H y de RMN<sup>13</sup>C informadas en la literatura para el  $\beta$ -sitosterol (**20**) y el acetato de  $\beta$ -sitosterilo (**21**),<sup>25,26,27</sup> en comparación con las del derivado acetilado y el producto natural presente en esta especie.

La comparación directa con muestras auténticas aisladas en nuestro laboratorio confirman la identidad de **20** y **21**.



acetato de  $\beta$ -sitosterilo (**21**)

Tabla 6. Datos de RMN<sup>1</sup>H (220 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de **18**, **20** y **21**.

hidrógeno	18 <sup>a</sup>	20 <sup>a</sup>	21 <sup>a</sup>	20 <sup>b</sup>	21 <sup>b</sup>
H-18	0.678	0.680	0.677	0.680	0.676
H-19	1.019	1.010	1.018	1.007	1.017
H-21	0.920	0.922	0.919	0.919	0.918
H-26	0.834	0.836	0.834	0.833	0.831
H-27	0.813	0.814	0.812	0.813	0.809
H-29	0.846	0.846	0.844	0.842	0.841
H-3	3.590	4.524	3.600	4.520	4.600
H-5	5.360	5.354	5.369	5.350	5.370

<sup>a</sup> Datos obtenidos en el presente trabajo (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

<sup>b</sup> Datos informados en la referencia 25

Tabla 7. Datos de  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 Hz) de **18** y **20**

carbono	18 <sup>a</sup>	20 <sup>a</sup>	20 <sup>b</sup>
1	36.98	36.97	37.33
2	24.68	29.68	31.69
3	73.69	73.97	71.73
4	38.14	38.10	42.20
5	139.69	139.63	140.71
6	122.59	122.63	121.63
7	31.87	31.86	31.96
8	27.80	27.75	31.81
9	50.00	50.01	51.13
10	36.59	36.59	36.43
11	21.01	21.01	21.09
12	39.71	39.69	39.79
13	42.30	42.27	42.37
14	56.67	56.65	56.75
15	24.28	24.28	24.15
16	28.23	28.22	28.25
17	56.01	56.00	56.02
18	11.84	11.85	11.84
19	19.31	19.30	19.46
20	36.14	36.14	36.07
21	18.76	18.76	18.68
22	33.92	33.91	33.95
23	26.05	26.04	26.10
24	45.81	45.82	45.82
25	29.12	29.12	29.15
26	19.80	19.80	19.77
27	19.05	19.02	19.215
28	23.04	23.04	23.13
29	11.96	11.97	11.04
-COO-	173.31	170.53	
CH <sub>3</sub> -		21.43	

<sup>a</sup> Datos obtenidos en el presente trabajo

<sup>b</sup> Datos informados en la referencia 26

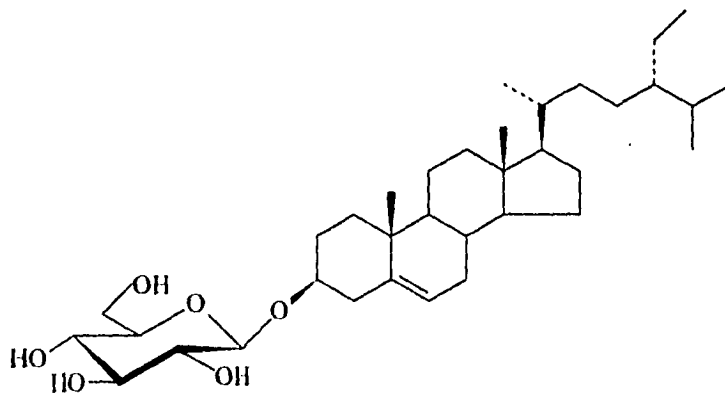
Del fraccionamiento del extracto de acetato de etilo de las partes aéreas de *Lopezia racemosa* se obtuvo un sólido amorfo, pf 274-275 °C. Cuyo espectro de IR (KBr) muestra una banda de absorción amplia en 3380  $\text{cm}^{-1}$ , debida a grupo hidroxilo, y en 2925 y 2886  $\text{cm}^{-1}$ , bandas de absorción debidas a alargamientos C-H de  $\text{CH}_2$  y  $\text{CH}_3$ , así como las bandas de absorción complementarias en 1460 y 1365  $\text{cm}^{-1}$  debidas a flexiones esqueléticas de  $\text{CH}_2$  y  $\text{CH}_3$ , respectivamente, y una banda de absorción en 1025  $\text{cm}^{-1}$  de alargamientos C-O.

El espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (espectro 9), muestra señales en  $\delta$  0.68- $\delta$  0.95, de metilos que presumiblemente se pueden asignar al  $\beta$ -sitosterol (**20**), y que la señal en  $\delta$  5.3 pertenece al hidrógeno vinílico H-6 del mismo. Adicionalmente, se observan señales comprendidas en la zona de  $\delta$  3.00- $\delta$  5.00 que muestran el perfil de un residuo glucosídico.

En efecto, en  $\delta$  4.22 se observa un doblete ( $J=7.8$  Hz), el cual es característico para el hidrógeno anomérico, el cual debe tener orientación  $\alpha$  por su acoplamiento trans-diaxial. Asimismo, el triplete centrado en  $\delta$  4.46 ( $J=6.0$  Hz) indica acoplamientos trans-diaxiales, característicos para  $\beta$ -D-glucopiranosas.

El espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  (espectro 10), confirma la presencia de las señales en  $\delta$  11.6 a  $\delta$  57, correspondientes a metilos y metilenos del  $\beta$ -sitosterol (**20**), así como las absorciones en  $\delta$  121.1 y  $\delta$  140.5 debidas al C-6 y C-5, respectivamente, del esteroil.

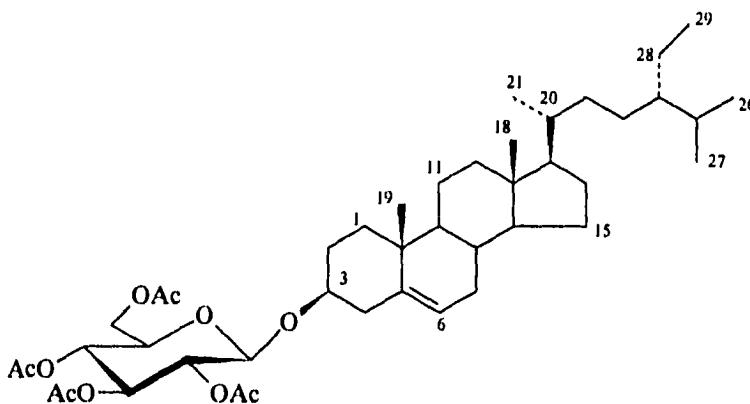
Las señales en  $\delta$  61.05, 70.05, 73.40, 76.70, 76.80 y 100.70 indican la presencia de la unidad glucosídica. El experimento DEPT (espectro 11), muestra la presencia de 6 metilos, 11 metilenos y 9 metinos del  $\beta$ -sitosterol (**20**). Por otro lado, se observa el metileno en  $\delta$  61.31, perteneciente al C-6 del glucósido, así como 5 metinos del azúcar ubicando el carbono anomérico en  $\delta$  100.70. Este experimento no registra la presencia de carbonos cuaternarios por lo que no aparece la señal  $\delta$  140.40 correspondiente al C-5 del esteroil. Integrando la información anterior y comparando con datos reportados en la literatura,<sup>27,28,29</sup> se identifica a este compuesto como el  $\beta$ -D-glucopiranosido de  $\beta$ -sitosterilo (**22**).



$\beta$ -D-glucopiranosido de  $\beta$ -sitosterilo (**22**)

Se realizó la reacción de acetilación del compuesto anterior utilizando anhídrido acético y piridina. El derivado acetilado presenta en el espectro de RMN<sup>1</sup>H (espectro 12), en  $\delta$  0.68-0.97 las señales correspondientes a metilos del  $\beta$ -sitosterol (**20**, H-18,19, 21, 26, 27 y 29). Se observa una señal intensa en  $\delta$  2.15 - $\delta$  2.22 de los metilos correspondientes a los acetatos; las señales entre  $\delta$  3.40- $\delta$  5.30 pertenecen al fragmento de  $\beta$ -D-glucosa, y la señal del H-6 del esterol aparece en  $\delta$  5.35.

El espectro de RMN<sup>13</sup>C, muestra además de las señales correspondientes a la estructura del  $\beta$ -sitosterol: seis señales que se localizan en  $\delta$  62.14 (C-6),  $\delta$  69.54 (C-4),  $\delta$  71.52 (C-2),  $\delta$  71.67 (C-3),  $\delta$  80.07 (C-5) y en  $\delta$  99.60 (C-1), de la unidad glucosídica, y 5 señales en  $\delta$  169.3 a  $\delta$  170.70 de los carbonilos de los acetatos, identificando a este compuesto como el tetraacetil  $\beta$ -D-glucopiranosido de  $\beta$ -sitosterilo (**23**)

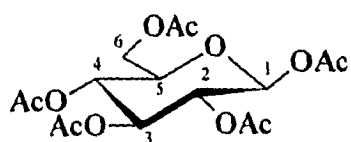


tetraacetil  $\beta$ -D-glucopiranosido de  $\beta$ -sitosterilo (**23**)

El extracto metanólico presentó dificultades experimentales para su manipulación debido a la elevada polaridad y baja solubilidad de sus constituyentes, por lo que se decidió acetilar una parte y tratar de separar los derivados acetilados. Siguiendo este procedimiento se aislaron tres sustancias, las cuales se describen a continuación, en orden de polaridad creciente.

El primer compuesto obtenido es un sólido con Pf 126-128 °C. El resultado del análisis por IR (KBr), muestra una banda de absorción intensa en  $1740\text{ cm}^{-1}$ , característica de carbonilo de éster, así como señales de absorción en  $1365$  y  $1122\text{ cm}^{-1}$ , debidas a alargamientos de C-H de  $\text{CH}_2$  y  $\text{CH}_3$  respectivamente. Por otra parte, el espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  (espectro 14), en concordancia con lo anterior, presenta cinco señales localizadas en  $\delta$  169.02 a  $\delta$  170.67 de carbonilos de acetatos, y los metilos correspondientes se localizan en  $\delta$  20.47-20.72. Además, se observa una señal en  $\delta$  61.35 de metileno y 4 señales de metinos entre  $\delta$  67.60- $\delta$  76.35, y una señal en  $\delta$  91.63, que por su desplazamiento se puede asignar a un carbono anomérico. Lo anterior permite suponer la presencia de un carbohidrato de 6 átomos de carbono peracetilado.

Por otra parte, el espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (espectro 13), presenta las señales de los metilos de acetatos en  $\delta$  2.02-2.12, una señal centrada en  $\delta$  3.84 que corresponde a un hidrógeno vecinal a 3 hidrógenos, que se asigna a un hidrógeno geminal a un éter. También se observan dos dobletes de dobletes, centrados en  $\delta$  4.11 ( $J=2.2, 12.6\text{ Hz}$ ) y  $\delta$  4.30 ( $J=4.4, 12.5\text{ Hz}$ ) que se manifiestan como la parte AB de un sistema ABX, y que son atribuibles a un acetoximetileno. El doblete centrado en  $\delta$  5.72 (d,  $J=7.89\text{ Hz}$ ) tiene el desplazamiento químico característico para los hidrógenos anoméricos, con orientación axial, por lo que puede asignarse al hidrógeno unido al C-1 de una hexopiranososa, deduciéndose, por lo tanto, que la señal en  $\delta$  3.84 corresponde a C-5 y el sistema AB corresponde a C-6. Presumiblemente se trata de la  $\beta$ -D-glucopiranososa peracetilada, en donde el conjunto de señales comprendidas entre  $\delta$  5.08 y 5.31 corresponden a los hidrógenos H-2, H-3 y H-4. La comparación de las características espectroscópicas de la sustancia con las reportadas en la literatura para el pentaacetato de  $\beta$ -D-glucopiranososa<sup>30</sup> (24), permiten identificar a la  $\beta$ -D-glucopiranososa como el producto natural presente en esta especie.



pentaacetyl  $\beta$ -D-glucopiranososa (24)

Tabla 8. Datos selectos de RMN<sup>1</sup>H de **24** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

hidrógeno	24 <sup>a</sup>	24 <sup>b</sup>
H-1	5.72 (d, J= 8.1 Hz)	5.72 (d, J=7.9 Hz)
H-2	5.18 (m)	5.18 (t, J=7.92, Hz)
H-3	5.25 (dd, apast, J=9.3 Hz)	5.26 (t, J=9.2 Hz)
H-4	5.18 (m)	5.11 (dd, J=9.2, 2.8 Hz)
H-5	3.84 (m)	3.84 (m)
H-6	4.29 (dd, J=4.2, 12.0 Hz)	4.30 (dd, J=4.4, 12.46 Hz)
H-6'	4.12 (dd, J=2.1, 12.0 Hz)	4.11 (dd, J=2.2, 12.46 Hz)

<sup>a</sup> Datos informados en la referencia 30

<sup>b</sup> Datos obtenidos en el presente trabajo

El siguiente compuesto obtenido del extracto metanólico acetilado de las partes aéreas de *Lopezia racemosa*, presentó las siguientes características espectroscópicas.

El espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 15), presenta señales de  $\delta$  2.09 a  $\delta$  2.15 que son asignables a metilos de grupos acetilo, así como tres grupos de señales desplazadas a campo bajo: el primer grupo se localiza de  $\delta$  4.16 a  $\delta$  4.44, integra para 10 hidrógenos, y que por su desplazamiento químico son atribuibles a acetoximetilenos. El segundo grupo se sitúa en  $\delta$  4.97 que se manifiesta como un doblete de doblete (1H, J=2,5.5 Hz) asignable a un hidrogeno geminal a un éter y vecinal a dos hidrógenos. Finalmente se pueden apreciar el tercer grupo de señales, en  $\delta$  5.29- $\delta$  5.36, cuya integración indica la presencia de tres hidrógenos que resuenan como:

- a) un doblete en  $\delta$  5.36 (J=5.5 Hz)
- b) un doblete en  $\delta$  5.32 (J= 2 Hz)
- c) un doblete de doblete en  $\delta$  5.31 (J= 5, 5.5 Hz)

Estas señales pueden asignarse a hidrógenos geminales a acetatos y vecinales a hidrógenos de características similares.



Por otra parte, el espectro de RMN<sup>13</sup>C (125 Hz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 16), muestra una señal amplia en δ 20.7 asignable a los metilos de acetilos, ya que entre δ 169 y δ 171 se observan 8 señales correspondientes a carbonilo de éster. Las dos señales en δ 101.50 y δ 103.90 son asignables, por su desplazamiento químico, a carbonos cuaternarios. Se aprecian 10 señales comprendidas entre δ 63.20 y δ 80.36 correspondientes a 4 metilenos y 6 metinos, de acuerdo al experimento DEPT (espectro 17).

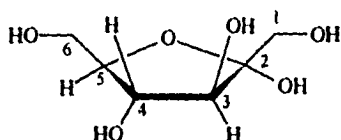
La integración de los datos de RMN<sup>1</sup>H y RMN<sup>13</sup>C, permiten suponer la presencia de un disacárido de 12 átomos de carbono, integrado presumiblemente por dos hexofuranos, ya que no se observa el desplazamiento químico en δ 5.37 aproximadamente, característico para hidrógenos anoméricos de hexopiranosas, y que está de acuerdo con los cuatro metilenos, 6 metinos y los dos carbonos cuaternarios. Así la presencia de los grupos acetato incorporados en la molécula se corrobora con la banda amplia de absorción en 1750 cm<sup>-1</sup> de grupo éster que se observa en el espectro de IR (espectro 18) de la sustancia.

El experimento <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY (espectro 19), permite observar la correlación del doblete en δ 5.36 con la señal situada en δ 5.31 (dd), y esta última, a su vez correlaciona con otra señal situada en δ 4.17 (ddd). Para el doblete en δ 5.312 se aprecia una correlación similar a la anteriormente descrita con las señales en δ 4.97 (dd), y δ 4.36 (ddd), por lo que de acuerdo con la suposición de estructuras de hexofuranos, las señales en δ 5.36 y δ 5.312 (d) son asignables a H-3' y H-3, las señales en δ 5.310 y δ 4.97 (dd) se asignan al H-4' y H-4, y las señales en δ 4.36 y δ 4.17 (ddd) corresponden al H-5' y H-5 respectivamente. Y las señales entre δ 4.14 a δ 4.38 son atribuibles al H-1, H-1', H-6, H-6'. Los números prima se refieren a la segunda unidad hexofuranosa.

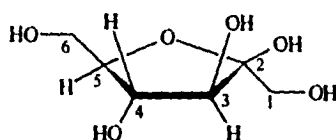
El experimento HMQC (espectro 20) confirma lo anterior, correlacionando las señales de metinos situadas en δ 76.20, δ 76.5, δ 77.60, y δ 80.15 con las señales para los hidrógenos H-3', H-4', H-4 y H-3, respectivamente. Las dos señales para metinos restantes que se localizan en δ 79.02 y δ 80.35, se correlacionan con las señales asignadas al H-5' y H-5, respectivamente. Finalmente las señales en δ 63.24, 64.37, 64.59 y 65.39 de metilenos se correlacionan con las señales situadas en δ 4.42 a δ 4.19 de los hidrógenos H-1', H-1, H-6, H-6', respectivamente.

Las señales adicionales que se pueden observar en el espectro de RMN<sup>1</sup>H (15), en ninguno de los experimentos realizados muestran alguna correlación, por lo cual estas señales son debidas a impurezas.

Las correlaciones en el espectro COSY y el HMQC, confirman la presencia de unidades hexofuranosas. La comparación de los desplazamientos químicos de la sustancia obtenida (**27**) con los informados para  $\alpha$ -D-fructofuranosa (**25**) y  $\beta$ -D-fructofuranosa (**26**)<sup>34</sup> se muestran en la tabla 9.



$\alpha$ -D-fructofuranosa (**25**)



$\beta$ -D-fructofuranosa (**26**)

Tabla 9. Datos de RMN<sup>13</sup>C (100 MHz, D<sub>2</sub>O) para **25**, **26** y **27**

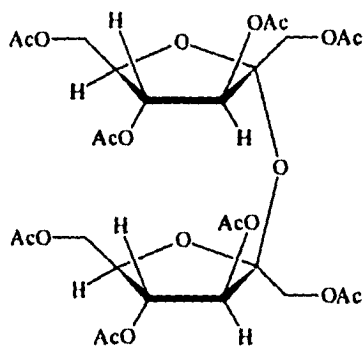
compuesto	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
$\alpha$ -D-fructofuranosa <sup>a</sup>	63.8	105.5	82.9	77.0	82.2	61.9
$\beta$ -D-fructofuranosa <sup>a</sup>	63.6	102.6	76.4	75.4	81.6	63.2
sustancia obtenida ( <b>27</b> ) <sup>b</sup>	63.24 64.37	101.53 103.88	76.20 80.15	76.50 77.76	79.02 80.35	65.39 64.59

<sup>a</sup> Datos informados en la referencia 34.

<sup>b</sup> Datos obtenidos en el presente trabajo.

En la tabla anterior se puede observar una gran similitud entre los desplazamientos químicos para las unidades D-fructofuranosas con los desplazamientos químicos de la sustancia obtenida, por lo que se puede suponer que la sustancia (27) está compuesta por una unidad  $\alpha$ -D-fructofuranosa y una unidad  $\beta$ -D-fructofuranosa. Esta suposición concuerda con las diferencias tanto para el desplazamiento químico como para la constante de acoplamiento para los hidrógenos H-3, H-4 ( $\delta$  5.32,  $\delta$  4.97) y los H-3', H-4' ( $\delta$  5.35,  $\delta$  5.31), con lo que se puede deducir que el H-3, H-4 ( $J=2\text{Hz}$ ) corresponden a la unidad  $\alpha$ -D-fructofuranosa y el H-3', H-4' ( $J=5.5\text{Hz}$ ) corresponden a la unidad  $\beta$ -D-fructofuranosa. En la literatura se reportan los valores de  $J_{3,4}=2.3, 6.3$  para los anómeros  $\alpha$  y  $\beta$ -D-fructofuranosa, respectivamente.<sup>32,36</sup>

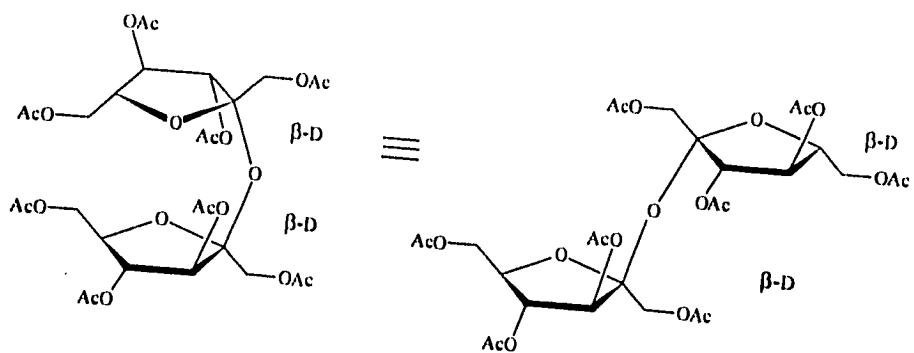
De acuerdo a la discusión anterior, se deduce la estructura de octaacetil 2-O-( $\beta$ -D-fructofuranosil)- $\alpha$ -D-fructofuranosa (27).



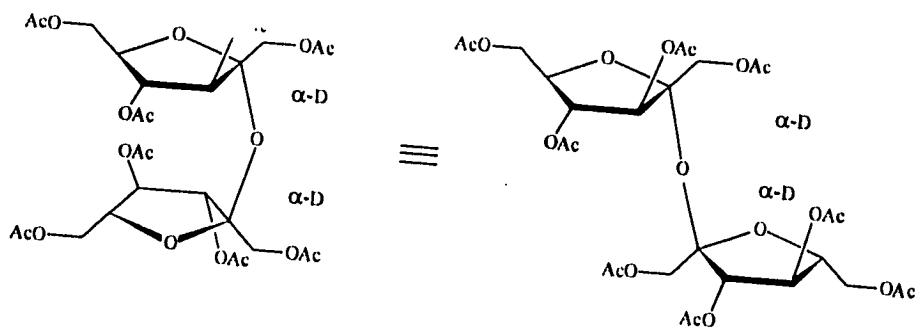
octaacetil 2-O-( $\beta$ -D-fructofuranosil)- $\alpha$ -D-fructofuranosa (27)

La unión 2',2 se dedujo mediante la comparación con datos informados para compuestos relacionados con unidades de D-fructofuranosas.<sup>33,34,37</sup>

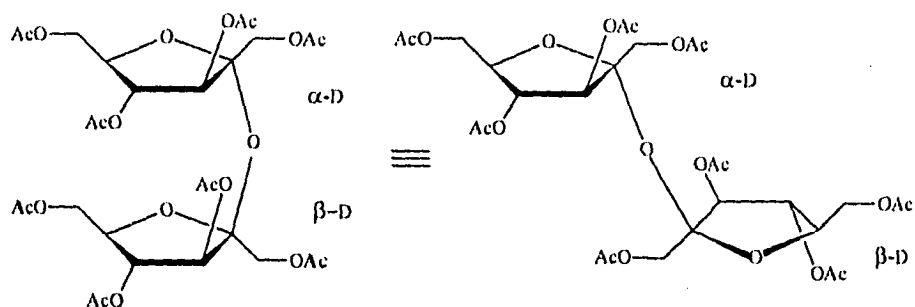
Para llegar a deducir la estructura (27), se tomó en consideración la posibilidad de que el disacárido correspondiera a uno de los diastereoisómeros posibles:  $\beta$ -D-fructofuranosil- $\beta$ -D-fructofuranosa (28),  $\alpha$ -D-fructofuranosil- $\alpha$ -D-fructofuranosa (29) y  $\beta$ -D-fructofuranosil- $\alpha$ -D-fructofuranosa ó  $\alpha$ -D-fructofuranosil- $\beta$ -D-fructofuranosa (27 y 27'), cuyas estructuras son las siguientes.



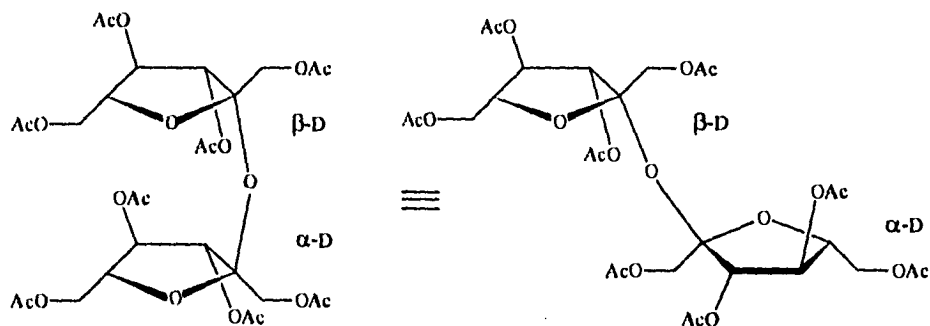
$\beta$ -D-fructofuranosil- $\beta$ -D-fructofuranosa (28)



$\alpha$ -D-fructofuranosil- $\alpha$ -D-fructofuranosa (29)



$\beta$ -D-fructofuranosil- $\alpha$ -D-fructofuranosa (**27**)



$\alpha$ -D-fructofuranosil- $\beta$ -D-fructofuranosa (**27'**)

Sin embargo las estructuras **28** y **29** se descartaron, ya que al estar constituidas por unidades idénticas se esperaba presentar características espectroscópicas asignables a una sola unidad de D-fructofurano, o bien, que presentarían valores en sus desplazamientos químicos muy similares, lo cual se comprobó con los datos reportados en la literatura para los compuestos formados por dos o varias unidades de D-fructofurano.<sup>31,34,38</sup> Cabe señalar que las estructuras **28** y **29** poseen un eje  $C_2$  de simetría que se puede observar en la figura correspondiente, lo cual apoya lo anterior. Finalmente se consideró la posibilidad del diastereoisómero **27**, que es la combinación de las unidades  $\beta$ -D-fructofuranosa y  $\alpha$ -D-fructofuranosa. Si la unión de ambas unidades es por el carbono anomérico, la combinación  $\beta$ -D  $\rightarrow$   $\alpha$ -D (**27**), es igual a la combinación  $\alpha$ -D  $\rightarrow$   $\beta$ -D (**27'**) (véase la figura), y de acuerdo a los datos espectroscópicos que presenta la sustancia aislada, así como la comparación con datos reportados en la literatura, para unidades  $\alpha$ ,  $\beta$ -D-fructofuranosas y compuestos relacionados, corresponde al producto natural presente en *Lopezia racemosa*.

La tabla 10 muestra las características en RMN<sup>1</sup>H del compuesto obtenido (27).

Tabla 10. Datos de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 27

Asignación	Desplazamiento
H-6'	4.168 (s)
H-5'	4.1774 (ddd, J=5.7,5.75,6 Hz)
H-1'	4.1995 (d, J=11.5 Hz)
H-1'	4.2415 (d, J=11.5 Hz)
H-6	4.2910 (dd, J=5,12 Hz)
H-1	4.3105 (d, J=11.5 Hz)
H-5	4.3685 (ddd, J=3.5,5.5,5.5 Hz)
H-1	4.4111 (d, J= 11.5 Hz)
H-6	4.2225 (dd, J=3.5,12 Hz)
H-4	4.975 (d, J=2,5 Hz)
H-4'	5.310 (dd, J=5,5.5 Hz)
H.3	5.312 (d, J=2 Hz)
H-3'	5.3576 (d, J=5.5 Hz)

El tercer compuesto obtenido del extracto metanólico acetilado fué un sólido con pf 70-72 °C. Su espectro de RMN<sup>13</sup>C (75 Hz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 22), presenta una señal intensa en  $\delta$  20.5 correspondiente a metilos, en  $\delta$  61.60- $\delta$  79.05 se observan 10 señales de metilenos y metinos de la sustancia, en  $\delta$  89.80 una señal asignable a un carbono anomérico, y en  $\delta$  103.9 una señal que se puede asignar a un carbono cuaternario cetálico. Finalmente se observan 8 señales localizadas en  $\delta$  169.40- $\delta$  170.60 asignadas a carbonilos de grupos acetato, lo que concuerda con la banda de absorción intensa en 1744 cm<sup>-1</sup> de éster que se observa en el espectro de IR de la sustancia.

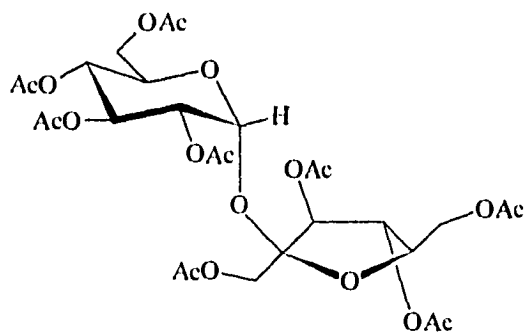
El experimento DEPT indica la presencia de varios grupos metilo, mediante la señal intensa en  $\delta$  20.58, así como 3 señales para metilenos y 8 señales para metinos, no observándose la señal correspondiente al carbono cuaternario. Lo anterior permite suponer la presencia de un carbohidrato de 12 átomos de carbono, cuyo perfil sería correspondiente al de sacarosa (33).

Por otra parte el espectro de RMN<sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro 21), muestra en  $\delta$  4.03 a  $\delta$  4.34 un conjunto de señales que integran para 8 hidrógenos (H-5, H-5', H-6, H-6', H-1), además se observan:

a) un doblete de doblete en  $\delta$  4.87 ( $J=3.7, 10.3$  Hz) y

b) un triplete centrado en  $\delta$  5.08 ( $J=8.6$  Hz) que se pueden asignar al H-2 y H-4 respectivamente. Asimismo, las señales localizadas en  $\delta$  5.37 (t,  $J=5.78$  Hz),  $\delta$  5.42 ( $J=8.5$  Hz) y  $\delta$  5.47 ( $J=5.8$  Hz) corresponden a H-4', H-3, y H-3' respectivamente. En  $\delta$  5.69 (d,  $J=3.7$  Hz), se observa la señal atribuida al hidrógeno anomérico, que tiene un acoplamiento axial-ecuatorial con H-2.

Los datos comparativos con los informados en la literatura<sup>39</sup> para el octaacetato de sacarosa, se muestran en la tabla II. La comparación con una muestra auténtica, confirman la identidad del octaacetil  $\alpha$ -D-glucopiranosido de  $\beta$ -D-fructofuranosilo (**30**).



octaacetil de sacarosa (**30**)

Tabla 11. Datos de  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ) para **30**.

carbono	$30^{\text{a}}$	$30^{\text{b}}$
1	63.1	62.8
2	104.2	104.1
3	69.9	78.2
4	75.3	75.6
5	68.7	68.1
6	63.8	63.6
1'	90.2	90.0
2'	70.5	70.2
3'	76.0	75.9
4'	68.5	68.4
5'	79.3	70.1
6'	62.0	62.8

<sup>a</sup> Datos informados en la referencia 39.

<sup>b</sup> Datos obtenidos en el presente trabajo.



### Discusión de resultados del análisis químico de las semillas de *Lopezia racemosa*.

De los extractos orgánicos de *Lopezia racemosa* (hexánico, de acetato de etilo y metanólico), obtenidos de las semillas, se aisló una sustancia aceitosa, que eluyó con hexano-acetato de etilo (9:1), y que es cromatográficamente homogénea, a pesar de que eluye en un elevado número de fracciones, como se describe en la parte experimental. El porcentaje aproximado obtenido de esta sustancia en cada extracto se muestra en la tabla 12.

Tabla 12.

Extracto	porcentaje (%)
hexánico	70.85
de acetato de etilo	60.50
metanólico	31.84

La muestra aislada del extracto hexánico presenta las siguientes características espectroscópicas. El espectro de UV muestra un máximo de absorción a 231 nm, lo que sugiere la presencia de insaturaciones. El espectro de masas, registra un fragmento  $m/z$  467 (5.1), que presumiblemente corresponde a un solo fragmento de la molécula y no al ión molecular; la relación  $m/z$  69 corresponde al pico base. Por otra parte, el espectro de RMN<sup>1</sup>H (espectro 23), muestra señales en  $\delta$  0.97 de grupos metilo, en  $\delta$  1.25 a  $\delta$  1.40 señales de metilenos, en  $\delta$  1.60 resuenan los hidrógenos  $\beta$  a carbonilo, en  $\delta$  2.3 se observa una señal (triplete amplio,  $J = 7.6$  Hz) que corresponde a los hidrógenos de los metilenos geminales a carbonilo, y en  $\delta$  2.77 se manifiesta una señal múltiple que se asigna a hidrógenos doblemente alílicos. El sistema ABX, que forman los hidrógenos geminales a oxígeno se localiza en  $\delta$  4.29 a  $\delta$  4.34, observándose como dos dobletes de dobletes en  $\delta$  4.80 (dd,  $J = 4.3, 11.6$  Hz) y  $\delta$  4.14 (dd,  $J = 5.9, 11.8$  Hz), en  $\delta$  5.36 se aprecia una señal múltiple correspondiente a hidrógenos vinílicos.

Por las características anteriores se puede suponer que este compuesto se trata de un triglicérido esterificado con ácidos grasos insaturados, lo cual se corrobora en el espectro de RMN<sup>13</sup>C (espectro 24), que presenta señales en  $\delta$  13.88 a  $\delta$  14.16, asignables a metilos, señales para metilenos entre  $\delta$  20.44 y  $\delta$  34.10, un grupo de señales situadas en  $\delta$  127.10 a  $\delta$  131.92 son correspondientes a metinos vinílicos, y en  $\delta$  172.83 a  $\delta$  173.26 se observan

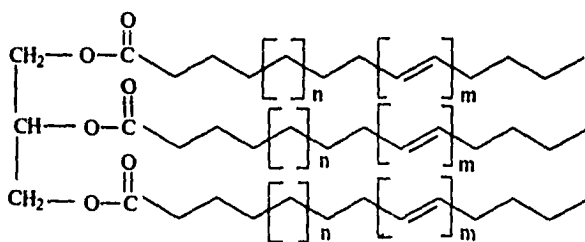
señales que se asignan a carbonos de grupo carbonilo; además se observan dos señales, en  $\delta$  62.02 y  $\delta$  68.33, correspondientes a metileno y metino unidos a oxígeno respectivamente. Las características anteriores permiten deducir la presencia de un triacilglicerol (31), de acuerdo a la comparación con datos informados para estas sustancias.<sup>40,41</sup>

Los espectros obtenidos en RMN<sup>1</sup>H y RMN<sup>13</sup>C para esta sustancia, la cual fué obtenida en los tres extractos mencionados en la tabla 13, son muy similares en desplazamientos químicos y multiplicidad de las señales, pero difieren en las integraciones correspondientes, lo cual permite suponer que las diferentes muestras, que poseen Rf idénticos, consistan en mezclas de ésteres del glicerol, en las cuales existen varias posibilidades de variación estructural de acuerdo al número y ubicación de las insaturaciones en el lípido, y a la posición del glicerol donde se esterifica.

Con el objeto de caracterizar los ácidos de los glicéridos, se llevó a cabo hidrólisis de la muestra aislada del extracto hexánico, haciendo reaccionar 63 mg de la muestra con KOH/MeOH al 5% durante 30 min. No fué posible separar la mezcla, ya que se obtuvieron residuos cerosos, cuyo análisis espectroscópico por RMN<sup>1</sup>H, muestra características asignables a ácidos grasos, pero debido a la no concordancia en las integraciones, se deduce que se trata de mezclas de los mismos. De acuerdo a las integraciones, se puede suponer que la longitud promedio de la cadena es correspondiente a un C<sub>18</sub> aproximadamente. Sin embargo, no fué posible separar los constituyentes de la mezcla por métodos cromatográficos convencionales.

Posteriormente se intentó realizar la separación de la mezcla de triglicéridos a partir de la muestra aislada del extracto metanólico por HPLC, utilizando un equipo Waters Delta Prep. 4000, logrando observar la separación de los componentes de la mezcla de triglicéridos en columna analítica, bajo las siguientes condiciones cromatográficas: Columna  $\mu$ -Porasil (3.9 mm x 300 mm) Waters, sistema de elución hexano-acetato de etilo (99:1), flujo 1ml/min y con un detector Waters 380 UV a 254 nm. Los resultados de esta separación se muestran en el cromatograma 1. Sin embargo, no fué posible reproducir la separación en columna semipreparativa Waters  $\mu$ -Porasil (7.8 mm x 300 mm), bajo las condiciones anteriores, ya que no se logró obtener la misma resolución de los picos correspondientes a los componentes de la mezcla, por lo cual resultó difícil la separación. El resultado se muestra en el cromatograma 2.

Los resultados del análisis de la muestra aislada del extracto metanólico por HPLC, utilizando una columna analítica (cromatograma 1), permiten corroborar que efectivamente la muestra se trataba de una mezcla de triglicéridos, compuesta por al menos 5 sustancias diferentes con tiempo de retención muy cercanos entre sí. Sería conveniente realizar posteriormente ensayos adicionales en HPLC, utilizando columna semipreparativa, para obtener un método de separación adecuado para este tipo de sustancias.

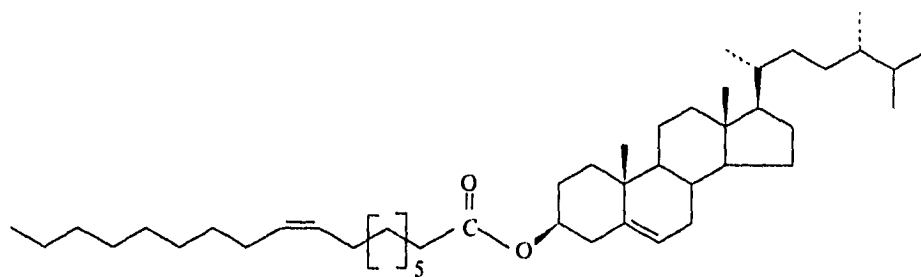


triacylglicerol (31)

El extracto de acetato de etilo de las semillas mostró por cromatografía analítica una notable similitud en su composición con respecto al extracto hexánico. La sustancia mayoritaria presente en este extracto fué la mezcla de triacylgliceroles.

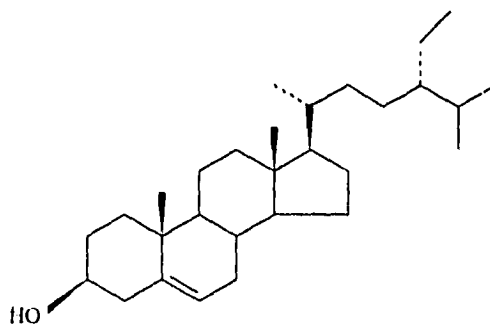
Del fraccionamiento del extracto metanólico de las semillas de *Lopezia racemosa*, se obtuvieron 56.1 mg de un residuo ceroso, cromatográficamente homogéneo, que en el espectro de RMN<sup>1</sup>H (espectro 25), presenta señales en  $\delta$  0.67 a  $\delta$  1.01 correspondientes a metilos, presumiblemente correspondientes a la estructura de un esteroide, lo cual estaría de acuerdo con la señal múltiple localizada en  $\delta$  4.58 que integra para un hidrógeno asignable al hidrógeno geminal a un éster en C-3, lo que permite suponer la presencia de un éster del esteroil. La señal en  $\delta$  5.37 se asigna al H-6 del esteroide, sin embargo integra para tres hidrógenos vinílicos de lo que se deduce que el éster presenta una insaturación, por lo que de la integración del área bajo la curva de la señal en  $\delta$  1.25 (señal intensa) asignable a metilenos se deduce que la longitud de la cadena del ester corresponde a un C<sub>18</sub>. Lo anterior permite suponer que el ácido graso natural que esterifica al C-3 es el ácido oleico (cis-9-octadecénico). De la comparación en cromatografía analítica con el ester de campesterilo

(17) se obtuvo un  $R_f$  similar para ambas sustancias ( $R_f$  0.75 en hexano-acetato de etilo (9:1)). La comparación de los datos espectroscópicos con los reportados en la literatura para el acetato de campesterilo,<sup>24,25</sup> permiten identificar al oleato de campesterilo (32), como constituyente natural de las semillas de esta especie.



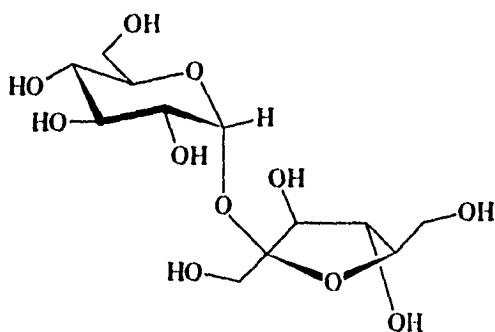
oleato de campesterilo (32)

De las fracciones siguientes se obtuvieron cristales en forma de aguja, que por comparación cromatográfica con una muestra auténtica se identificaron como  $\beta$ -sitosterol (20).



$\beta$ -sitosterol (20)

Finalmente, del extracto metanólico de las semillas se obtuvo un sólido blanco, PF 182-185 °C. El espectro de RMN<sup>1</sup>H (espectro 26), presenta un conjunto de señales en  $\delta$  3.34 a  $\delta$  4.11, que integran para 13 hidrógenos, y una señal doble de doble en  $\delta$  5.3 que integra para un hidrógeno. El espectro de RMN<sup>13</sup>C, presenta 12 señales para esta sustancia, que de acuerdo al experimento DEPT (espectro 27) corresponden a 3 metileno y 8 metinos, no observándose la señal en  $\delta$  103.30 que se observa en el espectro original, el cual puede ser asignado a un carbono cuaternario por su desplazamiento químico. Se realizó la prueba de Molish con una pequeña muestra de esta sustancia resultando positiva, lo que junto con los datos anteriores sugiere la estructura de un disacárido para esta sustancia. La comparación de los datos espectroscópicos de la sustancia obtenida con los informados en la literatura para la sacarosa (33),<sup>39,42</sup> permiten establecer la identidad de la misma como constituyente natural presente en las semillas de esta especie.



sacarosa (33)

Tabla 13. Desplazamientos químicos selectos en RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, D<sub>2</sub>O) de **33**.

33 <sup>a</sup>	33 <sup>b</sup>
5.45 (d, 1H, J= 3.9 Hz)	5.29 (d, J= 3.8 Hz)
4.25 (d, 1H, J= 8.7 Hz)	4.09 (d, J= 8.6 Hz)
4.10 (apt, 1H, J= 8.7 Hz)	3.92 (t, J= 8.6 Hz)
3.92-3.380 (m, 7H)	3.68-3.78 (m, 7H)
3.73 (s, 2H)	3.55 (s, 2H)
3.60 (dd, 1H, J= 3.9, 10.0 Hz)	3.43 (dd, 1H, J= 3.9, 9.9 Hz)
3.50 (apt, 1H, J= 9.2 Hz)	3.61 (d, 1H, J= 9.0 Hz)

<sup>a</sup> Datos informados en la referencia 42

<sup>b</sup> Datos obtenidos en el presente trabajo a (200 MHz, D<sub>2</sub>O)

**RESUMEN Y CONCLUSIONES**

Como resultado del presente estudio se aislaron 11 substancias diferentes y se caracterizaron estructuralmente, algunas de ellas se encontraron presentes tanto en partes aéreas (flores, hojas y tallos) como en semillas de la especie *Lopezia racemosa*. A continuación se enlistan las sustancias aisladas

*Lopezia racemosa*

Substancia aislada	Partes aéreas			Semillas		
	hexano	AcOEt	MeOH	hexano	AcOEt	MeOH
1. eicosanoato de etilo (16)	*					
2. palmitato de etilo (19)	*					
3. Triglicéridos (31)				*	*	*
4. eicosanoato de campesterilo (17)	*					
5. oleato de campesterilo (32)						*
6. linoleato de $\beta$ -sitosterilo (18)	*					
7. $\beta$ -D-glucopiranosido de $\beta$ -sitosterilo (22)		*				
8. $\beta$ -sitosterol (20)		*	*			*
9. $\beta$ -D-glucopiranososa (24)			*			
10. $\beta$ -D-fructofuranosido de $\alpha$ -D-fructofuranosilo (27)			*			
11 $\alpha$ -D-glucopiranosido de $\beta$ -D-fructofuranosilo (28) (sacarosa)			*			*

\* sustancia presente.



Los resultados anteriores permiten ver que hay dos sustancias en común en las partes aéreas y en las semillas, que son el  $\beta$ -sitosterol (20) y la sacarosa (28).

El  $\beta$ -sitosterol es uno de los compuestos más abundantes en partes aéreas de *Lopezia racemosa*, y en semillas se encontró en pequeñas cantidades. Con respecto a los demás productos naturales aislados en las partes aéreas, se aislaron en abundancia los azúcares (24, 27 y 28), encontrándose en menor abundancia el  $\beta$ -D-glucopiranosido de  $\beta$ -sitosterilo, los ésteres etílicos, los ésteres de campesterol, y el éster de  $\beta$ -sitosterol.

La sacarosa junto con la mezcla de triacilglicérols (31), son las sustancias más abundantes en las semillas de la especie *Lopezia racemosa*.

Los triglicéridos, los ésteres etílicos y los ésteres de campesterol y  $\beta$ -sitosterol constituyen una reserva alimenticia y energética para la especie vegetal

Se ha informado actividad diurética para el stigmasta-7,22-dieno-3 $\beta$ -O-glucósido,<sup>43</sup> cuya estructura molecular es muy semejante al del glucósido de  $\beta$ -sitosterilo, por lo que, presumiblemente, se podría suponer que este producto natural tenga actividad diurética, lo que explicaría el uso en la medicina tradicional de esta especie vegetal como diurético. Por lo que sería conveniente realizar estudios farmacológicos posteriores.

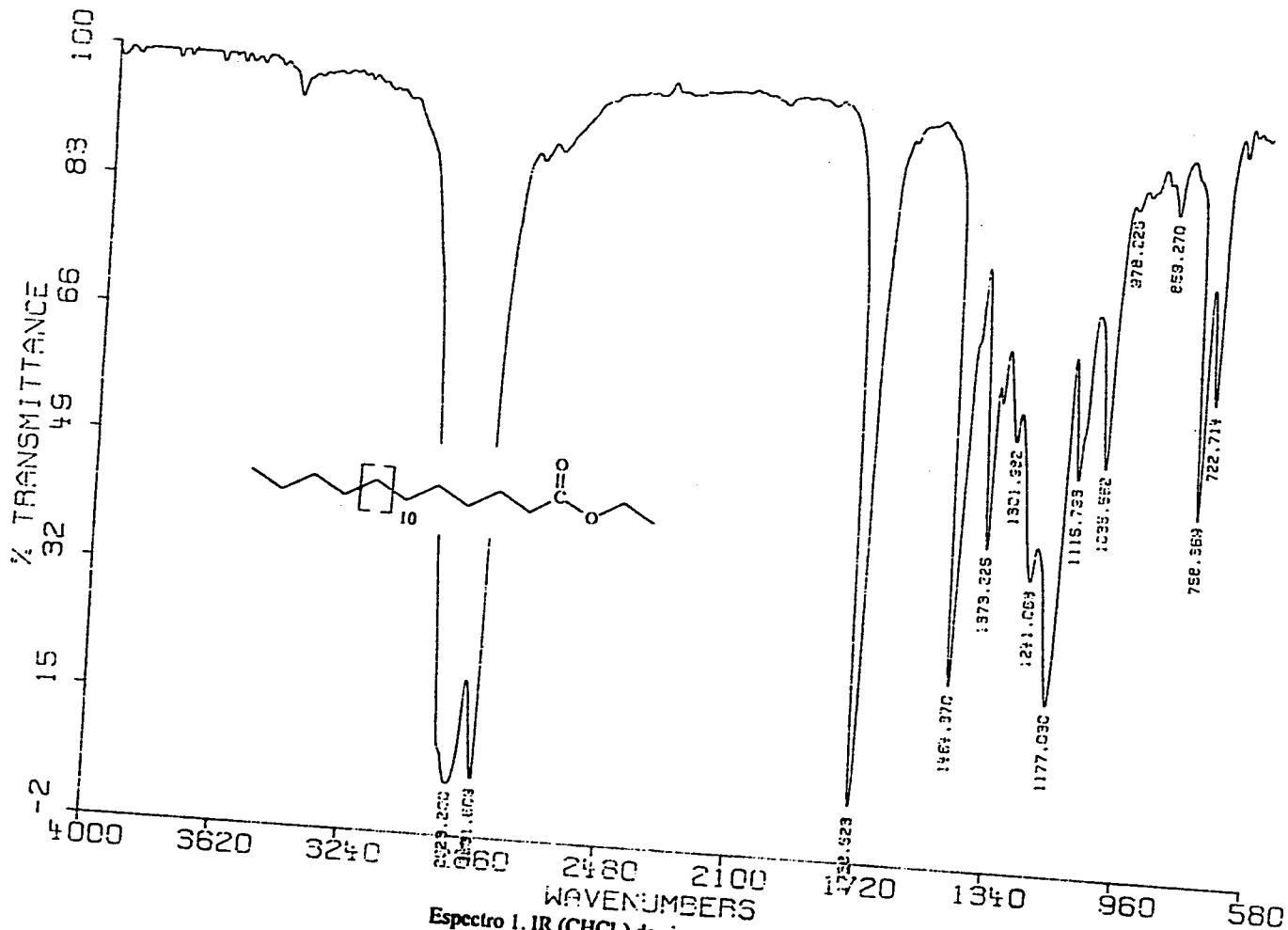
La diferencia en la cantidad de  $\beta$ -sitosterol encontrado en semillas y en partes aéreas es interesante ya que, se ha informado en un estudio en semillas de soya, que las líneas susceptibles al ataque de insectos contienen grandes cantidades de esteroides, siendo mayoritarios el sitosterol, estigmasterol y campesterol.<sup>44</sup> Lo anterior permite pensar que las semillas de *Lopezia racemosa* al contener pequeñas cantidades de  $\beta$ -sitosterol, sean más resistentes al ataque de insectos, y esto sea una de las causas por lo que pueden permanecer en el suelo durante prolongados periodos de tiempo en estado latente.

Los azúcares presentes son presumiblemente fuente energética para la especie. El disacárido (27) aislado de *Lopezia racemosa* es un producto natural novedoso ya que no se encontró descrito en la literatura. Sin embargo, en un trabajo de tesis sobre el aislamiento y caracterización de constituyentes de *Eragrostis mexicana*,<sup>45</sup> se aisló un disacárido caracterizado como O- $\beta$ -D-fructofuranosil (2 $\rightarrow$ 1)- $\beta$ -D-fructofuranosa, el cual presenta características espectroscópicas en RMN<sup>1</sup>H (200 MHz) muy similares a las de la sustancia aislada en el presente trabajo.

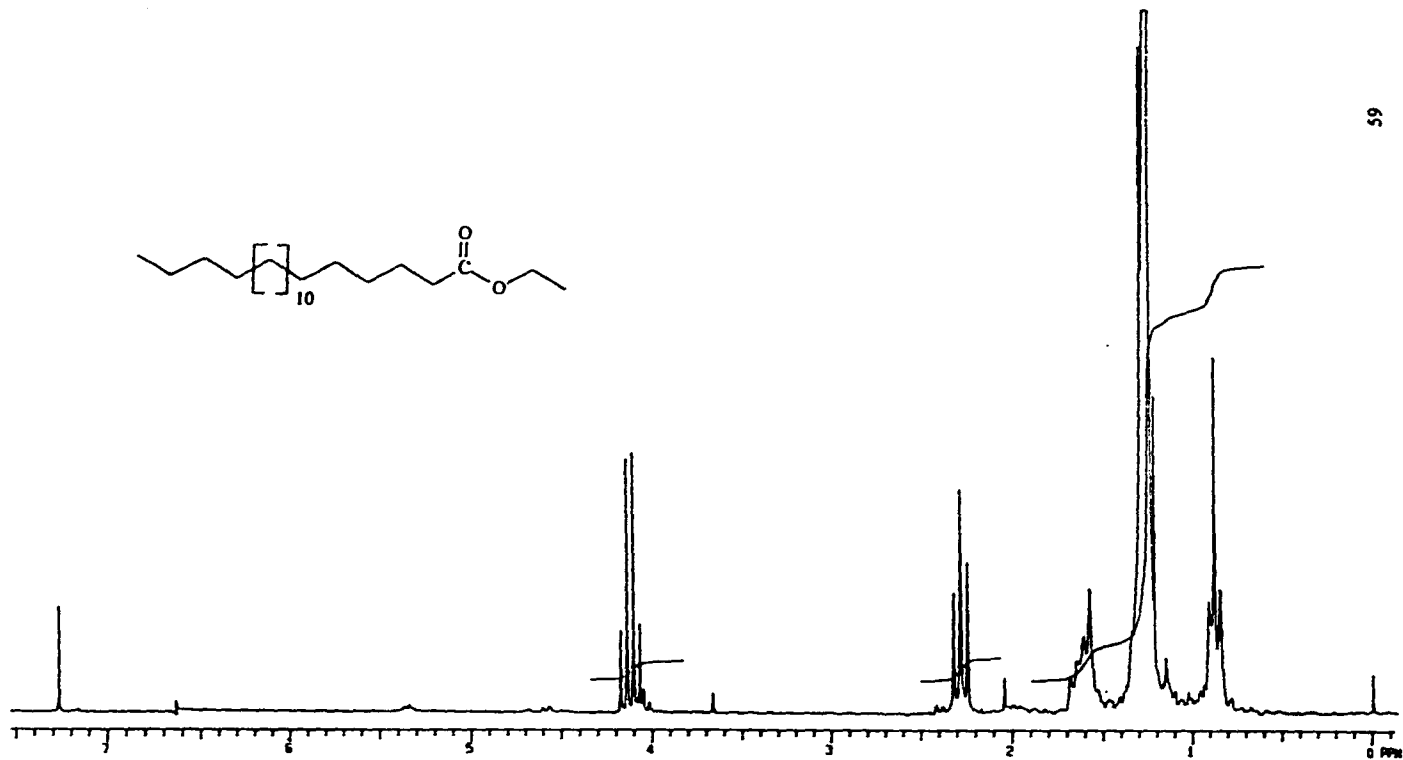
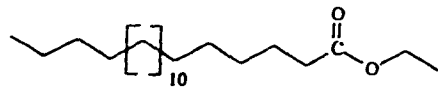
En este trabajo se aislaron sustancias no informadas anteriormente para esta especie, ni para la familia Onagraceae, a excepción de la glucosa y la sacarosa, descritas en un trabajo previo sobre onagráceas.

Este trabajo contribuyó al conocimiento de los constituyentes químicos de la especie *Lopezia racemosa* y por ende al de la flora nacional.

**ESPECTROS**

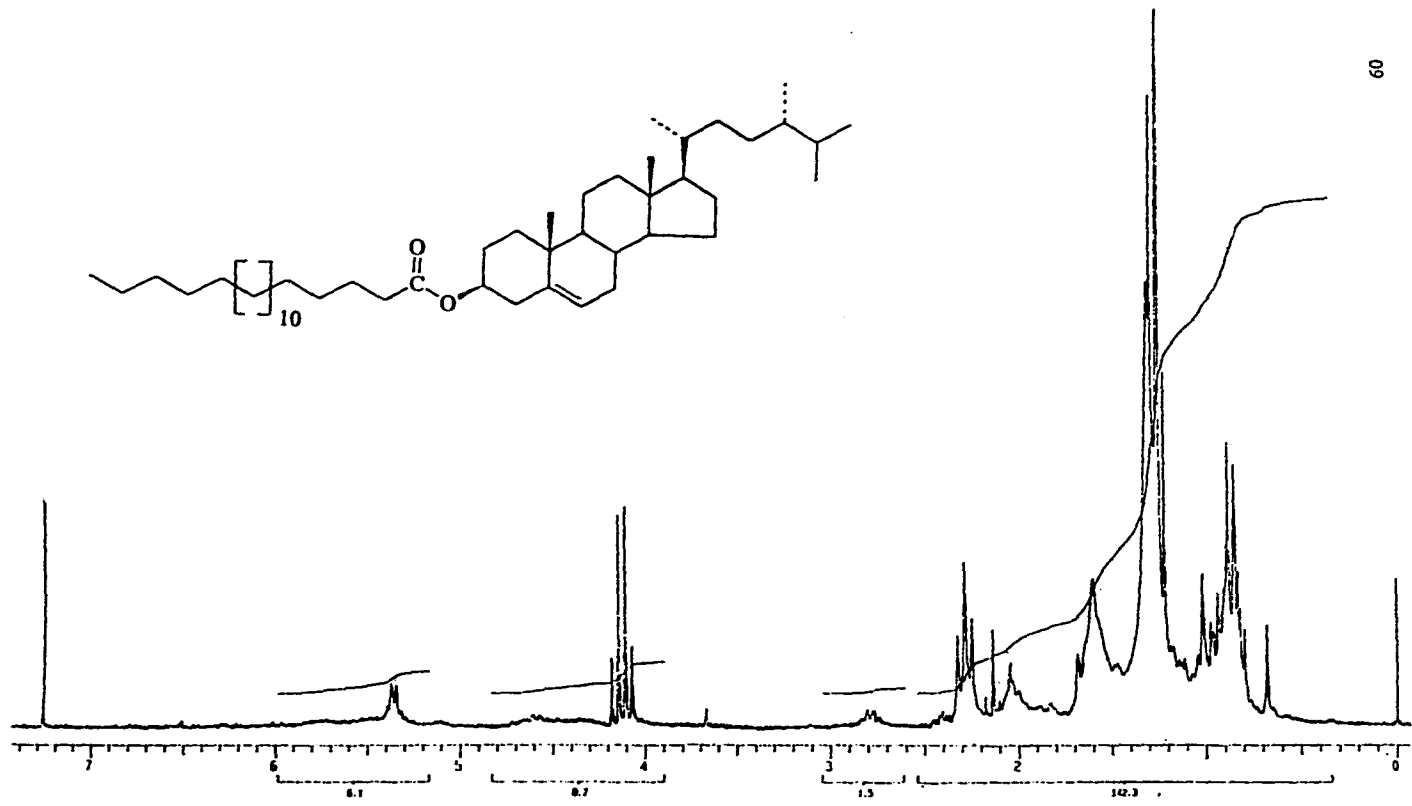


Espectro 1. IR (CHCl<sub>3</sub>) de cicosanoato de etilo (16)

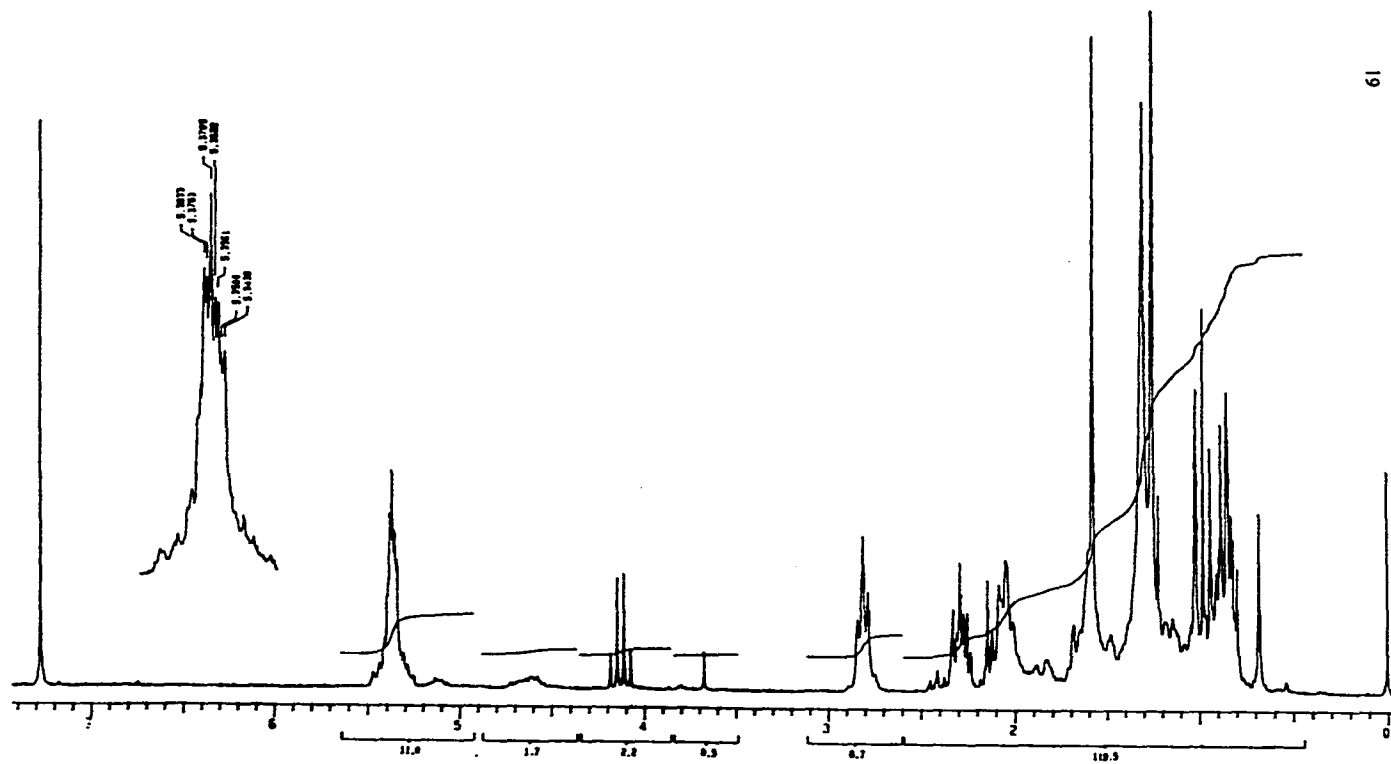


59

Espectro 2. RMN<sup>1</sup>H (200 MHz) de eicosanoato de etilo (16)

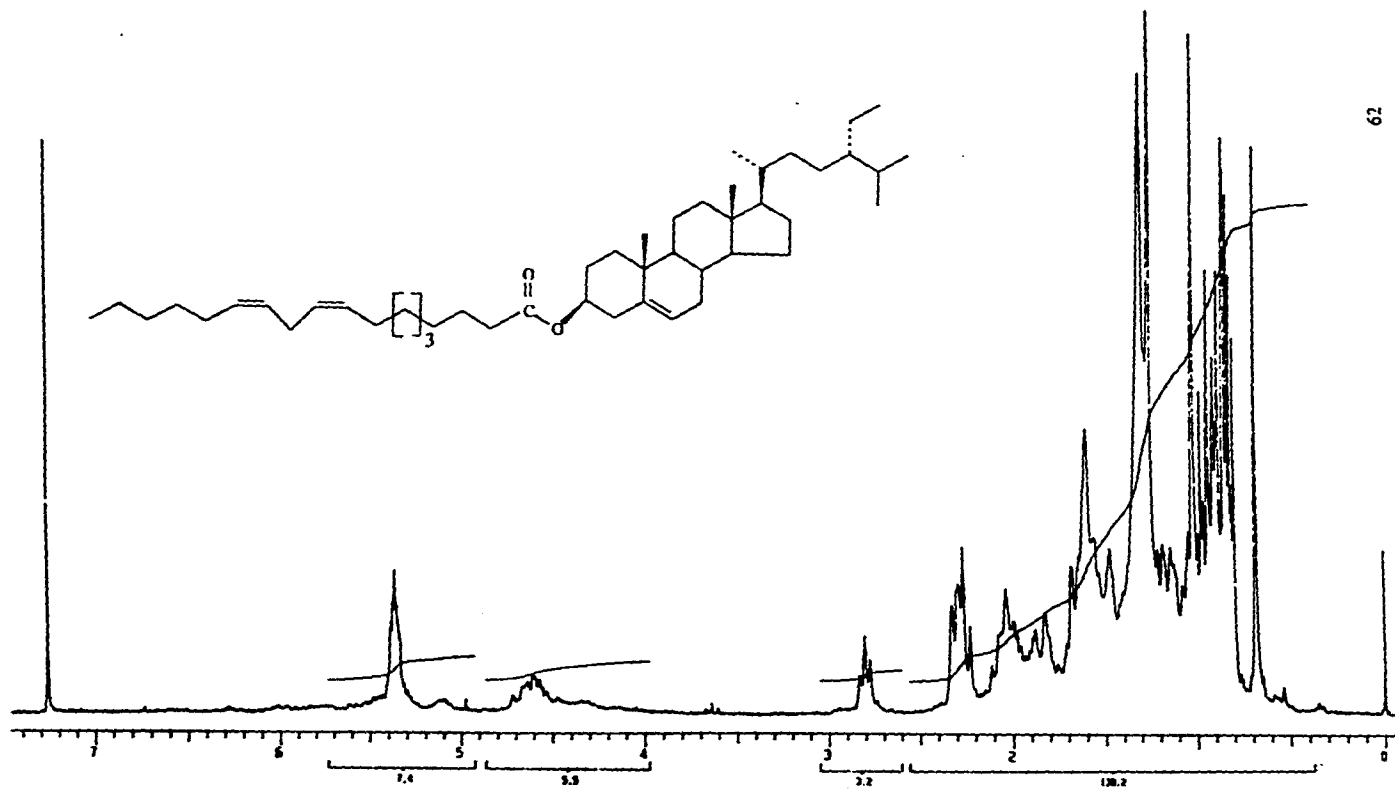


Espectro 3. RMN<sup>1</sup>H (200 MHz) de cicosanoato de campesterilo (17)



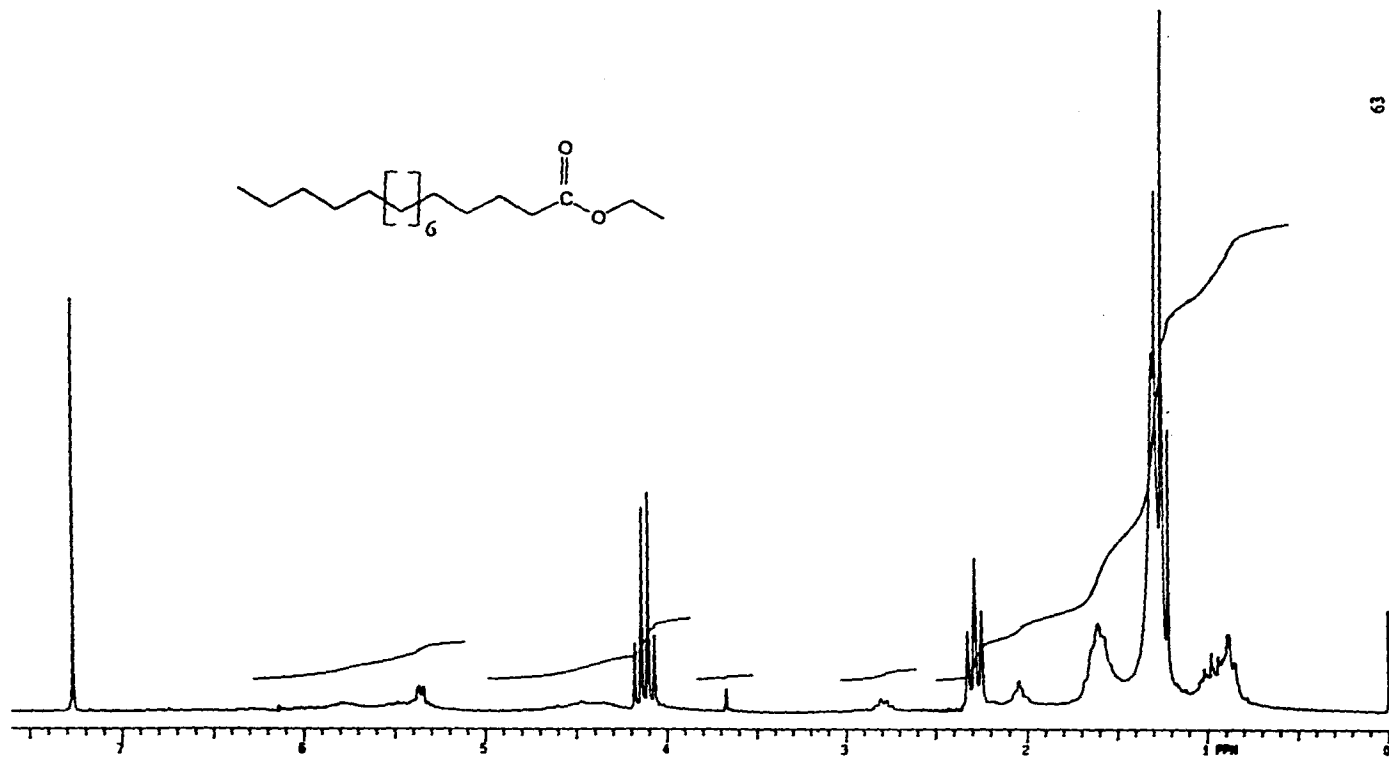
19

Espectro 4. RMN<sup>1</sup>H (200 MHz) de la mezcla de linoleato de  $\beta$ -sitosterol (18) y palmitato de ceto (19)



62

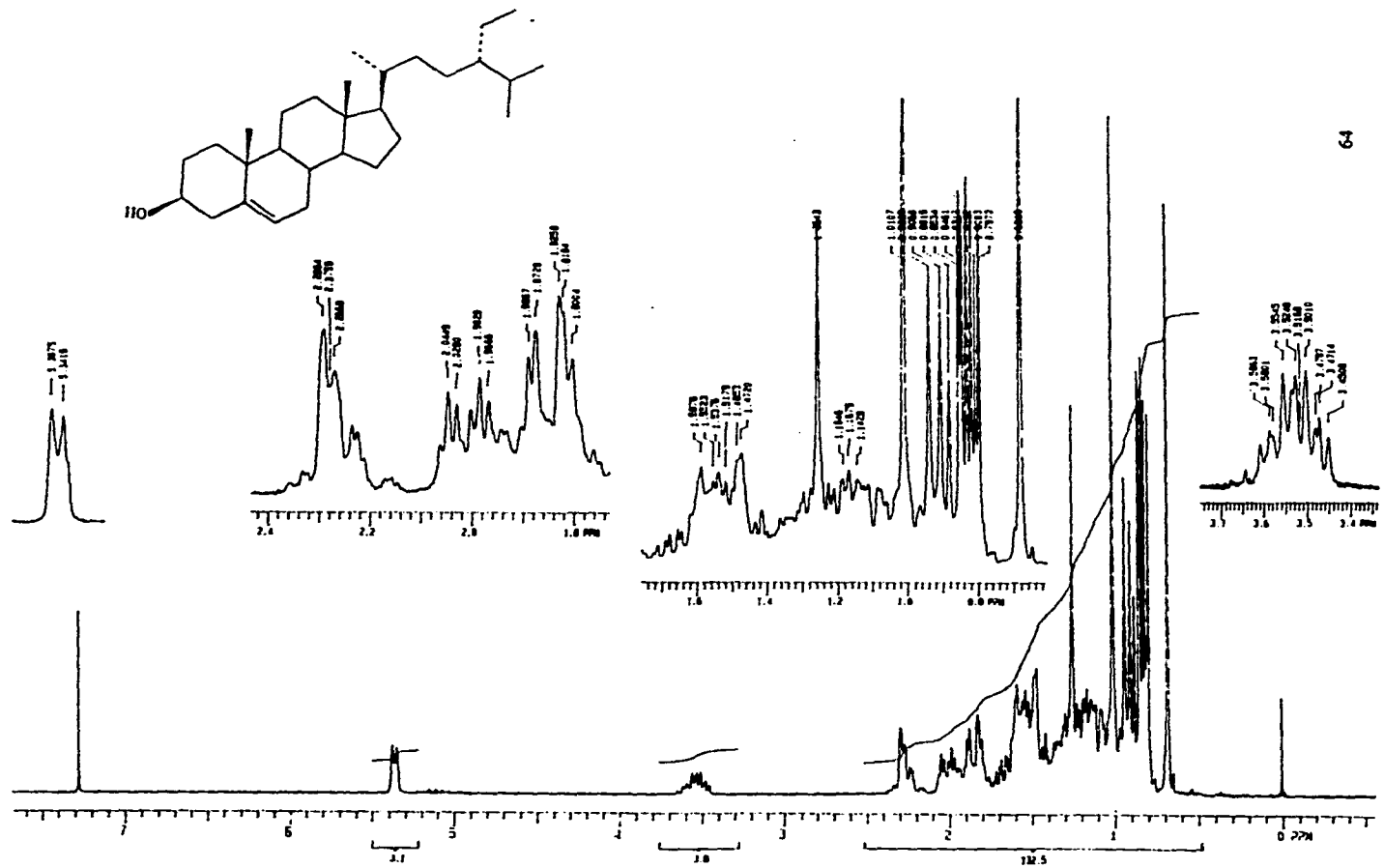
Espectro 5. RMN $^1\text{H}$  (200 MHz) de linoleato de  $\beta$ -sitosterilo (18)



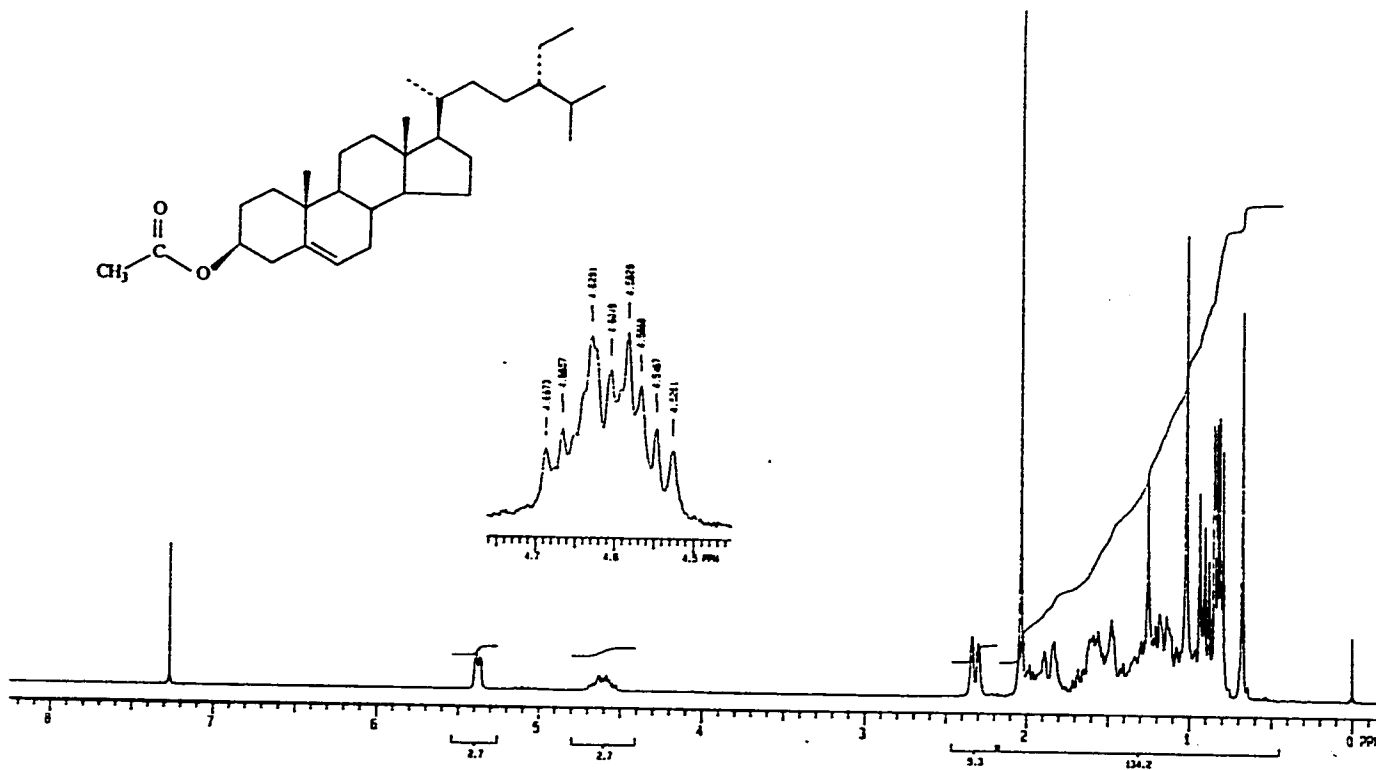
63

Espectro 6. RMN $^1\text{H}$  (200 MHz) de palmitato de etilo (19)

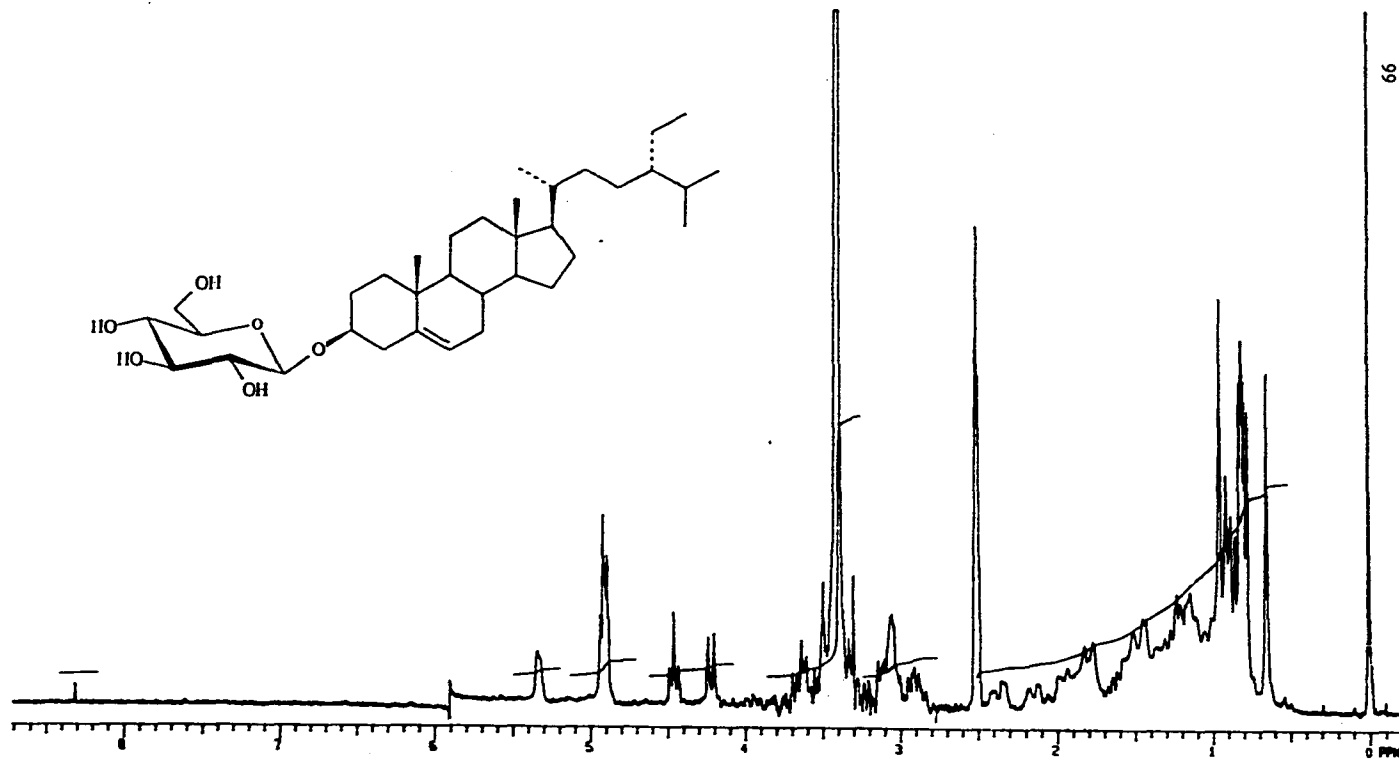




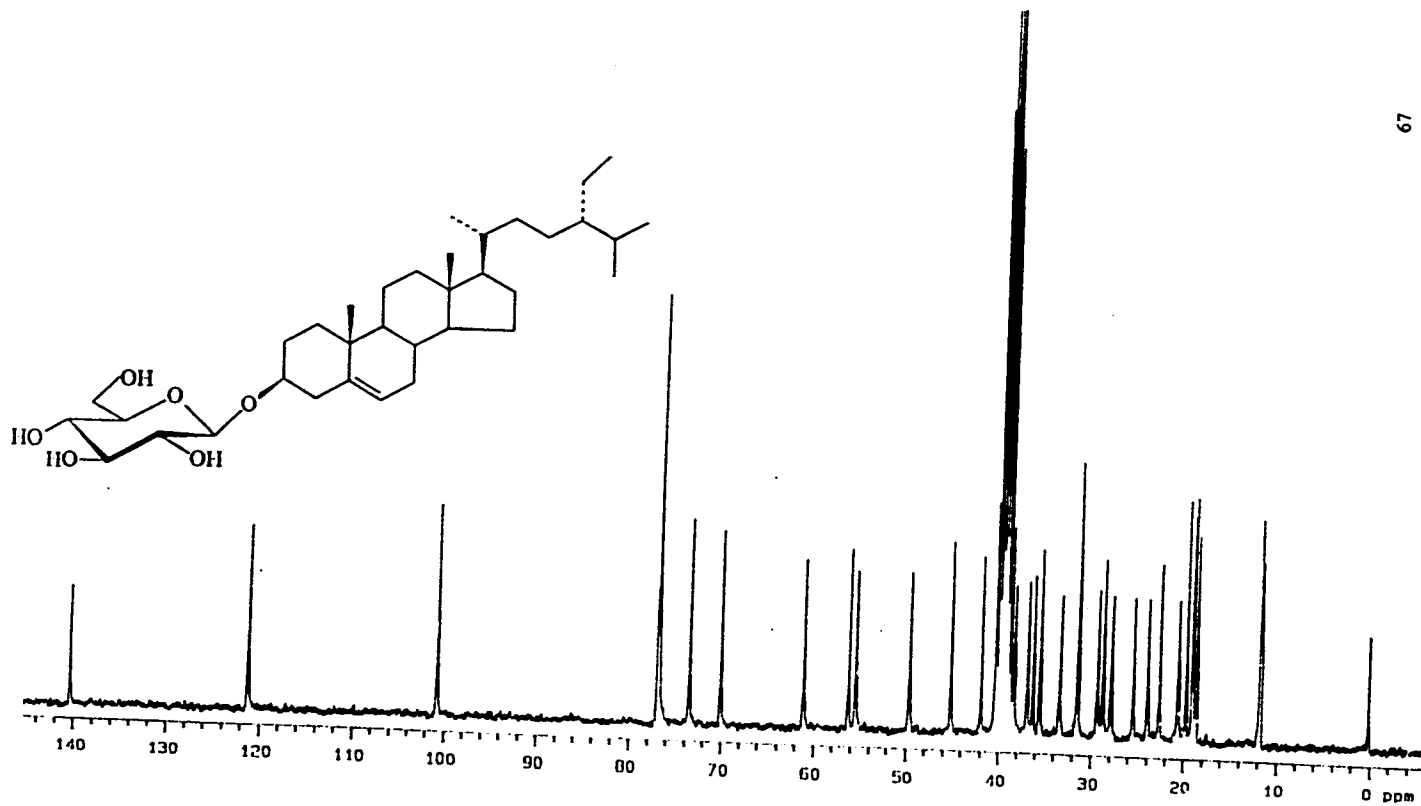
Espectro 7. RMN<sup>1</sup>H (200 MHz) de  $\beta$ -sitosterol (20)



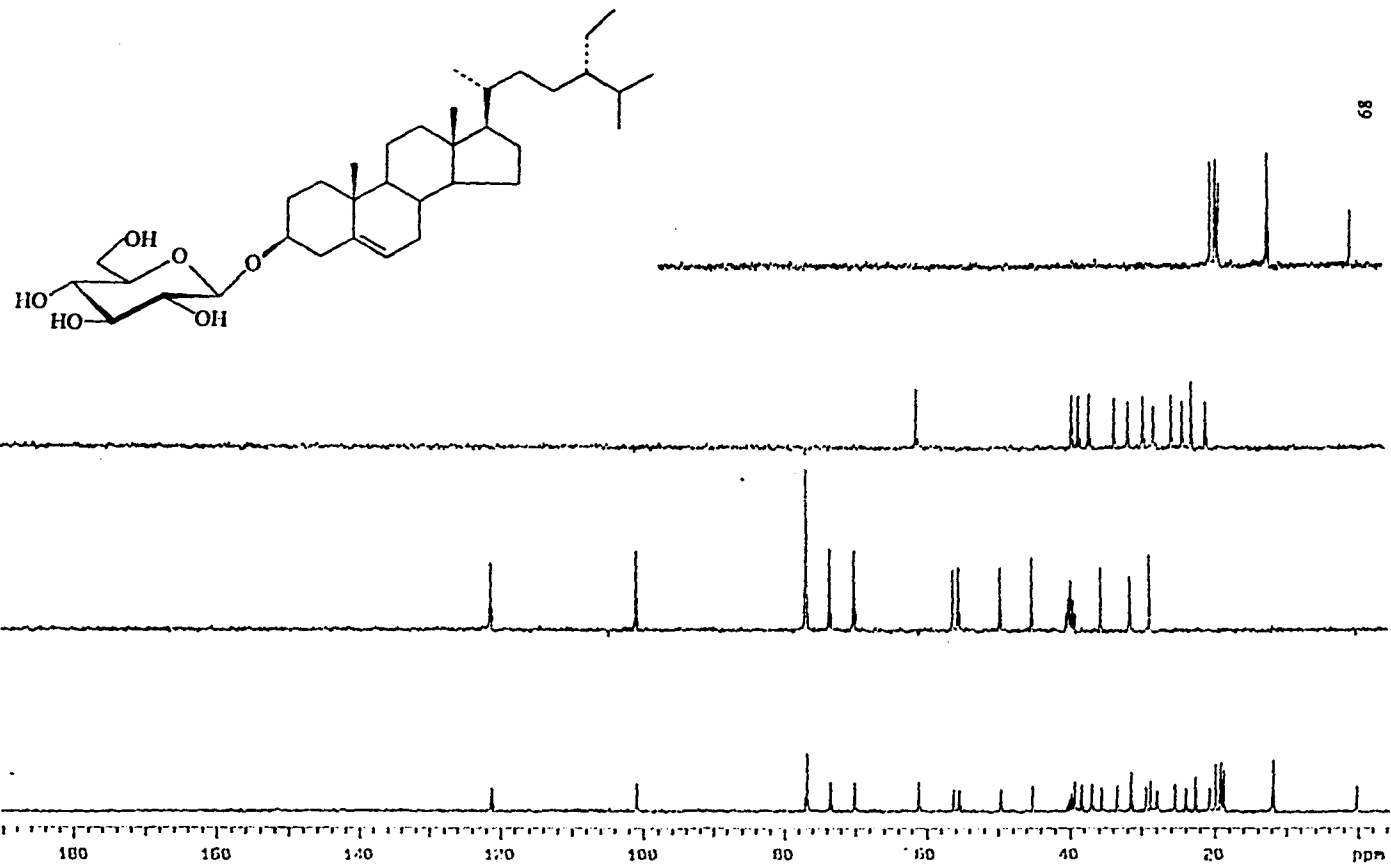
Espectro 8. RMN<sup>1</sup>H (200 MHz) de acetato de β-sitosterilo (20)



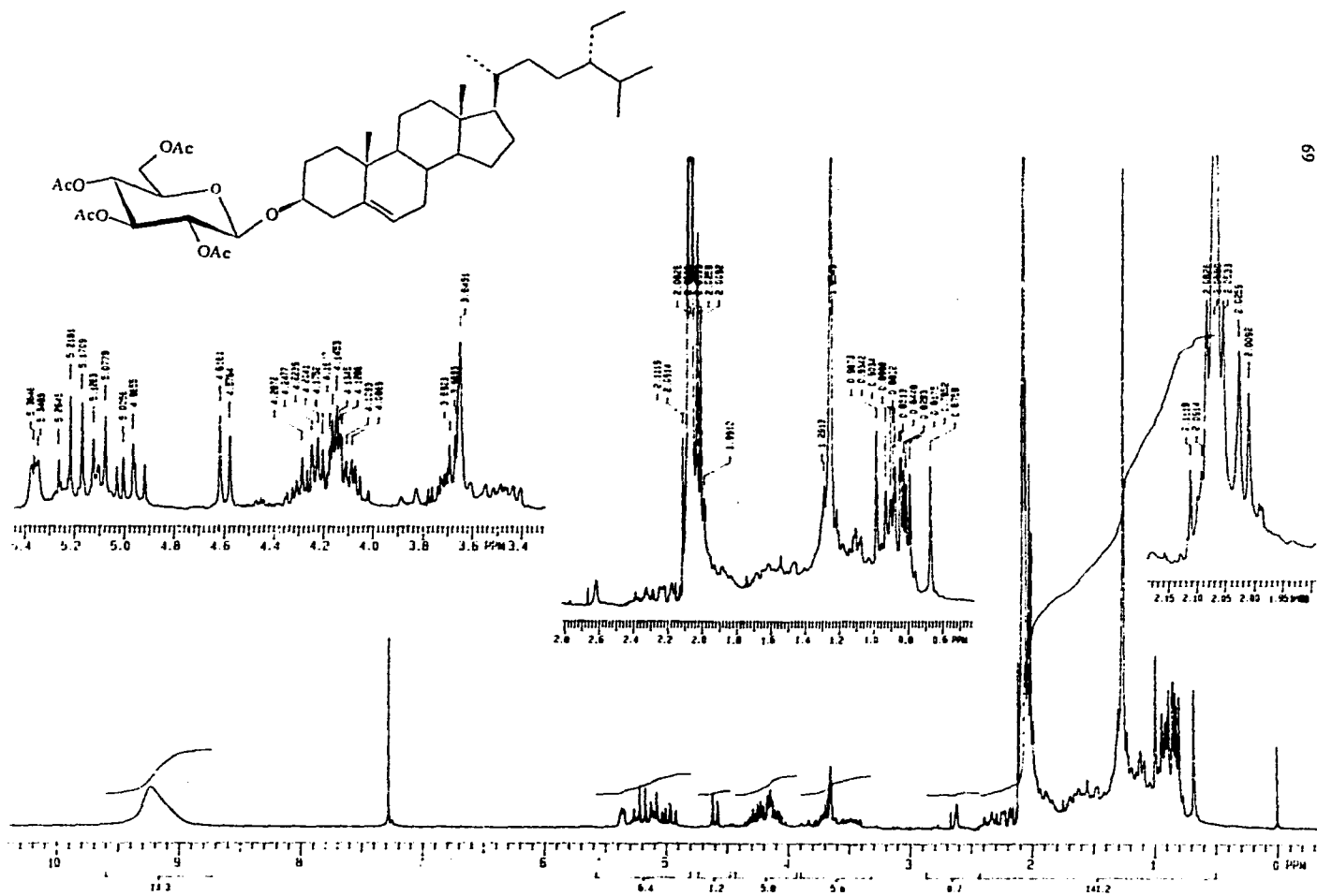
Espectro 9. RMN<sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>+DMSO) de  $\beta$ -D-glucopiranosido de  $\beta$ -sitosterilo (22)



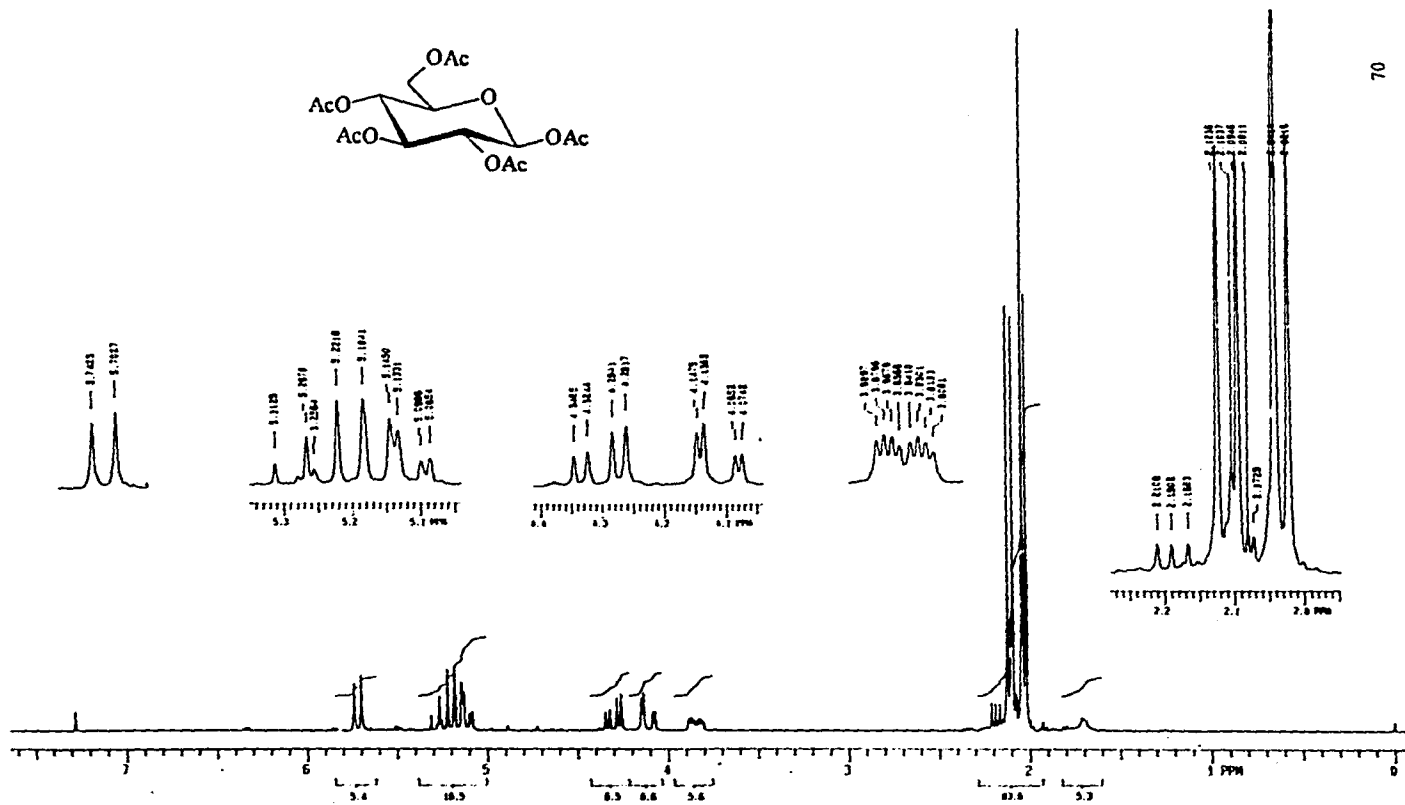
Espectro 10. RMN<sup>13</sup>C (75 Hz) de β-D- glucopiranosido de β-sitosterilo (22)



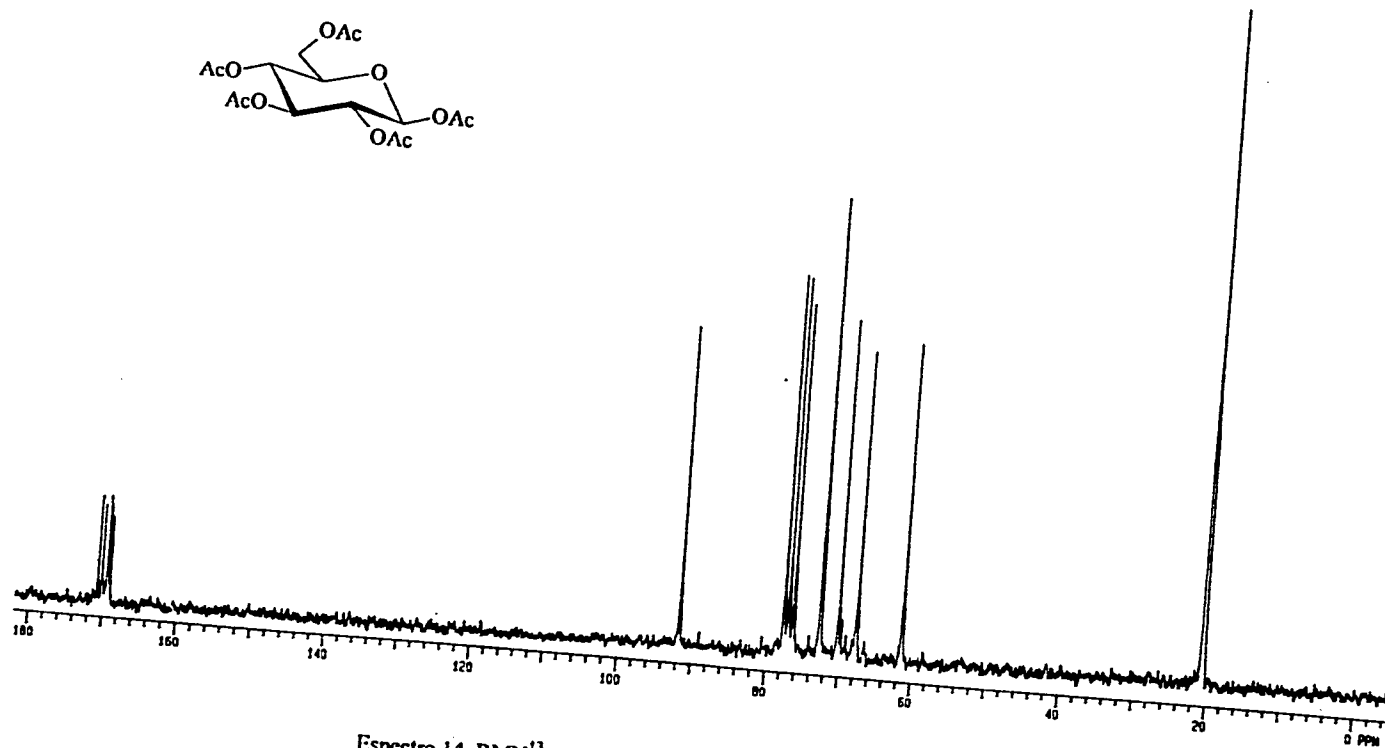
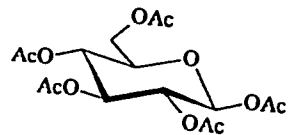
Espectro 11. RMN<sup>13</sup>C DEPT (75 Hz) de  $\beta$ -D glucopiranosido de  $\beta$ -sitosterilo (22)



Espectro 12. RMN<sup>1</sup>H (200 MHz) de tetraacetil β-D-glucopiranosido de β-sitosterilo (23)

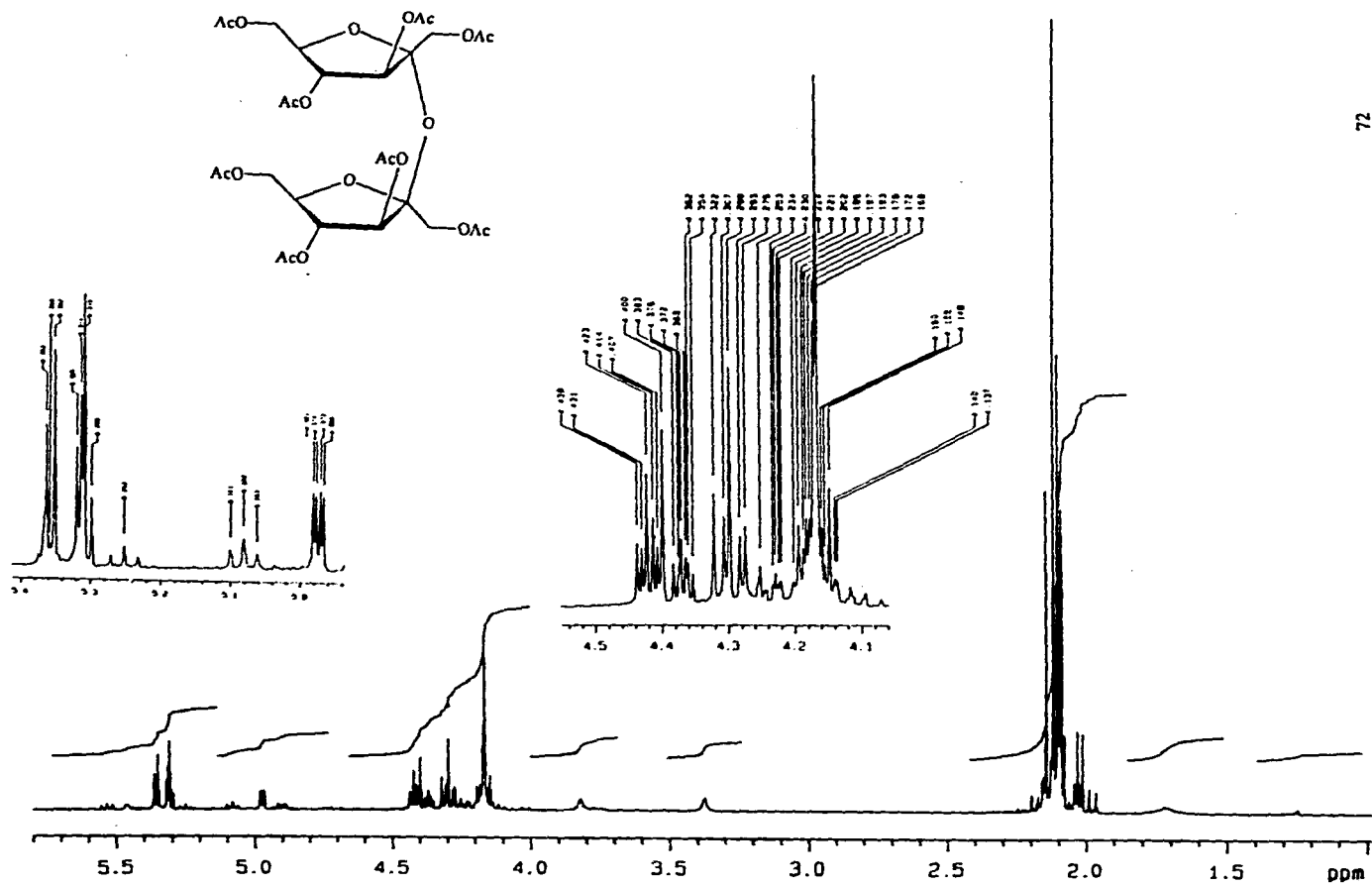


Espectro 13. RMN<sup>1</sup>H (200 MHz) de pentaacetil β-D-glucopiranos (24)

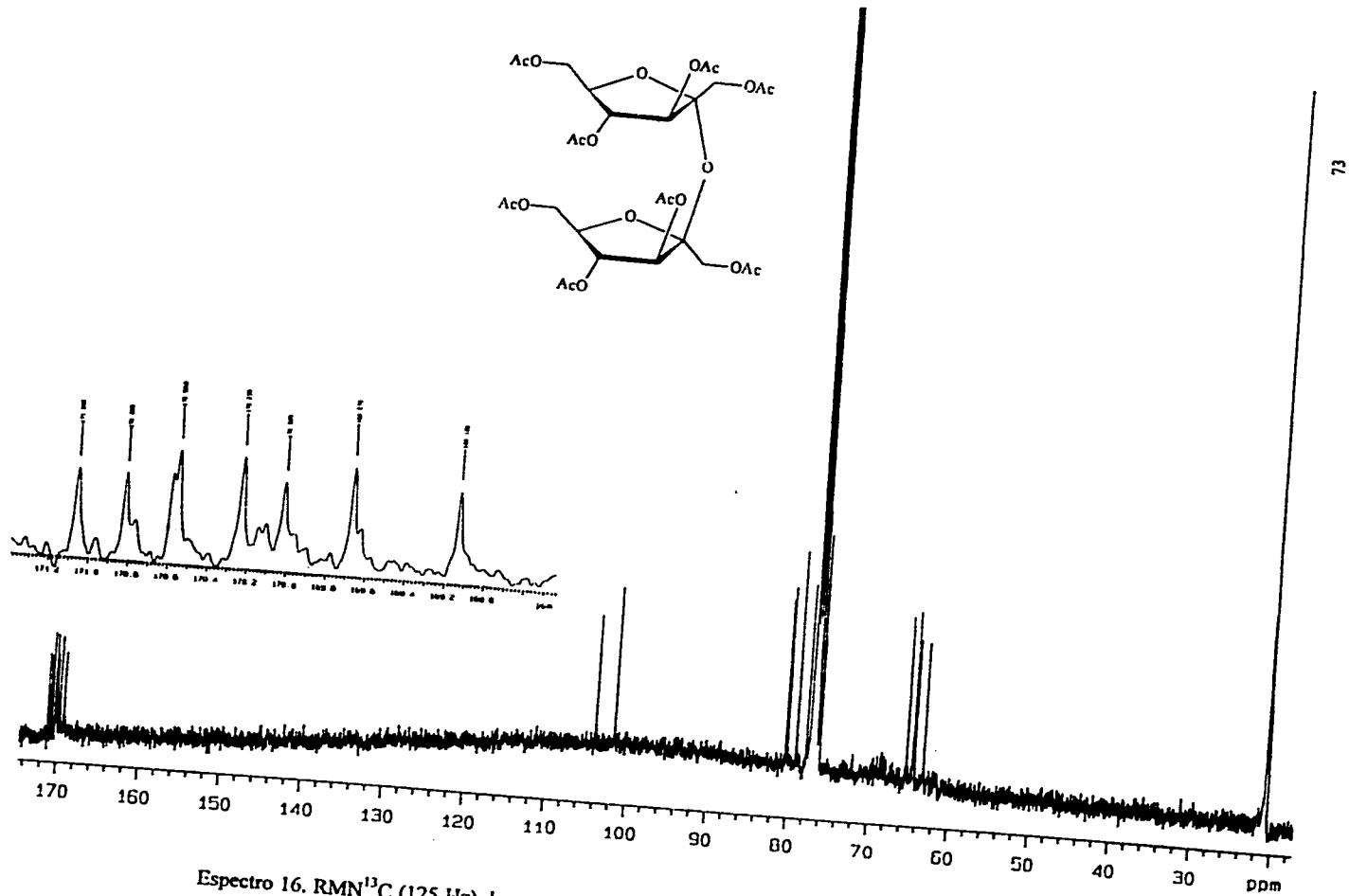
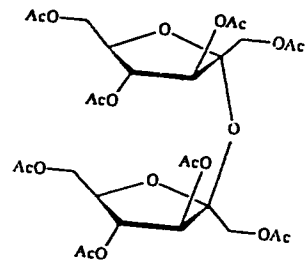


Espectro 14. RMN $^{13}\text{C}$  (75 Hz) de pentaacetil  $\beta$ -D-glucopiranos (24)

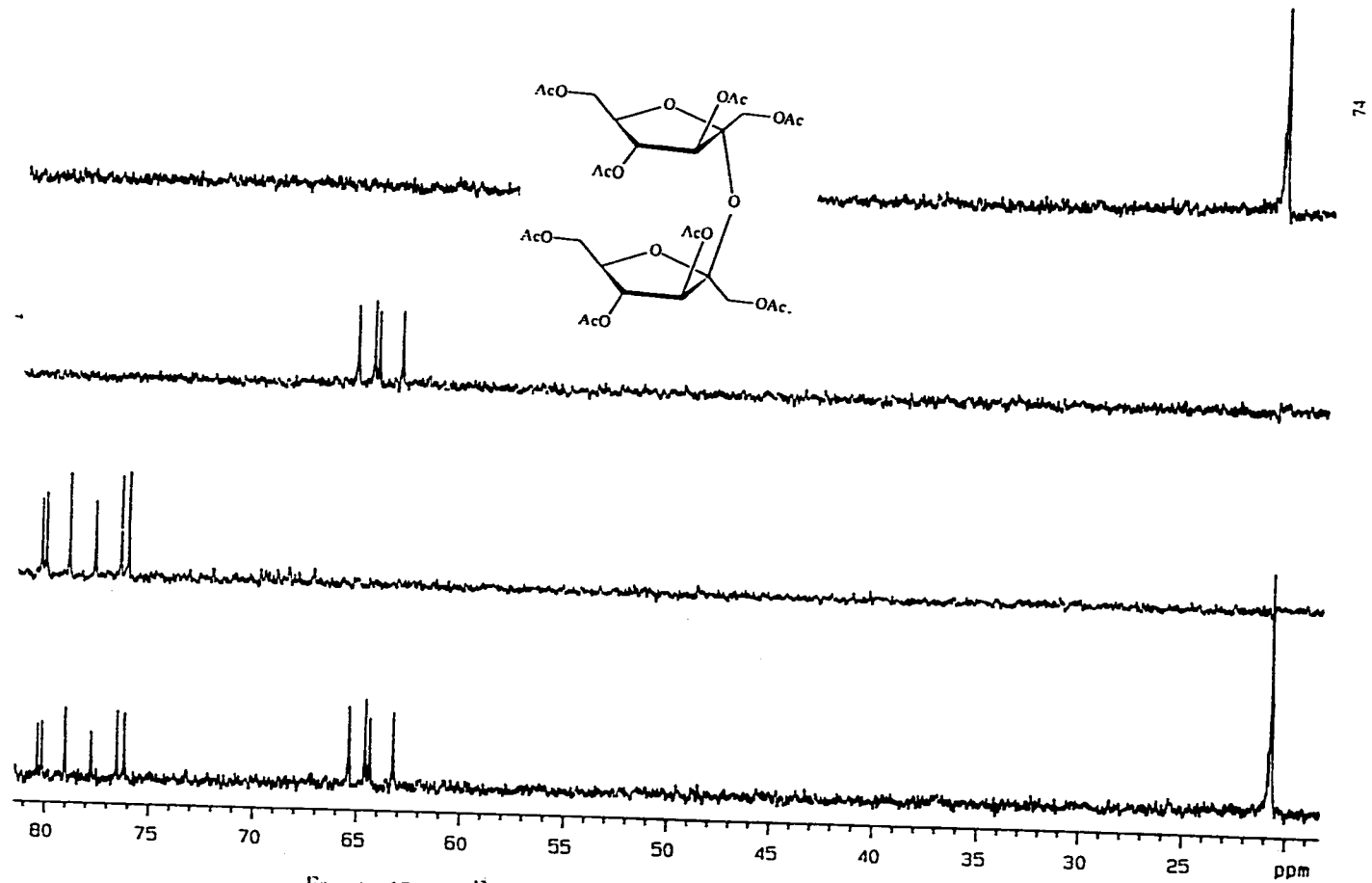




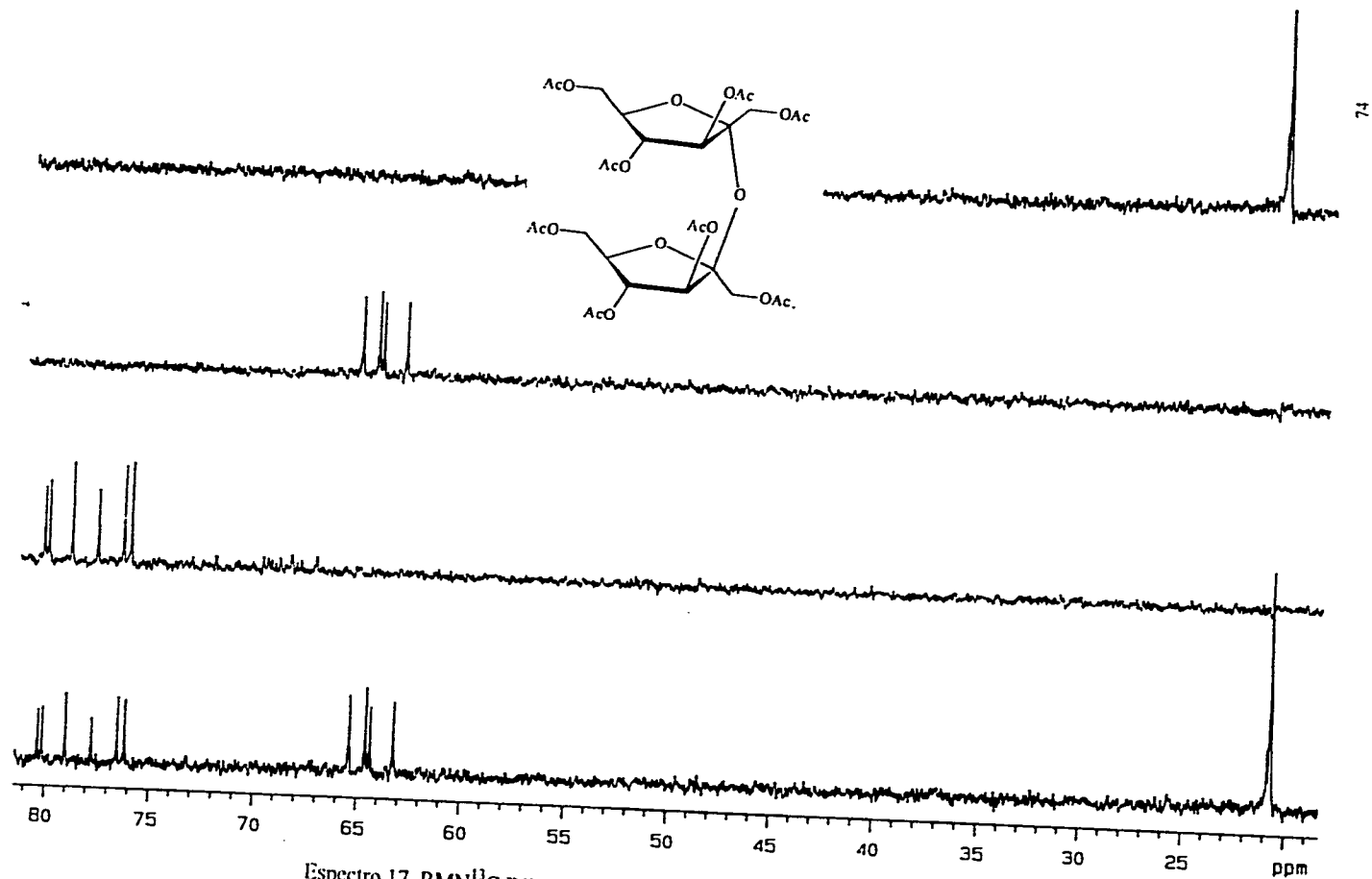
Espectro 15. RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) de octaacetil 2-O-(β-D-fructofuranosil)-α-D-fructofuranosa (27)



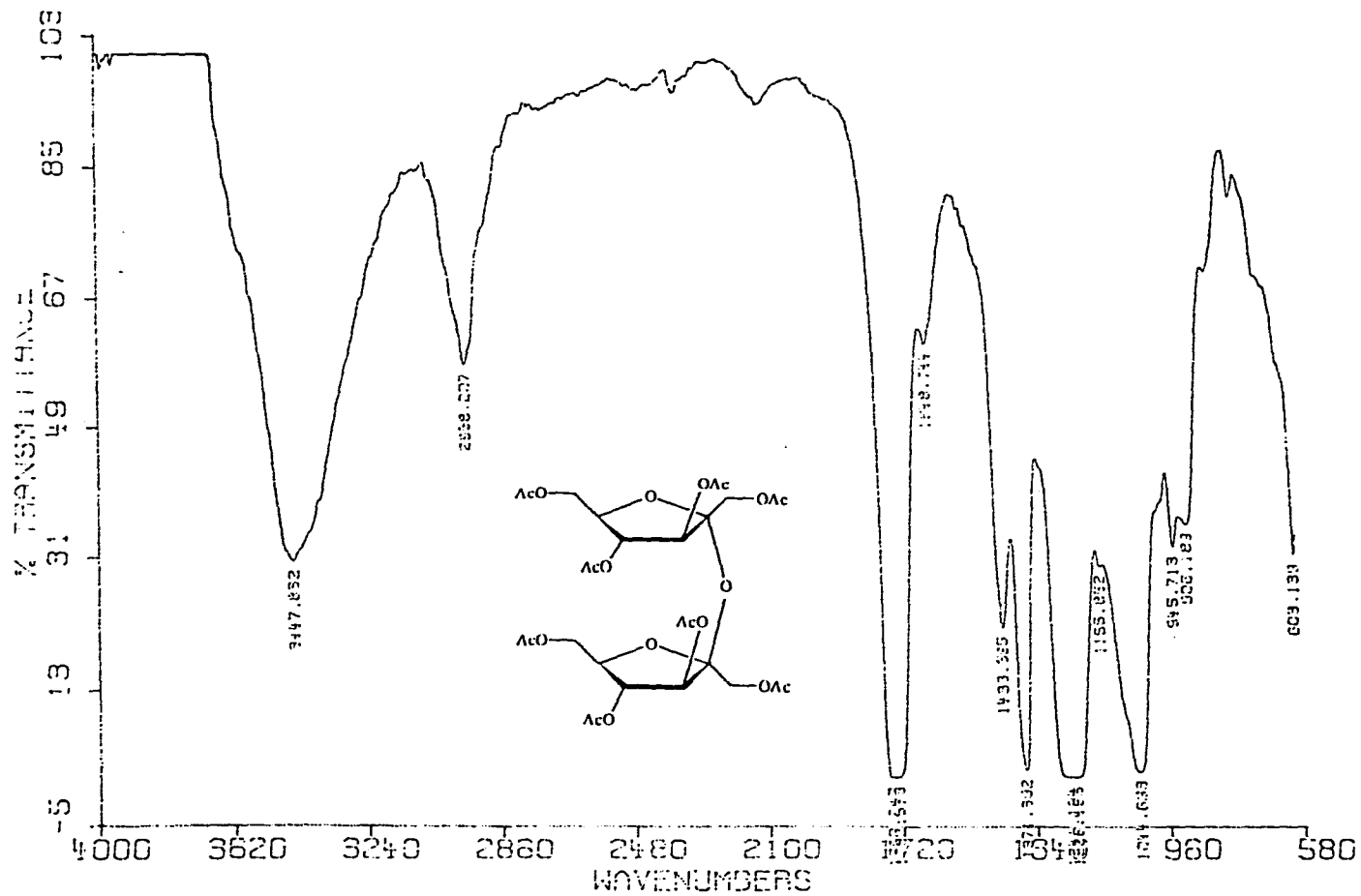
Espectro 16. RMN $^{13}\text{C}$  (125 Hz) de octaacetil 2-O-(β-D-fructofuranosil)-α-D-fructofuranosa (27)



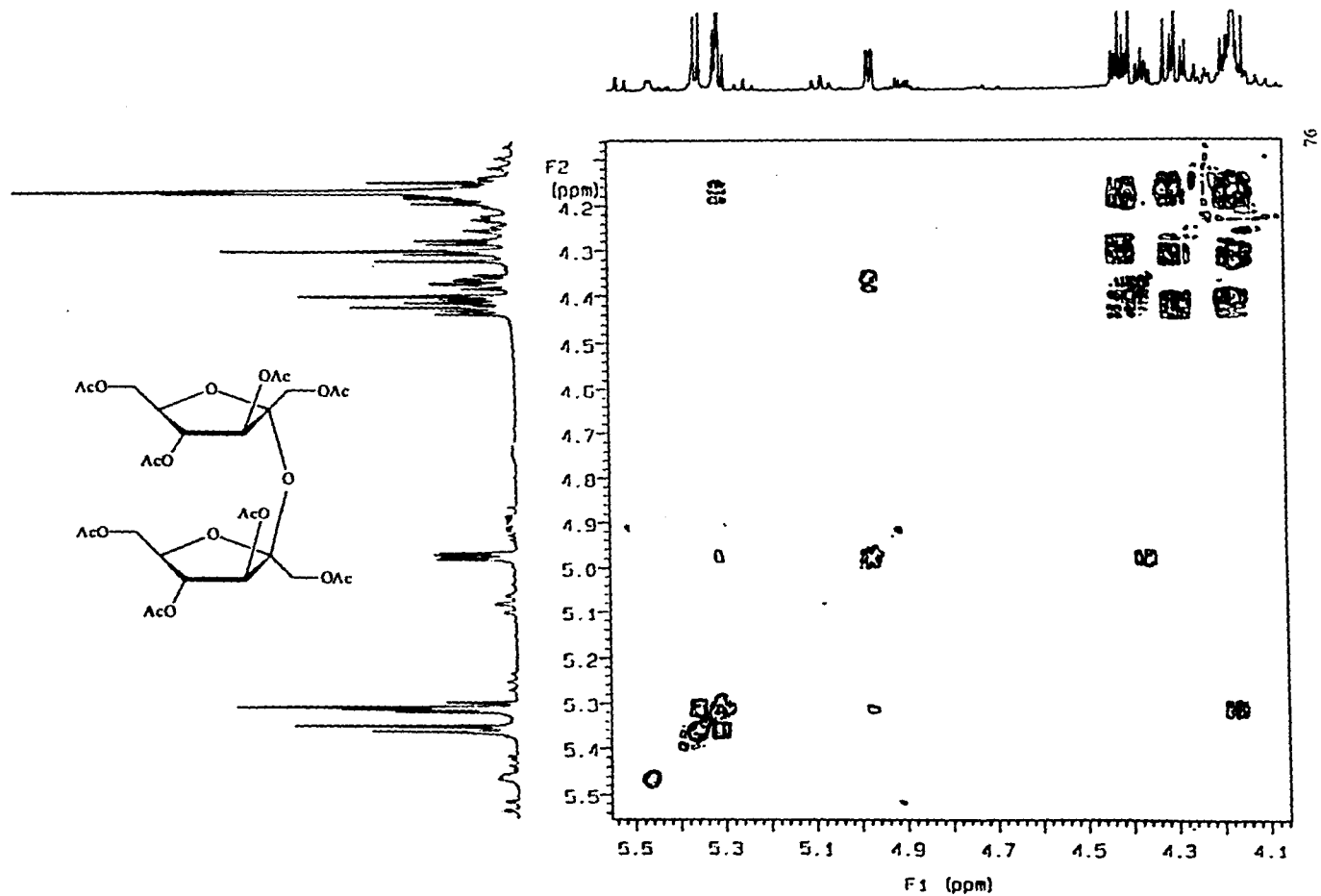
Espectro 17.  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  DEPT (125 Hz) de octaacetil 2-O-( $\beta$ -D-fructofuranosil)- $\alpha$ -D-fructofuranosa (27)



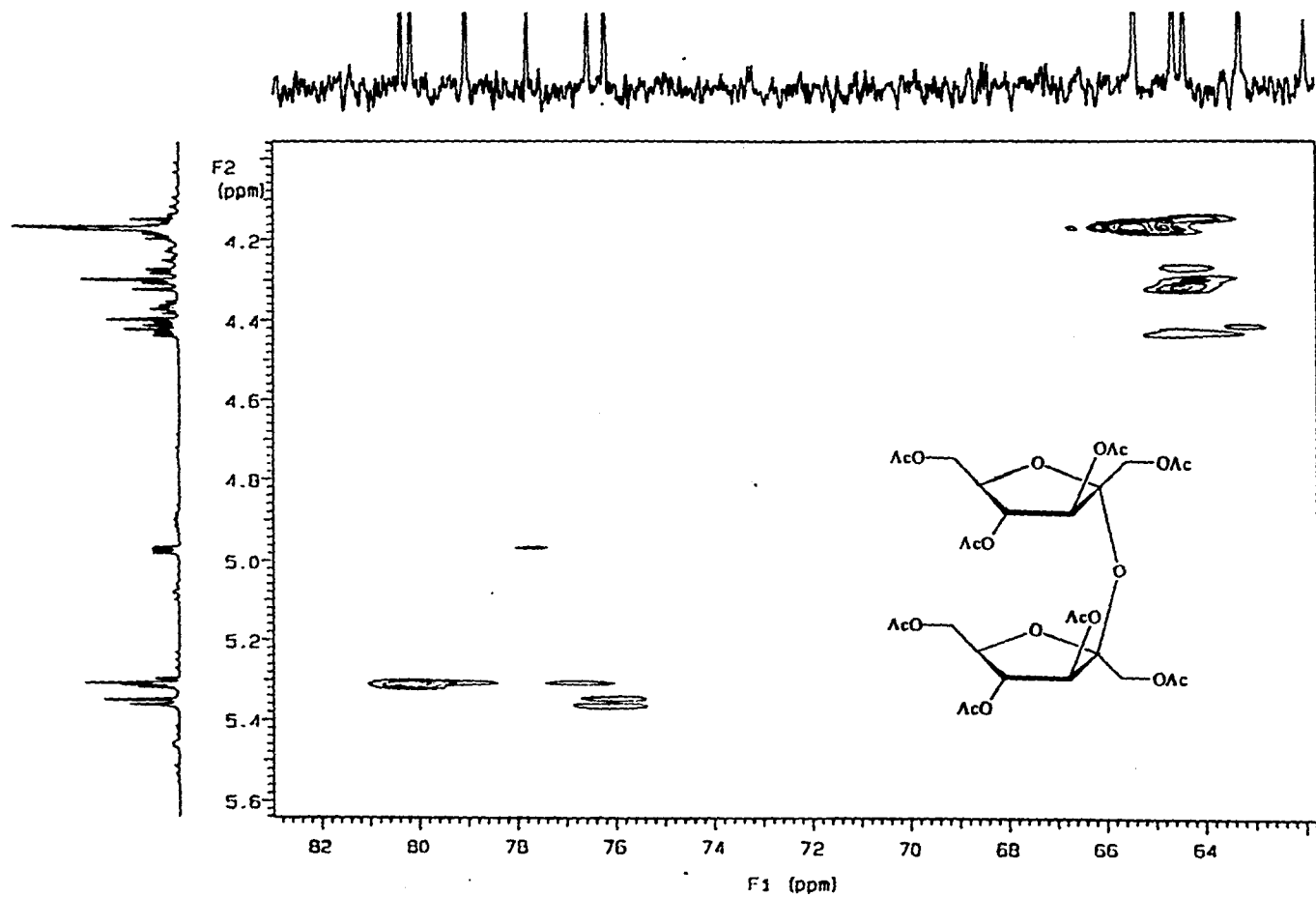
Espectro 17. RMN $^{13}\text{C}$  DEPT (125 Hz) de octaacetil 2-O-( $\beta$ -D-fructofuranosil)- $\alpha$ -D-fructofuranosa (27)



Espectro 18. IR (CHCl<sub>3</sub>) de octaacetil 2-O-(β-D-fructofuranosil)-α-D-fructofuranosa (27)

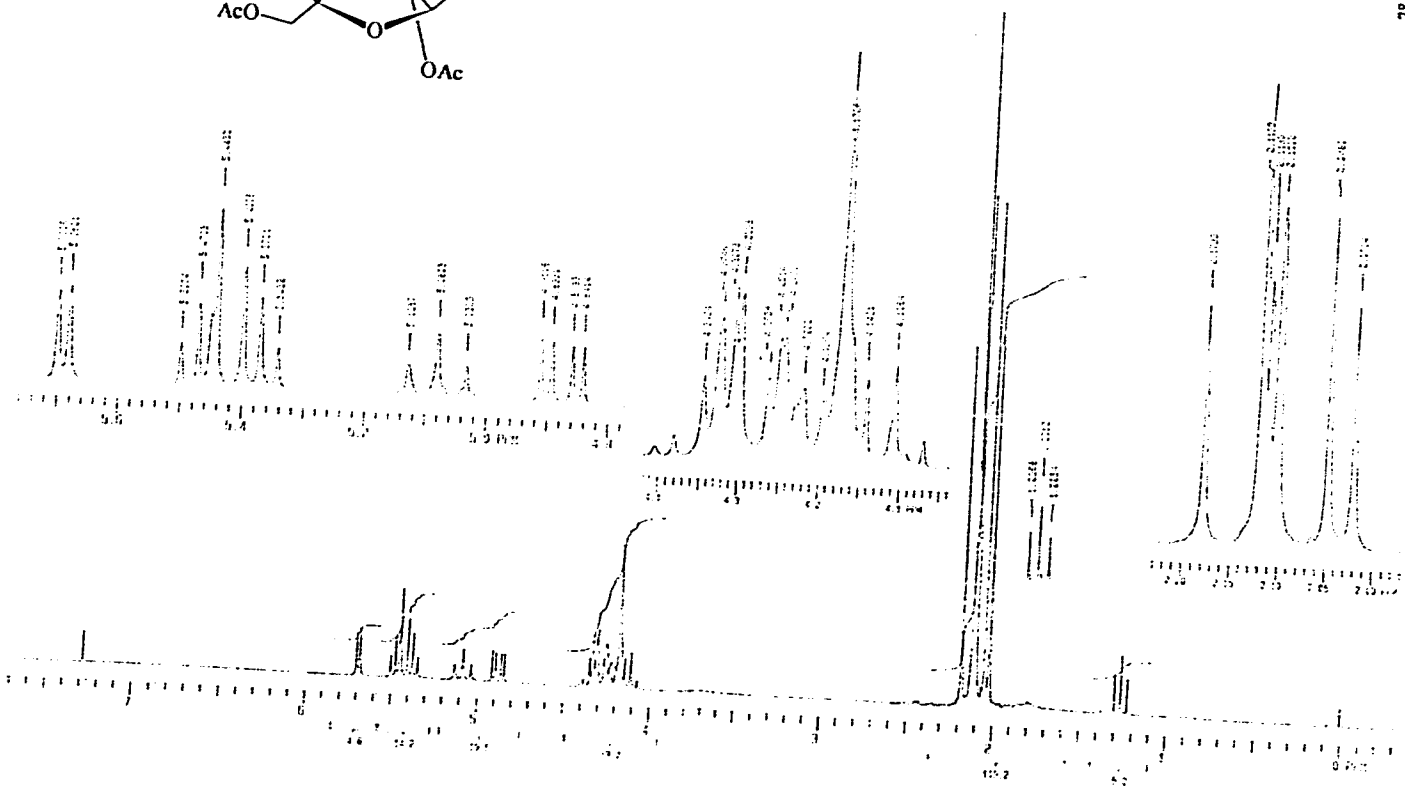
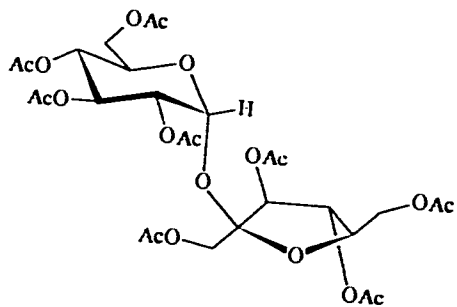


Espectro  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY (500 MHz) de octaacetil 2-O-(β-D-fructofuranosil)-α-D-fructofuranosa (27)



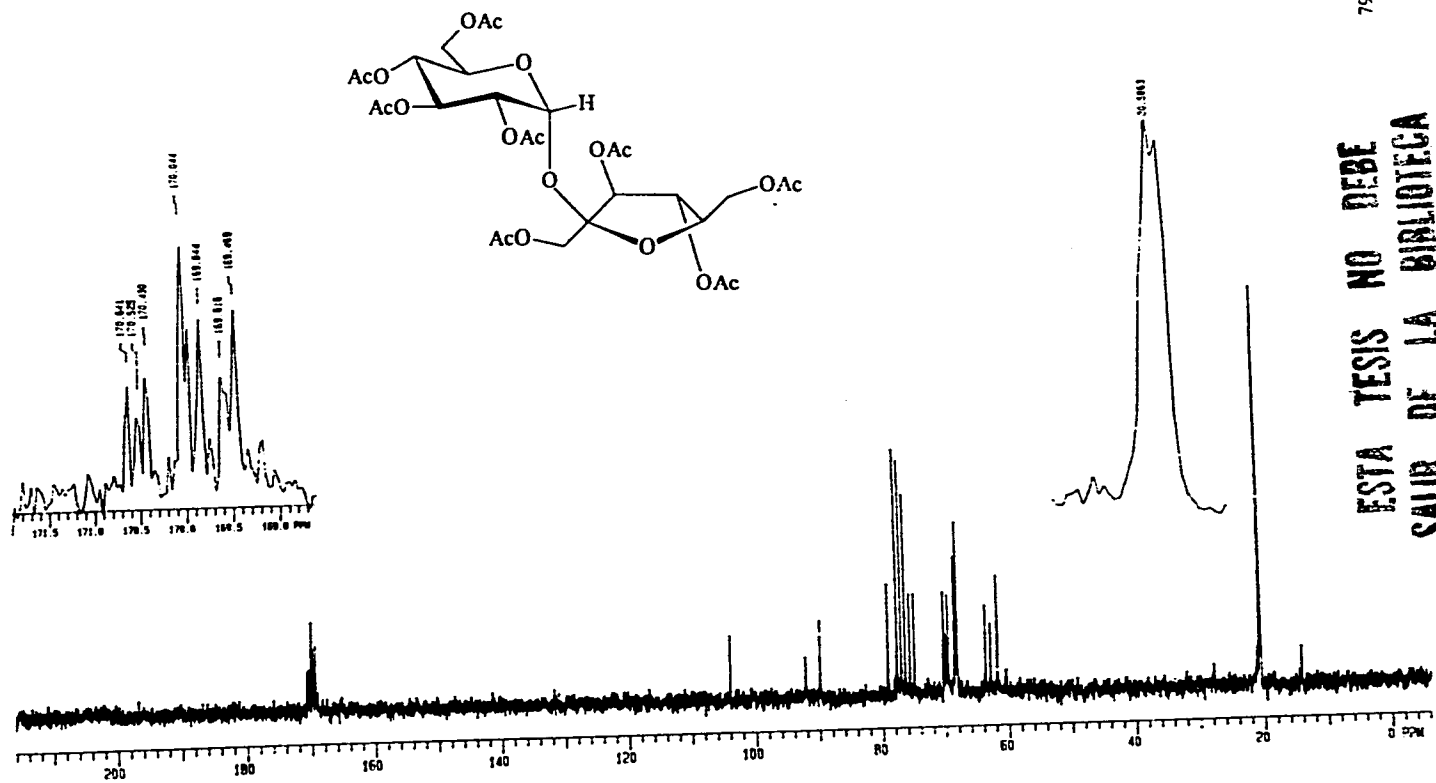
77

Espectro 20.  $^{13}\text{C}$  HMQC (500 MHz) de octaacetil 2-O-( $\beta$ -D-fructofuranosil)- $\alpha$ -D-fructofuranosa (27)



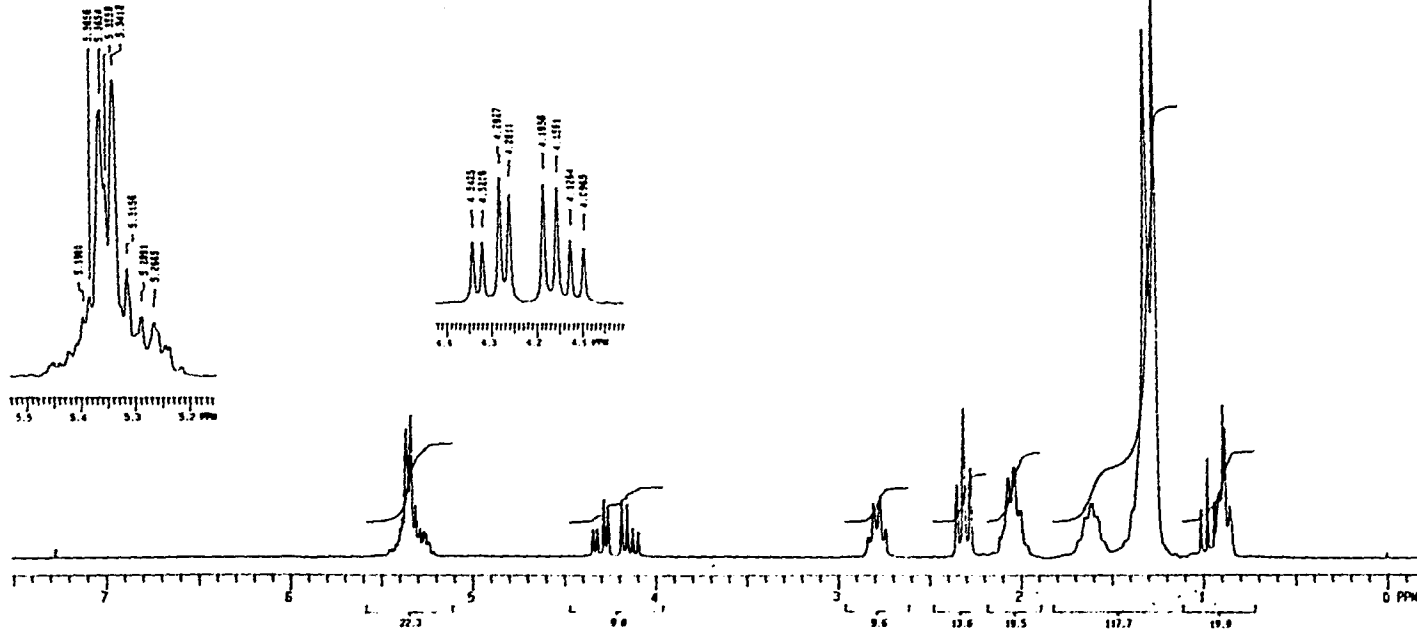
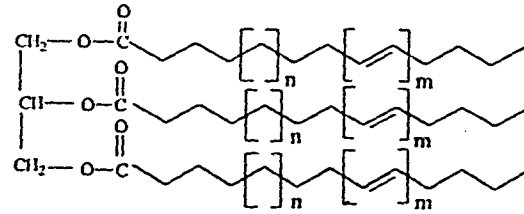
Espectro 21. RMN<sup>1</sup>H (200 MHz) de octaacetil β-D-fructofuranósido de α-D-glucopiranosilo (30)





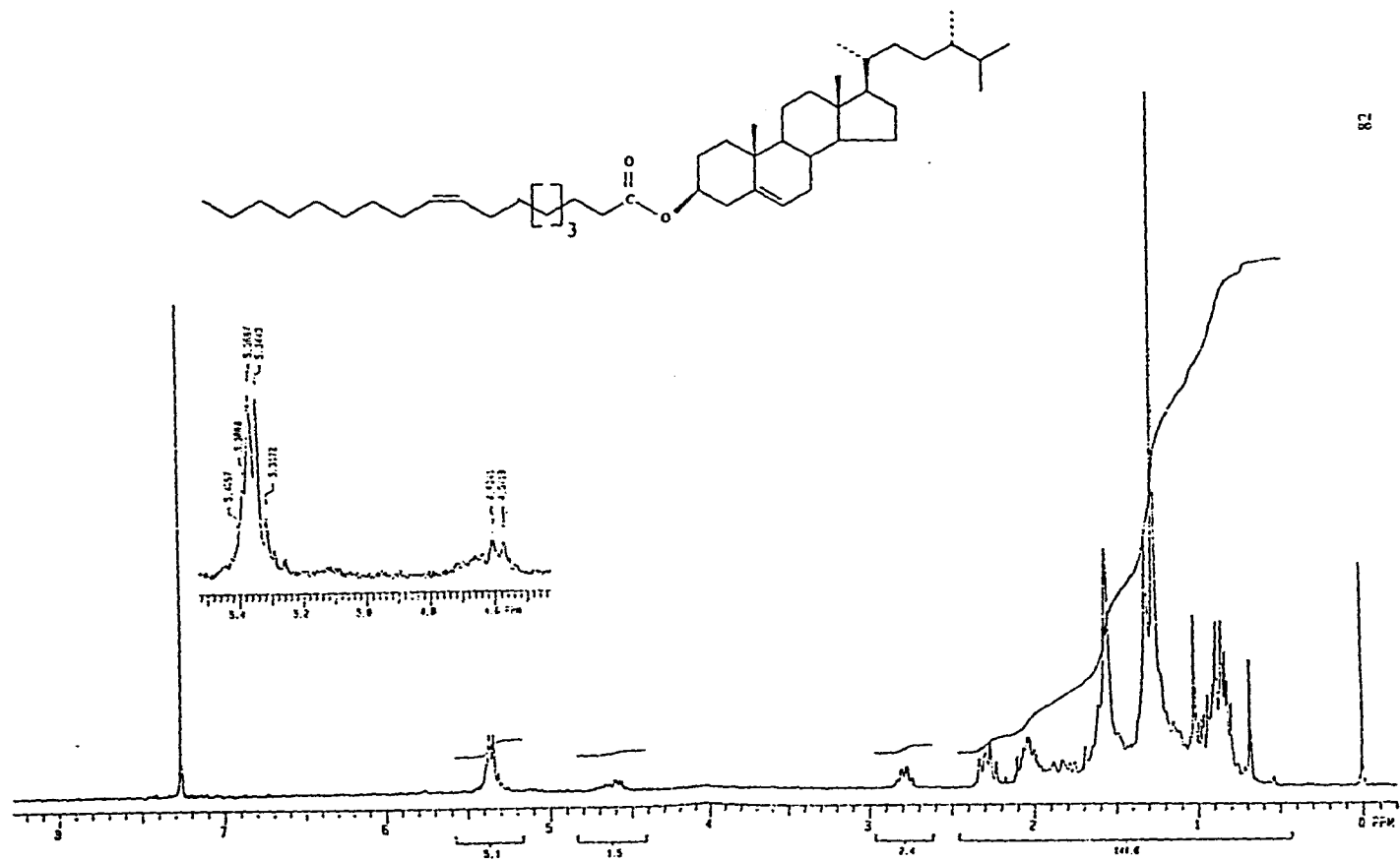
Espectro 22. RMN $^{13}\text{C}$  (75 Hz) de octaacetil  $\beta$ -D-fructofuranósido de  $\alpha$ -D-glucopiranosilo (30)

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

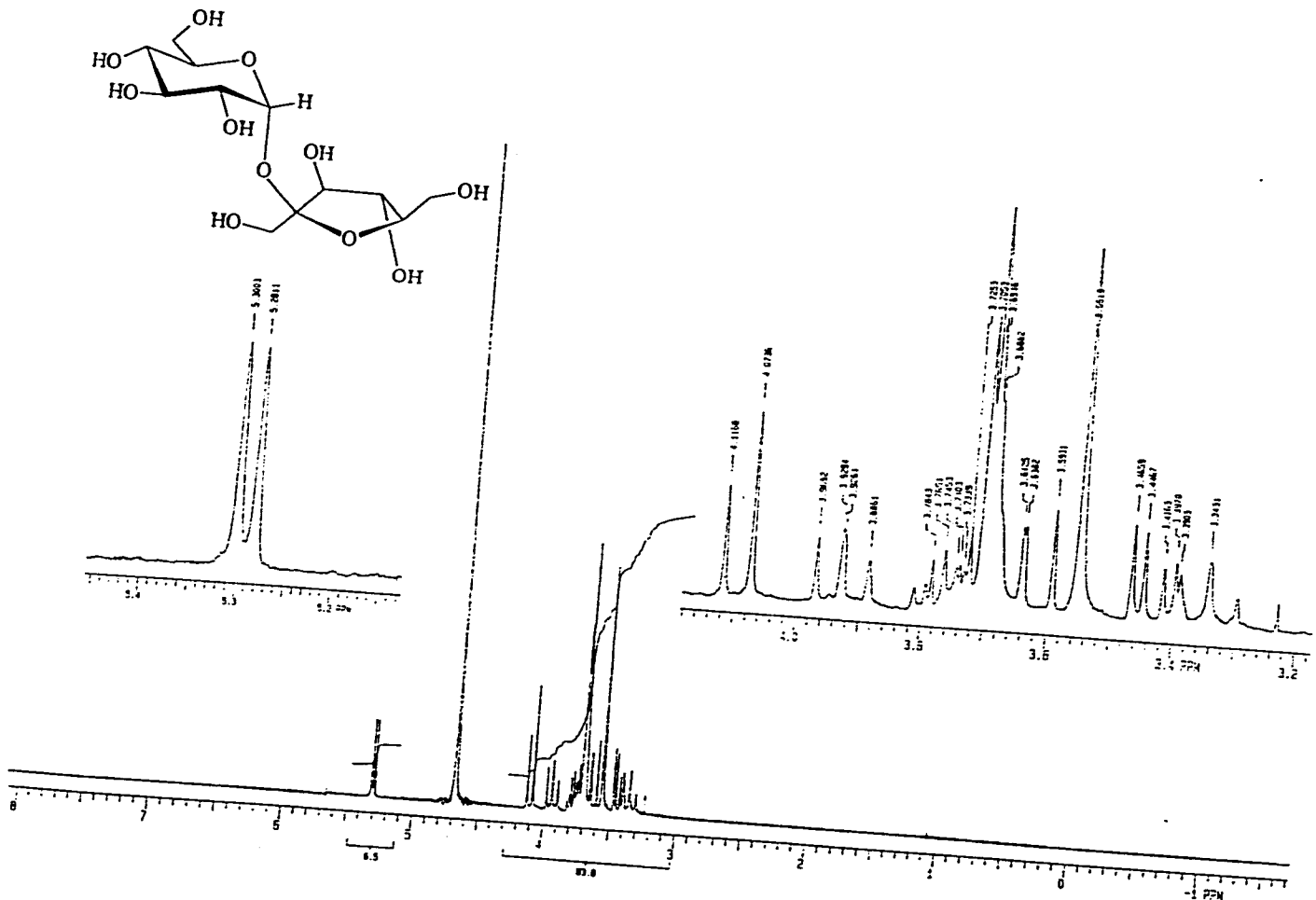


Spectro 23. RMN<sup>1</sup>H (200 MHz) de triacylglicerol (31)

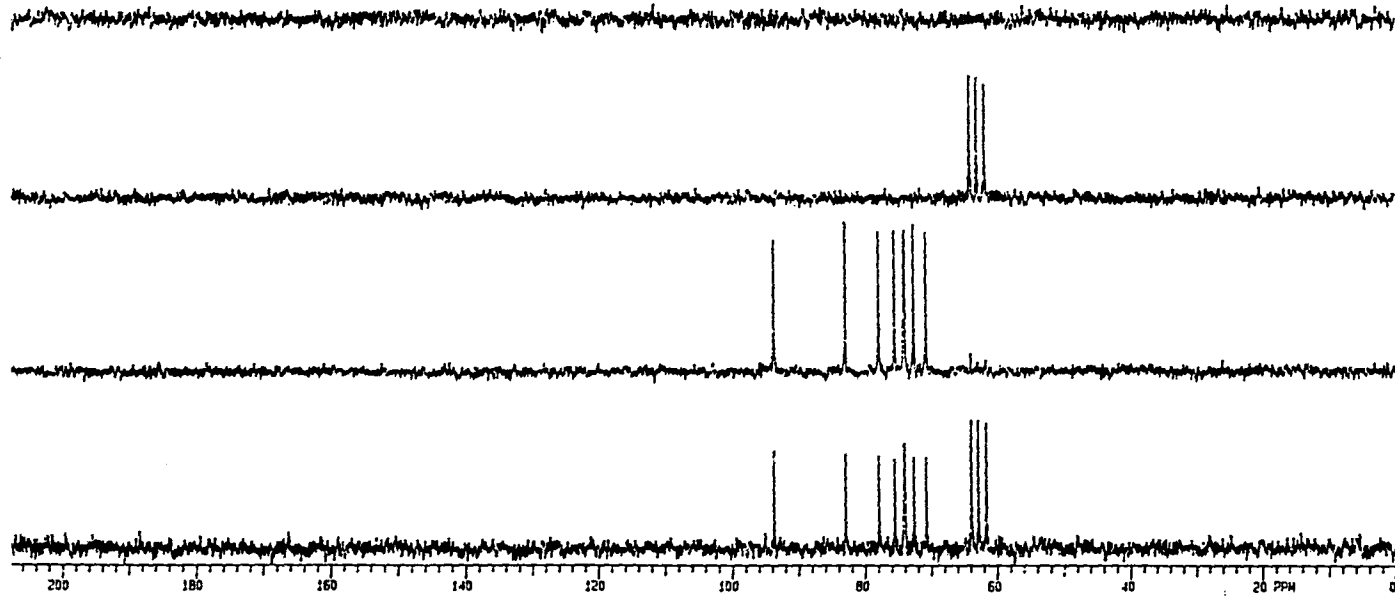
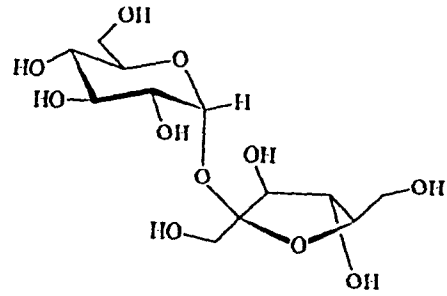




Espectro 25. RMN<sup>1</sup>H (200 MHz) de oleato de campesterilo (32)

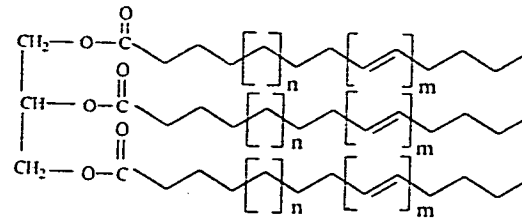
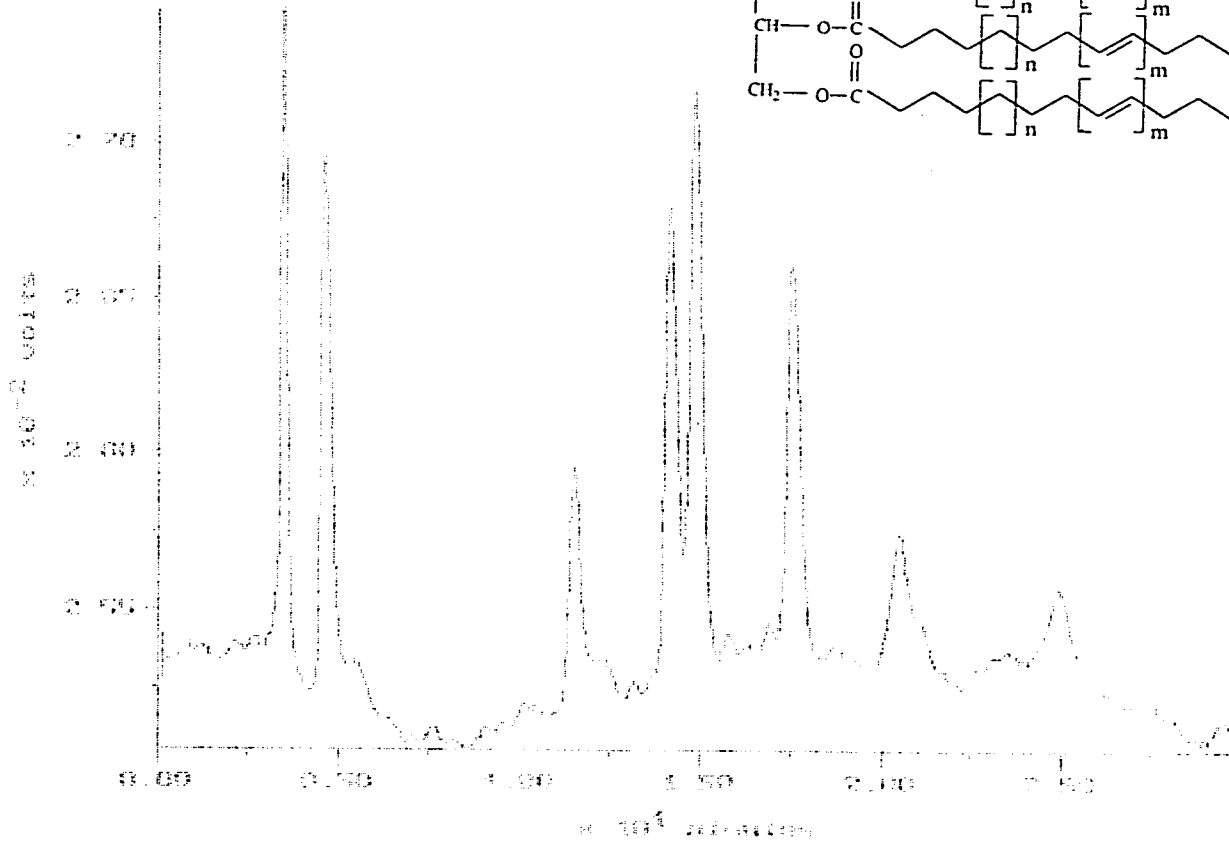


Espectro 26. RMN<sup>1</sup>H (200 MHz) de sacarosa (33)



Spectro 27. RMN<sup>13</sup>C DEPT (75 Hz) de sacarosa (33)

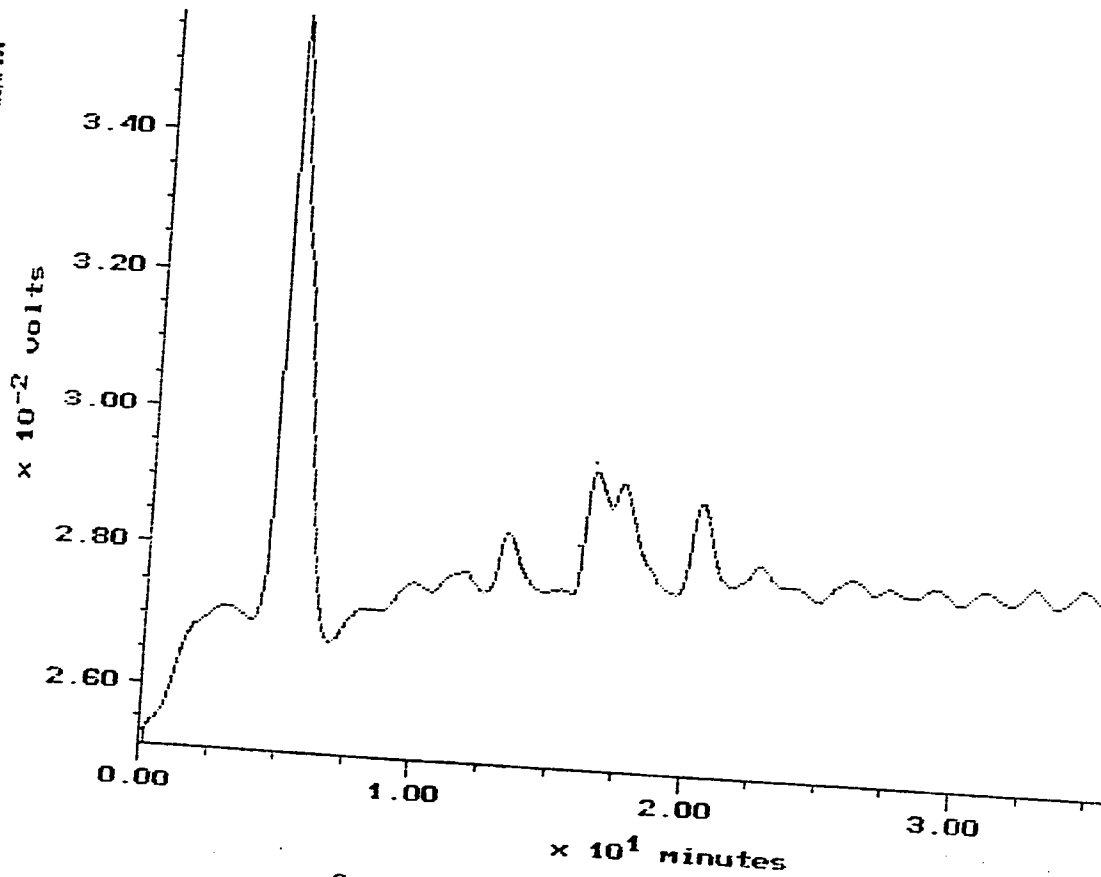
Sample: LOPEZIA Channel: UP Filename: H1-19-5  
Acquired: 06-JUL-94 13:35 Method: C:\MAX\DATA\PARABENS Operator:  
Comments: LOPEZIA SACNOSA, F19, EXTO ETOH, FLOW 1ML/MIN, HEX-ACET 99-1 UP 251



Cromatograma 1 de Triacilglicerol (31)

Sample: LOPEZIA 1  
Acquired: 07-JUL-94 13:35  
Comments: L.R., P-19, BAYO BYON, COLUMNA SP20, HEX ACET 90-10, FLOW 10.5 ml/min 354

Channel: 01  
Method: C:\MAXDATA\PARADISO  
Operator: PIILORE: SEP-1



Cromatograma 2 de Triacilglicerol (31)



## **BIBLIOGRAFIA**

## BIBLIOGRAFIA

1. Klingman, A., Estudio de las Plantas Nocivas Principios y Prácticas. Edit. Limusa 1984.
2. Gillespie, R. G., Natewaja, D. J., Influence of 2,4-D and MCPA Formulations and Oil on Diclofop Phytotoxicity. *Weed Science* **37**, 380 (1989).
3. Keeley, E. P., and Thullen, J. R., Growth and Competition of Black Nightshade (*Solanum nigrum*) and Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*). *Weed Science* **37**, 326 (1989).
4. Crook, M. T., and Renner, D. K., Common Lambsquarters (*Chenopodium album*) and Time of Removal in Soybeans (*Glycine max*). *Weed Science* **38**, 358 (1990)
5. Cunispera, R. M., Guerrero, S. D., Ontogenia de las Hierbas Dominantes en los Cultivos de Maíz del Valle de México. *Agr. Tec. Méx.* **2**, 382 (1968).
6. Comunicación personal con el Dr. Francisco Javier Espinosa García del Centro de Ecología de la UNAM.
7. Romo de Vivar, A., Productos Naturales de la Flora Mexicana. Limusa 1986.
8. Delgado, G., Organic Natural Products from Some Mexican Plants. *Trends in Organic Chemistry* **3**, 129 (1992).
9. Delgado, G., Espinosa García, F. J., El perfil de los Metabolitos Secundarios de Semillas de Malezas y su Relación a la Longevidad y Susceptibilidad a Hongos de Semillas en el Suelo. Proyecto DGAPA-UNAM IN205892. (1992).
10. Rzedowski, J., and Rzedowski, G., Flora Fanerogámica del Valle de México. Vol. II, Dicotiledoneae. Publicaciones del Instituto de Biología de la UNAM.
11. Plitmann, U., Raven, H. P., and Breedlove, D., The Systematics of Lopezieae (Onagraceae). *Ann. Missouri Bot. Gard.* **60**, 478 (1973)
12. Freeman, C. E., Reid, H. W., Similarity and Apparent Convergence in the Nectar-Sugar Composition of Some Hummingbird-Pollinated Flowers. *Bot. Gaz.* **145**, 132 (1984):C.A. 101;107330p.
13. Martinez, M., Las Plantas Medicinales de México. tercera edición

14. García, E., Mendoza, V., Guzmán, J.A., Enríquez, C.E., Constituents of *Lopezia racemosa*. *Fitoterapia* **62**, 545 (1991).

15. Gallego, A.J., Tamarit, J.J., Ensayos Farmacológicos preliminares en Plantas del Herbario "L' Amagatall". *Ciencia* **29**, 151 (1974).

16. Khadem, H.E., Mohammed, Y.S., Constituents of the Leaves of *Psidium guajava*, L. Part II. Quercetin, Avicularin and Guaijaverin. *J.Chem. Soc.* 3320 (1958).

17. Fukunaga, T., Nishiya, K., Kajikawa, J., Studies on the Constituents of Japanese Mistletoes from Different Host Trees, and Their Antimicrobial and Hypotensive Properties. *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 1543 (1989).

18. Markham, K.R., Ternai, B., *Tetrahedron* **34**, 1389 (1978).

19. Nawwar, M., Souleman, A.M., 3,4,8,9,10-Pentahydroxy-dibenzo [b,d]pyran-6-one from *Tamarix nilotica*. *Phytochemistry* **23**, 2966 (1984).

20. Saito, K., Matsumoto, M., Sekine, T., Inhibitory Substances from *Myriophyllum brasiliense* on Growth of Blue-Green Algae. *J. Nat. Prod.* **52**, 1221 (1989).

21. Wikins, G.K., Bhon, B.A., Ellagitannins from *Tellima grandiflora*. *Phytochemistry* **15**, 211 (1976).

22. Seitz, W. V., Chemosystematology Today a Survey Represented by Some Examples of the Angiosperm's Families Ranunculaceae, Onagraceae and Valerianaceae as Well as from the Group of Lichens. *Ber. Deutsch. Ges. Bd.* **92**, S. 519 (1979).

23. Pina, M., Graille, J., Grignac, P., Recherche d'Oenothéres Riches en Acide gamma-Linolénique. *Oleagineux* **39**, 593 (1984).

24. Lynne, D., and Goad, L. J., Steryl Fatty Acyl Esters in Plants. *Phytochemistry* **34**, 17 (1993).

25. Rubinstein, I., Goad, L. J., The 220 MHz NMR Spectra of Phytosterols. *Phytochemistry*, **15**, 195 (1976).

26. Greca, D. M., Monaco, P., Previtera, L., Stigmasterols from *Thypha latifolia*. *J. Nat. Prod.* **53**, 1430 (1990).

27. Toshihiro, A., Parthasarathi, G., Matsumoto, T., 24β-Methylcholesta-5,22E,25-trien-3β-ol and 24α-ethyl-5α-cholest-22E-en-3β-ol from *Clerodendrum fragrans*. *Phytochemistry* **27**, 241 (1988).

28. Ghosal, S., Steryl Glycosides and Acyl Steryl Glycosides from *Musa paradisiaca*. *Phytochemistry* **24**, 1807 (1985).
29. Greca, M., Molinaro, A., Monaco, P., Previtara, L., Acylglycosyl Sterols from *Pistia stratiotes*. *Phytochemistry* **30**, 2422 (1991).
30. Warthen, J.D., Waters, R.M., Olivers, J.E., <sup>1</sup>H-NMR Chemical Shift of pregn-5-ene-3β,20(R)-diol and preg-5-ene-3β-ol,20-one D-Glucopyranoside Derivatives. *Spectrochimica Acta* **46A**, 369 (1990).
31. Horton, D., and Walaszek, Z., Tautomeric Equilibria of some Sugars by Partially Relaxed, <sup>13</sup>C Pulse Fourier-Transform, Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Carbohydr. Res.* **105**, 111 (1982).
32. Gomez, S. A., Garcia, M. G., Synthesis and Glycosidation of 1-deoxy-1-[(2,2-diacetylvinyl)amino]-D-Fructoses. *Carbohydr. Res.* **149**, 329 (1986).
33. Defaye, J., Gadelle, A., The Behaviour of D-Fructose and Inulin Towards Anhydrous Hydrogen Fluoride. *Carbohydr. Res.* **174**, 323 (1988).
34. Liu, J., Waterhouse, L. A., Chatterton, N. J., Proton and Carbon NMR Chemical-Shift Assignments for [β-D-Fru f-(2→1)]<sub>3</sub>-(2→1)-α-D-Glc p (nystose) and [β-D-Fru f-(2→1)]<sub>4</sub>-(2→1)-α-D-Glc p (1,1,1-kestopentaose) from Two Dimensional NMR Spectral Measurements. *Carbohydr. Res.* **245**, 11 (1993).
35. Defaye, J., Gadelle, A., Acetal and Ester Protecting-Groups in the Hydrogen Fluoride-Catalysed Synthesis of D-Fructose and L-Sorbose Difuranose Dianhydrides. *Carbohydr. Res.* **136**, 53 (1985).
36. Lemieux, R. U., Nagarajan, R., The Configurations and Conformation of "Di-D-Fructose Anhydride I". *Can. J. Chem.* **42**, 1270 (1964).
37. Bruyn, A., Alvarez, P.A., The Identification by <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-N.M.R. Spectroscopy of Sucrose, 1-Kestose, and Neokestose in Mixtures Present in Plant Extracts. *Carbohydr. Res.* **235**, 303 (1992).
38. Matsuyama, T., Tanaka, K., Uchiyama, T., Isolation and Identification of the *Aspergillus fumigatus* Difructose Dianhydride. *Agric. Biol. Chem.* **55**, 1413 (1991).
39. Fukuyama, Y., Sato, T., Miura, Y., Asakawa, Y., and Takemoto, T., Hydropiperoside, a Novel Coumaryl Glycoside from the Root of *Polygonum hydropiper*. *Phytochemistry* **22**, 549 (1983).
40. Shoolery, J.N., Some Quantitative Applications of <sup>13</sup>C-NMR Spectroscopy. *Progress. in NMR Spectroscopy* **11**, 79 (1977).

41. Jiang, D. Z., Gerwick, H. W., Galactolipids from the Temperate Red Marine Algae *Gracilariopsis Lemaneaformis*. *Phytochemistry* **29**, 1433 (1990).
42. Barret, G. A., Melcher, M. L., and Bezuidenhout, B., Redox Glycosidation: the Use of Nozaki-Takai Methylenylation in a Highly Stereoselective Synthesis of sucrose. *Carbohydr. Res.* **232**, 259 (1992).
43. Wagner, H., Wolff, P., New Natural Products and Plant Drugs With Pharmacological Biological or Therapeutical Activity. *Proceedings in Life Sciences.*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg N.Y.
44. Grunwald, C., Kogan, M., Sterols of Soybeans Differing in Insect Resistance and Maturity Group. *Phytochemistry* **20**, 765 (1981).
45. Peguero, J. M., Aislamiento y caracterización de lípidos, oligosacáridos y otros constituyentes de *Eragrostis mexicana* (Hornem.) Link. (Gramineae). Tesis UNAM (1994).