

00570



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

EL PERFIL ESTRUCTURAL DE LOS METABOLITOS
SECUNDARIOS EN LAS SEMILLAS DE CIERTAS
PLANTAS ARVENSES Y SUS IMPLICACIONES EN LA
SOBREVIVENCIA VEGETAL.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MAESTRO EN CIENCIAS QUIMICAS
(QUIMICA FARMACEUTICA)
P R E S E N T A
BIOL. BERNICE GUERRERO RODRIGUEZ

L

282943

MEXICO, D.F.

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

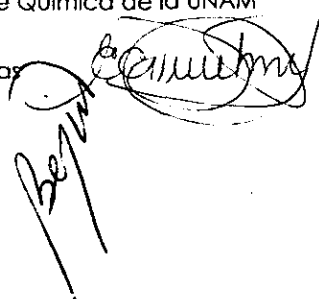
Jurado asignado:

Presidente	Dr. Leovigildo Quijano
Vocal	Dr. Francisco Espinosa García
Secretario	Dr. Rogelio Pereda Miranda
Primer suplente	Dra. Ana Luisa Anaya Lang
Segundo suplente	Dra. Isabel Aguilar Laurents

Sitio en donde se desarrollo el tema: Instituto de Química de la UNAM

Asesor del tema: Dr. E. Guillermo Delgado Lamas

Sustentante: Biól. Bernice Guerrero Rodríguez



Handwritten signatures of the assessor and the presenter.

Esta tesis se realizó en el Laboratorio 1, Edificio C del Instituto de Química de la UNAM, bajo la dirección del Dr. Guillermo Delgado Lamas, y con apoyo financiero del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT, proyecto 400361-5-3632E) y de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la Universidad Nacional (Proyecto IN-221198).

AGRADECIMIENTOS

Profunda e infinitamente agradezco a Dios porque son innumerables las oportunidades que me da.

A mis padres, por apoyar siempre mi proyecto de vida.

A mi asesor de tesis, el Dr. Guillermo Delgado por su apoyo y confianza

A mi *coasesor* el Dr. Francisco Javier Espinosa García

A la UNAM y a mis profesores de la maestría. . . en especial al Dr. Rogelio Pereda M. y la Dra. Isabel Aguilar L.

A Ailin y Alfredo E.
A mis amigas Bety, Fabiola

A Hugo, Maricruz, Minarda y Pilar por brindarme algo más que su amistad

A Noé Díaz, por su apoyo, por ser un constante ejemplo de superación

A las personas que hicieron de cada día de trabajo algo especial...¡mis compañeros del laboratorio 1 del Instituto de Química: Aníbal, Emma, Liliana, María Luisa, Ricardo, Julia y a la más pequeña de todos ... Karina Ramírez!

A Juan Sarmiento por compartir conmigo los momentos difíciles

A Moisés Trujillo

Al personal Técnico-Académico del Instituto de Química de la UNAM:
M. en C. Beatriz Quiroz, M. en C. Isabel Chávez, Ing. Luis Velazco, M. en C. Francisco J. Pérez, M. en C. Rocío Patiño, Biól. José Vivas, Lic. Cecilia Aguilar y Lupita Anaya

DEDICATORIA

A Manuel y Pamela Monterrubio Alfaro . . .

a Ruth Saraf Cortés . . .

a Karen Velasco Alfaro . . .

a mis sobrinos David y Ani . . .

y a Juan Sarmiento Chávez

ÍNDICE

1. Introducción	1
2. Hipótesis	7
3. Justificación	7
4. Objetivos	9
5. Antecedentes	12
5. 1.Generalidades sobre las malezas	13
5. 2.Comportamiento de las semillas de plantas arvenses en un banco de semillas	14
5. 3.Análisis fitoquímico	17
5. 4.Descripción de las especies en estudio	18
5. 5.Antecedentes químicos de los géneros <i>Avena</i> , <i>Crotalaria</i> y <i>Polygonum</i>	21
6. Desarrollo experimental	29
6.1. Procedimiento general	31
6.2. Estudio químico de las semillas de <i>Avena fatua</i>	34
6.3. Estudio químico de las semillas de <i>Crotalaria pumila</i>	43
6.4. Estudio químico de las semillas de <i>Polygonum aviculare</i>	49
7. Discusión de resultados	55
7.1. Elucidación estructural de los constituyentes de las semillas de <i>Avena fatua</i>	56
7.2. Elucidación estructural de los constituyentes de las semillas de <i>Crotalaria pumila</i>	63
7.3. Elucidación estructural de los constituyentes de las semillas de <i>Polygonum aviculare</i>	70

7.4. El perfil estructural de los metabolitos secundarios de las semillas de las plantas arvenses	75
8. Conclusiones y Perspectivas	87
9. Anexo 1	92
10. Anexo 2	108
11. Espectros	122
Espectro 1.- RMN ¹ H β -sitosterol (41)	123
Espectro 2.- RMN ¹ H Ácido tetradecanoico (42)	124
Espectro 3.- EM IE Tricina (43)	125
Espectro 4.- RMN ¹³ C Tricina (43)	126
Espectro 5.- RMN ¹ H Tricina (43)	127
Espectro 6.- RMN ¹ H Ácido 3-hidroxi-4-metoxi-cinámico (44)	128
Espectro 7.- RMN ¹ H Undecanol (45)	129
Espectro 8.- RMN ¹ H Ácido 3, 4-dimetoxi-benzoico (46)	130
Espectro 9.- RMN ¹ H Ácido 2, 6-dihidroxi-4-metoxi-benzoico (47)	131
Espectro 10.- RMN ¹ H Éster metílico del ácido 3, 4-dihidroxi-cinámico (48)	132
Espectro 11.- RMN ¹³ C Éster metílico del ácido 3, 4-dihidroxi-cinámico (48)	133
Espectro 12.- RMN ¹ H Triglicérido A (49)	134
Espectro 13.- RMN ¹ H Triglicérido B (50)	135
Espectro 14.- RMN ¹ H Buteína (51)	136
Espectro 15.- RMN ¹³ C Buteína (51)	137
Espectro 16.- RMN ¹ H Ácido 4-hidroxi-cinámico (52)	138

Espectro 17.- RMN ¹ H 3',4',7-Trihidroxi-flavona (53)	139
Espectro 18.- RMN ¹³ C 3',4',7-Trihidroxi-flavona (53)	140
Espectro 19.- EM IE 3',4',7-Trihidroxi-flavona (53)	141
Espectro 20.- RMN ¹ H Cera (54)	142
Espectro 21.- RMN ¹ H Éster graso de β -sitosterol(55)	143
Espectro 22.- RMN ¹ H β -sitosterol (41) + Estigmasterol (56)	144
Espectro 23.- RMN ¹ H Ácido 3-metoxi-4-hidroxi-benzoico (57)	145
Espectro 24.- RMN ¹ H Éster metílico del ácido heneicosanoico(58)	146

12. Bibliografía

147

RESUMEN

La teoría de la defensa de las plantas considera que la producción de metabolitos secundarios es uno de los principales mecanismos de protección de las mismas. Recientemente, las discusiones se han centrado en el papel que desempeña la diversidad de metabolitos secundarios en esta defensa. La mayoría de las teorías coinciden en que una alta diversidad de metabolitos secundarios representa una mejor defensa, en comparación con una diversidad de metabolitos baja. En el presente trabajo se realizó una serie de experimentos con el fin de investigar si existe correlación entre la diversidad en el metabolismo secundario (perfil químico) en las semillas de ciertas plantas arvenses y el grado de defensa contra depredadores (relacionado con la sobrevivencia de las semillas en el suelo). El perfil químico de las semillas de tres especies (*Avena fatua*, *Crotalaria pumila* y *Polygonum aviculare*) se obtuvo mediante el análisis fitoquímico convencional y el análisis del extracto hexánico por un sistema de cromatografía de gases-espectrometría de masas. Se identificaron y caracterizaron 56 metabolitos diferentes en estas tres especies. Estos datos se integraron con los previamente obtenidos para otras 12 especies (*Acalypha indica*, *Amaranthus hybridus*, *Chenopodium album*, *Ch. murale*, *Eleusine multiflora*, *Galinsoga parviflora*, *Lopezia racemosa*, *Malva parviflora*, *Simsia amplexicaulis*, *Salvia tiliifolia*, *Taraxacum officinale*, *Tithonia tubaeformis*) sumando un total de 151 metabolitos diferentes, que fueron incluidos, de acuerdo con su estructura molecular, en ocho grupos. Considerando la frecuencia de cada grupo estructural en cada especie, se calculó el índice de diversidad de Shannon. El análisis de los índices obtenidos para cada especie con los resultados del tiempo de permanencia de las semillas en suelo indica que no existe correlación entre ellos. Adicionalmente se realizaron las asignaciones de los datos espectroscópicos para algunos metabolitos.

1. INTRODUCCIÓN

El papel que desempeñan los metabolitos secundarios en la adaptación de los organismos al medio es comunmente aceptado. La producción de metabolitos secundarios puede conferir al organismo productor un incremento en las posibilidades de sobrevivencia, a través de la interacción con el medio con otros organismos. Estas interacciones involucran la defensa contra depredadores (metabolitos tóxicos), patógenos (antimicrobianos, antifúngicos, etc.) o competidores (compuestos alelopáticos, atrayentes para polinizadores y dispersores de semillas)(Waterman, 1992). Sin embargo, aún existe controversia sobre la función que tiene la diversidad de estos compuestos dentro de una especie (Berenbaum, 1996).

¿Es costoso para la planta mantener una diversidad alta de metabolitos secundarios? Simms (1992) considera que al menos la energía empleada en la producción de la defensa, debe ser menor a la requerida en el proceso de recuperación después del ataque de un depredador (Simms, 1992 en Bonfil, 1995). Jones y Finn (1991) proponen que la diversidad puede ser el resultado de transformaciones enzimáticas indiscriminadas, y los costos de producción de metabolitos secundarios diversos serían bajos debido a que en las plantas es muy común que existan rutas biosintéticas compartidas (Jones, 1991 en Espinosa-García, 2000). Sin embargo, en numerosas investigaciones se ha comprobado la alta especificidad enzimática en la biosíntesis de los productos naturales (Harborne, 1982).

Referente a la relación entre la diversidad de metabolitos secundarios y la defensa, existen varias hipótesis, las cuales se mencionan sucintamente a continuación.

Hipótesis de la defensa óptima. Según esta hipótesis propuesta por McKey (1974) y complementada por Rhoades (1985), el nivel de defensa de un tejido dependerá del valor adaptativo del mismo. Las plantas optimizan la cantidad de metabolitos secundarios destinados a un tejido dependiendo de la relación costo -

beneficio-asignación (Mckey, 1974; Rhoades, 1985 en Bonfil, 1995).

Hipótesis de la apariencia. Feeney (1976), Rhoades y Cates (1976) proponen que las plantas varían en su grado de apariencia a los herbívoros. Las plantas "aparentes" (perenne o de amplia distribución y abundancia) estarían defendidas por sustancias reductoras de la digestibilidad cuyo efecto es proporcional a la dosis, por lo que necesitan estar en altas concentraciones; en tanto que las "no aparentes" o efímeras lo estarían por toxinas, eficientes a bajas concentraciones. Sin embargo, esta hipótesis se basa principalmente en las relaciones planta-insecto y considera solo las defensas constitutivas. Existen compuestos que tienen un comportamiento dual (toxina y reductor de digestibilidad) y algunos herbívoros responden a toxinas de manera dependiente de la dosis (Feeney, 1976; Rhoades, 1976 en Espinosa-García 2000).

Hipótesis del balance carbono-nitrógeno. (Bryant, 1983) Según esta hipótesis son las condiciones del medio las que determinan el tipo de metabolitos secundarios que se producen. Las plantas que crecen en lugares con luz, pero pobres en otros factores limitantes, como nitrógeno, están defendidas por sustancias basadas en carbono (terpenos y fenoles). Las plantas que crecen en suelos ricos en nutrientes tendrán una mayor cantidad de metabolitos secundarios con estructura química basada en nitrógeno (alcaloides o compuestos cianogénicos). Sin embargo, es bien sabido que la producción de cierto tipo de metabolitos secundarios está relacionada con la ubicación taxonómica (Bryant, 1983 en Espinosa- García y Delgado, 1998).

La hipótesis del balance crecimiento - diferenciación fue formulada por Loomis (1932, 1953), Lorio (1986) y Toumi (1988); y propone la existencia de prioridades en cuanto a las funciones de crecimiento y procesos de diferenciación, que incluyen al metabolismo secundario. Una disminución del crecimiento pondría a disposición los recursos para el metabolismo secundario (Loomis, 1932 y 1953; Lorio, 1986; Toumi, 1988 en Bonfil, 1995).

Hipótesis de la disponibilidad de recursos. (Coley, 1985) Las plantas que crecen en sitios pobres en recursos (agua, luz, nutrientes) tendrán pocas posibilidades de recuperarse de una defoliación parcial, por lo tanto, invertirán mucho en defensas (producción de metabolitos no móviles, como taninos) La hipótesis de la defensa óptima propuesta por Rhoades (1985), señala que el uso de los recursos por una parte de la planta debe corresponder a la relación costo beneficio (Rhoades, 1985 en Bonfil, 1995).

En contraparte, las plantas que crecen en medios ricos y que pueden recuperarse rápidamente de una defoliación parcial, invertirán poco en defensas, produciendo metabolitos móviles (Coley, 1985 en Espinosa- García y Delgado 1998)

Hipótesis de la resistencia neutral. (Edwards, 1989) Hay características de las plantas que son reconocidas como defensas (por ejemplo, la dureza de las hojas o la presencia de taninos). Estas características pueden tener múltiples funciones , tanto fisiológicas , como de resistencia al ataque de depredadores (Edwards, 1989 en Bonfil, 1995).

Jones y Lawton (1991) proponen que la diversidad de consumidores de una planta se relaciona con la diversidad de metabolitos secundarios por diferentes mecanismos, explicados en cuatro hipótesis. La hipótesis de la defensa diversificada predice una correlación negativa entre la diversidad química de una planta y la riqueza de herbívoros que sustenta, porque varias sustancias químicas deben ser más difíciles de superar que una o dos. La hipótesis de la barrera bioquímica predice baja diversidad de insectos en plantas con compuestos químicos poco usuales, por una reducción en la tasa de colonización. De acuerdo con la hipótesis de la defensa con sustancias químicas comunes , una planta con alta diversidad química aumenta sus posibilidades de compartir algunas clases de compuestos con otras especies, facilitando así el intercambio de hospedero entre herbívoros. La hipótesis del escape a un nuevo enemigo explica que muchos enemigos naturales de insectos herbívoros emplean características especiales de la planta para localizar

a su presa, por lo tanto, que un insecto colonice una planta nueva o distinta reduce las posibilidades de ser parasitado o depredado (Jones, 1991 en Espinosa- García, 2000).

Jones y Firns propusieron recientemente (1991) la hipótesis de la diversidad moderada que propone que las plantas están defendidas por un número moderado de metabolitos secundarios altamente activos y de espectro biológico amplio. El resto de los metabolitos no bioactivos se consideran como reservas neutras. Esta hipótesis se basa en los estudios de búsqueda de compuestos anticancerígenos y en la baja incidencia de compuestos bioactivos. Sin embargo, para poder afirmar que un compuesto no es bioactivo, este debe ser evaluado frente a todos los posibles depredadores y en el contexto en el que actúan. Además, el efecto antagónico contra los herbívoros puede alcanzarse aún con compuestos no tóxicos, reduciendo su tasa de crecimiento y haciéndolos más propensos a depredadores. También, debe considerarse que los metabolitos secundarios en mezclas pueden interaccionar en forma aditiva o sinérgica potenciando su actividad, en tanto que si los componentes están solos, pueden ser poco activos o inactivos (Jones, 1991 en Espinosa-García y Delgado, 1998).

En la mayoría de estas hipótesis es aceptado que una diversidad de metabolitos secundarios alta representa una protección alta. Esto podría lograrse hipotéticamente de dos maneras extremas, una es que las mezclas en altas concentraciones funcionan como defensas vegetales contra un espectro muy amplio de consumidores de las plantas. La otra es que cada metabolito secundario podría tener actividad contra uno o más consumidores potenciales de las plantas, pues la mayoría de los metabolitos secundarios interfieren en procesos fisiológicos básicos (Espinosa-García, 2000).

Considerando lo anterior, en el presente trabajo se realizó una serie de experimentos con el fin de evaluar la correlación entre la diversidad en el metabolismo secundario (perfil químico) en las semillas de las plantas arvenses y el

grado de defensa contra depredadores, que está relacionado con la permanencia de semillas en el suelo (sobrevivencia).

2. HIPÓTESIS

3.- JUSTIFICACIÓN

HIPÓTESIS

Una alta diversidad estructural de metabolitos secundarios en las semillas de plantas arvenses, implica alto grado de defensa contra depredadores y, por lo tanto, una mayor permanencia de las semillas en el suelo. Debe existir una correlación evidente entre la diversidad química y la permanencia de las semillas en el suelo.

JUSTIFICACIÓN

La existencia/ausencia de correlación entre la diversidad química y la permanencia de las semillas en el suelo proporcionará un mayor conocimiento sobre los mecanismos químicos de defensa en las plantas contra sus depredadores, lo cual es esencial para el entendimiento de las relaciones entre los organismos. Este conocimiento puede servir como una guía adicional en la búsqueda de productos naturales aprovechables, tales como aquellos con actividad antialimentaria en insectos (para el control de plagas) y en la búsqueda de metabolitos bioactivos de interés terapéutico, entre otros.

4. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la existencia de una correlación entre la diversidad en el perfil estructural de los metabolitos secundarios presentes en las semillas de 15 plantas arvenses (Tabla 1) y su permanencia viable en el suelo (defensa).

OBJETIVOS PARTICULARES

Generación y búsqueda de resultados:

- Análisis en cromatografía de gases acoplado con espectrometría de masas del extracto hexánico de las 15 especies
- Análisis fitoquímico convencional de : *Avena fatua*, *Crotalaria pumila* y *Polygonum aviculare*.
- Obtención y análisis químico del residuo obtenido de hidrólisis de las semillas previamente extraídas
- Elucidación estructural de los compuestos aislados

Integración de los resultados referentes a los análisis químicos realizados previamente con las siguientes especies de plantas arvenses: *Acalypha indica* (Cano, A., 1997), *Amaranthus hybridus* (Salinas, D.; Valladares, G., 1996), *Chenopodium album* (Alvarez, L., 1997), *Chenopodium murale* (Cruz, C., 1996), *Eleusine multiflora* (Cruz, C., 1996), *Galinsoga parviflora* (Estrada, A., 1997), *Lopezia racemosa* (Castro, N., 1995), *Malva parviflora* (Cruz, C., 1996), *Simsia amplexicaulis* (Alvarez, L., 1997), *Salvia filiaefolia* (Cruz, C., 1996), *Taraxacum officinale* (Salinas, D.; Valladares G., 1996) y *Tithonia tubaeformis* (Salinas, D.; Valladares, G., 1996)

La integración de los resultados comprende:

- El registro de los metabolitos por especie
- La clasificación de los metabolitos por especie

- La recopilación de la información referente a la bioactividad de los metabolitos aislados.

Integración y análisis global de los resultados, en relación a la hipótesis planteada.

Las especies que se incluyen en este estudio son las siguientes:

Especie	Familia	Referencia
<i>Acalypha indica</i>	Euphorbiaceae	Cano, A. 1997.
<i>Amaranthus hybridus</i> L.	Amarantaceae	Salinas, D. y Valladares, G.
<i>Avena fatua</i> L.	Gramineae	Presente trabajo
<i>Chenopodium album</i> L.	Chenopodiaceae	Alvarez, L. 1997
<i>Chenopodium murale</i> L.	Chenopodiaceae	Cruz, C., 1996.
<i>Crotalaria pumila</i> Ort.	Leguminosae	Presente trabajo
<i>Eleusine multiflora</i> Hochst.	Gramineae	Cruz, C., 1996.
<i>Galinsoga parviflora</i> Cav.	Compositae	Estrada, A., 1997.
<i>Lopezia racemosa</i> Cav.	Onagraceae	Castro, N., 1995.
<i>Malva parviflora</i> L.	Malvaceae	Cruz, C., 1996.
<i>Polygonum aviculare</i> L.	Polygonaceae	Presente trabajo
<i>Simsia amplexicaulis</i> Cav.	Compositae	Alvarez, L., 1997
<i>Salvia tiliaefolia</i> Vahl	Labiatae	Cruz, C., 1996.
<i>Taraxacum officinale</i>	Compositae	Salinas, D. y Valladares, G., 1996
<i>Tithonia tubiformis</i> Cass.	Compositae	Salinas, D. y Valladares, G., 1996

Tabla 1.- Especies de plantas arvenses incluidas en el presente estudio.

5. ANTECEDENTES

5.1.- Generalidades sobre las malezas (plantas arvenses)

Las plantas arvenses son aquellas que crecen en forma silvestre en terrenos cultivados. Sus características están asociadas a un comportamiento singular respecto a:

- a) Alto potencial reproductivo: producen semillas y propágulos con alta viabilidad aún en condiciones adversas, producen constantemente semillas, se reproducen precozmente y presentan reproducción vegetativa, por lo que son muy difíciles de controlar.
- b) Plasticidad: el número de semillas producido o el tiempo de latencia, varía según las condiciones del medio, lo cual les permite sobrevivir en condiciones cambiantes o desfavorables.
- c) Gran potencial de colonización y dispersión, que se debe a su potencial reproductivo, autopolinización o polinizadores poco específicos, la adaptación de su ciclo de vida con el levantamiento de las cosechas y a la presencia de diásporas que se dispersan fácilmente.
- d) Comportamiento de banco de semillas: El banco de semillas es el conjunto de semillas vivas, mezcladas en el suelo, que permanecen latentes en él, hasta que germinan o mueren. Tales semillas se caracterizan por tener una germinación asincrónica (dispersión en el tiempo), vida media larga en el banco, latencia de acuerdo con las condiciones del medio y la presencia de al menos un tipo de compuesto químico que influye en su capacidad de resistencia a patógenos y depredadores (Baker, 1994 en Espinosa-García y Sarukhán, 1997).

5.2.- Comportamiento de las semillas de plantas arvenses en un banco de semillas

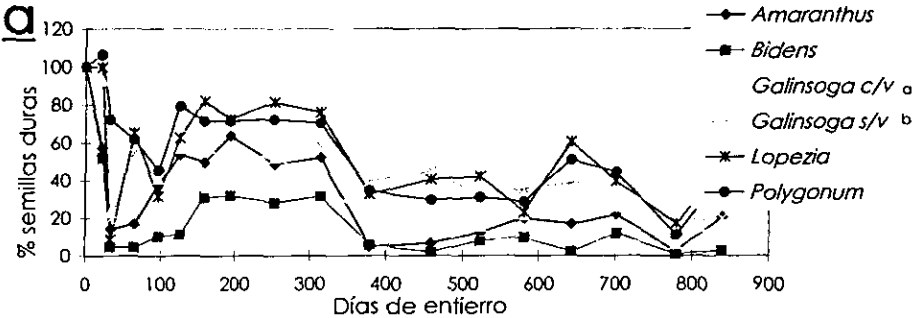
La mayoría de las plantas arvenses son capaces de estar representadas en el banco de semillas, pero la permanencia de las especies en el suelo varía inter e intraespecíficamente (Roberts, 1981). Hay especies cuya permanencia en el banco es extremadamente efímera mientras que hay otras cuyas semillas pueden permanecer viables por décadas en suelos agrícolas que ya no se trabajan (Cavers, 1989). En zonas templadas son necesarios seis años de laboreo para que el banco de semillas se vacíe, siempre y cuando se evite la entrada de semillas nuevas (Roberts y Feast, 1973). Aunque buena parte de la pérdida de las semillas de debe a la germinación, hay una parte importante de mortalidad que puede atribuirse a la muerte debida a una vejez fisiológica, pero sobre todo, a la acción de la biota del suelo (Pitty, 1987).

La selección de las especies de prueba en este estudio, pretendió incluir especies que representan un amplio espectro de longevidad en el banco de semillas. En un extremo está el género *Chenopodium*, cuyas semillas se conoce que han permanecido viables enterradas por décadas (Kivilaan, 1981). En el otro extremo está *Taraxacum officinale*, que pertenece a especies efímeras en el banco. Además hay varias especies que se sabe que permanecen en el banco al menos los meses que separan los ciclos agrícolas, entre ellas: *Simsia amplexicaulis*, *Tithonia tubaeformis*, *Galinsoga parviflora*, *Lopezia racemosa*, *Acalypha indica*, *Malva parviflora*, *Crotalaria pumila*, *Salvia tiliaefolia*, *Amaranthus hybridus*.

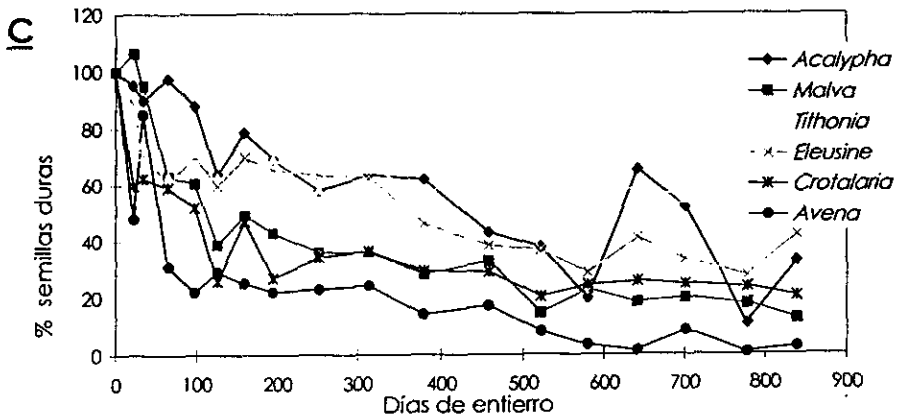
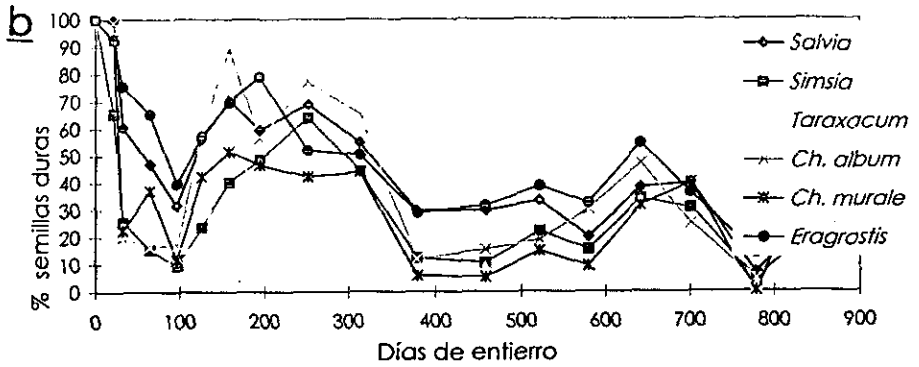
La estimación de la longevidad de las semillas se realizó empleando el método de Molina, el cual se describe a continuación (Molina, 1986).

Después de la colecta, secado y limpieza de las semillas, se prepararon bolsas de organza en las cuales se colocaron 250 semillas. Para cada especie se enterraron 150 bolsas distribuidas al azar a lo largo de cinco transectos de 36 metros cada uno. Los transectos se trazaron al azar en una parcela de 10 x 50 metros en un alfalar en Chapingo, Edo. de México; dando seguimiento a su permanencia a través de la recuperación periódica hasta 863 días. El criterio de viabilidad empleado fue la dureza de las semillas (Espinosa, 1993).

Los resultados (gráficas a,b,c) indican que existe diferencia en los patrones de pérdida de la viabilidad de las semillas a través del tiempo. Las especies incluidas en las gráficas a y b, presentan una tasa de pérdida irregular, mientras que en las incluidas en la gráfica c, la tasa de pérdida es más regular (Espinosa-García, Guerrero y Delgado, 1999).



^a c/v: con vilano, ^b s/v: sin vilano.



Gráficas a, b, c.- Permanencia de las semillas de algunas plantas arvenses (viables) en el suelo durante 863 días.

Considerando los resultados obtenidos al final del experimento, las diferentes especies se pueden dividir en tres grupos, empleando como criterio la viabilidad (baja, media y alta) de las semillas en el suelo, como se indica en la tabla 2.

Viabilidad baja (> 10 %)	Viabilidad media (15-30 %)	Viabilidad alta (40-60 %)
<i>Avena fatua</i>	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Acalypha indica</i>
<i>Taraxacum officinale</i>	<i>Galinsoga parviflora</i>	<i>Tithonia tubaeformis</i>
	<i>Chenopodium album</i>	<i>Eleusine multiflora</i>
	<i>Salvia tiliaefolia</i>	<i>Lopezia racemosa</i>
	<i>Crotalaria pumila</i>	<i>Polygonum aviculare</i>
	<i>Malva parviflora</i>	<i>Chenopodium murale</i>
	<i>Simsia amplexicaulis</i>	

Tabla 2.- Permanencia de las semillas en el suelo

5.3.- Análisis fitoquímico de las semillas

La determinación estructural de los metabolitos secundarios comprende para cada especie el análisis fitoquímico convencional, incluyendo el estudio del residuo obtenido de la hidrólisis de las semillas (del material vegetal después de las extracciones) y el análisis del extracto hexánico mediante un sistema de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas. Debido a su extensión los resultados obtenidos se presentan en la tabla del anexo 1.

La información referente a los metabolitos secundarios presentes en las especies que se mencionan a continuación, corresponde a estudios químicos realizados empleando los mismos criterios del presente protocolo: *Acalypha indica*, *Amaranthus hybridus*, *Chenopodium album*, *Chenopodium murale*, *Eleusine multiflora*, *Galinsoga parviflora*, *Lopezia racemosa*, *Malva parviflora*, *Simsia amplexicaulis*, *Salvia tiliaefolia*, *Taraxacum officinale*, *Tithonia tubaeformis* (los autores de cada estudio se mencionan en la tabla 1).

En el presente trabajo se llevó a cabo el análisis químico de *Avena fatua*, *Crotalaria pumila* y *Polygonum aviculare*.

5.4.- Descripción de las especies en estudio

Avena fatua L.

Nombre común: Avena loca, avena cimarrona

Familia: Gramineae

Hierba anual, erecta, de 40 a 110 cm de alto. Culmo envuelto por la vaina y con los entrenudos marcados por una constricción en forma de anillo de color café o café rojizo que corresponde al lugar de inserción de la vaina. Hojas: vaina abierta hasta la base pero que envuelve al culmo encimando sus bordes, de 5 a 15 cm de largo, siempre más corta que el entrenudo, glabra o pilosa con los bordes apenas diferenciados del resto de la vaina; lígula laminar de 3 a 7 mm de alto, blanquecina, de ápice convexo y eroso o erósulo; cuello resaltado por aurículas formadas por un doblez de la base laminar; lámina lanceolada u oblongo - lanceolada de 12 a 25 cm de largo y 0.4 a 0.8 mm de ancho, plana, ápice acuminado, base auriculada, antrorsamente escábrida, pilosa o no pilosa en los bordes. Inflorescencia paniculada, laxa y abierta, de 10 a 30 cm de alto, espiguillas péndulas, generalmente con 3 flósculos, raquilla barbada, que se desarticula de las glumas y entre los flósculos; glumas subiguales de 2.3 a 3.5 cm de largo, de perfil ahusado, ápice acuminado, borde diferenciado del resto de la gluma, glabras; lema endurecida excepto en el ápice donde es bidentada, con 5 a 9 nervios, con una arista dorsal larga y geniculada, palea más corta, no endurecida. Fruto: cariopsis.

Especie común y abundante, nociva y muy difícil de controlar. Florece de agosto a diciembre aunque se puede encontrar también en esta etapa en enero y abril. Alt. 2 300 a 3 150 msnm. Especie cosmopolita, en México se ha colectado en Baja California Norte, Baja California Sur, Sonora, Chihuahua, Coahuila, Durango, Jalisco, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, Veracruz, Michoacán, Estado de México, Tlaxcala, Puebla y Chiapas (Espinosa-García y Sarukhán, 1997).

Crotalaria pumila Ort.

Nombre común: Tronadora

Familia: Leguminosae

Hierba anual, erguida, raras veces postrada, de 8 a 50 cm de alto. Tallo ramificado después de la base, glabro o estrigoso en ramas maduras, seríceo en las ramas jóvenes, de sección transversal circular, color verdoso o purpúreo. Hojas alternas, compuestas, trifoliado-digitadas con peciolo de 0.5 a 1.2 cm de largo, con estípulas lineares inconspicuas o caducas, folíolos obovados u oblongo-obovados de 0.5 a 3.2 cm de largo y 0.2 a 0.8 cm de ancho, ápice redondeado - apiculados, borde entero, base cuneada, indumento seríceo en el envés, glabro en el haz, nervadura eucamptódroma generalmente inconspicua, siendo notable sólo el nervio principal. Inflorescencia en racimo, opuesto a las hojas, con 2 a 5 flores, pedúnculo de la inflorescencia de 0.9 a 2.0 cm de largo. Flores papilionadas con pedicelos estipulados, de 2 a 3 mm de largo, cáliz gamosépalo persistente con los sépalos fusionados en su mitad inferior, de 3 a 5 mm de longitud, con indumento seríceo de color amarillento, corola de 5 a 10 mm de largo, amarilla con estandarte rojizo doblado, quilla geniculada; 10 estambres, con sus filamentos fusionados en su tercio inferior, situados bajo el ovario, que es súpero, unilocular y unilocular con estilo curvado y barbado. Fruto: legumbre oblongo-elipsoide, inflada, de 1.0 a 2 cm de largo y 0.5 a 0.9 cm de ancho, dehiscente, ápice mucronado, con indumento seríceo, raras veces glabro.

Especie común, en ocasiones localmente abundante. Anual de verano. Alt. 2 250 a 2 500 m. También se encuentra como ruderal secundaria. Conocida en el sur de Estados Unidos, Sonora, Chihuahua, Nuevo León, Tamaulipas, Sinaloa, Durango, Zacatecas, San Luis Potosí, Aguascalientes, Jalisco, Querétaro, Michoacán, Estado de México, Morelos, Puebla, Veracruz, Guerrero, Oaxaca, Chiapas, Centro y Sudamérica (Espinosa-García y Sarukhán, 1997).

Polygonum aviculare L.

Nombre común: Sanguinaria

Familia: Polygonaceae

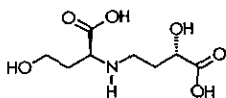
Hierba anual, prostrada o ascendente de 20 a 100 cm de largo, profusamente ramificada. Tallos de sección circular, estriados longitudinalmente, verdes o verde grisáceos, a veces morados, completamente glabros; ócreas membranosas hialinas con nervadura paralela, con ápice acuminado cuando la hoja es tierna y más tarde lanceolado en la hoja madura y el tallo más grueso. Hojas alternas, cortamente pecioladas o subsésiles en ambos casos articuladas, lámina elíptica, fusiforme, lanceolada o casi oblonda de 0.6 a 1.0 cm de largo y 0.25 a 1 cm de ancho, ápice romo a agudo, borde entero, base cuneada, glabras por completo, nervadura eucamptódroma. Inflorescencia axilar en glomérulos de 1 a 6 flores presentes en la mayoría de las axilas de la planta. Flores cortamente pedunculadas, 5 sépalos, con bordes petaloideos de color rosado o blanco, de 2 a 3 mm de largo, unidos en la base, ovario súpero tricarpelar, unilocular, uniovulado, 3 estilos, estigmas capitados, 3 estambres por lo general inclusos. Fruto: aquenio

Arvense muy común y frecuentemente abundante tanto en cultivos abiertos como cerrados. Se puede encontrar prácticamente floreciendo todo el año, aunque se comporta preferentemente como anual de verano. Ampliamente distribuida en el mundo. Alt. 2 200 a 3000 msnm. También se encuentra como ruderal o en otros lugares perturbados. Conocida de Chihuahua, Durango, Querétaro, Hidalgo, Michoacán, Estado de México, Morelos, Puebla y Veracruz (Espinosa-García y Sarukhán, 1997).

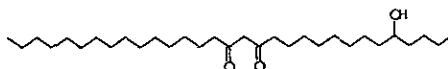
5.5.-Antecedentes químicos de los géneros *Avena*, *Crotalaria* y *Polygonum*

Avena

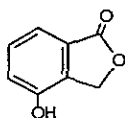
Avena sativa es la especie cuyos constituyentes químicos han sido mejor estudiados. De las raíces se aisló el ácido avénico (1) (Fushiya, 1980), de las partes aéreas la 5-hidroxi-14, 16-hentriacontanodiona (2) (Dierickx, 1972), la 4-hidroxi-fálida (3) (Knights, 1966) 2'-O- α -L-Ramnopiranosido-7-O-metil vitexina (4) (Chopin, 1977), la diantramida P (5) (Crombie, 1990) y la 2-(3-metoxicinamoil) -4H-3, 1-benzoxazin-4-ona. (6) que fue identificada como una fitoalexina contra hongos (Mayama, 1981).



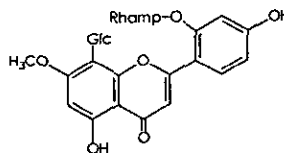
Acido avénico B (1)



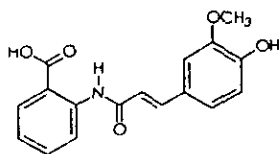
5-hiroxi - 14, 16- hentriacontanodiona (2)



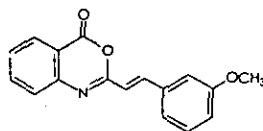
4- hidroxifálida (3)



2' O- α -L Ramnopiranosido-7-O-metil vitexina (4)



Diantramida P (5)



2-(3-metoxicinamoil) -4H- 3, 1- benzoxazin- 4- ona. (6)

De *Avena fatua* no existen estudios referentes a sus metabolitos

secundarios, los estudios realizados son referentes a su fisiología, genética y resistencia a herbicidas.

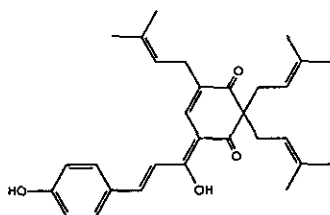
Crotalaria

Los representantes de este género han sido ampliamente utilizados en la medicina tradicional. Las vainas de *C. incana* y *C. anagyroides* se emplean como "cura mágica" para personas mudas, o con problemas del habla. Las flores y frutos inmaduros de *C. incana* se emplean como abortivo en algunas tribus de Paraguay (Schmeda, 1987).

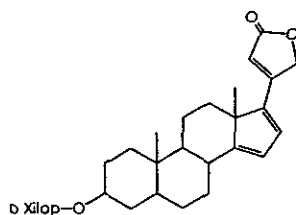
Algunas especies, incluyendo *C. fulva*, *C. nana* y *C. juncea*, se emplean en el tratamiento de enfermedades hepáticas, principalmente en niños y además enfermedades veno-oclusivas (Schmeda, 1987). Las especies de *Crotalaria*, han sido también relacionadas con el envenenamiento del ganado e intoxicación en humanos, lo cual se asocia a la presencia de alcaloides pirrolizidínicos que inducen hepatotoxicidad. Un extracto metanólico de las semillas de *C. juncea* provocó infertilidad en ratas (Prakash, 1995). *C. laburnifolia* es conocida por su actividad antiinflamatoria (Yadava *et al*, 1993), *C. retusa* se emplea en el tratamiento de la sarna (Yadava, 1995). Las hojas de *C. verrucosa* son útiles en el tratamiento de problemas biliares, indigestión, enfermedades de la garganta y padecimientos del corazón (Yadava 1994). *C. paulinea* y *C. spectabilis* se emplean como plantas antagonistas en el control de nematodos en cultivos de bananas (Comm. Tec, 1998).

El análisis fitoquímico del género es extenso, debido a la alta toxicidad de las plantas. Se han identificado ácidos grasos, aminoácidos, estilbenos, flavonoides y alcaloides pirrolizidínicos, ejemplos de ellos son la munchiwarina (7), aislada de las raíces de *C. trifoliatrum* (Yang, 1998), de las semillas de *C. juncea* se aisló el 3-O-β-D-xilopiranosido de cardiogenina (8) (Yadava *et al*, 1994), de *C.*

ramosissima la crotamomsina (9)(Rao, 1998). De *C. madurensis* el *trans*-3,4,3',5' tetrametoxiestilbeno (10) de las hojas y tallos (Bhakuni, 1984), y de las semillas la madurensina (11) y la fulvina (12) (Habib, 1970). En las semillas de *C. pumila* se han identificado los ácidos linolénico (13), palmítico (14), esteárico (15), oléico (16), linoléico(17), todos los aminoácidos esenciales (excepto la metionina) (Akhtar, 1999), el ácido 4-aminobutanoico (18), la isowillardina (19) y la L,L-N-γ-Glutamil tirosina (20) (Phytochemical dict. vol 1)

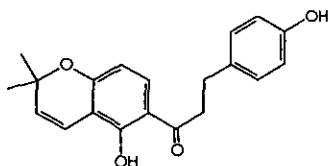


Munchiwarina (7)

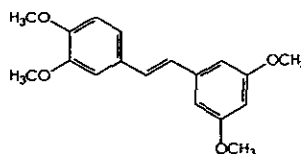


3-O-β-D-xilopiranosido de cardiogenina

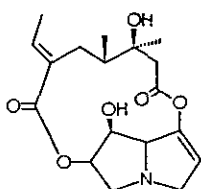
(8)



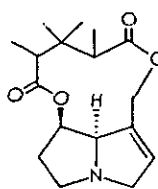
Crotamosina (9)



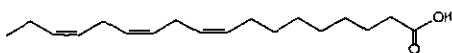
trans-3,4,3',5' tetrametoxiestilbeno (10)



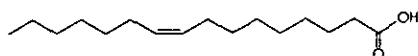
Madurensina (11)



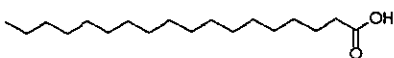
Fulvina (12)



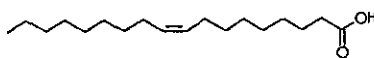
Ac. linolénico (13)



Ac. palmítico (14)



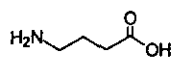
Ac. esteárico (15)



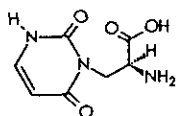
Ac. oléico (16)



Ac. linoléico (17)



Ácido- 4-amino - butanoico (18)



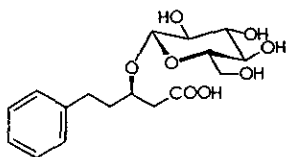
Isowillardina (19)

Polygonum

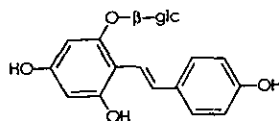
Diferentes especies de este género se emplean en la medicina tradicional en el tratamiento de cálculos renales, diabetes, como agente diurético y antidiarreico (Ihsan et al. 1999). Podemos mencionar entre otros a *Polygonum multiflorum* que afecta el sistema cardiovascular (posiblemente mediante la alteración de iones Ca^{2+}) y además es efectiva en el tratamiento de hiperlipemia

(Grench *et al*, 1994). *P. hydropiper* presenta actividad antimicrobiana, citotóxica y antialimentaria en insectos (Furuta *et al*, 1986). *P. glabrum* se emplea como antihelmíntico (Jacobsson, U. *et al* 1992). En *P. nepalense* el extracto etanólico presenta actividad espasmolítica (Rathore *et al*, 1986). *P. pensylvanicum* inhibe la proteína cinasa C (Zimmermann *et al*, 1994) y *P. cuspidatum* inhibe proteína tirosina cinasa (Jayatilake *et al*, 1993). *P. aviculare* se emplea en la medicina tradicional como antipirético, antiparasitario y diurético (Kim *et al*, 1994)

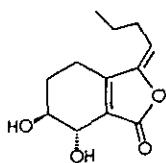
Los metabolitos secundarios aislados en los representantes de este género comprenden flavonoides, chalconas, antraquinonas, naftoquinonas, sesquiterpenoides, lignanos, cumarinas, glicósidos de estilbenos y acetofenonas, hidrocarburos, alcoholes alifáticos y ceras. A continuación se mencionan algunos metabolitos, su fuente vegetal y para algunos, su actividad biológica:



3-O- β -glucopiranosido del ácido
fenilvalérico (21)
P. salicifolium
(Ihsan, 1999)

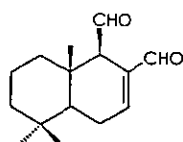


2-O- β -D-glucopiranosido del (E)-2, 4, 6, 4'-
Tetrahidroxi estilbeno (22)
P. multiflorum



Dihidroiligustilido (23)

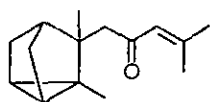
P. multiflorum



Polygodial (24) (Fukuyama, 1985)

P. hydropiper

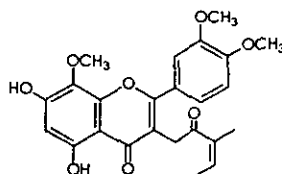
Antialimentaria, antimicrobiana,
fitotoxicidad, citotoxicidad



α -Santalona (25)

P. flaccidum

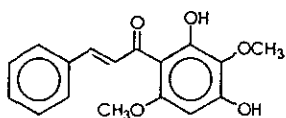
(Ahmed, 1991)



Flacidina (26)

P. flaccidum

(Ahmed, 1991)

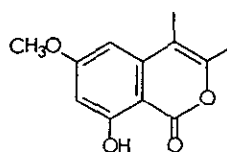


2', 4'- dihidroxi -3', 6' -

dimetoxichalcona (27), *P.*

senegalense (Maradufu 1978)

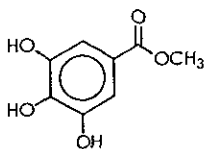
Molusquicida (semillas)



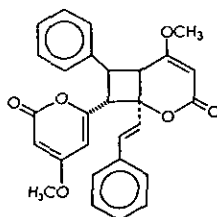
Polygonólido (28)

P. hydropiper (Furuta 1986)

Antiinflamatoria



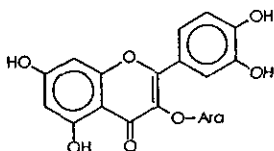
Ester metílico del ácido gálico (29)
P. nodosum (Kuroyanagi 1982)



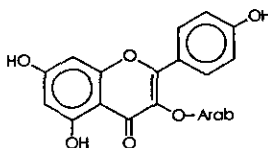
P. nodosum (30)
 (Kuroyanagi 1982)

La mayor parte de los estudios se refieren a partes aéreas y raíces. Los análisis químicos de las semillas son escasos.

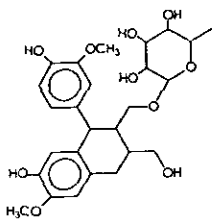
De la especie *Polygonum aviculare* se han aislado la avicularina (31), junglanina (32), aviculina (33), astragalina (34), betmidina (35), uglanina (36), hiperósido (37), Kaempferol (38), quercetina (39) y miricetina (40) (Vysochina, 1998 y 1999).



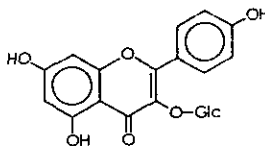
Avicularina (31)



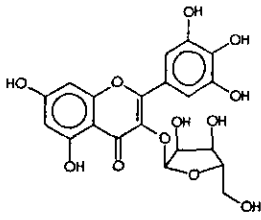
Junglanina(32)



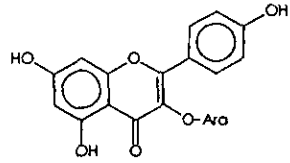
Aviculina(33)



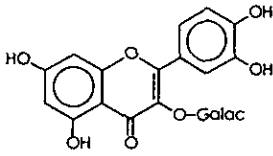
Astragalina(34)



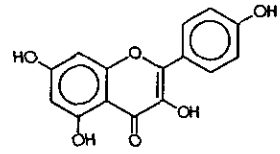
Betmidina(35)



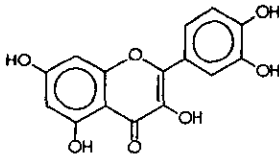
Uglanina(36)



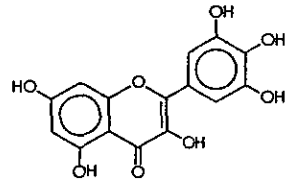
Hiperósido(37)



Kaempferol(38)



Quercetina(39)



Miricetina (40)

5. DESARROLLO EXPERIMENTAL

Materiales y Equipo

Para la realización de la cromatografía en columna de los diferentes residuos orgánicos, se utilizó gel de sílice como soporte. La malla fina se refiere a sílice Merck 60 GF₂₅₄.

Para el análisis por cromatografía en placa fina se utilizaron cromatofolios Alugram Sil G/UV 254, Macherey-Nagel Düren. En el caso de sustancias con grupos cromóforos se monitorearon con una lámpara de UV Spectroline Modelo ex-20 a 365 y 254 nm de longitud de onda. Una solución de sulfato cérico amónico al 1% en ácido sulfúrico 2N se empleó como agente cromógeno.

Los puntos de fusión fueron determinados con una aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

Los espectros de RMN se obtuvieron en un espectrómetro analítico Varian XR-300 a 300 y 75 MHz para ¹H y ¹³C respectivamente, utilizando como disolventes CDCl₃, DMSO, D₂O, MeOD y como referencia interna tetrametilsilano (TMS).

Los espectros en el 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.

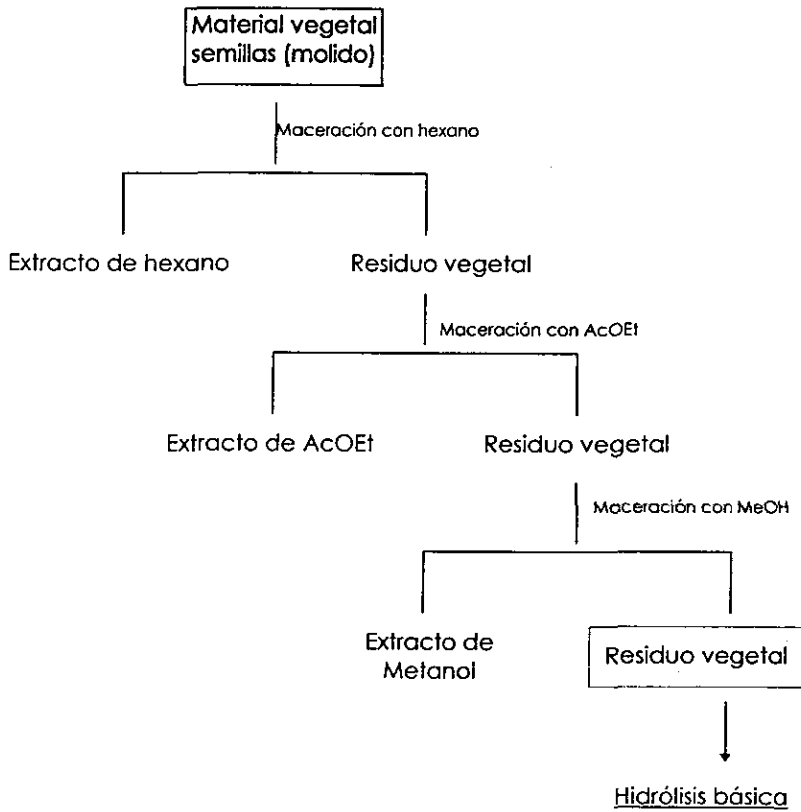
6.1.- Procedimiento general

Las semillas fueron colectadas por el Dr. Francisco Espinosa García del Instituto de Ecología de la UNAM, en diferentes localidades en el estado de México y *Crotalaria pumila* en Michoacán. Las semillas secas fueron trituradas en un molino de mano y extraídas a temperatura ambiente por 48 horas por maceración con hexano, acetato de etilo y metanol. El disolvente se eliminó a presión reducida en un rotavapor, obteniendo tres extractos para cada especie, los rendimientos se presentan en la tabla 2 y el procedimiento general en el esquema 1.

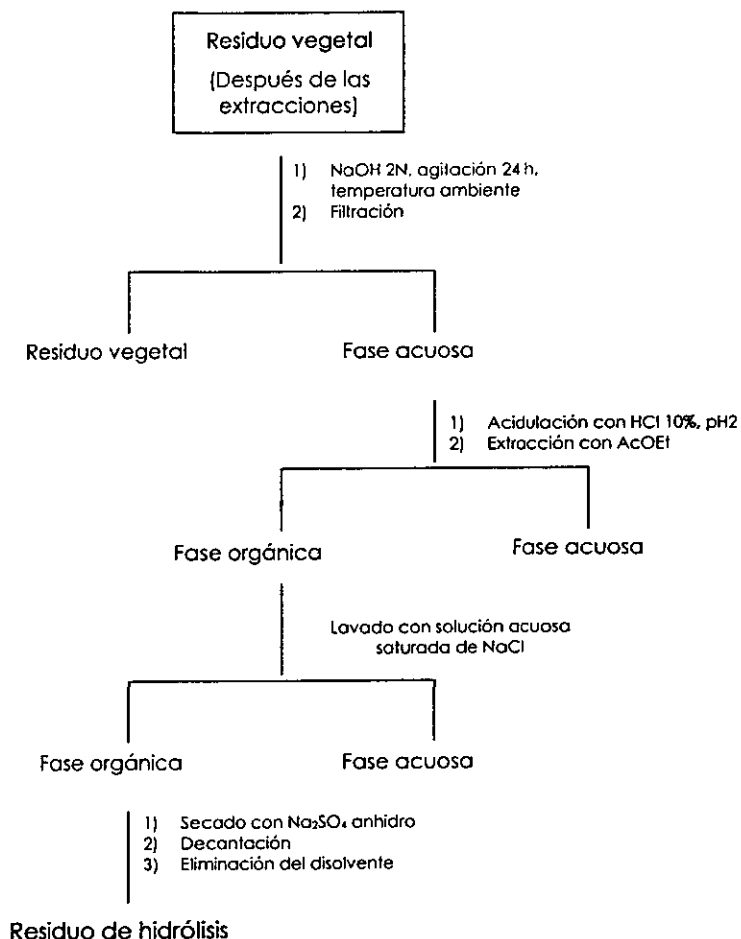
Tabla 2.-Rendimiento en la extracción de semillas.

Especie	Semillas extraídas (g)	% Extracto hexánico	% Extracto de AcOEt	% Extracto melánico	% Residuo de hidrólisis del material extraído
<i>Avena fatua</i>	120	2.43	0.9	3.43	4.29
<i>Crotalaria pumila</i>	220	2.22	0.9	5.36	0.9
<i>Polygonum aviculare</i>	152	1.90	0.65	5.26	2.89

El residuo vegetal después de las extracciones se dejó secar a temperatura ambiente, para posteriormente someterse a una hidrólisis básica con hidróxido de sodio 2N (100 ml/g) a temperatura ambiente y en agitación constante durante 24 horas. Al término de este tiempo, se decantó la solución y el sobrenadante se aciduló con ácido clorhídrico 6N hasta un pH 2. Esta solución ácida fue extraída en repetidas ocasiones con acetato de etilo. Las fracciones orgánicas se reunieron y mediante lavados con una solución acuosa de cloruro de sodio saturada, se disminuyó la acidez. Finalmente, se eliminó el disolvente en un rotavapor, como se indica en el esquema 2 (Cruz, 1996). Los resultados obtenidos se incluyen en la tabla 3.



Esquema 1.- Procedimiento general de extracción de las semillas.



Esquema 2.-Procedimiento general de la hidrólisis básica del residuo de las semillas, posterior a su extracción.

Los residuos orgánicos obtenidos de la extracción con los diferentes disolventes fueron analizados mediante cromatografía en capa fina, lo cual permitió establecer que los extractos de hexano y acetato de etilo, obtenidos para cada una de las especies son de composición similar, por lo que sólo se analizó el extracto hexánico.

6.2.- Estudio químico de las semillas de *Avena fatua*

Extracto hexánico

El extracto hexánico (2.9 g) se adsorbió en sílice malla 70-230 (1:1) y cromatografiado en una columna empacada con sílice (malla fina) de 12 cm de largo y 4.5 cm de diámetro interno. La elución de la columna se realizó a presión reducida, de acuerdo con la técnica informada en la literatura (Pelletier, 1986). Se eluyeron fracciones de 200 ml empleando mezclas de polaridad ascendente de hexano-acetato de etilo (Tabla 3).

Fracciones	Sistema de elución	Fracciones	Sistema de elución
1-4	Hexano 100%	41-44	Hex:AcOEt 76:24
5-8	Hex:AcOEt 98:2	45-48	Hex:AcOEt 74:26
9-12	Hex:AcOEt 96:4	49-52	Hex:AcOEt 72:28
13-16	Hex:AcOEt 94:6	53-56	Hex:AcOEt 7:3
17-20	Hex:AcOEt 92:8	57-60	Hex:AcOEt 68:32
21-24	Hex:AcOEt 9:1	61-64	Hex:AcOEt 65:35
25-28	Hex:AcOEt 88:12	65-68	Hex:AcOEt 63:38
29-32	Hex:AcOEt 84:16	69-72	Hex:AcOEt 6:4
33-36	Hex:AcOEt 8:2	73-80	AcOEt 100%
37-40	Hex:AcOEt 78:22		

Tabla 3.- Elución de la columna principal del extracto hexánico de *Avena fatua*

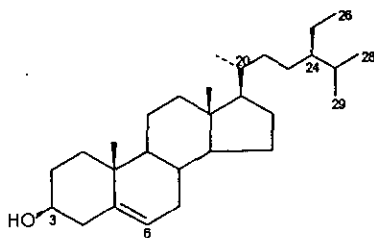
Estas fracciones de acuerdo con su similitud cromatográfica, se reunieron en ocho fracciones primarias (A-H), como se indica en la tabla 4.

Fracciones	Reunión	Fracciones	Reunión
1-8	A	29-31	E
9-15	B	32-46	F
16-22	C	47-64	G
23-28	D	65-80	H

Tabla 4.-Reunión de las fracciones del extracto de hexano.

En las fracciones D y E se determinó la presencia de β -sitosterol (41) como constituyente mayoritario (20 mg), mediante cromatografía en capa fina, por comparación con una muestra auténtica obtenida por nuestro grupo de trabajo, y comparación de los datos espectroscópicos reportados en la literatura (Aldrich 1993, 569A).

RMN^1H ($CDCl_3$, 300 MHz, δ): 5.35 (d, $J=5.4$, H_6), 3.65 (m, H_3), 0.88-1.0 (dt, CH_3, CH_2 , 6 CH_3).



β -sitosterol (41)

La falta de homogeneidad cromatográfica en el resto de las fracciones por CCF indicó su complejidad, lo cual, aunado a la cantidad de muestra insuficiente, impidió su análisis subsecuente.

Extracto metanólico

4 g del extracto metanólico se adsorbieron en sílice (malla 70-230, proporción 1:1) y cromatografiados en una columna empacada con sílice de malla fina de 11 cm de largo y 4.5 cm de diámetro interno. Se eluyeron fracciones de 150 ml empleando mezclas de diclorometano-acetona de polaridad ascendente, como se indica en la tabla 5.

Fracciones	Sistema de elución	Fracciones	Sistema de elución
1-6	CH ₂ Cl ₂ 100%	43-46	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 8:2
7-10	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 98:2	47-50	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 78:22
11-14	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 96:4	51-54	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 76:24
15-18	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 94:6	55-58	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 74:26
19-22	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 92:8	59-62	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 72:28
23-26	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 9:1	63-66	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 7:3
27-30	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 88:12	67-70	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 65:35
31-34	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 86:14	71-74	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 6:4
35-38	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 84:16	75-80	Acetona 100%
39-42	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 82:18		

Tabla 5.- Fraccionamiento del extracto metanólico.

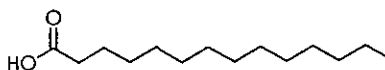
Estas fracciones se reunieron de acuerdo con la similitud observada en cromatografía en capa fina analítica, como se muestra en la tabla 6.

Fracciones	Reunión	Fracciones	Reunión
1-8	A	35-40	F
9-11	B	41-48	G
12-16	C	49-62	H
17-23	D	63-73	I
24-34	E	74-80	J

Tabla 6.- Reunión de las fracciones del extracto metanólico de *Avena fatua*

Un análisis de la fracción C permitió determinar que estaba constituida por un componente mayoritario, el cual se purificó mediante cromatografía preparativa en capa fina. El sistema de elución empleado fue diclorometano-metanol 94:6, y la elución se realizó tres veces (3X), después de la extracción de la sílice con acetona por tres ocasiones, se obtuvieron 18 mg de una mezcla de ácidos, en la cual predomina el ácido tetradecanoico (42), cuyos datos espectroscópicos están de acuerdo con los reportados en la literatura (Aldrich, 1993, 755C):

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 2.27 (t, J=7.8, CH₂-CO), 1.60 (m, H₃), 1.29 (s, -CH₂, H₄₋₁₃), 0.90 (t, J= 7.0, CH₃).



Acido tetradecanoico (42)

En la fracción E precipitó un sólido cristalino que se lavó con diclorometano para obtener 282 mg de una sustancia identificada como la

4',5,7-trihidroxi-3',5'-dimetoxi-flavona, tricina (43) (Mabry, 1970; Markham, 1994). Este flavonoide se aisló previamente de *Eragrostis mexicana* (Peguero, 1994). A continuación se enlistan sus datos espectroscópicos:

Pf= 253-260 °C

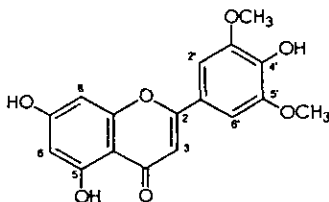
Rf: 0.57 (CH₂Cl₂-Metanol, 96:4)

IR ν_{\max} (KBr) 3000, 1600, 1610, 1650, 750, 850 cm⁻¹.

RMN¹H (300 MHz, DMSO, δ): 3.88 (s, 6H), 6.20 (d, 2.1, H₆), 6.55 (d, 2.1, H₈), 6.98 (s, H₃), 7.32 (s, H_{2'-6'}), 12.96 (s, OH).

RMN¹³C (75 MHz, DMSO, δ): 46.3 (1 CH₃), 56.3 (2 OCH₃), 94.1 (1 C=), 98.77 (1 C=), 103.5 (C=), 103.6 (C=), 104.9 (2 C=), 120.36 (1 C=), 139.8 (1 C=), 148.1 (2 C=), 157.3 (1 C=), 161.36 (1 C=), 163.6 (1 C=), 164.12 (1 C=), 181.7 (1 C=O).

EM m/z 330, 100% (M+ C₁₇H₁₄O₇), 152, 2.5% (C₇H₄O₄), 178, 5% (C₁₀H₁₀O₃)



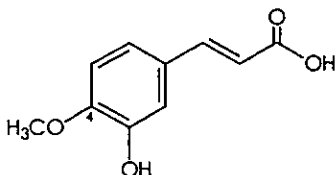
Tricina (43)

Se realizó una cromatografía en placa preparativa de la fracción G, la elución se realizó cuatro veces empleando una mezcla de diclorometano-metanol (94:6), después de extraer la sílice con acetona y eliminar el disolvente, se obtuvieron 9.4 mg del ácido 3-hidroxi-4-metoxi-cinámico (44) (Aldrich 1993 1057C), cuyos datos espectroscópicos son:

Rf: 0.4 (CH₂Cl₂-Metanol, 85:15).

Pf. 229-232 °C

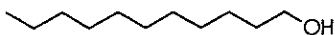
RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 7.71 (d, J= 15.9, HC=), 7.12 (dd, J=8.1, 1.8; H₆), 7.05 (d, J=1.8, H₂), 6.93 (d, J= 8.1, H₅), 6.29 (d, J=15.9, HC=), 5.89 (sa, OH), 3.94 (s, OCH₃).



Ácido 3- hidroxi-4-metoxi cinámico (44)

De la fracción H se purificaron 11.2 mg de un alcohol lipídico, el undecanol (45) (Aldrich, 1993, 166B) empleando cromatografía preparativa, la elución se realizó con una mezcla de diclorometano-metanol 9:1. Los datos espectroscópicos son los siguientes:

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 3.91(d, 5.7, 2H₁), 1.25 - 1.9 (m, 18 H), 0.87 (m, 3H).



Undecanol (45)

Residuo de hidrólisis

El residuo de hidrólisis (4 g) se adsorbió en sílice (malla 70-230) y se cromatografió en una columna empacada con gel de sílice (malla fina), de

10 cm de largo y 4 cm de diámetro, se empleó como fase móvil mezclas de polaridad ascendente de diclorometano-acetona, colectándose fracciones de 150 ml (tabla 7).

Fracciones	Sistema de elución	Fracciones	Sistema de elución
1-5	CH ₂ Cl ₂ 100%	37-41	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 85:15
6-10	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 98:2	42-46	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 83:17
11-18	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 95:5	47-50	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 8:2
19-26	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 92:8	51-53	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 75:25
27-31	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 9:1	54-58	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 7:3
32-36	CH ₂ Cl ₂ :Acetona 87:13	60-65	Acetona 100%

Tabla 7.- Elución de la columna primaria del residuo de hidrólisis de *A. fatua*

Considerando su similitud cromatográfica, estas fracciones se reunieron como se indica en la tabla 8.

Fracciones	Reunión	Fracciones	Reunión
1	A	22-28	E
2-6	B	29-33	F
7	C	34-39	G
8-21	D	40-65	H

Tabla 8.- Reunión del fraccionamiento primario del residuo de hidrólisis.

La fracción B presentó un constituyente mayoritario, el cual fue purificado mediante cromatografía preparativa en capa fina. El sistema de elución fue hexano-acetona-metanol (70:30:1). Se obtuvieron 12 mg de ácido

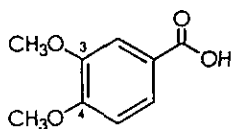
3,4-dimetoxibenzoico (46) (Aldrich, 1993, 1110B), sus datos espectroscópicos se indican a continuación:

Pf:178-182 °C

Rf: 0.43 (Hexano-Acetona, 7:3).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 3.97 (s, 2 OCH₃), 7.04 (d, 8.7, H₅), 7.42 (d, 1.8, H₂), 7.42 (dd, 8.7, 1.8, H₆), 9.83 (s, COOH).

RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃, δ): 56.12 (OCH₃), 109.8 (CH), 114.3 (CH), 114.5 (C), 127.4 (CH), 147.6 (C), 151.6 (C), 190.7 (C=O).

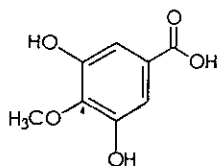


Ácido 3,4 dimetoxibenzoico (46)

La fracción C, además del ácido 3,4-dimetoxibenzoico, presentó otro constituyente mayoritario el cual se purificó mediante cromatografía en columna abierta que se empaco con 15 g de sílice malla 230-400, se obtuvieron fracciones de 15 ml empleando como eluyente mezclas de hexano-acetato de etilo, de polaridad ascendente. En las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (8:2) se obtuvieron 4 mg de un compuesto de consistencia aceitosa identificado posteriormente como el ácido 4-O-metilgálico (47)(Aldrich, 1993, 434D), los datos espectroscópicos se enlistan a continuación:

Rf: 0.35 (Hexano-Acetona, 7:3).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 7.26 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 3.96 (s, 3H).



Ácido 4-O-metil-gálico (47)

En la fracción D se obtuvieron 260 mg de un sólido cristalino, que se filtró y lavó con diclorometano. El producto se identificó como el éster metílico del ácido 3,4-dihidroxi-cinámico (48) (Aldrich, 1993, 1058B), cuyos datos espectroscópicos son:

Rf: 0.45 (CH₂Cl₂-Metanol, 95:5).

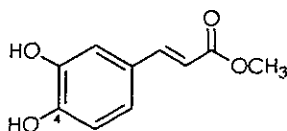
Pf: 228-232 °C

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃-MeOH, δ): 3.88 (s, OCH₃), 4.9 (sa, 2 OH), 6.30 (d, 15.9, HC=), 6.79 (d, 8.1, H₃), 7.05 (dd, 8.1, 1.8; H₂), 7.16 (d, 1.8, H₆), 7.60 (d, 15.9, HC=).

RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃-MeOH, δ): 56.44 (OCH₃), 111.6 (=CH), 115.9 (=CH), 116.4 (=CH), 123.9 (=CH), 127.7 (=C), 146.8 (=CH), 149.3 (=C), 150.4 (=C), 171.0 (C=O).

EM, IE M⁺ 194 (100%) 179 (M-CH₃), 177 (M-17), 145 (M-49).

IR (KBr, pastilla) 3438, 2970, 1689 y 1273 cm⁻¹.



Éster metílico del ácido 3,4-dihidroxi-cinámico (48)

6.3.- Estudio químico de las semillas de *Crotalaria pumila*

4.9 g del extracto hexánico se adsorbieron en sílice (malla 70-230) y se cromatografiaron en una columna empacada con 25 g de sílice (malla fina) de 4.5 cm de diámetro interno, se obtuvieron fracciones de 200 ml empleando como eluyente mezclas de hexano-acetato de etilo (tabla 9). Se obtuvieron 60 fracciones las cuales se reunieron empleando como criterio su similitud cromatográfica, como se indica en la tabla 10.

Fracciones	Sistema de elución	Fracciones	Sistema de elución
1	Hexano 100%	30-38	Hexano-AcOEt 8:2
2-12	Hexano-AcOEt 95:5	39-45	Hexano-AcOEt 75:25
13-20	Hexano-AcOEt 9:1	46-54	Hexano-AcOEt 7:3
21-29	Hexano-AcOEt 85:15	55-60	AcOEt 100%

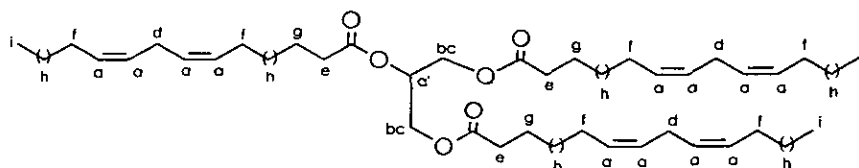
Tabla 9.-Elución de la columna principal del extracto hexánico de *C. pumila*

Fracciones	Reunión	Fracciones	Reunión
1-4	A	19-29	E
5-8	B	30-40	F
9-13	C	41-53	G
14-18	D	54-60	H

Tabla 10.-Reunión del fraccionamiento primario del extracto hexánico de *C. pumila*.

La fracción B se adsorbió en sílice malla 70-230 y se cromatógrafió en una columna empacada con gel de sílice (malla fina) de 14 cm de largo y 4 cm de diámetro, empleando como eluyente mezclas de polaridad creciente de hexano-acetato de etilo. De este fraccionamiento las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo 7:3 corresponden a la estructura general del triacil glicérico A (49) 1 g, sus datos espectroscópicos se enlistan a continuación:

RMN¹H (300MHz, CDCl₃, δ): 5.36(m, 13 H_{o-a'}), 4.29(dd, 4.5,12; 2 H_{bc}), 4.14(dd, 12, 6; 2 H_{bc}), 2.78(m, 3 H_a), 2.31(td, 2.1, 6.6; 3 H_e), 2.04(m, 6 H_f), 1.6(t, 6.9, 3 H_g), 1.2 - 1.3 (m, 44 H_h), 0.88(m, 9H_i).



Triglicérido A (49)

La fracción E se purificó mediante cromatografía en placa preparativa usando una mezcla hexano-acetato de etilo (75:25) y eluyendo dos veces (2X). Se obtuvieron 80 mg de β-sitosterol (41), cuyos datos espectroscópicos se describieron anteriormente.

Extracto metanólico

11.8 g del extracto metanólico se adsorbieron en 12 g de sílice 70-230 y

se cromatografiaron en una columna empacada con gel de sílice (malla fina) de 15 cm de largo por 5 cm *id.* Como eluyentes se emplearon mezclas de acetato de etilo-acetona, se obtuvieron 51 fracciones de 125 ml como se indica a continuación (tabla 11):

Fracción	Sistema de elución	Fracción	Sistema de elución
1-7	AcOEt 100%	29-39	AcOEt-Acetona 7:3
8-15	AcOEt-Acetona 95:5	40-48	Acetona 100%
16-22	AcOEt-Acetona 9:1	50-51	Acetona-metanol 8:2
23-28	AcOEt-Acetona 8:2		

Tabla 11.- Fraccionamiento del extracto metanólico de *Crotalaria pumila*

Estas fracciones se reunieron de acuerdo con su similitud cromatográfica, como se indica en la tabla 12.

Fracción	Reunión	Fracción	Reunión
1	A	28-34	D
2-11	B	35-51	E
12-27	C		

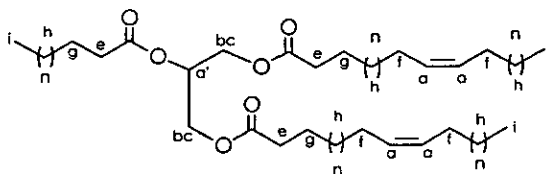
Tabla 12.- Reunión de las fracciones del extracto metanólico de *C. pumila*

La fracción A (2 g) se cromatografió en una columna, empacada con 15 g de gel de sílice, se eluyeron fracciones de 50 ml, empleando como fase móvil mezclas de polaridad ascendente de hexano-acetona.

De este fraccionamiento en las fracciones eluidas con hexano-acetona 98:2 se identificó una sustancia de Rf 0.42 (hexano-diclorometano 1:1) como el constituyente mayoritario, el cual se identificó como el ácido 3,4-dihidroxicinámico (48), cuyos datos espectrocópicos se describieron anteriormente.

La fracción eluida con hexano-acetona 75:25 presentó una consistencia aceitosa y se caracterizó como el triglicérido B (50) (10 mg) (Estrada 1997), y sus datos espectroscópicos se mencionan a continuación:

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 5.36 (m, 5 H_{α-α'}), 4.32 (m, 2 H_{bc}), 4.15 (m, 2 H_{bc}), 2.32 (t, 6 H_d), 2.02 (m, 4H_e), 1.62 (sa, 6H_f), 1.32- 1.26 (d, 70 H_g), 0.88 (9H_h).



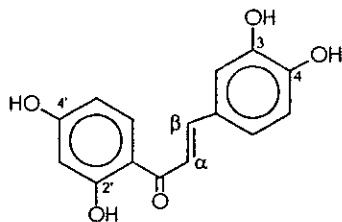
Triglicérido B (50)

La fracción eluida con hexano-acetona 7:3 presenta un constituyente que fue identificado como la 2',3,4,4'-tetrahidroxi-chalcona, buteína (51) (Price, 1939; Namikoshi, 1987), este mismo compuesto se aisló en el residuo de hidrólisis como componente mayoritario. Los datos espectroscópicos que permitieron su identificación se enlistan a continuación:

Rf: 0.62 (CH₂Cl₂-Metanol, 9:1)

Pf: 213-215 °C

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃ - MeOD, δ): 7.85 (d, 9, H_{6'}), 7.74 (d, 15, H_β), 7.48 (d, 15, H_α), 7.19 (d, 2.1, H₂), 7.09 (dd, 8.4, 2.1; H_δ), 6.86 (d, 8.4, H₅), 6.44 (dd, 9, 2.1; H₅), 6.37 (d, 2.1, H₃).



Buteína (51)

Residuo de hidrólisis

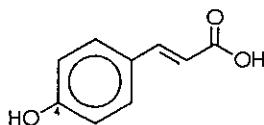
Un gramo del residuo de la hidrólisis se adsorbió en sílice y se cromatografió en una columna empacada con sílice (malla fina) de 4 cm de diámetro interno x 10 cm de largo. Se eluyeron fracciones de 50 ml, en las primeras 13 se empleó como fase móvil diclorometano, las siguientes cinco fueron eluidas con acetona.

De las fracciones 2 y 3 se obtuvo después de purificar por cromatografía en placa preparativa de 20 x 20 cm y 2.0 mm de espesor, usando como eluyente una mezcla diclorometano-metanol (9:1) (3X), 20 mg del ácido *p*-hidroxi-cinámico (52) (Aldrich, 1993, 1051C), sus datos espectroscópicos se describen a continuación:

Rf: 0.55 (CH₂Cl₂-Metanol, 8:2)

Pf: 212-215 °C

RMN¹H (200 MHz, MeOD, δ): 7.593 (d, 16 HC=), 7.421 (d, 8.7, H₂₋₆), 6.794 (d, 8.7, H₃₋₅), 6.268 (d, 16, HC=), 5.2 (sa, -OH)



ácido *p*-hidroxi-cinámico (52)

En las fracciones 5 a la 7, precipitó un sólido cristalino que se filtró (28 mg) y posteriormente fue identificado como la 3', 4', 7-trihidroxi-flavona (53), aislada previamente de *Trifolium repens* (Livingston, 1964). Sus datos espectroscópicos son:

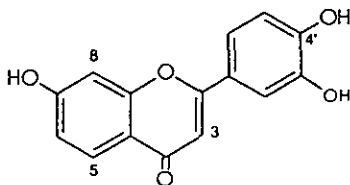
Rf: 0.43 (CH₂Cl₂-Metanol, 95:5)

Pf: 317-322 °C

RMN¹H (300 MHz, MeOD, δ): 7.95 (d, 9, H₅), 7.39 (dd, 8,7, 2,1; H₆), 7.38 (d, 2,2; H₂'), 6.94 (d, 2,1, H₈), 6.91 (dd, 9, 2,1, H₆'), 6.89 (d, 8,7, H₅'), 6.60 (s, H₃).

RMN¹³C (75 MHz, MeOD, δ): 180 (C₄), 166 (C₂), 164 (C₇), 159 (C₉), 150 (C₄'), 147 (C₃'), 127 (C₅'), 124 (C₁'), 120 (C₂'), 117 (C₁₀'), 116 (C₅'), 116 (C₆'), 114 (C₆'), 105 (C₃'), 103 (C₈').

EM (IE): M⁺ 270 (100%).



3',4',7-trihidroxi-flavona (53)

6.4 .- Estudio químico de las semillas de *Polygonum aviculare*

Extracto hexánico

Se adsorbieron 3 g del extracto hexánico de *Polygonum aviculare* en sílice malla 70-230 y se cromatografiaron en una columna empacada con gel de sílice (malla fina, 10 cm de largo x 35 mm de diámetro interno). Como eluyentes se emplearon mezclas de hexano-acetato de etilo de polaridad creciente, obteniéndose 77 fracciones (tabla 13).

Fracciones	Sistema de elución	Fracciones	Sistema de elución
1-5	Hexano 100%	52-56	Hex - AcOEt 8:2
6-10	Hex - AcOEt 98:2	57-62	Hex - AcOEt 75:25
11-15	Hex - AcOEt 96:4	63-69	Hex - AcOEt 7:3
16-20	Hex - AcOEt 94:6	70-74	Hex - AcOEt 65:35
21-25	Hex - AcOEt 92:8	75-77	AcOEt 100%
26-43	Hex - AcOEt 9:1	78-80	Acetona 100%
44-51	Hex - AcOEt 85:15		

Tabla 13- Fraccionamiento del extracto hexánico de *P. aviculare*

De acuerdo con su similitud cromatográfica, se reunieron estas fracciones como se indica en la tabla 14.

Fracciones	Reunión	Fracciones	Reunión
1	A	21-26	E
2-4	B	27-40	F
5-10	C	41-80	G
11-20	D		

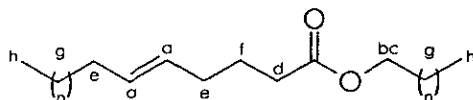
Tabla 14 - Reunión de las fracciones del extracto hexánico de *P. aviculare*

La fracción B se cromatografió en una columna abierta (2.5 cm de diámetro interno) empacada con sílice malla 70-230 (15 g), se colectaron fracciones de 50 ml, empleando como fase móvil mezclas de hexano-acetona.

Las fracciones eluidas con hexano 100%, presentaron dos componentes mayoritarios los cuales fueron purificados mediante cromatografía en placa preparativa. Se empleó como sistema de elución hexano-acetato de etilo en proporción 96:4, (2X). El resultado fué la obtención de dos compuestos identificados como una cera (éster graso insaturado 54) 8 mg y el éster graso de β -sitosterol (55) 6 mg. Los datos espectroscópicos de la cera son:

Rf: 0.34 (Hexano-AcOEt, 98:2)

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 5.4 (H_a), 4.54 (t, H_{bc}), 2.28 (m, H_d), 2.01 (m, H_e),
1.61 (m, H_{ij}), 1.25 (sa, H_g) 0.6-0.95 (H_h).

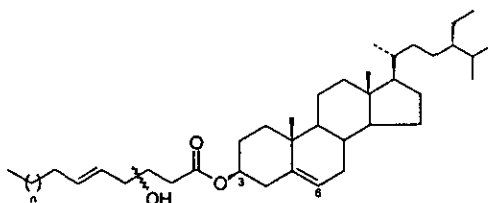


Cera (54)

Los datos espectroscópicos del éster graso de β -sitosterol son:

Rf: 0.4 (Hexano-AcOEt, 98:2)

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 6.43 (ta, HC=CH), 5.36 (H₆), 4.60 (H₃), 4.05 (t, O-CH), 2.4-1.2 (CH₂), 0.80-0.93 (CH₃).



Éster graso de β-sitosterol (54).

Residuo de la hidrólisis

Un análisis cromatográfico del extracto metanólico y el residuo de la hidrólisis, permitió determinar un alto grado de similitud en su composición, por lo que se analizó únicamente el segundo.

4.4 g del residuo de hidrólisis se adsorbieron en sílice 70-230 y se cromatografiaron en una columna empacada con gel de sílice 230-400 (8 cm largo X 4 cm de diámetro interno). Como eluyentes se emplearon mezclas de diclorometano-acetona de polaridad ascendente y se colectaron fracciones de 200 ml como se indica en la tabla 15.

Fracción	Sistema de elución	Fracción	Sistema de elución
1-8	CH ₂ Cl ₂ 100%	26-30	CH ₂ Cl ₂ - Acetona 8:2
9-13	CH ₂ Cl ₂ - Acetona 95:5	31-37	CH ₂ Cl ₂ - Acetona 75:25
14-19	CH ₂ Cl ₂ - Acetona 9:1	38-41	CH ₂ Cl ₂ - Acetona 7:3
20-25	CH ₂ Cl ₂ -Acetona 85:15	42-46	Acetona 100%

Tabla 15.- Elución de la columna principal del residuo de hidrólisis.

Considerando la similitud cromatográfica, se procedió a la reunión de las fracciones para su posterior análisis (Tabla 16)

Fracciones	Reunión	Fracciones	Reunión
1	A	14-20	F
2-3	B	21-28	G
4	C	29-41	H
5-9	D	42-46	I
10-13	E		

Tabla 16.- Reunión de fraccionamiento primario del residuo de hidrólisis de *P. aviculare*

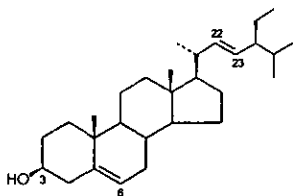
De la fracción D, después de una separación por cromatografía en placa preparativa, usando como sistema de elución una mezcla de diclorometano-acetona-metanol (97.5:2:0.5), se aislaron dos sustancias. La menos polar (10 mg) se identificó como una mezcla de β sitosterol (41) y estigmasterol (56) (Aldrich, 1993, 568C), y la más polar se identificó como el ácido 3-metoxi-4-hidroxi-benzoico (57) (7 mg) (Aldrich, 1993, 1116A). Los datos espectroscópicos de la segunda se enlistan a continuación:

Rf: 0.53 (CH₂Cl₂- Acetona, 98:2)

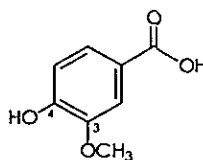
Pf: 250-253 °C

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃ , δ) : 9.83 (s, OH), 7.43 (dd, 8.4, 1.8; H₆), 7.42 (d,

1.8, H₂), 7.04 (d, 8.4, H₅), 3.97 (s, 3H).



Estigmasterol (56)

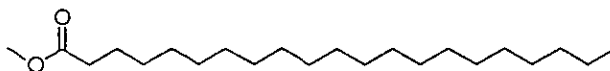


Ácido 3-metoxi-4-hidroxi-benzoico (57)

La fracción G se adsorbió en sílice (proporción 1:1) y se cromatografió en una columna empacada con gel de sílice (malla 230-400, de 4 cm de diámetro interno x 12 cm de largo), la columna se eluyó a presión reducida, se colectaron fracciones de 50 ml empleando como fase móvil mezclas de diclorometano-acetona, con polaridad ascendente. En las fracciones eluidas con diclorometano-acetona 98:2 se identificó como constituyente mayoritario el ester metílico del ácido heneicosanoico (58) (Aldrich 1993, 927b) 7.2 mg. cuyos datos espectroscópicos son :

Rf: 0.52 (CH₂Cl₂-Metanol, 9:1)

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 3.66 (s, 3H), 2.30 (t, J= 7.5, 2H), 1.57 (m, 2H), 1.25 (s, 34 H), 1.18 (d, J= 6.3, 3 H).



Ester metílico del ácido heneicosanoico (58)

La fracción 24 eluida con diclorometano-acetona 95: 5 corresponde a 3.7 mg del ácido 3-hidroxi-4-metoxi-cinámico (44) sus datos espectroscópicos se describieron previamente.

De las fracciones eluidas con diclorometano-acetona 94:6 a 9:1, precipitó un sólido amorfo que fue filtrado e identificado como el ácido *p*-hidroxi-cinámico [52] 15 mg, cuyos datos espectroscópicos se describieron previamente.

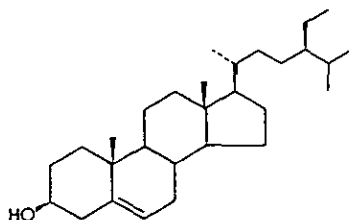
7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

7.1 Elucidación Estructural de los Constituyentes de las Semillas de

Avena fatua

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

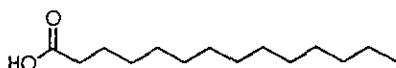
Del extracto hexánico, el componente mayoritario (70%) de menor polaridad corresponde a un sólido amorfo con *pf* 126-7 °C. El espectro de RMN¹H de este compuesto (espectro 1) presenta señales en δ 0.68 - 1.01 de metilos asignables a un esteroil, acorde con la señal múltiple en δ 3.52, que corresponde al hidrógeno geminal a un hidroxilo en C₃, y en δ 5.36 una señal asignada al hidrógeno vinílico H₆ del esteroil. Las señales anteriores muestran una notable similitud con las informadas en la literatura para el β -sitosterol (41)(Aldrich, 1993, 569A), además de la comparación por cromatografía en capa fina con una muestra auténtica obtenida en nuestro laboratorio.



β -sitosterol (41)

La siguiente sustancia aislada fue un aceite de color blanco, cuyo espectro de RMN¹H (espectro 2) muestra una señal triple en δ 2.27 asignable a hidrógenos α a un grupo carbonilo, en δ 1.6 un multiplete correspondiente a un metileno β al carbonilo, en δ 1.29 un singulete asignable a metilenos de una cadena alifática, y

a campo alto en δ 0.90 un triplete que corresponde a un metilo. Esta información permite determinar que se trata de ácidos carboxílicos, presumiblemente el ácido tetradecanoico (42) es predominante (Aldrich 1993, 755C).



Ácido tetradecanoico (42)

En las fracciones eluidas con CH_2Cl_2 -acetona 9:1- 86:14, precipitó un sólido cristalino, el espectro de masas (espectro 3) de este compuesto presenta un ion molecular m/z 330 que está de acuerdo con la fórmula molecular $\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_2$ que corresponde con el pico base. Se observan además pérdidas de 15 unidades correspondientes a metilos.

En el espectro de RMN^{13}C (espectro 4) se observan señales para 17 carbonos, de los cuales uno corresponde a un carbonilo (δ 181.7, 14 son aromáticos y vinílicos (δ 90 - 164) y 2 de metoxilos (δ 56.3).

El espectro de RMN^1H (espectro 5) para este compuesto muestra a campo bajo (δ 12.9) una señal singlete intercambiable con D_2O , asignable al hidrógeno de fenol, sobre el carbono 5 de una flavona, que se encuentra formando un puente de hidrógeno con el oxígeno del carbonilo de la posición 4. En la región de los protones aromáticos se observa una señal simple en δ 7.32 que integra para dos hidrógenos químicamente equivalentes, que por su desplazamiento se asignan a los hidrógenos 2' y 6'. Además se observan en δ 6.2 y 6.4 dos señales dobles ($J=2.1$) asignables a un sistema AB integrado por dos hidrógenos aromáticos en posición meta, que corresponden probablemente a los hidrógenos

H₆ y H₈ de una flavona, adicionalmente en δ 3.88 una señal singulete asignada por su integración a dos metilos unidos a oxígeno.

El patrón de sustitución propuesto se corrobora al observar en el espectro de masas los fragmentos 152 [C₆H₅O₄] Y 178 [C₁₀H₁₀O₃] que corresponden al patrón de fragmentación tipo retro Diels-Alder característico de una flavona, representado en la figura 1, en el cual en uno de los fragmentos puede ocurrir la transferencia de un hidrógeno.

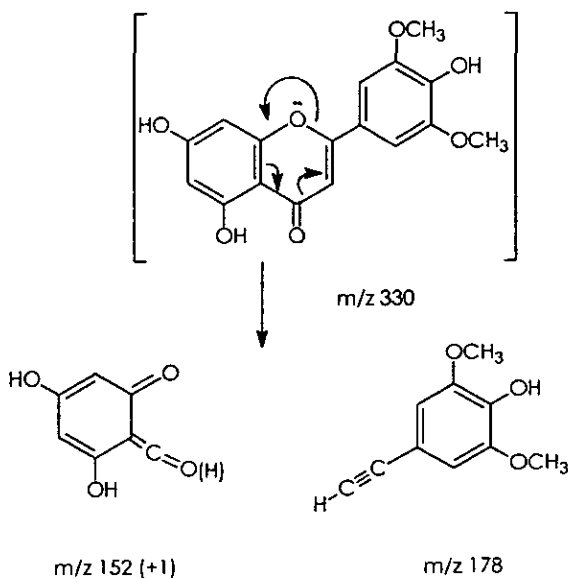
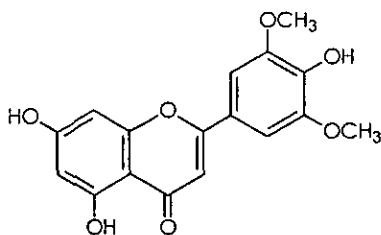


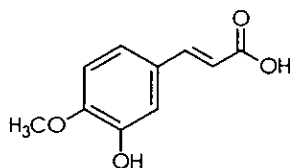
Figura 1

La integración de la información anteriormente descrita y la comparación con los datos espectroscópicos de moléculas análogas permitió establecer la estructura de este compuesto como la 4',5,7-trihidroxi-3',5'-dimetoxi-flavona, tricina (43) (Mabry, 1970).



Tricina(43)

De la fracción G eluida con CH_2Cl_2 -acetona 8:2, mediante cromatografía preparativa en capa fina, se obtuvieron 9.4 g de un sólido blanco, que muestra en su espectro de RMN¹H (espectro δ) a campo bajo, 2 señales dobles de un sistema AB que de acuerdo con su constante de acoplamiento corresponden a protones vinílicos en posición *trans* (δ 7.57 y 6.33 J=15.9) y la presencia de un sistema del tipo ABX en δ : 7.12 (dd, J=8.1, 1.8) Ha; 7.01 (d, J=1.8) Hb y 6.83 (d, J= 8.1) Hx. Adicionalmente, se observa una señal simple asignable a un metilo unido a oxígeno en δ 3.88. Su espectro en el infrarrojo presentó una banda amplia alrededor de 3000 cm^{-1} que corresponde a la presencia de un ácido carboxílico. Estos datos permiten deducir que se trata del ácido 3-hidroxi-4-metoxi-cinámico (44) el cual se diferenció de su isómero el ácido 4-hidroxi-3-metoxi cinámico por su punto de fusión, y la comparación de sus datos espectroscópicos con los informados en la literatura (Aldrich 1993, 1657C).



Acido 3-hidroxi-4-metoxi-cinámico (44)

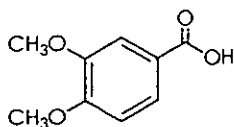
De la fracción H eluida con diclorometano-metanol 9:1, se purificó un sólido amorfo, en cuyo espectro de RMN¹H (espectro 7) se observan señales características de un hidrocarburo (en δ 1.25 - 1.9 señales de 9 metilenos y en δ 0.87 un metilo), una señal adicional en δ 3.91 corresponde a un metileno unido a un oxígeno, lo cual permite determinar que se trata de una mezcla de alcoholes en la que el ampliamente mayoritario es el undecanol (45) (Aldrich 1993, 166B).



Undecanol (45)

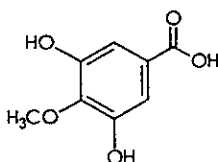
De la fracción B del residuo de hidrólisis (eluida con CH₂Cl₂ 100%), se purificó un sólido blanco, para este compuesto el espectro de RMN¹H (espectro 8) permite observar en δ 3.97 señales correspondientes por su desplazamiento e integración a dos metilos unidos a oxígeno. En la región de los protones aromáticos se encuentran señales correspondientes a un sistema ABX de acuerdo con las siguientes asignaciones: en δ 7.04 (d, J= 8.7, H_x); δ 7.42 (dd, J=8.7, 1.8, H_a) y δ 7.42 (d, J=1.8, H_a), en donde dos de los sustituyentes deben ser los metoxilos previamente descritos. Adicionalmente, se observa una señal simple en δ 9.83 que integra para un protón intercambiable con agua deuterada, que en correspondencia con una señal de carbonilo observada en el espectro de RMN¹³C en δ 190.7, puede asignarse a un ácido carboxílico.

La integración de la información anterior permite determinar la estructura del compuesto como el ácido 3,4-dimetoxi-benzoico(46)(Aldrich 1993, 1110B).



Ácido 3,4-dimetoxi-benzoico (46)

De la fracción C (eluida con CH₂Cl₂-Acetona 98:2) se aisló un sólido amorfo de color blanco, que presenta en su espectro de RMN¹H (espectro 9) señales en la región de los protones aromáticos, en δ 7.26 una señal simple correspondiente a dos hidrógenos, en δ 3.96 se presenta una señal simple asignable a un metoxilo. Adicionalmente, un singlete amplio en δ 5.95 que desaparece al adicionar agua deuterada, se asigna a 3 hidroxilos. Esta información permite determinar la estructura de este compuesto como el ácido 4-*O*-metil-gálico (47)(Aldrich 1993, 434D).



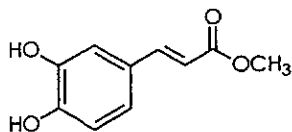
Ácido 4-*O*-metil-gálico (47)

De la fracción D precipitó un sólido cristalino, en cuyo espectro de RMN¹H (espectro 10), se observa una señal simple en δ 3.88 correspondiente a protones de un metilo unido a oxígeno, una señal simple ancha en δ 4.9 que integra para dos protones, misma que se asigna a hidrógenos unidos a oxígeno (2 OH). Dos señales dobles que corresponden a protones vinílicos en posición *trans* se observan en δ 6.30, ($J=16$ Hz) y δ 7.60, ($J=16$ Hz). Adicionalmente, se observa un sistema ABC integrado por las siguientes señales: δ 6.79 (d, $J=1.8$ Hz), δ 7.05 (dd, $J=1.8, 8.1$; H_b) y en δ 7.16 (d, $J=1.8$, H_a).

En el espectro de RMN¹³C (espectro 11) se observan, además de los carbonos correspondientes a los protones anteriormente descritos, una señal correspondiente a un carbonilo en 171 ppm.

La integración de esta información y la comparación con una muestra

auténtica disponible en nuestro laboratorio, permitieron determinar la estructura como el éster metílico del ácido 3,4-dihidroxi-cinámico (**48**) (Aldrich 1993, 1058B).



Ester metílico del ácido 3,4-dihidroxi-cinámico (**48**)

6.2 Elucidación Estructural de los Constituyentes de las Semillas de *Crotalaria pumila*

De la cromatografía del extracto hexánico de las semillas de *Crotalaria pumila* se aisló, de las fracciones eluidas con AcOEt 100% y AcOEt-acetona (95:5) un aceite, cuyo espectro de RMN¹H (espectro 12) presenta en la zona de δ 5.37 - 5.34 un multiplete que integra para 12 protones, que por su desplazamiento químico pueden asignarse a hidrógenos vinílicos. También se observan dos señales dobles de dobles en δ 4.29 y 4.14, mismas que integran para dos hidrógenos cada una, indicando la presencia de cuatro hidrógenos geminales a oxígeno. Estas señales junto con una señal multiple que se observa sobrepuesta en la región de los protones vinílicos, permiten sugerir la presencia de un triglicérido insaturado.

Las constantes de acoplamiento para la señal en δ 4.29 (12 y 4.5 Hz) corresponden al acoplamiento geminal entre H_b y H_c, y al acoplamiento de H_b con H_{a'}, respectivamente. Las constantes de acoplamiento para el doble de doble en δ 4.14 (12 y 6 Hz) corroboran el acoplamiento geminal H_b - H_c, e indican el acoplamiento entre H_c y H_{a'}. Figura 2.

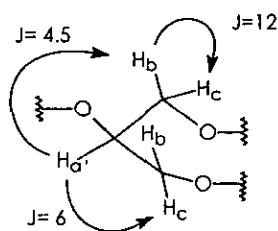


Figura 2

En δ 2.82 y 2.74 se observan 2 triplete sobrepuestos que integran para 6

protones asignados a hidrógenos doblemente alílicos. Esta integración y la presencia de 6 dobles enlaces ya descrita, corrobora la presencia de tres fragmentos como el siguiente (figura 3).

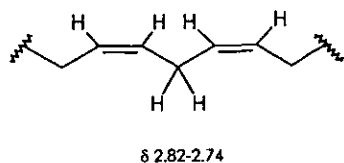
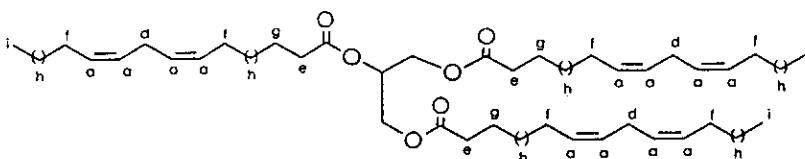


Figura 3

La señal que resuena en δ 2.04 integra para 12 protones, se asigna a los hidrógenos alílicos del fragmento anterior.

En δ 2.31 se encuentra una señal triple que integra para 6 hidrógenos asignables por su desplazamiento químico a 3 metilenos vecinos a grupos carbonilo. Adicionalmente, se observa una señal en δ 1.61 que integra para seis protones correspondientes a hidrógenos en posición β al carbonilo, dos singuletes en δ 1.1- 1.3 que integran para 44 hidrógenos asignados a 22 metilenos de los residuos de ácidos grasos y finalmente, una señal en δ 0.89 que integra para 9 protones que corresponden a 3 metilos terminales de las cadenas de los residuos de los ácidos grasos.

De la integración de la información anterior se deduce que la estructura 49 corresponde a un triglicérido del tipo A altamente insaturado.

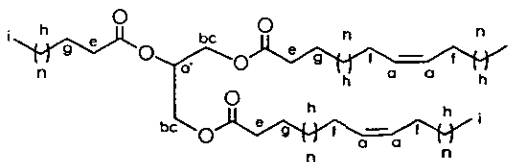


Triglicérido A (49)

Adicionalmente, de la fracción E del extracto hexánico se aisló un sólido blanco que se identificó como β - sitosterol (41), de la misma manera que se describió previamente (página 54).

Del extracto metanólico se aisló, mediante cromatografías sucesivas, el constituyente mayoritario que corresponde al ácido 3,4-dihidroxi-cinámico (48), cuya determinación estructural se describió para *Avena fatua* (página 59).

De la fracción eluida con hexano-acetona (7:3) del extracto metanólico se purificó una sustancia de consistencia aceitosa. En su espectro de RMN¹H (espectro 13) se observa un fragmento análogo al residuo de glicérido del triglicérido A (49), se observan además en δ 5.24 - 5.44 señales correspondientes a cuatro protones vinílicos, en δ 2.32 una señal triple asignable a 3 metilenos α a carbonilo, en δ 2.02 una señal correspondiente a cuatro protones alílicos, la señal en δ 1.62 se asigna a 3 metilenos β a carbonilo, en δ 1.20-1.30 se observan señales correspondientes a 32 metilenos y en δ 0.88 señales que se asignan a tres metilos. La información anterior permite proponer la estructura 50 como un triglicérido del tipo B, el cual tiene menos insaturaciones con respecto a 49 y en la cual la ubicación relativa de las cadenas no está definida.



Triglicérido B (50)

La fracción eluida con hexano-acetona 7:3 del extracto metanólico presentó un constituyente mayoritario que está presente en el residuo de la hidrólisis de las semillas. El espectro de RMN¹H (espectro 14) de esta sustancia presenta señales en la región de 6 y 8 ppm, correspondientes a protones vinílicos y aromáticos, cada señal integra para un protón. Se observa un sistema ABX se integrado por señales centradas en δ 7.85 ($J=9$), δ 6.44 ($J=9$ y 2.1) y δ 6.37($J=2.1$) donde el primer protón se encuentra en posición *orto* al segundo, que a su vez esta en posición *meta* al tercero.

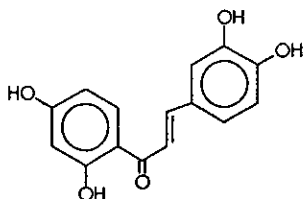
Se presentan también dos señales dobles correspondientes a protones vinílicos, centradas en δ 7.74 y δ 7.48 con una constante de acoplamiento de 15 Hz característica del acoplamiento de hidrógenos de un doble enlace *trans*.

La presencia de otro sistema aromático se hace evidente al observar señales en δ 7.19 (d, $J=2.1$), δ 7.09 (dd, $J=2.1$ y 8.4) y δ 6.86 (d, $J=8.4$). La información que proporcionan las constantes de acoplamiento permite concluir que se trata de otro sistema ABX, semejante al descrito anteriormente.

En el espectro en el infrarrojo de este compuesto se observa una banda amplia alrededor de 3 000 cm^{-1} correspondiente a grupos hidroxilo y una banda aguda en 1 680 que indica la presencia de un grupo carbonilo, mismo que se corrobora al observar en el espectro de RMN¹³ C (espectro 15) una señal en 192.65 ppm.

Mediante la integración de la información anterior y la comparación de los

datos espectroscópicos con los de moléculas análogas, se dedujo que la estructura corresponde a la 2',3,4,4'-tetrahidroxi-chalcona, conocida como buteína (51) (Price, 1939; Namikoshi, 1987).

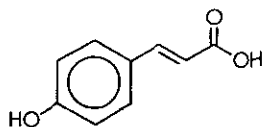


Buteína (51)

El constituyente mayoritario en el residuo de hidrólisis correspondió a un sólido blanco. En su espectro de RMN¹H (espectro 16), se observan dos señales dobles (sistema AB) que integran para un protón cada una, con desplazamientos δ 7.59 y δ 6.26 con una constante de acoplamiento de 16 asignables a hidrógenos vinílicos en posición *trans*.

Adicionalmente, se observan señales correspondientes a un sistema A₂B₂ localizadas en δ 7.42 y δ 6.79 que integran para dos protones cada una y tienen una constante de acoplamiento de 8.7 Hz, las cuales, son asignadas a protones aromáticos simétricos con acoplamiento *orto*.

Una banda ancha observada en el espectro en el infrarrojo, para esta sustancia entre 2700 y 3000 cm⁻¹ indicó la presencia de un hidroxilo de ácido, y una banda aguda en 1680 cm⁻¹ indicó la presencia de un grupo carbonilo. La integración de la información permite identificar este compuesto como el ácido *p*-hidroxi-cinámico(52), mismo que se comparó con una muestra auténtica disponible en nuestro laboratorio.



Ácido 4-hidroxi-cinámico (52)

Además se obtuvo un sólido cristalino que precipitó. El espectro de RMN¹H de esta sustancia (espectro 17) presenta señales correspondientes a dos sistemas ABX, el primero integrado por las señales centradas en δ 7.95 ($J=9$), δ 6.94 ($J= 2.1$) y δ 6.91 ($J= 9, 2.1$), y el segundo sistema ABX esta formado por las señales en δ 7.39 ($J= 8.7, 2.1$), δ 7.38 ($J= 2.1$) y δ 6.89 ($J= 8.7$). En δ 6.6 se observa una señal simple asignable a un hidrógeno vinílico.

En el espectro de RMN¹³C de este compuesto (espectro 18) se observan señales correspondientes a 15 carbonos, de los cuales uno corresponde a un carbonilo (δ 180), cinco a carbonos de un sistema aromático unidos a oxígeno y el resto a carbonos aromáticos y vinílicos. En el espectro de masas (espectro 19) se observa el ion molecular en m/z 270, que corresponde al pico base. Integrando esta información con la anterior se asigna la fórmula molecular de C₁₅H₁₀O₃ para este compuesto que debe ser una flavona. Adicionalmente se observa en el espectro de masas M-28 correspondientes a la pérdida de CO de la molécula y dos fragmentos de 136 (C₈H₅O₃) y 134 (C₈H₆O₂) que corresponden a la fragmentación tipo retro Diels Alder (Markham, 1994), en la cual en el primer fragmento puede ocurrir la transferencia de un hidrógeno (Figura 4).

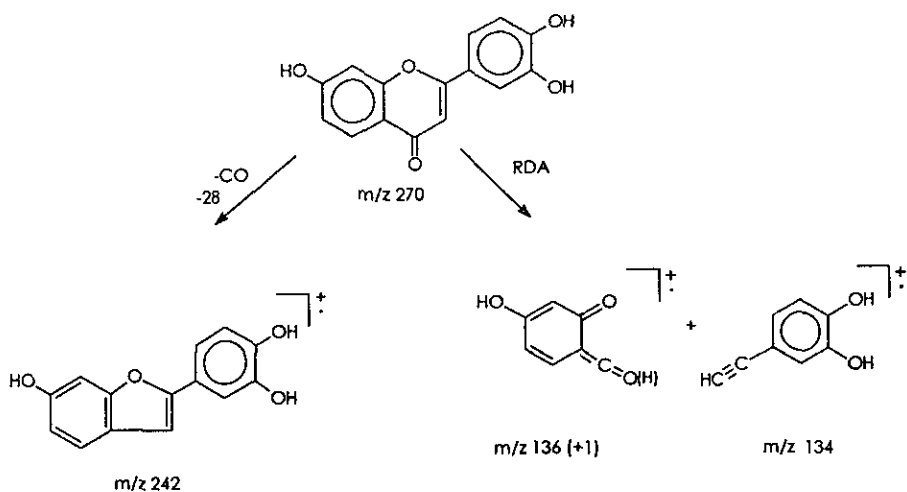
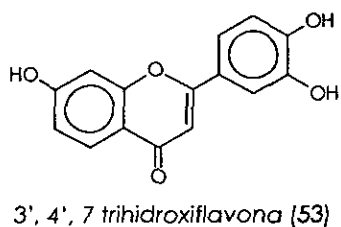


Figura 4.- Fragmentos observados en el espectro de masas para la 3',4', 7 trihidroxiflavona

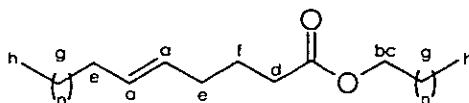
La determinación del patrón de sustitución se realizó por comparación de los datos espectroscópicos con el de moléculas análogas, determinándose la estructura de este compuesto como la 3',4',7-trihidroxi-flavona (53) (Livingston, 1964).



7.3 Elucidación Estructural de los Constituyentes de las Semillas de

Polygonum aviculare

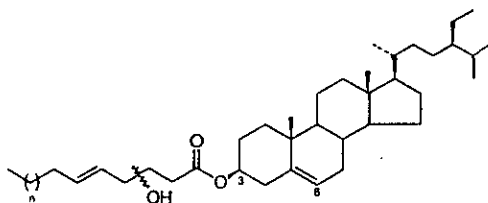
Del extracto de hexano de las semillas de *Polygonum aviculare*, de las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (98:2) se purificaron dos compuestos. El espectro de RMN¹H del compuesto de menor polaridad (espectro 20) presenta señales que corresponden a hidrógenos vinílicos en δ 5.35 (H_d), señales que evidencian la presencia de un éster, en δ 4.05 un triplete asignado a un metileno cuyos hidrógenos se encuentran geminales a oxígeno (H_{bc}) y en δ 2.28 un triplete correspondiente a un metileno α a carbonilo (H_d). En δ 2.01 se observa una señal que corresponde presumiblemente a hidrógenos alílicos (H_e), en δ 1.61 una señal multiplete puede ser asignada a hidrógenos en posición beta al grupo carbonilo (H_f), en δ 1.25 una señal amplia que debe corresponder a metilenos (H_g) y en δ 0.8 se encuentran señales asignadas a metilos (H_h). Considerando los datos anteriores se puede determinar que se trata de una mezcla de ésteres del tipo de una cera 55, sin especificar la longitud exacta de cada una de las cadenas alifáticas ni la localización del doble enlace.



Cera (55)

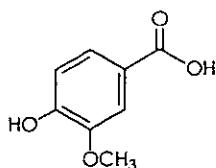
En el espectro de RMN¹H del segundo compuesto (espectro 21), se observan señales en δ 0.67 a 1.02 correspondientes a metilos, las cuales se pueden asignar a la estructura de un esteroide. Esta hipótesis se corrobora con la señal centrada en δ 4.06 que corresponde al hidrógeno geminal del éster en C₃ y la

señal en δ 5.40 que se puede asignar al hidrógeno vinílico H₆ del estero. Adicionalmente se observa una señal en δ 2.30 asignable a un metileno α a un carbonilo, entre δ 1.2-2.0 señales que se asignan a los metilenos del éster y del estero. En δ 4.05 una señal que por su desplazamiento puede corresponder a un hidrógeno geminal a un oxígeno. Y en δ 6.43 señales correspondientes a hidrógenos vinílicos. Del análisis anterior se puede deducir que la estructura corresponde presumiblemente un éster graso insaturado de β -sitosterol del tipo 54.



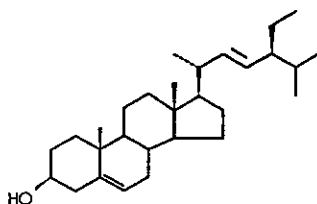
Éster graso de β sitosterol (54).

De la fracción D del extracto hexánico se aislaron dos sustancias, el espectro de RMN¹H de la primera (espectro 23) muestra a campo bajo una señal simple (δ 9.83) que desaparece al adicionar agua deuterada y se asigna a un hidroxilo de ácido. Un sistema ABX integrado por una señal doble de doble en δ 7.43 (H_A, J_{AX}= 8.4, J_{AB}= 1.8), un doblete en δ 7.42 (H_B, J_{AB}= 1.8), y una señal doble en δ 7.04 (H_X, J_{AX}= 8.4). En δ 6.24 un singulete ancho correspondiente al hidrógeno de un hidroxilo y a campo alto en δ 3.97 una señal singulete asignada a un metilo unido a oxígeno. Las señales anteriores corresponden al ácido 3-metoxi, 4-hidroxi-benzoico (57) (Aldrich 1993, 1116A).



Ácido 3-metoxi-4-hidroxi-benzoico (57)

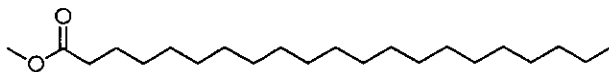
De la misma fracción se aisló adicionalmente una mezcla de esteroides, correspondiente a β -sitosterol (41), cuya elucidación estructural se discutió previamente (página 54). Dos señales adicionales (dobles de dobles) centradas en δ 5.01 y δ 5.15, permitieron caracterizar el segundo componente de la mezcla como estigmasterol (56) (Aldrich 1993, 569A).



Estigmasterol (56)

En la fracción G del extracto hexánico el constituyente mayoritario fue una sustancia de consistencia aceitosa que en su espectro de RMN¹H (espectro 24) presenta señales que corresponden al éster metílico de un ácido graso, de acuerdo con las siguientes evidencias. En δ 3.66 se observa una señal asignable por su desplazamiento e integración a un metilo de éster; en δ 2.30 una señal triple característica de un metileno en posición α a carbonilo y en δ 1.60 la señal de un metileno β a carbonilo. Una señal que integra aproximadamente para 34 hidrógenos, corresponde a 17 metilenos de la cadena alifática del éster, y

finalmente, una señal doble a campo alto se asigna a un metilo terminal. Estos datos permiten concluir que se trata de una mezcla de ésteres, en la que el componente mayoritario es el éster metílico del ácido heneicosanoico(58)



Ester metílico del ácido heneicosanoico(58)

De este mismo fraccionamiento se purificó un compuesto que corresponde al ácido 3-hidroxi-4-metoxi-cinámico (44), cuya elucidación estructural se describió previamente.

Además de estas fracciones precipitó un sólido amorfo, identificado como el ácido *p*-hidroxi-cinámico (51), la determinación de su estructura se discutió en párrafos anteriores.

7.4.- El perfil estructural de los metabolitos secundarios de las semillas de las plantas arvenses analizadas

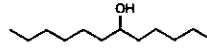
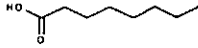
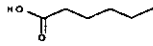
El estudio de los constituyentes químicos de las semillas de las plantas arvenses analizadas mediante el análisis fitoquímico convencional y por cromatografía de gases-espectrometría de masas, permitió la identificación de aproximadamente 150 metabolitos secundarios, que se incluyen en la tabla 1 del anexo 1. Estos metabolitos se clasificaron empleando como criterio su estructura molecular en 8 grupos, que incluyen ácidos grasos de cadena corta (hasta C₁₀), lípidos poco funcionalizados (se incluyen ácidos grasos de cadena larga), glicéridos, terpenoides, esteroides, fenilpropanoides, flavonoides y sacáridos (figura 5).

Una vez establecidos los 8 grupos estructurales, se revisó la frecuencia de cada uno (tabla 17).

La determinación de los grupos funcionales que podrían contribuir en la sobrevivencia de las semillas en el suelo, se realizó de acuerdo con las funciones de estos compuestos o sus análogos que han sido previamente descritas, las cuales se mencionan en el anexo 2.

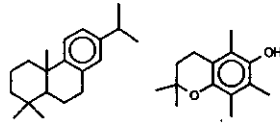
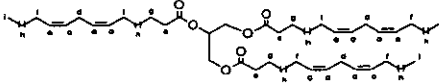
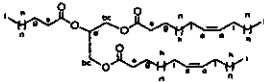
De acuerdo con esta información, se puede considerar que con excepción de los glicéridos, el resto de los grupos estructurales representados, puede contribuir en la sobrevivencia de las semillas en el suelo. La incidencia de los metabolitos se puede observar en la gráfica 4.

Se observa que la correlación entre los metabolitos reportados para las especies *A. fatua*, *Crotalaria pumila* y *P. aviculare*, y los aislados en el presente trabajo es muy baja, esto podría explicarse por las diferencias ontológicas y fenológicas de las poblaciones en estudio, las cuales definen en cada población, la producción de los metabolitos secundarios, aunque esta definición es aún desconocida.



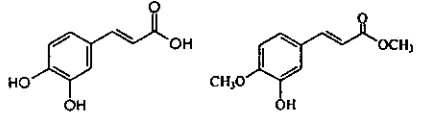
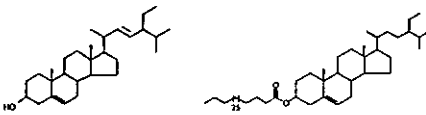
Ácidos grasos (cc)

Lípidos poco funcionalizados



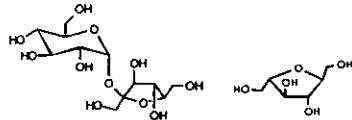
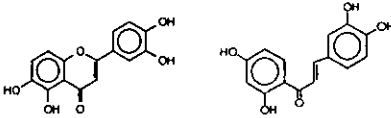
Glicéridos

Terpenoides



Esteroles

Fenilpropanoides



Flavonoides

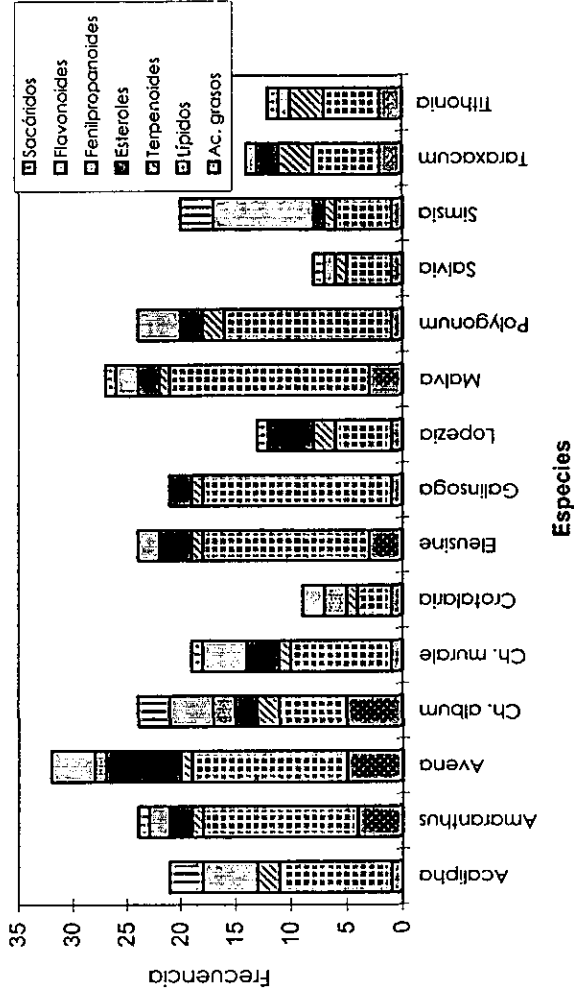
Sacáridos

Figura 5.- Clasificación de los metabolitos secundarios identificados en las semillas de las plantas arvenses estudiadas.

Especie	Ac. grasos (cc)	Lípidos	acilglícéridos	Terpenoides	Esteroles	Flavonoides	Fenilpropanoides	Sacáridos
<i>A. indica</i>	1	10	0	2	0	0	5	3
<i>A. hybridus</i>	4	14	2	1	2	0	2	1
<i>A. fatua</i>	5	14	0	1	7	1	4	0
<i>Ch. album</i>	5	6	2	2	2	2	4	3
<i>Ch. murale</i>	1	9	0	1	3	0	4	1
<i>C. pumila</i>	1	3	2	1	0	2	2	0
<i>E. multiflora</i>	3	15	2	1	3	0	2	0
<i>G. parviflora</i>	1	17	0	1	2	0	0	0
<i>L. racemosa</i>	1	5	1	2	4	0	0	1
<i>M. parviflora</i>	3	18	3	1	2	0	2	1
<i>P. aviculare</i>	1	15	0	2	2	0	3	0
<i>S. tiliaefolia</i>	1	4	2	1	0	0	1	1
<i>S. amplexicaulis</i>	1	5	2	1	1	0	9	3
<i>T. officinale</i>	2	6	5	3	2	1	0	0
<i>T. tubaeformis</i>	2	5	3	3	0	0	1	1

Tabla 17.- Frecuencia de metabolitos secundarios en las semillas de las plantas arvenses estudiadas (ver tabla 1 y anexo 1)

Frecuencia de los Metabolitos Secundarios Presentes en las Semillas de Plantas Arvenses



Gráfica 5.- Especies analizadas químicamente en el presente trabajo: *Avena fatua*, *Crotalaria pumila*, *Polygonum aviculare*, Cruz C.(1996); *Ch. murale*, *M. parviflora*, *M. multiflora*, *S. tiliaceifolia*, Castro N.(1995); *Lopezia racemosa*, Estrada A.(1997); *Galinsoga parviflora*, Salinas D. y Valladares, G.(1996); *Amaranthus hybridus*, *Taraxacum officinale*, *Tithonia tubaeformis*. Cano, A.(1996); *Acalypha indica*, Alvarez, L.(1996); *Ch. album*.

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

Para cuantificar la diversidad estructural de los metabolitos secundarios se empleó el índice de diversidad de Shannon (Smith, 1980), el cual indica la diversidad de especies en una población, a partir del número de individuos de cada especie. Si consideramos a cada grupo estructural como una especie, y el número de diferentes metabolitos identificados que corresponden a cada grupo como el número de individuos, entonces el índice de diversidad de Shannon puede ser una medida para la cuantificación de la diversidad estructural de los productos naturales. A continuación se describe la fórmula, a partir de la cual se calcularon dichos índices:

$$H' = - \sum_{i=1}^s P_i (\log P_i)$$

En donde :

H' es el índice de diversidad

s es el número de grupos estructurales presentes

i es el número de especies (o grupos estructurales).

P es una fracción decimal del total de individuos de cada grupo

Entre mayor sea el valor de H', mayor es la diversidad.

Por ejemplo para *Acalypha indica* fueron caracterizados cinco grupos estructurales representados (s=5), como el número total de compuestos es 21 (que representa la unidad) la fracción decimal P para ácidos grasos es 0.47, lípidos 0.476, terpenoides 0.095, flavonoides 0.238 y sacáridos 0.142. , las operaciones realizadas se ilustran en la siguiente tabla

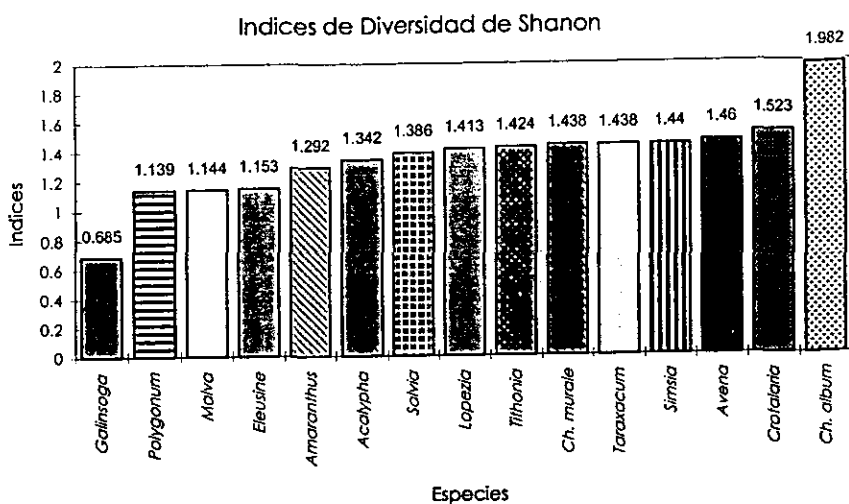
	# compuestos	Pi	ln Pi	Pi (ln Pi)
Ac. grasos	1	0.047	-3.057	-0.143
Lípidos	10	0.476	-0.742	-0.353
Terpenoides	2	0.095	-2.353	-0.223
Flavonoides	5	0.238	-1.435	-0.341
Fenilpropanoides	3	0.142	-1.951	-0.277
				-Σ= 1.342

Tabla 18.- Cálculo del índice de diversidad de Shannon para *A. indica*.

Los resultados para las 15 especies se observan en la tabla 19 y en la gráfica 6.

Especies	Índice de diversidad	Especies	Índice de diversidad
<i>A. indica</i>	1.342	<i>L. racemosa</i>	1.413
<i>A. hybridus</i>	1.292	<i>M. parviflora</i>	1.144
<i>A. fatua</i>	1.46	<i>P. aviculare</i>	1.139
<i>Ch. album</i>	1.982	<i>S. tiliacifolia</i>	1.386
<i>Ch. murale</i>	1.438	<i>S. amplexicaulis</i>	1.44
<i>C. pumila</i>	1.523	<i>T. officinale</i>	1.438
<i>E. multiflora</i>	1.153	<i>T. tubaeformis</i>	1.424
<i>G. parviflora</i>	0.685		

Tabla 19.- Índices de diversidad de Shannon de metabolitos secundarios para las plantas arvenses estudiadas.

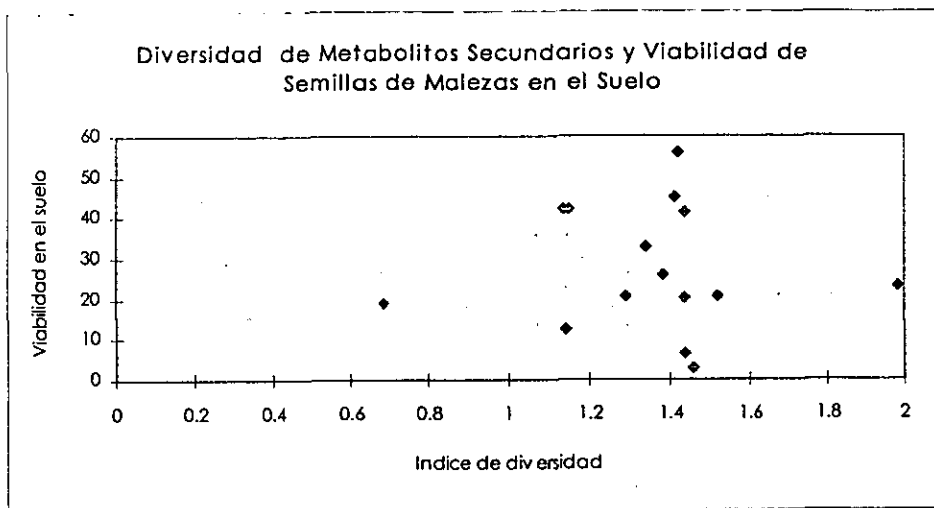


Gráfica 6.- Índices de diversidad de Shannon de las semillas de plantas arvenses

Una vez obtenidos los índices de diversidad para las 15 especies se determinó la correlación que existe entre los índices de diversidad y la viabilidad de las semillas.

En la gráfica 7 se observa que no existe una tendencia en el comportamiento de los datos, esto se comprueba al calcular el coeficiente de correlación (-0.029).

También se revisó si hay correlación entre la riqueza de metabolitos aislados e identificados y la permanencia de las semillas, pero los resultados mostraron que no existe tal correlación (coeficiente de correlación 0 -0.039).



Gráfica 7.- Correlación entre la diversidad de metabolitos secundarios y la viabilidad de las semillas en el suelo.

Los resultados sugieren que el número de metabolitos secundarios no es determinante para la defensa de las semillas (prolongando el tiempo que estas permanecen viables en el suelo), ya que existen otros mecanismos de defensa (morfológica, fenológica, de asociación, tolerancia) y algunos metabolitos secundarios podrían tener otras funciones diferentes a la defensa (como adaptación al medio por ejemplo). Sin embargo, existen experimentos cuyos resultados sugieren que la presencia de metabolitos secundarios puede ser benéfica a las semillas al desacelerar la colonización inicial por la edafobiota. Este beneficio es directamente proporcional a la concentración (Bonfil, 1995). Además, una alta diversidad de metabolitos secundarios puede representar una ventaja, ya que evolutivamente es más fácil superar uno o dos metabolitos secundarios que una mezcla más compleja, es posible que muchas de las

substancias que contribuyen a la diversidad puedan ser útiles en la defensa contra nuevos depredadores (Berenbaun, 1996).

Otro aspecto importante es la bioactividad múltiple de los metabolitos. La presencia de metabolitos secundarios con bioactividad de amplio espectro, disminuye la necesidad de contar con numerosos compuestos, ya que con la presencia de unos pocos muy activos, se consigue el mismo efecto. La determinación de la bioactividad de los compuestos debe considerar todos los blancos posibles y el contexto ecológico en el que actúan. debido a esto resulta difícil predecir cuales son las especies mejores defendidas considerando como parámetro de referencia los metabolitos secundarios presentes.

Los perfiles de los metabolitos secundarios obtenidos presentan una alta variación interespecífica, los metabolitos comunes a varias especies son muy pocos. De los 151 metabolitos identificados únicamente el 7.94% están presentes en al menos 5 especies, el β -sitosterol (41) y el 2,4-decadienal (105) fueron los compuestos presentes en el mayor número de especies. Entre los metabolitos que presentan una distribución más específica y se comparten en al menos 5 especies están el 2,6,10,15,19,23-hexametiltetracosano (146), 3 fenil propanoides (48, 80,52), estigmasterol (56), ácido hexadecanoico (126), octadecano (122), ácido nonanoico (117) y ácido 9,12-octadecadienoico (17) (Tabla 20) lo que evidencia que la defensa química en las semillas de las plantas arvenses analizadas es muy diversa.

Metabolitos Secundarios	Especies en las que se identificó su presencia en semillas
β -sitosterol (41)	<i>A. indica</i> , <i>A. fatua</i> , <i>Ch. album</i> , <i>C. pumila</i> , <i>E. multiflora</i> , <i>G. parviflora</i> , <i>L. racemosa</i> , <i>M. parviflora</i> , <i>P. aviculare</i> , <i>S. tiliaefolia</i> , <i>T. officinale</i> , <i>T. tubaeformis</i>
2,4-decadienal (105)	<i>A. indica</i> , <i>A. hybridus</i> , <i>Ch. album</i> , <i>Ch. murale</i> , <i>G. parviflora</i> , <i>L. racemosa</i> , <i>M. parviflora</i> , <i>S. tiliaefolia</i> , <i>T. officinale</i> , <i>T. tubaeformis</i>
2,6,10,15,19,23-hexametil tetracosano (146)	<i>Ch. album</i> , <i>Ch. murale</i> , <i>G. parviflora</i> , <i>L. racemosa</i> , <i>M. parviflora</i> , <i>P. aviculare</i>
Ácido 3, 4-dihidroxicinámico (48)	<i>A. indica</i> , <i>A. hybridus</i> , <i>A. fatua</i> , <i>Ch. album</i> , <i>C. pumila</i> , <i>T. tubaeformis</i>
Ácido 3-metoxi-4-hidroxi-cinámico (80)	<i>A. indica</i> , <i>Ch. album</i> , <i>Ch. murale</i> , <i>E. multiflora</i> , <i>S. amplexicaulis</i>
Ácido 4-hidroxi-cinámico (52)	<i>Ch. murale</i> , <i>C. pumila</i> , <i>M. parviflora</i> , <i>P. aviculare</i> , <i>S. amplexicaulis</i>
Estigmasterol (56)	<i>A. indica</i> , <i>A. hybridus</i> , <i>Ch. album</i> , <i>Ch. murale</i> , <i>G. parviflora</i>
Ácido hexadecanoico (126)	<i>A. hybridus</i> , <i>A. fatua</i> , <i>E. multiflora</i> , <i>G. parviflora</i> , <i>M. parviflora</i>
Octadecano (122)	<i>A. hybridus</i> , <i>A. fatua</i> , <i>Ch. album</i> , <i>E. multiflora</i> , <i>P. aviculare</i>
Ácido nonanóico (117)	<i>A. hybridus</i> , <i>A. fatua</i> , <i>Ch. album</i> , <i>E. multiflora</i> , <i>M. parviflora</i>
Ácido cis, cis-9,12-octadecadienoico (17)	<i>E. multiflora</i> , <i>M. parviflora</i> , <i>S. tiliaefolia</i> , <i>S. amplexicaulis</i> , <i>T. officinale</i>

Tabla 20.- Metabolitos secundarios más frecuentes en las especies de semillas de plantas arvenses analizadas. Se resalta con sombreado la presencia de fenilpropanoides.

En un estudio sobre semillas de plantas nativas de Gran Bretaña, se encontró que la concentración de los *orto* hidroxifenoles contribuye en la sobrevivencia de las semillas en el suelo (Hendry, G. 1994). Debido a la falta de

información suficiente para calcular la concentración de estos compuestos en todas las especies analizadas, se trató de ver si al menos existía alguna correlación entre el número de *orto* hidroxi fenoles y fenoles, y la sobrevivencia de las semillas arvenses. Existen 2 especies en las que no se identificaron estos compuestos *G. parviflora* y *L. racemosa*, sin embargo, la sobrevivencia de éstas es media y alta respectivamente, lo que probablemente indique la contribución de otros compuestos en la defensa química. En *A. fatua* una de las especies con menor grado de sobrevivencia, se identificaron 4 *orto*-hidroxi fenoles, lo que no correlaciona con los resultados obtenidos por Hendry. En el resto de las especies analizadas sólo para 4 o 5 existe una correlación evidente entre el número de fenoles y su sobrevivencia, por lo que es importante conocer las concentraciones, no solo para estos compuestos, sino para todos, ya que el concepto de riqueza química puede considerar el número de metabolitos secundarios y además su concentración.

# fenoles	Especies	# <i>orto</i> fenoles	Especies
0	<i>G. parviflora</i> , <i>L. racemosa</i>	0	<i>G. parviflora</i> , <i>L. racemosa</i>
1	<i>S. tiliacifolia</i> , <i>T. tubaeformis</i> , <i>T. officinale</i>	1	<i>M. parviflora</i> , <i>S. tiliacifolia</i> , <i>T. tubaeformis</i> , <i>T. officinale</i>
2	<i>A. hybridus</i> , <i>E. multiflora</i> , <i>M. parviflora</i>	2	<i>A. hybridus</i> , <i>Ch. album</i> , <i>Ch. murale</i> , <i>E. multiflora</i> , <i>P. aviculare</i>
3	<i>P. aviculare</i>	3	<i>A. indica</i> , <i>C. pumila</i> , <i>S. amplexicaulis</i>
4	<i>A. fatua</i> , <i>Ch. album</i> , <i>Ch. murale</i> , <i>C. pumila</i> , <i>S. amplexicaulis</i>	4	<i>A. fatua</i>
5	<i>A. indica</i>		

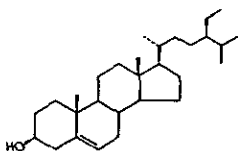
Tabla 21.- Frecuencia de fenoles en las semillas de algunas plantas arvenses

Los resultados tienden a apoyar la hipótesis de Jones y Firn que considera que una planta que tenga un número moderado de metabolitos secundarios (en estructura y número) con un amplio espectro de bioactividad es capaz, mediante este mecanismo de estar mejor defendida (Jones, 1991 en Espinosa-García y Delgado, 1998).

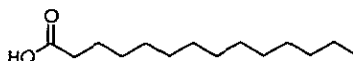
8. CONCLUSIONES

- Se obtuvieron los perfiles químicos de las semillas de tres especies de plantas arvenses: *Avena fatua*, *Crotalaria pumila* y *Polygonum aviculare*.
- El análisis fitoquímico convencional permitió el aislamiento de los siguientes productos naturales:

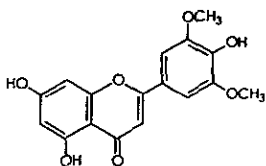
De *Avena fatua*:



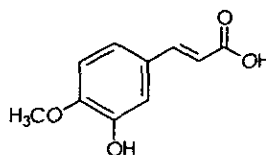
β -sitosterol (41)



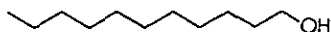
Ácido tetradecanoico (42)



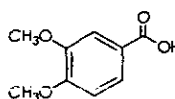
Tricina(43)



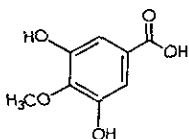
Ácido 3-hidroxi-4-metoxi-cinámico (44)



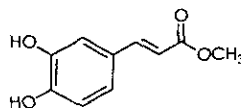
Undecanol (45)



Ácido 3,4-dimetoxi-benzoico (46)

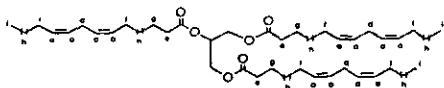


Ácido 4-O-metil-gálico (47)

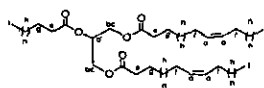


Ester metílico del ácido 3,4-dihidroxi-cinámico (48)

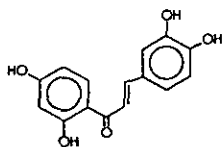
de *Crotalaria pumila*:



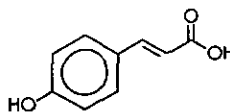
Triglicérido A (49)



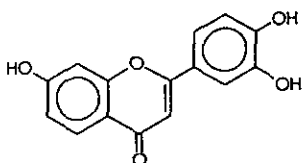
Triglicérido B (50)



Buteína (51)



Ácido 4-hidroxi-cinámico (52)

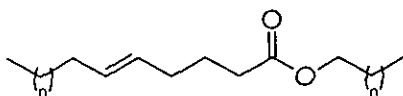


3', 4', 7 trihidroxiflavona (53)

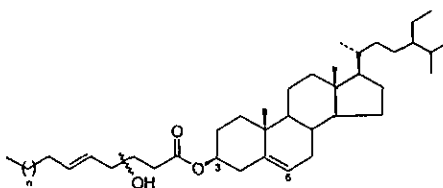
Ácido 3,4-dihidroxi-cinámico (48)

β -sitosterol (41)

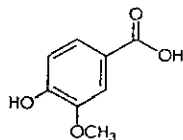
De *Polygonum aviculare*:



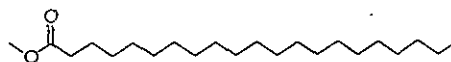
Cera (54)



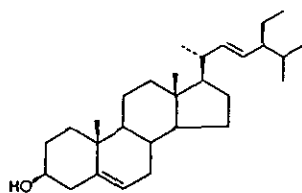
Éster lipídico de β sitosterol (55)



Ácido 3-metoxi-4-hidroxi-benzoico (57)



Ester metílico del ácido heneicosanoico (58)



Estigmasterol (56)

Ácido 3-hidroxi-4-metoxi-cinámico (44)

Ácido *p*-hidroxi-cinámico (52)

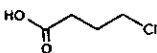
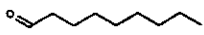

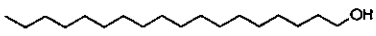
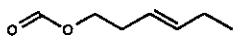
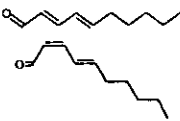
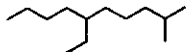
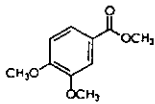
β -sitosterol (41)

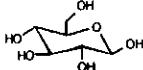
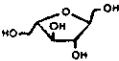
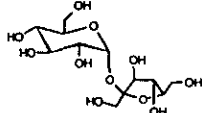
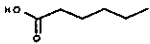


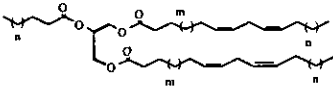
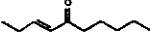

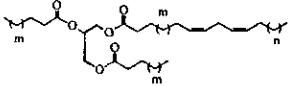
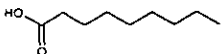

- La integración de la información obtenida de los perfiles químicos en las semillas de las 15 especies de plantas arvenses permitió determinar su relación con la permanencia de las semillas viables en el suelo.
- El comportamiento del sistema generó resultados que apoyan la hipótesis de que una planta puede estar bien defendida, aún con una cantidad moderada de metabolitos secundarios. Probablemente estos tengan un amplio espectro de bioactividad incrementando así la eficiencia.
- En las especies analizadas no existe una correlación entre la diversidad de metabolitos secundarios y la permanencia de sus semillas en el suelo.
- La defensa química en las semillas de las plantas arvenses analizadas es muy diversa.

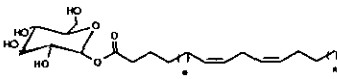

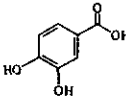

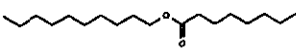
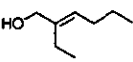
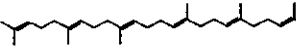
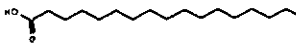
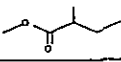
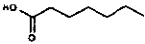
PERSPECTIVAS

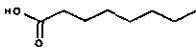
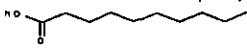

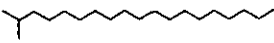

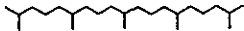

- En un análisis posterior sobre la diversidad de los metabolitos secundarios se deben considerar las concentraciones en las que están presentes los metabolitos secundarios, incluyendo así en el concepto de diversidad tanto la presencia como la concentración.
- Es pertinente la búsqueda y aplicación de un bioensayo que permita evaluar directamente la contribución de los metabolitos aislados en la defensa de las semillas (incluyendo la concentración) lo que puede conducir a una mejor ponderación del potencial de los metabolitos secundarios aislados en el presente trabajo.

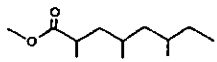
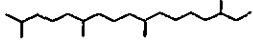
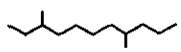
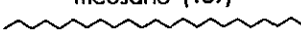
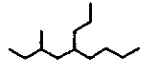
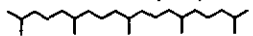
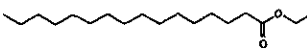
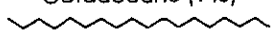
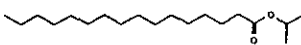
Tabla 1.- Metabolitos Secundarios Identificados en las Semillas de 15 especies de Plantas Arvenses

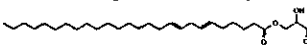

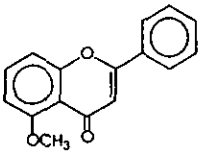
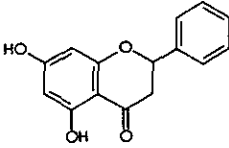
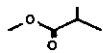


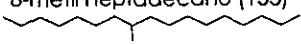

Especie	Metabolitos	
	Análisis convencional	CG-EM (Presente trabajo)
<i>Acalypha indica</i> (Cano, A. 1997)	Mezcla de alcoholes	Acido 4-cloro butanoico (100) 
	Ac. tetradecanoico (42)*	Nonanal*(101) 
	Ac. <i>cis</i> 9-octadecenoico *(16)	2-metil, 2-tetrahidrofuranol (102) 
	Octadecanol (103) 	Formiato de 3-hexen-1-ol (104) 
	β -sitosterol (41)*	2,4-Decadienal (105) 
	Estigmasterol (56)*	6- etil, 2- metil decano (106) 
	Ester metílico del ácido 4- hidroxi benzoico (84)	
	Acido 3-metoxi, 4-hidroxi cinámico(80)	
	Acido 3,4- dihidroxi cinámico (48)	
	Ester metílico del ácido 3,4- dimetoxi benzoico (107) 	


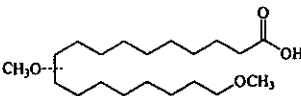
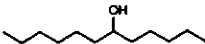

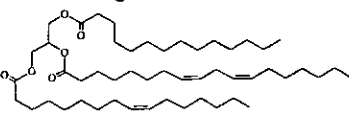
	Acido cinámico (82)	
	Glucosa (97) 	
	Fructosa (108) 	
	Sacarosa (98) 	
<i>Amaranthus hybridus</i> (Salinas, G. y Valladares, D. 1996)	Decano (109)	Acido hexanoico (110) 
	3,7-undecadieno (111) 	2-decenal* (112) 
	Triglicérido (113) 	3-Decen, 5-ona (114) 
	Ester etílico de un ácido graso (115) 	2,4-Decadienal (105)
	Triglicérido (116) 	Acido nonanoico (117) 
	Estigmasterol (56)	2-Undecenal (118) 


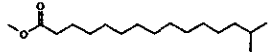
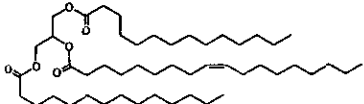
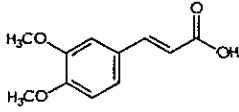


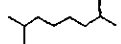
	<p>Acil glucósido (119)</p> 	<p>Derivado del ascaridol (120)</p> 
	<p>Acido 3, 4- dihidroxi benzoico (121)</p> 	<p>Octadecano (122)</p> 
	<p>Acido 3,4-dihidroxi cinámico (48)</p>	<p>Ester decílico del ácido decanoico (123)</p> 
		<p>Tritetracontano C₄₃ H₈₈</p>
		<p>2- etil, 2- hexen, 1- ol (124)</p> 
		<p>2,6,10,15,19,23-hexametil- 2,6,10,14,18,22- Tetracosahexaeno (125)</p> 
		<p>Acido 4-cloro- butanoico (100)</p>
		<p>Acido hexadecanoico (126)</p> 
		<p>Ester metílico del ácido 2- metil propanoico (127)</p> 
		<p>2-metil, 2-tetrahidrofuranol (102)</p>
<p><i>Avena sativa</i> (Presente trabajo)</p>	<p>β sitosterol (41)</p>	<p>Acido hexanoico (110)</p>
	<p>Acido 3-hidroxi-4-metoxi-cinámico (44)</p>	<p>Acido heptanoico (128)</p> 

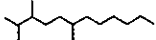
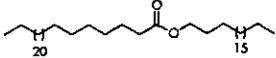
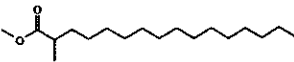



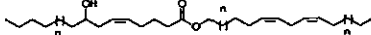

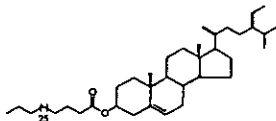
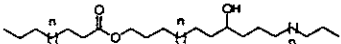
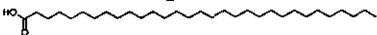
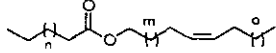
	Ester metílico del ácido 3, 4- dihidroxi cinámico (48)	Acido octanonoico (127) 
	Acido tetradecanoico (42)	Acido nonanoico (117)
	Undecanol (45)	Acido decanoico (130) 
	Ácido 3,4-dimetoxi-benzoico (46)	Octadecano (131) 
	Ácido 4-metoxi-gálico (47)	2-metil nonadecano (132) 
	Tricina (43)	Ester decílico del ácido decanoico (123)
		Acido hexadecanoico (126)
		Heptacosano (133) 
		2,5,24-trimetil tetracontano Oleato de un glicérido
		2,6,10,14,18-pentametil eicosano (134) 
		Tetraterpeno lineal (pm 534)
		Diterpeno lineal (pm 246)
		Triterpeno lineal (pm 462)
		Triterpeno lineal (pm 436)
		Hidrocarburo ramificado
		Tetracontano
		2,8-dimetil undecano (135) 

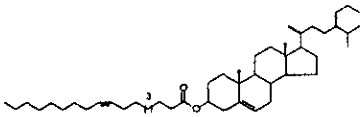
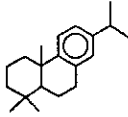
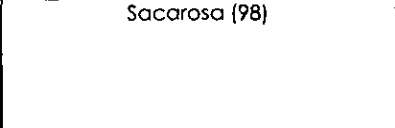
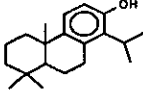
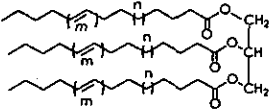

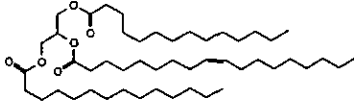

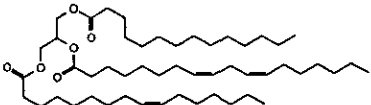
		Ester metílico del ácido 2,4,6-trimetil nonanoico (136)	
		2,6,10,15-tetrametil heptadecano (137)	
		3,8-dimetil undecano (138)	
		Tricosano (139)	
		3-metil-5-propil nonano (140)	
		2,6,10,14,18-pentametil eicosano (141)	
<i>Ch. album</i> (Alvarez, L. 1997)	Sacarosa (98)	2(3H)- dihydro furanona (102)	
	Glucosa (97)	Acido hexanoico (110)	
	Fructosa (107)	Acido octanoico (129)	
	Acido 3-metoxi, 4-hidroxi cinámico (80)	Ester etílico del ácido hexadecanoico (142)	
	Acido 3,4- dihidroxi cinámico (48)	Octadecano (143)	
	Acido cinámico (82)	Acido nonanoico (117)	
	Triglicéridos	Ester isopropílico del ácido hexadecanoico (144)	

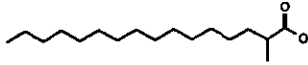
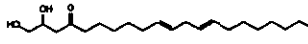
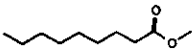

	β -sitosterol (41)	Monoglicérido (145) 
	Estigmasterol (56)	2,6,10,15,19,23-hexametil tetracosano (146) 
	Hispidulina (147) 	Acido 4- clorobutanoico (100)
	Pinocembrina (147) 	2-metil, 2-tetrahidrofuranol (102)
	Ester metílico del ácido 4- metoxi benzoico (84)	Ester metílico del ácido 2- metil propanoico (149) 
		2, 6, 10, 15, 19, 23 - hexametil - 2, 6, 10, 14, 18, 22 - Tetracosahexaeno (125)
		2,4-Decadienal (105)
<i>Chenopodium murale</i> (Cruz, C. 1996)	Hentriacontano (151) 	Acido 4- cloro butanoico (100)
	Hentriacontanol (152) 	8-metil heptadecano (153) 
	Estigmasterol (56)	6,10,14-trimetil -2- Pentadecanona (154) 

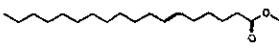

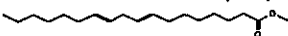

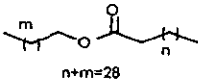

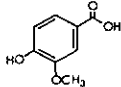
	Acido 3-hidroxi, 4-metoxi cinámico (44)	2,6,10,15,19,23-hexametil tetracosano (146)
	Acido 4-hidroxi cinámico (52)	Triacotano (155) 
	Sacarosa (98)	2,4-Decadienal (105)
	Acido 3-metoxi, 4-hidroxi cinámico (80)	2-Decenal (112)
	Acido 4-metoxi benzoico (84)	2-metil, 2-tetrahidrofuranol (102)
	Acido graso oxigenado (156) 	7-Dodecenol (157) 
		6,10-dimetil - 5,9-undecadien-2-ona (158) 
<i>Crotalaria pumila</i> (Presente trabajo)	Triacilglicérido (49)	Acido 4- cloro butanoico (100)
	Triacilglicérido (50)	2-metil, 2-tetrahidrofuranol (102)
	Acido 4-hidroxi cinámico (48)	2,4-Decadienal (105)
	β -sitosterol (41)	Ester metílico del ácido 2-metil propanoico (127)
	Buteína (51)	
	Acido 3, 4 - dihidroxi cinámico (48)	
	3',4',7-trihidroxi-flavona (53)	
<i>Eleusine multiflora</i> (Cruz, C. 1996)	Triglicérido (159) 	2-Undecenal (117)

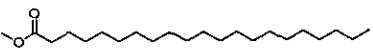
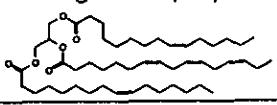

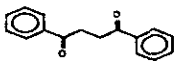
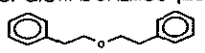
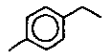
	Hentriacontanol (150)	Acido nonanoico (117)
	Hentriacontano (151)	Octadecano (131)
	β -sitosterol (41)	Octanal (160) 
	Acido tetradecanoico (42)	6,10,14-trimetil pentadecanona (161)
	Ac. cis, cis 9, 12 - octa decadienoico (17)	Ester metílico del ácido 14-metil pentadecanoico (162) 
	Triglicérido (163) 	$C_{18}H_{36}O_2$
	Acido 3-metoxi, 4-hidroxi cinámico (80)	Acido hexadecanoico (126)
	Acido 3, 4-dimetoxi cinámico (164) 	Docosano (165) 
		Tricosano (166) 
		2, 6, 10, 14, 18 - pentametil eicosano (134)
		Acido -4- cloro butanoico (100)
		2(3H)-, 5-etildihidro furanona (102)
		Acido octanoico (129)
		2,7-dimetil octano (168) 

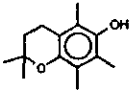

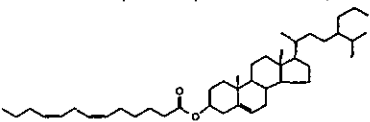
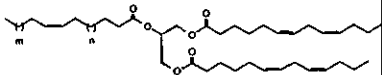
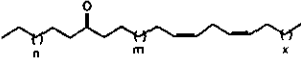
		2, 3, 6.-trimetil decano (169) 
		2, 6, 10, 15 -tetrametil heptadecano (137)
<i>Galinsoga parviflora</i> (Estrada, A. 1997)	Ester de un ácido graso 	Ester metílico del ácido -2-metil hexadecanoico 
	Heptadecano (170) 	Ester etílico del ácido 9, 12-octadecadienoico (172) 
	Alcohol lipídico (173) 	Acido hexadecanoico
	Estigmasterol (56)	2, 6, 10, 15, 19 13 hexametil tetracosano (146)
	Mezcla de ésteres alifáticos (174) 	Metil ciclopentano (175) 
	Dotriacontanoato de β-sitosterilo (176) 	Acido 4-cloro butanoico (100)
	Mezcla de ésteres alifáticos (177) 	2-metil, 2-tetrahidrofuranol (102)
	Acido graso (178) 	2,4-Decadienal(105)
	Acido hexadecanoico (126)	6-etil-2-metil decano (106)
	Mezcla de ésteres alifáticos (179) 	
<i>Lopezia racemosa</i> (Castro, N. 1995)	Oleato de campesterilo (180)	Abietano (181)

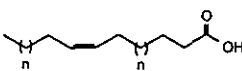
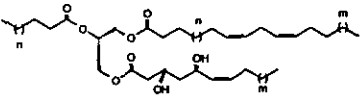
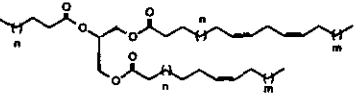
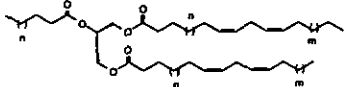
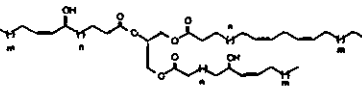
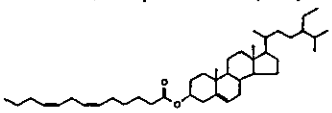
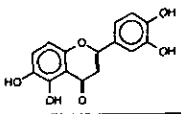
		
	β-sitosterol (41)	Tricosano (139)
	Sacarosa (98)	Fenol tofaranol (182)
		
	Triglicérido (183)	2,6,10,15,19,23-hexametil tetracosano (146)
		
		2, 6, 10, 15, 19, 23 -hexametil 2, 6, 10, 14, 18, 22 tetracosahexaeno (124)
		Acido 4- cloro butanoico (100)
		2-metil, 2-tetrahidrofuranol (102)
		2,4-Decadienal (105)
		Acido hexadecanoico (126)
		2-metil 4-Heptanona (184)
		
<i>Malva parviflora</i> (Cruz, C. 1996)	Triglicérido (185)	1-Dodecino (186)
		
	Triglicérido (187)	Ester metílico del ácido 14- metil pentadecanoico (153)
		

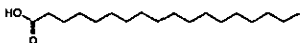
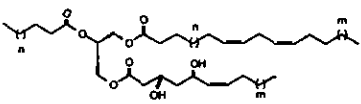
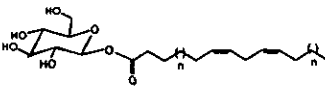
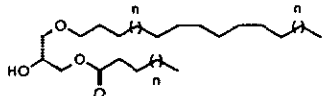
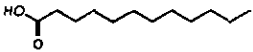
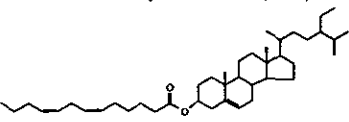
	β -sitosterol (41)	2,3,6-trimetil-heptadecano (159)
	Ácido tetradecanoico (42)	8-metil heptadecano (152)
	Acido <i>cis, cis</i> 9, 12 - octadecadienoico (17)	Acido nonanoico (117)
	Sacarosa (98)	Ester metílico del ácido 2-metil hexadecanoico (188) 
	Acido 3-hidroxi-4 metoxi-cinámico (44)	Ester decílico del ácido decanoico (123)
	Acido 4- hidroxi cinámico (52)	Acido hexadecanoico (126)
		Ester metílico del ácido 9, 12 octadecadienoico (189)
		Acido 9, 12 octadecadienoico (17)
		2,6,10,14,18-pentametil eicosano (134)
		monoglicérido del ácido 9, 12 octadecadienoico (190) 
		2,6,10,15,19,23-hexametil tetracosano (146)
		Acido 4- cloro butanoico (100)
		Ester metílico del ácido nonanoico (191) 
		Pentadecano (192) 
		Ester metílico del ácido 6-octadecenoico (193)

		
		2-metil, 2-tetrahidrofuranol (102)
		Ester metílico del ácido 14-metil pentadecanoico (153)
		Ester metílico del ácido 2-metil pentadecanoico (194)
		
		2,4-Decadienal (105)
		Ester metílico del ácido 8, 11 - octadecadienoico (195)
		
<i>Polygonum aviculare</i> (Presente trabajo)		5-Hexenol (196)
		
	Ester de un ácido graso (55)	Octadecano (122)
		
	Acido 3-hidroxi-4-metoxi-cinámico (44)	Dodecano (197)
		
	β -sitosterol (41)	Ester decílico del ácido decanoico (123)
	Ester de β -sitosterol (54)	Tricosano (C ₂₃ H ₄₈)
	Acido 4-hidroxi-cinámico (52)	Alcohol lipídico
	Acido 3-metoxi-4-hidroxi-benzoico(57)	2,6,10,15,19,23-hexametil Tetracosano (146)
		
		Ester lipídico
	Ester metílico del ácido heneicosanoico(58)	Acido 4- cloro butanoico (100)

		
		2-metil, 2-tetrahidrofuranol (102)
		Ester metílico del ácido 2-metil propanoico (127)
		Triterpeno lineal
		Tetracontano
		2-Decenal (112)
		2-Undecenal (118)
<i>Salvia tiliaefolia</i> (Cruz, C. 1996)	Triglicérido (198) 	Acido 4- cloro butanoico (100)
	Acido 3,4-dimetoxi cinámico (155)	2-metil, 2-tetrahidrofuranol (102)
	Glucosa (97)	2,4-Decadienal (105)
	Ac. cis, cis 9, 12 octa decadienoico (17)	
	Ac. cis 9- octadecenoico (16)	
	β -sitosterol (41)	
<i>Simsia amplexicaulis</i> (Alvarez, L. 1996)	Octadecanol (199) 	Fenilpropanoide
	Triacilglicerol	1,4-difenil 1,4-Butadiona (200) 
	Ac. 3- metoxi 4- hidroxi cinámico (80)	Fenilpropanoide
	Ac. 4- hidroxi cinámico (52)	Fenilpropanoide Eter dietil benzílico (201) 
	Fructosa (107)	1-etil, 5-metil benceno (202) 

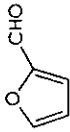

	Glucosa (97)	Acido 9,12-octadecadienoico (17)
	Sacarosa (98)	Cromeno (203) 
		Monoglicerido del ácido linoleico (190)
		Esterol
		Acido 4-cloro butanoico (100)
		2-metil, 2-tetrahidrofuranol (102)
		2,4-Decadienal (105)
		2,6,10-trimetil tetradecano (204) 
<i>Taraxacum officinale</i> (Salinas, D.; Valladares, G., 1996)	Hidrocarburo	2, 6, 10, 15, 19, 23-hexametil Tetracosahexaeno (125)
	Éster de β -Campesterol (205) 	2, 6, 10, 15, 19, 23-hexametil tetracosano (146)
	Triglicérido (206) 	Acido <i>cis, cis</i> 9, 12-octadecadienoico (17)
	Dienona (207) 	Acido 4-cloro butanoico (100)-

	Ac. carboxílico insaturado (208)	2-metil, 2-tetrahidrofuranol (102)
		
	Triacilglicérido (209)	2,4-Decadienal (105)
		
	Triacilglicérido (210)	Ester metílico del ácido 2-metil propanoico (127)
		
	Triacilglicérido (211)	
		
	Triacilglicérido (212)	
		
	Acilato de β -sitosterol (213)	
		
	Luteolina (214)	
		
	β -Sitosterol (41)	
<i>Tithonia tubaeformis</i> {Salinas, D.: Valladares, G., 1996}	β -Sitosterol (41)	Acido hexanoico (110)

	Acilato de β -campesterilo (205)	Ester de un ácido graso
	Triacilglicérido	Acido octadecanoico (215) 
	Triglicérido (216) 	2,4-Decadienal (105)
	Acil glucósido (217) 	2-metil, 2-tetrahidrofuranol (102)
	Diglicérido (218) 	Ester metílico del ácido 2-metil propanoico (128)
	Acido dodecanoico (219) 	Acido hexadecanoico (126)
	Acilato de β -sitosterol (220) 	
	Ac. 3, 4- dihidroxi cinámico (48)	

10.- ANEXO 2

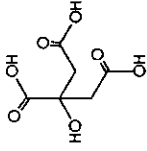
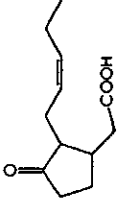
Tabla 2.- Algunos metabolitos secundarios con funciones defensivas

Metabolito	Actividad Reportada	Referencia
 <p>2 furaldehído (59)</p>	Tiene actividad bactericida, inhibe crecimiento de insectos y afecta la microfauna entérica del gusano de seda.	Harborne, 1982.
Ácidos grasos de cadena corta		
Ácido pentanoico (60)	Presenta toxicidad baja en ratones	Harborne, 1995.
 <p>Lípidos poco funcionalizados</p>	Es tóxica para algunas plagas, como el gusano de la fruta.	Harborne, 1982.
2 - tridecanona (61)		
Aceites esenciales	Actúan como atractores alimenticios para mariposas y polillas	Harborne, 1982.

Ácido linolénico (13)

Puede convertirse en las membranas en algunas moléculas activas, los oca decanoídes, que incluyen al ácido jasmónico (62) y la traumatina (63)

Hammerschmidt,
1996



Ácido cítrico (64)

Glicéridos

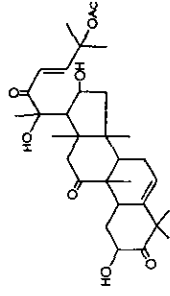
Glicéridos

En animales de granja hay una correlación positiva entre sus niveles y las preferencias en el consumo.

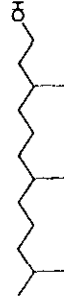
Harborne, 1982.

Se consideran como sustancias de reserva energética. No se encontró información referente a otras funciones.

Terpenoides.

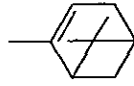


Cucurbitacina B (65)



Farnesol (66)

Terpenos volátiles



α - pineno (67)

Funcionan a como repelentes contra los herbívoros.

Hammerschmidt, 1996

Es un análogo de la hormona juvenil, que interfiere con la maduración de los insectos.

Harborne, 1982.

En la corteza de *Pinus ponderosa* su presencia atrae escarabajos hembras

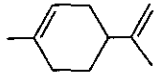
Cates, 1996.

Los escarabajos hembras después de la copulación, a partir de este metabolito producen verberona (68) para repeler a los machos.

Cates, 1996.



Verberona (68)



Es tóxico para los escarabajos.

Harborne, 1982.

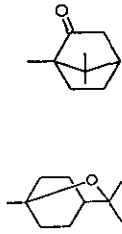
Limoneno (69)

Mezcla de monoterpenos volátiles

Pueden atraer al gusano de seda, y además inhiben el crecimiento y desarrollo de larvas.

Harborne, 1982.

Linalol (70) y α -terpineol (71)



Inhiben el proceso digestivo

Harborne, 1982.

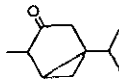
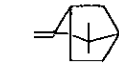
1,8 - cineol (72) alcanfor (73)



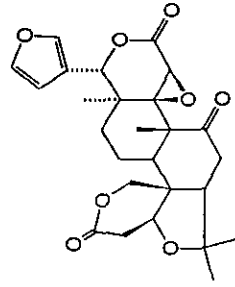
Inhiben el crecimiento de las plantas y germinación

Harborne, 1982.

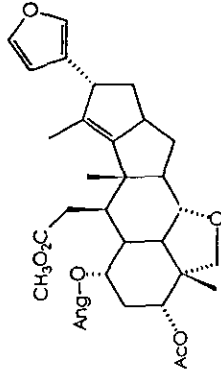
α -pineno (67), β - pineno (74).



camfeno (75), tujona (76).



Limonina (77)



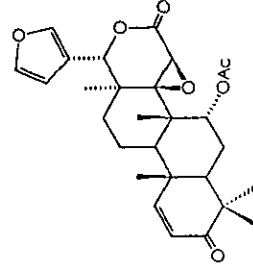
Salonina (78)

En *Citrus paradisi* es antialimentaria contra *Leptinotarsa deceitlineata*, un escarabajo.

Isman, 1996.

Tiene efecto antialimentario contra escarabajos

Isman, 1996.



Inhibe orugas y es un potente antimalárico

Isman, 1996.

Gedunina (79)

Esteroles

β -sitosterol (41)

Su presencia puede atraer al gusano de seda.

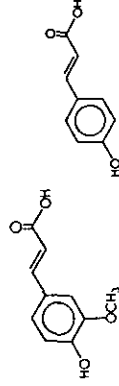
Harborne, 1982

Esteroles

Algunos insectos requieren esteroles para su metamorfosis

Harborne, 1982

Fenilpropanoides.-



Inhiben las funciones reproductivas en el roedor *Microtus montanus*.

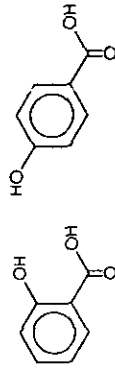
Harborne, 1982

Ac. ferúlico (80) Ac. p-cumárico (81)

Harborne, 1982

Algunos fenilpropanoides pueden actuar como atractores alimenticios para moscas y mariposas.

Ácido trans cinámico (82)



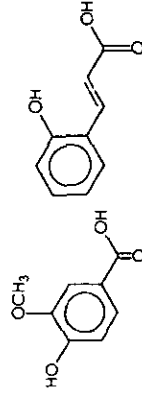
Harborne, 1982

En *Parthenium argentatum* inhibe el crecimiento de otras especies.

Harborne, 1982

Adenosifroma fasciculatum crece en lugares exclusivos, secos con pendiente, donde reciben lluvia y no hay otras especies creciendo en la vecindad.

Ac. salicílico (83), Ac. p- hidroxibenzoico(84)



Ac. vainillíco(85), Ac. o- cumárico (86)

Ac. p- cumárico (52) y Ac. ferúlico (52)

Ácido caféico (81) y ferúlico (80)

Harborne, 1982

En *Pteridium aquilinum* (maleza) inhibe el

crecimiento de arbustos alrededor.
Se producen durante la lignificación ,
inhiben el crecimiento de patógenos. 1996.

Radicales libres fenólicos

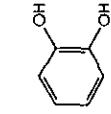
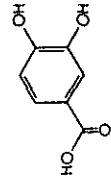
Hammerschmidt,
Harborne, 1982

Si se elimina el 50% del tejido en una
planta, la producción de compuestos
fenólicos aumenta 18%.

Ácido salicílico (83)

Harborne, 1982

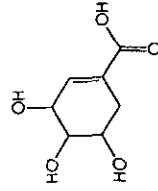
Las concentraciones de éste ácido
aumentan después del ataque de un
patógeno., e inducen el incremento de
especies reactivas de oxígeno, los cuales
sirven como segundos mensajeros que
inducen la expresión de genes que
regulan la producción de metabolitos
secundarios.



Inhiben la germinación e infección de
hongos y bacterias 1996.

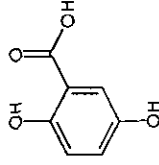
Hammerschmidt,

Catecol (87) y Ác. protocateuico (88)



Ácido shiquímico(89)

Ac. Gentísico (90)



Ac. *p*-hidroxi-benzoico (84)

Ac. Vanilílico (85)

Ac. 3,4-dihidroxi-cinámico (48)

Ac. *p*-hidroxi.cinámico (51)

Ester metílico del ác. 3,4-dihidroxi-cinámico (48)

Harborne, 1982.

En animales de granja hay una correlación positiva entre sus niveles y las preferencias en el consumo.

Harborne, 1995.

Actividad antibacterial, antifúngico, inhibe la germinación de los conidios y el crecimiento del micelio de *Cryptomeria cubensis*

Harborne, 1995.

Antifúngico

Harborne, 1995.

Actividad antihelmíntica.

Harborne, 1995.

Actividad antibacterial, antifúngico, antiviral.

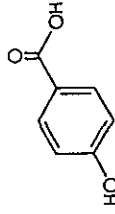
Harborne, 1995.

Actividad antifúngica, además presenta actividad alelopática

Harborne, 1995.

Actividad antimicrobial.

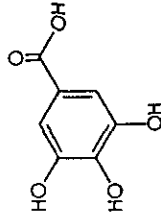
Ácido benzoico (91)



Actividad antifúngica, es una fitoalexina en las manzanas.

Harborne, 1995.

Ácido gálico (92)



Actividad antibacterial, antiviral, antifúngica. Promueve la relajación muscular, astringente intestinal.

Harborne, 1995.

Taninos

Se combinan con ciertas proteínas, a veces de manera irreversible, además confieren un sabor astringente, desagradable que puede disminuir el consumo.

Harborne, 1982.

ortho-dihidroxitirfenoles

Su concentración en las semillas tienen una correlación positiva con la persistencia de las semillas en el suelo (Hendry, 1994)

Harborne, 1982.

Flavonoides.

Buteína (51)

Desacopla la fosforilación oxidativa en mitocondrias de tubérculos de papas. Inhibe la actividad de la NADH oxidasa y la succinoxidasa.

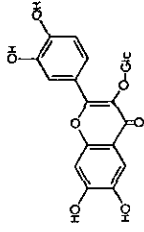
Harborne, 1995.

Tricina (43)

Agente alelopático en *Agrapyron repens*, causa inhibición del crecimiento de raíces en especies competidoras.

Harborne, 1995.

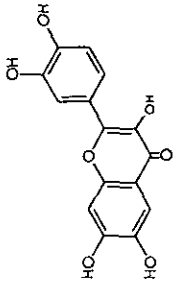
Isoquercitrina (93).



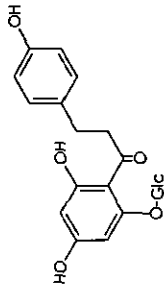
Marina (94).

Son estimulantes para la alimentación de insectos.

Harborne, 1994.



Floridzina (95)



Pinoembrina (96)

Actúa como atractor alimenticio para
escarabajos.

Harborne, 1982.

Harborne, 1995.

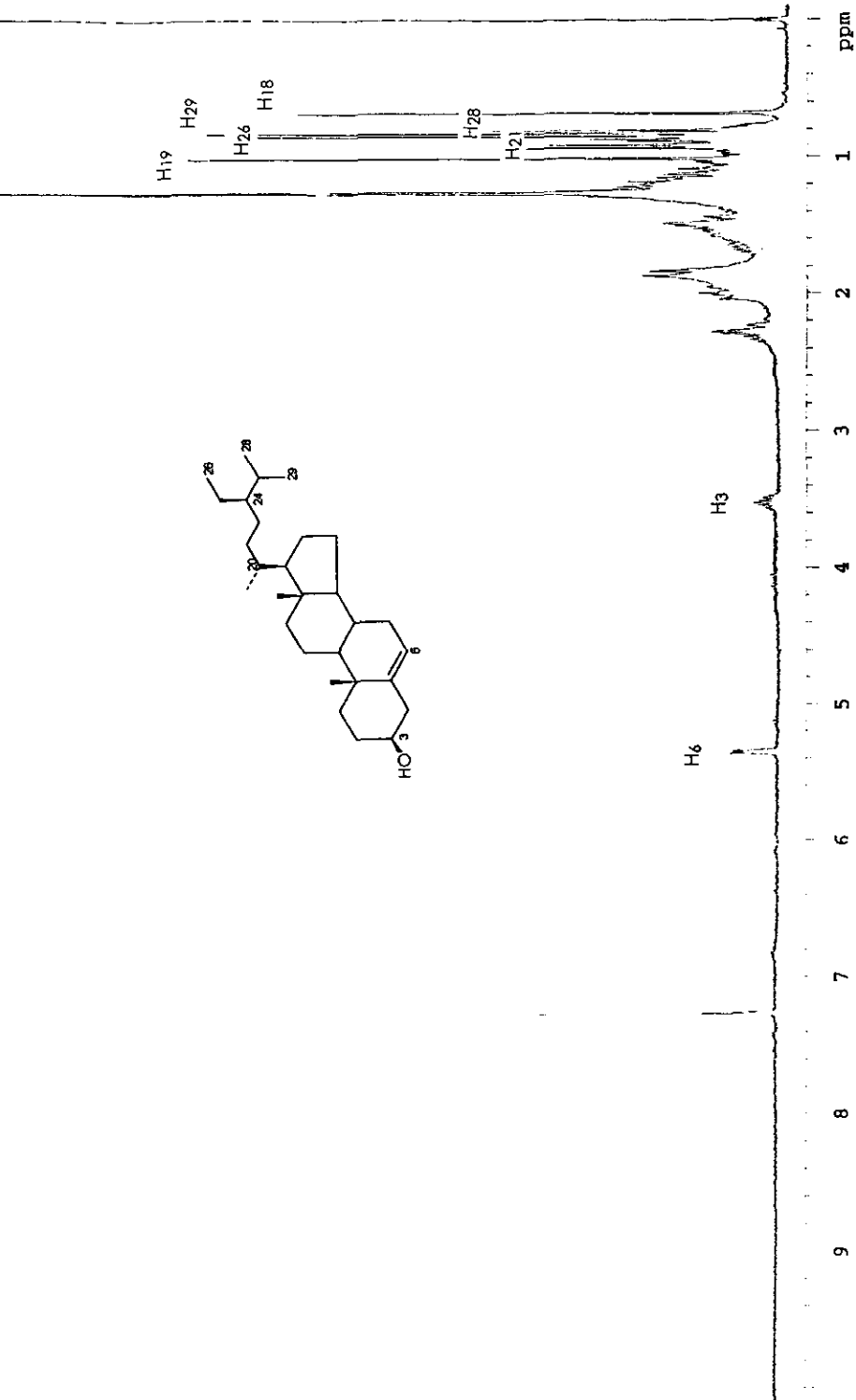
Actividad antimicrobiana.

La toxicidad de los flavonoides puede
aumentar si se introducen hidroxilos o
metoxilos en la molécula.

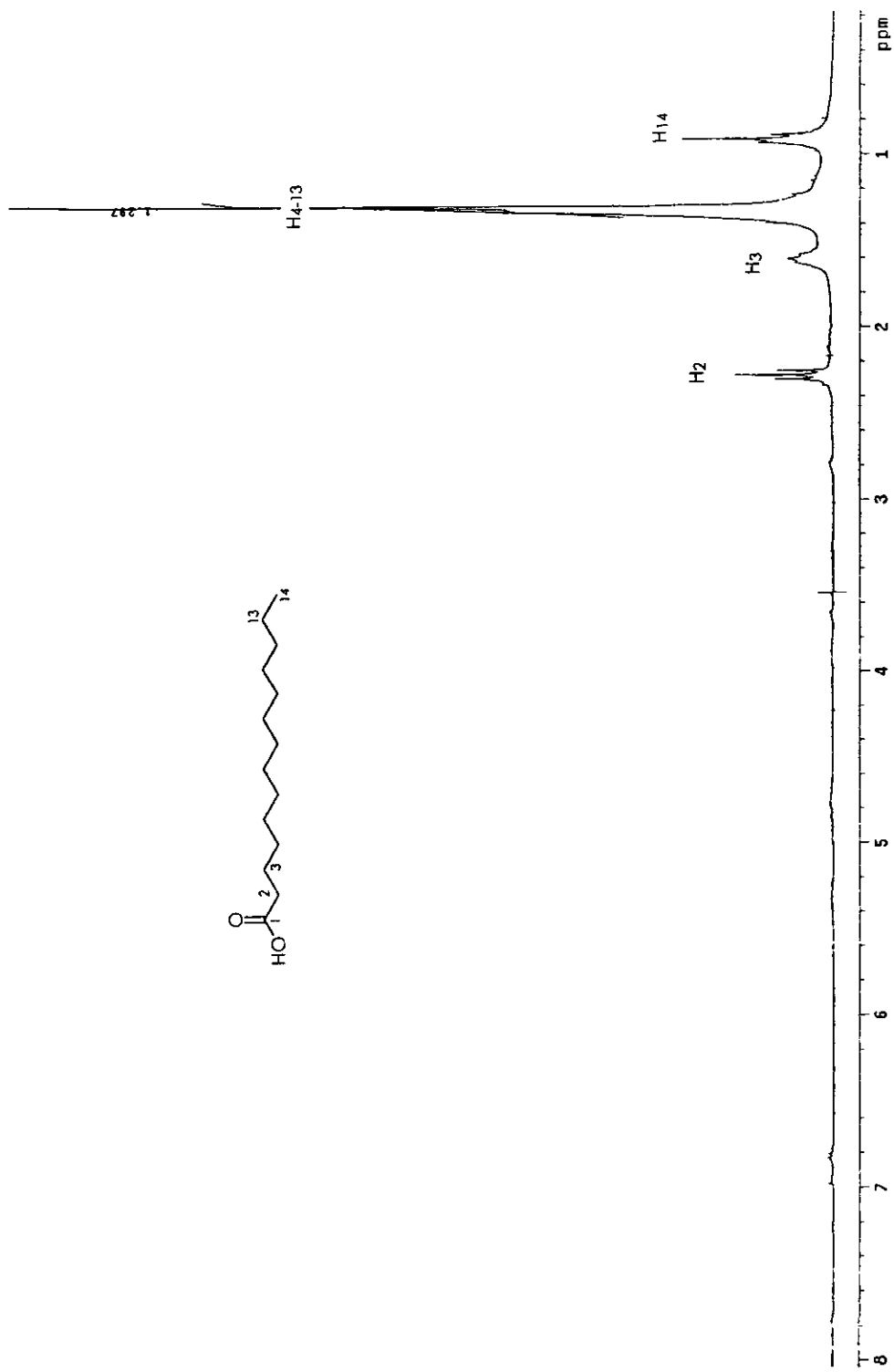
Harborne, 1982.

Flavonoides	Algunos se pueden emplear para combatir plagas de insectos, debido a su toxicidad para los insectos y no a mamíferos (contra escarabajos, áfidos y orugas)	Harborne, J.B. 1994.
Sacáridos y glicítoles.-		
Azúcares libres	Entre los factores nutricionales que afectan la depredación se encuentra la respuesta al sabor, en insectos, el de la dulzura y la deposición de azúcares libres, como uno de los mayores requerimientos nutricionales.	Harborne, 1982.
Glucosa (97)- Sacarosa (98)	Las vacas prefieren ingerir glucosa y las ovejas sacarosa	Harborne, 1982.
Sacarosa (98) e inositol (99)	Pueden atraer al gusano de seda.	Harborne, 1982.
Inositol (99)	Es empleado como factor de crecimiento en animales y microorganismos	Harborne, 1995.

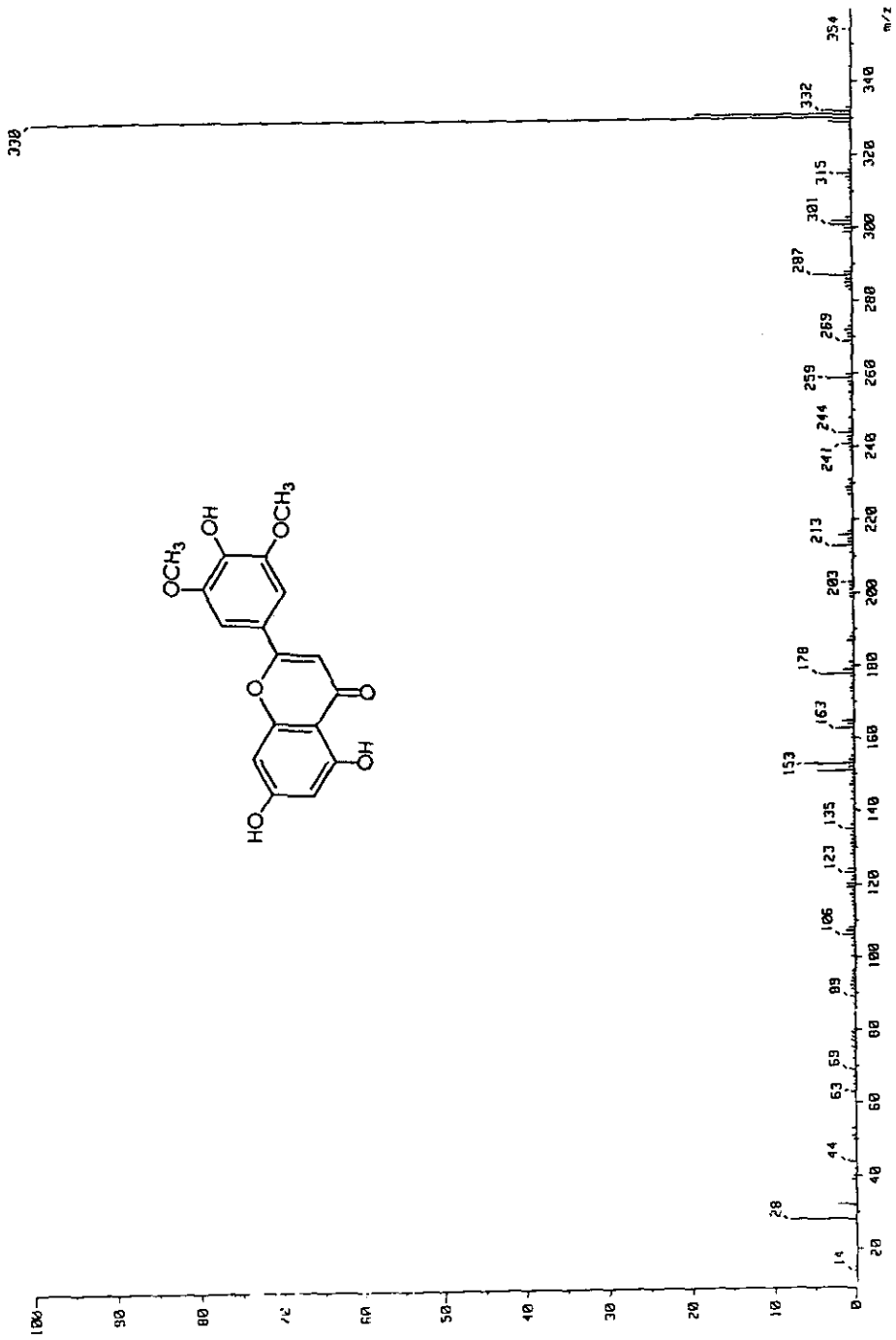
11.- ESPECTROS



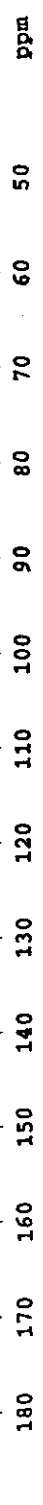
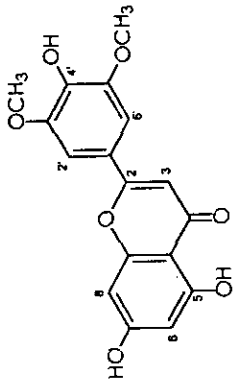
Espectro ^1H -RMN (300 MHz , CDCl_3) β -sitosterol (41)



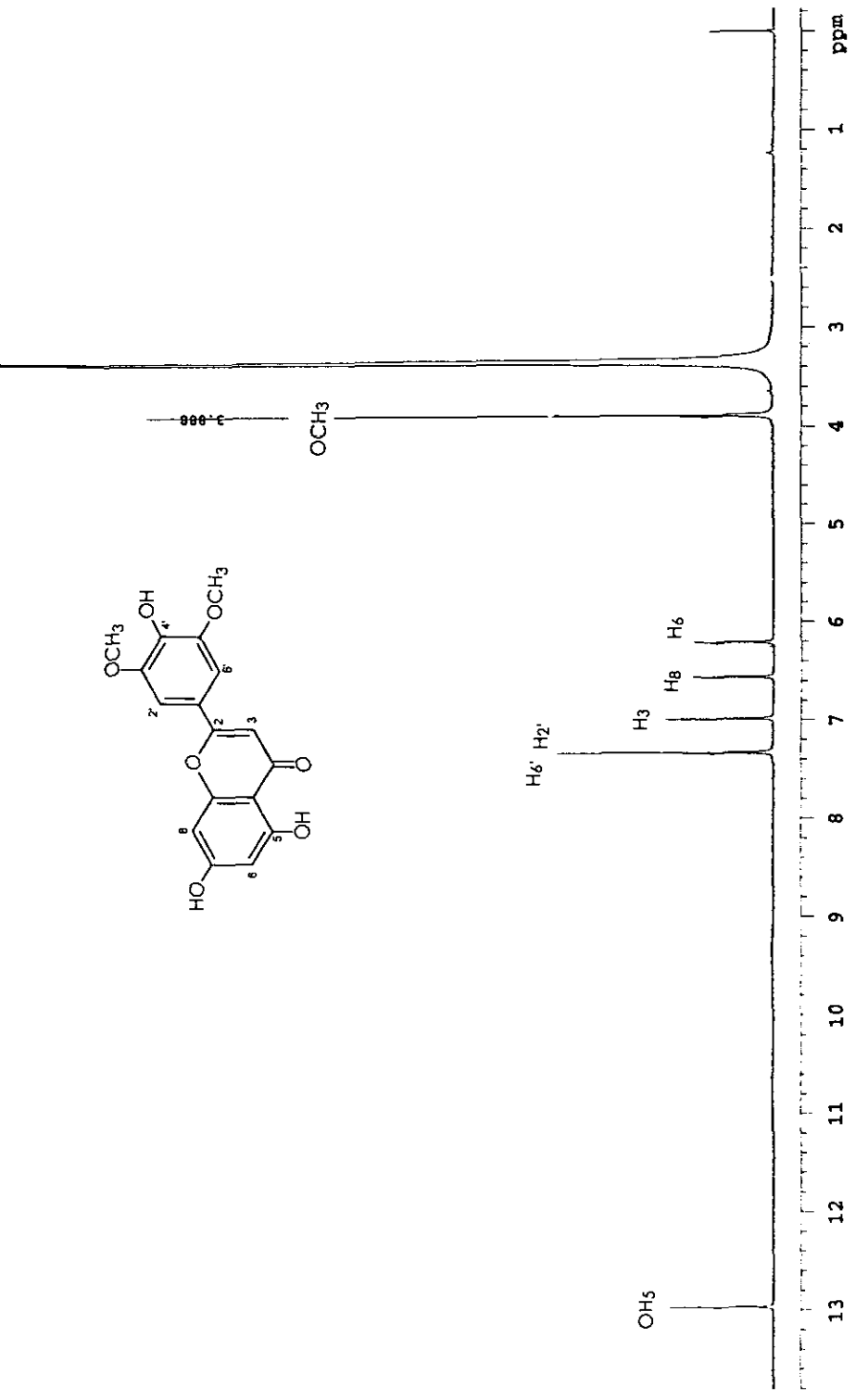
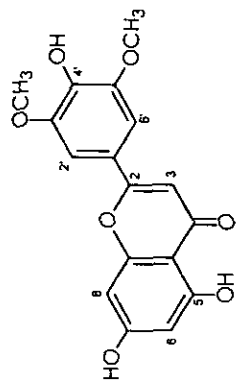
Espectro 2.- RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) Ácido tetradecanoico (42)



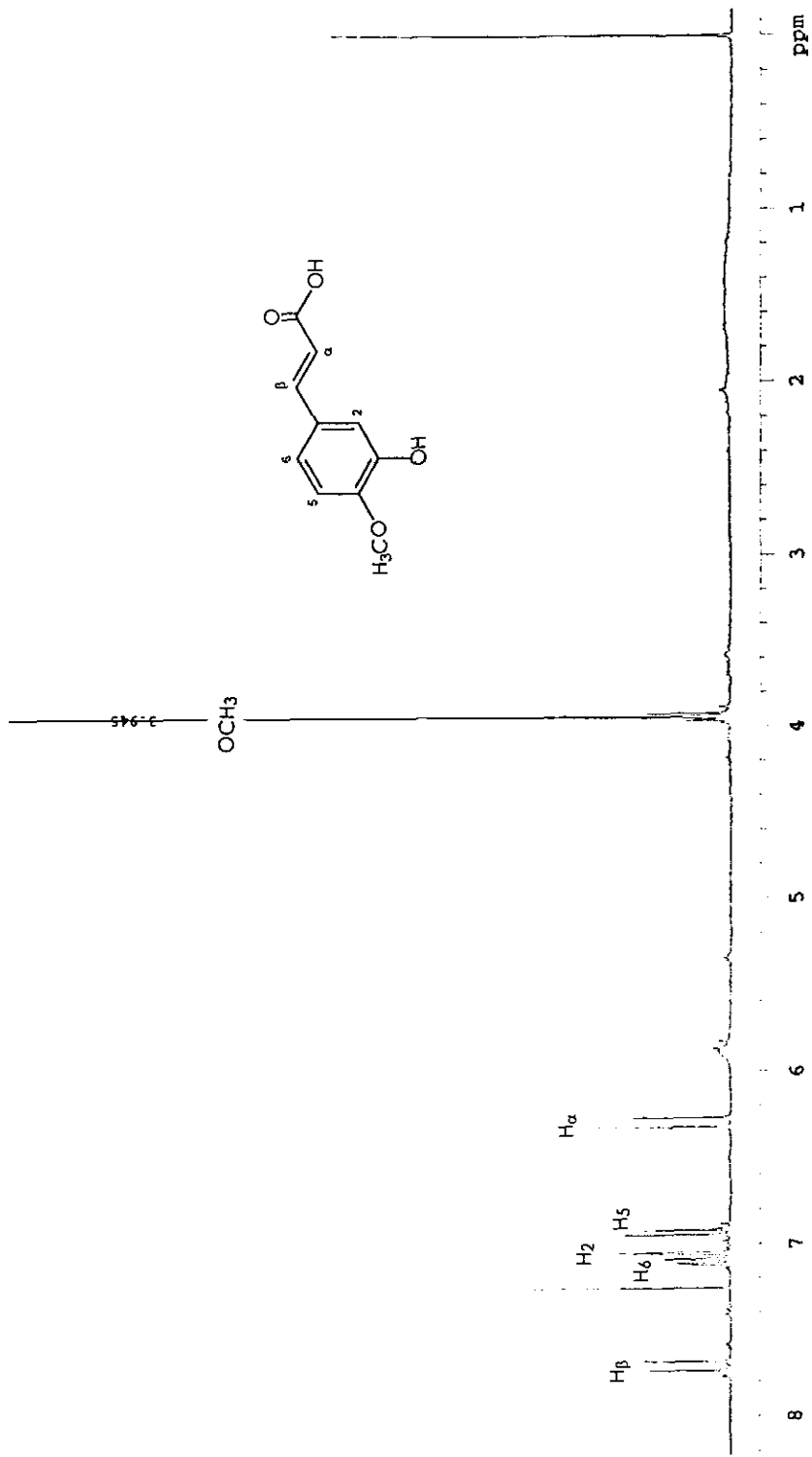
Espectro 3.- EM (IE) Tricina (43)



Espectro 4.- RMN¹³C (75 MHz, DMSO) Tricina (43)

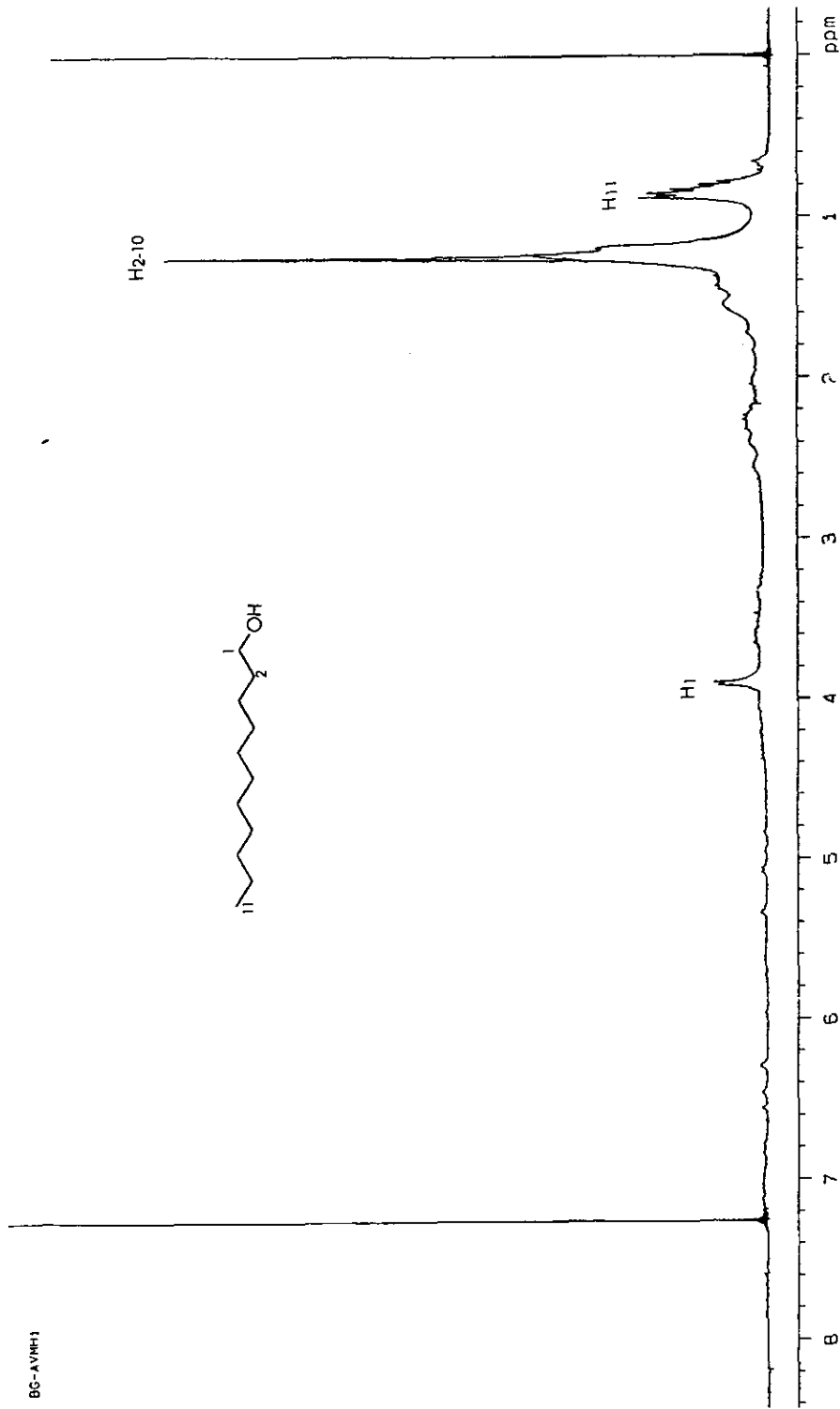


Espectro 5.- RMN¹H (300 MHz, DMSO) Tricina (43)

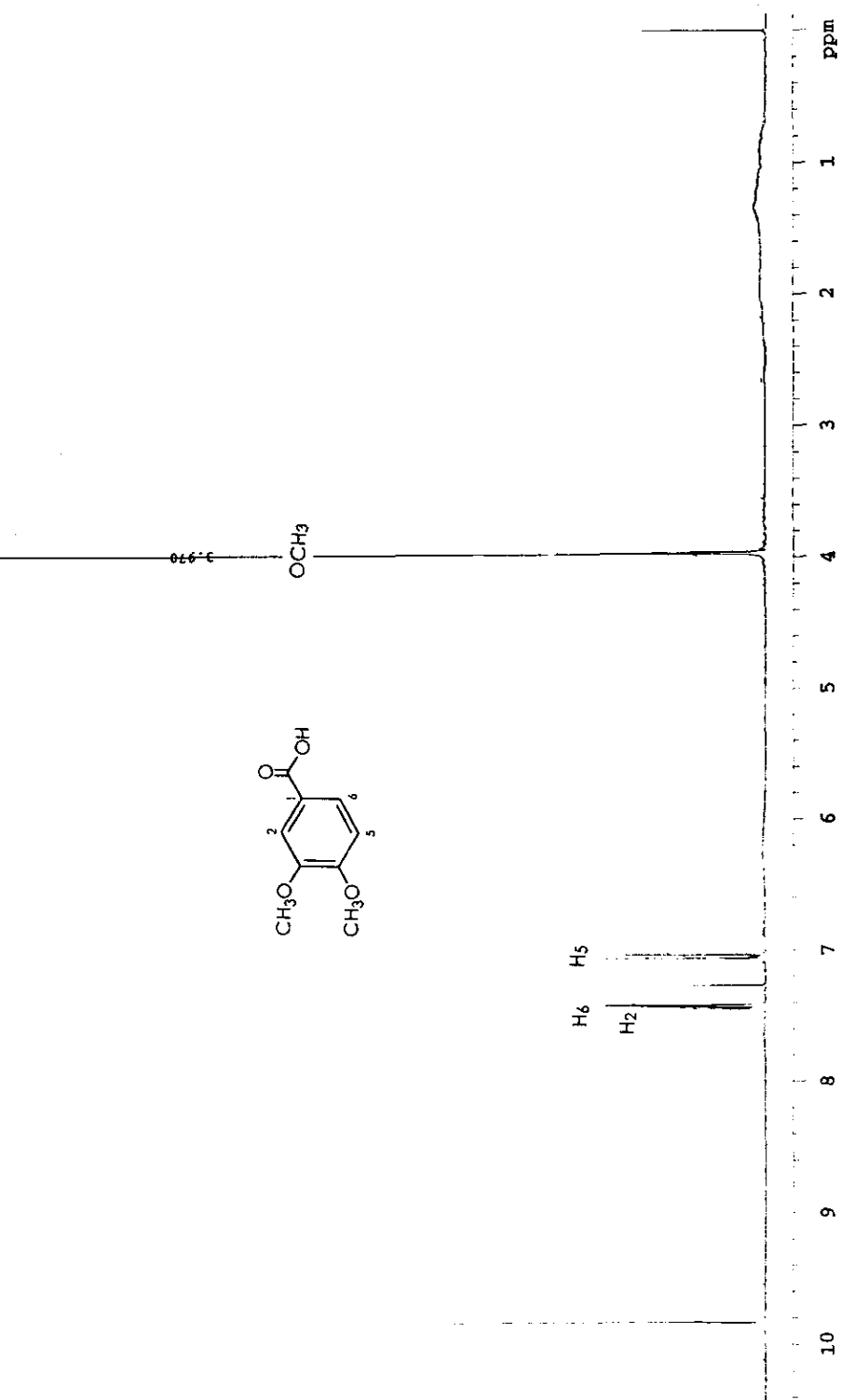


Espectro ¹H-RMNIH (300 MHz, CDCl₃) Ácido 3-hidroxi-4-metoxi-cinámico (44)

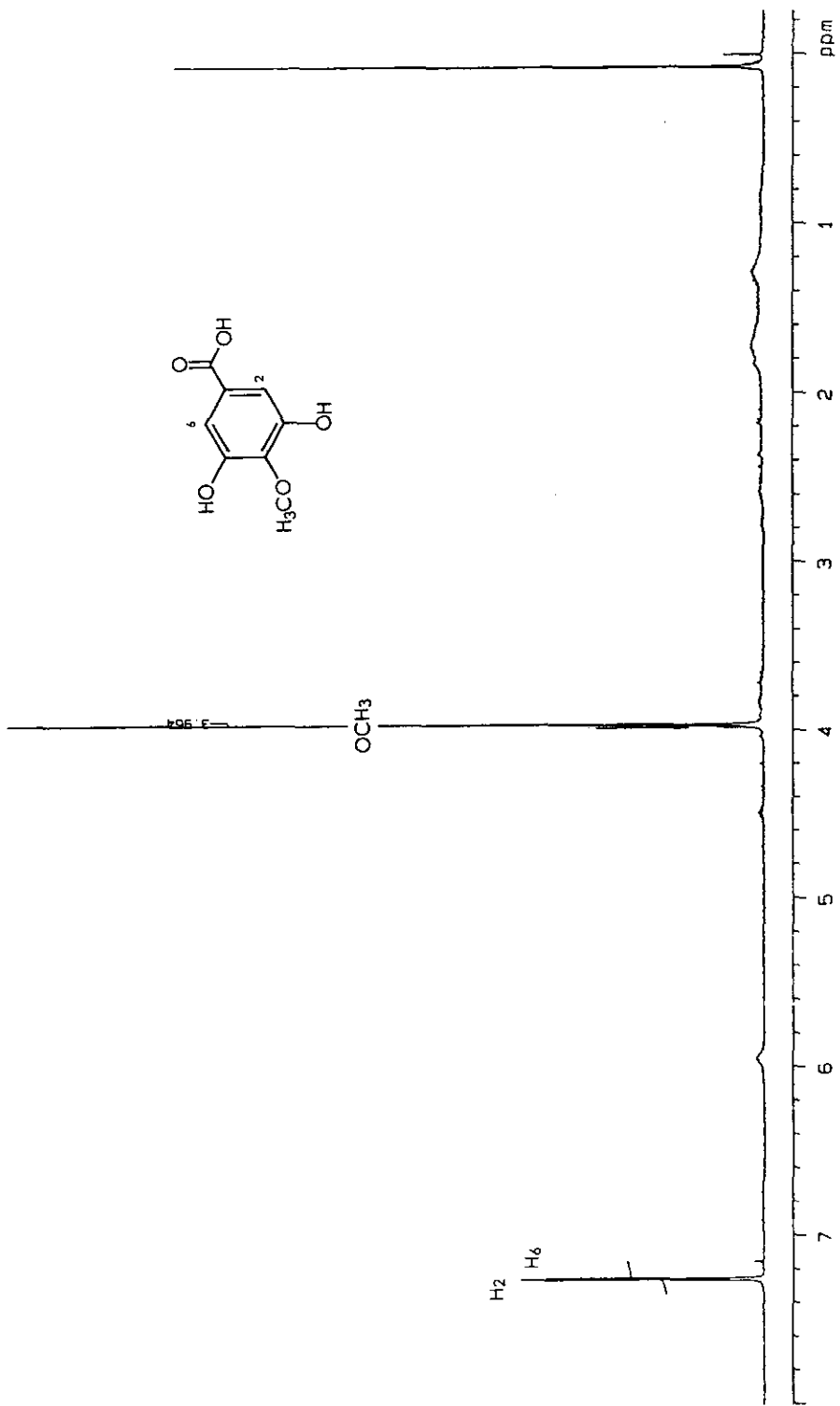
80-AVNH1



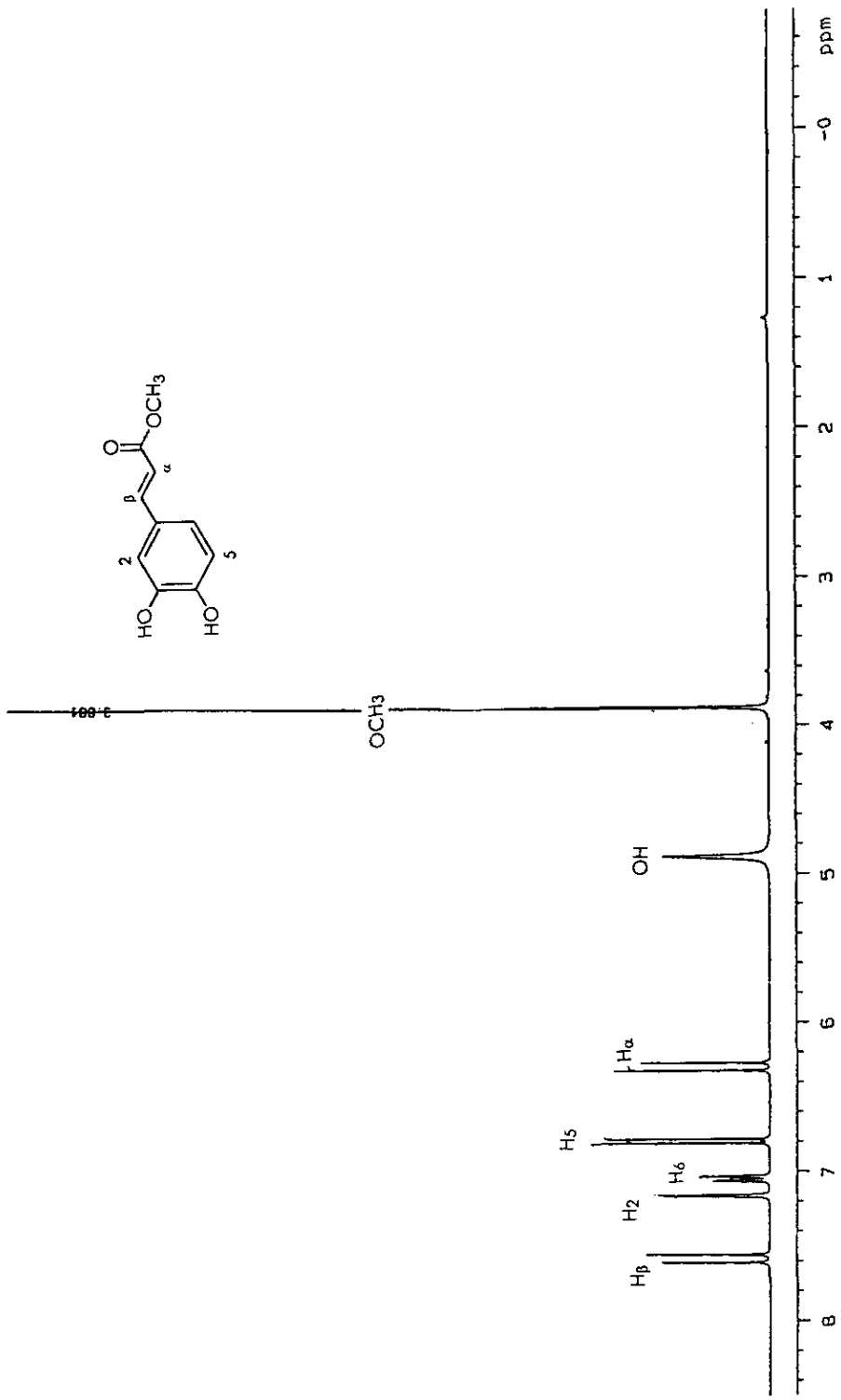
Espectro 7.-RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) Undecanol (45)



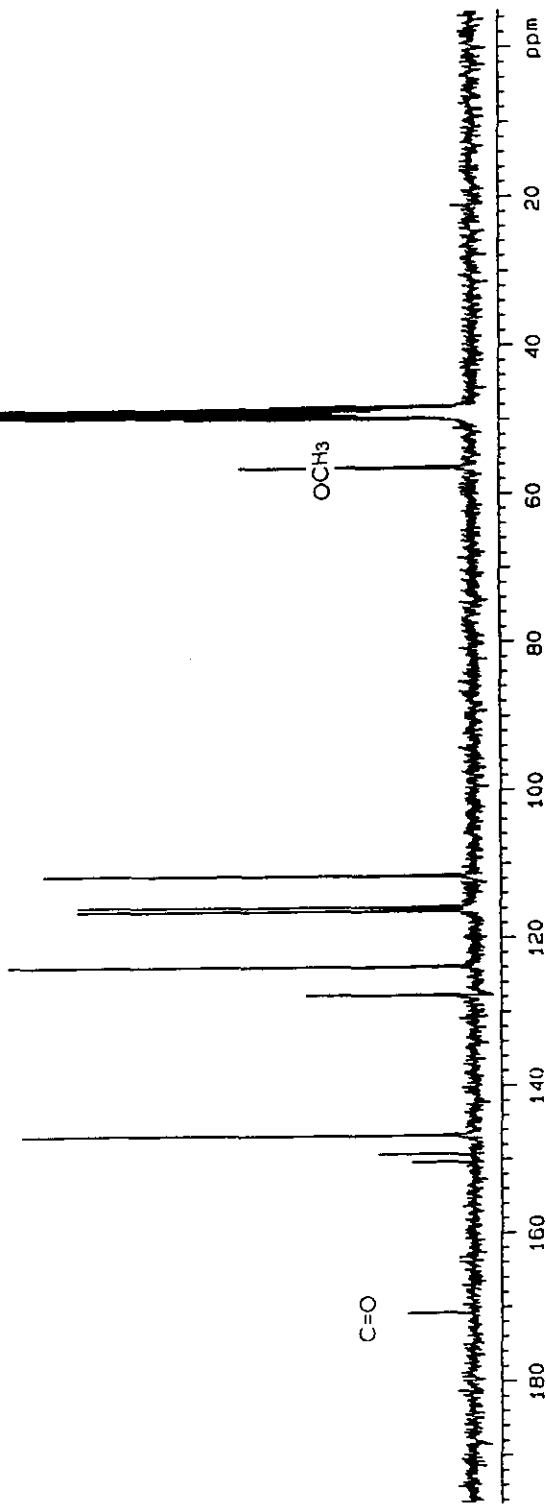
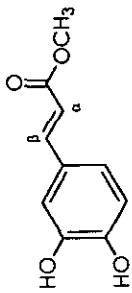
Espectro 8.- RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) Ácido 3,4-dimetoxi-benzoico (46)



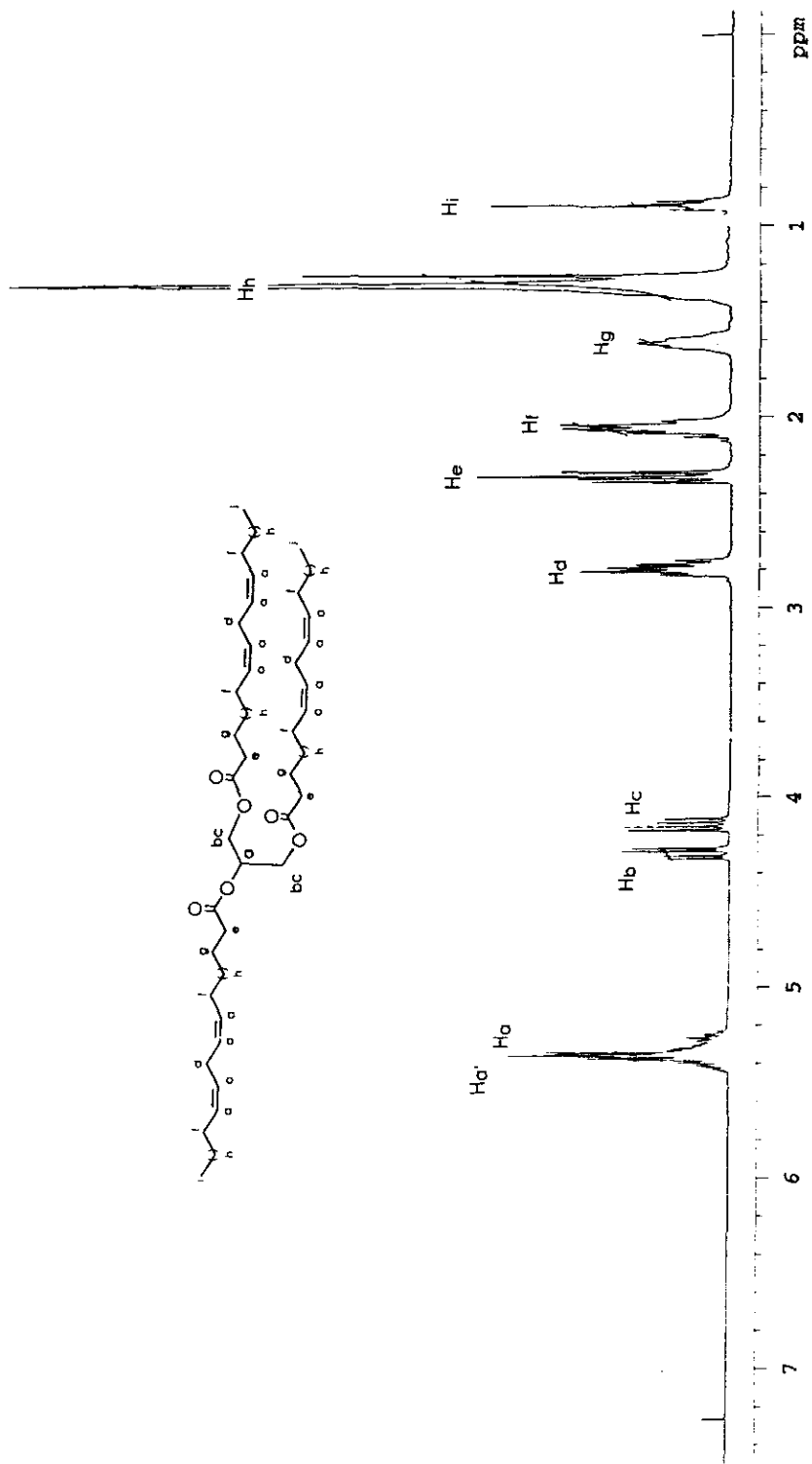
Espectro 9.- RMN¹H Ácido 4-O-metil-gálico (47)



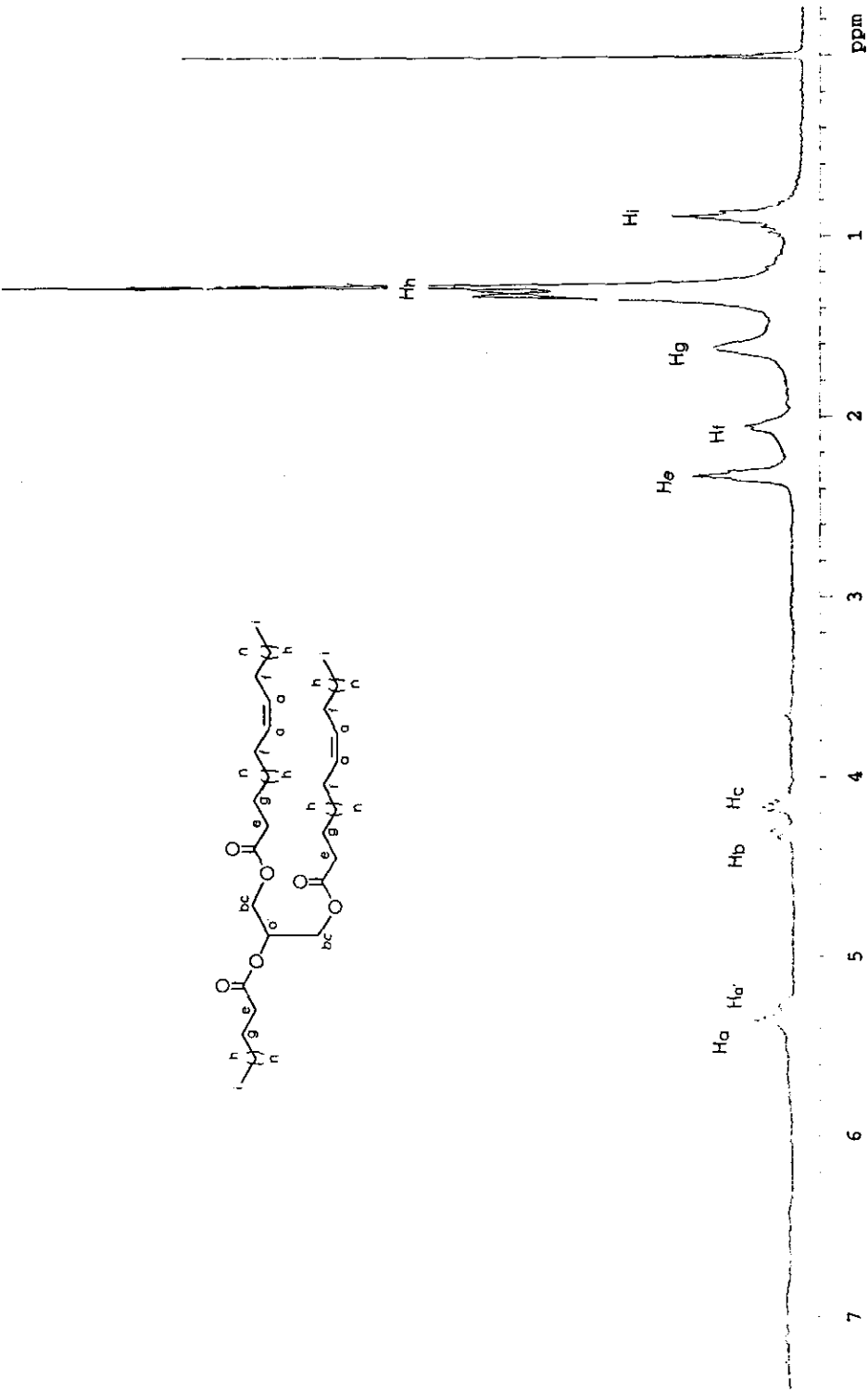
Espectro 10.- RMN¹H (300 MHz, CDCl₃ - MeOD) Ester metílico del ácido 3,4-dihidroxi-cinámico (48)



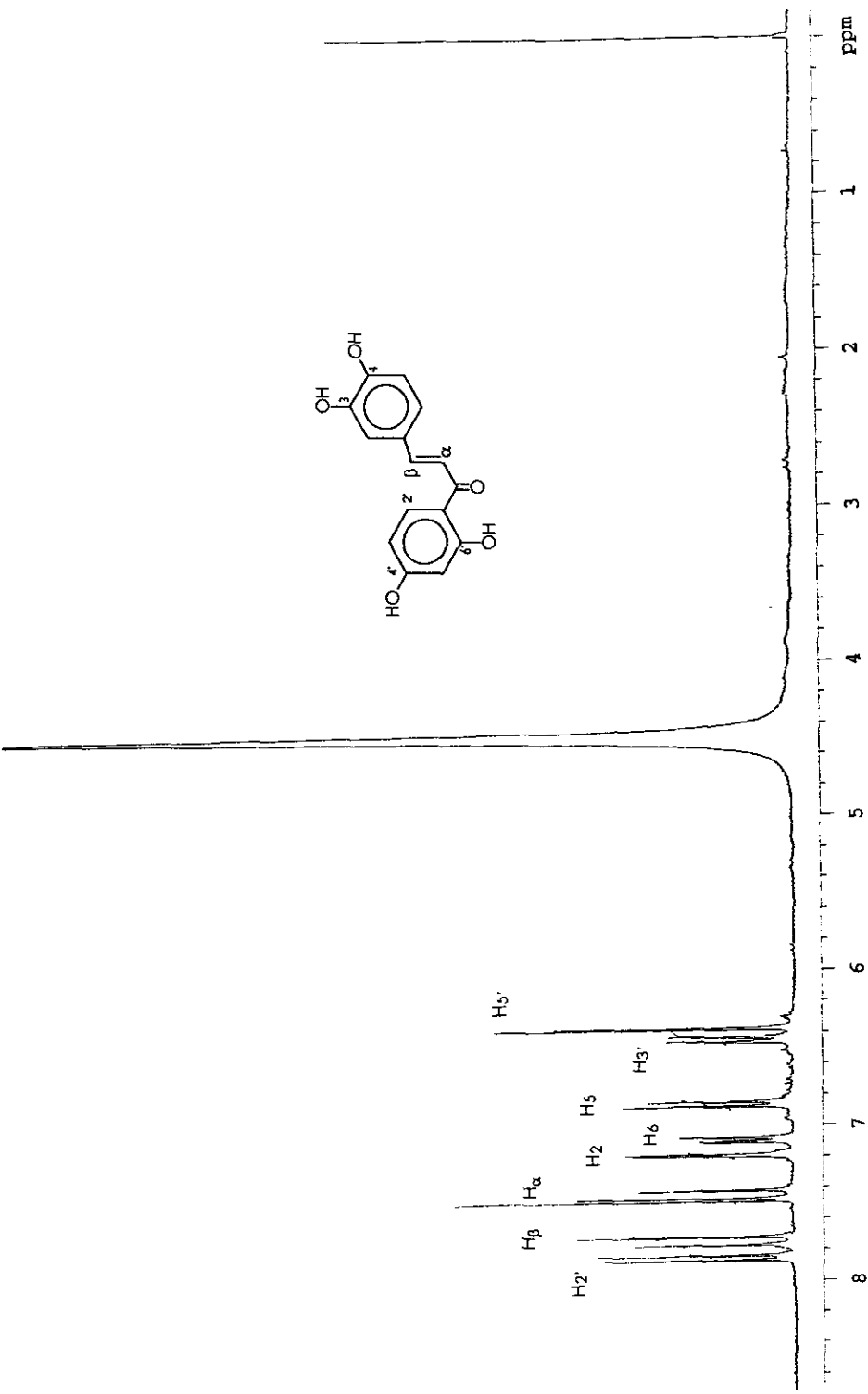
Espectro 11.- RMN¹³C (75 MHz, CDCl_3 - MeOD) Ester metílico del ácido 3,4-dihidroxi-cinámico (48)



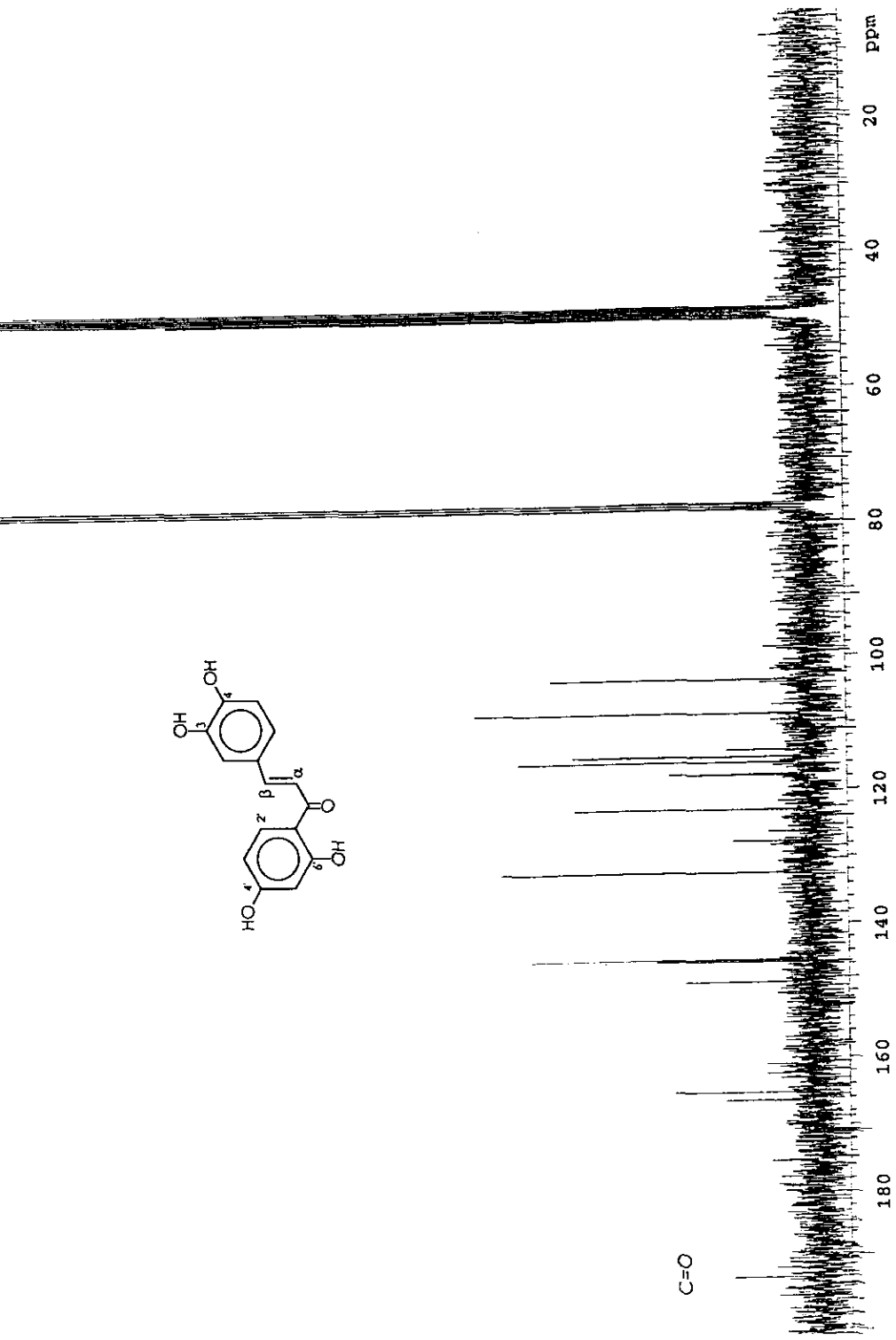
Espectro 12.- RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) Triglicérido A (49)



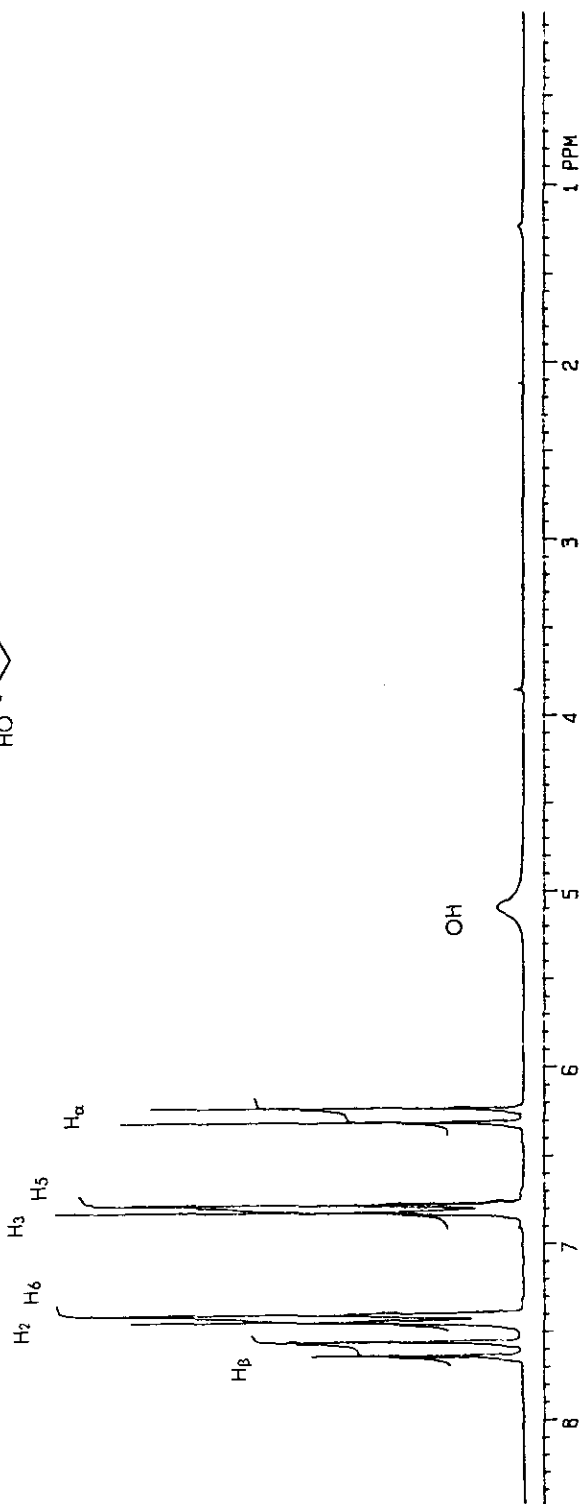
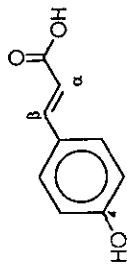
Espectro ^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3) Triacilglicérido B (50)



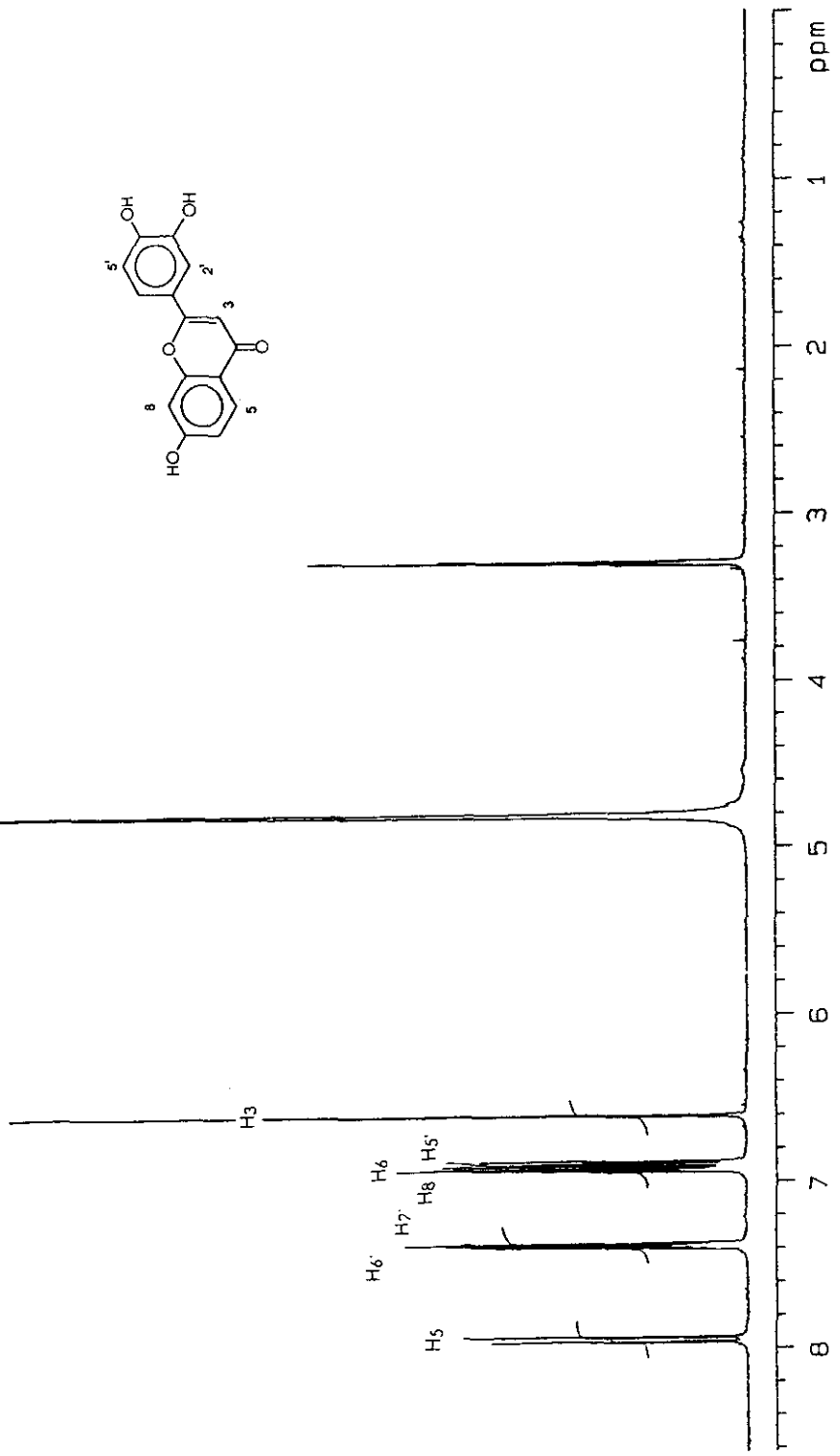
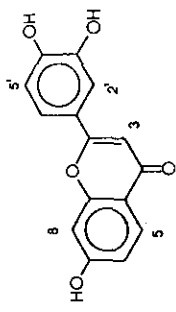
Espectro 14.- RMN¹H [300 MHz, CDCl₃ - MeOD] Buteína (51)



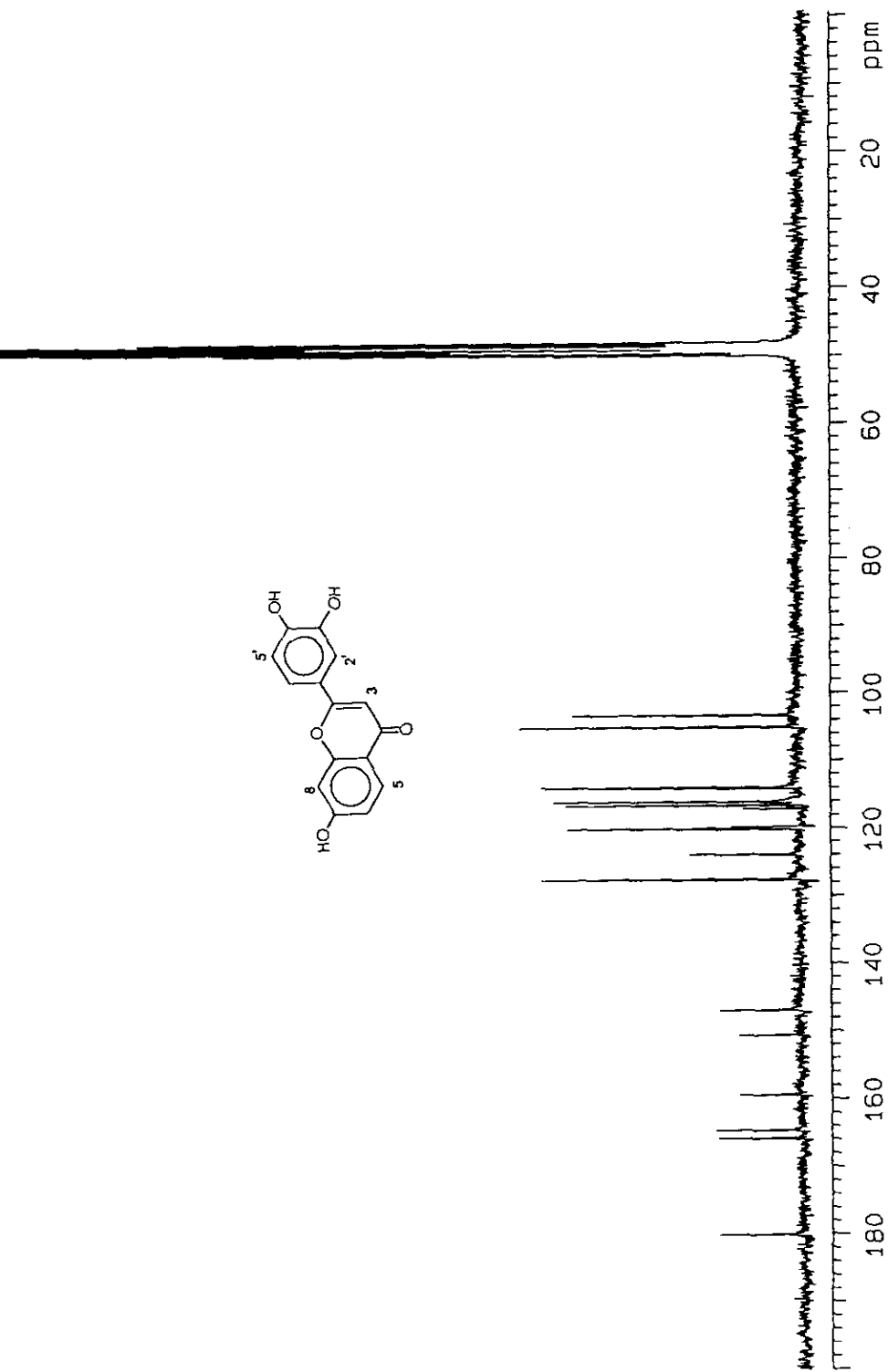
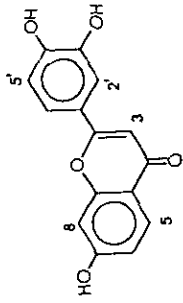
Espectro 15.- RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 - MeOD) Butefina (51)



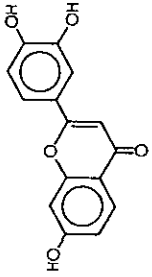
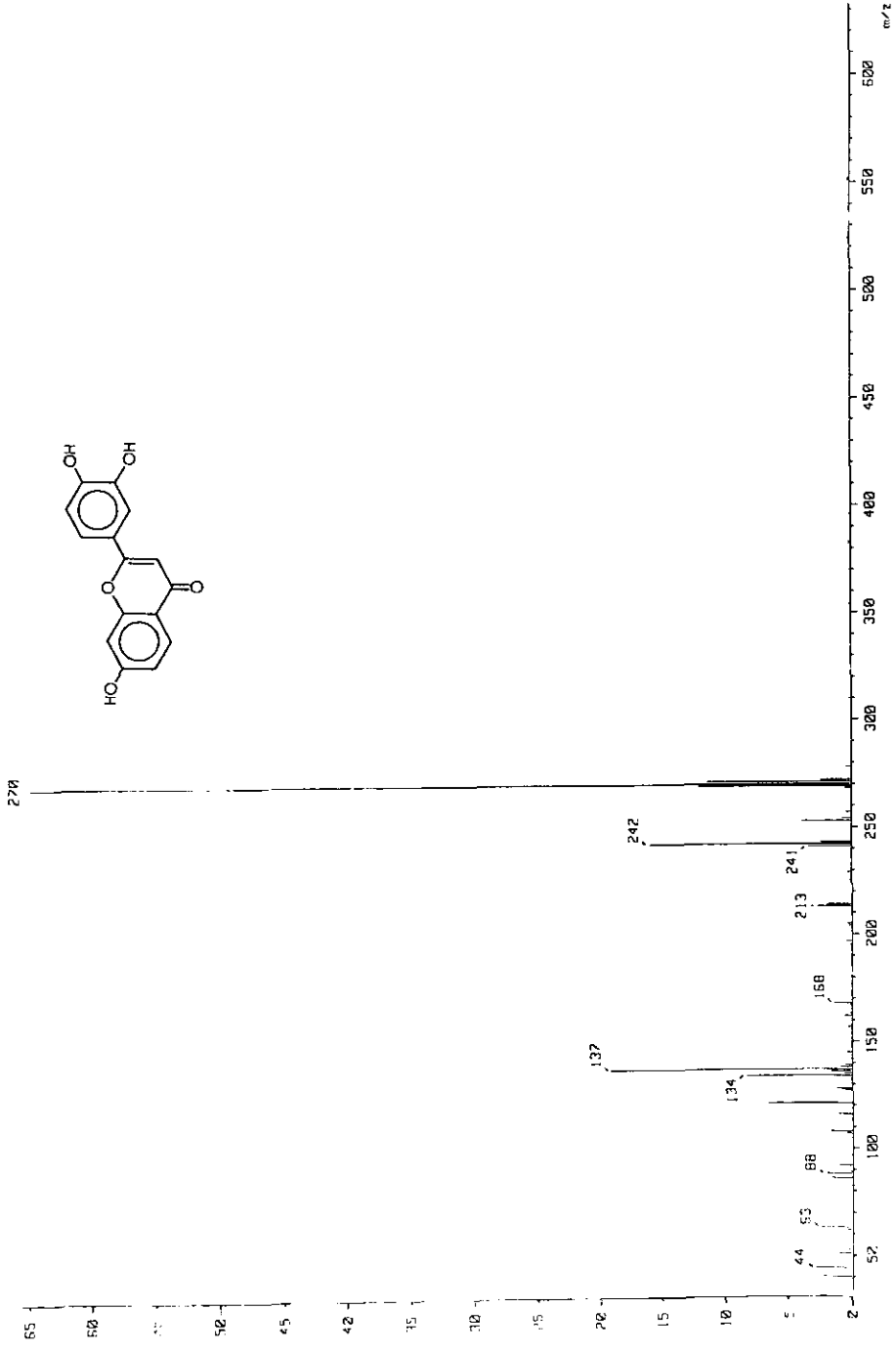
Espectro 1^o.- RMN¹H (200 MHz, MeOD) Ácido 4-hidroxi-cinámico (52)



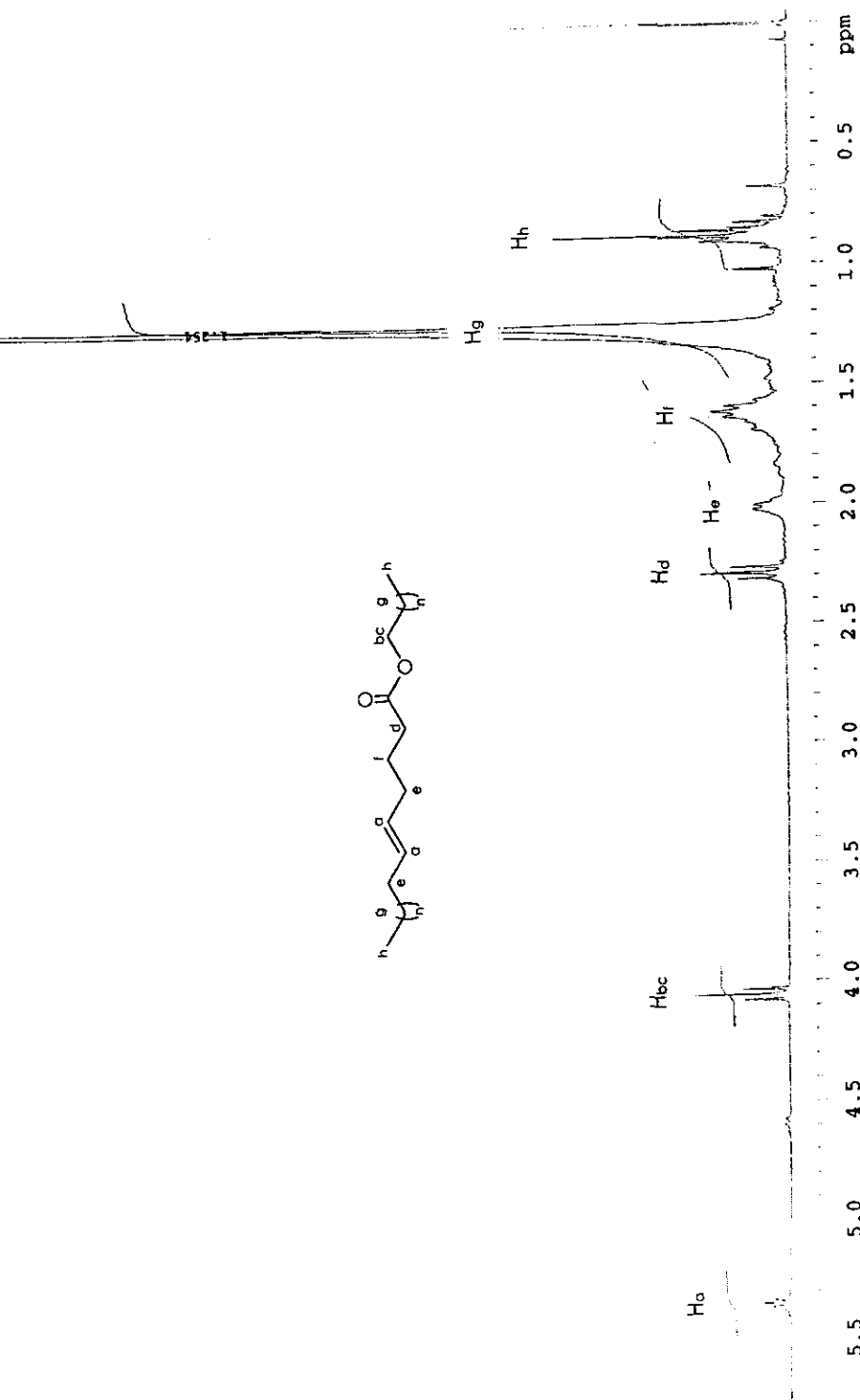
Espectro 17.- RMN¹H (300 MHz, MeOD) 3,4',7-trihidroxi-flavona (53)



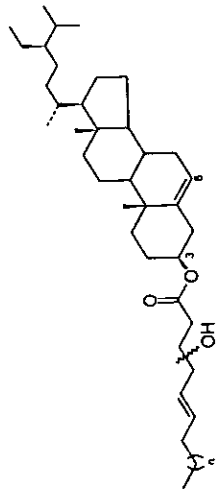
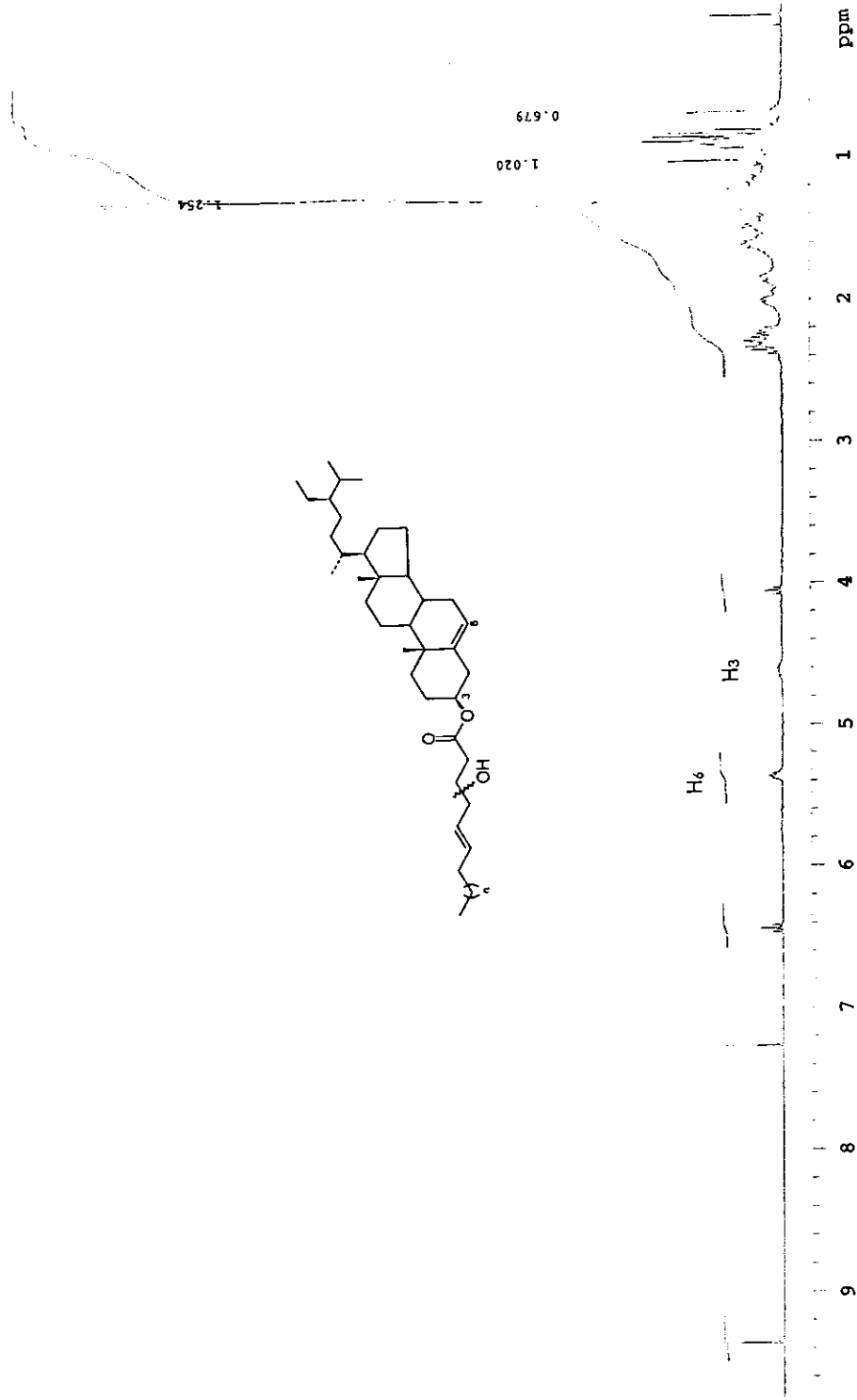
Espectro 18.- RMN¹³C (75 MHz, MeOD) 3',4',7-trihidroxi-flavona (53)



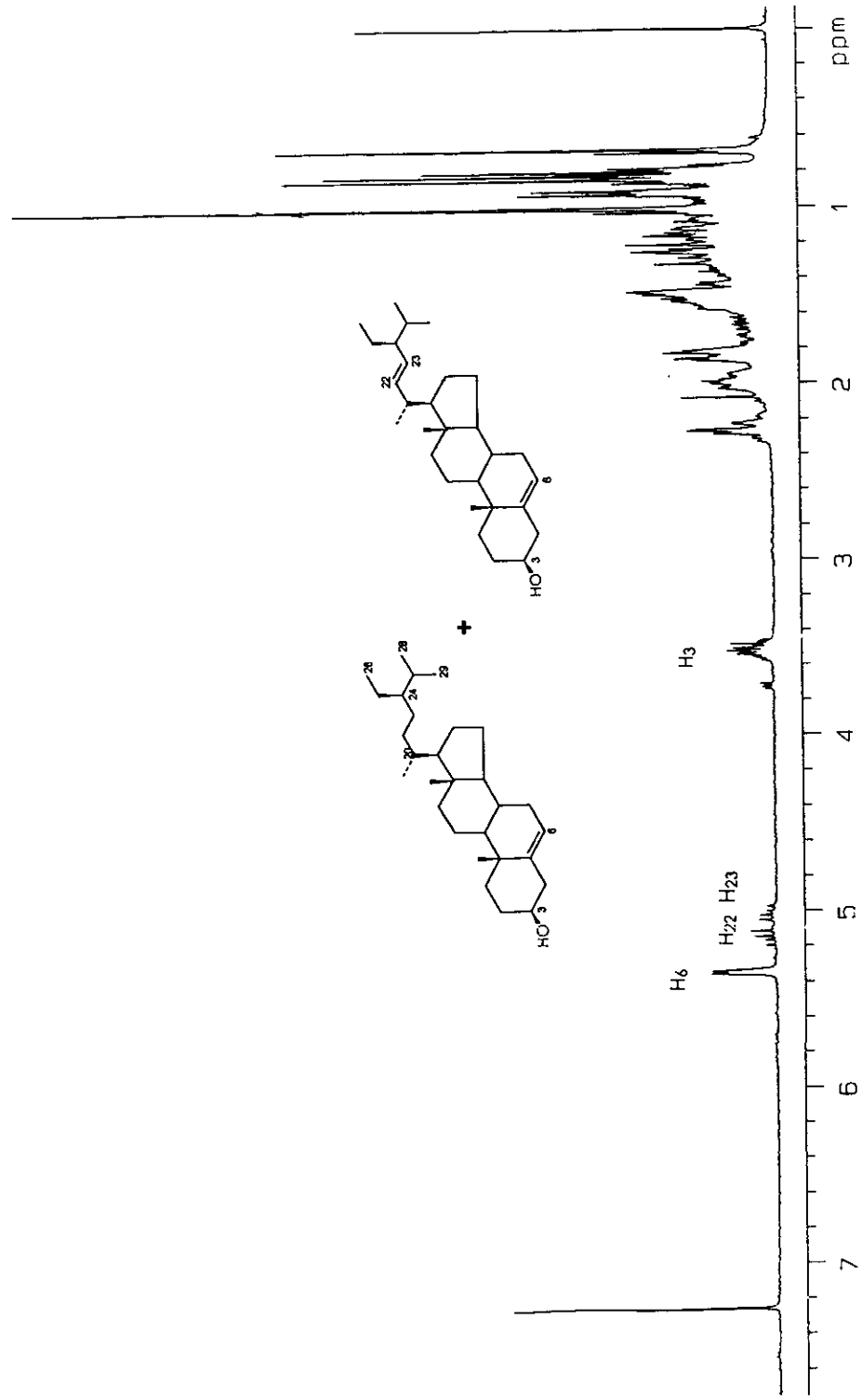
Espectro 19.-EM (IE) '4',7'-trihidroxiflavona (53)



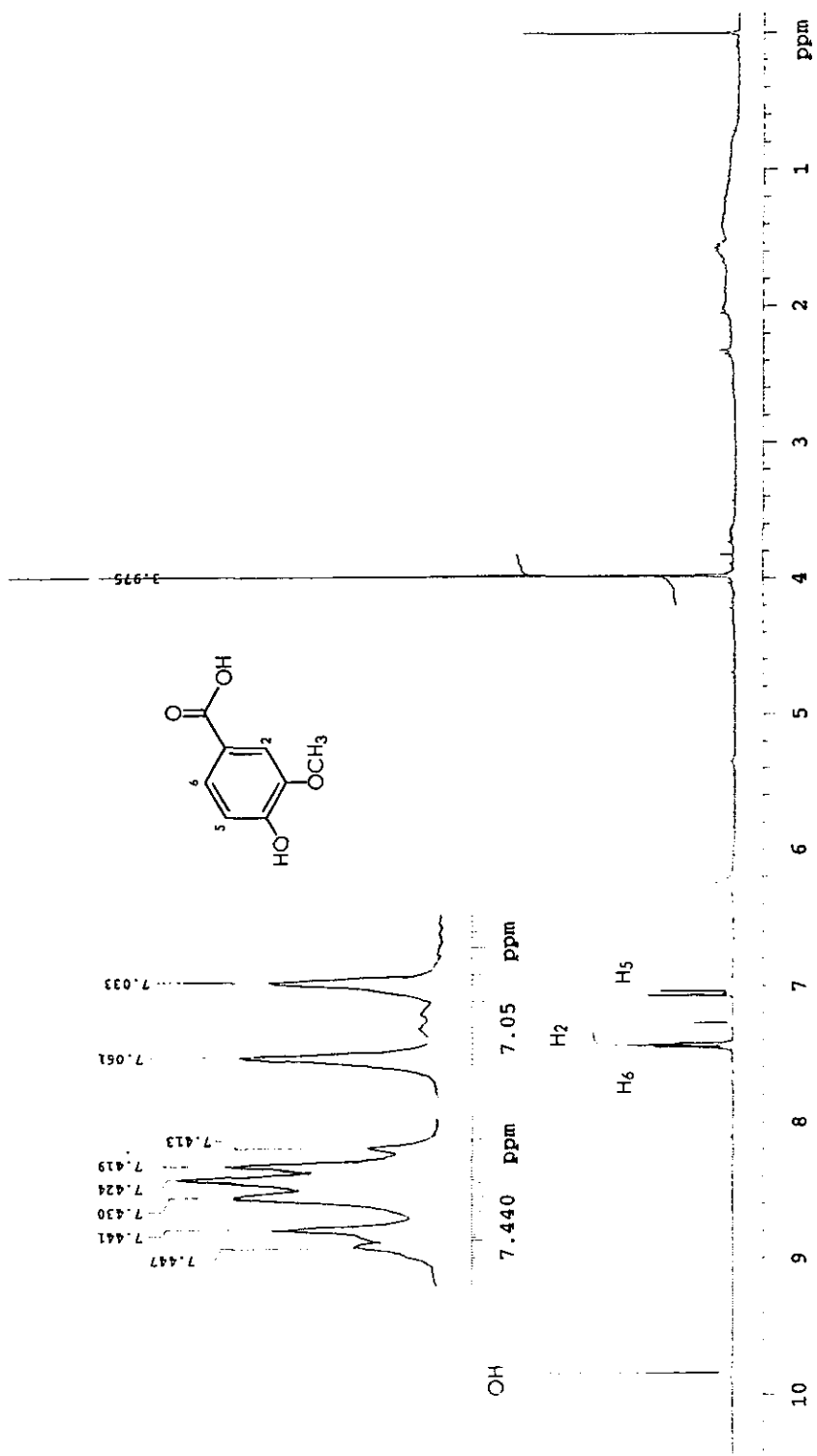
Espectro 20.- RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) Cera (54)



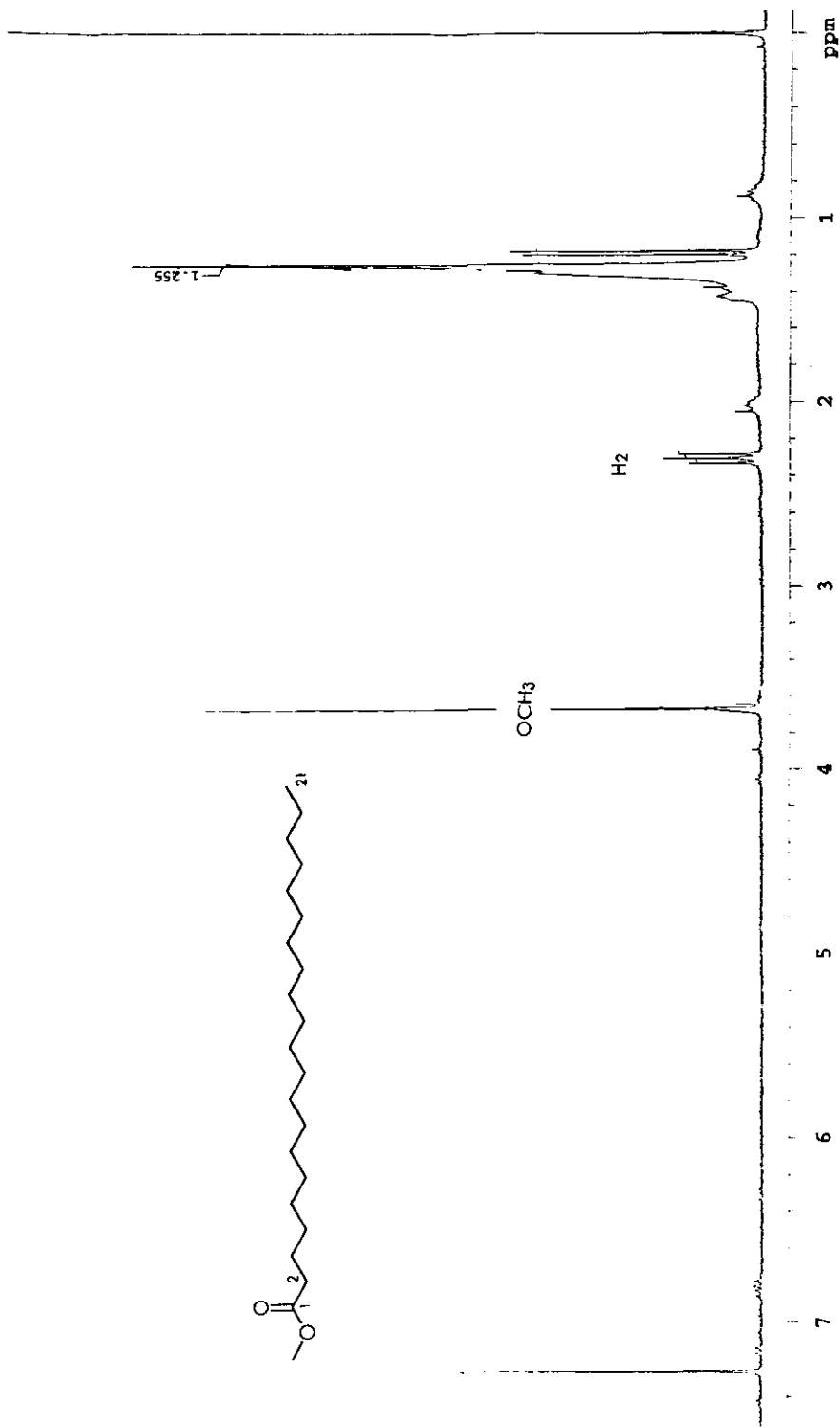
Espectro 21.- RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) Éster graso de β-sitosterol (55).



Espectro 22.- RMN^1H (300 MHz, CDCl_3) β -sitosterol (41) + Estigmasterol (56)



Especifro 23.- RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) Ácido 3-metoxi-4-hidroxi-benzoico [57]



Espectro 24.- RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) Éster metílico del ácido heneicosanoico(58)

12.- BIBLIOGRAFÍA

- Ahmed, M.; Datta, B. K.; Rouf, A.S.S.; Jakupovic, J. Flavone and α -Santalene Derivatives from *Polygonum flaccidum*. *Phytochemistry* 1991, 30, 3155.
- Aldrich Library of ^{13}C and ^1H FT NMR Spectra, 1993, 3, 569A (β -sitosterol).
- Aldrich Library of ^{13}C and ^1H FT NMR Spectra, 1993, 1, 755C (Ac. tetradecanoico).
- Aldrich Library of ^{13}C and ^1H FT NMR Spectra, 1993, 2, 166B (Undecanol).
- Aldrich Library of ^{13}C and ^1H FT NMR Spectra, 1993, 2, 1057C (Ac. 3-hidroxi-4-metoxi-cinámico).
- Aldrich Library of ^{13}C and ^1H FT NMR Spectra, 1993, 2, 1110B (Ácido 3,4 dimetoxi-benzoico).
- Aldrich Library of ^{13}C and ^1H FT NMR Spectra, 1993, 2, 434D (Ac. gálico).
- Aldrich Library of ^{13}C and ^1H FT NMR Spectra, 1993, 2, 1058B (Ac. 3,4-dihidroxi-cinámico).
- Aldrich Library of ^{13}C and ^1H FT NMR Spectra, 1993, 2, 1051C (Ac. *p*-hidroxi-cinámico).
- Aldrich Library of ^{13}C and ^1H FT NMR Spectra, 1993, 3, 568C (Estigmasterol).
- Aldrich Library of ^{13}C and ^1H FT NMR Spectra, 1993, 2, 1116A (Ac. 3-metoxi-4-hidroxi-benzoico).
- Alvarez, L. Informe interno. 1997. Laboratorio 1, edificio "C", Instituto de Química, UNAM.
- Bhakuni, D.S.; Chaturvedi, R. Chemical Constituents of *Crotalaria madurensis*. *J. Nat. Prod.* 1984, 47, 585.
- Berenbaum, M. R.; Zangerl, A.R. Phytochemical Diversity. Phytochemical Diversity and Redundancy. Recent Advances in Phytochemistry. 1996, 30. Eds.

Romeo, J. T.; Saunders, J.A.; Barbosa, P. Plenum Press, N. York.

- Bonfil, S. H. Efecto de la Diversidad de Metabolitos Secundarios Sobre la Degradación de Semillas Artificiales en un Suelo Agrícola. Tesis licenciatura. UNAM, 1995.
- Brown, L. L.; Larson, S.L.; Sneden A.T. Vanicosides C-F, New Phenylpropanoid Glycosides from *Polygonum pensylvanicum*. *J. Nat. Prod.* 1998, 61, 762.
- Cano, A. Informe interno. Laboratorio 1, edificio "C", Instituto de Química, UNAM.
- Covers, P.B.; Benoit, D.L. Seed banks in Arable Land. In Leck, M.A.; Parker, V.T.; Simpson, R. L. Eds. Ecology of Soil Seed Banks. 1989. pp. 309-328. Academic Press, San Diego, U.S.A.
- Castro, T. N. Aislamiento y Determinación de la Estructura Molecular de los Constituyentes Químicos Mayoritarios Presentes en *Lopezia racemosa* (Onagraceae). 1995. Tesis de licenciatura, Facultad de Química, UNAM.
- Cates, R.G. The Role of Mixtures and Variation in the Production of Terpenoids in conifer-Insect-Pathogen interactions. In Recent Advances in Phytochemistry. 1996, 30. Eds. Romeo, J. T.; Saunders, J.A.; Barbosa, P. Plenum Press, N. York.
- Chopin, J.; Dellamonica, G.; Bouillant, M.L.; Besset, A.; Popovici, G.; Weissenbock, G. Glycosylflavones from *Avena sativa*. *Phytochemistry* 1977, 16, 2041.
- Comunicado Técnico - Centro de Pesquisa Agropecuária do Tropicó Semi-Arido. Centro de Pesquisa Agropecuária do Tropicó semi -Arido (CPATSA), Petrolina, Brazil: 1998. 78, 5.
- Crombie, L.; Mistry, J. The Phytoalexins of Oat Leaves: 4-H-3,1 Enzoxazin-ones or amides. *Tet. Lett.* 1990, 31, 2617.

- Cruz M. C. A. Aislamiento y Caracterización de los Constituyentes Químicos Mayoritarios Presentes en las Semillas de Ciertas Plantas Arvenses. 1996. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM.
- Dierickx, P. J.; Buffel, K. Monocotyledonae. Gramineae. Hydroxy-Hentriacontandiones from *Avena sativa*. *Phytochemistry* 1972, 11, 2654.
- Espinosa-García F. J. Diversidad de los Metabolitos Secundarios y la Teoría de la Defensa Vegetal. 2000.
- Espinosa-García F. J. and Delgado G. Relationship Between Ecology of Plant Defense and the Prospection of Secondary Metabolites with Potential Medicinal or Agricultural Application. *Rev. Latinoamer. Quím.* 1998, 26, 13.
- Espinosa-García, F.J.; Sarukhán, J. Manual de Malezas del Valle de México. UNAM-FCE. 1997.
- Estrada, A. Obtención y Determinación de los Metabolitos Secundarios Presentes en la Planta Arvense *Galisoga parviflora*. 1997. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Fukuyama, Y.; Sato, T.; Miura, Y.; Asakawa, Y. Drimane Type Sesqui- and Norsesquitenoids from *Polygonum hydropiper*. *Phytochemistry* 1985, 24, 1521.
- Furuta, T.; Fukuyama, Y.; Asakawa, Y. Polygonolide, an Isocoumarin from *Polygonum hydropiper* Possessing Anti-Inflammatory Activity. *Phytochemistry* 1986, 25, 517.
- Fushiya, S.; Sato, Y.; Nozoe, S. Structure and Synthesis of Avenic Acid B, a New Amino Acid Possesing an Iron Chelating Activity. *Chem. Lett.* 1980, 1215.
- Grench, J. N.; Li, Q.; Roufogalis, B.D.; Duke, C.C. Novel Ca²⁺ ATPase Inhibitors from the Dried Root Tubers of *Polygonum multiflorum*. *J. Nat. Prod.* 1994, 57, 1682.

- Habib, A.A.M.; Saleh, M.R.I.; Farag, M.A. Isolation of Crispatine and Fulvine from *Crotalaria madurensis*. *Lloydia*, 1970, 34, 455.
- Hammerschmidt, R.; Schultz, J.C. Multiple Defenses and Signals in Plant Defense Against Pathogens and Herbivores. In *Recent Advances in Phytochemistry*, 1996, 30. Eds. Romeo, J. T.; Saunders, J.A.; Barbosa, P. Plenum Press, N. York.
- Harborne, J.B. *Introduction to Ecological Biochemistry*. 1982. Academic Press. Inc. USA.
- Harborne, J.B.; Bisby, F.A.; Buckingham, J. (Eds.) *Phytochemical Dictionary of the Leguminosae: Plants and their constituents*. 1994, / Chapman & Hall, London.
- Harborne, J.B.; Grayer, R.J. *Flavonoids and Insects. The Flavonoids: Advances in Research since 1986*. 1994. Ed. Harborne, J. B. Chapman & Hall, London.
- Harborne, J.B.; Baxter, H. (Eds.) *Phytochemical Dictionary . A Handbook of Bioactive Compounds from Plants*. 1995. Taylor & Francis. Great Britain.
- Ishan, C.; Kuruzum, A.; Demirezer, O.L.; Sticher, O.; Ganci, W.; Ruedi, P. *Phenylvaleric Acid and Flavonoid Glycosides from Polygonum salicifolium*. *J. Nat. Prod.* 1999, 62, 1101.
- Isman, M.B.; Matsura, H.; Mackinnon, S.; Durst, T.; Towers, G.N. and Arnason, J.T. *Phytochemistry of the Meliaceae. Recent Advances in Phytochemistry*. 1996, 30. Eds. Romeo, J. T.; Saunders, J.A.; Barbosa, P. Plenum Press, N. York.
- Jacobson, U.; Muddathir, A.K. *Four Biologically Active Sesquiterpenes of the Drimane Type Isolated from Polygonum glabrum*. *Phytochemistry* 1992, 31, 4207.
- Javed, M.A.; Saleem, M.; Yamin, M.; Chaudri, T.A. *Lipid and Protein Constituents of Crotalaria juncea L.* *Nat. Prod. Sci.* 1999, 5, 148.
- Jayatilake, G. S.; Jakasuriya, H.; Lee, E.; Koonchanok, N. M.; Geahlen, R.L.; Ashendel, G.C.; McLaughlin, J. L.; Chang, C. *Kinase Inhibitors from Polygonum*

cuspidatum. *J. Nat. Prod.* 1993, 56, 1805.

- Kim, H. J.; Woo, E.R.; Park, H. A Novel Lignan and Flavonoids from *Polygonum aviculare*. *J. Nat. Prod.* 1995, 57, 581.
- Kivilaan, A.; Bandurski, R. S. The one hundred year periods for Dr. Beal's seed viability experiment. *Am. J. Bot.* 1981, 68, 1290.
- Knights, B. A. Isolation of 4-hydroxyphthalide from Oat Grain. *Nature.* 1966, 210, 1261.
- Kuroyanagi, M.; Yamamoto, Y.; Fukushima, S.; Ueno, A.; Noro, T.; Miyase, T. Chemical Studies on the Constituents of *Polygonum nodosum*. *Chem. Pharm. Bull.* 1982, 30, 1602.
- Livingston, A.L.; Bickoff, E.M. Identification of 3', 4',7-Trihydroxyflavone in Ladino Clover. *Chem. Pharm. Sci.* 1964, 53, 1557.
- Mabry, T.J.; Markham, K.R.; Thomas, M.B. The Systematic Identification of Flavonoids. pp. 105, Springer - Verlag, 1970.
- Maradufu, A.; Ouma, J.H. A New Chalcone as a Natural Molluscicide from *Polygonum senegalense*. *Phytochemistry* 1978, 17, 823.
- Markham, K. R.; Geiger, H. ¹H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Flavonoids and their Glycosides in Hexadeuterodimethylsulfoxide. The Flavonoids: Advances in Research since 1986. 1994. Ed. Harborne, J. B. Chapman & Hall, London.
- Mayama, S., Tani, S., Matsuura, Y., Ueno, T. and Fukami, H. The Production of Phytoalexins by Oat in response to Crow rust, *Puccinia coronata* f. sp. avenae. *Physiological Plant Pathology.* 1981, 19, 217.
- Molina F.E. Dinámica de poblaciones de malezas en un cultivo de maíz de temporal del Valle de México. 1986. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias.

UNAM.

- Namikoshi, M.; Nakata, H.; Nuno, M.; Ozawa, T.; Saitoh, T. Homoiostlavonoids and Related Compounds. III¹ Phenolic Constituents of *Caesalpinia japonica* SIEB. et ZUUC. *Chem. Pharm. Bull.* 1987, 35, 3568.
- Peguero, J.M.; Aislamiento y Caracterización de Lípidos, Oligosacáridos y otros Constituyentes Químicos de *Eragrostis mexicana* (Hornm.) Link. (Gramineae). Tesis de licenciatura. Fac. Quím. UNAM 1994.
- Pelletier, S.W.; *J. Nat. Prod.* 1986, 49, 892.
- Pitty, A.; Staniforth, D.W.; Tiffany, L. H. Fungi associated with caryopses of *Setaria* species from field harvested seeds and from soil under two tillage systems. *Weed Science* 1987, 35, 319.
- Prakash, A.O.; Dehadrai, S.; Jonathan, S. Toxicological Studies on the Ethanolic Extract of *Crotalaria juncea* Seeds in Rats. *J. Ethnopharm.* 1995, 45, 167.
- Price, J.R. The Yelow Colouring Matter of *Dahlia variabilis*. *J. Chem. Soc.* 1939, 141, 1017.
- Rao, M.S.; Rao, P.S.; Tóth, G.; Balázs, B.; Duddeck, H. A Revised Structure for Crotaramosmin from *Crotalaria ramosissima*. *J. Nat. Prod.* 1998, 61, 1148.
- Rathore, A.; Sharma, S.C.; Tandon, J.S. Flavanones from *Polygonum nepalense*. *Phytochemistry* 1986, 25, 2223.
- Roberts, H.A. Seed banks in soils. *Adv. Appl. Biol.* 1981, 6, 1-55.
- Roberts, H. A.; Feast, P.M. Emergence and longevity of seeds of annual weeds in cultivated and uncultivated soil. *J. Appl. Ecol.* 1973, 10, 133.
- Salinas, D.; Valladares M. G. Constituyentes Químicos de las Semillas de Tres Plantas Arvenses: *Tithonia tubaeformis*, *Taraxacum officinale* (Compositae) y *Amaranthus hybridus* (Amarantaceae). 1996. Tesis de licenciatura, Universidad

Autónoma del Estado de Morelos.

- Schmeda, H.G.; Franco, L.; Ferro, B. E. A Magic Use of *Crotalaria incana* pods. *J. Ethnopharm.* 1987, 21, 187.
- Smith, R. L. Ecology and Field Biology. 1980. Harper & Row Publishers, N. York.
- Vysochina, G.I. Total and Individual Contents of Several of the Principal Flavonoids found in the Aerial Parts of *Polygonum aviculare* Grown in Siberia. *Rastitel'Nye Rusursy.* 1998, 34, 47.
- Vysochina, G.I. Dynamics of Vontent and Flavonoid Component Composition in *Polygonum aviculare* L. *Rastitel'Nye Rusursy.* 1999, 35, 67.
- Waterman, P.G. Roles of Secondary Metabolites in Plants. Secondary Metabolites: Their Function and Evolution. Ciba Foundation Symposium. 1992, 171, 255. Eds. Chadwick, D.J.; Whelan, J. John Wiley & Sons, USA.
- Yadava, R.N.; Sigh, A. A novel Flavonone Glicoside from Seeds of *Crotalaria laburnifolia*. *Fitoterapia* 1993, 64, 276.
- Yadava, R. N.; Thakur, V. A Novel Cardenolide from the Seeds od *Crotalaria retusa*. *Fitoterapia* 1995, 66, 147.
- Yadava, R.N.; Matews, S. R. A Novel Flavonoid Glycoside from *Crotalaria verrucosa*. *Fitoterapia* 1994, 65, 340.
- Yadava, R.N.; Thakur V. A Cardenolide Cardiogenin 3-O-β-D-Xylopyranoside from the Seeds of *Crotalaria juncea*. *Phytochemistry* 1994, 35, 1375.
- Yang, N.; Cordell, G.A.; Lotter, H.; Wagner, H.; Moouly, B.C.; Rao, N.A.; Rao, P.S. Munchiwarin, a Prenylated Chalcone from *Crotalaria trifoliastrum*. *J. Nat. Prod.* 1998, 61, 1274.
- Zimmermann, M.L.; Sneden, A.T. Vanicosides A and B, Protein Kinase C Inhibitors from *Polygonum pennsylvanicum*. *J. Nat. Prod.* 1994, 57, 236.