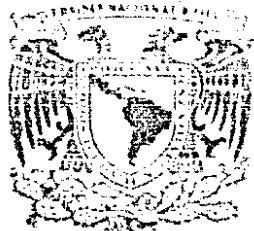


00361

11  
1988

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS



## ALGUNOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE Dalea leptostachya DC. (Leguminosae)

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS  
B I O L O G I A  
P R E S E N T A  
NELSON ROJAS MARTINEZ

MEXICO, D. F.

1988

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

Todo el material contenido en esta tesis está 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.

INDICE	PG.
INTRODUCCION	
OBJETIVOS .....	11
I. DESCRIPCION Y CLASIFICACION .....	12
Fig.1 <u>D.leptostachya</u> DC. ....	14
II. ECOLOGIA Y DISTRIBUCION .....	16
Fig.2 Distribución geográfica de la especie - <u>D.leptostachya</u> DC .....	18
III. ANTECEDENTES .....	19
3.1 Antecedentes químicos de leguminosas .....	19
3.2 Antecedentes químicos del género <u>Dalea</u> ....	22
3.3 Antecedentes biológicos de monoterpenos...	23
3.4 Importancia biológica de hidrocarburos ...	26
3.5 Importancia biológica del A.ricinolédico...	27
3.6 Biosíntesis	
Fig.3 Compuestos del metabolismo secundario de las plantas .....	29
IV. METODOLOGIA .....	34
Fig.5 Secuencia de pasos para la obtención de- compuestos .....	36
V. RESULTADOS .....	38
5.1 Extracto hexánico .....	38
Fig.6 Método de aislamiento del nonacosano y . triacontano .....	39
5.2 Extracto de acetato de etilo .....	42

Fig.7 Aislamiento e identificación del fitol...	43
5.3 Extracto de acetato de etilo .....	45
Fig.8 Aislamiento de algunos hidroxiaácidos....	46
5.4 Extracto metanólico .....	52
Fig.9 Metodología para la identificación del - ácido fenil valérico y flavonas .....	53
Fig.10 Cromatografía bidimensional en papel...	56
5.5 Aceites esenciales .....	58
Tabla Nº1 Identificación preliminar de flavo - noides .....	57
Fig.11 Cromatograma de aceites esenciales....	60
Tabla Nº2 Tiempos de retención de aceites - esenciales .....	61
VI. DISCUSION .....	64
VII. CONCLUSIONES .....	67
Espectros	
BIBLIOGRAFIA	

## INTRODUCCION

Las leguminosas constituyen una de las tres familias mas numerosas de las plantas superiores, superadas únicamente por las Compositae y Orchidaceae. La familia tambien es una de las mas importantes desde el punto de vista económico, aportando un amplio número de fuentes alimenticias.

Desde el punto de vista taxonómico y ecológico son de gran importancia, los miembros de esta familia se utilizan para ilustrar algunos fenómenos tales como la simbiosis con Rhizobium, los mecanismos de polinización entomófila, biosíntesis de fitoalexinas y a su vez juegan un importante papel en la vegetación y en los diversos habitats donde se han distribuido.

La especie Dalea leptostachya DC. objeto del presente estudio predomina en la depresión del Río Balsas y las presiones ambientales externas que ha soportado durante el curso de la evolución le han permitido una gran variedad de soluciones a diferentes problemas ecológicos relacionados a su ambiente, que se clasifica como bosque tropical caducifolio Rzedowski (1983).

Los factores que ejercen presiones selectivas indudablemente actúan a nivel de gen o genes, influyendo de esta manera sobre su morfología y la extensa gama de respuestas químicas en los mecanismos de biosíntesis que se manifiestan en los metabolitos primarios y secundarios respectivamente. Este último grupo incluye sustancias muy heterogé -

neas, algunas útiles para el crecimiento y reproducción de la planta, otras medicinales o tóxicas, otras únicas para la familia o exclusivas para una especie, etc.

Químicamente el género Dalea ha sido muy poco estudiado, las especies mexicanas conocidas desde el punto de vista químico son D.scandens var. paucifolia y D.thyrsiflora, reportadas como medicinales, Martínez (1959).

El aislamiento y caracterización de algunos metabolitos secundarios de esta especie constituye un aporte mas al conocimiento de este género y particularmente a las posibles funciones ecológicas de ciertos compuestos que le permiten adaptarse al ambiente, "defenderse" o sobrevivir en un medio árido y seco.

## OBJETIVOS

### 1. Generales

El aislamiento y caracterización de algunos metabolitos secundarios de Dalea leptostachya DC. pretende contribuir al conocimiento químico de esta especie y a ampliar lo hasta ahora reportado sobre éste género.

### 2. Particulares

2.1 Obtener extractos de la hoja con :

- a. Hexano
- b. Acetato de etilo
- c. Metanol

2.2 Separar y purificar algunos componentes presentes en cada uno de los extractos.

2.3 Identificar y caracterizar los compuestos obtenidos

2.4 Identificar y caracterizar los principales compuestos presentes en los aceites esenciales.

## I. DESCRIPCION Y CLASIFICACION

D. leptostachya DC. es un arbusto de 1-3 m de alto, con las ramas erguidas de 1.5 cm de diámetro en la base, tallos maduros de color pardo-rojizo, ramas jóvenes verdes o moradas, en ocasiones glaucescentes. Hojas pinnadas, de 3-11 cm de largo, estípulas angostamente triangulares, subuladas, de 0.5-1 mm de largo, raquis con 2-5 pares de folíolos elípticos o anchamente oblanceolados de 10-27 mm de largo, agudos con una hilera de glándulas en el margen, verde brillante o verde amarillento en el haz, pálidos y punteados en el envés. Inflorescencias terminales y opuestas a las hojas, pedúnculos de 1.5-6 cm de largo, espigas largas y laxas con dos series de flores sobre ejes de 2.5-12 cm de largo; brácteas ovadas, cortamente acuminadas, de 2.4-4.5 mm de largo, glandulares y cilioladas, caducas, cáliz sésil, de 4.4-6.2 mm de largo, densamente sedoso, amarillento; el tubo de 2.3-2.8 mm de largo, acostillado, glandular-impresso entre éstas, dientes deltados o triangulares acuminados, de 1.9-2.5 mm de largo; los dorsales más largos, pétalos amarillo verdosos, tornándose marrón o púrpura; estandarte de 4.6 mm de largo, uña de 1.7-2.5 mm de largo, lámina ovalada rómbica, recurvada 120°, de 2.6-3.6 mm de largo por 2.4-3.2 mm de ancho. forman do en la base una corneta ancha abierta adaxialmente; alas de 4-6.4 mm de largo, uña de 1.1-1.7 mm de largo, lámina ovoida u oblongo-lanceolada de 2.8-5 mm de largo por 1.5-2.4 mm de ancho; quilla de 6.7-7 mm de largo, uñas de 2-2.7 mm de largo, lámina anchamente ovada u ovoida de 4-5.4 mm de



largo por 2.2-3.1 mm de ancho; androceo decámero, de 6.2-7.6 mm de largo, anteras de 0.75-0.9 mm de largo. Legumbre de perfil triangular, moderadamente comprimida de 3.2-4.5 mm de largo por 0.5 mm de ancho, valvas hialinas pilosulas, cubiertas por pequeñas glándulas; semillas de 2.3-2.9 mm de largo. Florece de septiembre a febrero. Barnes, (1977)

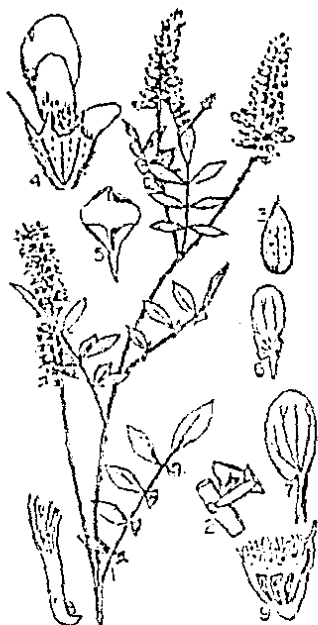


FIG. 1.- D. leptostachya DeCandolle: 1) rama con inflorescencias  
 2) pedicelulos 3) bráctea interfloral, vista dorsal  
 4) flor 5) estandarte, vista ventral 6) ala 7) quilla  
 8) androceo 9) vaina

Teniendo en cuenta el sistema de Cronquist, (1981) su clasificación es la siguiente :

División : Magnoliophyta  
Clase : Magnoliopsida  
Subclase : Rosidae  
Orden : Fabales  
Familia : Fabaceae  
Tribu : Amorpheae  
Género : Dalea  
Sección : Parosela  
Serie : Leptostachyae  
Especie : Dalea leptostachya DC.

## II. ECOLOGIA Y DISTRIBUCION

Esta especie habita en el bosque tropical caducifolio entre los 700 y 1650 m.s.n.m., así como en vegetación secundaria derivada de ésta, en laderas con suelos someros, rocosos generalmente cálcicos o de naturaleza volcánica, aunque también se encuentra en suelos aluviales asociada a diversas especies de los géneros Mimosa y Acacia.

El clima donde se localiza es el estepario, (BS) y el cálido subhúmedo (AW). Además su mas amplia cobertura se localiza en el subtipo (BS<sub>1</sub>) cuyo cociente P/T\* es mayor de 22.9, y en el (BS<sub>0</sub>), P/T menor que 22.9, es decir el menos seco y el mas seco de los esteparios respectivamente. Su límite climático es el (AW<sub>0</sub>), P/T menor de 43.2 o sea el menos húmedo de los subhúmedos. García (1981).

D. leptostachya DC. está circunscrita a la depresión del Río Balsas y florísticamente pertenece a la región caribe del reino neotropical Rzedowski (1983). El biotipo de las plantas de esta región se adapta perfectamente a las condiciones ambientales y ecológicamente es de gran importancia aunque no se haya demostrado suficientemente la naturaleza adaptativa de los organismos, la experiencia señala que, en general estos rasgos desempeñan papel importante en el acoplamiento de la planta al medio donde vive.

Las plantas de las zonas áridas han encontrado diversas soluciones y respuestas a las condiciones de aridez. Los

patrones biogenéticos en el género Dalea que abunda en lugares secos son significativamente diferentes a aquellos de leguminosas que habitan en bosques lluviosos o de condiciones similares. Aunque este tipo de variaciones son de importancia ecológica y evolutiva, constituyen un dilema para propósitos taxonómicos ( Martin et.al.: Langenheim et.al.1977; Stubble - vine, 1980 ).

La planta se localiza abundantemente en la periferia de la depresión del Río Balsas, desde Michoacán ( Mpio. Jungapeo y Patlancingo ), se dispersa hacia la pendiente de la Sierra Madre del sur de Gro. hasta los estados de Puebla y Oaxaca, Barneby ( 1977 ).

Los anteriores datos se corroboraron con los obtenidos en los herbarios de la Facultad de Ciencias (FCME) e Instituto de Biología (MEXU) y a su vez se presentan en el mapa de distribución geográfica. ( Ver fig. 2 ).

Los puntos ubicados en cada estado se consultaron en cartas geográficas y su localización es muy aproximada. Además se ilustra con línea oscura la depresión del Río Balsas donde prevalece la planta.

---

\*  $P/T$  ————— Precipitación media anual en mm  
 —————  
 Temperatura media anual en °C.

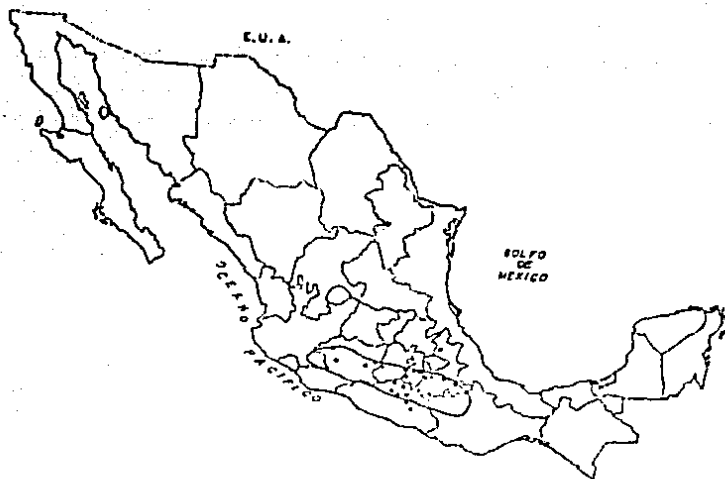


FIGURA 2. DISTRIBUCION GEOGRAFICA DE LA ESPECIE *Dalea leptostachya* DeCandolle (Leguminosae)

### III. ANTECEDENTES

Las leguminosas constituyen una de las familias mas numerosas dentro de las plantas superiores, estimativamente el número de géneros, principalmente especies reportadas por ( Shaw, 1966; Hutchinson, 1964 y Melchior, 1964 ) varía considerablemente entre 590 y 690 géneros, y 12000 a 17000 especies, pero el número de taxa descritos se ha incrementado desde entonces.

Ecológicamente los miembros de esta familia juegan un importante papel en la vegetación de muchas partes del mundo sus aplicaciones botánicas son tan diversas que se necesitarían varios volúmenes para reunir toda la información. Su importancia económica es muy amplia y son útiles como plantas alimenticias, forrajes, productoras de taninos y tinturas, gomas, resinas, aceites y condimentos, plantas medicinales, insecticidas y ornamentales.

#### 3.1 Antecedentes químicos de leguminosas

##### a. Terpenos

El conocimiento químico a nivel de familia es relativamente amplio, aunque este campo aún ofrece amplias posibilidades. Los compuestos mas abundantes son los terpenos Goodwin ( 1970 ), en efecto el número de terpenoides descritos, claramente ejemplifican la capacidad de las plantas para producir una interminable variedad de compuestos de idéntica estructura básica.

Por su amplia distribución, complejidad química y diversidad estructural, los terpenoides deberían considerarse de interés sistemático, sin embargo no han tenido un estudio intensivo en las leguminosas como en otras familias. ( Hegnauer, 1966; Erdtman, 1963; Von Rudloff, 1975). El conocimiento de los terpenoides constituye una poderosa herramienta para apreciar las relaciones botánicas.

La difundida presencia, abundancia y diversidad de terpenoides indica el alto valor potencial para las investigaciones sistemáticas. También su posible valor evolutivo es intrigante porque debido al valor metabólico de ciertos terpenoides ( carotenoides y giberelinas ) se han intensificado los estudios bioquímicos y fisiológicos. Los terpenoides han recibido menos atención en estudios sistemáticos de las leguminosas que otros compuestos tales como flavonoides, alcaloides, aminoácidos no proteicos, etc. La mayoría de estudios de terpenoides se han dedicado a compuestos comercialmente importantes.

#### b) Flavonoides

También las leguminosas son excepcionalmente ricas en flavonoides, y su difusión más notoria se da en la Tribu Papilionidae, aunque la química de estos flavonoides es muy primitiva, encontrándose los C-glicosilflavonas cuyos patrones de oxigenación son reminiscencias de gimnospermas. Mientras los flavonoles están presentes generalmente en plantas maderables, las flavonas se encuentran en especies herbáceas



( Bate et.al. 1963 ). Considerando las isoflavonas y sus intermediarios, estas originan una gran variedad de tipos de esqueletos que biosintéticamente corresponden a flavonoides e isoflavonoides derivados de chalconas.

En el tratado de flavonoides de leguminosas de Bohn ( 1975 ) se estableció que las 5-desoxiauronas deberían tenerse en cuenta para caracterizar las leguminosas, sin embargo Do Nascimento y colaboradores ( 1976 ), describieron flavonoides similares en otras familias, de tal manera que esta generalización no es válida.

Algunos isoflavonoides complejos presentes en leguminosas los biosintetizan bajo condiciones de tensión, tales como infección por hongos. Estos compuestos isoflavonoides se denominan fitoalexinas y se encuentran en tejidos sanos de especies tropicales.

### c. Aminoácidos no proteicos

Otros compuestos reportados son los aminoácidos no proteicos que actúan contra herbívoros e insectos. Se sabe que las plantas sintetizan aproximadamente 240 aminoácidos, los cuales se presentan en estado libre o como derivados simples de bajo peso molecular. Un reducido número de estos aminoácidos están ampliamente distribuidos como intermediarios en vías metabólicas primarias; la gran mayoría se encuentran en un solo género de alguna familia o algunas especies. En leguminosas se han descrito, aislado y caracterizado 80 aminoácidos que son de interés fitoquímico y económico Bell ( 1975 )

El gran número de aminoácidos no proteicos encontrados en leguminosas probablemente significa que durante el curso de la evolución esta familia tuvo que resolver una gran variedad de problemas ecológicos. Cada vez que biosintetiza un aminoácido la planta adquiere una ventaja sobre las demás y sus posibilidades de supervivencia se incrementan. La acumulación de aminoácidos no proteicos, por ejemplo aquellos que son tóxicos o repelentes para un amplio espectro de insectos puede ser ventajoso en cada ambiente, esto explicaría la amplia distribución de especies que contienen algunos de estos compuestos.

### 3.2 Antecedentes químicos del género Dalea

Dalea es un miembro de la tribu Amorpheae distribuida en las áreas calientes del continente americano, algunas especies estudiadas son D. frutescens que contiene alcaloides como fenetilamina, ( Bennie et.al. 1966 ). D. coerulca que tiene fitohemaglutininas en las semillas, Navarro (1978), las cuales también se encuentran en D. encandra ( Hardtman et.al. 1983 ), ácido cianhídrico aislado de D. formosa Hershey ( 1945 ). D. emoryi contiene cimarinas, 5-metoxicumarinas, dalrubonas y metoxidalrubonas, mientras en D. poliadenia posee 2s-demetoximateucinol, Dreyer ( 1975 ), D. tinctoria tiene la misma composición química de D. emoryi Dreyer ( 1978 ). D. scandens var. paucifolia y D. thyrsiflora son nativas de México y se han reportado como plantas medicinales, Martínez ( 1959 ). Ambas plantas contienen aceites esenciales muy ricos en mono y sesquiterpenos. Además se aislaron

una isoprenilflavona, la lousifieserona, Dominguez ( 1978 ) y tambien una chalcona denominada aurentiacín Correl ( 1970 ) y alpinetín ( Dreyer et.al. 1975 ). Del extracto de éter de petróleo de D.thyrsiflora se obtuvo lousifieserona, - isolousifieserona y sitosterol, de otras especies de este mismo género se aisló manitol.

### 3.3 Aspectos biológicos de monoterpenos

Aunque los monoterpenos se distribuyen ampliamente en los vegetales como intermediarios de fitosteroles y carotenoides, solamente se acumulan en las clorófitas, rodófitas, gimnospermas y angiospermas Weissman ( 1966 ), los sitios de síntesis de los componentes de aceites esenciales no están definitivamente establecidos, pero se sabe que se acumulan en tejidos especializados - glándulas de aceite - que generalmente son conductos de resinas o pelos epidérmicos modificados Paech (1950), y actualmente se sugieren como sitios de síntesis células secretorias asociadas con estas glándulas, aunque las células del parénquima ordinario no pueden excluirse para desarrollar esta función.

La producción de monoterpenos específicos está regida por un estricto control genético, aunque las cantidades de aceites están afectadas por factores medioambientales. Estos factores influyen de manera determinante, dando diferentes aceites cuando crecen en diferentes áreas y en distintas cosechas en la misma área Flück ( 1963 ).

Los terpenoides únicamente los producen las plantas su-

periores filogenéticamente recientes y solamente se biosintetizan aquellos que son fisiológicamente necesarios. Pocos son los terpenoides que juegan un papel biológico conocido - Goodwin ( 1967 ). Algunos monoterpenos específicos son agentes antimicrobianos Rao ( 1970 ), reguladores del crecimiento, calor y transpiración Shama ( 1970 ) y como participantes en la fotosíntesis. Otras funciones son, como inhibidores de tumores Boyland ( 1940 ), estimuladores de la carotenogénesis Lederberg ( 1969 ), inhibidores de la fosforilación oxidativa, Lyr ( 1967 ), determinante del sexo para algas Sanderman ( 1962 ), repelentes de insectos Eissner ( 1964 ), feromonas de insectos Karlson ( 1970 ), atrayentes para felinos y caninos Todd ( 1962 ), antidiabéticos y estimuladores del aprendizaje de las ratas Appel ( 1966 ).

Algunas funciones adicionales que podrían tener significado de sobrevivencia son aquellas de repelencia a predadores y de inhibición del crecimiento de plantas competidoras. Este último efecto está bien establecido bajo ambas condiciones, controladas y habitat natural ( Muller, 1968 ; Sokol, 1962 ) y podría ser mas efectivo en aquellas condiciones semiáridas en las cuales el grupo de plantas produce el aceite. Los monoterpeno glucósidos podrían tambien jugar un papel en la síntesis de las paredes celulares de las plantas, similares a las del manosil -1-fosforil poliisoprenol en la síntesis de manita (azúcar) de bacterias ( Scher et.al. 1968 ).

Se han propuesto tres teorías para considerar el significado biológico de los terpenoides :

La primera consiste en que estos mantienen las coenzimas respiratorias en una forma reducida, para actuar como un substrato para proveer ATP en el metabolismo cuando otras fuentes disminuyen Burbott ( 1969 ). Además los monoterpenos proveen una reserva de material para la síntesis de pigmentos fisiológicamente importantes. Los monoterpenos ciertamente podrían ser muy buenos substratos para este papel y excelentes fuentes de substrato oxidable. La oxidación biológica de mentona a través de vías similares a aquellas descubiertas por la acción microbial del geraniol podrían desarrollar 12 moléculas de ATP por 2 unidades de C, en contraste con los ácidos grasos y 10 a 11 moléculas por oxidación de glucosa.

El segundo propósito Goodwin ( 1967 ) es que la mayoría de terpenoides no tienen función por estar al lado de productos de enmascaramiento, desde los cuales los terpenoides esenciales - hormonas de plantas, fitosteroles y carotenoides - seleccionan.

La tercera teoría Bu'lock ( 1965 ) dirige la atención a la actividad de formación de los productos. Las plantas y microorganismos se caracterizan por producir terpenos durante períodos de dormancia de todo el organismo o de tejidos localizados para mantener el sistema enzimático apropiado en estado activo. La red particular de enzimas define claves específicas intermedias e.g. GPP o NPP, que están sujetas a interconversiones relativamente inespecíficas en una rejilla metabólica. La diversidad de productos es benéfica para prevenir la acumulación de posibles sustancias tóxicas o inhibi

dores. Esta teoría considera que la presencia de metabolitos secundarios en plantas y organismos durante la dormancia está seguida bajo condiciones favorables por una regeneración de tejido específico o de crecimiento.

### 3.4 Importancia biológica de hidrocarburos

Los alcanos están ampliamente distribuidos en los reinos animal y vegetal. En las plantas son mas abundantes en las ceras de la cutícula que actúa como cubierta protectora de hojas y tallos, De Bary ( 1871 ) estableció que la cubierta de cera varía en cantidad y estructura en las diferentes especies y que en la mayoría de los casos el recubrimiento está constituido por millones de minúsculas placas de aproximadamente  $10\mu$  o menos de longitud. Juniper et.al. (1962) propusieron que la cera se origina en las células epidérmicas como gotas de aceite que llegan a la superficie de la planta por medio de diminutos canales penetrando la engrosada pared celular -la capa cuticular-. los "poros" o aberturas de estos canales los localizó Donaldson (1962) y presentan un diámetro de  $6\mu$ .

La cubierta natural protectora de las hojas de las plantas superiores consta de una cutícula inerte y su cubierta cerosa, la cual indudablemente interviene en el control del balance hídrico de la planta, especialmente bajo condiciones excesivamente húmedas o secas Hall et.al.(1961). Además la capa cerosa parece contener sustancias que inhiben el ataque bacteriano, fungal y de insectos Martin et.al. ( 1958 ).

Estas ceras tienen varios usos entre los cuales se destacan :

- a. Aglutinante del colorante en papel carbón.
- b. Para bajar la fitotoxicidad de plaguicidas líquidos en proporción 0.5 a 5%.
- c. Se usa para recubrir el acero y evitar su corrosión.
- d. Un uso importante es la conservación de frutos, ya que al recubrirse con una delgada capa de cera, resultan protegidos del ataque de hongos y bacterias, conservándose al mismo tiempo mas frescas debido a que la cera evita la evaporación Mazliak (1963).

### 3.5 Importancia biológica del ácido ricinoléico

Aumenta la actividad glucolítica en las células sanguíneas D'lessandro et.al. (1936), in vitro ejerce acción neutralizante sobre algunos compuestos químicos como el "curare", Vincent et. al. ( 1936 ), en forma de ricinoleato de sodio se ha utilizado con buenos resultados en terapéutica dental y como antiséptico oral Jones (1927), además ejerce acción bactericida sobre los bacilos de la tuberculosis e inmoviliza la espiroqueta causante de la sífilis, Violle et.al. (1930), inhibe las reacciones de precipitación de las proteínas del suero Holmes , (1941), al hacer reaccionar el óxido de etileno con aceite de ricino se obtuvo el cremophor que mostró un efecto antidiurético Coppi et.al. (1971).

### 3.6 Biosíntesis

Las células de los organismos vivientes son sitios de intrincadas y complejas actividades biosintéticas, resultando de la formación de un notable grupo de compuestos orgánicos

La síntesis en las plantas es un fenómeno sorprendente porque los materiales de partida son sustancias simples, agua, dióxido de carbono, nitrógeno, compuestos de fósforo y pequeñas cantidades de sales inorgánicas. El proceso sintético primario es la fotosíntesis y los productos iniciales son los carbohidratos, compuestos orgánicos de bajo peso molecular y estructuras simples, entre éstos, azúcares, ácidos carboxílicos y aminoácidos.

Estas sustancias universalmente distribuídas se forman en el proceso metabólico primario.

Las plantas forman los materiales de partida para reacciones específicas, genéticamente controladas y enzimáticamente catalizadas que conducen posteriormente a complejos compuestos que caracterizan el metabolismo secundario de las plantas. Un resumen esquemático se muestra en la figura 3.

Los productos del metabolismo secundario tienden a coincidir con los productos naturales tradicionales de la química orgánica, tales como terpenos, alcaloides, pigmentos, etc.

Aunque no son esenciales para la planta, juegan un papel fundamental en la supervivencia de algunas especies sobre otras. No está muy claro aún por qué se producen tantos





metabolitos secundarios. Algunos autores sugieren que son productos de detoxificación de sustancias venenosas o metabolitos superabundantes que no pueden eliminarse de otra manera. Otros investigadores consideran que los metabolitos son un almacenamiento de energía y alimentos de las plantas que pueden utilizarse cuando sea necesario.

Analizando los compuestos encontrados en D. leptostachya y considerando el esquema biosintético total se puede afirmar que los compuestos mas abundantes son las ceras y su amplio número de constituyentes, entre ellos varios hidrocarburos cuya ruta biosintética involucra descarboxilación de los ácidos grasos correspondientes a sus precursores inmediatos. Los ácidos de cadena larga  $C_{20}$  -  $C_{34}$  probablemente originaron los n-alcamos típicos y son constituyentes comunes de las ceras que derivaron de una forma semejante a los glicéridos, cuyas vías de biosíntesis se proponen a partir del acetato y malonato (Eglinton et.al. (1963).

Los terpenoides son un producto del metabolismo del acetato, sintetizado a través de la vía del mevalonato, constituyendo el bloque activo  $C_5$  del isopreno el isopentenil pirofosfato (IPP). Este condensa con un doble enlace del isómero para formar el precursor del  $C_{10}$  geranyl pirofosfato (Fig.4) que es luego el punto de partida para la mayoría de los terpenos de las plantas. La multiplicidad de los terpenoides naturales se forma por variación en el modo de cuenta de condensación. Los monoterpenos como el linalool, eugenol, o-cimeno se originan del geranyl pirofosfato (GPP)

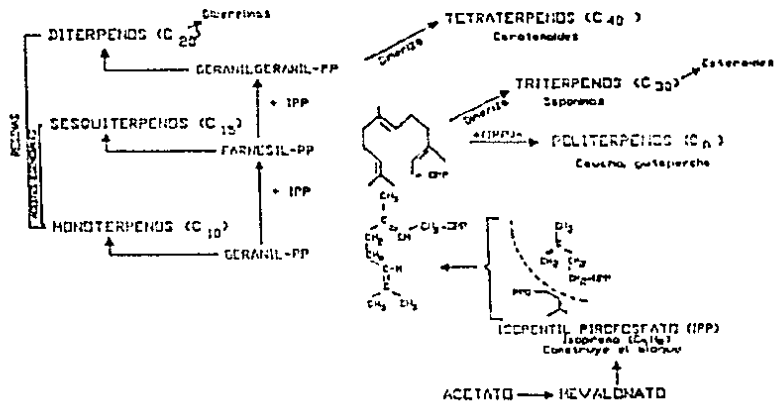


FIG 4 BIOSINTESIS DE TERPENOS

por cilización, transposición u oxidación. La adición de otras unidades de IPP dan farnesil pirofosfato que conduce a los sesquiterpenos como el farnesol y sus isómeros. Estos mono y sesquiterpenos son volátiles y a menudo se refieren a los aceites esenciales debido a su fragancia. Los diterpenos como el fitol se derivan del geranyl pirofosfato que se produce de la condensación de las 2 unidades GPP. Los ácidos diterpenoides de resinas son las fracciones no volátiles primarias de las resinas de las plantas, que también contienen mono y/o sesquiterpenos que facilitan el flujo de las resinas. Resulta notable que los compuestos aislados corresponden a los primeros estadios de las transformaciones biogénicas. Las giberelinas, reguladores del crecimiento son derivados diterpenoides que se consideran omnipresentes en las plantas superiores y se han aislado de diversas leguminosas. Sin embargo en este caso no se pudo encontrar ningún diterpeno excepto el fitol, aun cuando no dudamos de la presencia de giberelinas, el aislamiento de éstas requiere de técnicas muy especializadas y además su aislamiento se encontraba fuera de los objetivos iniciales del presente estudio.

La condensación cabeza-cola de IPP puede formar cadenas muy grandes, i.e. los politerpenos (incluyendo caucho y gutapercha) que sin embargo no son significativos en las leguminosas.

Además la condensación cabeza-cola de unidades isoprenoides que conducen a los anteriores compuestos, tri y tetra

triterpenos, pueden formarse por dimerización cola-cola de 15 y 20 unidades. Así la dimerización de farnesil PP forma escualeno ( $C_{30}$ ), de los cuales se derivan los triterpenos cíclicos y esteroides. Los tetraterpenos ( $C_{40}$ ), productos de la dimerización del GPP, incluyen carotenoides y los pigmentos fotosintéticos.

#### IV. METODOLOGIA

Debido a la abundante distribución del género Dalea en la depresión del Río Balsas se escogió para su colecta la localidad de Iguala (Gro). Inicialmente se recogió la muestra en el mes de octubre de 1986 y luego en agosto de 1987. Se identificó en el herbario de la Facultad de Ciencias (FCME), y luego se procedió al análisis de aceites esenciales. Para obtener mejor rendimiento se tomaron 200 g de hoja fresca y se extrajeron con éter de petróleo en frío durante 48 horas. Se filtró el extracto y se concentró a sequedad en rotavapor, y una mínima parte se envió a cromatografía de gases. El segundo análisis se hizo por arrastre con vapor y se extrajo con hexano y cloruro de metileno.

La mezcla de aceites esenciales se sometió a una cromatografía de gases, utilizando un cromatógrafo Hewlett Packard 5890 equipado con una columna capilar Carbowax 20-M de 20 m por 0.2 mm de diámetro, utilizando un flujo de hidrógeno. La temperatura de la columna se programó de 70 a 200°C, la temperatura del inyector fue de 200°C y la del detector - de ionización de flama a 200°C.

También se corrió una cromatografía de algunos estándares reportados para leguminosas y se compararon con los tiempos de retención de la muestra original. Para ratificar definitivamente los compuestos ésta misma muestra se sometió a una cromatografía de gases masas en las mismas condiciones - que la anterior, obteniéndose los espectros de masas de los-

compuestos que se identificaron por tiempo de retención y mediante la comparación con los estándares. Algunos de los compuestos reportados estuvieron acompañados de uno o dos isómeros, pero éstos no se identificaron plenamente.

El excedente de la muestra se cortó en trozos muy pequeños y se secó a temperatura ambiente durante cinco días, se pulverizó, almacenó y guardó en refrigeración. Los distintos extractos se obtuvieron mediante maceramiento de 300 g de muestra de hexano, acetato de etilo, metanol, durante 48 horas. Estos se filtraron y concentraron a sequedad para realizar cromatografía en columna, utilizando como adsorbente sílice y mezclas de eluyentes de polaridad creciente. Se recogieron fracciones de 50 ml de las cuales se hizo cromatografía en placa fina, logrando la separación de algunos compuestos. También se utilizó el sistema de placa preparativa, colocándose por medio de pipetas de punta muy fina líneas completas de la solución a analizar. Este sistema desarrolla franjas entre los compuestos separados, los cuales se recuperan raspando la zona donde está el compuesto deseado y recuperándolo mediante uno de los métodos de extracción de sólidos por disolvente. (Fig.5).

Para el estudio de flavonoides se utilizó el sistema de cromatografía bidimensional en papel debido a que la mezcla de compuestos a separar es muy compleja. Esta cromatografía se realizó en una caja cromatográfica que posee un depósito de solvente (TBA : HOAc) en la parte superior, donde se inserta una hoja de papel Whatman 3MM. La mezcla origi

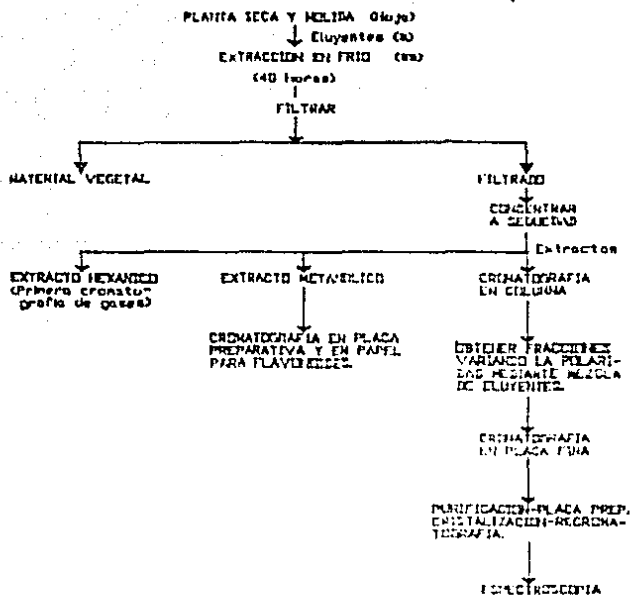


FIG 5 SECUENCIA DE PASOS PARA LA OBTENCION DE COMPUESTOS

- (a) Se utilizaron eluyentes de distintas polaridades: hexano-acetato de etilo, acetona, etanol y algunas mezclas.
- (b) También se realizaron extracciones en Soxhlet y por arrastre con vapor para aceites esenciales.



nal se aplica cerca de una de las esquinas. El sentido que sigue la cromatografía es descendente, luego se saca, seca y gira 90° para correrla nuevamente con otro disolvente.

Los compuestos así separados se distribuyen en el área del papel en lugares definidos, los cuales se comparan con patrones previamente establecidos. Para la identificación de flavonoides también se utiliza la luz ultravioleta (onda larga) cuya fluorescencia o absorción es característica para los distintos flavonoides.

Los resultados de la identificación preliminar de éstos compuestos se muestra en la cromatografía bidimensional en papel para flavonas (fig.10) y en la tabla N°1.

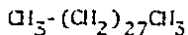
## V. RESULTADOS

### 5.1 Extracto hexánico

Se recogieron fracciones de 50 ml, algunas de las cuales después de evaporarse completamente el solvente cristalizaron a temperatura ambiente. El compuesto así obtenido se identificó posteriormente como el nonacosano. Luego se corrió una cromatografía de placa fina (sílice) observándose dos manchas bien definidas, distribuidas en el frente del solvente. Estas se separaron mediante placa preparativa, la mancha de RF 0.8 correspondió al triacontano. (fig.6).

Estos hidrocarburos están presentes en todos los extractos y obstaculizan el aislamiento de otros compuestos ya que enmascaran los productos obtenidos y se detectan fácilmente en IRN y EM, por lo cual se hizo necesario extraerlos con hexano o cloruro de metileno antes de pasar los extractos por la columna cromatográfica.

#### a. Nonacosano ( $C_{29}H_{60}$ )



P.M. 408.799

P.F. 63.4°C.

Densidad. a 70°C. 0.7755

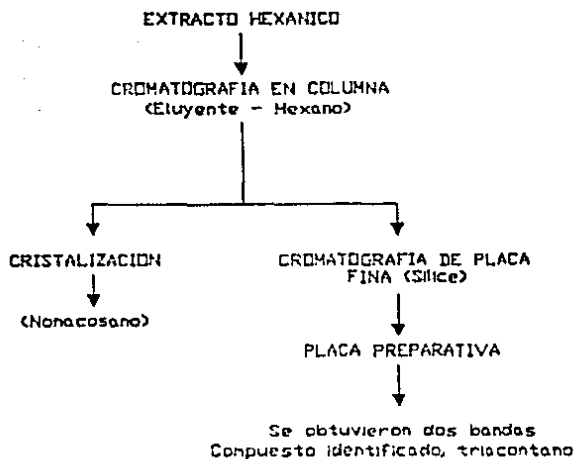


Fig.6 METODO DE AISLAMIENTO DEL NONACOSANO Y TRIACOSANO

## Espectros.

## IR\*. (Espectro N°1)

Frecuencia $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
2850	C - H
1450	C - C
750	C - H (Oscilación metilénica)

## EM\*\*. (Espectro N°3)

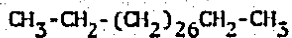
(70eV), m/e (408), 379, 71, 85, 43, 57 (100%)

## RMN\*\*\*. (Espectro N°2)

Aparece un triplete deformado para los metilos terminales en  $\delta=0.89$ . El resto de los protones metilénicos producen un singulete en  $\delta=1.27$ .

---

\*Infrarojo, \*\*Espectro de masas, \*\*\*Resonancia magnética nuclear.

b. Triacontano (  $C_{30}H_{62}$  )

P.M. 422.

P.F. 65.9°C

Espectros.

## IR. (Espectro N°4)

Frecuencia $cm^{-1}$	Asignaciones
2900	C - H
1460	C - C
720	C - H ( Metileno )

## RMN. (Espectro N°5)

Aparece un triplete deformado en  $\delta=0.89$  que integra para 6 protones, asignado a los metilenos terminales. El resto de los protones metilénicos generan una señal ancha en  $\delta=1.27$ .

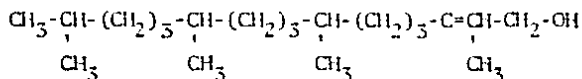
## 5.2 Extracto de acetato de etilo

Inicialmente este extracto se eluyó en columna utilizando hexano para eliminar las ceras. Algunas fracciones se cromatografiaron en placa fina de sílice utilizando como solvente una mezcla de hexano-acetato de etilo en proporción 9:1.

De las fracciones 1 y 2 se obtuvo una mancha de Rf 0.55 que se aisló mediante placa preparativa, obteniéndose 15 mg. del compuesto, que luego se identificó mediante espectroscopía de infrarrojo y resonancia magnética nuclear.

El producto identificado correspondió al fitol, diterpe no presente en la mezcla de ceras y probablemente en los aceites esenciales.

### a. Fitol (C<sub>20</sub>H<sub>40</sub>O)



P.M. 296.54

Espectros

IR. (Espectro N°20)

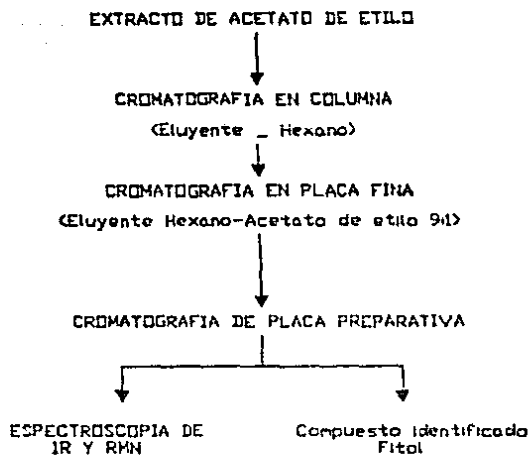


Fig.7 AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DEL FITOL

Frecuencia $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
3310	O - H ( Alargamiento )
1520	C - C ( Alarg. - tensión )
1380	C - C ( Tensión )

UV\* (nm)

 $\lambda_{\text{máx.}}$  212.

R&amp;N. (Espectro N°21)

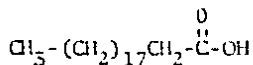
Los metilos sobre los carbonos  $C_7, C_{11}, C_{15}$ , generan una señal doble en  $\delta=0.89$ . Los protones del metileno  $C_4$  alílico al doble enlace generan una señal ancha en  $\delta=1.96$ . El metilo vinílico genera una señal ancha en  $\delta=1.67$ . En  $\delta=5.35$  aparece un triplete del protón vinílico en  $C_2$ , el metino base del hidroxilo genera un doblete  $\delta=4.02$ . El protón hidrofílico produce una señal ancha, intercambiable con  $D_2O$  en  $\delta=2.30$ . El resto de los protones generan una señal ancha en  $\delta=1$  a  $1.60$ .



## 5.3 Extracto de acetato de etilo

Se eluyó en columna con acetona y se recogieron fracciones de 50 ml, las cuales se concentraron y cromatografiaron en placa fina de sílice utilizando como solvente una mezcla de hexano-acetona (6:4). Las fracciones 1 a 4 que presentan igual distribución en la cromatoplaque se reunieron, y la mancha principal se separó mediante placa preparativa con una mezcla de solventes hexano-acetona(7:5). De esta manera se obtuvieron 2 bandas, una con Rf de 0.72 y la otra con Rf de 0.82. Esta última se envió a espectroscopía de IR y RMN, identificándose el ácido eicosanoico. Para las fracciones 5 a 8 se procedió de igual manera y se logró identificar los ácidos oléico, ricinoléico e hidroxioctacosanoico. (fig.8).

a. Acido eicosanoico (  $C_{20}H_{40}O_2$  )



P.M. 312.52

P.F. 74 - 76°C.

Espectros.

IR: ( Espectro N°10)

Frecuencia  $cm^{-1}$

Asignaciones

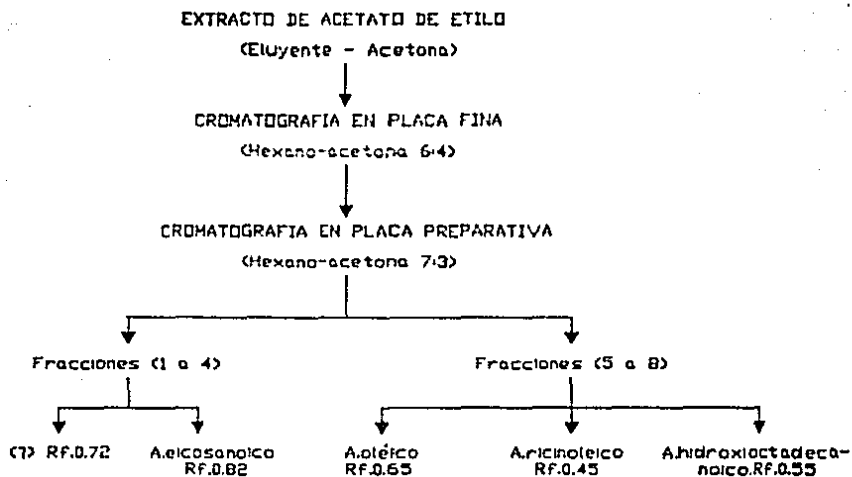


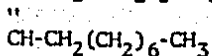
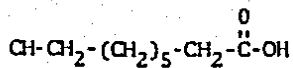
Fig.8 AISLAMIENTO DE ALGUNOS HIDROXIACIDOS

3180	OH (Alargamiento)
2920	OH (Alargamiento)
1700	C=O (Alargamiento)
1460	C-C (Alargamiento)
1250	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C}-\text{C}-\text{O} \end{array}$ (Alargamiento)
950	C-H (Flexión)

## RMN (Espectro N°11)

En  $\delta=0.87$  aparece una señal ancha asignada al metilo en  $\text{C}_{20}$ .  
 Los metilenos de  $\text{C}_3$  a  $\text{C}_{19}$  aparecen en una señal ancha en  $\delta=1.24$  que integra para 34 protones y en  $\delta=2.27$  aparece un multiplete asignado al metileno  $\alpha$  al carboxilo.

b. Acido oléico (  $C_{18}H_{34}O_2$  )



P.M. 282.47

Espectros.

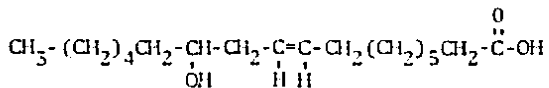
IR. (Espectro N°8)

Frecuencia $cm^{-1}$	Asignaciones
3300	OH (Alargamiento)
3000	CH (Alargamiento)
1700	C=O (Alargamiento)
1450	O-C
1270	C-O (Alargamiento)

## RMN. (Espectro N°9)

En  $\delta=0.88$  aparece un triplete deformado asignado al metilo - en  $C_{18}$ . En  $\delta=1.29$  aparece una señal ancha asignada a los metilenos de los carbonos  $C_3$  a  $C_7$  y  $C_{12}$  a  $C_{17}$ . En  $\delta=2$  ppm aparece un multiplete que se asigna a los metilenos  $\alpha$  a la doble ligadura en  $C_8$  y  $C_{11}$ . Los protones vinílicos aparecen en  $\delta=5.28$  produciendo un triplete ancho. En  $\delta=2.25$  aparece un multiplete asignado al metileno  $\alpha$  al carboxilo.

c. Acido ricinolico. (  $C_{18}H_{34}O_3$  )



P.M. 298.47

Espectros..

## IR. (Espectro N°6)

Frecuencia  $cm^{-1}$

Asignaciones

3500

OH  
(Alargamiento)

3000

H  
|  
C  
(Alargamiento olefínico)

2950

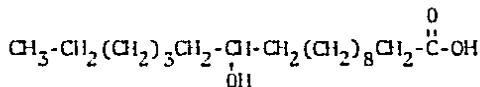
CH  
(Alifático)

UV (nm)

 $\lambda_{\text{máx.}}$  204, h 260

RMN (Espectro N°7)

En  $\delta=0.9$  aparece un triplete deformado del metilo terminal que integra para 3 protones. En 1.32 ppm aparece una señal ancha que incluye a los protones de los metilenos sobre los carbonos de  $C_3$  a  $C_7$ , y de  $C_{12}$  a  $C_{17}$ . Una señal ancha en  $\delta=1.79$  a 2.47 incluye los protones del metileno  $\alpha$  al carboxilo y los metilenos vecinos a la doble ligadura. El metino base del hidroxilo aparece en  $\delta=3.58$  y el protón hidroxílico en  $\delta=7.17$  que es intercambiable con  $D_2O$ . Finalmente los protones vinílicos producen un multiplete en  $\delta=5.40$ .

d. Acido hidroxiocetadecanoico (  $C_{18}H_{36}O_3$  )

P.F. 81 - 82°C.

Espectros.

IR (Espectro N°12)

Frecuencia $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
3400	OH (Alargamiento)
2900	C-H
1500	C-C
1390	O " C-O
690	(Oscilación metilénica)

RMN (Espectro N°13)

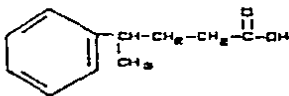
En  $\delta=0.9$  aparece un triplete que integra para 3 protones que se asignan al metilo terminal. Una señal ancha centrada en  $\delta=1.4$  que integra para 28 protones, se asignan a los metilenos  $C_3 - C_{11}$  y  $C_{13} - C_{16}$ . El metino base del hidroxilo se encuentra desplazado a 3.61 ppm. El metileno  $\alpha$  al carboxilo aparece como un triplete deformado que integra para dos pro-

tones en  $\delta=2.36$  ppm. En 6.87 ppm aparece una señal ancha intercambiable con agua deuterada que integra para un protón- y se asigna al protón del hidroxilo en  $C_{12}$ .

#### 5.4 Extracto metanólico

A partir de 6 g de extracto se corrió una columna cromatográfica utilizando como eluyente una mezcla de cloruro de metileno-metanol (7:3). Se recogieron fracciones de 50 ml, - las cuales se sometieron a cromatografía de placa fina, separándose posteriormente una mancha de Rf 0.3 con la misma mezcla de solventes mediante placa preparativa. Los espectros - de Ir y RMN indicaron que se trata del ácido fenil valérico. (Fig.9)

a. Acido 4-fenilvalérico (  $C_{11}H_{14}O_2$  )



P.M. 178.23

Espectros.

IR (Espectro N°14)

Frecuencia  $cm^{-1}$

Asignaciones



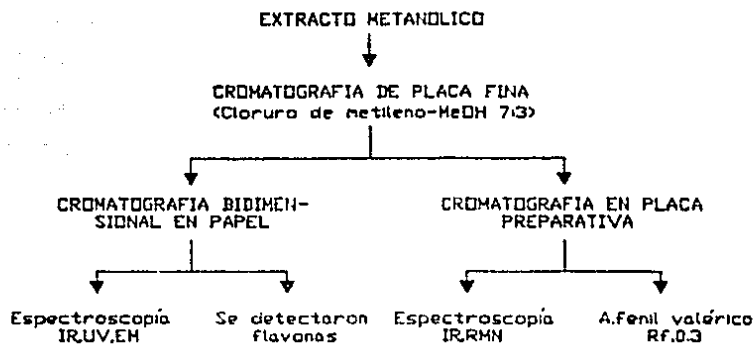


Fig.9 METODOLOGIA PARA LA IDENTIFICACION DEL AFENIL VALERICO Y FLAVONAS

3200	OH (Tensión)
3050	C-H (Aromático)
2820	C-H (Alifático)
1700	C=O
1400	C-C
1275	C-O
750	C-C
700	C-C (Oscilación metilénica)

UV (nm)

$\lambda_{\text{máx.}}$  267, h 263,247

RMN (Espectro N°15)

Una señal doble en  $\delta=1.25$ , se asigna al metilo en  $C_4$ . El -

metino base de ese metilo y del anillo aromático generan un sexteto en  $\delta=2.70$ . Los metilenos en  $C_2$  y  $C_3$  producen un multiplete en  $\delta=1.67$  a  $2.37$ . En  $\delta=7.15$  aparecen los cinco protones del anillo aromático y en  $\delta=11.76$  al protón de la función ácida.

#### b. Identificación preliminar de flavonoides.

Una mínima parte del extracto metanólico se utilizó para el estudio de flavonoides mediante cromatografía bidimensional en papel. Esta técnica permitió detectar la presencia de compuestos cuya coloración en presencia de radiación UV y la distribución de las manchas corresponde a compuestos flavonoides, tales como flavonas, isoflavonas o dihidroflavonas. (manchas de color azul). También se observó manchas de color amarillo fluorescente que probablemente corresponden a compuestos del tipo chalconas o auronas. Los anteriores datos permitieron una identificación preliminar comparándolos con los patrones de distribución ya establecidos.

Las manchas mejor definidas y de color característico para flavonas se recortaron y se extrajeron con metanol para su estudio de espectros IR, UV, RMN. Los resultados no fueron satisfactorios ya que se detectaron otros compuestos que están mezclados con los flavonoides. Los resultados de identificación preliminar de flavonoides se dan en la gráfica N°10.

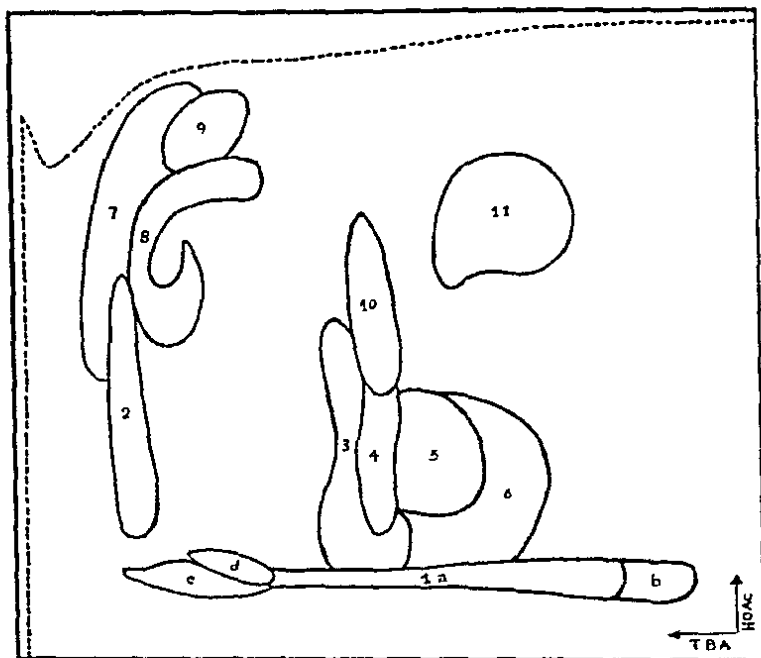


FIG. 10 CROMATOGRAFIA BIDIMENSIONAL EN PAPEL

Tabla N°1 Identificación preliminar de flavonoides

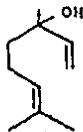
Nº Mancha	Color Luz UV	Tipo de flavonoide
1(a) (b)	fluorescencia absorción amarillo pálido	flavonas -
1(c) y (d)	amarillo opaco	flavonoles
2	amarillo verdoso	flavonoles con 3-OH.
3	verde amari - llento	Antociani - dínas.
4	azul oscuro	-
5	violeta	diglucósi - dos de fla vonas
6	amarillo y - rosa.	diglucósi - dos de fla vona
7	amarillo pálido	flavonoles glicósidos
8	amarillo opaco	-
9	violeta	flavanonas ( fustina )
10	amarillo opaco	flavonoles
11	violeta	flavonas.

#### 5.4 Aceites esenciales

La mezcla de aceites esenciales se obtuvo por arrastre con vapor de material fresco (hojas), extraído con hexano y cloruro de metileno respectivamente. Los espectros de IR y UV de la mezcla total indicaron la presencia de insaturaciones y algunos grupos funcionales característicos. Posteriormente la primera cromatografía de gases nos proporcionó valiosa información sobre el número de compuestos, porcentaje de los mismos y mediante los tiempos de retención relativos a sustancias conocidas fue posible identificar algunos compuestos.

Esta información se complementó mediante una cromatografía de algunos aceites esenciales conocidos presentes en las leguminosas y finalmente se identificaron por el sistema cromatográfico de gases-masas. Ver fig.11; 12. Tabla 1. Tiempos de retención; EM.16 - 19.

a. Linalool (  $C_{10}H_{18}O$  )



P.M. 154.24

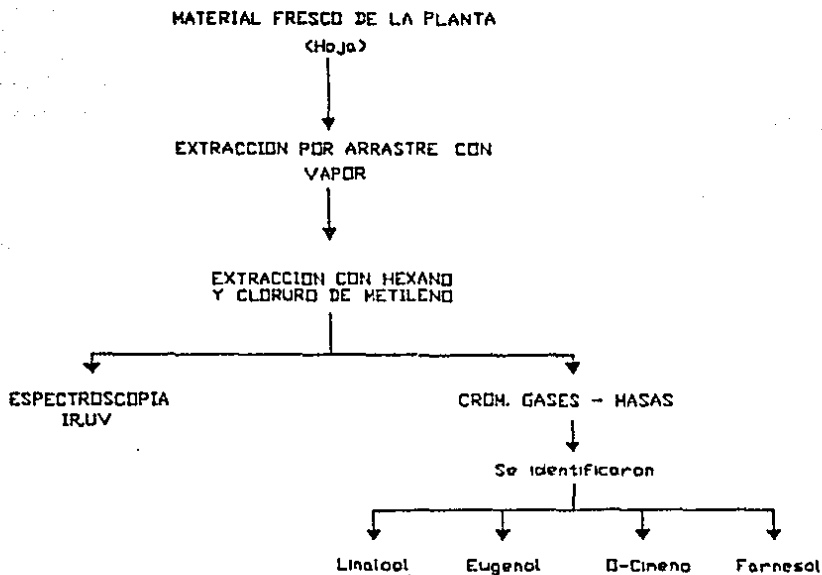


Fig.11 AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE ACEITES ESENCIALES

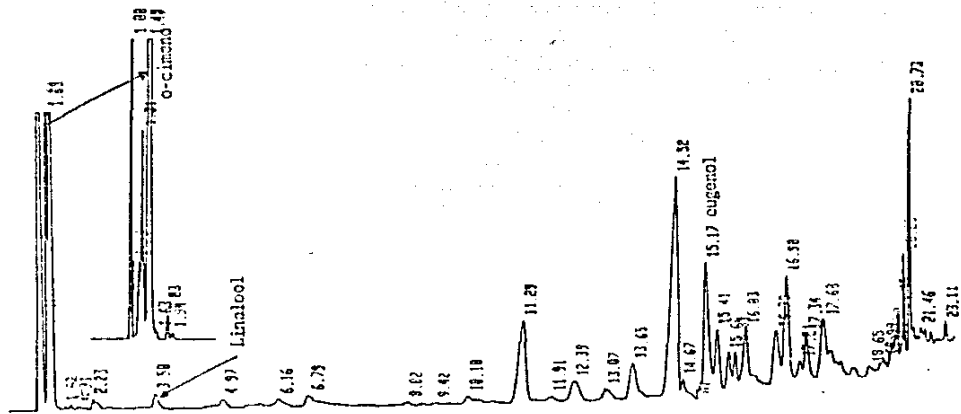


Fig.11 CRMATIOGRAMA DE ACEITES ESENCIALES



Tabla N°2 Tiempos de retención de aceites esenciales

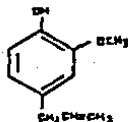
T.R	T.R.R	Compuesto
1.08	0.81	-
1.13	0.85	-
1.24	0.93	-
1.31	0.98	-
1.33	1.00	limoneno ?
1.43	1.08	p-cimeno ?
1.48	1.11	o-cimeno
1.62	1.22	-
1.63	1.23	-
1.75	1.32	-
1.83	1.38	-
1.91	1.44	-
1.94	1.46	-
2.23	1.68	-
3.50	2.63	linalool
4.97	3.74	-
11.29	8.49	-
12.39	9.32	-
13.07	9.83	-
13.65	10.26	-
14.52	10.92	-
14.67	11.03	-
15.17	11.41	eugenol
15.41	11.59	-
15.66	11.17	-
15.81	11.89	-
16.03	12.05	-
16.70	12.56	-
16.90	12.71	-
17.21	12.94	-
17.34	13.04	-
17.69	13.29	-
18.65	14.02	-
18.99	14.29	-
19.34	14.54	-
19.47	14.64	-
20.28	15.25	-
20.73	15.59	-

P.de ebullición. 198-199°C/760 mm

EM (70eV), m/e 93 (100%), 121,80,69,43,55,41,71

(Espectro N°16)

b. Eugenol (  $C_{10}H_{12}O_2$  )

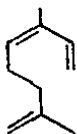


P.M. 164.

EM. (70eV), 164 (100%), 149,137,131,121,103,91,77,55,39.

(Espectro N°17)

c. O-cimeno (  $C_{10}H_{16}$  )



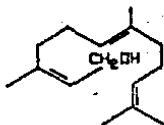
P.M. 136.23

Punto de ebullición, 65.5 - 66°C/18 mm

EM. (70eV), m/e 81(100%), 136, 106, 121, 39, 41, 55, 79.

(Espectro N°18)

d. Farnesol (C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O)



FM. 222.37

P. de ebullición, 149°C/4 mm

EM. (70eV), m/e 69 (100%), 222, 137, 109, 93, 81, 41.

(Espectro N°19)

## VI. DISCUSION

El estudio químico de una planta es muy vasto y comprende una amplia variedad de productos, tanto del metabolismo primario como secundario. La abundancia relativa dentro de la planta es muy variable y su importancia biológica es inherente a ella porque esta seguramente no sintetiza un compuesto que no sea fisiológicamente importante. La mayoría de los compuestos son susceptibles de aislarse y caracterizarse pero cada uno de ellos encierra una dificultad o técnica específica que permita obtenerlos en las mejores condiciones de pureza y cantidad posibles. Así mismo la obtención de un compuesto implica necesariamente la presencia de todos sus precursores biogénéticos relacionados con su propia vía o ruta de biosíntesis, las cuales en su mayoría se han elucidado y que a su vez desde el punto de vista evolutivo, celular y molecular representan millones de años de transformaciones y acumulación de información genética.

Refiriéndome a D.leptostachya DC. se quiere destacar que buena parte de sus compuestos están destinados a permitir que la planta se adapte a las condiciones climáticas mediante la producción de ceras, las cuales se acumulan en tallos y hojas de las plantas para impedir la evaporación del agua que han almacenado. Lo anterior concuerda con la abundancia de ceras en plantas nativas de zonas áridas.

Algunos de los hidrocarburos presentes en las ceras, en

tre ellos el nonacosano tienen valor quimiotaxonómico, debido a que son específicos para algunas especies Jerry (1969). Un ejemplo lo constituyen los hidrocarburos presentes en 63 especies de Aloes ( Liliaceae ), estudiados por Herbin et.al. (1968).

De esta mezcla heterogénea de las ceras se aisló e identificó varios hidroxiácidos, destacándose el ácido ricinoléico, de amplias aplicaciones (Ver importancia biológica). Otros compuestos de importancia aislados de Dalea están dentro del grupo de los terpenoides, obtenidos al estudiar los aceites esenciales. Estos compuestos presentan una variación en número y cantidades de aceites obtenidas en dos maestras analizadas, las cuales se colectaron en diferentes lugares y fechas. Estos resultados se corroboran con el reporte de Flück(1963) que sugiere que las cantidades de aceites son afectadas por factores medioambientales. Las mayores variaciones en la composición de aceites se producen mediante alteraciones causadas por el clima y habitat (Rudloff, 1966; Noguchi, 1952) y también por efectos estacionales Ahlrim (1956). Tales variaciones no se encuentran en aceites de especímenes maduros de muchas especies sino en plantas jóvenes, Rudloff (1965)

Algunos de los compuestos terpenoides aislados son el linalool, eugenol, o-cimeno, comprendidos dentro del grupo de los monoterpenos ( $C_{10}$ ), elaborados por las plantas, a las cuales sirven entre otras cosas para inhibir la germinación de otras especies y así evitar la competencia, especialmente por el agua, si ésta es escasa. Muller (1970).

También se aisló un sesquiterpeno ( $C_{15}$ ), el farnesol, con

siderado el precursor de los demás sesquiterpenos. Este compuesto de olor agradable se encuentra en numerosas plantas, aunque en cantidades muy pequeñas. El farnesol y su acetato así como muchos otros sesquiterpenos, tienen interesantes propiedades biológicas, una de ellas, su actividad como hormona juvenil.

Dentro del grupo de los diterpenos únicamente se aisló el fitol, comprendido en el grupo de compuestos de importancia por su comportamiento químico como por sus interesantes propiedades biológicas, entre las que destacan la actividad reguladora del crecimiento vegetal que tienen las giberelinas Goodwin (1971), la actividad antialimentaria para insectos que tienen algunos diterpenos entkaurénicos Kubo (1977), las propiedades tóxicas de los diterpenos con esqueleto de taxano, etc.

También se detectaron compuestos de tipo flavonoide, algunos de los cuales por su distribución y color de la mancha en presencia de radiación UV pertenecen al grupo de los flavonoles, flavanonas, antocianidinas, chalconas y auronas. La caracterización de estos compuestos no fue posible debido a que en los espectros aparecieron mezcladas con otros productos más fácilmente detectables por los distintos aparatos de espectroscopía. Los flavonoides descritos preliminarmente se dan en la descripción de la cromatografía bidimensional. - Fig.10.

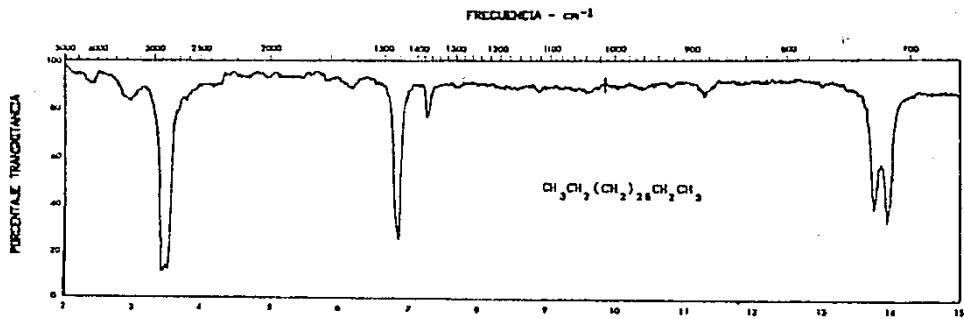
## VII. CONCLUSIONES

Una vez terminado el estudio químico de la especie D.leptostachya DC. y analizando los distintos extractos de los cuales se aislaron los productos obtenidos en el presente trabajo se puede concluir que del extracto hexánico se aislaron dos compuestos, nonacosano y triacontano, constituyentes de la cera que es abundante en esta planta.

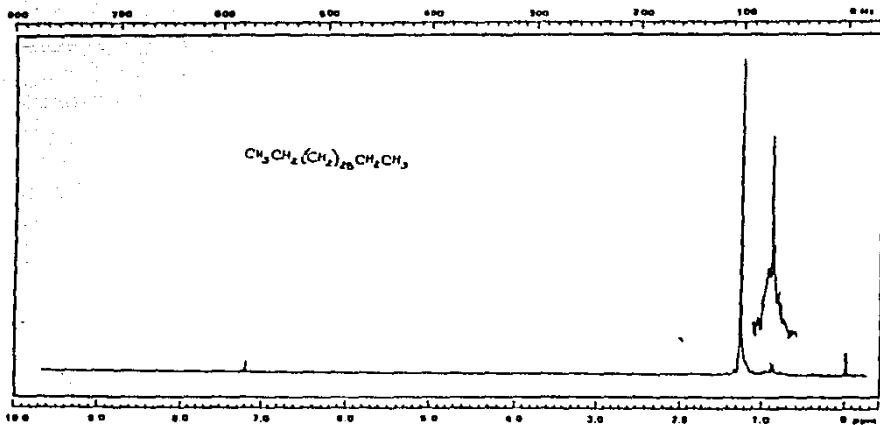
El extracto mas rico en compuestos fue el de acetato de etilo, habiéndose identificado a partir de él, un diterpeno, el fitol, hidroxiácidos como el ácido eicosanoico, ácido oléico, ácido ricinoléico, ácido hidroxiectacosanoico.

A partir del extracto metanólico se obtuvo el ácido 4-fenilvalérico y así mismo se detectaron importantes compuestos como los flavonoides, algunos de los cuales están reportados para leguminosas y también descritos para dos especies mexicanas de éste género.

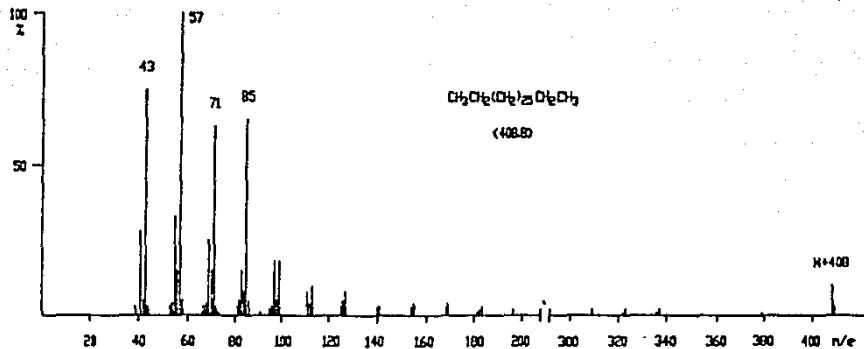
El análisis de aceites esenciales permitió obtener algunos monoterpenos que no se habían reportado para las hojas de las leguminosas, sino solamente para flor y semillas. Además se corroboran las variaciones en cantidad y variedad de aceites reportadas por (Rudloff, 1966; Noguchi, 1952) sobre las influencias medioambientales de una misma planta recolectada en lugar y fecha distinta.



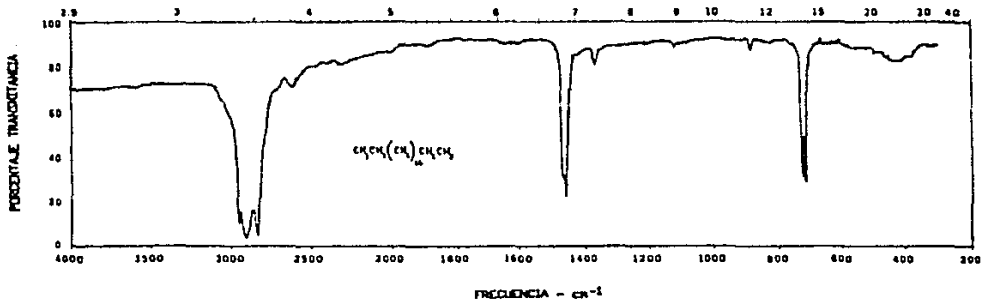




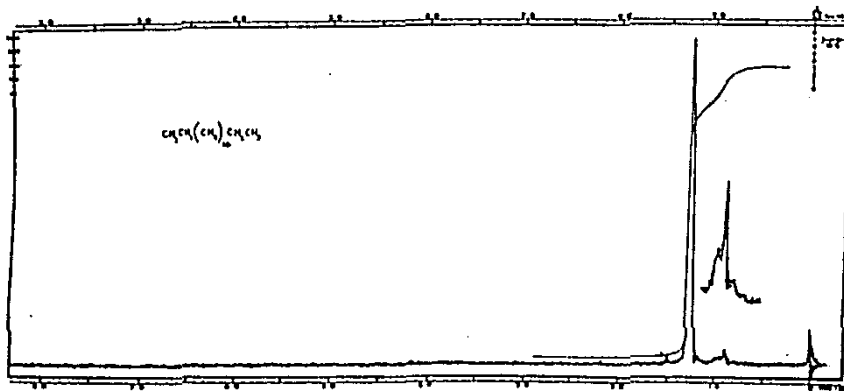
ESPECTRO No. 2 RMN NONACOSANO



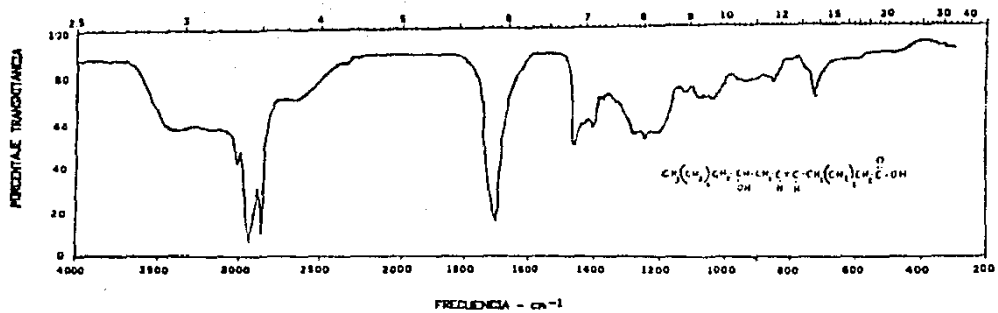
ESPECTRO No. 3 EN NONACOSANO



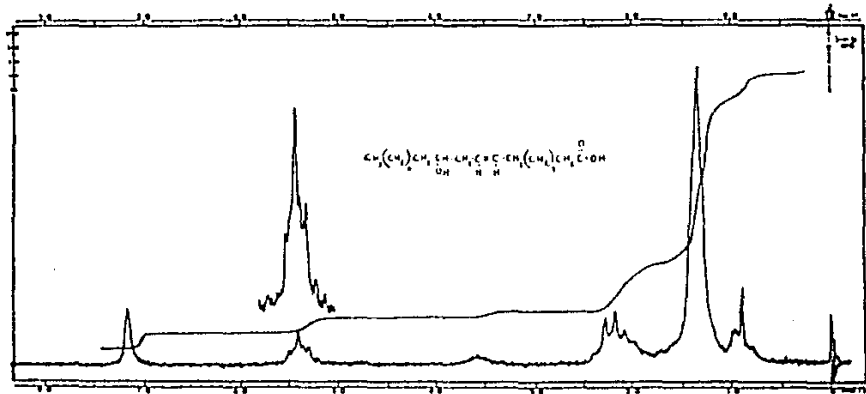
ESPECTRO No.4 IR TRIACONTANO



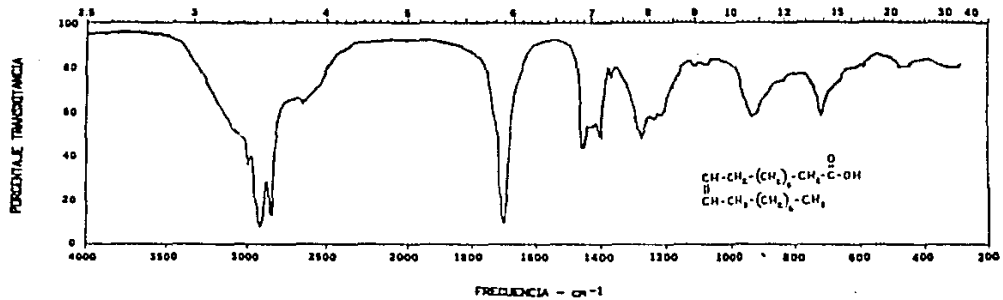
ESPECTRO No. 5 RMN TRIACONTANO



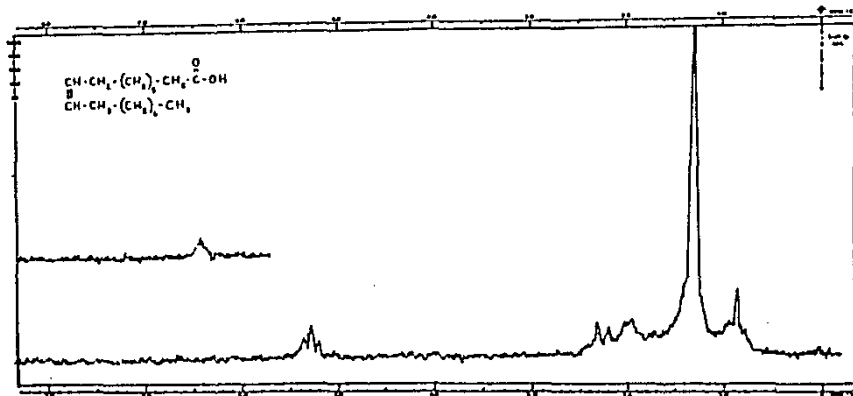
ESPECTRO No. 6 IR ARICINDOLEICO



ESPECTRO No.7 RMN ARICINOLEICO

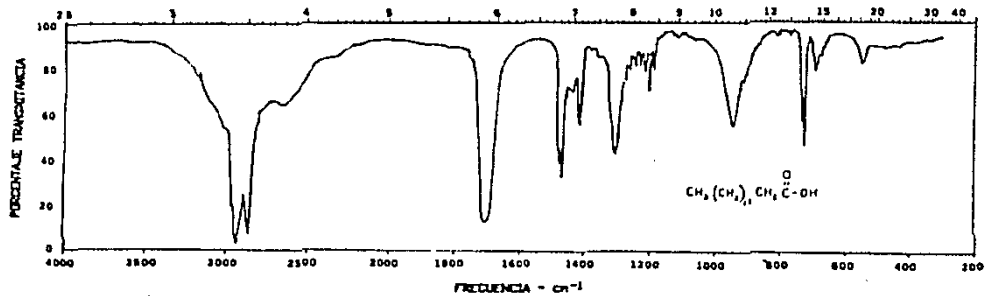


ESPECTRO No. 8 IR ADLEICO

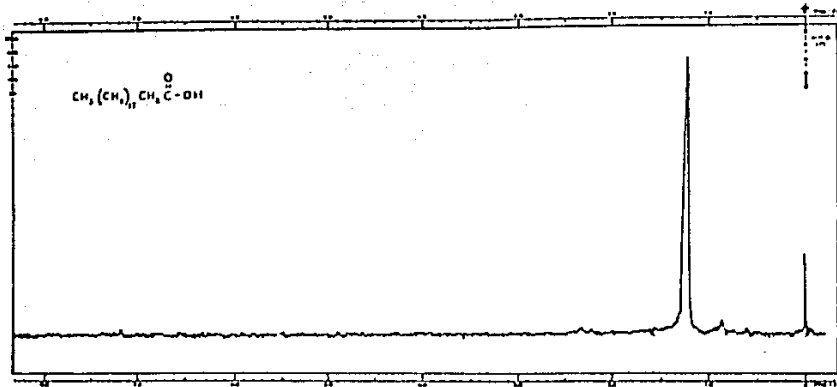


ESPECTRO No. 9 RMN A.OLEICO

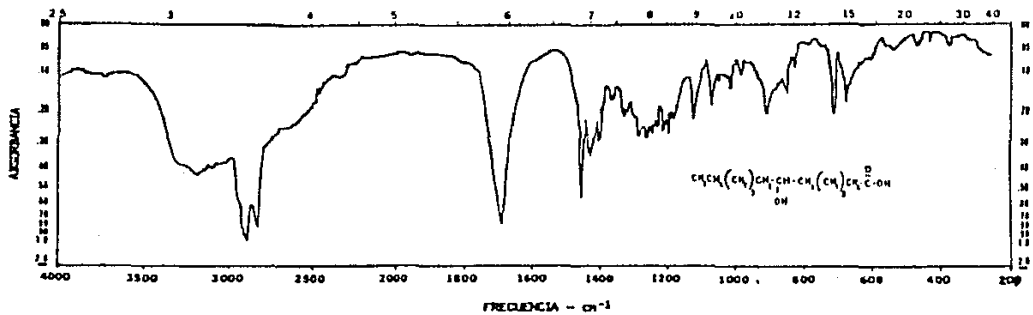




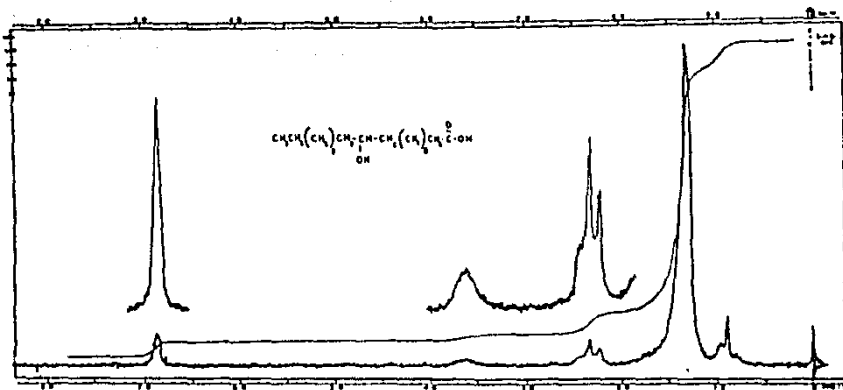
ESPECTRO No.10 IR A. EICOSANICO



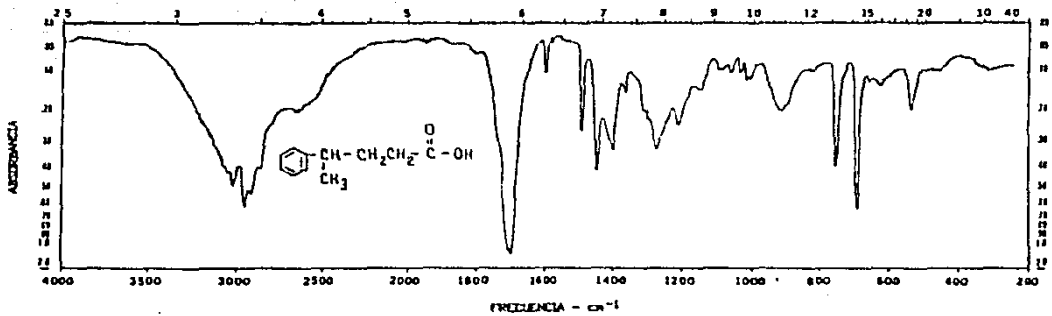
ESPECTRO No.11 RMN A.EICOSANÓICO



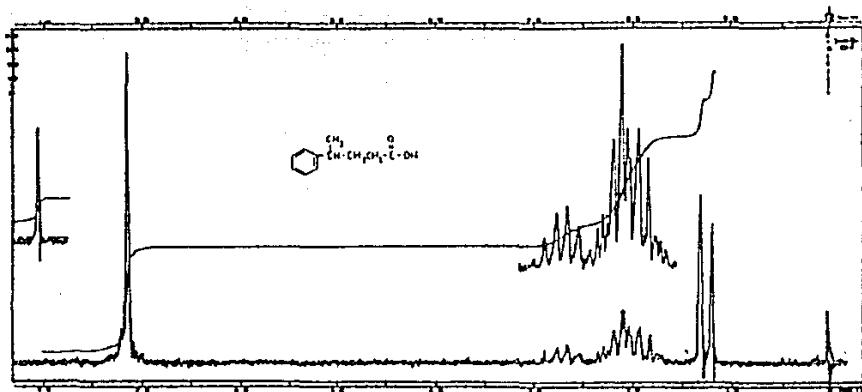
ESPECTRO No.12 IR A. HIDROXIDODECANOICO



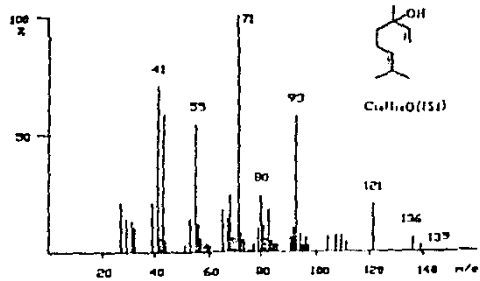
ESPECTRO No.13 RYN A. HIDROXIOCTADECANICO



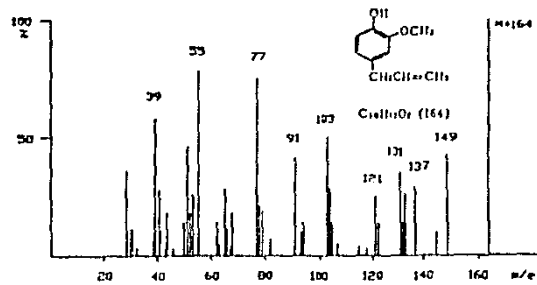
ESPECTRO No.14 IR A.4-FENIL VALERICO



ESPECTRO No.15 RMN A.4-FENIL VALERICO

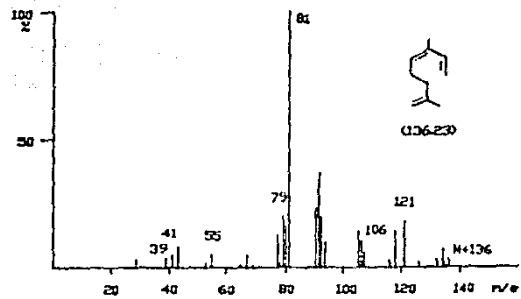


ESPECTRO No.16 EM LINALOOL

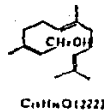
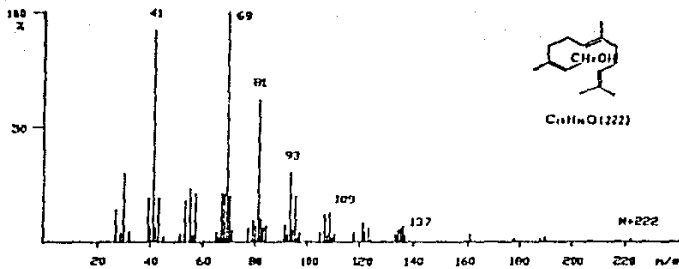


ESPECTRO No.17 EH EUGENOL





ESPECTRO No.18 EM  $\alpha$ -CIMENO



ESPECTRO No.19 EN FARNESOL





## B I B L I O G R A F I A

- Ahlgrim, E.D. (1956). Planta (255):255
- Appel, H.H. (1966). Scientia (130):1
- Banthorphe, D.V.et.al.(1972).Chem. Rev. (72):115.
- Barneby, R.C. (1977). Dalea imagines. Memoirs of the New York Botanical Garden,Vol.27 Ed.Board. Bronx. New York.
- Bate, et.al. (1971). J.Linn. Soc. Bot. (58):39.
- Bell,E.A. (1971). Comparative biochemistry of non-protein - aminoacids. In:Chemotaxonomy of the leguminosae. Harborne J.B. et.al. (1971).Academic Press. London, New York.
- Biemann, (1968). Mass spectrometry organic chemical applications. McGraw - Hill.
- Bohm, B.A. Flavanonas and dihydroflavanones. In:Polhill R.M. et.al. (1981).Advances in legume systematics.Edited Pol - hill R.M. &P.H. Raven.
- Brand,J.C.D. et.al. (1965). Aplications of spectroscopy to - organic chemistry. Oldbourne Press. London.
- Budzikiewicz,H. et.al. (1964). Structure elucidation of natural products by mass spectrometry.Vol.II.Holden - Day Inc.
- Boylard,E. (1940). Biochemic. Journal. (34) 1196
- Bu'lock,J.D. (1965). The biosynthesis of natural products. McGraw-Hill. London.
- Burbott, A.J. (1969). Plant physiology.(44) 173.
- Busso, C.J. et. al. (1955). J. American Chem. Soc. (77) 2017
- Camp, B. et.al. (1966). Phenetilamine alcaloids of native range plants. Econ.Bot. 20(3),274-278.
- Coppi, G. et.al.(1971).Antidiuretic effects of Cremophor.Toxi

- icol. Appl. Pharmacol. 19 (4)721-2 : Chem. Abs. Vol. 75 1971.
- Cronquist, A. (1981). An integrated system of classification of flowering plants. Arthur Cronquist N.Y. Columbia University.
- D'Alessandro et al. (1936). Biochem Z. 285, 72-5.
- Devon, T.K. et al. (1975). Handbook of naturally occurring compounds. Vols. I, II, III.
- Dirzo, R. (1985). Metabolitos secundarios en plantas. Ciencias (36) 3 : 137 - 145.
- Dominguez, X.A. et al. (1980). Flavonoids from Dalea scandens. Var. paucifolia and D. thyrsoiflora. Phytochemistry (19) : 1262 - 1263. Pergamon Press. England.
- Dreyer, D.L. (1978). Dalrubes and coumarins en Dalca tinctoria. Phytochemistry (17): 585. Pergamon Press. England
- \_\_\_\_\_. et al. (1975). Tetrahedron (31) 287.
- Eisner, T. (1964). Science. (146) : 1318
- Eglinton, et al. (1963). The distribution of alkanes. In: The chemical plant taxonomy. Edited by T. Swein. Academic press London and N.Y.
- Flück, H. (1963). Chemical plant taxonomy. T. Swein Editors Academic press London.
- Geissman, T.A. et al. (1969). Organic chemistry of secondary plant metabolism. Ed. Freeman, Cooper & Company.
- García, E. (1981). Modificaciones al sistema de clasificación de Koppen. Pg. 50.
- Gracia, S. (1975). Fundamentos de la cromatografía de gases Segunda ed. Editorial Alhambra, Madrid.
- Guenther, E. (1948). Vol. I. The essential oils. D. Von Nostrand Company. Toronto, N.Y.

- Hall, D.M. et.al. (1961). Nature. London.pp.191-95.
- Harborne, et.al. (1971). Chemotaxonomy of the leguminosae. Academic press. London - N.Y.
- Herbin, et. al. (1968). Phytochem.(7) : 239.
- Hershey, A.L. (1945). Some poisonous plants problems of New Mexico. Agr. Sta. Bull. pp. 322-23.
- Karlson,P. (1970). Natural substans formed biologically - from mevalonic acid. Biochemical Society. Simposium N°-29. Academic Press Editors.
- Kubo, I. et. al. (1977). Chemm. com. 555.
- Lederberg, E. et.al.(1969). Acta Chem. Scand. (23):957.
- Lyr,H. (1966). Flora (Jena).Abt. A. (157): 305.
- Masada, Y. (1976). Analisis of esential oils by gas cromatography and mass spectrometry. N.Y.
- Martin,et.al. ; Langenheim et.al. 1977; Stubblevine,1980. - In : Polhill,R.M. Advances in legume sistematics(1981). Part.2 Royal Botanic Gardens. Kew. England.
- Martin, J.T. (1958).Ann. appl. Biol. (46) : 325.
- Markham, K.R. (1982). Tecniques of flavonoids identification Academic Press. London, N.Y.
- Martínez, M.(1959). Plantas medicinales de México.5 ed.Bo - tas. México.
- Mayo, P. de. (1959). Mono y sesquiterpenoides.Interscience-pubishers. Inc. N.Y.
- Mazliak, (1963). Hidroxydes des cires de pomme et. carnauba. Phytochem. (2): 253.
- Müller, C.H. (1970). Recent advances in phytochemistry.(3) 105.

- Miller, C.H. et.al. (1968). Bull. Torrey Bot. Club.(95):415  
Chem. Abst. (70): 35028. 1969.
- Nakanishi, K. (1974). Natural products chemistry. Ed. K.Na-  
kanishi. N.Y. academic.
- Navarro, Y. de. (1978). Detection and preliminary characte-  
rization of the lectins present in legume seeds. Rev.Co-  
lomb. Quím. 8(1), 25-43. Bogotá Colombia.
- Noguchi, M. et. al. (1959). Nippon Ringaku Kaishi, (41) :  
488. Chem. Abstr. (54): 25075 (1960).
- Paech, K. (1950). Biochemie und Physiologie der Sekundären-  
Pflanzensstoffe. Springer Verlag. Berlin.
- Polhill, R.M. (1981). Advances in legume systematics. Part.  
2. Royal Botanic Gardens. Kew. England.
- Rao, B. (1970). Flavour Ind. (1): 725.
- Robinson, F. (1967). Origin of oil a correction and further  
comment on the Brunnock Even C-predominance in certain -  
higher alkanes of African crudes and the biogenesis of-  
nonacosane, Nature (214):263.
- Romo, A. (1985). Productos naturales de la flora mexicana.  
Ed. Limusa, México.
- Rudloff, E. et. al. (1965). Phytochemistry (4): 11.
- Rzedowski, J. (1985). Vegetación de México. Ed. Limusa.
- Sanderman, W. (1962). Comparative biochemistry. (3). Acade -  
mic Press. N.Y.
- Schaerer, A. et.al. (1955). J.American Chem.Soc. (77):2017-  
19.
- Scher, M. et. al. (1968). Nat. Acad. Sci. U.S.
- Sharma, G.G. et.al. (1970). Advant.front. Plant.Sci. (24):



- Scott, A. (1964). Interpretation of the ultraviolet spectra of natural products. McMillan, N.Y.
- Silverstein, R.M. et. al. (1980). Identificación espectrométrica de compuestos orgánicos. Ed. Diana. México.
- Sokol, V.A. et. al. (1962). Bot. sod. (36):205; Chem. Abstr (61): 3426.
- Swein, T. (1963). The chemical plant taxonomy. Academic Press. London and N.Y.
- Shaw, 1966; Hutchinson, 1964 y Melchior, 1964. In: Harborne et.al. Chemotaxonomy of the leguminosae. Academic Press-London. N.Y.
- Thomson, R. (1981). The chemistry of natural products. Edit R.H. Thomson. Glaswov. Gran Bretaña.
- Todd, N.B. (1962). Heredity. (53): 54.
- Uluben, L. et. al. (1976). Planta Médica. (29): 258.
- Violle, et. al. (1935). 200.1152-4 (1935). Chem. Abstr. (28) 4403<sup>1</sup>.
- Vincent, H. et. al. (1936). Compt. rend. (202). 803-5. Chem. Abstr. (30):4567<sup>2</sup> 1936.
- Weissman. G. (1966). Comparative phytochemistry. T.Swein Ed. Academic Press. London. pp. 97.