

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"POTENCIAL ALELOPATICO DE *Ipomoea tricolor* Cav. (CONVOLVULACEAE)"

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el titulo de

BIOLOGO

Presenta

MONICA RAQUEL CALERA MEDINA

México, D. F., Octubre de 1989.

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

RESUMEN.....	6
INTRODUCCION	
LAS INTERACCIONES BIOLÓGICAS Y LOS COMPUESTOS SECUNDARIOS...	7
ALELOPATIA.....	11
LA ALELOPATIA Y LOS AGROECOSISTEMAS.....	15
EL GENERO <i>Ipomoea</i>	17
<i>Ipomoea tricolor</i> Cav.	20
ANTECEDENTES DE ALELOPATIA EN <i>Ipomoea</i>	21
OBJETIVOS	
OBJETIVO GENERAL.....	23
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
DESARROLLO EXPERIMENTAL	
1. MATERIAL VEGETAL.....	25
2. PROCEDIMIENTO GENERAL DE LOS BIOENSAYOS.....	25
3. EXTRACCIÓN PRELIMINAR.....	26
4. DETECCIÓN DE ALCALOIDES.....	26
5. ANÁLISIS CROMATOGRAFICOS.....	28
6. PREPARACION DEL EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO ACTIVO.....	29
7. FRACCIONAMIENTO PRELIMINAR DEL EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO ACTIVO.....	31
8. AISLAMIENTO Y PURIFICACION DE LOS COMPUESTOS DE LAS FRACCIONES ACTIVAS.....	33
8.1 AISLAMIENTO DE TRES COMPUESTOS (NO IDENTIFICADOS).....	33
8.2 AISLAMIENTO DEL COMPUESTO AZUL (NO CARACTERIZADO).....	33
8.3 AISLAMIENTO DE LA RESINA GLICOSIDICA ACETILADA.....	33

8.4 AISLAMIENTO DE LA RESINA GLICOSIDICA (MR-51).....	34
9. CARACTERIZACION DE LOS COMPUESTOS ACTIVOS AISLADOS.....	36
9.1 DETERMINACION DE LAS CONSTANTES FISICAS Y ESPECTROSCOPICAS.....	36
9.2 PRUEBA DE MOLISCH PARA CARBOHIDRATOS.....	36
9.3 OBTENCION DE LOS ACIDOS 3-HIDROXI-2-METILBUTIRICO, 4-HIDROXI-3-METILPENTANOICO Y JALAPINOLICO.....	36
9.4 DETERMINACION DE AZUCARES EN EL PRODUCTO DE LA HIDROLISIS ACIDA DEL COMPUESTO (MR-51).....	37
9.5 PREPARACION DE DERIVADOS ACETILADOS.....	37
9.6 PREPARACION DE DERIVADOS METILADOS.....	38
10. BIENSAYO CON <i>Artemia salina</i>	39
RESULTADOS Y DISCUSION.....	40
CONCLUSIONES.....	59
RECOMENDACIONES.....	61
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	62

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1. PROCESO PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE ALCALOIDES EN
Ipomoea tricolor.....27

ESQUEMA 2. EXTRACCION DE *Ipomoea tricolor*.....30

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. EJEMPLOS DE ALGUNOS GLICOSIDOS PRESENTES EN LAS RESINAS
GLICOSIDICAS DEL GENERO *Ipomoea*.....19

FIGURA 2. EFECTO DE LA RESINA GLICOSIDICA SOBRE EL CRECIMIENTO
RADICULAR DE *Amaranthus leucocarpus* y *Echinochloa*
crusgalli.....48

FIGURA 3. ESPECTRO DE IR DE LA RESINA GLICOSIDICA (MR-51).....50

FIGURA 4. ESPECTRO DE RMN¹H DEL DERIVADO ACETILADO DE LA
RESINA GLICOSIDICA.....51

FIGURA 5. ESPECTRO DE MASAS DEL 3-HIDROXI-2-METILBUTIRATO DE
METILO.....52

FIGURA 6. ESPECTRO DE MASAS DEL 4-HIDROXI-3-METILPENTANOATO DE
METILO.....52

FIGURA 7. ESPECTRO DE MASAS DEL JALAPINOLATO DE METILO
(MR-71).....54

FIGURA 8. ESPECTRO DE IR DEL JALAPINOLATO DE METILO (MR-71).....55

FIGURA 9. ESPECTRO DE RMN¹H DEL JALAPINOLATO DE METILO
(MR-71).....56

FIGURA 10. CONSTITUYENTES DE LA RESINA GLICOSIDICA.....57

LISTA DE TABLAS

TABLA 1.	METABOLITOS SECUNDARIOS CON DIVERSAS ACTIVIDADES BIOLÓGICAS EN ESPECIES DEL GENERO <i>Ipomoea</i>	17
TABLA 2.	SISTEMAS DE ELUYENTES PARA LOS ANALISIS CROMATOGRÁFICOS EN CAPA FINA.....	28
TABLA 3.	AGENTES CROMOGENICOS UTILIZADOS PARA LOS ANALISIS CROMATOGRÁFICOS EN CAPA FINA.....	29
TABLA 4.	RESUMEN DEL FRACCIONAMIENTO VIA CROMATOGRÁFIA EN COLUMNA DEL EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO ACTIVO DE <i>Ipomoea tricolor</i>	32
TABLA 5.	FRACCIONAMIENTO VIA CROMATOGRÁFIA EN COLUMNA DE LAS FRACCIONES 760-771 ACTIVAS.....	35
TABLA 6.	DERIVADOS ACETILADOS.....	38
TABLA 7.	DERIVADOS METILADOS.....	39
TABLA 8.	EFFECTO DE LIXIVIADOS ACUOSOS DE <i>I. tricolor</i> FRESCA Y SECA SOBRE EL CRECIMIENTO RADICULAR DE 2 ARVENSES....	40
TABLA 9.	EFFECTO DE LOS EXTRACTOS ORGANICOS DE <i>I. tricolor</i>	41
TABLA 10.	EFFECTO COMPARATIVO DEL EXTRACTO PURIFICADO DE ACETATO DE ETILO Y DEL CRUDO ALCALOIDEO SOBRE EL CRECIMIENTO RADICULAR DE LAS 2 ESPECIES DE PRUEBA.....	43
TABLA 11.	EFFECTO DE LAS FRACCIONES DEL EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO SOBRE EL CRECIMIENTO RADICULAR DE <i>A. leucocarpus</i> Y <i>E. cruzegalli</i>	44
TABLA 12.	CONSTANTES FISICAS Y ESPECTROSCOPICAS DEL JALAPINOLATO DE METILO (MR-71).....	53

LISTA DE ABREVIACIONES

- c.c.d. : cromatografía en capa delgada
- CDCl_3 : Cloroformo deuterado
- d : doblete
- DMSO : Dimetilsulfóxido
- EIME : Espectro de masas obtenido por impacto electrónico
- Fig : Figura
- GC : Cromatografía de gases
- Hz : Hertz
- IR : Infrarrojo
- J : Constante de acoplamiento
- pf : punto de fusión
- ppm : partes por millón
- qui : quinovosa
- rha : ramnosa
- RMN^1H : Resonancia magnética nuclear de hidrógeno
- RMN^{13}C : Resonancia magnética nuclear de carbono
- s : ppm
- s : singulete
- t : triplete
- TMS : Tetrametilsilano

RESUMEN

El potencial alelopático de Ipomoea tricolor Cav., arvense utilizada en la agricultura tradicional como controladora de malezas, se demostró midiendo el crecimiento radicular de Amaranthus leucocarpus y Echinochloa crusgalli. Los bioensayos se realizaron con lixiviados acuosos y extractos orgánicos del material vegetal. El fraccionamiento biodirigido del extracto de acetato de etilo que fue el más activo, permitió el aislamiento de los principios activos los cuales resultaron ser una mezcla de glicósidos. La aglicona está constituida por el ácido 11-hidroxihexadecanoico, unido glicosidicamente en la posición C-11 a un oligosacárido formado por glucosa, fucosa y ramnosa. Estos azúcares se encuentran esterificados por el ácido 3-hidroxi-2-metilbutírico y por el ácido 4-hidroxi-3-metilpentanoico.

INTRODUCCION

LAS INTERACCIONES BIOLÓGICAS Y LOS COMPUESTOS SECUNDARIOS

La ecología es el estudio de los sistemas a un nivel en el cual los individuos o el conjunto de organismos pueden ser considerados elementos de interacción, ya sea entre ellos mismos o con una materia ambiental variada. Los sistemas a este nivel se llaman ecosistemas y la ecología es por supuesto la biología de los ecosistemas (Margalef, 1980).

Los vegetales y animales reunidos en un grupo y mutuamente acoplados forman una comunidad. El hecho de que los organismos vivan en una comunidad, trae como consecuencia que se establezcan relaciones mutuas entre ellos, las cuales incluyen todos los efectos directos o indirectos de unos sobre otros. Las interacciones cambian durante el día o las estaciones. Algunas son favorables para el crecimiento y la reproducción, otras son desfavorables y otras no tienen ningún efecto (Margalef, 1980).

Las interrelaciones entre los individuos de la misma o diferente especie estan clasificadas en dos grupos, con base en la contigüidad:

- 1) las disyuntivas, que son aquellas interrelaciones de organismos que no estan en contacto directo o continuo. Entre las cuales se encuentran: la competencia, la polinización, la dispersión de semillas y frutos, la herbivoría, etc.

- 2) las conjuntivas, que son las interrelaciones de organismos que estan en contacto directo. Si éstas relaciones se

rompen, uno u otro se ven afectados. Como por ejemplo: el parasitismo, el mutualismo, el comensalismo, etc., (Margalef, 1980).

Según Rhoades (1979), en relación con todos los tipos de interacciones que se presentan dentro de los ecosistemas, es importante señalar dos principios:

1) en la evolución y el desarrollo de los ecosistemas, las interacciones negativas tienden a reducirse al grado mínimo en favor de las positivas, que refuerzan la sobrevivencia de las especies que actúan entre sí.

2) las asociaciones recientes o nuevas tienen más probabilidades de desarrollar coacciones negativas graves, que las asociaciones más antiguas.

El concepto de coevolución está estrechamente relacionado con el primer principio, ya que se refiere a acciones evolutivas entre organismos en las que el intercambio de información genética entre las clases es mínimo o nulo. La coevolución implica acción selectiva recíproca entre grupos de organismos de relación ecológica estrecha, por ejemplo plantas y herbívoros, grandes organismos y sus microorganismos parásitos.

Algunas de estas interacciones bióticas, se encuentran reguladas por la producción y liberación de compuestos químicos secundarios, los cuales actúan como estimulantes o inhibidores.

Los compuestos secundarios se denominan así, debido a que no intervienen directamente en el metabolismo básico de la célula. Estos compuestos secundarios tienen un amplio rango de características químicas y esta gran diversidad de productos naturales deriva de un grupo de precursores sorprendentemente

reducido, entre los que se encuentran el ácido acético y algunos aminoácidos esenciales (fenilalanina, tirosina y triptófano), por lo que se supone, que los compuestos secundarios tienen de una manera general, un origen similar en toda la materia viva. Con algunas excepciones, las sustancias secundarias pueden clasificarse en cinco grupos principales: fenilpropanos, acetogeninas, terpenoides, esteroides y alcaloides (Whittaker y Feeny, 1971).

Desde el punto de vista funcional y adaptativo, los compuestos que determinan el establecimiento de una relación entre dos organismos, se pueden clasificar de la siguiente forma:

1) los metabolitos secundarios que median interacciones entre organismos de la misma especie, se dividen en tres grupos:

a) autotoxinas, cuando son tóxicas para la misma especie.
b) autoinhibidores, cuando controlan el número de individuos de la población.

c) feromonas, cuando su papel es el de permitir la comunicación por medio de señales químicas entre los organismos de una misma especie (conducta reproductora, defensa, territorialidad, etc.).

2) los metabolitos secundarios que median interacciones entre organismos de diferente especie, se denominan aleloquímicos. Estos se dividen en:

a) alomonas, que le dan ventaja al organismo que las produce. Las alomonas incluyen un rango muy amplio de sustancias, desde venenos y secreciones repelentes en animales y plantas, hasta inhibidores del crecimiento como sustancias

alelopáticas y algunos antibióticos.

b) kairomonas, que le confieren ventajas al organismo que recibe la acción del metabolito secundario.

c) sinomonas, que le confiere ventajas tanto al organismo emisor como al organismo receptor. Este grupo de aleloquímicos incluye, fragancias florales y nectarías, que atraen insectos y otros polinizadores, y sustancias que actúan en las relaciones de mutualismo.

d) depresores, que sin darle ventajas al organismo emisor, perjudican al receptor. Entre los depresores encontramos numerosos compuestos tóxicos, como las toxinas de las bacterias, algunos alelopáticos y compuestos ectócrinos planctónicos (Nordlund y Lewis, 1976; Anaya, 1981).

La función que desempeñan los metabolitos secundarios aún no está esclarecida; sin embargo, se ha propuesto que cumplen con funciones de protección para los organismos que los contienen confiriendo resistencia al ataque de herbívoros, depredadores y microorganismos patógenos o como instrumentos de comunicación entre los diversos organismos (Seigler y Price, 1976; Swain, 1977).

En las plantas la significancia ecológica de los metabolitos secundarios ha sido el resultado de las interacciones de estas frente a tres principales influencias selectivas: a) la del medio ambiente; b) la de las interacciones competitivas, y c) la de los herbívoros. En relación a la significancia metabólica, algunos de los compuestos secundarios funcionan como compuestos de reserva y autorreguladores del metabolismo y del crecimiento.

Algunas de estas sustancias permiten reducir la palatabilidad de las plantas con respecto a los herbívoros, por ejemplo los taninos forman complejos con las proteínas de las hojas relativamente difíciles de digerir, reduciendo de esta manera la posibilidad de que los herbívoros asimilen el nitrógeno contenido en ellas; inhiben el crecimiento de los hongos y hacen que las plantas sean menos palatables y digeribles para el ganado. Los aceites esenciales inhiben la actividad microbiana del rumen en los rumiantes. Los alcaloides de la pirrolizidina tienen efecto sobre el riñón y el sistema nervioso central, etc., (Rhoades y Cates, 1976).

Los compuestos defensivos de las plantas, no afectan de la misma forma a todos sus enemigos potenciales. Los herbívoros especialistas cuya clase de huéspedes es muy reducida, muestran mecanismos potentes de detoxificación y tolerancia a los compuestos defensivos y son mucho más resistentes a los efectos de los mismos, que los herbívoros generalistas que no comen normalmente la planta en cuestión.

Este efecto diferencial de los metabolitos secundarios de las plantas sobre los animales, se debe principalmente a los distintos mecanismos de adaptación de éstas, durante la coevolución.

ALELOPATIA

Las interacciones planta/planta pueden ser atribuidas a factores físicos y ambientales. Sin embargo, existen algunas otras interacciones que involucran productos químicos. Estas

Últimas, se refieren al fenómeno llamado Alelopatía. Este término fué descrito primero por Molish (1937), el cual lo definió como el efecto dañino o benéfico que una planta tiene sobre otra, por medio de la formación de sustancias químicas (Datta y Sinha, 1974).

Rice (1979), también define a la alelopatía, como cualquier efecto benéfico o perjudicial de una planta sobre otra (incluyendo microorganismos), por medio de la producción de compuestos químicos liberados al medio ambiente.

Los compuestos químicos implicados en la alelopatía, se conocen como alelopáticos. Rice (1984) clasificó estos compuestos dentro de quince categorías, entre los cuales se incluye a los ácidos fenólicos, las quinonas, los terpenos, los esteroides, las cumarinas, los ácidos de cadena larga, etc.

En algunos casos los compuestos secundarios son tóxicos para las plantas que los producen, por lo que se han desarrollado diversas estrategias para mantenerlos alejados de las zonas donde se efectúan reacciones de importancia metabólica: son almacenados en vacuolas, son depositados en células muertas (en el duramen de la madera), en espacios intercelulares, en los pelos glandulares de la superficie de muchas plantas o son descargados al exterior (Anaya, 1981).

De acuerdo con Tukey (1969) la liberación de los compuestos alelopáticos al medio ambiente ocurre por:

- a) Volatilización a través de las hojas (como los aceites esenciales).
- b) Lixiviación o lavado de las partes aéreas de la planta

- por la lluvia, la niebla y el rocío (como los fenoles).
- c) Exudación a través de las raíces.
 - d) Liberación de los compuestos de los restos orgánicos (hojarasca) por medio de lixiviación o por la descomposición microbiana de los mismos.

La cantidad de sustancias tóxicas en una planta, dependen en gran parte de las particularidades de su crecimiento, del suelo, del clima, de la altitud, de la estación, etc., (Forsyth, 1968).

Los compuestos alelopáticos de la planta donadora, pueden interferir con los procesos metabólicos primarios de la planta receptora. La actividad biológica de estos compuestos, va a depender de su naturaleza química, de su concentración, de la sensibilidad de la planta receptora, del proceso metabólico implicado y de las condiciones medio-ambientales (Putnam y Tang, 1986).

La interferencia con los procesos metabólicos es diversa, lo que implica una gran variedad de modos de acción de los alelopáticos. Cuando el efecto de un alelopático producido por una planta se manifiesta, por ejemplo, por una inhibición del crecimiento radicular, ésto significa que este compuesto secundario, está afectando de manera específica a diversos procesos celulares, relativos al funcionamiento de mitocondrias (respiración), cloroplastos (fotosíntesis), meristemas primarios y secundarios (división y elongación celular), propiedades de membrana, cinética enzimática, síntesis de proteínas, estructura cromosómica, etc.

En muchos de los estudios de alelopatía, se ha comprobado que algunos alelopáticos que inhiben el crecimiento de diversas

especies a ciertas concentraciones, pueden estimular el crecimiento de las mismas u otras especies, a concentraciones más bajas. Es muy probable que en la mayor parte de los casos en que se produce un efecto alelopático de una planta sobre otro organismo, en dicho efecto se encuentra implicado, no solo un compuesto sino una mezcla de ellos.

Debido a su complejidad y amplitud, el fenómeno de la alelopatía involucra más disciplinas científicas que ningún otro fenómeno sólo. Por esto invade virtualmente todas las disciplinas relacionadas con la ecología, la edafología, la botánica, la microbiología, la química de productos naturales, la fisiología y la bioquímica.

La alelopatía nace como un importante campo de investigación a partir de los años 60, gracias al interés que despierta entre los investigadores de diversas disciplinas. Este interés se ha incrementado cada vez más, especialmente por las siguientes razones:

1) por el potencial de aplicación de los alelopáticos, como herbicidas, insecticidas, bactericidas, reguladores de crecimiento e inclusive como anticancerígenos.

2) por la identificación química de los alelopáticos y la modificación experimental de sus moléculas, con el fin de buscar mayor actividad biológica en ellas.

3) por el vínculo entre el manejo de recursos en la agricultura tradicional y las relaciones alelopáticas que pueden establecerse entre plantas cultivadas, silvestres y microorganismos dentro de los agroecosistemas.

4) por el interés en el conocimiento de los procesos

naturales dentro de los ecosistemas, en especial las interacciones químicas entre los organismos y sus consecuencias en la dinámica de las comunidades.

5) por la importancia de los modos de acción de los alelopáticos a nivel fisiológico y bioquímico. (Anaya, 1989).

LA ALELOPATIA Y LOS AGROECOSISTEMAS

La alelopatía como un proceso ecológico, actúa de manera simultánea y/o sinérgica con otros procesos como la competencia. Esta última involucra la limitación de algún recurso del ambiente (agua, nutrientes, espacio, energía luminosa, etc.) que es requerido por otra planta o microorganismo que comparte el mismo hábitat (Rice, 1987). Cuando la alelopatía y la competencia actúan conjuntamente, se habla entonces de interferencia. En la mayoría de las interacciones entre cultivos y arvenses, ambos efectos aparecen involucrados.

En el Sureste de México, los campesinos permiten deliberadamente el crecimiento de algunas malezas en los cultivos, las que ellos nombran como "buen monte", a diferencia del "mal monte" que se refiere a malezas perjudiciales, que si son eliminadas (Chacón y Gliessman, 1982).

Estas poblaciones de plantas "no cultivadas" o arvenses, pueden ser útiles como alimento para el hombre, para forraje de animales, para fines medicinales y como trampas o barreras de plagas y enfermedades. También actúan como cobertura vegetal para proteger el suelo de la erosión y de la radiación solar; para acumular nutrientes, agua y materia orgánica, y para fijar

nitrógeno (Chacón y Gliessman, 1982).

Además, el potencial alelopático de muchas arvenses se ha utilizado en los agroecosistemas como control biológico de otras malezas, para protección de los cultivos. Por ejemplo en los agroecosistemas cafetaleros, varias especies de la familia Commelinaceae, que forman parte del estrato herbáceo, son manejadas por los campesinos, paralelamente con el cultivo, por su efecto benéfico en la protección del suelo, aporte de materia orgánica, retención de humedad y eliminación de otras malezas (Anaya et al., 1982; Ramos et al., 1983).

En las chinampas del Valle de México, se utiliza el lirio acuático para contrarrestar problemas de salinidad y eliminar el crecimiento de algunas malezas dentro de las parcelas, por medio de la liberación de alelopáticos durante su descomposición en el suelo (Anaya et al., 1987).

Un ejemplo más, lo constituyen las investigaciones realizadas en los sistemas tradicionales de cultivo llamados "camellones", en Tlaxcala, en donde se observa el efecto de las cubiertas de hojas de aile (Alnus firmifolia), berro acuático (Berula erecta) y junco (Juncus sp.) sobre el crecimiento de malezas en parcelas experimentales sembradas con maíz, frijol y calabaza. En las parcelas cubiertas con hojas, el número de malezas fue reducido significativamente, comparado con las que no tenían cubierta alguna. Esto sugiere que la descomposición de ambos tipos de cubierta, puede liberar algunos compuestos alelopáticos que contribuyen al control de las malezas (Anaya et al., 1987).

EL GENERO *Ipomoea*

El género *Ipomoea* (Convolvulaceae) comprende aproximadamente 600 especies, distribuidas en las regiones templadas y calidas de ambos hemisferios (Rzedowski y de Rzedowski, 1985). Este género se caracteriza por su riqueza en metabolitos secundarios, los cuales producen una gran diversidad de efectos biológicos (Tabla I).

TABLA 1. METABOLITOS SECUNDARIOS CON DIVERSAS ACTIVIDADES BIOLÓGICAS EN ESPECIES DEL GENERO *Ipomoea*.

COMPUESTO	ESPECIE	ACTIVIDAD	REFERENCIA
Acidos grasos	<i>I. decasperma</i>		Pérez Amador et al., 1982.
	<i>I. murucoides</i>		
	<i>I. violacea</i>		
Alcaloides		Alucinógeno	
	<i>I. hederacea</i>		Taber et al., 1963
	<i>I. lacunosa</i>	Marderosian y Youngken., 1966;	
	<i>I. epureurea</i>	Nikolin y Nikolin., 1972;	
	<i>I. trichocarpa</i>	Stanescu et al., 1973;	
	var. <i>torreyana</i>	Heacock, 1975.	
	<i>I. violacea</i>	Choeng y Shough., 1977;	
		Wilkinson et al., 1986.	
		Antimicrobiano	
	<i>I. alba</i>		Dawidar et al., 1977;
<i>I. batatas</i>	Guevara, 1983.		
<i>I. fistulosa</i>			
<i>I. muricata</i>			

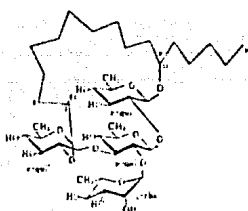
TABLA 1. (CONTINUACION).

COMPUESTO	ESPECIE	ACTIVIDAD	REFERENCIA
Antocianinas	<u>I. cairica</u> (L.)		Pomilio y Sproviero., 1972.
Cumarinas	<u>I. turpethum</u>		Shah <u>et al.</u> , 1972.
Esteroides	<u>I. alba</u>	Antimicrobiana	Guevara, 1983.
	<u>I. fistulosa</u>	Purgante y Laxante	Gupta <u>et al.</u> , 1971; Dubey <u>et al.</u> , 1982.
Fitoecdisonas	<u>I. hederacea</u>	Purgante y efectos febrifugos	Canonica <u>et al.</u> , 1975, 1977.
Flavonoles	<u>I. turbinata</u> Lag. <u>I. obscura</u> (L.) <u>I. pes-caprae</u> (L.)		Geetha <u>et al.</u> , 1986.
Giberelinas	<u>I. batatas</u> Lam. <u>I. pes-caprae</u> <u>I. suamoclit</u> <u>I. reptans</u>		Matsuo <u>et al.</u> , 1984.

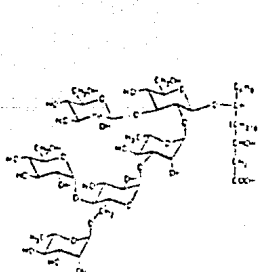
Entre la gran diversidad de metabolitos secundarios existentes en las plantas de este género, existen dos grupos muy importantes por la actividad biológica que presentan y en la que se basa su utilización práctica o aplicación:

1.- los alcaloides de tipo ergolina, que le confieren sus propiedades alucinógenas, tan utilizadas en ceremonias mágico-religiosas (Schultes, 1982).

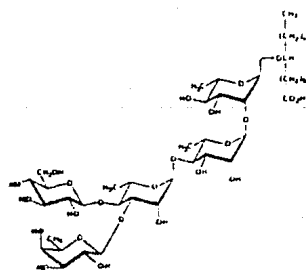
2.- las resinas glicosídicas, constituidas generalmente por un ácido graso mono o dihidroxilado de 14, 15 ó 16 átomos de carbono, y los monosacáridos: glucosa, quinovosa, fucosa y ramnosa. En algunos glicosidos, los azúcares se encuentran esterificados con ácidos carboxílicos de bajo peso molecular (Fig. 1).



MURICATIN VIII



ACIDO OPERCULINICO



DICROSIDO D₂

FIGURA 1. EJEMPLOS DE ALGUNOS GLICOSIDOS PRESENTES EN LAS RESINAS DEL GENERO IPOMOEA.

Algunas de estas resinas actúan como vasoconstrictores (Matin et al., 1969), purgantes (Schultes, 1982), antimicrobianos (Bieber et al., 1986) y anticancerígenos (Sarin et al., 1973; Bieber et al., 1986).

Estas resinas glicosídicas, se han encontrado en las siguientes especies del género: *I. bahiensis*, *I. dichroa*, *I. digitata*, *I. fistulosa*, *I. lacunosa*, *I. leari*, *I. muricata*, *I. pandurata*, *I. parasitica*, *I. purga*, *I. purpurea*, *I. operculata*, *I. orizabensis*, *I. quamoclit*, *I. stans* e *I. turpethum* (Smith et al., 1964; Legler, 1965; Khana y Gupta, 1967; Matin et al., 1969; Wagner y Kazmaier, 1971; Sarin et al., 1973; Singh y Stacey, 1973; Wagner y Kazmaier, 1977; Liptak et al., 1978; Nikolin et al., 1978; Wagner et al., 1978; Harrison et al., 1985; Bieber et al., 1986; Noda et al., 1987, 1988; Ono et al., 1989).

Ipomoea tricolor Cav.

Esta planta es trepadora, con una corola infundibuliforme de color azul y con hojas acorazonadas. En nuestro país, se encuentra distribuida principalmente en los estados de Morelos, Hidalgo, Queretaro, Guanajuato, Puebla, Jalisco, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Veracruz. Esta especie también se localiza en Centroamérica y Sudamérica (Matuda, 1963, 1964, 1966). Popularmente se conoce con los nombres de tlitlitzin, Badoh negro, Dondiego de día o manto. En México, las semillas de Ipomoea tricolor se utilizan como alucinógenas, al igual que las semillas de Rivea corymbosa (Convolvulaceae, conocida como ololiuqui o

planta serpiente) debido a su alto contenido en alcaloides del tipo del ácido lisérgico (Trease y Evans, 1982). El uso de estas especies como plantas alucinógenas es exclusivo de México, a pesar de que en otras regiones del mundo otras especies de Ipomoea pueden presentar una concentración mayor de alcaloides. Ambas especies mexicanas fueron reportadas por los cronistas españoles como importantes alucinógenos adivinatorios, empleados con fines religiosos, en la magia y en la medicina de los aztecas y zapotecas (MacDougal, 1960; Schultes, 1982).

ANTECEDENTES DE ALELOPATIA EN Ipomoea

En estudios previos se han reportado dos especies con actividad alelopática: Ipomoea aquatica Forsk e Ipomoea batatas L. (Singhvi y Sharma, 1984; Howard y Peterson, 1986). De la primera, se aislaron diversas sustancias de naturaleza terpenoide y fenólica, las cuales afectaron el crecimiento de Pennisetum typhoideum. En I. batatas se identificaron diversos compuestos fenólicos, responsables de la inhibición del crecimiento de Cyperus esculentus y Medicago sativa.

Varias especies de Ipomoea se utilizan en las zonas tropicales de México, ya sea en policultivo, o como cultivos de cobertura, al igual que varias especies de leguminosas, entre éstas la más conocida es Stizolobium pruriens "nescafé", que tiene propiedades alelopáticas y por ello logra competir con otras arvenses con mucho éxito, interfiriendo con su crecimiento de manera total y por lo tanto cubriendo los terrenos con una dominancia absoluta.

Ipomoea batatas (L.) Lam. conocida popularmente como camote (blanco, rosado y morado), presentó un eficaz control de malezas en un sistema de policultivo, debido a la cobertura que ejerció sobre el terreno en el Valle de Uxpanapa, Veracruz (Caamal, 1985).

En México, en los cañaverales del estado de Morelos, es común observar a la especie I. tricolor, crecer en forma abundante y extensa. En esta región, su uso práctico como planta controladora de malezas, es semejante al de otras Ipomoea spp. y leguminosas rastreras. El campesino permite que esta arvense se desarrolle en las parcelas antes de la siembra y durante el periodo de descanso del terreno, a sabiendas que su natural agresividad le permitira en dos o tres meses, eliminar a la mayoría de las malezas, por medio de un eficaz mecanismo de interferencia, dentro del cual, probablemente la alelopatía desempeña un papel importante.

OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

Con base en los antecedentes previamente mencionados, el propósito del presente trabajo fue determinar el potencial alelopático de Ipomoea tricolor Cav., y aislar e identificar los constituyentes bioactivos por medio de un estudio fitoquímico biodirigido.

Las consideraciones generales tomadas en cuenta para establecer este objetivo, fueron las siguientes:

a) El uso de la planta en los cultivos, como una arvense controladora de malezas.

b) La actividad alelopática demostrada en otras especies del género Ipomoea.

2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

2.1 Realizar bioensayos con extractos de I. tricolor sobre el crecimiento radicular de Amaranthus leucocarpus y Echinochloa crusgalli.

2.2 Determinar la presencia de alcaloides en la planta, considerando la información previamente descrita y probar el efecto de estos sobre las semillas de prueba mencionadas.

2.3 Fraccionar el material vegetal mediante los métodos adecuados, siguiendo la mayor actividad biológica a través de las pruebas de germinación y crecimiento radicular.

2.4 Separar y purificar algunos de los constituyentes activos de las diferentes fracciones.

2.5 Identificar mediante métodos químicos, espectroscópicos y espectrométricos las sustancias activas aisladas.

2.6 Evaluar algunos de los constituyentes activos sobre otro tipo de organismos, en este caso sobre Artemia salina.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

1. Material Vegetal.

La planta se colectó en Cañón de Lobos, Morelos, el 19 de febrero de 1988 y se identificó en el herbario del Instituto de Biología de la UNAM. El material vegetal utilizado, se limitó a la parte aérea, ya que en estudios previos, la raíz no presentó ningún efecto alelopático. La parte aérea se secó a temperatura ambiente y se cortó en trozos pequeños. Posteriormente se pulverizó en un molino de cuchillos Modelo Wiley 4.

2. Procedimiento general de los bioensayos.

El potencial alelopático de *I. tricolor* fue probado sobre el crecimiento radicular de *A. leucocarpus* y *E. crusgalli*. Se lixivió el material vegetal, fresco y seco, con agua destilada (en proporción de 15% y 1%, respectivamente) durante 3 hrs; se filtró el lixiviado (papel filtro num. 1) y se midió la presión osmótica (osmómetro de punto de congelación Osmette A), para asegurar que la concentración presente en los lixiviados no fuera muy alta, y de esta forma afectara el crecimiento de las plántulas. Los bioensayos se realizaron en cajas de Petri de 10 cm de diámetro; en cada caja se adicionaron 10 ml del lixiviado mezclados con 10 ml de agar al 1.5%. Los controles se prepararon con 10 ml de agua destilada mezclados con 10 ml de este agar. Se colocaron 10 semillas de la especie de prueba en cada caja de Petri. Los experimentos se realizaron bajo un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones por tratamiento. Las cajas se colocaron en una estufa a 30°C y en la obscuridad. La

longitud radicular se midió después de 24 hrs de incubación, en el caso de A. leucocarpus, y de 48 hrs, en el de E. crussgalli. Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza.

La actividad alelopática de los extractos orgánicos, las fracciones y los compuestos aislados, fue determinada también por medio de bioensayos similares, con una variante, el tratamiento respectivo (a concentraciones de 100, 200 y 300 ppm) se disolvió en cloruro de metileno o etanol y se adicionaron 1.5 ml del mismo sobre un papel filtro (número 42) colocado en una caja de Petri de 6 cm de diámetro. El disolvente orgánico fue evaporado en una campana de extracción y posteriormente se humedeció el papel con 1.5 ml de agua destilada. Al papel filtro del testigo se le adicionó únicamente agua destilada. Las condiciones de estos experimentos fueron las mismas que para los bioensayos mencionados anteriormente.

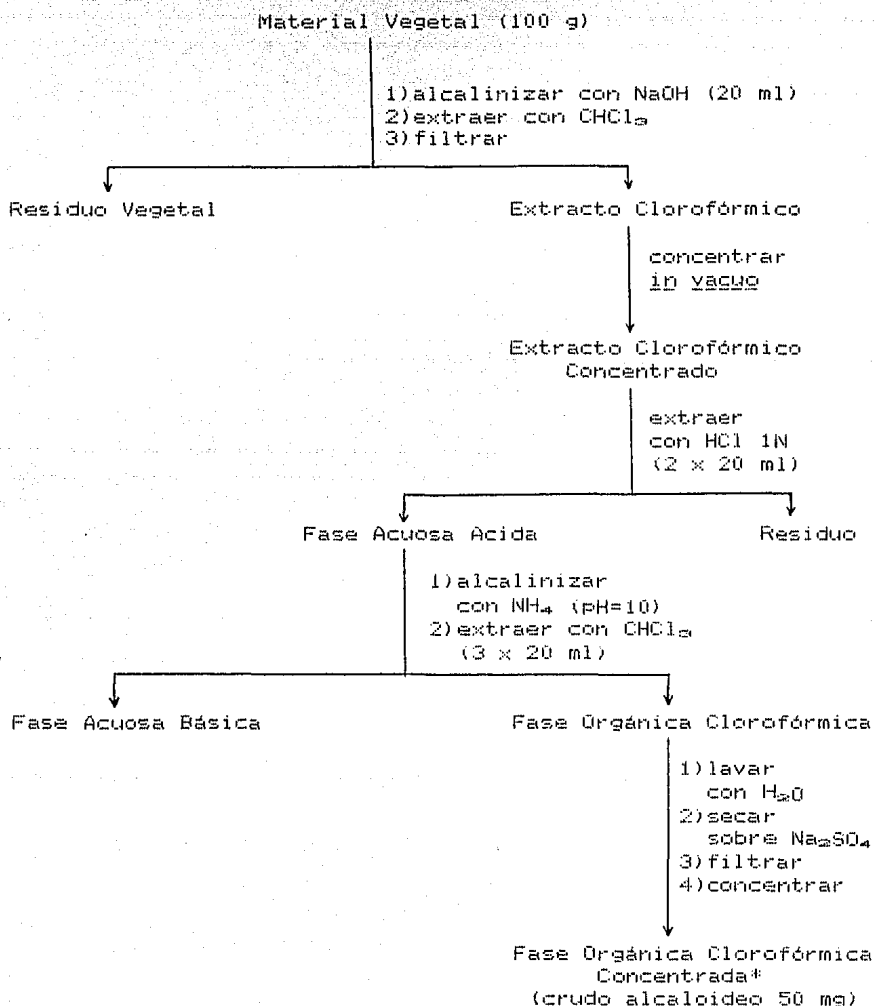
3. Extracción preliminar.

Para las evaluaciones biológicas preliminares, se obtuvieron extractos crudos por maceración de 100 g del material vegetal durante 48 hrs, con n-hexano, cloroformo, acetato de etilo y metanol. Posteriormente, los disolventes orgánicos se evaporaron y los residuos correspondientes fueron evaluados biológicamente a diferentes concentraciones (100, 200 y 300 ppm).

4. Detección de alcaloides.

El material vegetal se extrajo con cloroformo, de acuerdo con el procedimiento señalado en el Esquema 1. El extracto obtenido se procesó mediante una partición ácido-base y finalmente la determinación de alcaloides se efectuó con los

reactivos de Dragendorff y van-Urk (Harbone, 1985).



ESQUEMA 1. PROCESO PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE ALCALOIDES EN Ipomoea tricolor.

* Sobre este extracto se usaron los reactivos de Dragendorff y van-Urk para determinar la presencia de alcaloides. Además se realizaron las evaluaciones biológicas correspondientes.

5. Análisis cromatográficos.

Los análisis cromatográficos en capa fina, se efectuaron siguiendo las técnicas convencionales, utilizando placas de vidrio cubiertas de sílice (silica gel GF₂₅₄, Merck), diversos sistemas de eluyentes y diferentes agentes cromogénicos. Los sistemas de eluyentes y reveladores empleados se resumen en las Tablas 2 y 3 respectivamente.

TABLA 2. SISTEMAS DE ELUYENTES PARA LOS ANALISIS CROMATOGRAFICOS EN CAPA FINA.

SISTEMAS DE ELUYENTES	COMPOSICION	PROPORCION (%)
I	Hexano	100
II	Hexano/CHCl ₃	diversas proporciones
III	Hexano/AcOEt	" "
IV	Cloroformo	100
V	CHCl ₃ /MeOH	diversas proporciones
VI	CHCl ₃ /MeOH/Acetona	6.5:0.5:1.5
VII	Acetato de etilo	100
VIII	AcOEt/MeOH	diversas proporciones
IX	Acetona/H ₂ O	9:1
X	n-BuOH/H ₂ O/HOAc	4:1:1

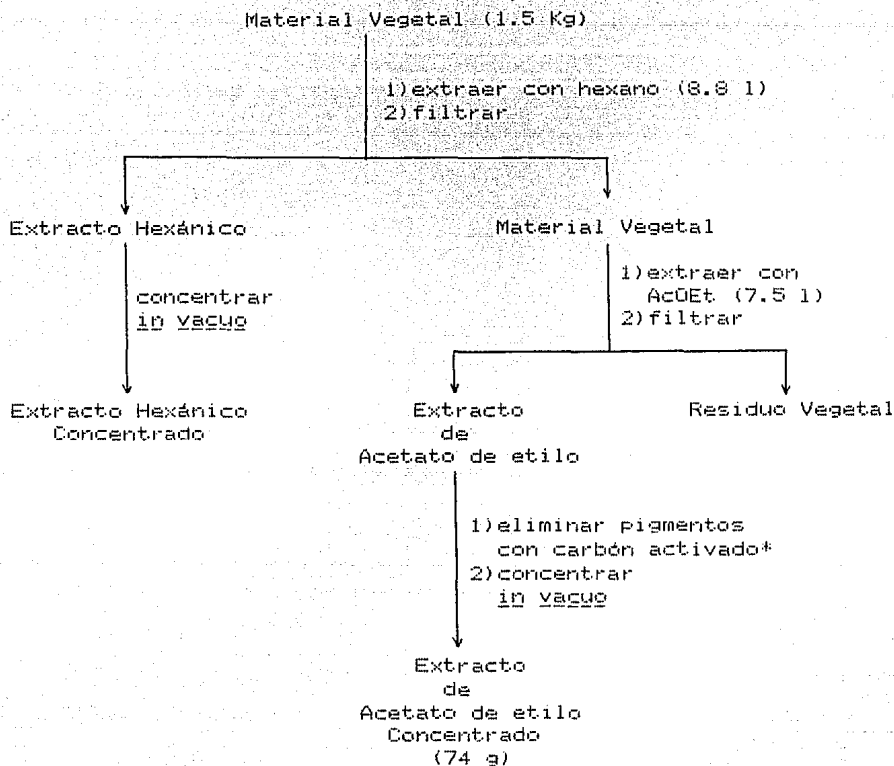
TABLA 3. AGENTES CROMOGENICOS UTILIZADOS PARA LOS ANALISIS CROMATOGRAFICOS EN CAPA FINA.

AGENTE REVELADOR	COMPOSICION	REFERENCIA
Dragendorff (D)	2.6g carbonato de bismuto 7g yoduro de sodio 25ml ácido acético glacial	Harbone, 1985.
van-Urk (vU)	1g 4-dimetil-amino-benzal- dehido 50ml HCl conc. 50ml etanol	Stahl, 1969.
Sulfato cérico (Sc)	12g sulfato cérico 22.2ml H ₂ SO ₄ conc. 350g hielo picado	Stahl, 1969.
Anisaldehído (A)	0.5ml anisaldehído 9ml etanol 0.5ml H ₂ SO ₄ conc.	Stahl, 1969.

Para el desarrollo del color fue necesario calentar por 2 minutos aproximadamente a 110°C.

6. Preparación del extracto de acetato de etilo activo.

1.5 Kg de las partes aéreas secas y pulverizadas de la planta se extrajeron según el procedimiento señalado en el Esquema 2.



ESQUEMA 2. EXTRACCION DE Ipomoea tricolor.

* Bioensayos sobre A. leucocarpus y E. crussgalli

7. Fraccionamiento preliminar del extracto de acetato de etilo activo.

El extracto de acetato de etilo (70 g) se fraccionó preliminarmente mediante una cromatografía preparativa en columna, utilizando como adsorbente, gel de sílice desactivada al 10%, con agua destilada (726 g de gel de sílice G-60 Merck de 70-230 mallas); el proceso de elución se efectuó con hexano, cloroformo y metanol en diferentes proporciones. Se recogieron un total de 873 fracciones de 100 ml cada una; cada fracción se analizó por cromatografía en capa fina, combinándose aquellas cromatográficamente similares. En la Tabla 4 se resumen los sistemas de eluyentes y las proporciones empleadas, el número de fracciones eluidas con cada uno de ellos, las fracciones combinadas y algunas observaciones adicionales en relación con su estudio posterior.

TABLA 4. RESUMEN DEL FRACCIONAMIENTO VIA CROMATOGRAFIA EN COLUMNA DEL
EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO ACTIVO DE *Ipecoea tricolor*.

ELUYENTE	PROPORCION (%)	NUMERO DE FRACCIONES	FRACCIONES COMBINADAS	OBSERVACIONES
Hexano	100	1-49	1-2	-
			3-7	-
			8-10	-
			11-27	+
			28-36	-
			37-41	-
Hexano/cloroformo	90:10	50-88	42-47	-
			48-80	-
Hexano/cloroformo	85:15	89-122	81-87	-
			88-148	-
Hexano/cloroformo	75:25	123-160	149-156	-
			157-160	-
Hexano/cloroformo	60:40	161-198	161-178	+
Hexano/cloroformo	50:50	199-228	179-203	-
			204-214	-
Hexano/cloroformo	40:60	229-384	215-262	+
			263-279	-
			280-326	-
			327-329	-
Hexano:cloroformo	30:70	385-416	330-360	+
			361-391	+
Hexano:cloroformo	20:80	417-453	392-457	+
Hexano:cloroformo	10:90	454-536	458-491	-
			492-513	+
Cloroformo	100	537-560	514-604	+
Cloroformo:metanol	99:1	561-625	605-622	+
Cloroformo:metanol	97:3	626-649	623-649	+
Cloroformo:metanol	95:5	650-683	650-669	+
Cloroformo:metanol	90:10	684-764	670-684	+
			685-695	+
			696-700	+
			701-706	+
			707-727	+
			728-759	+
Cloroformo:metanol	80:20	765-854	760-771	+
			772-850	+
Cloroformo:metanol	50:50	855-873	851-853	-
			854-861	+
			862-873	-

+ Fracciones evaluadas

- Fracciones descartadas

8. Aislamiento y purificación de los compuestos de las fracciones activas.

8.1 Aislamiento de tres compuestos (no identificados).

De las fracciones 685-695, eluidas con $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (90:10), se obtuvieron 180 mg de un sólido amorfo café. Este residuo se cromatografio en seis cromatoplasas preparativas de gel de sílice. Se aplicaron 30 mg en cada una de ellas y se utilizó el sistema VI (eluyendo 2 veces consecutivas). Al final se obtuvieron 3 compuestos, cuyo rendimiento fue de aproximadamente 10 mg. Con estos compuestos se realizaron bioensayos.

8.2 Aislamiento del compuesto azul (no caracterizado).

Las fracciones 772-850 (2 g) de la columna original (Tabla 4), se recromatografiaron en una columna empacada con 44 g de gel de sílice (desactivada al 10%); se inició la elución con CHCl_3 al 100%, continuando con una mezcla de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, aumentando después la cantidad de MeOH. Se obtuvieron 435 fracciones; cada fracción se analizó por c.c.d., combinándose aquellas cromatográficamente similares. En las fracciones 289-351 de esta columna (eluidas con $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 96:4 y 95:5), se obtuvo un sólido amorfo café-rojizo (compuesto MR-58), soluble en MeOH y EtOH. Al analizarlo por c.c.d., utilizando el sistema V (Tabla 2) y empleando el agente cromogénico Sc (Tabla 3), se observó un compuesto de color azul. El rendimiento de éste fue de 20 mg. Con este compuesto también se realizaron bioensayos.

8.3 Aislamiento de la resina glicosídica acetilada.

Las fracciones 760-771 (1 g) eluidas con $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 80:20 se acetilaron con anhídrido acético y piridina. Posteriormente se

recromatografiaron en una columna empacada con 30 g de gel de sílice (desactivada al 10%); la elución se inició con hexano al 100%, prosiguiendo con una mezcla de hexano/AcOEt, aumentando progresivamente la cantidad de AcOEt y después continuando con una mezcla de AcOEt/MeOH. Se recogieron un total de 375 fracciones de 10 ml cada una. Después cada fracción fue analizada por c.c.d. y se combinaron aquellas cromatográficamente similares. De las fracciones 97-109, eluidas con hexano/AcOEt (80:20 y 75:25), se obtuvo un sólido cristalino blanco, soluble en cloruro de metileno, cloroformo, acetato de etilo y metanol, con p.f. 80-82°C. Su rendimiento fue de 210 mg.

8.4 Aislamiento de la resina glicosídica (MR-51).

Las fracciones 760-771 (5 g) de la columna original, esta vez sin acetilar, (Tabla 4), fueron recromatografiadas en una columna empacada con 150 g de gel de sílice, desactivada al 10%. La elución fué iniciada con hexano al 100%, prosiguiendo con una mezcla de hexano/AcOEt, aumentando progresivamente la cantidad de AcOEt y después continuando con AcOEt/MeOH. Se obtuvieron 450 fracciones de 10 ml cada una. Posteriormente cada fracción se analizó por c.c.d., combinandose aquellas cromatográficamente similares. En la Tabla 5 se resumen los sistemas de eluyentes utilizados, el número de fracciones eluidas y las fracciones combinadas. De las fracciones 260-309, eluidas con AcOEt (100%), se obtuvo un sólido cristalino amarillo, soluble en cloruro de metileno, cloroformo, acetato de etilo y metanol, con p.f. 109-111°C. El rendimiento de este compuesto fue de 1.6 g. Con él, se realizaron las evaluaciones biológicas correspondientes.

TABLA 5. FRACCIONAMIENTO VIA CROMATOGRAFIA EN COLUMNA DE LAS
FRACCIONES 760-771 ACTIVAS.

ELUYENTE	PROPORCION (%)	NUMERO DE FRACCIONES	FRACCIONES COMBINADAS
Hexano	100	1-28	-
Hexano/AcOEt	95:5	29-41	-
Hexano/AcOEt	90:10	42-59	1-58
Hexano/AcOEt	85:15	60-86	-
Hexano/AcOEt	80:20	87-110	59-116
Hexano/AcOEt	75:25	111-133	117-132
Hexano/AcOEt	60:40	134-160	-
Hexano/AcOEt	50:50	161-182	-
Hexano/AcOEt	25:75	183-210	-
Acetato de etilo	100	211-426	133-241
			242-253
			254-258
			259
			260-309 *
			310-315
			316-321
AcOEt/MeOH	97:3	427-443	-
AcOEt/MeOH	90:10	446-450	322-448
			449-450

* Compuesto MR-51

9. Caracterización de los compuestos activos aislados.

9.1 Determinación de las constantes físicas y espectroscópicas.

Los puntos de fusión se midieron en un aparato Fischer-Johnes (sin corregir). Los espectros de IR se registraron en un instrumento Perkin-Elmer 599-B en pastilla de KBr y en película. Los espectros de RMN¹H y de RMN¹³C se determinaron en un espectrómetro FT-80 Varian utilizando como disolvente CDCl₃ y CDCl₃/DMSO y como referencia interna TMS, en la Facultad de Química de la UNAM.

Los espectros de masas se obtuvieron en un aparato Hewlett Packard 5985 de 60 eV en el Instituto de Química de la UNAM.

Las rotaciones ópticas se determinaron en un polarímetro Perkin-Elmer.

9.2 Prueba de Molisch para carbohidratos.

3 mg del compuesto MR-51, se disolvieron en 3 ml de agua destilada, se adicionó 1 ml de solución del reactivo de α naftol (10% etanol); seguidamente se agregaron, por las paredes del tubo, dos gotas de H₂SO₄ concentrado, y se observó una coloración violeta en la interfase de los líquidos. La coloración observada, fue la indicativa de la presencia de carbohidratos.

9.3 Obtención de los ácidos 3-hidroxi-2-metilbutírico, 4-hidroxi-3-metilpentanoico y jalapínico.

400 mg de este compuesto se disolvieron en una solución de 400 mg de NaOH en 8 ml de H₂O. Después de 4 hrs, a temperatura ambiente, la solución fue acidificada con H₂SO₄ 4N y se extrajo con éter. El residuo concentrado de la fase etérea (mezcla de los ácidos MR-70c), se analizó por medio de GC/MS. La solución ácida, se

reflujó durante 8 hrs. De esta solución, se obtuvo un precipitado de color beige, 66 mg (designado como MR-71), con p.f. 57-59°C, caracterizado como el ácido jalapínico (Bieber et al., 1986; Noda et al., 1989).

9.4 Determinación de azúcares en el producto de la hidrólisis ácida del compuesto MR-51.

La fase acuosa, se filtró por una columna con resina intercambiadora de aniones (Ionen austauscher II, Merck), empleando agua como eluyente. La presencia de glucosa, fucosa y ramnosa en éste compuesto, fué determinada en el eluato obtenido anteriormente, por medio de c.c.d. en gel de sílice, impregnada con NaH_2PO_4 0.2M o con H_3BO_3 0.036M (Ghebregzabher et al., 1976), utilizando los sistemas IX y X y el agente cromogénico A (Tablas 2 y 3 respectivamente). Como patrones de referencia se utilizaron arabinosa, fructuosa, fucosa, galactosa, glucosa, manitol, quinovosa, ramnosa, sacarosa, sorbitol y xilosa.

9.5 Preparación de derivados acetilados.

Para formar los derivados acetilados, se empleó 1 ml de anhídrido acético y 1 ml de piridina por cada 100 mg de muestra. En todos los casos la mezcla de reacción se dejó aproximadamente durante 24 hrs a temperatura ambiente; al transcurrir este tiempo, a la mezcla de reacción, se le adicionó hielo (para hidrolizar el exceso de anhídrido acético). Después se extrajo con AcOEt (3 veces), y la fase orgánica obtenida se lavó primero con HCl 1N (2 veces), luego con una solución de NaHCO_3 al 10% (2 veces) y finalmente con agua destilada. La fase orgánica resultante se secó sobre NaSO_4 anhidro, se filtró y

posteriormente se evaporó a sequedad, obteniéndose de esta forma los productos acetilados.

En la siguiente tabla se señalan los compuestos, sus derivados acetilados, la cantidad y su rendimiento.

TABLA 6. DERIVADOS ACETILADOS.

COMPUESTO	PESO COMPUESTO	DERIVADO ACETILADO	PESO DERIVADO ACETILADO
fr-760-771	1 g	fr-760-771-A	1 g
MR-51	10 mg	MR-51-A	8 mg

9.6 Preparación de derivados metilados.

Para obtener los derivados metilados, se utilizó una solución etérea de diazometano, preparada con 4 ml de una solución acuosa de hidróxido de potasio al 50%, 20 ml de éter etílico y 2g de N-nitroso-N-metil-urea por cada 100 mg de muestra. Los productos a metilar, se disolvieron en metanol o en éter; la mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 12 hrs.

A continuación (Tabla 7) se indican los compuestos, sus derivados metilados, la cantidad y su rendimiento:

TABLA 7. DERIVADOS METILADOS.

COMPUESTO	PESO COMPUESTO	DERIVADO METILADO	PESO DERIVADO METILADO
fase éterea (MR-70c): mezcla de			
ac.3-hidroxi-2- metilbutírico	5 mg	3-hidroxi-2- metilbutirato de metilo	3 mg
ac.4-hidroxi-3- metilpentanoico		4-hidroxi-3- metilpentanoato de metilo	
ac.jalapinólico (MR-71)	66 mg	jalapinolato de metilo	60 mg

10. Bicensosayos con Artemia salina.

El glicósido aislado también fue evaluado sobre Artemia salina, para determinar si el compuesto presentaba alguna toxicidad sobre este organismo. Para la realización de los bicensosayos, se disolvieron 20 mg del compuesto con etanol, para realizar las disoluciones correspondientes (10, 100 y 1000 ppm) en sus respectivos viales. Estos tratamientos se colocaron en una campana de extracción para evaporar el disolvente. Posteriormente se adicionó a cada vial una solución salina y 10 crustáceos (de 48 hrs de desarrollo). Se hicieron tres repeticiones por tratamiento. Se dejaron con luz (24 hrs). Después se contaron los organismos vivos para determinar el % de mortalidad (Meyer et al., 1982).

RESULTADOS Y DISCUSION

Bioensayos preliminares.

Los resultados obtenidos en los bioensayos con los lixiviados acuosos de material vegetal fresco y seco de Ipomoea tricolor, se indican en la Tabla 8. Como se puede apreciar los lixiviados inhibieron significativamente el crecimiento radicular de ambas especies de prueba. Estos resultados claramente evidencian el potencial alelopático de la planta.

TABLA 8. EFECTO DE LIXIVIADOS ACUOSOS DE I. tricolor FRESCA Y SECA SOBRE EL CRECIMIENTO RADICULAR DE 2 ARVENSES.

EXTRACTOS ACUOSOS	PROMEDIO CREC RAD (4 REP) (CM)		INHIBICION CREC RAD (%)	
	<u>Amaranthus</u>	<u>Echinochloa</u>	<u>Amaranthus</u>	<u>Echinochloa</u>
Control	31.28 ±1.65	19.12 ±1.00		
Lix 15% (mat. fresco)	10.58 ±0.47	8.62 ±0.94	66.19 *	54.9 *
Control	13.95 ±0.51	17.98 ±0.33		
Lix 1% (mat. seco)	5.72 ±0.21	8.35 ±0.58	57.12 *	53.55 *

* P 0.01

Los resultados preliminares con los extractos orgánicos, son resumidos en la Tabla 9. Los efectos inhibitorios más acentuados fueron producidos por el extracto de acetato de etilo y por el extracto clorofórmico.

TABLA 9. EFECTO DE LOS EXTRACTOS ORGANICOS DE *I. tricolor*.

EXTRACTOS ORGANICOS	PROMEDIO CREC RAD (4 REP) (CM)		INHIBICION CREC RAD (%)	
	<i>Amaranthus</i>	<i>Echinochloa</i>	<i>Amaranthus</i>	<i>Echinochloa</i>
Control	12.80 ±0.41	22.85 ±0.89		
Hexánico (100 ppm)	11.72 ±0.85	22.60 ±1.44	8.40	1.09
Control	14.40 ±0.30	20.33 ±1.13		
Clorofórmico (100 ppm)	8.73 ±0.47	14.60 ±1.30	39.35 *	28.20 *
Clorofórmico (200 ppm)	4.70 ±0.86	8.17 ±1.82	67.36 *	59.84 *
Clorofórmico (300 ppm)	3.77 ±0.23	9.13 ±0.30	73.84 *	55.08 *
Control	14.77 ±0.77	24.53 ±1.33		
Acetato de etilo (100 ppm)	10.77 ±0.57	15.97 ±1.48	27.09 *	34.92 *
Acetato de etilo (200 ppm)	11.63 ±1.13	15.97 ±1.64	21.22 *	34.92 *
Acetato de etilo (300 ppm)	7.70 ±0.36	9.77 ±1.16	47.86 *	60.19 *
Control	17.48 ±0.27	32.48 ±1.84		
Metanólico (100 ppm)	16.50 ±0.32	29.98 ±0.66	5.58	7.70

* P 0.01

La detección de alcaloides que se realizó con 100 g del material vegetal, según el procedimiento indicado en el Esquema 1, permitió la obtención de un crudo alcaloideo (fase orgánica clorofórmica). Este crudo presentó una prueba positiva de alcaloides indólicos al emplear el agente cromogénico VU (Tabla 3). Al probar la actividad de la fracción del crudo alcaloideo, se observó un efecto inhibitorio del 66% en el caso de A. leucocarpus y de 45% en el de E. crussgalli.

Hasta éste momento, se tenían detectadas las mayores actividades biológicas en el crudo alcaloideo y en el extracto de acetato de etilo. Con el fin de detectar la actividad de éste último, de manera más precisa, se decidió eliminar del mismo, los pigmentos abundantes que contenía. Para ello se utilizó el carbón activado. Los resultados fueron sorprendentes, pues se logró que la actividad de este extracto de acetato de etilo se incrementara sobre A. leucocarpus, aproximadamente un 300% y sobre E. crussgalli, un 246%. Con los anteriores resultados, era indudable que la actividad del extracto de acetato de etilo sobre ambas especies de prueba, era más significativa que la del crudo alcaloideo (Tabla 10). Además, el rendimiento de este último fue menor que el del extracto de acetato de etilo. Estas dos razones, determinaron que se continuara trabajando con el extracto de acetato de etilo purificado.

TABLA 10. EFECTO COMPARATIVO DEL EXTRACTO PURIFICADO DE ACETATO DE ETILO Y DEL CRUDO ALCALOIDEO SOBRE EL CRECIMIENTO RADICULAR DE LAS 2 ESPECIES DE PRUEBA.

EXTRACTOS ORGANICOS	PROMEDIO CREC RAD (4 REP) (CM)		INHIBICION CREC RAD (%)	
	Amaranthus	Echinochloa	Amaranthus	Echinochloa
Control	12.73 ±0.26	25.27 ±0.98		
Crudo alcaloideo (100 ppm)	4.30 ±0.40	14.03 ±0.87	66.23 *	44.46 *
Control	18.15 ±0.57	26.00 ±0.44		
Acetato de etilo purif. (100 ppm)	3.82 ±0.63	3.82 ±0.95	78.92 *	86.25 *
Acetato de etilo purif. (200 ppm)	2.75 ±0.63	4.55 ±1.86	86.22 *	82.50 *
Acetato de etilo purif. (300 ppm)	1.00 ±0.00	2.55 ±1.00	100.00 *	92.10 *

* P < 0.01

Fraccionamiento del extracto de acetato de etilo y actividad biológica.

Después de haber realizado el fraccionamiento del extracto de acetato de etilo (como previamente se indicó) y evaluar las fracciones correspondientes, se obtuvieron cuatro fracciones que presentaron una significativa inhibición sobre las dos especies de malezas utilizadas. Estas fracciones fueron: 670-684; 685-695; 760-771 y 772-850 (Tabla 11).

TABLA 11. EFECTO DE LAS FRACCIONES DEL EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO SOBRE EL CRECIMIENTO RADICULAR DE *A. leuocarpus* y *E. crusgalli*.

FRACCIONES	PROMEDIO CREC RAD (4 REP) (CM)		INHIBICION CREC RAD (%)	
	<i>Amaranthus</i>	<i>Echinochloa</i>	<i>Amaranthus</i>	<i>Echinochloa</i>
Control	22.10 ±0.64	25.15 ±1.10		
11- 27 (100 ppm)	18.12 ±0.26	21.50 ±0.42	5.77	14.51
161-178 (100 ppm)	20.90 ±0.46	23.52 ±1.25	5.41	6.46
215-262 (100 ppm)	17.02 ±0.08	23.65 ±0.56	10.74	5.96
330-360 (100 ppm)	19.50 ±0.50	24.00 ±0.14	11.77	4.57
Control	38.90 ±0.85	27.55 ±0.47		
361-391 (100 ppm)	37.88 ±0.56	28.35 ±0.21	2.63	2.90 +
361-391 (200 ppm)	39.50 ±0.29	25.95 ±0.59	1.54 +	5.81
492-513 (100 ppm)	35.72 ±0.74	27.02 ±0.51	8.16	1.91
492-513 (200 ppm)	36.15 ±0.54	27.45 ±0.35	7.07	0.36
Control	13.25 ±0.72	41.60 ±0.47		
514-604 (100 ppm)	13.10 ±0.42	33.42 ±0.23	1.13	17.25
605-622 (100 ppm)	11.68 ±0.37	33.86 ±0.10	11.89	18.51
623-649 (100 ppm)	11.18 ±0.10	33.88 ±0.19	15.66	18.57
Control	15.80 ±0.25	25.30 ±0.84		
650-669 (100 ppm)	14.70 ±0.19	18.90 ±1.01	6.96	25.30
650-669 (200 ppm)	13.82 ±0.10	17.65 ±1.09	12.50	30.24
670-684 (100 ppm)	3.50 ±1.44	11.22 ±1.23	81.01 *	55.63 *
670-684 (200 ppm)	1.00 ±0.00	8.37 ±0.40	100.00 *	66.90 *

TABLA 11. (CONTINUACION)

FRACCIONES	PROMEDIO CREC RAD (4 REP) (CM)		INHIBICION CREC RAD (%)	
	Amaranthus	Echinochloa	Amaranthus	Echinochloa
Control	17.52 ±0.41	28.70 ±1.59		
685-695 (100 ppm)	14.02 ±0.30	11.28 ±0.46	19.97	60.71 *
685-695 (200 ppm)	13.12 ±0.05	8.35 ±0.29	25.11	70.91 *
696-700 (100 ppm)	12.85 ±0.60	25.10 ±0.45	26.68	12.54
696-700 (200 ppm)	11.67 ±0.35	16.45 ±0.26	33.38	42.68
Control	17.68 ±0.73	25.75 ±0.74		
701-706 (100 ppm)	15.92 ±0.68	22.92 ±1.20	9.90	10.97
701-706 (200 ppm)	15.45 ±0.72	21.95 ±1.03	12.59	14.76
707-727 (100 ppm)	16.72 ±0.33	24.10 ±0.95	5.37	6.41
707-727 (200 ppm)	16.02 ±0.61	22.38 ±1.00	9.34	13.11
728-759 (100 ppm)	15.45 ±0.36	21.50 ±1.24	12.59	16.51
728-759 (200 ppm)	9.45 ±0.88	18.00 ±0.48	46.53	30.10
760-771 (100 ppm)	6.40 ±0.18	10.50 ±0.42	63.79 *	68.93 *
760-771 (200 ppm)	3.42 ±0.25	2.00 ±0.58	80.62 *	94.17 *
Control	15.80 ±0.25	25.30 ±0.84		
772-850 (100 ppm)	9.50 ±0.99	16.05 ±1.77	39.87	36.56
772-850 (200 ppm)	5.02 ±0.18	7.92 ±1.05	68.20 *	68.68 *
Control	19.88 ±0.72	32.00 ±0.68		
854-861 (100 ppm)	16.52 ±0.20	24.92 ±0.56	16.54	22.10

+ % de estimulación del crecimiento radicular

* P < 0.01

El análisis cromatográfico de las fracciones 670-684, indicó que las mismas contenían tres sustancias, pero debido a la pequeña cantidad obtenida (50 mg) se optó por no separar los compuestos de dichas fracciones.

Por medio de placas preparativas de gel de sílice se separaron tres compuestos de las fracciones 685-695, con los cuales se realizaron los respectivos bioensayos a una concentración de 100 ppm. Los compuestos 1, 2 y 3 causaron una inhibición del crecimiento radicular de A. leucocarpus de 4.17%, 7.21% y 8.44% respectivamente, y del de E. crussgalli de 3.52%, 2.03% y 2.41% respectivamente. Puede observarse que la inhibición causada por los compuestos aislados, en relación con las fracciones combinadas, fue mucho menor, (Tabla 11) posiblemente porque los compuestos presentan una acción sinérgica, la cual se alteró, cuando éstos fueron separados. Por los resultados en las evaluaciones biológicas y principalmente por los rendimientos obtenidos, estos compuestos no se identificaron.

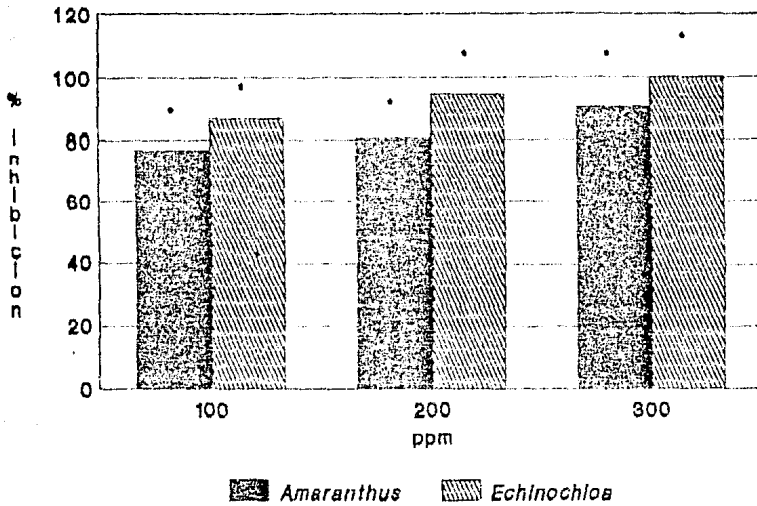
Al recromatografiarse las fracciones 772-850, se obtuvo un compuesto mayoritario (fracciones 286-351), que reveló de color azul cuando se le aplicó sulfato cérico. Con este compuesto, se hicieron bioensayos a una concentración de 100 ppm. Los porcentajes de inhibición del crecimiento radicular obtenidos para A. leucocarpus y E. crussgalli fueron de 1.19% y 2.68% respectivamente. También en este caso, se observó una disminución en la actividad inhibitoria del compuesto aislado, en comparación con la combinación de las fracciones 772-850 (Tabla 11). Estos resultados indican que la actividad alelopática, causada por las fracciones 772-850, se debe probablemente a la presencia de otros

compuestos, encontrados en dichas fracciones en menor concentración, y no por la actividad del compuesto aislado. Estos compuestos minoritarios probablemente se encuentran también presentes en las fracciones 760-771. Debido a su mínima actividad alelopática, el compuesto azul (MR-58) no fue caracterizado.

Con las fracciones 760-771, se hicieron sucesivos análisis cromatográficos, que permitieron el aislamiento de una mezcla glicosídica cristalina. Con dicha resina, se realizaron evaluaciones biológicas sobre A. leucocarpus y E. cruxgalli a diferentes concentraciones (100, 200 y 300 ppm). Como resultado de ello, se observó una severa inhibición sobre el crecimiento radicular de ambas especies de prueba. Esta inhibición se incrementó con la concentración (Fig. 2). Con estos resultados podemos aseverar que la resina glicosídica es uno de los elementos fundamentales que determinan la actividad alelopática de la planta.

Además en los bioensayos realizados con esta resina sobre Artemia salina, se obtuvo una mortalidad de 20%, 73.33% y 100% a 10, 100 y 1000 ppm, respectivamente. Los valores de toxicidad obtenidos indican a priori que posiblemente la resina tiene otras actividades biológicas. De acuerdo con lo anterior, se realizó su caracterización preliminar mediante métodos químicos y espectroscópicos.

Actividad de la resina glicosídica



• $P < 0.01$

FIGURA 2. EFECTO DE LA RESINA GLICOSÍDICA SOBRE EL CRECIMIENTO RADICULAR DE *Amaranthus leucocarpus* y *Echinochloa crusgalli*

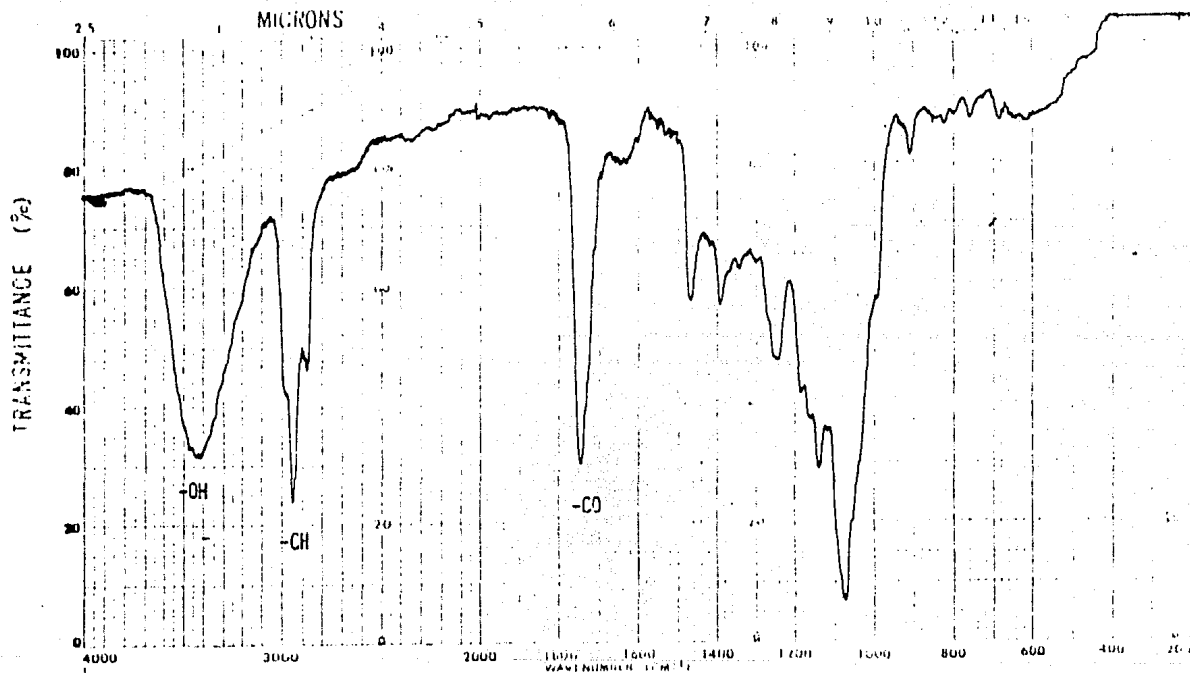
Identificación de la resina glicosídica.

Como se mencionó en la sección experimental, el producto MR-51 (resina glicosídica), se aisló de las fracciones 760-771. Se obtuvo como un sólido cristalino, de color amarillo claro, con p.f. 109-111°C, soluble en cloruro de metileno, cloroformo, metanol y etanol. El rendimiento total de este sólido fue de 0.192% (en base al peso seco de la planta).

La solubilidad de este producto en disolventes de alta polaridad, el resultado positivo con la prueba de Molisch y las absorciones características para grupos hidroxilo (3450, 1070 cm^{-1}) en el espectro de IR (Fig. 3) sugirieron su naturaleza glicosídica. Es de hacer notar que este último presentó también una banda de absorción para C=O de lactona a 1745 cm^{-1} .

Como se puede observar en la Figura 4, el espectro de RMN¹H en CDCl₃, del derivado acetilado de la resina glicosídica, permitió tan solo detectar las señales de los acetatos (δ 1.96, 2.03, 2.09, 2.15 y 2.20) y también confirmar la naturaleza glicosídica de la molécula, al observarse las señales correspondientes a los hidrógenos geminales de las funciones oxigenadas de los azúcares presentes.

La saponificación del compuesto MR-51 con NaOH permitió, por una parte la obtención de una mezcla de ácidos orgánicos de bajo PM y por la otra, de un material altamente polar también de naturaleza ácida. La mezcla de los ácidos orgánicos de bajo PM se metiló y posteriormente se analizó por GC/EI/ME. Este análisis indicó que la misma estaba constituida por el 3-hidroxi-2-metilbutirato de metilo y por el 4-hidroxi-3-metilpentanoato de metilo (Fig. 5 y 6).



SAMPLE	NA-260-309	SOLVENT	CH ₂ Cl ₂	SCAN	10	SAMPLE #		REMARKS	
CONC		CELL PATH		DATE	11/1/88	PREP			
REFERENCE		PERKIN ELMER		OPERATOR	W. L. C.	COND EXP			125 ST/166
ORIGIN	Dr. Eddie Miller			DATE	27/1/88	FILE NO			
				NO.	5102 1000	FILE #	21662		

FIGURA 3. ESPECTRO DE IR DE LA RESINA GLICOSIDICA (IR-51).

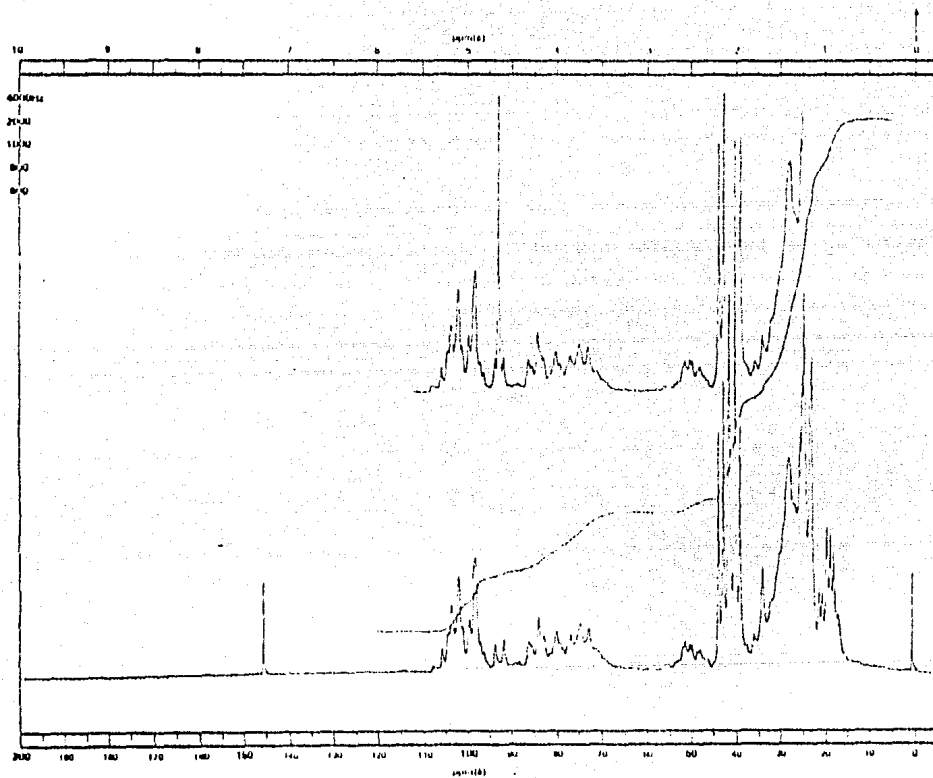


FIGURA 4. ESPECTRO DE RMN^1H DE LA RESINA GLICOSIDICA ACETILADA.

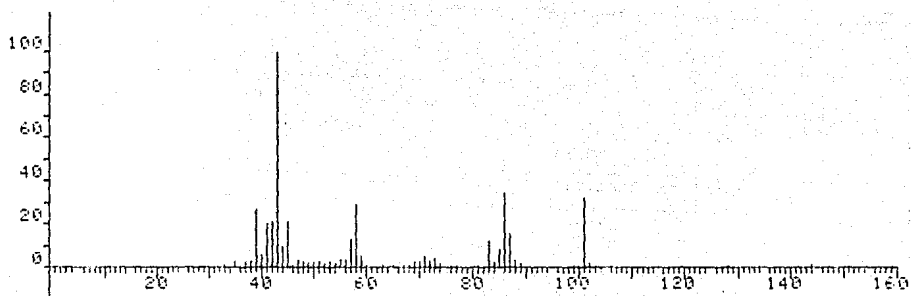


FIGURA 5. ESPECTRO DE MASAS DEL 3-HIDROXI-2-METILBUTIRATO DE METILO

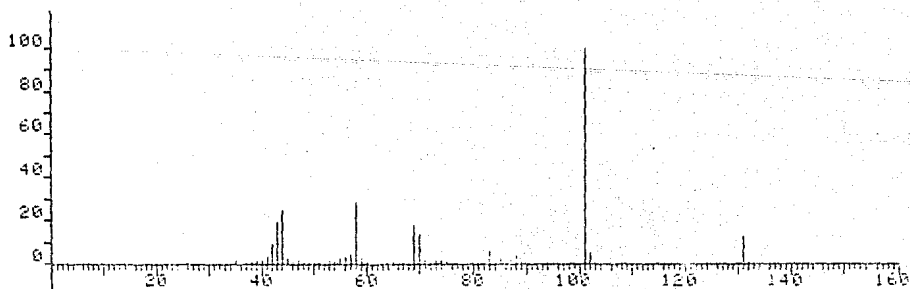


FIGURA 6. ESPECTRO DE MASAS DEL 4-HIDROXI-3-METILPENTANOATO DE METILO

El ácido más polar, de naturaleza glicosídica, se sometió a una hidrólisis ácida que permitió la obtención de 66 mg del ácido jalapínico (ácido 11-hidroxihexadecanoico), como la aglicona correspondiente. Esta unidad, se caracterizó en forma de su metil ester (jalapinolato de metilo, 60 mg) y se encontró que todos sus parámetros físicos y espectroscópicos (Tabla 12) fueron idénticos con los previamente descritos en la literatura (Bieber *et al.*, 1986; Noda *et al.*, 1988, *inter alia*). La información del espectro de masas de este derivado metilado, se resume en la Figura 7.

TABLA 12. CONSTANTES FISICAS Y ESPECTROSCOPICAS DEL JALAPINOLATO DE METILO (MR-71).

	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\underset{\substack{ \\ \text{OH}}}{\text{CH}}-(\text{CH}_2)_9-\text{COOCH}_3$
p. f.	40-43°C
$[\alpha]_D$	+1.2
IR (película) cm^{-1} (Fig. 8)	3350, 2900, 2850, 1745
RMN ¹ H (d, CDCl ₃) (Fig. 9)	0.89 (3H, t, J=7Hz, H-16), 2.30 (2H, d, J=7Hz, H-2), 3.66 (3H, s, -OCH ₃)
EIME (m/z)	286 (M ⁺ , 2%), 229 (15), 219 (20), 215 (25), 200 (15), 183 (65), 157 (20), 143 (35), 101 (60), 87 (90), 74 (40), 59 (20), 55 (100).
Análisis elemental	C ₁₆ H ₃₄ O ₂

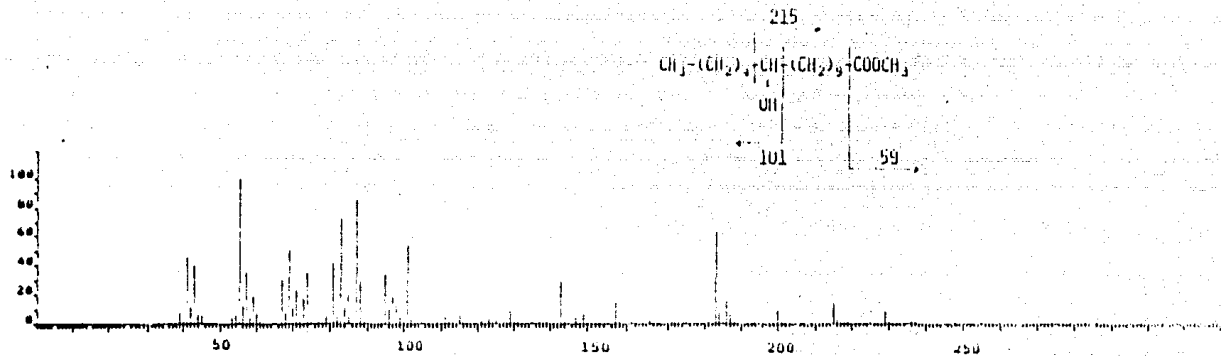


FIGURA 7. ESPECTRO DE MASAS DEL JALAPINOLATO DE METILO (MR-71).

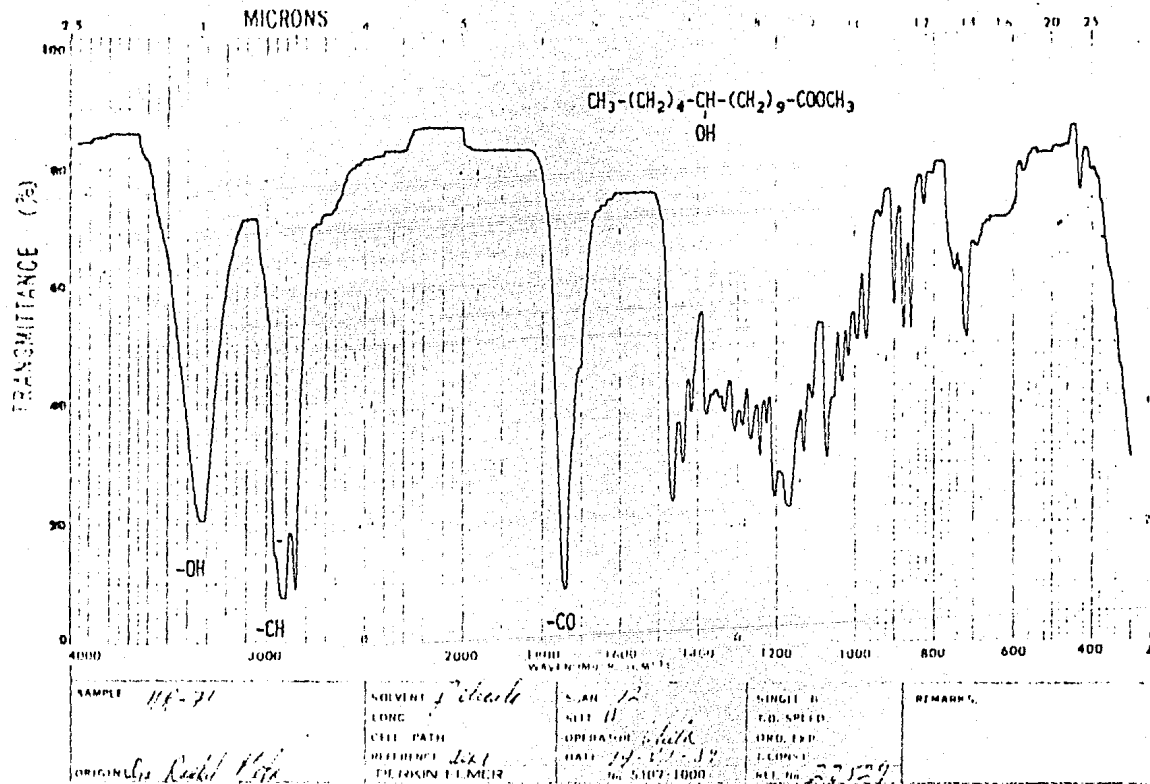
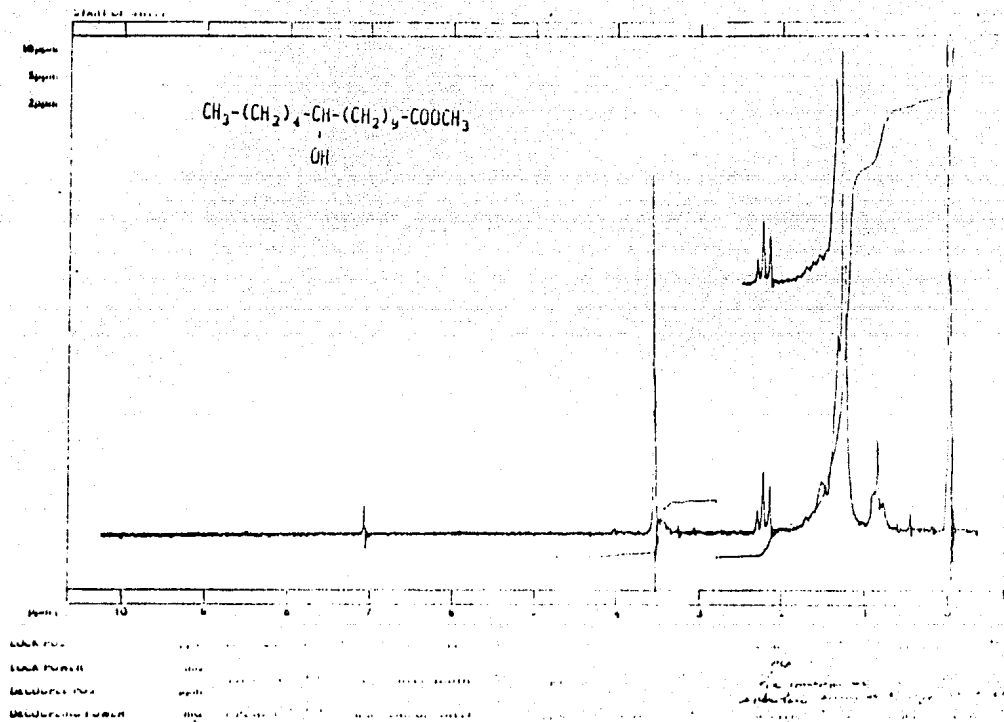


FIGURA 8. ESPECTRO DE IR DEL METIL JALAPINOLATO (MR-71).

FIGURA 9. ESPECTRO DE RMN^{1H} DEL JALAPINOLATO DE METILO (MN-71)

En la fase acuosa del hidrolizado ácido, por medio de c.c.d., se detectó la presencia de glucosa, fucosa y ramnosa como únicos azúcares presentes.

Los resultados anteriores, son consistentes con los compuestos activos de mezclas típicas de resinas glicosídicas encontradas en otras especies de éste género (Wagner *et al.*, 1978; Harrison *et al.*, 1985; Bieber *et al.*, 1986; Noda *et al.*, 1987, 1988; Ono *et al.*, 1989). Todos los componentes de esta mezcla, poseen como aglicona al ácido 11-hidroxihexadecanoico, el cual forma un ester macrocíclico, unido glicosídicamente en la posición C-11. Como previamente se describió, los ácidos orgánicos pueden estar esterificando los azúcares en diferentes posiciones (Fig. 10).

La caracterización de los componentes que forman parte de la mezcla glicosídica, está prácticamente terminada aunque falta determinar la secuencia de unión de los monosacáridos y de los ácidos carboxílicos de bajo PM.

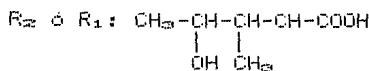
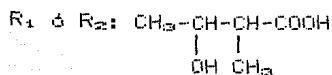
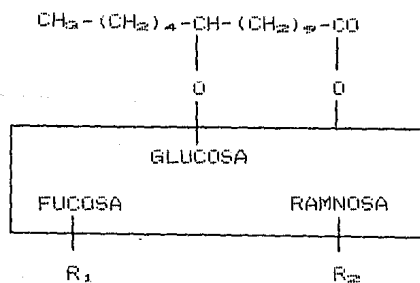


FIGURA 10. CONSTITUYENTES DE LA RESINA GLICOSÍDICA.

Los resultados de los bioensayos presentados en este trabajo, ponen en evidencia la actividad alelopática, del crudo alcaloideo y de la resina glicosídica (especialmente de ésta). Tanto el efecto alelopático de la resina como la utilización de Ipomoea tricolor como planta controladora de malezas en la agricultura tradicional, resultan sin precedentes. Este hecho, proporciona un campo amplísimo de investigación sobre el papel que la alelopatía desempeña en éste uso práctico.

El fenómeno de alelopatía puede ser importante en el control de malezas, que afectan a un sinnúmero de cultivos, que constituyen la base de la alimentación humana, entre otras cosas. Conociendo y utilizando de manera racional el potencial alelopático de muchas plantas, puede evitarse el uso excesivo de los herbicidas, que afectan la economía del campesino y que producen efectos tóxicos sobre los animales y el hombre.

CONCLUSIONES

- Este trabajo constituye la primera descripción de Ipomoea tricolor Cav. como una arvense utilizada en el control de malezas en la agricultura tradicional.
- El estudio fitoquímico biodirigido de Ipomoea tricolor Cav. permitió el aislamiento de una resina glicosídica.
- Se encontró que esta resina glicosídica, produjo una significativa inhibición del crecimiento radicular de las plántulas de Amaranthus leucocarpus y Echinochloa crusgalli y por lo tanto resultó ser la principal responsable del potencial alelopático de la planta.
- Este trabajo constituye el primer reporte de resinas glicosídicas con actividad alelopática.
- Las evidencias químicas y espectroscópicas obtenidas, permiten proponer que los componentes de la resina glicosídica de I. tricolor, son derivados del ácido 11-hidroxihexadecanoico, lactonizado con una unidad trisacárida, compuesta de glucosa, fucosa y ramosa. Estos azúcares, son esterificados por los ácidos 3-hidroxi-2-metilbutírico y 4-hidroxi-3-metilpentanoico.
- La resina glicosídica presentó también un efecto tóxico sobre el crustáceo Artemia salina.

- Las resinas de este tipo, presentan en general una gama muy variada de actividades biológicas y farmacológicas, por lo cual, es necesario implementar mayores estudios sobre estos aspectos.

RECOMENDACIONES

- Continuar con la separación y caracterización de los componentes individuales de la mezcla glicosídica.
- Determinar los mecanismos de acción de la resina glicosídica sobre algunos procesos fisiológicos, utilizando diversas malezas como especies de prueba.
- Valorar la importancia del potencial alelopático de Ipomoea tricolor en el control de malezas que esta planta ejerce, cuando se utiliza como cultivo de cobertura en la agricultura tradicional o los agroecosistemas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Anaya, A.L. 1981. Importancia de la alelopatía dentro de la ecología química. En: Peña, A., Drucker, R.C., y Tapia, R. (Eds.). Temas selectos de fisiología celular. UNAM. México, 69-99 p.p.
- Anaya, A.L., Roy Ocotla, G., Ortiz, L.M., y Ramos, L. 1982. Potencial alelopático de las principales plantas de un cafetal. En: Jimenez, A.E., y Gómez-Pompa, A. (Eds.). Estudios ecológicos en el agroecosistema cafetalero. Co. Ed. Continental. México, 83-92 p.p.
- Anaya, A.L., Ramos, L., Hernández, J.G., y Cruz, R. 1987. Allelopathy in Mexico. En: Waller, G.R. (Ed.). Allelochemicals: role in agriculture. ACS Symposium Series No. 330. Washington, D.C., 89-101 p.p.
- Anaya, A.L., Ramos, L., Cruz, R., Hernández, J., y Nava, V. 1987. Perspectives on allelopathy in Mexican traditional agroecosystems: a case study in Tlaxcala. J. Chem. Ecol. 13(11):2083-2101.
- Anaya, A.L. 1989. Proyecto: Estudios de alelopatía en plantas de agroecosistemas mexicanos. CONACYT. México, 26 p.p.
- Bieber, L.W., Da Silva, F.A., Corrêa, L.R., De Andrade, Ch.A., Carneiro, D.N., De Souza, I.A., De Mello, J.F., y Jürgen, V.H. 1986. Anticancer and antimicrobial glycosides from Ipomoea bahiensis. Phytochem. 25(5):1077-1081.
- Caamal, M.J.A. 1985. Algunos aspectos ecológicos de un sistema agrícola de policultivo en una zona trópicamente húmeda. Tesis

profesional. Fac. de Ciencias, UNAM. México.

- Canonica, L., Danielli, B., Ferrari, G., Krepinsky y Weisz-Vincze, I. 1975. A novel method of isolation of phytoecdysones from kaladana Seeds. *Phytochem.* 14(2):525-527.
- Canonica, L., Danielli, B., Palmisano, G., Ferrari, G., Krepinsky, J. 1977. New phytoecdysones from kaladana II. *Gazz. Chim. Ital.* 107(3-4):229-235
- Chacon, J.C., y Gliessman, S.R. 1982. The use of the non weed concept in traditional tropical agroecosystems of Southeastern in Mexico. *Agroecosystems* 8(1):1-11.
- Choong, T-Ch., y Shough, H.R. 1977. The Isolation and synthesis of chanoclavine-I acid. *Tetrahedron Lett.* (36):3137-3138.
- Datta, S.C., y Sinha Roy, S.P. 1974. Allelopathy and inhibitors. *Science and Culture* 40(2):47-59.
- Dawidar, A.M., Winternitz, F., y Johns, S.R. 1977. Structure of ipomine a new alkaloid from *Ipomoea muricata* Jacq. *Tetrahedron* 33(14):1733-1734.
- Dubey, P., Khare, N., y Gupta, P.C. 1982. A new flavonoid glycoside from the leaves of *Ipomoea fistulosa*. *Curr. Sci.* 51(7):351-352.
- Forsyth, A.A. 1968. *Iniciación a la toxicología vegetal.* Ed. Acribia. Zaragoza, 206 p.p.
- Geetha, G.N., Daniel, M., y Sabnis, S.D. 1986. Chemosystematics of *Ipomoea* Linn and some related taxa. *Curr. Sci.* 55(19):961-965.
- Ghebregzabher, M., Rufini, S., Monaldi, B., y Lato, M. 1976.

Thin-layer chromatography of carbohydrates. J.Chromatog.
127:133-162.

- Guevara, B. 1983. Comparative biological and chemical investigations of locally grown varieties of Ipomoea Linn. (Convolvulaceae). Res.Bull. 38(2):227-305.
- Gupta, O.C., Rizvi, S.A., y Gupta, P.C. 1971. Chemical examination of a phytosterolin from the seeds of Ipomoea fistulosa. Planta Med. 20(2):172-177.
- Harbone, J.B. 1985. Phytochemical methods. Chapman and Hall. New York. 288 p.p.
- Harrison, D.A., Madhusudan, K.P., y Kulshreshtha, D.K. 1985. Structure of dichroside D, a fatty acid glycoside from Ipomoea dichroa. Carbohydr.Res. 143:207-220.
- Heacock, R.A. 1975. Psychotomimetics of the Convolvulaceae. Prog. Med. Chem. 11:91-118.
- Howard, F.H., y Peterson, J.K. 1986. Allelopathic effects of sweet potatoes (Ipomoea batatas) on yellow nutsedge (Cyperus esculentus) and alfalfa (Medicago sativa). Weed Sci. 34:623-627.
- Khanna, S.N., y Gupta, P.C. 1967. Structure of muricatin. Phytochem. 6:735-739.
- Legler, G. 1965. Die bestandteile des giftigen glykosidharzes aus Ipomoea fistulosa Mart. et Choisy. Phytochem. 4:29-41.
- Liptak, A., Chari, V.M., Kreil, B., y Wagner, H. 1978. Structure proof of muricatin B: hydroxyhexadecanoic acid dirhamnoside. Phytochem. 17:997-999.
- MacDougall, T. 1960. Ipomoea tricolor a hallucinogenic plant of the zapotecs. CIAM Bull. 6:6-8.

- Marderrosian, A.D., y Youngken, H.W. 1966. The distribution of indole alkaloids among certain species and varieties of Ipomoea, Rivea and Convolvulus (Convolvulaceae). Lloydia. 29(1):35-42.
- Margalef, R. 1980. Ecología. Omega. Barcelona, 950 p.p.
- Matin, M.A., Tewari, J.P., y Kalani, D.K. 1969. Pharmacological effects of paniculatin-a glycoside isolated from Ipomoea digitata Linn. J. Pharm.Sci. 58(6):757-759.
- Matsuo, T., Itoo, S., Murofushi, N., Takahashi, N., Kobayashi, M., y Chishiki, T. 1984. Identification of gibberellins in the seeds of sweet potato (Ipomoea batatas Lam.) and several other Convolvulaceae plants. Agric.Biol.Chem. 48(12):2935-2941.
- Matuda, E. 1963. El género Ipomoea en México. An.Inst.Biol. UNAM. 34(1):85-145.
- Matuda, E. 1964. El género Ipomoea en México. An.Inst.Biol. UNAM. 35(2):46-76.
- Matuda, E. 1966. Las Convolvulaceas del Estado de México. Dir. Agric. Canadá, 56 p.p.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., y McLaughlin, J.L. 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. Planta Med. 45:31-34.
- Molish, H. 1937. Der einfluss einer pflanze auf die andere - allelopathie. Gustave Fischer Verlag, Jena.
- Nikolin, A., y Nikolin, B. 1972. The separation of ergot and clavine alkaloids by gel filtration. Phytochem. 11:1479-

- Nikolin, A., Nikolin, B., y Jankovic, M. 1978. Ipopurpuroside, a new glycoside from *Ipomoea purpurea*. *Phytochem.* 17:997-999.
- Noda, N., Ono, M., Miyahara, K., y Kawasaki, T. 1987. Resin glycosides. I. Isolation and structure elucidation of orizabin-I, II, III y IV, genuine resin glycosides from the root of *Ipomoea orizabensis*. *Tetrahedron.* 43(17):3889-3902.
- Noda, N., Kobayashi, H., Miyahara, K., y Kawasaki, T. 1988. Resin glycosides. II. Identification and characterization of the component organic and glycosidic acids of the crude resin glycoside from the seeds of *Ipomoea muricata*. *Chem.Pharm.Bull.* 36(2):627-633.
- Noda, N., Kobayashi, H., Miyahara, K., y Kawasaki, T. 1988. Resin glycosides. III. Isolation and structural study of the genuine resin glycosides, muricatins I-IV, from the seeds of *Ipomoea muricata*. *Chem.Pharm.Bull.* 36(3):920-929.
- Noda, N., Nishi, M., Miyahara, K., y Kawasaki, T. 1988. Resin glycosides. IV. Two new resin glycosides, muricatins VII and VIII, from the seeds of *Ipomoea muricata*. *Chem.Pharm.Bull.* 36(5):1707-1713.
- Nordlund, D.A., Lewis, W.J. 1976. Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. *J. Chem. Ecol.* 2(2): 211-220.
- Ono, M., Kubo, K., Miyahara, K., y Kawasaki, T. 1989. Operculin I and II, new ether-soluble resin glycosides ("Jalapin") with fatty acid ester groups from rhizoma

Jalapae braziliensis (roots of Ipomoea operculata).

Chem.Pharm.Bull. 37(1):241-244.

- Pérez Amador, M.C., González, E.A., Saloma, D., García Jiménez, F., y Collera, O. 1982. Comparative study of seed oils from Convolvulaceae. *Phyton* 42(1):93-101.
- Pomilio, A.B., y Sproviero, J.F. 1972. Acylated anthocyanins from Ipomoea cairica. *Phytochem.* 11:1125-1128.
- Putnam, A.R., y Tang, Ch-S. 1986. The science of Allelopathy. Wiley-Interscience. U.S.A., 317 p.p.
- Ramos, L., Anaya, A.L., y Nieto de Pascual, J. 1983. Evaluation of allelopathic potential of dominant herbaceous species in a coffee plantation. *J. Chem. Ecol.* 9(8):1079-1097.
- Rhoades, D.F., y Cates, R.G. 1976. Toward a general theory of plant antiherbivore chemistry. *Rec. Adv. Phytochem.* 10:168-213.
- Rhoades, D.F. 1979. Evaluation of plant chemical defense against herbivores. Rosenthal, L., y Janzen, D.H. (Eds.). *Herbivores, interactions with secondary metabolites.* 168-213.
- Rice, E.L. 1979. *Allelopathy.* 1a ed. Academic Press. New York, 353 p.p.
- Rice, E.L. 1984. *Allelopathy.* 2a ed. Academic Press. New York, 422 p.p.
- Rice, E.L. 1987. *Allelopathy: an overview.* En: Waller, G.R. (Ed.). *Allelochemicals: role in agriculture.* ACS Symposium Series No. 330. Washington, D.C., 8-22 p.p.
- Rzedowsky, J., y de Rzedowsky, G.C. 1985. *Flora fanerogámica*

del Valle de México (II). I.P.N. México. 674 p.p.

- Sarin, J.P., Garg, H.S., Khanna, N.M., y Dhar, M.N. 1973. Ipolearoside: a new glycoside from Ipomoea leari with anti-cancer activity. Phytochem. 12:2461-2468.
- Schultes, R.E. 1982. Plantas alucinógenas. La Prensa Medica Mexicana. México, 160 p.p.
- Seigler, D., y Price, W.P. 1976. Secondary compounds in plants: primary functions. Amer. Natur. 110(971):101-105.
- Shah, C.S., Qadry, J.S., y Krishnamurthy, T.N. 1972. Sugars and coumarins in black-turpeth (Ipomoea turpethum). Indian J. Pharm. 34(5):126.
- Singh, S., y Stacey, B.E. 1973. A new β -D-quinovoside from commercial Ipomoea purga. Phytochem. 12:1701-1705.
- Singhvi, N.R., y Sharma, K.D. 1984. Allelopathic effects of Ludwigia adscendens Linn. and Ipomoea aquatica Forsk on seedling growth of pearl millet (Pennisetum typhoideum (Rich.)). Trans.Isdt & Ucds. 9(2):95-100.
- Smith, C.R., Niece, L.H., Zobel, H.F., y Wolff, I.A. 1964. Glycosidic constituents of Ipomoea parasitica seed. Phytochem. 3:289-299.
- Stahl, E. 1969. Thin-layer chromatography. 2nd. Ed. Springer-Verlang. 1041 p.p.
- Stanescu, U., Riscalcic, E., y Grigorescu, E. 1973. Phytochemical study of Ipomoea violacea seeds. Farmacia 21(12):719-728.
- Swain, T. 1977. Secondary compounds as protective agents. Ann.Rev.Plant Physiol. 28:479-501.
- Taber, W.A., Vining, L.C., y Heacock, R.A. 1963. Clavine and

- lysergic acid alkaloid in varieties of morning glory.
Phytochem. 2:65-70.
- Trease, G.E., y Evans, W.Ch. 1982. *Farmacognosia*. CECSA. España, 910 p.p.
 - Tukey, H.B. 1969. Implications of allelopathy in agricultural plant science. *The Bot. Rev.* 35:1-16.
 - Wagner, H., y Kazmaier, P. 1971. Struktur der operculinsäure (rhamnoconvolvulinsäure) aus *Ipomoea operculata* Martin. *Tetrahedron Lett.* (35):3233-3236.
 - Wagner, H., y Kazmaier, P. 1977. Struktur der operculinsäure aus dem harz von *Ipomoea operculata*. *Phytochem.* 16:711-714.
 - Wagner, H., Wenzel, G., y Chari, V.M., 1978. The turpethinic acids of *Ipomoea turpethum* L. *Planta Med.* 33:141-151.
 - Whittaker, R.H., y Feeny, P.P. 1971. Allelochemicals: chemical interactions between species. *Science* 171:757-770.
 - Wilkinson, R.E., Hardcastle, W.S., y McCormick, C.S. 1986. Ergot alkaloid of *Ipomoea lacunosa*, *I. hederacea*, *I. trichocarpa* and *I. purpurea* seed. *Can J. Plant Sci.* 66(2):339-343.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA