

172
24'



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**"ANALISIS QUIMICO COMPARATIVO EN
CUATRO ETAPAS DE DESARROLLO EN:
STEMMADENIA DONNELL-SMITHII, POULSENIA
ARMATA Y CUPONIA DENTATA"**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A :

MA. DEL CARMEN QUINTANA GARCI-NUÑO



1992

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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

	PAGINAS
I.- INTRODUCCION	1-4
Objetivos	4-5
II.- ANTECEDENTES	6-15
III.- UBICACION TAXONOMICA	16-18
Descripción de cada una de las especies.	19-24
IV.- MATERIAL Y METODO	25-44
V.- RESULTADOS Y DISCUSION	45-64
VI.- CONCLUSIONES	65-67
VII.- BIBLIOGRAFIA	68-70

INTRODUCCION.

Hasta el año 1800, aproximadamente, el avance en el campo de la fitoquímica fué muy limitado, tan sólo se conocían sustancias como el azúcar de caña, almidón y alcanfor, entre otros, ya que su obtención era muy sencilla; mezclas más complejas se utilizaban tales como las grasas, aceites esenciales y resinas aunque su composición se desconocía (Trease-Evans, 1987).

Hasta mediados del siglo XX, el principal empeño de los químicos, fué el aislamiento y determinación de la estructura de una amplia gama de compuestos de origen vegetal. Una vez que se conocieron los principales tipos estructurales entre las plantas, las investigaciones se enfocaron hacia la búsqueda de las rutas biosintéticas a partir de las cuales se originan los metabolitos secundarios.

Como resultado de las investigaciones realizadas se ha observado que, aparte de los productos obtenidos a través del metabolismo esencial de la planta, existen otros cuyo origen no se ha establecido claramente pero se les reconoce como metabolitos secundarios. Estudios de Biología y Bioquímica de las plantas muestran frecuentemente que los compuestos secundarios son una parte integral de la relación

de la planta con su medio ambiente y su metabolismo, y que estos compuestos pueden estar bajo altas presiones de selección (Padford, 1974).

La mayoría de los estudios para determinar la presencia de estos metabolitos en las plantas se han realizado, generalmente utilizando la corteza, madera frutos y semillas de éstas. Dentro de la Quimiotaxonomía, el evidenciar la presencia de dichos compuestos es de gran ayuda para reubicar a nivel de familias, género o especie a plantas que presentan dificultades en cuanto a su clasificación taxonómica.

Para la Farmacognosia también es importante el estudio de dichos metabolitos, ya que las drogas que se utilizan para la cura de algunas enfermedades deben su actividad terapéutica a estos compuestos.

Entre los metabolitos estudiados están los flavonoides. Estos se pueden encontrar en estado libre o como heterósidos y son el grupo más amplio que se conoce de los fenoles naturales. Hasta ahora se reconocen más de 2000 de estos compuestos, 500 se encuentran en estado libre (Chapman and Hall, 1982).

Al grupo de los flavonoides pertenecen las antocianinas o pigmentos antocianínicos. Estos junto con las flavonas son solubles en la savia y poseen un anillo de pirona. Las flavonas son amarillas y se encuentran ampliamente distribuidas en tejidos jóvenes de plantas superiores. La presencia de flavonas confiere a las

plantas que las tienen propiedades diuréticas o antiespasmódicas, mientras que algunas isoflavonas poseen propiedades estrogénicas y fungicidas.

Otro tipo de heterósidos son las Saponinas, las que al ser hidrolizadas con un ácido dan lugar a una genina (sapogenina). Según la estructura de la genina, éstas pueden ser de tipo esteroideal o triterpenoide tetracíclicos y pentacíclicos. Los más comunes son los últimos y se encuentran ampliamente distribuidos en las familias de las *Sapindaceae* y *Sapotaceae*, entre otras. Los estudios se han realizado en corteza, raíz y semilla de dichas familias (Trease and Evans, 1988).

También se conocen los heterósidos cardíacos, los cuales parecen estar limitados a las angiospermas, siendo los cardenólidos los más comunes, especialmente en la familia de las *Apocynaceae* y *Asclepidaceae*, así como en las *Moraceae* y *Leguminosae*. Estos metabolitos se utilizan para la elaboración de fármacos para ciertos padecimientos cardíacos. Se les ha encontrado en semilla, corteza y hojas de las familias que los presentan (Dirzo, 1985).

Otro grupo de metabolitos secundarios son los alcaloides, se conoce una gran variedad de éstos y tan sólo las propiedades químicas debidas al nitrógeno básico que presentan unifican las numerosas clases de estos. La mayoría son cristalinos y al unirse con ácidos forman sales. En las plantas pueden estar en estado libre, en forma de sales o como N-óxidos. El conocimiento de la solubilidad de éstos y

sus sales, es de gran utilidad para la industria farmacéutica y también para la fitoquímica, ya que dicha solubilidad da lugar a la utilización de determinados métodos para aislarlos de la planta (Trease-Evans, 1988).

Para efectuar este trabajo se utilizaron tres especies: *Stemmadenia donnell-smithii* (Apocynaceae), *Poulsenia armata* (Moraceae) y *Cuponia dentata* (Sapindaceae).

Se conoce, por investigaciones realizadas anteriormente con *Stemmadenia donnell-smithii*, que tiene alcaloides así como terpenos y esteroides y que para el estudio de éstos se utilizaron la corteza, madera y frutos de la planta (Collera y Walls, 1962; Sandoval, 1962). De *Poulsenia armata* y *Cuponia dentata* se han realizado pocas investigaciones enfocadas hacia la determinación de sus metabolitos secundarios y en ambos casos los estudios que se han llevado a cabo han sido utilizando la corteza, madera y semilla (Milton and Jenness, 1986; Hegnauer, 1962-73).

OBJETIVOS.

Tomando en cuenta lo anteriormente mencionado, se consideró la conveniencia de contribuir al estudio fitoquímico de estas especies del estado de Veracruz, dándole un enfoque de interés ecológico, al estudiar la distribución de los metabolitos secundarios, en la planta, dado que algunos se consideran como sustancias de defensa.

Se planteó como objetivo general para este trabajo, el hacer un sondeo químico en extractos de semillas y hojas

en 3 etapas de desarrollo, de las 3 especies, pertenecientes a familias diferentes que crecen en la selva alta perennifolia de Los Tuxtlas, Veracruz, con objeto de ver la distribución de los grupos de metabolitos secundarios en las diferentes etapas de crecimiento de la planta.

Y Teniendo como objetivos particulares:

La preparación de extractos hexánicos y metanólicos de las diferentes muestras.

La determinación de grupos de metabolitos secundarios y perfiles cromatográficos de los extractos, y

-El análisis de los aceites de *Stemmadenia donnell-smithii* y de las ceras de *Poulsenia armata* por cromatografía de gases.

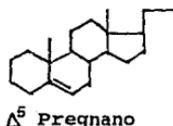
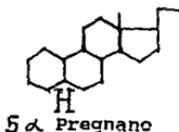
ANTECEDENTES.

Los estudios químicos realizados en las familias de las Apocynaceae, Sapindaceae y Moraceae han dejado al descubierto los compuestos que las caracterizan.

Haciendo referencia a la Familia de las Apocynaceae, los compuestos que se encuentran con mayor frecuencia son los alcaloides y pseudoalcaloides (Mahnauer, 1962-73). Los alcaloides pueden ser de tres tipos. a) alcaloides monoterpénicos, b) esteroalcaloides y c) alcaloides indólicos.

a.) Los alcaloides monoterpénicos se presentan en el género *Skyntanthus*, como la skintantina, C₁₁H₁₇N.

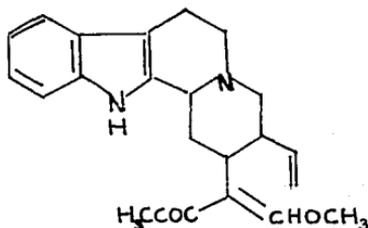
b.) Los esteroalcaloides se han encontrado en los siguientes géneros: *Chonemorphe*, *Funtumia* y *Holarrhena*. Su núcleo fundamental es esteroidal, como los derivados del pregnano que puede encontrarse como H₅ α -pregnano o como Δ^5 -pregnano:



c.) Alcaloides indólicos. Presentan un grupo indólico como base de su esqueleto, formando los siguientes grupos.

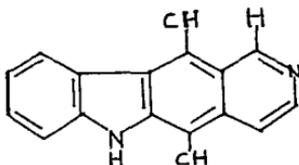
1.- Carbolínico; ejemplos son la Reserpina, la corinanteína y la alstonina entre otros.

Corinanteína



2.- Indolisquinolinico, siendo ejemplos de éste la Ellipticina y la Olivacina.

Ellipticina

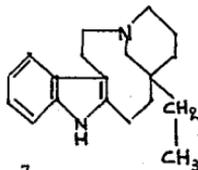


3.- Grupos diversos;

Tipo Aspidospermine, en el que se encuentra la Quebrachamina (*Stemmadenia*).

Tipo Ibogaina. En este se clasifican los siguientes alcaloides: Ibogaina, Ibogamina, Tabernantina, coronaridina y Voacangina, encontrándose éstos en los géneros. *Catharanthu Stemmadenia, Tabernaemontana, Tabernanthe* y *Voacanga*.

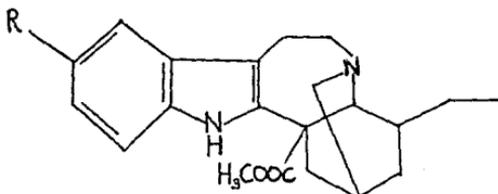
Quebrachamina



En estudios efectuados por cromatografía en placa delgada con el género *Tabernaemontana* (Apocynaceae), se ha encontrado que éste presenta una gran cantidad de alcaloides indólicos, los cuales se encuentran también en otros géneros como *Tabernanthe*, *Voacanga* y *Stemmadenia*. Uno de estos alcaloides comunes es Stemadenina (Van Beck, 1984).

R=H: Coronaridina

R=OCH₃: Voacangina



En un estudio preliminar realizado por Domínguez, (1976), con la especie *Stemmadenia galeottiana*, se aisló de la cáscara del fruto un alcaloide identificado como coronaridina, el cual es típico de la tribu Plumeridae a la cual pertenece el género *Stemmadenia*. También se aisló de la cáscara del fruto el acetato de Taraxasterol, el cual también se encuentra en *S. bella*, especie estudiada en la India por (Talapatra, 1973).

Respecto a *Stemmadenia donnell-smithii*, se encontró en la literatura que: Al realizar estudios de esta especie, conjuntamente con *S. galeottiana* (Walls, 1958), se aislaron alcaloides ya identificados, como la Voacangina, descrita

por (Janot y Goutarel, 1960), cuya estructura fué establecida por (Taylor, 1957). También se aislaron la Voacamina (IIIa) y la Tabernantina, descrita por (Delourme-Hounde, 1947), así como la Iboganina.

Los nuevos alcaloides que se aislaron de estas especies fueron la (+)-quebrachamina (IV), un isómero óptico de la (-)-quebrachamina, la isovoacangina (IIIa), un isómero de posición de la Voacangina y la stemmadenina.

Para aislar dichos alcaloides, Walls y Collera (1957), utilizaron la madera, corteza y frutos de ambas especies *Stemmadenia donnell-smithii* y *S. galeottiana* (Sandoval y Walls, 1962), en otro estudio aislaron alcaloides utilizando para ello diferentes géneros de *Stemmadenia*: *S. donnell smithii* (semillas), *S. tomentosa* Greenman, var. *Palmeri* (semillas y frutos), *S. ovobata* (semillas, frutos, corteza y madera), y de *Tabernaemontana alba* (semillas).

De las semillas de *S. donnell-smithii*, se aisló coronaridina y tabersonina. De los frutos de *S. tomentosa* se aisló stemmadenina y tabersonina de sus semillas, aislándose también éste último de las semillas de *S. ovobata*, de la corteza de ésta se aisló ajmalicina (alcaloide) y de sus frutos sin semilla stemmadenina. Por último de las semillas de *Tabernaemontana alba* se obtuvieron los alcaloides ya mencionados.

Con *S. donnell-smithii*, también se han realizado estudios para aislar los triterpenos presentes en los frutos

de dicha especie, encontrándose taraxasterol, acetato de taraxasterol y una mezcla de acetatos de isómeros del taraxasterol (lupeol, germanicol, taraxasterol y lupeol I). También se estudio la fracción neutra del extracto etanólico, de la madera aislandose ψ taraxasterol y β, δ sitosteroles (Estrada, 1962).

Por otro lado Ciccio y Castro (1984), realizaron estudios con *S. donnell-smithii*, *S. glabra* y *S. ovobata*, con la finalidad de aislar e identificar los compuestos que dan el color rojo a los frutos maduros de estos tres diferentes géneros, concluyendo que el pigmento presente en dichos frutos es el fisalieno (dipalmitato de zeaxantina).

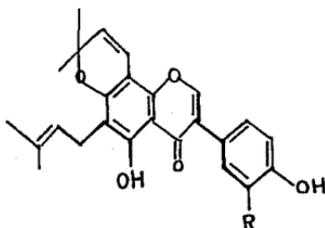
En otros estudios, realizados con las semillas de estos frutos, se han aislado aparte de los alcaloides ya mencionados, un 25% de aceites cuyos gliceridos están compuestos por ácido oleico, linóleico, palmítico y esteárico (Ciccio y Castro, 1982).

En relación a la familia de las Moráceas (Hegnauer, 1962-73), se han identificado diferentes compuestos;

A) Flavonoides, entre los que se encuentran flavonas, isoflavonas, y flavonoles, como la Cianomacurina Morin-dihidromorina, cicloartocarpina, osajina y pomiferina.

R=H:Osajina

R=OH:Pomiferina



b). Benzofenonas y Xantonas. Ejemplo de éstas son la alvaxantana, macluraxantona y osajaxantona. Todas estas se encuentran presentes en la madera, corteza, hojas y frutos, de algunas especies de dicha familia.

c). Triterpenos, esteroides y ceras. En *Artocarpus lakoocha* r. se identificó β amirina y acetato de lupeol. En *Brossimum* sp. se aisló sitosterol. En *Ficus carica* I, se identificaron β sitosterol, β amirina y lupeol, así como ceras, saponinas esteroidales y pseudotaraxasterol (Kamel, 1962).

d). Saponinas

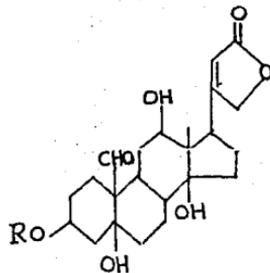
e). Cumarinas y taninos.

f). Cardenólidos, teniendo como ejemplo

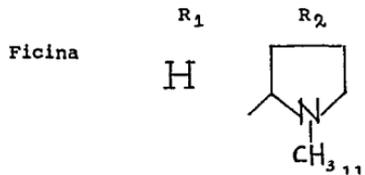
R= H; Antiarigenina

R: Phamnosyl; β -antiarina

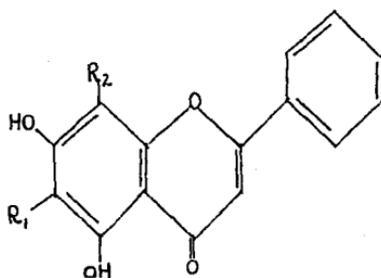
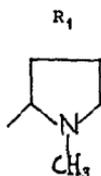
R: Antiarosyl; α -antiarina



g). Alcaloides. Ejemplo de estos son la septicina y la ficina, considerándose a éste último como un flavonoide alcalóideo.



Isopicina



En *Ficus bispida* se identificaron alcaloides tóxicos y en *Myrranthus arboreus*, se aisló un peptido alcaloideo.

h). La mayoría de las especies de esta familia presentan látex. Del látex de *Artocarpus communis* se aisló acetato de Samirina y Samirina.

i). En *Ficus carica*, se han aislado aceites y también se han identificado sesquiterpenos y parafinas, así como psolareno, furocumarina que sirve para el tratamiento del vitiligo y despigmentación de la piel. (Abu-Mustafa, 1964). En *Ficus cecropia*, se aislaron compuestos que presentan propiedades antihistaminicas y sedativas. En las semillas de *Ficus awkoolsang makino* se observó que contiene pectina (1-4 galacturan), Oda-Tanaka (1966).

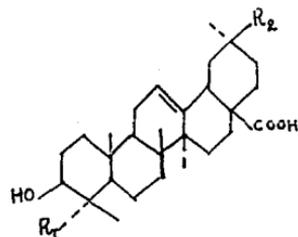
Milton y Jenness (1986), realizaron estudios en diferentes especies de plantas neotropicales pertenecientes a la familia de las Moraceas; para dicho estudio utilizaron ejemplares húmedos de follaje, flores y frutos de *Poulsenia armata* y varias especies de *Ficus*. El resultado obtenido fué que todos los ejemplares tenían ascorbato, pero éste

variaba en concentración de acuerdo a la parte de la planta que se estuviera estudiando y a la especie a la que pertenecía. En general se encontró que el follaje tiene mayor cantidad de ascorbato que las flores y frutos maduros. En el caso de *Poulsenia armata*, se tomaron muestras a dos diferentes alturas(4-5m y 30m), observándose que aquellas muestras que se encontraban a mayor altura en el árbol, presentan un mayor contenido de ascorbato, que aquellas que estan a 4-5 mt de altura. La mayor concentración de dicho compuesto se encontró en las hojas jóvenes, lo cual se explica como el resultado de una mayor exposición a la luz por parte de estas, lo que incrementa el metabolismo de las mismas. Dicho estudio se realizó ya que estas plantas son importantes en la dieta de ciertos murciélagos y simios porque les suministran el ácido ascórbico del cual carecen.

De la familia de las Sapindáceas se encuentran los siguientes antecedentes químicos.

1). Presentan saponinas triterpénicas, cuyas sapogeninas son:

	R ₁	R ₂
ácido oleanólico	CH ₃	CH ₃
hederagenina	CH ₂ OH	CH ₃
ácido serjanínico	CH ₃	COOH



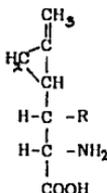
2). Tienen diterpenos, triterpenos y esteroides. En *Alectryon excelsus*, aislaron 0.08% de epifriedelinol y 0.5% de β sitosterol (Hegnauer, 1962-73).

3). Se han encontrado también flavonoides como la Quercitina, la leucocianidina, la leucodelphinidina y el kaempherol, todos en hojas.

4). Aparte de los compuestos señalados se encontró que presentan aminoácidos. En *Blighia sapida*, se aislaron del arilo 2 péptidos tóxicos (Hassall y Rayle, 1954-55), a los que nombraron Hipoglicina A y B.

R=H: Hypoglycina A

R=CH₃: β -methylhipoglicina A.



Fowden y Sung (1969), han realizado estudios con plantas de esta familia y han encontrado que presentan aminoácidos poco usuales, con cadenas ramificadas y estructuras con 6 y 7 carbonos, en sus semillas. Se han identificado 12 aminoácidos y 2 péptidos γ glutámicos. La mayoría tienen enlaces etilénicos o acetilénicos, siendo la isoleucina el precursor común de la mayoría de dichos compuestos. Hopkins y Chislom (1967), estudiaron el aceite de las semillas de *Cardiospermum halicacabum* y encontraron

una pequeña cantidad de un éster volátil, el metil 4,4 dimetoxi-3-(metoximetil) butirato I.

Respecto a la especie que nosotros trabajamos *Cupania dentata*, no se encontró información sobre estudios químicos o fitoquímicos realizados con la misma.

UBICACION TAXONOMICA.

División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Asteridae
Orden: Gentianales
Familia: Apocynaceae
Genero: Stemmadenia
Especie: donnell-smithii

Según Cronquist (1981)

UBICACION TAXONOMICA

División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Hamamelidae
Orden: Urticales
Familia: Moraceae
Género: Poulsenia
Especie: armata

Según Cronquist (1981).

UBICACION TAXONOMICA

División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Rosidae
Orden: Sapindales
Familia: Sapindaceae
Género: Cuponia
Especie: dentanta

Según Cronquist (1981).

Descripción de cada una de las especies estudiadas en este trabajo.

Stemmadenia donnell-smithii (Rose) Woodson.

Arboles de 10-20mts de altura, corteza lisa blanquecina, ramas jóvenes fisuradas, láminas foliares, elípticas a oblanceoleada de 6-20 cm de largo, de 2.5-6cm de ancho, cuspidadas en ápices cuneados y atenuados en la base, anteras glabras o algunas veces presentan dormancias en el envés, peciolo de 5mm de largo, glabras acanaladas. Inflorescencias de pocas flores, pedúnculo de 2-3.5cm de largo, cilíndrico o anguloso, café grisáceo, con brácteas ovadas de 4mm de largo, por 2mm de ancho, deciduos, bracteolas glabras en dos series, la primera serie obovadas, de 4mm de largo y 4-5mm de ancho, membranosas, la segunda serie obovadas, de 1cm de largo por 1cm de ancho, escareosas glabras. Flores de 4 cm de largo, lóbulos del cáliz de ovadas a ovado-oblongos; de 2cm de largo, 1-2 cm de ancho, glabras, membranosas; corola hipocrateriforme amarilla (tubo de 3.5cm de largo por 5mm de ancho), lóbulos de la corola ovados oblicuamente de 1cm de largo, de 8-9mm de ancho, anteras oblongas de 3mm de largo, ovario oblongo, de 1mm de ancho, estilo de 3cm de largo, estigma fusiforme, folículos de 6-8cm de largo por 4-5 cm de ancho, café claro con

lenticelas lisas cuando verdes y rugosas cuando secas, semillas ovadas de 8mm de largo po 3mm de ancho, rugosos envueltas en arilos anaranjados.

Habitat. Forma parte del estrato medio de la vegetación primaria o secundaria de selvas mediana y alta perennifolias de *Brosimum alicastrum* y *Manilkara zapota*. Crece en suelos de aluvi6n, negros arcillosos y de roca caliza en laderas y sobre suelos planos. Florece de Marzo a Septiembre y de Diciembre a Marzo fructifica (Niembro A. 1990)

Nombre vulgar: Caj6n de toro.

Sinonimia. *Tabernaemontana donnell-smithii* (Woodson 1928).

Poulsenia armata (Miq. Standl. Trop. Woods 33:4,
1933).

Descripción. Arbol grande, algunas veces llega a medir hasta 25mts de alto, con una corona redondeada densa e irregular. El tronco es derecho, redondeado y algunas veces comprimido, de 30-60cms de diametro. Casi siempre con pequeñas y oscuras ramas; tejido café, cuando se hace un corte al mismo suelta un látex de color crema. Presenta hojas bracteoladas y pecioladas, estípulas provistas de apéndices cortos y duros. Las hojas son largas, peciolo de 1.5-2.5cm de largo, el margen es redondo u ovalado, pudiendo ser también de forma elíptica, la mayoría de las veces mide de 14-40cm de largo y de 11-25cm de ancho, son muy oblicuas al menos las mas grandes, pudiendo ser redondas u obtusas en el ápice y apiculadas o cortas-cuminadas redondeadas en la base; presentan estípulas glabras de 2-2.5cm de largo o más. Inflorescencias glabras estaminadas de 12mm, de diametro con pedúnculos de casi el mismo largo; presentan muchos receptáculos pistilados florescipientes, la mayoría florecen de 3-7 los cuales son sesiles, el pistilo mide cerca de 6mm de largo. El fruto mide de 1.5-2.5cm de diametro.

Habitat. Forma parte del bosque tropical perennifolio. Se le localiza en Veracruz, Oaxaca y Chiapas.

Principales productos y utilización. No tiene usos industriales. La madera es altamente resistente al fuego, por lo que es muy apreciada para la construcción de viviendas rurales. Las fibras de las maderas poseen propiedades excelentes para la fabricación del papel.

La corteza fibrosa se utiliza en algunos lugares para confeccionar una especie de tejido que sirve para la manufactura de hamacas y vestidos. Los frutos maduros son muy aprovechados como complemento alimenticio y con frecuencia se les encuentra en mercados de tierra caliente (Niembro A. 1990).

Nombre común: Ababite-Huichilama (Veracruz)
Chirimoya y Carnero (Oaxaca).

Sinónimia. *Olmedia armata*

P. aculeata Eggers.

Coussapoa reko (Standley, 1919).

Cuponia dentata (D.C. Prodr I: 614, 1824).

Descripción. Arbusto o árbol, generalmente de 9mt de alto o menos, las ramas jóvenes son poco cinerosas-sedosas, también glabras; de 6-14 hojas compuestas, de forma elíptica u obovadas, la mayoría con 8-20cm de largo y 3-7cm de ancho; redondeadas y frecuentemente presentan una punta redondeada algunas obtusas o acuminadas generalmente cortantes en la base o serradas. Glabras ovadas más o menos, presentan cavidades conspicuas en los nervios axilares, panículas largas generalmente del mismo tamaño que las hojas, densas y muy poco cinerosas-pubescentes. Las brácteas son pequeñas y conspicuas. Los pedicelos miden 1mm de largo, sépalos pubescentes con cápsulas con punta globosa, glabras hacia afuera miden 1.5cm de largo (Standley, 1919).

Habitat: Forma parte del bosque tropical subcaducifolio. Se le encuentra en Puebla, Veracruz, Tabasco Campeche, Guerrero, San Luis Potosi, Michoacan, Colima, Jalisco y Sinaloa.

Principales productos y utilización.

No tiene usos industriales. La madera se utiliza localmente para leña y carbón, construcciones rurales, mangos para herramienta e implementos agrícolas. Se

recomienda para fabricar muebles, construcción de embarcaciones de pequeño calado y hormas para zapatos (Niembro, 1990).

Nombre común: Cola de Pava

Cuisal Casalcahuite (Niembro,
1990).

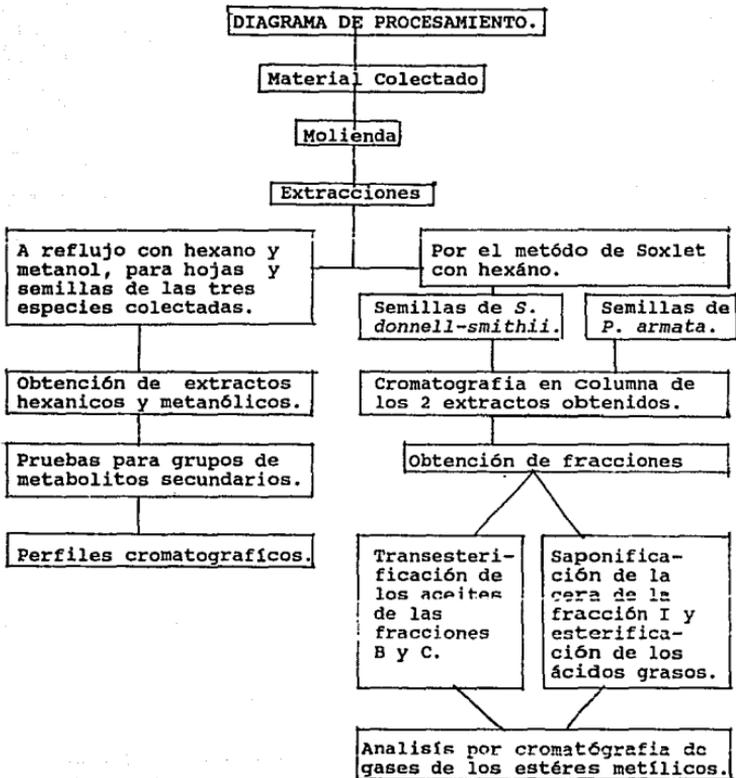
Sinonimia: *Polyzyga radk.* in Engl. *Pfauzeurich*
Sapindaceae 1060 (1933).

MATERIAL Y METODO

1.- Sitio de Colecta.

El material, hojas en tres estadios de desarrollo y semilla de *Stemmadenia donnell-smithii*, *Poulsenia armata* y *Cuponia dentata*, se colectó en la estación biológica de los Tuxtlas, Veracruz.

Dicha estación se encuentra en la sierra de Los Tuxtlas, al sureste del estado de Veracruz, a la altura del paralelo 18° 30' y del meridiano 95. Hacia el centro de la Sierra se encuentra el lago de Catemaco y hacia el NW y SW del mismo se encuentra la estación de Biología tropical "Los Tuxtlas", de la UNAM, dedicada al estudio y conservación de una reserva Ecológica. La zona de los Tuxtlas constituye la extensión más oriental de la cadena montañosa, que forma el eje volcánico transversal. Su clima es cálido-húmedo, con temperatura promedio anual de 25° C. La precipitación promedio anual es de 5000mm, con estación de secas de Marzo a Mayo.



2.- Preparación del material.

Se secaron a temperatura ambiente tanto las hojas como las semillas de cada una de las especies. Las hojas se molieron en un molino manual hasta obtener un polvo fino, mientras que las semillas se pulverizaron en mortero, por ser poca cantidad. Hecho lo anterior se pesaron las muestras y guardaron en frascos previamente etiquetados para su utilización.

3.- Preparación de Extractos.

Se extrajeron con hexano a reflujo (3x8hrs), 10g de hojas, en tres diferentes etapas de desarrollo (plántula, juvenil y adulto), de cada una de las especies.

Terminadas las extracciones se llevaron a sequedad las muestras, las cuales se guardaron en frascos previamente pesados y etiquetados y se calcularon los rendimientos de cada uno de los extractos (Tabla I).

Las extracciones se repitieron en la misma forma con el material extraído con hexano, pero esta vez el disolvente utilizado fué metanol (Tabla Ia).

TABLA I. RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS HEXANICOS DE:
STEMMADENIA DONNELL-SMITHII, *POULSENIA ARMATA* Y
CUPONIA DENTATA.

Stemmadenia Donnell-smithii

Extracto	peso (g)	Rendimiento %
Semilla	2.9782	29.78
Plántula	.4561	11.40
P. Joven	1.35	38.57
Adulto	.40	4

Poulsenia armata

Semilla	2.4057	24.057
Plántula	.7590	21.68
P. joven	.9215	23.03
Adulto	.8661	12.73

Cuponia dentata

Semilla	.2059	1.3761
Plántula	.41	4.1
P. joven	.3834	3.83
Adulto	.8084	8.08

TABLA Ia. RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS METANOLICOS DE:

Stemmadenia donnell-smithii, *Poulsenia armata* y
Cuponia dentata.

Stemmadenia donnell-smithii

Extracto	Peso (g)	Rendimiento %
Semilla	.4169	4.169
Plántula	.4293	10.73
P. joven	.6133	17.52
Adulto	.8840	8.84

Poulsenia armata

Semilla	.2573	2.57
Plántula	1.8381	52.51
P. joven	1.9590	48.97
Adulto	1.0157	14.51

Cuponia dentata

Semilla	1.3761	13.78
Plántula	.6897	6.89
P. joven	.8806	8.80
Adulto	1.0244	10.24

4.- Determinación de grupos de Metabolitos Secundarios.

Para la determinación de grupos de metabolitos secundarios se pesaron 10mg de cada una de las muestras de los extractos hexánicos, así como de los metanólicos, en tubos con tapón de rosca y se disolvieron en 10ml de cloroformo o metanol, según el extracto.

Los extractos hexánicos se decoloraron con carbón activado para eliminar la clorofila, se filtraron y se ajustaron nuevamente a 10 ml.

4.1.- Pruebas mediante reacciones que generan color

Extractos Hexánicos.

4.1.a.- Prueba de Leberman-Buchard para Terpenos y Esteroides.

Se tomó 1ml de la solución clorofórmica y se le agregó 1 ml del reactivo. La reacción es positiva si da un color azul o azul verdoso para terpenos o un color rojo o rosa a violeta si se trata de esteroides.

4.1.b.- *Prueba de Shinoda para determinación de Flavonoides.*

Se tomo 1 ml de la solución clorofórmica al cual se le adicionó un trozo de limadura de Mg más tres gotas de HCL concentrado. La reacción es positiva si se genera un color anaranjado, rojo, rojo azulado o violeta (Tabla II).

4.2.- *Pruebas mediante reacciones de precipitación.*

Pruebas para Alcaloides.

4.2.a. *Con reactivo de ácido silicotúngstico.*

Se tomó 1m de la solución clorofórmica, se evaporó a sequedad, y se agregó 1ml de agua y unas gotas de HCL al 10%, más dos gotas del reactivo de ácido silicotúngstico. La formación de un precipitado amarillo paja indica una reacción positiva (Tabla II).

4.2.b. *Con reactivo de Dragendorff.*

Se tomó 1ml de la solución clorofórmica, se evaporó a sequedad y se agregó 1ml de agua y unas gotas de HCl al 10%, y se añadieron 2 gotas del reactivo. La reacción

**TABLA II. PRUEBAS PARA GRUPOS DE METABOLITOS SECUNDARIOS
CON EXTRACTOS HEXANICOS DE:**

Stommadenia donnell-smithii

	Flavonoides	Terpenos y Esteroides	Alcaloides (A)
Semilla	+	-	+++
Plántula	++	++	-
P.joven	+	+	-
Adulto	+	-	-

Poulsenia armata

Semilla	+	-	-
Plántula	+	++	-
P.joven	++	++	-
Adulto	+	+	-

Cuponia dentata

Semilla	+	-	-
Plántula	+	+	-
P.joven	++	+	-
Adulto	+++	++	-

es positiva si hay formación de un precipitado naranja (Tabla II).

Con los extractos metanólicos se trabajo de igual forma, y se hizo, además una prueba con el reactivo de Molish (Tabla III).

4.1.C.- Prueba de Molish, para la caracterización de glicósidos.

Se tomó 1ml del extracto metanólico y se le adicionaron 2 gotas de una solución de α -Naftol, más 1 ml de ácido sulfúrico concentrado. En caso de ser positiva la reacción, aparece un anillo violeta en la interfase de los dos líquidos (Tabla III).

5.- Perfiles cromatográficos.

Para hacer los perfiles cromatográficos se utilizaron placas delgadas de gel de sílice Merck G-60. Para determinar el mejor eluyente se hicieron pruebas con mezclas de disolventes de diferente polaridad, encontrándose que para los extractos hexánicos, los mejores fueron Hexano-ACoEt en proporciones de 7:3, 8:2 y 9:1 (Fig. I, II, III). Para los extractos metanólicos el mejor eluyente fué una mezcla de Butanol-Acido Acético-Agua, en una proporción de 5:1:4. Una vez puesta la técnica a punto, se hizo un perfil cuantificado en una placa de 20x20, para las muestras de

TABLE III. PRUEBAS PARA GRUPOS DE METABOLITOS SECUNDARIOS
CON EXTRACTOS METANOLICOS DE:

Stemmadenia donnell-smithii

	Flavonoides	Terpenos y Esteroides	Glucosidos	Alcaloides
Semilla	+	-	+++	+
Plántula	+	+	-	lig. +
P. joven	+	+	-	lig. +
Adulto	++	++	-	+

Poulsenia armata

Semilla	+	lig. +	+	lig. +
Plántula	+	+	++	lig. +
P. joven	+	+	++	lig. +
Adulto	++	lig. +	+	lig. +

Cuponia dentata

Semilla	-	+	+++	-
Plántula	++	+++	-	lig. +
P. joven	++	+++	-	+
Adulto	++	++	+	+-

lig.= ligeramente

cada uno de los extractos. Las muestras se aplicaron con una micropipeta de 20 μ l, a una concentración de 5mg/ml y se eluyeron con las mezclas arriba mencionadas. Se dejaron secar y a continuación se observaron con luz ultravioleta y se revelaron con reactivo de sulfato cérico (Fig: IV).

6.- Separación de compuestos por Cromatografía en Columna de las semillas de *Stemmadenia donnell-smithii* y *Poulsenia armata*.

Antes de iniciarse dicha separación se procedió a obtener los extractos hexánicos a partir de 31.52g de semillas de *Stemmadenia donnell-smithii* y 26.44g de semilla de *Poulsenia armata*, por el método de Soxhlet (3x8hs), evaporando el disolvente por destilación a presión reducida.

6.1.a.-Cromatografía en columna, con el extracto de *Stemmadenia donnell-smithii*.

Para la separación de compuestos se tomaron 5g del extracto. Como adsorbente se utilizó gel de sílice Merck 60, activada (1hr a 110°), en una proporción de 1:80. Se eluyó inicialmente la columna con hexano para terminar con Acetato de etilo, después de haber utilizado mezclas de estos disolventes en gradiente de polaridad creciente.

Se colectaron fracciones de 50ml, controlando su composición por placa delgada. Se obtuvieron 268 fracciones, y después de analizar las placas cromatográficas de las mismas se agruparon, de acuerdo a su composición en 10 (A a J), (Tabla IV; Fig Va).

6.1.b.- Análisis de algunas fracciones.

Las fracciones B y C tuvieron el mayor rendimiento y fueron aceites; su composición se determinó por cromatografía de gases, previa transesterificación. Para llevar a cabo dicha reacción, el aceite (3 g) que se obtuvo se trató con potasa metanólica 0.2N, agregándose 5 ml de ésta por cada gramo de aceite (15ml). La mezcla se llevó a reflujo durante 4hrs, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se le agregó un volumen de agua destilada igual al de la solución potásica empleada. Se transfirió dicha mezcla a un embudo de separación, para así extraer los ésteres metílicos, lo cual se llevó a cabo con tres volúmenes iguales de éter (20ml). Se reunieron los extractos etéreos y se lavaron con agua destilada a neutralidad; se recogieron en un matraz Erlenmeyer y se secaron con sulfato de sodio anhidro, dejándose reposar 1hr, para después filtrarse. Dicho filtrado se evaporó a sequedad y se calculó su rendimiento. Los ésteres se mantuvieron en refrigeración con hidroquinona hasta el momento de su análisis (Tabla V).

TABLA IV. FRACCIONES DE LA CROMATOGRAFIA DE *STEMMADENIA DONNELL-SHITHII*.

Fracciones reunidas.	Fracciones colectadas	Eluyente	Apariencia	Peso (g)	Rendimiento %
A	1-54	Hex: 100%	Aspecto ceroso color blanco	.0327	.734
B	55-63	Hex-AcOet 9:1	aceitosa amarillenta	1.0946	21.892
C	64-83	Hex-AcOet 9:1	Aceitoso amarillento	2.9504	59.00
D	84-132	Hex-AcOet 7:3-6:4	Apariencia aceitosa	.4757	9.50
E	133-160	Hex-AcOet 5:5	Aspecto ceroso	.1070	2.14
F	161-192	AcOet-Hex 6:4-7:3	Aspecto ceroso	.0491	.982
G	193-203	AcOet-Hex 8:2	Aspecto aceitoso amarillo obscuro	.0220	.44
H	204-223	AcOet-Hex 8:2	Aceitoso color naranja	.0289	.578
I	224-254	AcOet-Hex 9:1	Aspecto aceitoso café claro	.0280	.56
J	255-268	AcOet 100%	Aspecto aceitoso amarillo obscuro	.0238	.476

**TABLA V. RESULTADOS DE LA TRANSESTERIFICACION DE LAS
FRACCIONES B Y C DE *Stemmadenia donnell-smithii*.**

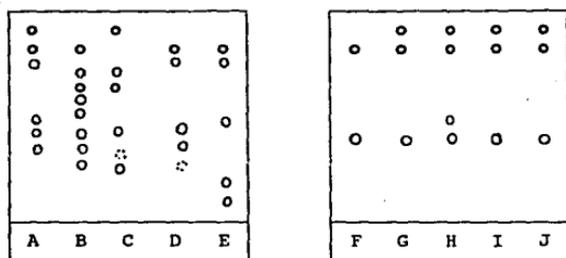
***Stemmadenia* fracción B**

Peso muestra inicial	Peso muestra transesterificada.
1.0946 g	.5574 g

***Stemmadenia* fracción C**

Peso muestra inicial	Peso muestra transesterificada.
2.9504 g	1.4825 g

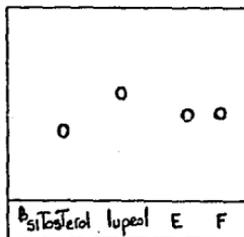
FIG. Va. PERFILES CROMATOGRÁFICOS DE LAS FRACCIONES DE LA COLUMNA REALIZADA CON LOS HEXTRACCOS HEXANICOS DE *STEMMADENIA DONNELL-SMITHII*.



Eluyente: Hex-AcOEt 9:1

Hex-AcOEt 8:2

FIG. Vb. PERFIL CROMATOGRÁFICO DE LAS FRACCIONES E Y F DE *STEMMADENIA DONNELL-SMITHII* TENIENDO COMO REFERENCIA A β SITOSTEROL Y LUPEOL.



Eluyente: Hex-AcOEt 8:2

La cromatografía gas-liquido de los ésteres metilicos se efectuó en un cromatógrafo de gases con una columna de O V 225 de 25m x 0.25mm.

Con las fracciones E y F se hizo una placa cromatográfica, utilizando como referencia β sitosterol y lupeol; se corrió con una mezcla de Hexano-Acetato de Etilo en una proporción de 8:2 (Fig: VB).

6.2.a.- Separación de Compuestos por Cromatografía en columna con semillas de Poulsenia armata.

En este caso se siguió el mismo procedimiento que con las semillas de *Stemmadenia donnell-smithii*, empleandose 26g de semilla para la preparación del extracto. Para la columna se utilizaron 5g del extracto obtenido y se eluyó de manera semejante al señalado anteriormente. Se colectaron fracciones de 50ml obteniendose 187 las cuales se agruparon en 11, (A a K), de acuerdo con el perfil de las placas cromatográficas de control (Tabla VII; Fig. VIIa).

6.2.b. Análisis de algunas fracciones.

La fracción E fué una cera que se sometio a una reacción de saponificación para la obtención de los ácidos grasos presentes en la misma. Está cera (1.30g) se reflujó con potasa alcohólica (500mg KOH en 60ml de etanol), durante

TABLA VII. FRACCIONES DE LA CROMATOGRAFIA DE *POULSENIA ARMATA*.

Fracció- nes reu- nidas.	Fracciones colectadas	Eluyente	Apariencia	Peso (g)	Rendimiento %
A	1-8	Hexano 100%	Traslúcido	.0053	.10
B	9-15	Hexano 100%	Aspecto aceitoso amarillo obscuro	.0210	.42
C	16-37	Hex-AcOet 9:1	Huellas de acei- te transparente.	.0059	.118
D	38-48	Hex-AcOet 9:1	Aspecto ceroso blanquecino	.0195	.39
E	49-55	Hex-AcOet 8:2	Aspecto blanque- cino ceroso.	1.3080	26.16
F	56-83	Hex-AcOet 8:2	Aspecto ceroso amarillento	1.2415	24.83
G	84-104	Hex-AcOet 7:3	Aspecto ceroso amarillo	.1686	3.372
H	105-110	Hex-AcOet 6:4	Aspecto ceroso amarillo claro	.0470	.94
I	111-142	AcOet-Hex 5:5	Ceroso amarillo con crostaies	.2140	4.28
J	143-161	AcOet-Hex 6:4-7:3	Aspecto ceroso amarillo obscuro	.0626	1.25
K	162-186	AcOet-Hex 8:2-9:1 AcOet 100%	Color amarillo con cristales	.0449	.898

3hrs. El etanol se evaporó a presión reducida y el residuo (a) se lavó con hexano varias veces para separar la materia insaponificable (b), la cual se obtuvo por evaporación del disolvente (.022g). El residuo (a) se lavo con hexano, se disolvió en agua y se ajusto el pH a 3 con HCL concentrado. La solución acuosa se extrajo 3 veces con AcOet, se lavo 3 veces con agua y seco para eliminar, finalment el disolvente por evaporación, obteniendose 1.0928 g de ácidos grasos. Los ácidos grasos obtenidos se esterificaron con diazometano para obtener los esterés metílicos de los mismos y se analizaron por cromatografía de gases, en las mismas condiciones que los aceites de *Stemmadenia* (Tabla VIII).

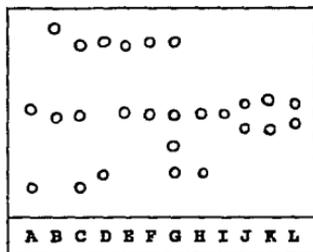
Con el material insaponificable (b) se hizo una placa cromatográfica eluida con Hexano-ACOEt en una proporción de 8:2 y teniendo como referencia β sitosterol y Lupeol.

La fracción I de la cromatografía fué un sólido ceroso, al cual se le determinó su punto de fusión (12° - 40° C) y se corrió en placa cromatográfica cluida con hexano-ACOEt en una proporción de 8:2 y empleando las mismas referencias que con el caso anterior (Fig: VIIb).

**TABLA VIII. RESULTADOS DE LA SAPONIFICACION DE LA
FRACCION E DE *Poulsenia armata*.**

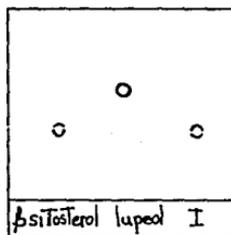
Peso inicial de la muestra	1.3080g
Peso del material insaponificable	0.0224g
Peso de los ácidos grasos obtenidos	1.0928g

FIG. VIIA. PERFILES CROMATOGRAFICOS DE LAS FRACCIONES DE LA CROMATOGRAFIA EN COLUMNA DE POULSENIA ARMATA.



Eluyente: Hex-AcOEt 9:1

FIG. VIIB. PERFIL CROMATOGRAFICO DE LA FRACCION I, DE POULSENIA ARMATA, CON LUPEOL Y β SITOSTEROL COMO REFERENCIA.



Eluyente: Hex-AcOEt 8:2

Resultados y Discusión.

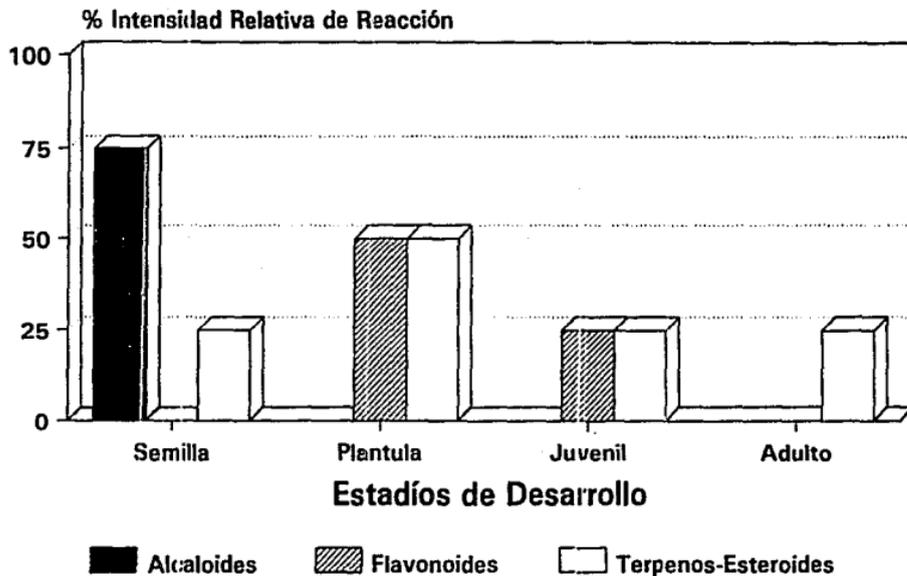
De las pruebas hechas con los extractos para determinar la presencia y distribución de grupos de metabolitos secundario se obtuvieron los siguientes resultados.

7.- Extractos Hexánicos.

En *Stemmadenia donnell-smithii*, se observó una mayor cantidad de terpenos y esteroides en el estadio de plántula, siendo menor dicha presencia en semilla y en hoja en los estadios juvenil y adulto. En cuanto los flavonoides, éstos se encontraron en mayor concentración también en las hojas en estadio de plántula. Para el caso de los alcaloides sólo se observó reacción positiva en la semilla, al tratar los extracto con ácido silicotúngstico (Grafica 1).

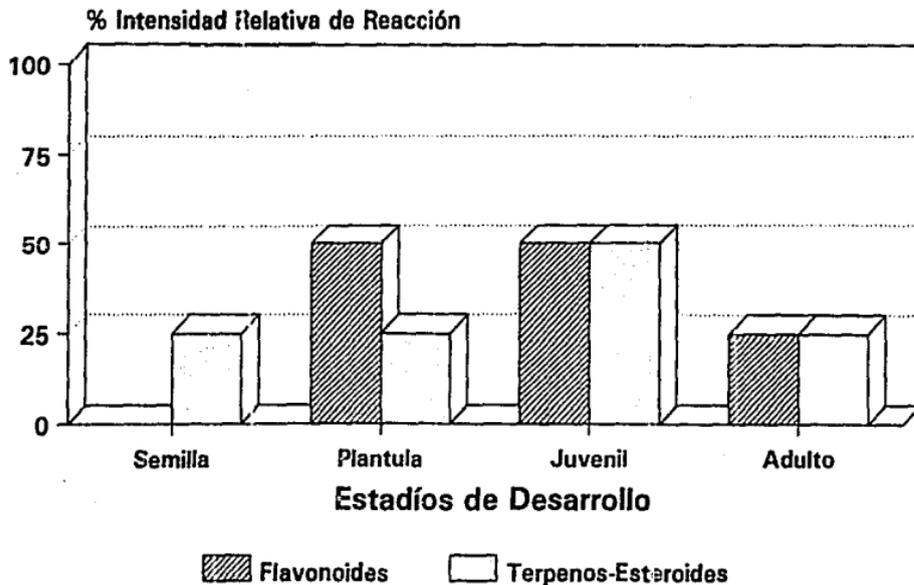
En *Poulsenia armata*, la mayor concentración de terpenos y esteroides se observó en la etapa juvenil de la hoja y la evidencia de flavonoides, en las hojas en estadio de plántula y juvenil. Con respecto a los alcaloides las pruebas realizadas resultaron negativas para todos los estadios estudiados (Grafica 2).

Distribución de grupos de metabolitos secundarios de los extractos hexánicos de *Stemmadenia donnell-smithii*



GRAFICA 1

Distribución de grupos de metabolitos secundarios de los extractos hexánicos de *Poulsenia armata*.



GRAFICA 2

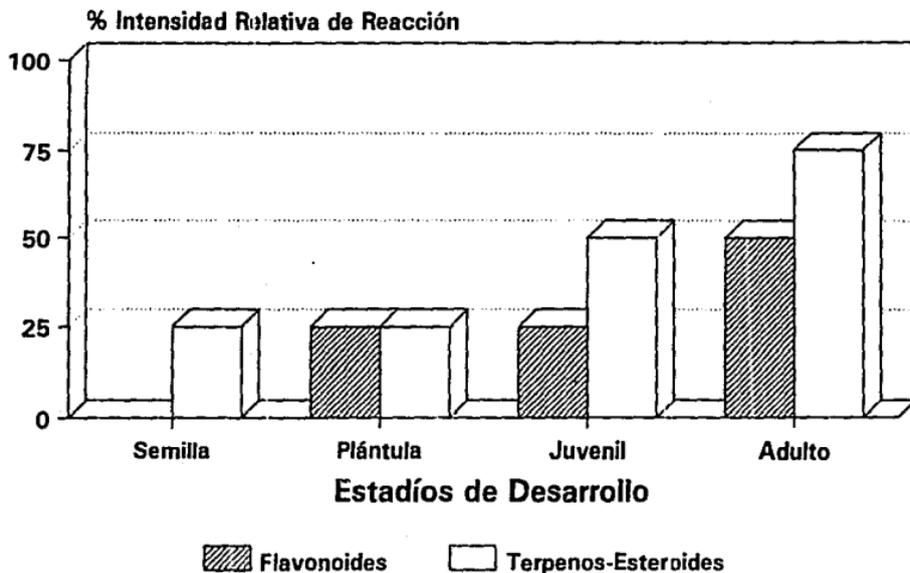
En *Cuponia dentata*, se observó una mayor respuesta de terpenos y esteroides así como de flavonoides en el estadio adulto de hoja. Para la identificación de alcaloides las pruebas resultaron negativas (Grafica 3).

8.- Extractos Metanólicos.

En *Stemmadenia donnell-smithii*, la respuesta para la prueba de terpenos y esteroides fué mayor en el estadio adulto de hoja, ocurriendo lo mismo para los flavonoides. En cuanto a los glicósidos, su presencia sólo se observó en la semilla. La prueba realizada con ácido silicotúngstico para la identificación de alcaloides resulto positiva (+), en semilla y estadio adulto de hoja, en tanto que en los estadios de plántula y juvenil fue sólo ligeramente positiva. Con reactivo de Dragendorff la prueba fué negativa (Grafica 4).

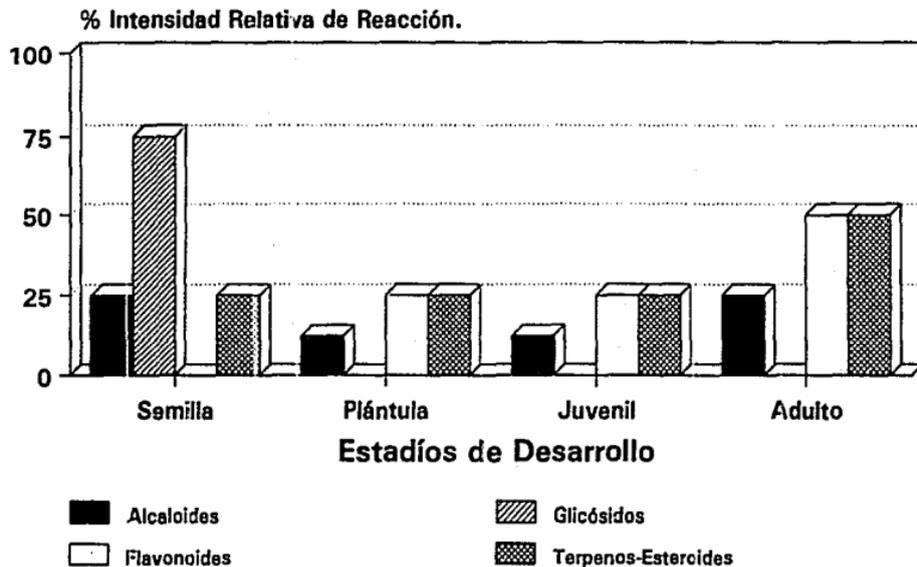
En *Poulsenia armata*, la mayor concentración de terpenos y esteroides se observo en el estadio adulto de hoja, mientras que para los flavonoides, la concentración fué mayor en los estadios de plántula y juvenil. Con los glicósidos ocurrió lo mismo, mientras que para los alcaloides se obtuvo una ligera respuesta en todas las etapas y estadios trabajados, al tratarlos con ácido silicotúngstico y una respuesta negativa con el reactivo de Dragendorff (Grafica 5).

Distribución de grupos de metabolitos secundarios de los extractos hexánicos de *Cuponia dentata*.



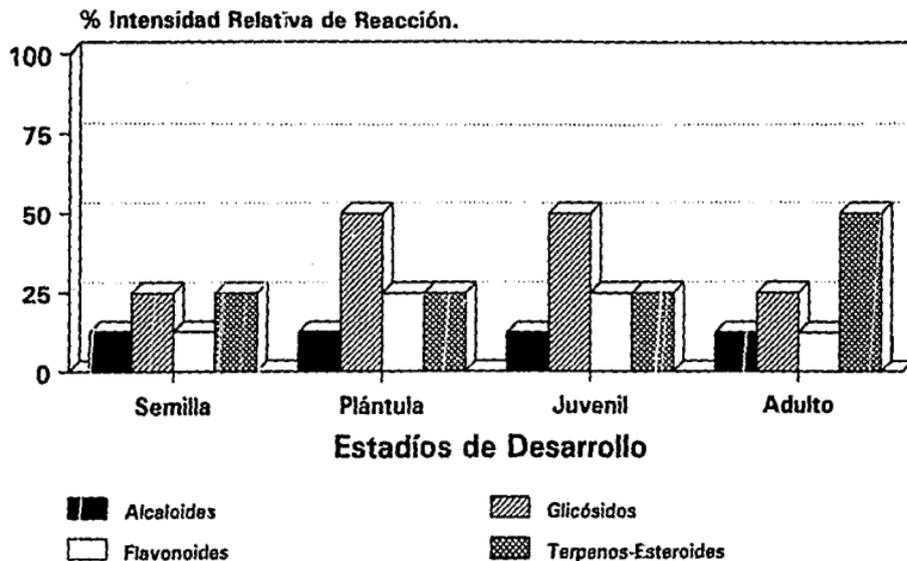
GRAFICA 3

Distribución de grupos de metabolitos secundarios de los extractos metanólicos de *Stemmadenia donnell-smithii*.



GRAFICA 4

Distribución de grupos de metabolitos secundarios de los extractos metanólicos de *Poulsenia armata*.



GRAFICA 5

Para el caso de *Cuponia dentata*, los terpenos y esteroides se evidenciaron en hoja en los estadios de plántula, juvenil y adulto en la misma proporción, mientras que la concentración de flavonoides fué mayor en los estadios de plántula y juvenil que en el estadio adulto. Para glicósidos, la respuesta fué positiva en semilla (+++) y estadio adulto (+), mientras que los alcaloides se evidenciaron en los estadios juvenil y adulto en igual proporción (+) y ligeramente en el estadio de plántula, con ácido silicotúngstico y con reactivo de Dragendorff, para la semilla la respuesta fué negativa.(Grafica 6).

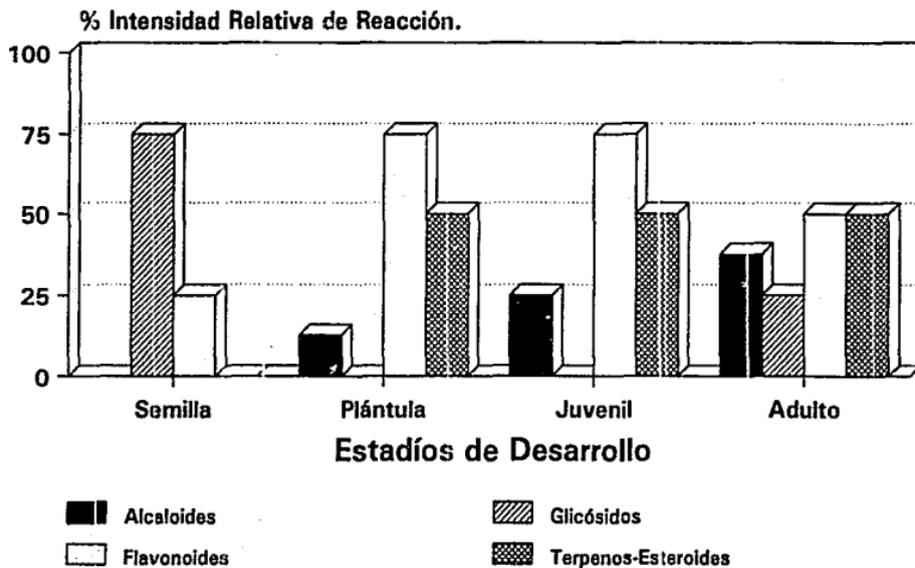
9.- *Perfiles Cromatográficos.*

Se determinaron para comparar la distribución de compuestos en los tres estadios de desarrollo estudiados en la hoja y en la etapa de semilla.

9.A.- *Stemmadenia donnoll-smithii.*

Con los extractos hexánicos se determinaron dos series de perfiles (IyII), con eluyentes de diferente polaridad, en vista de que el eluyente de menor polaridad (Hexano-AcOEt 9:1) no desplazó la totalidad del extracto aplicado, quedando parte en el punto de aplicación.

Distribución de grupos de metabolitos secundarios de los extractos metanólicos de *Cuponia dentata*.



GRAFICA 6

En los perfiles de hoja de la serie I se aprecia que las hojas en el estadio juvenil son las que presentan un mayor número de componentes (7 manchas) y su perfil es similar al de las hojas en estadio adulto, difiriendo en dos manchas, una en la zona de mediana polaridad y otra en la de baja polaridad. El perfil de hojas en estadio de plántula presenta sólo dos componentes en la zona de alta polaridad y el de semilla presenta 4 manchas en las zonas de polaridad alta y mediana y es diferente a los de hoja.

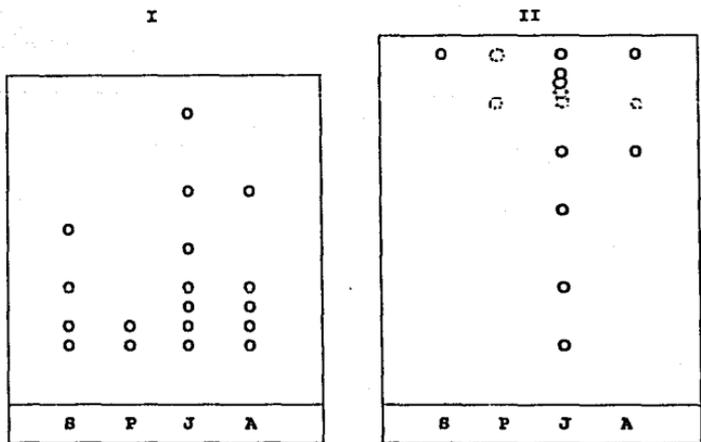
En la serie II, sólo el perfil de la hoja al estadio juvenil mostró varios compuestos (4). El de la hoja al estadio adulto presentó 1 en la zona de baja polaridad y los de hoja en estadio de plántula y semilla no tuvieron compuestos desplazables con el eluyente (Fig.I).

9.B.- *Poulsenia armata*.

En esta especie la composición de los extractos hexánicos fué mas homogénea en cuanto a la polaridad de sus compuestos, por lo que solamente se determinaron perfiles corridos con Hexano-AcOEt 9:1.

Los perfiles de hojas en estadio de plántula y juvenil son iguales en tanto que los de semilla y hoja adulta difieren de los anteriores, y es el de hojas en estadio adulto, el que presenta mayor número de compuestos (4). (Fig. II).

PERFILES CROMATOGRÁFICOS DE LOS EXTRACTOS HEXÁNICOS DE
STEHMADENIA DONNELL-SHITHII.

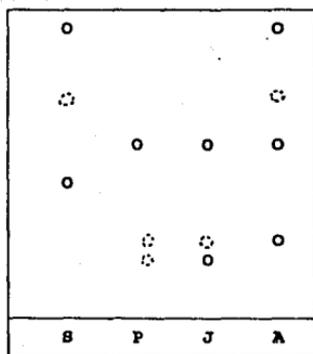


Eluyente: Hex-AcOEt 9:1

Eluyente:Hex-AcOEt 7:3

Fig. I

PERFILES CROMATOGRAFICOS DE EXTRACTOS HEXANICOS
DE *POULSEZIA ARMATA*.



ELUYENTE: Hex-AcOEt 9:1

Fig. II

9.C.- *Cuponia dentata*.

En *Cuponia* se determinaron perfiles con un solo eluyente (Hexano-AcOEt 8:2). De estos perfiles el que mayor número de compuesto presenta es el de semilla (5); el de hojas al estadio de plántula tiene dos compuestos menos que el de semilla, y los perfiles de hoja al estadio juvenil y adulto son iguales (Fig. III).

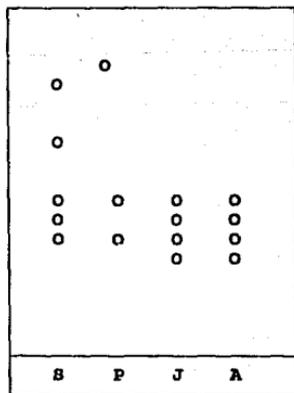
10.- *Extractos Metánolicos*.

Para los extractos metánolicos de las tres especies el eluyente que dio mayor resolución fué la mezcla de butanol-acido acético-agua en una proporción de 5:1:4, con los siguientes resultados:

10.A.- *Stemmadenia donnell-smithii*.

En esta especie el mayor número de compuestos (5 manchas) se encuentra en las hojas en estadio juvenil y el perfil de estos compuestos es similar al que presentan las hojas al estadio adulto, (4 manchas). El perfil del estadio de plántula en hoja y el de semilla son diferentes entre si y también respecto a los dos anteriores.

PERFILES CROMATOGRAFICOS CON EXTRACTOS HEXANICOS
DE *CUPONIA DENTATA*.



Eluyente: Hex-AcOet 8:2.

Fig. III

10.B.- *Poulsenia armata*.

En esta especie la hoja al estadio adulto presentó un mayor número de compuestos y los perfiles de las 4 muestras son todos diferentes.

10.C.- *Cuponia dentata*.

En esta especie las hojas al estadio de plántula son las que presentan más compuestos (4 manchas), y su perfil es similar al de hoja en estadio juvenil, en donde falta la mancha de la zona de alta polaridad, y al de hoja al estadio adulto en donde falta la mancha en la zona de polaridad media. El perfil de semilla tiene sólo 2 manchas en las zonas de alta y mediana polaridad que se corresponden con las del perfil de hoja al estadio de plántula.

11.- Separación de compuestos por cromatografía en columna.

Este estudio tuvo por objeto tratar de aislar, de los extractos hexánicos de semilla, compuestos terpénicos, ceras y aceites.

Las fracciones obtenidas de la cromatografía del extracto de semillas de *Stemmadenia donnell-smithii* fueron todas aceites y ceras. De éstas se analizaron las fracciones B y C, que fueron aceites y las más abundantes. Por cromatografía de gases se determinó la proporción en que se encuentran sus ácidos grasos principales (tabla VI).

Los resultados fueron prácticamente iguales, considerando el límite de error de la determinación que es de 2%. La diferencia de polaridad de estas 2 fracciones se debe entonces, no a su composición en ácidos grasos, sino a los componentes de la fracción insaponificable de los aceites.

Las fracciones E y F, tuvieron un aspecto ceroso y por la polaridad del eluyente en el cual se obtuvieron se supuso que pudieran ser compuestos terpénicos o esteroidales, por lo que se hizo una placa cromatográfica con sitosterol y lupeol como referencia, las manchas de E y F no correspondieron a ninguno de los compuestos de referencia. Para confirmar que no se trataba de compuestos

TABLA VI. COMPOSICION EN ACIDOS GRASOS DE LAS FRACCIONES B Y C DE LA CROMATOFRAFIA DEL EXTRACTO HEXANICO DE *Stemmadenia donnell-smithii*.

	Fracción B	Fracción C
Acidos saturados		
C ₁₆	21.15	20.93
C ₁₈	8.46	8.21
	<u>29.61%</u>	<u>29.14%</u>
Acidos insaturados		
C _{18:1}	50.85	49.89
C _{19:1}	19.53	20.91
	<u>70.38%</u>	<u>70.80%</u>

de este grupo sino que son ceras se les hizo la reacción de Lieberman, la cual fué negativa en ambos casos.

11.a.- La separación de compuestos del extracto hexánico de semillas de *Poulsenia armata*, se realizó igualmente por cromatografía en columna. Todas las fracciones fueron compuestos de aspecto ceroso. La mayoría de las fracciones obtenidas (A-K), fueron mezclas, exepcto la fraccion I que dio reacción positiva de Liebermann y se identificó por placa cromatográfica como *β*-sitosterol (Tabla VI).

La fracción E, fué la cera más abundante y a está fracción se le determinó su composición en ácidos grasos sometiéndola a una reacción de saponificación y posterior esterificación de los ácidos grasos obtenidos para convertirlos en los ésteres metílicos y analizarlos por cromatografía de gases. Los resultados indican como era de esperarse una mayor cantidad de ácidos grasos saturados que de ácidos insaturados, por ser ésta la relación que guardan las ceras.

TABLA IX. COMPOSICION EN ACIDOS GRASOS DE LA CERA DE
***Poulsenia armata*.**

Acidos saturados		Acidos insaturados	
C ₁₆	12.88	C _{18:1}	11.86
C ₁₈	45.05	C _{18:2}	22.39
C ₂₀	1.84	C _{18:3}	5.98
	<u>59.77%</u>		<u>40.23%</u>

CONCLUSIONES.

Distribución de metabolitos secundarios.

Los metabolitos secundarios no se encontraron distribuidos regularmente en las distintas partes de cada especie.

En *Stemmadenia* los terpenos esteroides y flavonoides se encontraron en mayor concentración en plántula.

El grupo de los alcaloides se detectó solo en semilla.

En *Poulsenia armata* la mayor concentración de terpenos y esteroides fué en el estado juvenil y los flavonoides en plántula y juvenil. No se detectaron alcaloides en ninguna de las partes estudiadas.

En *Cupania dentata*, los terpenos esteroides y los flavonoides se encontraron en mayor concentración en el estado adulto al igual que en la especie anterior tampoco se detectaron alcaloides en ninguna de las partes estudiadas.

La distribución diferente de los metabolitos secundarios en las tres especies y en las distintas etapas de desarrollo estudiadas se debe a la naturaleza misma de estos compuestos, cuya presencia se ve afectada por múltiples factores, que se pueden resumir en dos grupos:

factores ambientales (luz, temperatura, humedad e influencia estacional) y su función en la planta como; reguladores de crecimiento (terpenos y esteroides), protectores de las radiaciones solares (flavonoides), como parte de mecanismos de defensa de la planta (fundamentalmente alcaloides).

Perfiles Cromatograficos.

Los perfiles cromatográficos de las diferentes partes de *Stemmadenia donnell-smithii*, fueron distintos tanto los del extracto hexánico como los del metanólico.

Los extractos hexánicos del edo. juvenil, plántula y adulto de la hoja de *Poulsenia armata*, fueron iguales en tanto que los de semilla y edo. adulto difieren de estos. Los perfiles del extracto metanólico de los cuatro estadios son diferentes.

Los perfiles del extracto hexánico de hoja en estadio juvenil y adulto de *Cuponia dentata*, son iguales y difieren de los de semilla y hoja en estadio de plántula. Estos dos guardan entre si una cierta similitud.

Del extracto metanólico los perfiles que guardan similitud son los de hoja en estadio de plántula y juvenil en tanto que los otro dos (semilla y hoja al estadio adulto), difieren entre si y son diferentes de los anteriores.

De la separación de compuestos de los extractos hexánicos, se analizó en *Stemmadenia donnell-smithii*, un aceite y en *Poulsenia armata* una cera.

BIBLIOGRAFIA

1.- Trease G.E. and Evans W. Charles 1988. Tratado de Farmacognocia. Ed. Interamericana, 253-279. México.

2.-Padford, A.E. et al 1974. Vascular Plant Systematics. Harper & Row N.Y.

3.- Chapman and Hall, 1975-81. The Flavonoids: Recent advances in Research. Ed. Harborne Mabry Londres.

4.- Dirzo, 1985. Metabolitos secundarios en las plantas. Rev. Ciencia, vol. 36, 137-145.

5.- Trease G.E. and Evans W. Charles 1988. Tratado de Farmacognocia. Ed. Interamericana, 559-648.

6.- Hegnauer. R. 1962-73. Chemotaxonomie der pflanzen Basel, Apocynaceae, 34-137. Birkhauser Verlag.

7.- Van Beek, T.A. et al 1984. Identification of Tabernaemontana alkaloids by means of thin-layer chromatography and chromogenic reactions. J. of Chromatography, 298. 289-307.

8.- Domínguez Xorje, et al 1976. Estudio preliminar de Stemmadenia galeottiana. Rev. Lat. Química. 7, 98.

9.- Talapatra, S.K. et al 1973. Stemmadenia bella, a Study of. Indian J. Chem., 11, 977.

10.- Walls F. et al 1958. Alkaloids from Stemmadenia species-I. The alkaloids of S. donnell-smithii and S. galeottiana. Tetrahedron. Vol2, 173-182.

11.-Goutarel R. 1960. Alcaloides Steroides des Apocynacées. Bulletin de la société chimique de France. 769-774.

12.-Taylor W.I. 1957. Iboga alkaloids II. The structures of Ibogaine, Ibogamine and Tabernanthine. J. Amer. Chem. Soc. 79, 3298.

13.- Delourme-Houdé 1947. Study of Iboga. Chem. Abstr. 41, 1390 d.

14.-Sandoval A. et al 1962. Alkaloid Studies. Tetrahedron letters No. 10. pp. 409-414. Pergamon Press Ltd.

15.- Collera O. Walls F., et al 1962. Alcaloides de especies de *Stemmadenia*-II. Bol. Inst. Quím. Nal. Autón. Méx. pp 3-18.

16.- Estrada H. et al 1962. Estudio de los triterpenos de la *Stemmadenia donnell-smithii* (Rose) Woodson. Bol. Inst. Quím. Univ. Nal. Autón. Méx. pp. 19-31.

17.- Cicció J. F. y Castro H. 1982. Fisalieno, colorante de los frutos maduros de plantas del género *Stemmadenia*. Rev. Lat. Quím. 15-1. 24-25.

18.- Hegnauer. R. 1962-73. Chemotaxonomie der pflanzen Basel, Birkhauser Verlag. Moraceae, 107-129.

19.- Kamel A. et al 1962. Constituents of the leaves of *Ficus carica*, L. Part I. J. Chem. Soc. 4253.

20.- Abu-Mustafa, E.A. et al 1964. Constituents of local plants-IV. Phytochemistry, Vol.3, 701-703. Pergamon Press Ltd.

21.- Oda, Y and Tanaka, R. 1966. Agr. Biol. Chem. vol.30. 406.

22.- Milton K. and Jenness R. 1986. Ascorbic acid content of neotropical plant parts available to wild monkeys and bats. *Experientia* 43. 339-342. Birkhauser Verlag.

23.- Hegnauer. R. 1962-73. Chemotaxonomie der pflanzen Basel. Sapindaceae, 271-287. Birkhauser Verlag.

24.- Hassall C. H. and Reyle K. Hypoglycin A and B, two biologically active polypeptides from *Blighia sapida*. The Biochemical Journal. vol.60, 330-334.

25.- Fowden L. and Sung May-Lin. 1969. Unusual Amino Acids of the Sapindaceae: Biosynthesis and Analogue Function. Proceedings of the Phytochemical Society. vol.8, 1227.

26.- Hopkins, C.Y. et al 1967. A short-chain ester from the seed oil of *Cardiospermum halicacabum* L. Phytochemistry, vol. 7, 619-624.

27.- Cronquist, A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press N.Y.

28.- Standley, P.C. et al. Flora de Guatemala. Fieldiana Botany. Vol, IV-VI.

29.- Woodson, 1928. *Stemmadenia donnell-smithii*. Mo. Bot. Gard. 15, 369.

30.- Index Kewensis, supl. 9, 1931-1935. *Poulsenia armata*, 33,4.

30.- *Cuponia dentata*. 1906. Bull. Soc. Bot. France 53,36-120.

31.- Niembro Rocas A. 1990. Arboles y arbustos útiles de México. Ed. Limusa N. 75; 150; 171.