



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE LIPIDOS,
OLIGOSACARIDOS Y OTROS CONSTITUYENTES
QUIMICOS DE Eragrostis mexicana (Hornm.) Link.
(GRAMINEAE)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
JUAN MANUEL PEGUERO ZAMBRANO

TESIS CON
FALSA DE ORIGEN

1994



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.



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

JURADO ASIGNADO SEGUN EL TEMA:

PRESIDENTE	Prof. Yolanda Caballero Arroyo.
VOCAL	Prof. Armando Cabrera Ortiz.
SECRETARIO	Prof. Eduardo Guillermo Delgado Lamas.
1er SUPLENTE	Prof. Rogelio Gregorio Pereda Miranda.
2o SUPLENTE	Prof. Perla Carolina Castañeda López.

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

INSTITUTO DE QUIMICA

SUSTENTANTE:

Juan Manuel Peguero Zambrano.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Eduardo Guillermo Delgado Lamas.

ASESOR TECNICO:

M. en C. Ma. Yolanda Ríos Gómez.

DEDICATORIAS

A DIOS :

QUE SIEMPRE ME ACOMPAÑA Y ME HA
DADO SALUD Y BIENESTAR, A MI Y
A MI FAMILIA. DEDICO CON TODO -
MI AMOR ESTA TESIS.

A MI PADRE:

R U B E N:

QUE GRACIAS A SU GUIA Y APOYO
HIZO DE MI UN HOMBRE DE BIEN-
Y PROVECHO, PARA LA SOCIEDAD-
Y A LOS OJOS DE DIOS.

A MIS HERMANOS:

ELIZABETH Y EDUARDO.

QUE HAN COMPARTIDO CONMIGO TANTAS
ALEGRIAS Y EPOCAS DIFICILES.

A MI NOVIA:

TERESA .

QUE AMO TANTO Y QUE CON SU -
APOYO Y CONSEJOS, COLABORO -
ENORMEMENTE EN LA REALIZACION
DE ESTE TRABAJO.

A MI MEJOR AMIGO:

ARTURO.

QUE CONSIDERO COMO UN HERMANO Y -
QUE ME ACOMPAÑO EN EL LABORATORIO
DURANTE LA REALIZACION DE ESTE -
TRABAJO.

A MI PERRO:

DOB:

QUE SIEMPRE SE ALEGRA AL VERME
Y ES EL PRIMERO EN RECIBIRME -
CUANDO REGRESO A CASA.

A MIS AMIGAS:

ISABEL Y YOLANDA:

POR SER ALEGRES CONMIGO Y AYUDAR
ME EN MIS MOMENTOS DIFICILES.

A LA MAESTRA SOCORRO:

POR DARME LA OPORTUNIDAD DE
EJERCER MI CARRERA EN LA -
DOCENCIA.

A TODOS MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS

QUE CREEN EN MI Y SIEMPRE ME -
APOYARON.

AGRADECIMIENTOS

A MI PADRE:

POR DARMER LA MEJOR HERENCIA.

MI CARRERA.

AL DR. GUILLERMO DELGADO:

POR PERMITIRME COLABORAR CON EL

Y SER PARTE DE SUS PROYECTOS.

A LA UNIVERSIDAD NACIONAL -

AUTONOMA DE MEXICO, EN ESPE

CIAL AL INSTITUTO DE QUIMI

CA Y FACULTAD DE QUIMICA .

POR DARMER LA OPORTUNIDAD DE

DEMOSTRAR MIS CAPACIDADES.

A MIS AMIGAS:

ISABEL AGUILAR Y YOLANDA RIOS.

QUE SIN SU AYUDA Y APOYO NO SERIA

POSIBLE LA REALIZACION DE ESTA -

TESIS.

AL MUNDO Y A LA HUMANIDAD.

POR SER PARTE DE SU UNIVERSO.

Contenido.

	Página
I.- Introducción	1
II.- Objetivos	3
III.- Antecedentes	4
IV.- Parte experimental	13
V.- Discusión de resultados	25
VI.- Resumen y conclusiones	40
VII.- Espectros	
Espectro 1. RMN ¹ H (200 MHz) de mezcla de hidrocarburos	43
Espectro 2 EM (70 eV, impacto electrónico) de isopentacosano (18)	44
Espectro 3 EM (70 eV, impacto electrónico) de isoheptacosano (19)	45
Espectro 4 EM (70 eV, impacto electrónico) de nonacosano (20)	46
Espectro 5 EM (70 eV, impacto electrónico) de 2-metil triacontano (21)	47
Espectro 6 RMN ¹ H (200 MHz) de mezcla de ésteres de ácidos grasos	48
Espectro 7 EM (70 eV, impacto electrónico) de tridecanoato de metilo (22)	49
Espectro 8 EM (70 eV, impacto electrónico) de ácido hexadecanoico (23)	50
Espectro 9 EM (70 eV, impacto electrónico) de triacil glicerol (24)	51
Espectro 10 EM (70 eV, impacto electrónico) de enicosano (25)	52
Espectro 11 RMN ¹ H (200 MHz) de tricina (16)	53
Espectro 12 RMN ¹ H (200 MHz) de hexaacetil arabinitol (26)	54
Espectro 13 RMN ¹ H (200 MHz) de hexaacetil manitol (27)	55
Espectro 14 RMN ¹³ C (200 MHz) de O-β-D-fructofuranosil (2→1)-β-D-fructofuranosa peracetilado (28)	56
Espectro 14-A RMN ¹³ C DEPT (200 MHz) de O-β-D-fructofuranosil (2→1)-β-D-fructofuranosa peracetilado (28)	57

Espectro 14-B RMN ^1H (200 MHz) de O- β -D-fructofuranosil (2 \rightarrow 1)- β -D-fructofuranosa peracetilado (28)	58
Espectro 15 RMN ^{13}C (200 MHz) de sacarosa peracetilada (33)	59
Espectro 16 RMN ^1H (200 MHz) de sacarosa peracetilada (33)	60
Figura 1	61
VIII.- Bibliografía	62

INTRODUCCION

Introducción.

El estudio de las interacciones planta-planta y planta-insecto representa un vasto campo de investigación que permite el entendimiento de mecanismos complejos de supervivencia y evolución. Esta área de estudio no sólo plantea interrogantes fundamentales desde el punto de vista científico, sino que los resultados derivados de estos estudios, pueden coadyuvar al manejo racional de los recursos naturales, en particular, de la vegetación, preservando el equilibrio ecológico. Es claro que para lograr este conocimiento, es necesaria la convergencia de diversas disciplinas, desatacando la química de los productos naturales orgánicos, y la ecología. Dado que las interacciones de la biota se basan en los procesos metabólicos, los cuales producen los metabolitos presentes en las plantas e insectos, resulta evidente la importancia de conocer la estructura molecular de los productos naturales biosintetizados por estos organismos, como un primer paso al conocimiento de estas interacciones, y para la evaluación de su papel ecológico.

La supervivencia y evolución de los seres vivos está basada tanto en factores físicos como químicos, y deben considerarse diversos niveles de análisis para su estudio, tanto a nivel fenotipo como genotipo. Así, los metabolitos secundarios que biosintetizan los vegetales, se han reconocido como instrumentos de defensa contra diversos depredadores. Sin embargo, el mecanismo exacto de su función, aún no es conocido.

Se han explicado recientemente ejemplos notables de defensa vegetal: los aceites de mostaza que se encuentran en ciertas crucíferas, son tóxicos para la mayoría de los insectos, y son emitidos de forma continua por la planta viva. Las hojas de los árboles *Antiaris toxicaria*, excretan finas gotas que forman un aerosol que puede considerarse venenoso. Se conoce que las sustancias responsables de tal actividad son glicósidos de esteroides cardiotoxicos [1]. El manzanillo (*Euforbiacea americana*), al igual que otras euforbiáceas, puede considerarse un árbol peligroso para el ser humano, no sólo por sus frutos, sino también por el látex que caracteriza a este grupo de plantas, que provoca heridas cutáneas difíciles de cicatrizar. [1].

La interpretación de las interacciones químicas entre las especies vegetales plantea problemas interesantes desde el punto de vista evolutivo. Si en ciertos casos la ventaja adaptativa de una especie sobre la otra es clara, en otros casos, es difícil ponderar justamente las múltiples variables que influyen en este proceso biológico. En ciertas ocasiones pudiera considerarse que un producto natural sea un producto de deshecho; sin embargo, estudios recientes han demostrado la poca viabilidad de esta hipótesis.

En muchos casos se ha descubierto la notable actividad alelopática de ciertas plantas, aún para otros individuos de la misma especie. Indudablemente que la evolución de las poblaciones vegetales debe descansar sobre la complejidad de las interacciones químicas que conducen a equilibrios e interacciones mutuas.

El estudio tendiente a elucidar la estructura molecular de los metabolitos secundarios en *Eragrostis mexicana* forma parte de un proyecto referente a la investigación de los constituyentes químicos de malezas, el cual incluye precisamente a este vegetal. Cabe señalar que no existe un estudio químico previo de esta planta, por lo que este proyecto contribuye al conocimiento de los constituyentes químicos presentes en la flora de nuestro país. A su vez, las sustancias aisladas de las partes aéreas podrán utilizarse como referencias en el análisis químico de las semillas. Se ha planteado, en el contexto del proyecto sobre las malezas, la hipótesis que la diversidad estructural y abundancia relativa de los metabolitos secundarios coadyuva a la defensa del vegetal contra depredadores, por lo que con la presente investigación, se podrán generar resultados que permitirán contribuir a establecer la validez de la hipótesis.

OBJETIVOS

Objetivos.

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo general, la generación de conocimientos sobre la estructura molecular de los constituyentes químicos secundarios de la planta arvense *Eragrostis mexicana* (Gramineae), la cual se conoce comúnmente como zacate cola de ardilla [2]. Este vegetal crece anualmente en casi la totalidad del territorio mexicano. [3]. El conocimiento de la composición química de ésta maleza será integrado a la evaluación de la hipótesis que se ha planteado, por investigadores del Centro de Ecología e Instituto de Química de la UNAM, referente a que la mayor variabilidad y abundancia de metabolitos secundarios presentes en los vegetales, correlacionan con una mayor eficiencia en la defensa química del vegetal contra insectos depredadores y microorganismos. Cabe señalar que el presente trabajo se enmarca en un proyecto amplio tendiente a conocer la composición química de malezas y su influencia en ciertos insectos.

Los objetivos particulares son los siguientes:

- 1) Recopilar información sobre investigaciones químicas de malezas, en particular, sobre el género *Eragrostis*.
- 2) Realizar el aislamiento y caracterización química de los metabolitos secundarios presentes en *Eragrostis mexicana*, que posteriormente puedan emplearse como estándares para el análisis comparativo de los constituyentes químicos secundarios de las semillas, tanto de esta como de otras malezas.
- 3) Coadyuvar al establecimiento de las posibles relaciones estructura-actividad de las sustancias aisladas y su efecto sobre los depredadores de la planta.
- 4) Generar conocimiento que permita la ponderación de la importancia de los metabolitos secundarios en los mecanismos de defensa vegetal.

ANTECEDENTES

Antecedentes

CLASIFICACION BOTANICA:

La familia Gramineae, a la cual pertenece *Eragrostis mexicana*, es la más grande de las monocotiledóneas y contiene alrededor de 10,000 especies agrupadas en cerca de 600 géneros. Muchas plantas de ésta familia son utilizadas como alimento y forraje. Su química ha sido extensamente estudiada. Terpenos, feniletilaminas, indoles, alcaloides pirrolizidínicos, flavonoides, otros polifenoles y algunos glicósidos han sido reportados en esta familia. [4]

Las gramíneas han sido divididas en 6 subfamilias. La mayoría de los pastos en Norteamérica pertenecen a 3 subfamilias: Festucoideae, Panicoideae y Eragrostoideae [5]. La composición de ceras de 157 especies en la Festucoideae y alrededor de 15 especies en la Panicoideae han sido determinadas. Se han analizado las ceras de 8 miembros del grupo Eragrostoideae [6]. *Calamovilfa longifolia*, *Muhlenbergia cuspidata*, *Sporobolus cryptandrus*, y *Eragrostis curvula* en la tribu Eragrosteae, *Distichlis stricta* en la *Aeluropodeae*; *Bouteloua gracilis*, *Spartina gracilis* y *Leptochloa digitata* en la tribu Chlorideae. Esos análisis no son completos y solamente los componentes principales fueron identificados [6].

La clasificación taxonómica de la planta es la siguiente [5]:

REINO: Plantae
DIVISION: Magnoliophyta
CLASE: Liliopsida (monocotiledóneas)
SUBCLASE: Commelinidae
ORDEN: Cyperales
FAMILIA: Gramineae (Poaceae)
SUBFAMILIA: Chloridoideae.
TRIBU: Eragrosteae
GENERO: *Eragrostis*
ESPECIE: *mexicana*

La representación gráfica de la planta se muestra en el dibujo al final del capítulo.

Eragrostis mexicana es una maleza que habita en sitios perturbados, suelos arenosos, campos de cultivo y ruderal en zonas semihúmedas a semisecas de clima templado. Se encuentra distribuida desde el sur de los E.U.A., México (ver mapa) y hasta Argentina.

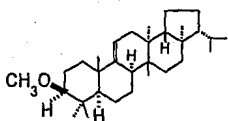
Ha sido introducida en Hawaii y en Camberra, Australia; se presenta en sitios sobrepastoreados, su valor forrajero se considera de regular a deficiente. Se le conoce como "zacate amor mexicano" (Sonora), "zacate mexicano" (Chihuahua), "zacate amor seco bayal" (Coahuila), "zacate de hormiguero" (Jalisco), "zacate cola de ardilla (Estado de México), entre otros [2,3].

La descripción botánica de la planta es la siguiente[3]:

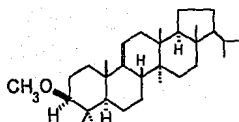
Culmos amacollados de 10 a 130 cm de alto y casi 1 mm de grueso, erectos o geniculados en los nudos inferiores, no ramificados o ramificados en los mismos, entrenudos glabros, huecos o medulosos; nudos glabros y oscuros; vainas aquilladas, la mayoría más cortas que los entrenudos, glabras o con pocos pelos papilosos y sedosos en el margen sobrepuesto y el ápice; collar y aurículas con densos pelos sedosos y largos; lígula de 0.2 a 0.5 mm de largo, una membrana diminuta con densos pelos blancos y cortos; láminas de 5 a 25 cm de largo por 3 a 9 mm de ancho, planas o algo involutas, lisas en la superficie abaxial, escabriúsculas en la adaxial y ocasionalmente con pocos pelos largos y delgados cerca de la base, rara vez con depresiones glandulares sobre el nervio medio. Panícula de 10-40 cm de largo por 2 a 18 cm de ancho, multiflora solitaria, terminal, de abierta a estrechamente ovoide, con ramas hasta de tercer orden y a veces con depresiones glandulares en los nudos, ramas y pedicelos algunas veces pilosas en las axilas; espiguillas de 4 a 9.6 mm de largo por 0.7 a 2.4 mm de ancho, ovoides, de lineares a linear-lanceoladas, de color verde grisáceo a purpúreas, flosculadas, desarticulación secuencial de las glumas hacia las lemas superiores, páleas y raquillas persistentes; glumas de 0.7 a 2 mm de largo, uninervas, escabrosas en las quillas, la primera angostamente ovada, acuminada, la segunda similar pero ligeramente más ancha, de 1 a 2.3 mm de largo; lemas ovadas, agudas, a veces con unos pocos pelos en el ápice, entre los nervios laterales y en el margen, las inferiores de 1.2 a 2.5 mm de largo ; páleas de 1 a 1.8 mm de largo, escabrosas sobre las quillas; 3 estambres, anteras de 0.2 a 0.4 mm de largo, purpúreas al madurar; cariopsis de ovoides a rectangulares, de 0.5 a 1 mm de largo, de color castaño y con un surco longitudinal profundo en el lado opuesto al embrión. (ver el glosario antes del dibujo al final del capítulo)

En la siguiente tabla se resume el perfil fitoquímico del género *Eragrostis*, donde se indican los diferentes tipos de metabolitos secundarios, ejemplos de ellos, su fuente natural, parte estudiada del vegetal y referencias correspondientes.

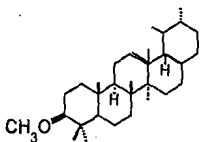
Especie vegetal	Parte Vegetal Estudiada	Ejemplo Estructural	Tipo de Metabolitos	Referencia
<i>Eragrostis curvula</i>	tallos y hojas	Arundoina (1), Cilindrina (2), α -Amirina (éter metílico 3), β -Amirina (4), (éter metílico 5)	Triterpenos Pentacíclicos	[5]
<i>Eragrostis ferruginea</i>	tallos y hojas	Miliacina (6), (5)	Triterpenos Pentacíclicos	[5]
<i>Eragrostis curvula</i>	semillas	Colesterol (7), Campesterol (8), Estigmasterol (9), β -Sitosterol (10), Δ 5-Avenasterol (11), Δ 7-Avenasterol (12)	Esteroles	[8]
<i>Eragrostis ferruginea</i>	raíces	Isopimar- 9 (11), 15- dien- 19- ol- 3- ona. (13), Isopimar- 9 (11), 15- dien- 3 β , 19- diol. (14), Cassa- 13 (14), 15- dien- 3, 12- diona. (15).	Diterpenos tricíclicos.	[9]
<i>Eragrostis curvula</i>	tallos y hojas	Tricina (16), Violantina (17).	Flavonoides	[10]



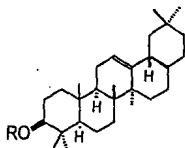
1.- Arundolna.



2.- Cilindrina

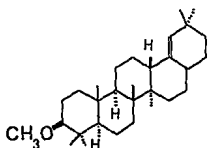


3.- Eter metílico de α -amirina

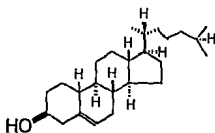


4.- R=H β -amirina

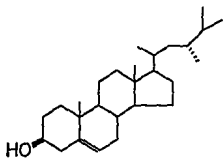
5.- R=CH₃ éter metílico de β -amirina



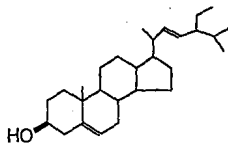
6.- Miliacina



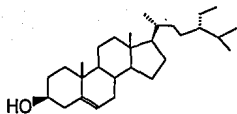
7.- Colesterol



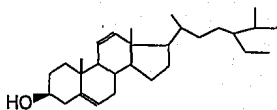
8.- Campesterol



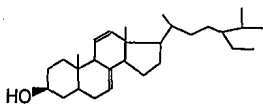
9.- Estigmasterol



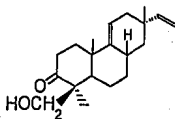
10.- β -sitosterol



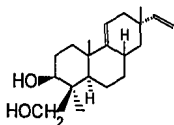
11.- Δ^5 -avenasterol



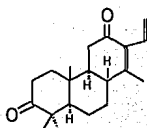
12.- Δ^7 -avenasterol



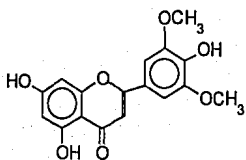
13.- isopimara-9(11), 15-dien-19-ol-3-ona



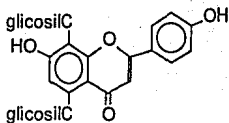
14.- isopimara-9(11), 15-dien-3 β , 19-diol



15.- cassa-13(14), 15-dien-3, 12-diona



16.- tricina



17.- violantina

Se ha informado en la literatura [4] sobre el análisis cuantitativo de los constituyentes menos polares de *Eragrostis curvula* y *Eragrostis trichoides*. Algunos de estos resultados se muestran en las siguientes tablas.

Eragrostis curvula

Componente	porcentaje (%)	# de átomos de carbono	referencia
Hidrocarburos	6	23- 33	[4]
Esteres	13	14- 34	"
Acidos	3	14- 28	"
Alcanoles	4	24- 32	"
Tritriacontano-12,14- diona	47	-	"
5 (s)- 5- hidroxí tritriacontano-12,14- diona	14	-	"
Triterpenoles	0.7	-	"
Triterpenonas	0.5	-	"
Triacilgliceroles	0.1	-	"
Alcanoles secundarios	0.1	-	"
5- oxotritriacontano-12,14- diona	0.1	-	"
No identificados	11.5	-	"

Eragrostis trichoides

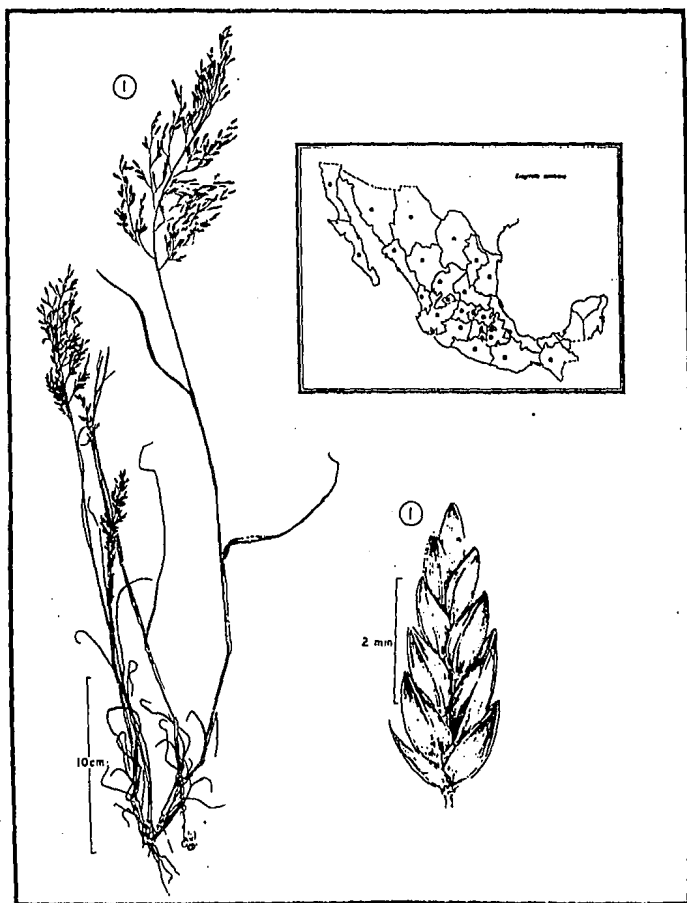
Componente	porcentaje (%)	# de átomos de carbono	referencia
Hidrocarburos	19	25- 33	[6]
Esteres	31	40- 62	"
Aldehídos	7	20-32	"
Diésteres	1	-	"
Acidos libres	3	16- 30	"
Alcoholes secundarios libres	0.5	18- 32	"
alcoholes primarios libres	19	18- 32	"
Triterpenoles	3	-	"
Triacilgliceroles	-	-	"
No identificados	16.5	-	"

Se han hecho otro tipo de investigaciones usando como modelo al género *Eragrostis*; entre los que destacan los siguientes:

La cuantificación de mercurio en plantas que crecen cerca de las industrias que deshechan cloro cáustico; las cuales descargan éste material tóxico al ambiente. Una de las plantas estudiadas en éste trabajo fué *Eragrostis ciliata* [11]. También se ha estudiado el límite de solubilización de α - celulosa y hemicelulosa, presentes en un pasto bajo en proteínas (*Eragrostis teff*) [12].

Glosario de términos botánicos [13]

- Abaxial.- Significa inferior.
- Amacollados.- Que forman un haz o manojo.
- Aquillada.- Parte prominente más o menos aguda.
- Aurículas.- Apéndice foliáceo, situado en la base de la lámina foliar o el peciolo. Su forma recuerda una orejita.
- Axilas.- Donde se origina generalmente el nacimiento de las yemas y por ende de las ramitas y flores.
- Cariopsis.- Fruto monospermo seco que no se abre, semejante a la nuez o al aquenio.
- Culmos.- tallos fistulosos (acanalados) y articulados de las gramíneas.
- Escabriúsculas.- Apenas escabroso.
- Espícula.- Espiga.
- Flósculo.- Flor de una inflorescencia. (cuando ésta era considerada como una flor compuesta)
- Geniculado.- Tallo con nudos o articulado.
- Glabro.- Desprovisto de pelo o vello.
- Glumas.- Cada uno de los hipsófilos estériles que suelen hallarse enfrentados en la base de las espículas de las gramíneas.
- Involuta.- Aplíquese a la hoja que se encorva por sus bordes hacia el haz o cara interna de la misma.
- Láminas.- Porción de la hoja que se une al tallo por medio del peciolo, de la vaina o directamente.
- Lema.- Cubierta de una semilla.
- Lígula.- A modo de apéndice membranoso que se halla en la línea que une la lámina y la vaina de sus hojas.
- Pálea.- (del latín palea-paja) Son las escamitas que existen en el receptáculo de numerosas compuestas y receptáculo paleáceo al que las tiene. Se refiere a un órgano laminar membranoso, como hojitas de hepáticas foliosas, o los frondes de helecho.
- Panícula.- Inflorescencia compuesta de tipo racemoso, en la que las ramitas van decreciendo de la base al ápice; por lo que tienen aspecto piramidal. (racimo de racimos).
- Pedicelo.- Dícese del cabillo o rabillo de una flor en las inflorescencias compuestas.
- Raquilla.- Línea de resalto a modo de sutura que se observa en el borde de muchas semillas.



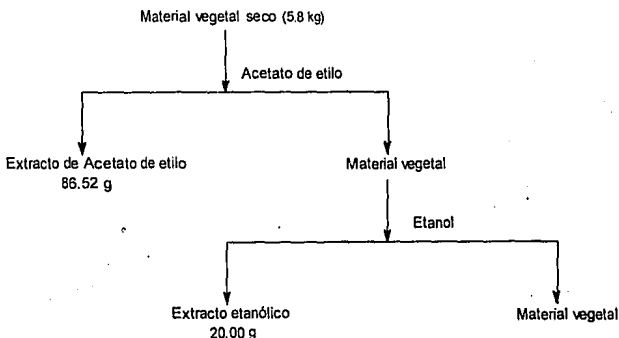
1. *Eragrostis mesacuna* var. *mexicana*. Planta y espigallo. Puebla, L. Román - 47 COCA

PARTE EXPERIMENTAL

Parte experimental.

La planta *Eragrostis mexicana* fué colectada en los campos experimentales de la Universidad Autónoma Chapingo y del Colegio de posgraduados en el municipio de Texcoco, Estado de México, en Septiembre de 1991. La identificación fué hecha por el Dr. Francisco Javier Espinosa-García, del Centro de Ecología de la UNAM. El material vegetal se dejó secar a temperatura ambiente en el invernadero del Centro de Ecología de la UNAM. Posteriormente se tamizó para quitarle las semillas y se trituró en un molino de martillos para ser macerada. 800 g de la planta fueron extraídos con los siguientes disolventes, y en las cantidades indicadas: hexano, aproximadamente 5 l por triplicado; acetato de etilo, 5 l por triplicado; metanol, 5 l por triplicado (se dejó reposar un día entre cada maceración, con el objeto de eliminar residuos de disolvente). Se obtuvieron los siguientes rendimientos: extracto hexánico 6.41 g, extracto de acetato de etilo 2.1 g. Del fraccionamiento del extracto hexánico sólo se obtuvieron ceras, y de los extractos de acetato de etilo y metanol, no fué posible realizar la caracterización de los metabolitos secundarios, debido al bajo rendimiento de materia orgánica en las fracciones obtenidas. Por lo anterior, se colectó nuevamente el material vegetal, obteniéndose 5.8 Kg de planta seca, los cuales fueron extraídos con los siguientes disolventes: acetato de etilo, 20 l por triplicado; etanol, 20 l por triplicado (se dejó un día entre cada maceración). El disolvente se eliminó a presión reducida, obteniéndose 86.5 g de extracto de acetato de etilo (1.49%) y 20 g de extracto etanólico (0.34%).

En los siguientes diagramas se resume el proceso experimental llevado a cabo para la separación de los constituyentes químicos de *Eragrostis mexicana*, seguido de una descripción detallada, incluyendo las constantes físicas y químicas de los compuestos.



Separación cromatográfica de los constituyentes químicos
de *Eragrostis mexicana*

Extracto de acetato de etilo 86.52 g

Columna Em2

(144 fracciones)

mezcla de hidrocarburos
(fracciones 1,2, hexano 100 %)

Isopentaeicosano

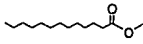
Isosheptaeicosano

isomero de nanceicosano

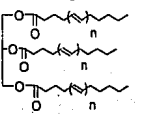
2-metil tricontano

9.04 g mezcla de sustancias de tipo graso
(fracciones 36-51 hexano:AcOet, 95:5)
(fracciones 52-53 hexano:AcOet, 90:10)

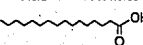
Tridecanoato de metilo



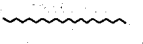
Triacilglicerol



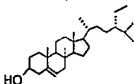
Acido hexadecanoico



Enelcosano



3 g de β -sitosterol
(fracciones 54-63, hexano:AcOet, 90:10)



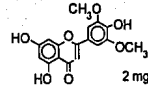
Columna EmA
10.86 g (fracciones 91-99, hexano:AcOet, 70:30)
(fracciones 100-128, hexano:AcOet, 50:50)

(98 fracciones)

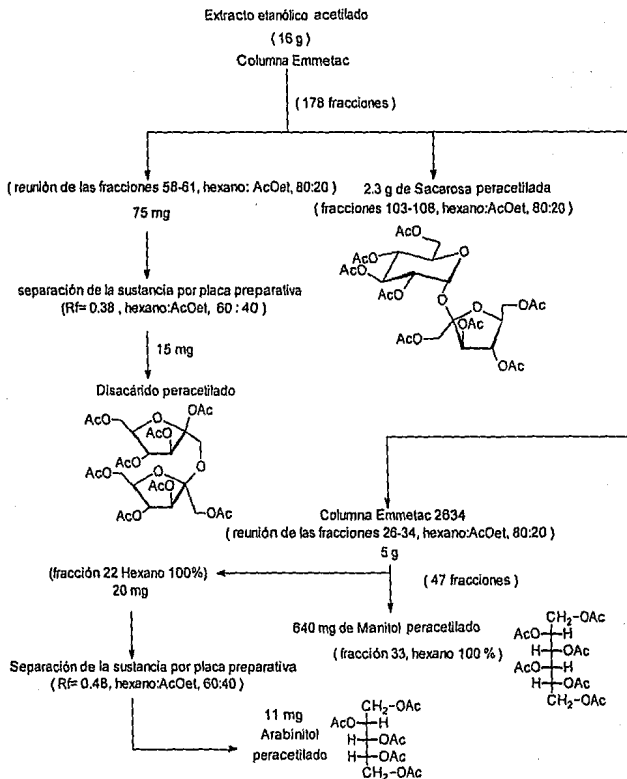
2 mg Tricina

7 mg
(recristalizaciones)

(fracción 83 hexano:AcOet,50:50)



Separación cromatográfica de los constituyentes químicos del extracto etanólico de *Eragrostis mexicana*



Separación de los constituyentes químicos del extracto de acetato de etilo de *Eragrostis mexicana*.

Columna Em2

El extracto de acetato de etilo (86.52 g) fue adsorbido en celita en una proporción 1:1, aplicándolo a una columna de vidrio empacada con 200 g de gel de sílice para placa. La composición de la fase móvil, el número de fracciones y la polaridad a la que eluyeron se indican en la tabla 1.

tabla 1

(se colectaron fracciones de 300 ml)

Fase móvil	Proporción	Nº de fracción
hexano	100	1-34
hexano:acetato de etilo	95:5	35-51
"	90:10	52-76
"	80:20	77-84
"	70:30	85-99
"	50:50	100-128
acetato de etilo	100	129-144

Las fracciones 1 y 2 fueron reunidas, de acuerdo a su similitud por cromatografía en capa fina analítica, obteniéndose 3 g de una mezcla de hidrocarburos. Este residuo orgánico de color blanco tiene las siguientes constantes físicas.

Pf. = 55-58°C.

IR $\nu_{\max}(\text{CHCl}_3)$: 2925, 2852, 1463, 1375 cm^{-1}

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , espectro 1) : δ 1.4 (m, CH_2), δ 0.95 (m, CH_3)

Una muestra de la fracción Em2 (1 y 2) y una muestra de la primera fracción de la cromatografía del extracto hexánico de la primera maceración de la planta se inyectaron a un cromatógrafo^a (a,b, consulte las características instrumentales al final del capítulo) de gases, empleándose las siguientes condiciones para el análisis: rampa de 10 °C/min a partir de 200 °C hasta 300 °C, obteniéndose cromatogramas idénticos con cuatro sustancias mayoritarias. Con éstas condiciones de trabajo como referencia, se inyectó otra muestra de Em2 (1 y 2) en un cromatógrafo^b de gases acoplado a un espectrómetro de masas, obteniéndose los espectros 2, 3, 4, y 5 para los cuatro componentes mayoritarios. Ver las estructuras 18, 19, 20 y 21 (del capítulo referente a la discusión de resultados).

Isopentacosano (espectro 2, 18)

$t_r=7.6$ min

EM m/z 352 [M+ C₂₅H₅₂] 3.4 %, 71 [C₅H₁₁] 100 %, 57 [C₄H₉] 84 %, 43 [C₃H₇] 27.5 %

Isoheptacosano (espectro 3, 19)

$t_r=9.1$ min

EM m/z 380 [M+ C₂₇H₅₆] 12.6 %, 71 [C₅H₁₁] 100 %, 57 [C₄H₉] 93.6 %, 43 [C₃H₇] 36.6 %

Isómero de nonacosano (espectro 4, 20)

$t_r=10.6$ min

EM m/z 408 [M+ C₂₉H₆₀] 18.3 %, 141 [C₁₀H₂₁] 100 %, 57 [C₄H₉] 87.8 %, 43 [C₃H₇] 42.5 %

2-metil triacontano (espectro 5, 21)

$t_r=12.8$ min

EM m/z 436 [M+ C₃₁H₆₄] 3.8 %, 57 [C₄H₉] 100 %, 71 [C₅H₁₁] 84 %, 43 [C₃H₇] 37.5 %

Las fracciones 36-53 de Em2 fueron reunidas, obteniéndose 9 g de una mezcla de ésteres de ácidos grasos, de color rojizo, con aroma a frutas. Este residuo tiene las siguientes constantes físicas:

Pf= 35-42°C

IR ν_{\max} (CHCl₃): 3600, 3550, 3003, 2925, 2852, 1732, 1710, 1463 cm⁻¹

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃, espectro 6) δ 2.35 (d, CH₂), δ 4.0-4.35 (ddd, CH₂), δ 2.8 (m, CH₂), δ 3.66 (s, CH₃), δ 3.64 (t, CH₂)

Se inyectó una muestra de la fracción Em2 36-53 en un cromatógrafo de gases^a, realizándose el análisis con las siguientes condiciones: inicio en 80 °C , después una rampa de 20 °C/min hasta 300 °C durante 5 min. Obteniéndose un cromatograma que presentaba cuatro sustancias mayoritarias. Con éstas condiciones como referencia, se inyectó otra muestra de Em2 36-53 en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas^b. Obteniéndose los espectros 7, 8, 9 y 10 para los cuatro componentes mayoritarios. Ver estructuras 22, 23, 24 y 25 (discusión de resultados).

tridecanoato de metilo (espectro 7, 22), [15].

$t_r=3.5$ min

EM m/z 228 [M+ C₁₄H₂₈O₂] 9%, 74 [C₃H₆O₂] 100 %, 43 [C₃H₇] 35 %

Acido hexadecanoico (espectro 8, 23), [15].

$t_r=4.3$ min

EM m/z 256 [$C_{16}H_{32}O_2$] 2.9 %, 43 [C_3H_7] 99 %, 60 [$C_2H_4O_2$] 100 %

Triacil glicerol (espectro 9, 24)

$t_r=7.9$ min

EM m/z 420 [$C_{15}H_{23}O_8$] 1 %, 43 [C_3H_7] 86 %, 57 [C_4H_9] 73 %, 71 [C_4H_7O] 100 %

Eneicosano (espectro 10, 25), [15].

$t_r=12.6$ min

EM m/z 282 [C_4H_9] 100 %, 57 [C_4H_9] 100 %, 43 [C_3H_7] 45 %.

De las fracciones Em2 54-63 se obtuvieron 3 g de β -sitosterol. (10). Que presentó las siguientes constantes espectroscópicas:

Pf = 100-110°C

IR ν_{max} ($CHCl_3$): 3608, 2959, 2938, 2869, 1464, 1380, 1044 y 956 cm^{-1}

RMN 1H (200 MHz, $CDCl_3$) δ 5.12 (1H, dd, J=6.6 Hz, H6), δ 3.41 (1H, dddd, J=11.6 Hz, H3), δ 2.25 (2H, d, J=6 Hz, H2), δ 1.51 (1H, sa, -OH), δ 0.89 (3H, s, H19), δ 0.79 (3H, d, J=7 Hz, H21), δ 0.72 (3H, t, J=7 Hz, H29), δ 0.69 (6H, d, J=7 Hz, H26,27), δ 0.55 (3H, s, H18).

EM m/z 414 [M+], 396 [M+ -H₂O] 27 %, 43, 100 %.

Columna EmA

Las fracciones Em2 91-128 fueron reunidas obteniéndose 10.86 g de residuo. Este se adsorbió en la misma cantidad de celita y se aplicó a una columna abierta empacada con gel de sílice en una proporción 1:30 con respecto al peso del residuo. La composición de la fase móvil, el número de fracciones y la polaridad a que eluyeron se explica en la tabla 2.

tabla 2

(se colectaron fracciones de 250 ml)

Fase móvil	Proporción	Nº de fracción
hexano	100	1-9
hexano:acetato de etilo	80:20	10-56
"	70:30	57-77
"	60:40	78-93
"	50:50	94-98

De la fracción EmA 83 se obtuvieron 7 mg de un sólido amorfo, el cual se recrystalizó de acetona y se lavó con hexano. Este procedimiento se repitió tres veces. Se obtuvieron 2 mg de tricina (**16**). [10, 16, 17]. Este residuo orgánico de color verde-amarillento presentó las siguientes constantes físicas:

Pf=253-260 °C

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

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , espectro 11) δ 12.8 (s, OH), δ 10.14 (s, OH), δ 7.96 (s, OH), δ 7.12 (s, H-2', H-6'), δ 6.5 (s, H-3), δ 6.46 (d, H-6, J=2Hz), δ 6.30 (d, H-8, J=2Hz):

UV λ_{\max} (EtOH) 268, 300, 350 nm.

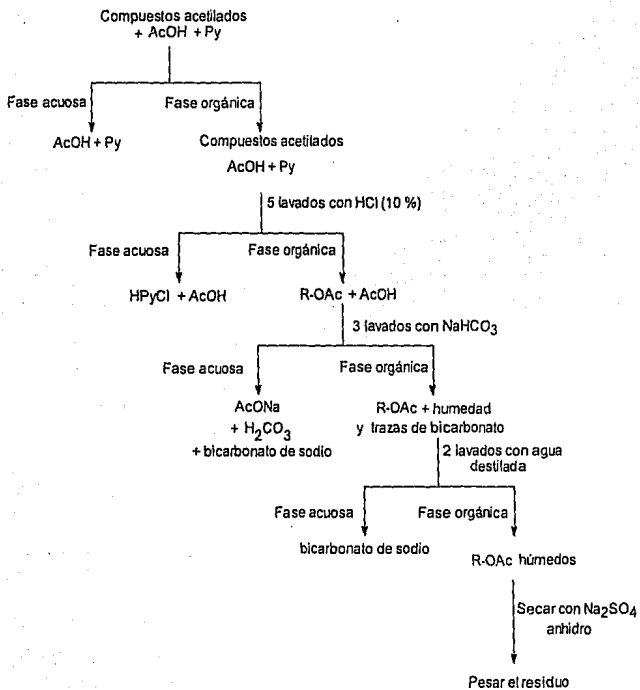
EM m/z 330 [M^+ $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_7$] 100 %, 152 [$\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_4$] 2.5 %, 178 [$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_3$] 5.0 %

Separación de los constituyentes químicos del extracto etanólico de *Eragrostis mexicana*

Inicialmente se hizo una reacción con reactivo de Molisch [14] para verificar la presencia de glicósidos en el extracto, la cual resultó positiva. La composición del reactivo y las características de la prueba se dan a continuación. Una pequeña cantidad del extracto etanólico se disolvió en 3 ml de agua destilada; colocada en un tubo de ensayo; se le adicionó 1 ml de una solución de α naftol (10%) en EtOH. Enseguida se adicionó, por las paredes del tubo, 2 gotas de H_2SO_4 conc., observándose una coloración violeta en la interfase de los líquidos, lo que indicó la presencia de carbohidratos. Como control positivo se utilizó una solución acuosa de sacarosa (3 ml al 10 %) y como blanco 3 ml de agua destilada.

Posteriormente se procedió a la acetilación del extracto etanólico (20 g), con 12 ml de anhídrido acético y 0.7 ml de piridina como catalizador. Se dejó la reacción por 24 h a temperatura ambiente. La reacción se detuvo con 12 g de hielo y se extrajeron los compuestos acetilados siguiendo el procedimiento convencional de partición, el cual se esquematiza a continuación:

Diagrama de partición para la separación de los compuestos
acetilados



Columna Emmetac

Cromatografía del residuo etanólico acetilado.

16 g del extracto acetilado se adsorbieron en igual cantidad de celita y se aplicó en una columna abierta empacada con gel de sílice en una proporción de 1:30. La composición de la fase móvil, el número de fracciones y la polaridad a que eluyeron se muestran en la tabla 3.

tabla 3
(se colectaron fracciones de 250 ml).

Fase móvil	Proporción	Nº de fracción
hexano	100	1-7
hexano:acetato de etilo	80:20	8-148
"	70:30	149-163
"	50:50	164-169
acetona	100	170-176
etanol	100	177-178

Las fracciones Emmetac 26-34 fueron reunidas, obteniéndose 5 g de residuo. Se adsorbió en la misma cantidad de celita y se aplicó en una columna abierta empacada con gel de sílice, en una proporción 1:30. La composición de la fase móvil, el número de fracciones y la polaridad a la que eluyeron se muestran en la tabla 4.

tabla 4
(se colectaron fracciones de 50 ml).

Fase móvil	Proporción	Nº de fracción
hexano	100	1-33
hexano:acetato de etilo	80:20	34-44
acetona	100	45-47

Del análisis por ccf de la fracción 22, se observó un componente mayoritario. Esta fracción con 20 mg de residuo, se aplicó a una placa preparativa y se eluyó con una mezcla de hexano:acetato de etilo 60:40, extrayéndose de la placa el componente con Rf 0.48. Se extrajo la sílica con acetona, se filtró y se obtuvieron, después de la evaporación del

disolvente, 11 mg de hexaacetato de arabinol (26), [18] que presentó las siguientes constantes físicas:

Pf=57-62 °C

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃, espectro 12) δ 3.94 (dd, H-1', J=11.8Hz, J=7.0Hz), δ 4.14 (dd, H-5', J=12.6Hz, J=4.7Hz), δ 4.25 (dd, H-5, J=12.6Hz, J=2.8Hz), δ 4.28 (dd, H-1, J=11.8Hz, J=4.7Hz), δ 5.4 (m, H-3, H-2, w_{1/2}=14.8), δ 5.17 (ddd, H-4, J=7.0Hz, J=2.8Hz, J=4.7Hz)

El sólido presente en la fracción 33 se recrystalizó y filtró, obteniéndose 640 mg de hexaacetato de manitol (27), [18, 19]. Es una sustancia cristalina incolora que presentó las siguientes constantes físicas:

Pf= 118-125 °C

RMN ¹H (200 MHz, (CD₃)₂CO, espectro 13) d 4.07 (dd, H-1', H-6', J=5.4Hz, J=12.4Hz), d 4.23 (dd, H-1, H-6, J=3Hz, J=12.4Hz), d 5.08 (m, H-2, H-5) d 5.45 (dd, H-3, H-4, J=2.2Hz, J=9.3Hz).

El dibujo computarizado generado por los resultados del análisis por difracción de rayos X de ésta sustancia, se muestra en la figura 1 (discusión de resultados).

Las fracciones Emmetac 58-61 fueron reunidas, obteniéndose 75 mg de un residuo blanco-amarillo. Este residuo presentó una mancha difusa en cc. Se aplicó en una placa cromatográfica preparativa y se eluyó con una mezcla de hexano: acetato de etilo 60:40. Se obtuvieron 2 manchas. De la mancha con Rf 0.38 se obtuvieron 15 mg de un disacárido (28) [20, 21, 22] peracetilado, con características de sólido amorfo, que presentó las siguientes constantes espectroscópicas:

RMN ¹³C (200 MHz, CDCl₃, espectro 14), δ 20.6 que corresponde a varios grupos metilo

RMN ¹³C_{DEPT} (200 MHz, CDCl₃, espectro 14-A), δ 63.2-65.3 (s, CH₂), δ 76.0-80.3 (s, CH), δ 20.7 (s, CH₃), δ 169.24-171.21 (s, C cuaternario).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃, espectro 15-B), δ 4.13-4.49 (m, H-1, H-1', H-5, H-5', H-6, H-6'), δ 4.98 (dd, H-4', J=2.0, 5.1 Hz), δ 5.29-5.39 (m, H-3, H-3', H-4)

Las fracciones Emmetac 103-108 fueron reunidas, obteniéndose 2.3 g de sacarosa octaacetilada (31), [24, 25]. Los cristales en forma de agujas presentaron las siguientes constantes físicas:

Pf= 70-75 °C

RMN ^{13}C (200 MHz, CDCl_3 , espectro 15) δ 20.46 (s, CH_3), δ 61.5 (CH_2), δ 62.7 (CH_2), δ 63.5 (CH_2), δ 68.01 (CH), δ 68.32 (CH), δ 69.5 (CH), δ 70.1 (CH), δ 74.8 (CH), δ 75.5 (CH), δ 79.0 (CH), δ 89.7 (CH), δ 103.9 (s, C cuaternario), δ 169.55-170.55 (s, CO).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , espectro 16) δ 5.69 (d, 1 H, $J= 3.7$ Hz), δ 5.42 (m, 3 H), δ 5.08 (dd, 1 H, $J= 9.8, 9.8$ Hz), δ 4.87 (dd, 1 H, $J= 3.7, 10.0$ Hz), δ 4.10-4.35 (m, 8 H).

CARACTERISTICAS INSTRUMENTALES

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato de Fisher-Johnes y no están corregidos. Las cromatografías en columna se efectuaron en sílica-gel para placa **Merck**. Y las de placa preparativa se llevaron a cabo en placas **Merck** de 2 mm de grosor y 20 x 20 cm de superficie. La pureza de los productos y el desarrollo de la acetilación se siguió por cromatofolios **Alugram Sil G/ uv 254**, **Macherey-Nagel Düren** y una lámpara de ultravioleta **Spectroline Model ex-20**. Se usó como revelador sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N. Los espectros de IR fueron corridos en un espectrofotómetro de infrarrojo **Perkin-Elmer 283-B**. Los cromatogramas fueron realizados en dos cromatógrafos de gases, con las siguientes características:

1-**Perkin-Elmer 80410** con una columna capilar de 30 m empacada con **OV-17**. Este instrumento se encuentra ubicado en el Centro de Ecología de la UNAM.

2-**Hewlett-Packard** con una columna capilar de 15 m empacada con metilsilicón al 5%.

Los espectros de masas se determinaron en un espectrómetro **Hitachi Perkin-Elmer RMU 6D** de doble foco y utilizando la técnica de impacto electrónico con un potencial de ionización de 70 eV.

Los espectros de RMN ^1H y ^{13}C se determinaron en un aparato **Varian Gemini-200** de 200 MHz. Los desplazamientos químicos están dados en ppm referidos al tetrametilsilano como referencia interna. Los espectros de UV se determinaron en un espectrofotómetro **Shimadzu UV 160 U uv/ visible**. La base de datos **Nist [15]** se corrió en una computadora **Acer Mate 386** de 25 MHz, utilizando un **CD Rom Hitachi CDR 1700S**.

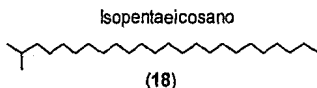
DISCUSION DE RESULTADOS

Discusión de resultados.

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

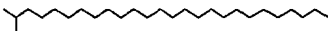
De la cromatografía del extracto de acetato de etilo se obtuvo un residuo sólido de consistencia cerosa, cromatográficamente homogéneo, que eluyó con hexano, de $pf: 55-58^{\circ} C$. En el espectro de IR se observó la presencia de las bandas de absorción correspondientes a los alargamientos de los enlaces C-H saturado en la sustancia (3000 cm^{-1}). No se observa señal de carbonilo, ni de insaturaciones (aromáticas, ni vinílicas). Por otro lado, el espectro de RMN 1H de la misma sustancia (espectro 1), presenta señales en δ 1.40, correspondientes a metilenos de hidrocarburos saturados, y las señales en δ 0.95 se asignaron para los protones de CH_3 del mismo tipo de sustancias. La integración de la señal bajo la curva no es exacta, por lo que los trazos corresponden al promedio de las señales en la mezcla. El análisis por cromatografía de gases (acoplado a espectrometría de masas) de este sólido indicó la presencia de cuatro componentes mayoritarios en esta mezcla, y cuyos tiempos de retención fueron de 7.6, 9.1, 10.6, y 12.8 min.

El análisis por espectrometría de masas (espectro 2) mostró, para el componente con $t_r=7.6$ min, el ión molecular en m/z 352, que corresponde a $C_{25}H_{52}$, y a partir de este ión, se observa la pérdida de 57 unidades de masa, correspondientes al fragmento $[C_4H_9^+]$. Del fragmento m/z 281, se observa la pérdida de 14 unidades de masa, que corresponde a pérdida de CH_2 , pasando por las señales para los fragmentos con m/z 57, 71 (pico base), y 43, que establecen una ramificación en C-2. La integración de estos datos permiten postular al isopentaeicosano (18) como uno de los componentes de esta mezcla.



El análisis por espectrometría de masas para el componente con $t_r=9.1$ min (espectro 3), mostró un fragmento con m/z 380 para el ión molecular, lo que indica la fórmula $C_{27}H_{56}$. A partir de este ión, se manifiesta la pérdida de 29 unidades de masa para un C_2H_5 . Del fragmento m/z 351, se observan pérdidas consecutivas de 14 unidades de masa, correspondientes a metilenos, observándose los fragmentos con m/z 71 (pico base), 57, y 43, lo que establece la ramificación en C-2. De la consideración de los datos anteriores, es posible postular que el isoheptaeicosano (19) es un constituyente de esta mezcla.

Isoheptaecicosano



(19)

El análisis por espectrometría de masas para el componente con $t_r=10.6$ min (espectro 4), mostró un fragmento con m/z 408 para el ión molecular $C_{29}H_{60}$. A partir de éste, pérdida de 29 unidades de masa para un C_2H_5 y posteriormente, pérdidas sucesivas de CH_2 , observándose los fragmentos con m/z 57, 155 y 141 (pico base). Estos datos permiten suponer que esta sustancia corresponde a alguno de los isómeros de nonaeicosano (20).

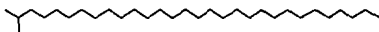
Isómero de nonaeicosano



(20)

El análisis por espectrometría de masas para el componente con $t_r=12.8$ min (espectro 5), mostró un fragmento con m/z 436 para el ión molecular $C_{31}H_{64}$. A partir del ión molecular, se observa la pérdida de 43 unidades de masa, para un C_3H_7 y posteriormente pérdidas sucesivas de 14 unidades de masa (CH_2), observándose las señales para los fragmentos con m/z 71, 85, 57 (pico base), 43, que confirman la ramificación en la posición C-2. Esta sustancia también es un hidrocarburo, y el 2-metil triacontano (21) es la estructura más probable para este componente.

2-metil triacontano



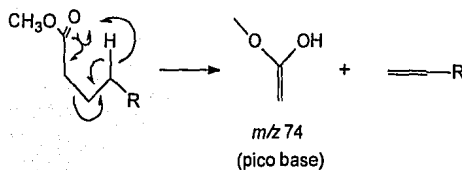
(21)

De las fracciones que eluyeron con una polaridad mayor, se obtuvo un residuo sólido rojizo de consistencia cerosa, con pf : 35-42 °C y aroma a frutas. En el espectro de IR se observaron bandas de absorción intensas en 1710 y 1732 cm^{-1} , que se asignan para carbonilo de cetona y éster, respectivamente. Las absorción amplia de 3300-2500 cm^{-1} , indica la presencia de grupo hidroxilo. Por otro lado, en el espectro de RMN 1H (espectro 6), se observaron señales que evidencian la presencia de varios constituyentes. Se observó un triplete (δ 2.35), asignado para metilenos unidos a carbonilo, un doblete de doblete (δ 4.00-4.35), para metileno base de éster, un multiplete (δ 2.80) para metilenos alílicos a 2 posibles dobles enlaces, un multiplete (δ 5.35) para metilenos vinílicos, un sigulete (δ 3.66) para metoxilo y

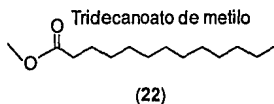
un triplete (δ 3.64) para metilenos base de oxígeno. La anterior descripción corresponde a la mezcla de sustancias, la cual se resolvió por cromatografía de gases.

Del análisis por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas se observó la presencia de 4 componentes mayoritarios en la mezcla.

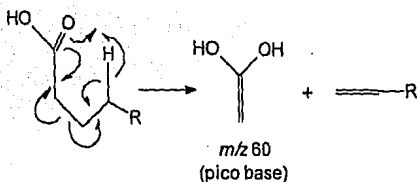
El componente con $t_r=3.5$ min (espectro7), presentó un ión molecular con m/z 228 que establece la fórmula $C_{14}H_{28}O_2$. A partir del ión molecular es posible postular una transposición de McLafferty, la cual da origen al fragmento correspondiente al pico base.



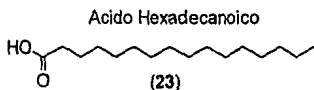
Se observan pérdidas sucesivas de 14 unidades de masa para los metilenos de la cadena hasta el pico con m/z 87, y pérdida de CH para formar el pico base. La conjunción de los datos y la comparación computarizada del espectro con el obtenido de la base de datos NIST [15], confirmaron la estructura del tridecanoato de metilo (22).



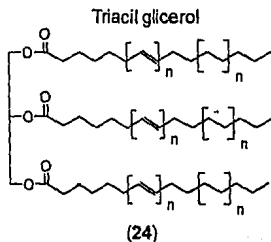
El análisis del componente con $t_r=4.3$ min (espectro 8), presentó un ión molecular con m/z 256, para $C_{16}H_{32}O_2$. Una transposición de McLafferty puede explicar la formación del pico base:



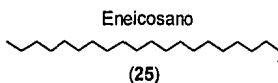
A partir de este fragmento, se observa la pérdida de metilo (15 unidades de masa) y sucesivas pérdidas de 14 unidades correspondientes a los metilenos de la cadena, hasta la formación del pico m/z 73. La pérdida de 13 unidades de masa para un metino permite la formación del fragmento m/z 60 y la pérdida de 17 unidades de masa para el OH, permite la formación del fragmento m/z 43. La conjunción de los datos y la comparación computarizada del espectro con el registrado en la base de datos NIST [15], confirmó la estructura del ácido hexadecanoico (23).



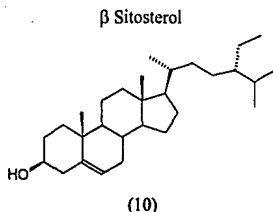
El análisis del componente con $t_r=7.9$ min (espectro 9), presentó un ión molecular con m/z 420 y una fragmentación continua registrada hasta 184 unidades de masa atómica. Las señales relevantes en el espectro de RMN ^1H (δ 5.35, 4.35, 4.00, 2.8, y 2.35) sugieren la estructura base de un triglicérido, donde el fragmento m/z 420 correspondería presumiblemente, a la pérdida de 2 cadenas alquílicas insaturadas, y los fragmentos de 89 y 173 al glicerol, y carbonil glicerol, respectivamente. La presencia de hidrógenos vinílicos (δ 5.35), hidrógenos alílicos (δ 2.4) y doblemente alílicos (δ 2.80), sugieren la estructura (24) para éste grupo de sustancias, donde el número de átomos de carbono en las cadenas puede ser variable.



El análisis del componente con $t_r = 12.6$ (espectro 10), presentó un ión molecular con m/z 282 para un ión $C_{20}H_{42}$. A partir del ión molecular, se observa la pérdida de 15 unidades de masa atómica para un metilo. Las pérdidas sucesivas de 14 uma corresponden a la pérdida de metilenos, hasta el pico con m/z 239. De ahí, pérdida de 28 uma correspondiente a un etileno C_2H_4 . La conjunción de los datos anteriores y su corroboración, mediante la comparación computarizada con el espectro obtenido de la base de datos NIST [15], verificaron la estructura de eneicosano (25) para este componente de la mezcla.



Entre los constituyentes de polaridad intermedia, se obtuvo β -sitosterol (10), cuya identidad fué establecida mediante comparación directa con una muestra auténtica.

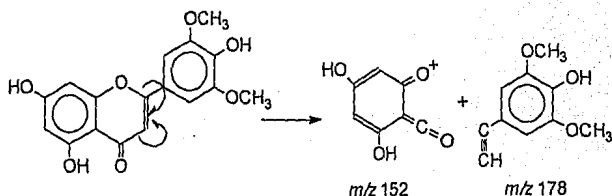


De la recromatografía de las fracciones 91-128 del extracto de acetato de etilo se obtuvieron, después de repetidas eluciones en la columna y varias recrystalizaciones, 2 mg de una sustancia amarillo-verdosa con $pf = 253-260$ °C, que fluoresce intensamente al exponerse la cromatopla en la que eluye a la luz ultravioleta de onda larga (365 nm).

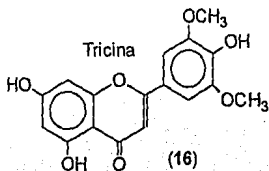
El espectro de IR en KBr, presentó bandas de absorción entre 1600 y 1610 cm^{-1} , para carbonilo de cetona conjugado con doble enlace. También se observan una banda intensa y ancha arriba de 3000 cm^{-1} , correspondiente a la absorción de los grupos -OH; un grupo de bandas de absorción entre 750 y 850 cm^{-1} , asignadas a hidrógenos aromáticos. Estos datos sugieren la estructura básica de un flavonoide. En efecto, el espectro de RMN 1H (espectro 11) muestra un doblete de doblete centrado en δ 6.38 ($J = 2$ Hz), que fué asignado a un sistema AB para los hidrógenos (H-6, H-8) con una disposición *meta*, correspondientes al anillo A del flavonoide. Asimismo, se observan 3 singletes en (δ 12.8,

10.1, 7.9), para los -OH fenólicos, ubicados en las posiciones 5, 4', y 7, respectivamente, del núcleo de flavonoide. Un singulete que integró para 2 hidrógenos, que resuena en δ 7.10, se asignó para los H-2', y H-6'. Se observa un singulete en δ 3.90 correspondientes a dos metoxilos del anillo C. La equivalencia química y magnética de H-2' y H-6', así como la isocronía en la resonancia de los grupos metilo del anillo puede explicarse por la ortogonalidad que debe guardar el anillo C con respecto a los ciclos A y B.

En el espectro de masas se observa el ión molecular con m/z 330 que corresponde a la fórmula $C_{17}H_{14}O_7$. Se observan los fragmentos 152 [$C_7H_4O_4^+$] y 178 [$C_{10}H_{10}O_3^+$], que corresponden al posible mecanismo de fragmentación de la flavona (retro Diels-Alder).



El espectro de UV de este compuesto muestra las bandas de absorción características para la tricina (16): a 268 nm, un hombro en 283 nm y una banda de absorción intensa en 300 nm. La conjunción de los datos anteriores y la comparación con los de la bibliografía [10] [16], [17] confirman la identidad de esta sustancia con la tricina (16). Esta sustancia fué aislada anteriormente de *Eperua bijuga* de la familia Leguminosae [17], y de varias especies de la familia Gramineae [10].



La aplicación de la prueba de Molisch [15] (para detectar la presencia de carbohidratos) en el extracto etanólico, fué positiva. Con el fin de facilitar la manipulación experimental de este residuo, se procedió a la acetilación del mismo, con el objeto de disminuir la polaridad de los constituyentes químicos del extracto, y poder separarlos por métodos convencionales.

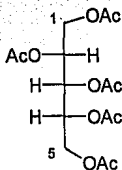
De las fracciones de la cromatografía del extracto etanólico acetilado de *E. mexicana*, se aisló, mediante recromatografía y cromatoplaque preparativa, un sólido que presentó las siguientes características espectroscópicas. El espectro de RMN ¹H (espectro 13), muestra una señal en δ 5.40 de amplitud media ($W_{1/2}$) de 14.8 Hz, que integra para dos protones; una señal múltiple en 5.18, que integra para un protón. Estas señales pueden asignarse a hidrógenos geminales a grupos acetato. Por otro lado, entre δ 4.32 y 3.89 se observan las señales de dos sistemas ABX que incluyen 16 señales que se asignan a dos acetoximetilenos vecinales a un hidrógeno cada uno de ellos. A campo alto, entre δ 2.18 y 2.00 se observan cinco siguletes que integran para tres hidrógenos cada una de ellos, y que corresponden a los metilos de los acetilos. Estas evidencias indican que la sustancia es el acetil derivado de un pentoalditol. Cabe señalar que no existen elementos de simetría molecular que simplifiquen el espectro de resonancia, por lo que el número de estereoisómeros a comparar, es menor. La comparación de los datos físicos y espectroscópicos de ésta sustancia con el pentaacetil-D-arabinitol (26) [18], permiten establecer la identidad de ambas sustancias. La tabla 6 muestra las asignaciones de RMN ¹H informadas en la literatura en comparación con las obtenidas para el acetil derivado del producto natural de *E. mexicana*.

Tabla 6 y 6a Datos de RMN ¹H de peracetil-D-arabinitol (26) (CDCl₃, δ)

Hidrógeno	Compuesto aislado (espectro 12)	Referencia [18]
H-1	4.28	4.28
H-1'	3.94	3.94
H-2	5.40	5.37
H-3	5.40	5.38
H-4	5.17	5.14
H-5	4.25	4.23
H-5'	4.14	4.14

tabla 6a

Constantes de acoplamiento	Referencia (18) [Hz]	Compuesto aislado [Hz] (espectro 12)
$J_{1,1'}$	11.6	11.4 (promedio)
$J_{1,2}$	4.8	4.7
$J_{1',2}$	7.1	7.0
$J_{2,3}$	2.8	2.8
$J_{3,4}$	8.5	7.0
$J_{4,5}$	2.3	2.8
$J_{4,5'}$	5.1	4.7
$J_{5,5'}$	12.3	12.6



26. pentaacetil D arabinitol

En la misma columna pero en la fracción 33, se obtuvieron 640 mg de unos cristales incoloros con pf 118-125 °C, de los datos de resonancia magnética nuclear protónica (espectro 13), se observa lo siguiente: en 4.23 ppm hay un hidrógeno que tienen una constante de acoplamiento geminal de 12.4 Hz y dos constantes de acoplamiento vecinal *syn* de 3 Hz correspondientes a los dos metilenos 1 y 5 equivalentes en la molécula, también se observa que en 4.07 ppm hay un hidrógeno que tienen una constante de acoplamiento geminal de 12.4 Hz y dos constantes de acoplamiento vecinal *anti* de 5.4 Hz que corresponden a los mismos metilenos. En 5.09 ppm se observa un multiplete que integra para dos metinos y que corresponden a los metinos 2 y 4 en la molécula. Finalmente se observa un doble de doble en 5.45 ppm que integra para un hidrógeno, que tiene dos constantes de acoplamiento (2.2 y 9.3 Hz) y que corresponde al metino central 3 en la molécula. Se observa además que debido a la simetría de la molécula el espectro se redujo exactamente a la mitad. Comparando éstos datos con los informados en la referencia [19], en donde se reporta un punto de fusión de 117- 119 °C, y la comparación de las señales de RMN 1H (espectro 14), con las reportadas en la referencia [18], que se muestran en

la tabla 7; aunadas al análisis por difracción de rayos X [19], (figura 1), confirman la estructura del manitol peracetilado **27** como producto de reacción y al manitol como producto natural.

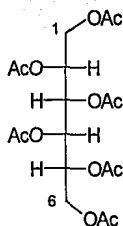
NOTA: En la referencia se utilizó como disolvente cloroformo deuterado, mientras que en el compuesto aislado fué acetona deuterada, para realizar el experimento de RMN ^1H

Tabla 7

Datos de RMN ^1H del peracetil manitol **27**, (CDCl_3 , 200 MHz, δ)

Hidrógeno	Referencia [18]	Compuesto aislado (espectro 13)
H-1	4.08 ppm	4.23 ppm
H-1'	3.93 ppm	4.07 ppm
H-2	4.92 ppm	5.08 ppm
H-3	5.30 ppm	5.45 ppm
H-4	5.30 ppm	5.45 ppm
H-5	4.92 ppm	5.08 ppm
H-6	4.08 ppm	4.23 ppm
H-6'	3.93 ppm	4.07 ppm

Constantes de acoplamiento	Referencia [18] (Hz)	Compuesto aislado (Hz)
$J_{1,1'}=J_{6,6'}$	12.3	12.4
$J_{1,2}=J_{5,6}$	2.6	3.0
$J_{1',2'}=J_{5,6'}$	5.3	5.4
$J_{2,3}=J_{4,5}$	9.0	10.0
$J_{3,4}$	2.2	1.5



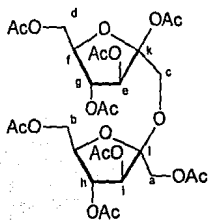
27. peracetil-manitol

De la cromatografía del extracto etanólico acetilado, eluyó un residuo que presentó una mancha difusa en cromatografía analítica. Este fué purificado mediante una cromatoplaca preparativa, obteniéndose una sustancia que presentó las siguientes características espectroscópicas.

En RMN ^{13}C (espectro 14) se observan 20 señales, además de una señal intensa en δ 20.6 que corresponde a varios grupos metilo. Aplicando el experimento DEPT (espectro 14-A), se observan cuatro metilenos, ubicados en δ 63.2, 64.3, 64.6, 65.3; también se observó la presencia de seis metinos, los cuales resuenan en δ 76.0, 76.4, 77.7, 78.9, 80.1, 80.29. No se detectó la presencia de los carbonos cuaternarios en éste espectro, pero en el espectro original se observan señales en 101.5 y 103.9, por lo que se deduce la presencia de carbonos anoméricos cuaternarios. Además, se observan 8 señales pertenecientes a los ocho carbonilos de acetilo incorporados en la molécula. Considerando los ocho acetilos, las doce señales restantes (cuatro metilenos, seis metinos y dos carbonos cuaternarios) indican doce carbonos en el producto natural, que corresponden a un disacárido formado por dos hexosas.

El espectro de RMN ^1H (14-B), confirma la presencia de ocho metilos de acetilo (δ 2.20-2.00). La ausencia de protón anomérico (δ 5.69 en la sacarosa), está de acuerdo con la presencia de carbonos cetálicos cuaternarios, deducidos anteriormente. Dos evidencias permiten establecer a esta sustancia como una hexofuranosilhexofuranosa, que son las siguientes: (a) la ausencia de las multiplicidades características de las señales de hexopiranosas (acoplamiento axial-axial, axial-ecuatorial, y ecuatorial-ecuatorial); y (b), la presencia de la señal en δ 4.98, la cual presenta la multiplicidad característica de un protón metínico en anillo de furanosa.

La fructofuranosil fructofuranosa, representada en la fórmula 28, es una posibilidad estructural que estaría de acuerdo con las características estructurales descritas.



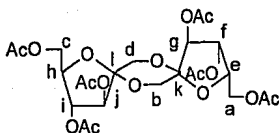
28. Peracetil O- β -D-fructofuranosil-(2 \rightarrow 1)- β -D-fructofuranosa

A continuación se hará una serie de comparaciones con los desplazamientos químicos de RMN ^{13}C de ciertos carbohidratos derivados de la fructosa, en particular: α -D-fructofuranosa- β -D-fructofuranosa 1,2':2,1' dianhidrido [20], (29), O- β -D-fructofuranosil(2 \rightarrow 1)- β -D-fructopiranosil [21], (30), y los trisacáridos derivados de inulina [22], (31 y 32), con el fin de proporcionar argumentos que apoyan la proposición estructural mostrada en 28.

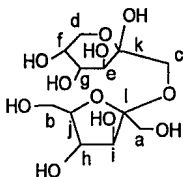
Los desplazamientos químicos en ^{13}C de los compuestos 29 y 30, informados en la literatura, permiten apoyar la estructura 28 para la sustancia aislada de *E. mexicana*. En la tabla 1 se muestran los desplazamientos químicos comparativos de los metilenos, metinos y carbonos cuaternarios de dichas sustancias.

Tabla 1. Datos de RMN ^{13}C (CDCl_3) para las sustancias 28, 29 y 30.
(las asignaciones con letras para los carbonos, se muestran en las fórmulas)

Posición	28	29	30	Posición	28	29	30	Posición	28	29	30
	CH ₂	CH ₂	CH ₂		CH	CH	CH		C	C	C
a	63.2	61.5	61.0	e	76.0	75.6	68.8	k	101.5	99.5	100.0
b	64.3	62.5	62.7	f	76.4	76.0	69.8	l	103.8	101.4	104.3
c	64.6	62.8	64.2	g	77.7	77.6	70.2				
d	65.3	64.6	64.5	h	78.9	78.6	75.0				
				i	80.1	79.5	77.2				
				j	80.3	81.0	81.9				



29



30

Tabla 2. Correspondencia de las letras que describen a los carbonos, con los números.

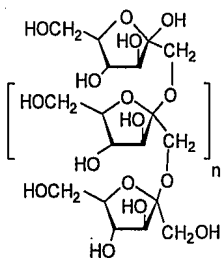
29

30

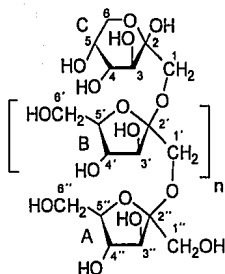
a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l
6	1	6	1	5	4	3	5	4	3	2	2		1	6	1	6	3	5	4	6	3	5	2	2

La comparación de los desplazamientos químicos de los seis metinos de 29 (δ 75.6, 76.0, 77.6, 78.6, 79.5, 81.0) con respecto a los de 28 (δ 76.0, 76.4, 77.7, 78.9, 80.1, 80.3), dan evidencia de su notable similitud, lo cual apoya la presencia de los anillos de furanosa, como esta propuesto en la estructura 28. Por otro lado, los desplazamientos químicos de los carbonos cuaternarios de 30 (δ 100.0 y 104.3), son bastantes similares a los análogos del producto acetilado obtenido de *E. mexicana* (δ 101.5 y 103.8), lo cual puede argumentarse a favor de la estructura 28.

Los datos informados en la referencia [20] para los trisacáridos 31 y 32, derivados de la hidrólisis enzimática de inulina, permiten realizar comparaciones adicionales, las cuales se describen a continuación:



31



32

Tabla 3. Datos de RMN ^{13}C para **31** y **32** (CDCl_3).

Anillo	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
β -D-Fruf A	61.1	104.4	77.6	74.9	81.9	63.0
β -D-Fruf B	61.2	103.7	78.5	75.1	81.6	63.0
β -D-Frup C	64.2	98.5	68.9	69.8	70.2	62.6
β -D-Fruf C	62.7	104.6	75.0	75.2	82.0	62.9

Nuevamente, los desplazamientos químicos de los carbonos anoméricos C-2 y C-2' de **31**, correspondientes a la fructofuranosa (δ 104.6, 104.4 y 103.7), son muy similares a los asignados para la estructura **28** (δ 103.8 y 101.5), no así los mismos carbonos en la estructura **32** ya que C-2 de la fructopiranososa tiene un desplazamiento diferente (98.5 ppm), lo cual proporciona una evidencia adicional para la estructura propuesta (**28**).

La integración de los datos discutidos anteriormente permite proponer a la estructura **28** como el acetil derivado del producto natural presente en *Eragrostis mexicana*. Este producto natural correspondería a O- β -D-fructofuranosil (2 \rightarrow 1)- β -D-fructofuranosa, que es precisamente un fragmento del polisacárido denominado inulina.

Existen reportados en la literatura algunos fragmentos de inulina, pero como productos de hidrólisis enzimática [22]. El análisis del procedimiento experimental realizado para la obtención de **28** no permite descartar la posibilidad de una hidrólisis ácida de la inulina, durante el proceso de aislamiento y derivatización; específicamente durante la acetilación [21] (probablemente el anhídrido acético contenía cantidades importantes de ácido acético, y por otro lado, la cantidad de piridina presente no permitió la neutralización del ácido). Estas observaciones permiten sugerir la realización de experimentos adicionales que permitan verificar la existencia de **28** como el acetil derivado de un artefacto, en este caso, como un fragmento de la inulina, o bien, se trata del acetil derivado del producto natural.

De la misma columna eluyó otro componente con un pf 70-75.°C. En el espectro de RMN ^{13}C (espectro 15) de esta substancia se observa que tiene 3 metilenos, los cuales resuenan en δ 61.5, 62.7, 63.5.

También se observan señales para 8 metinos, que se encuentran desplazados en δ 68.0, 68.3, 69.4, 70.1, 74.8, 75.5, 78.9, 89.7. También se observó una sola señal para carbono anomérico cuaternario, en δ 103.89 ppm. Además de las señales en δ 20.4 para metilos y entre δ 169 y 171 se observan las señales para los carbonilos de los acetatos.

Los datos descritos coinciden para los informados en la literatura para la sacarosa per-acetilada (33), [24, 25]. La comparación directa con una muestra auténtica permitió confirmar la identidad de esta substancia.

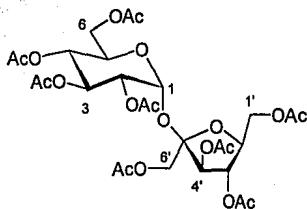
En las tablas 4 y 5 se muestran los datos de RMN ^{13}C y 1H , respectivamente, para este compuesto, en comparación con el compuesto obtenido en el presente estudio.

Tabla 4 Datos de RMN ^{13}C de per-acetil-sacarosa (33).

Carbono	RMN ^{13}C Referencia[24] Sacarosa peracetilada (33)	RMN ^{13}C Compuesto aislado (espectro 15)
Posición	Desplazamiento (ppm)	Desplazamiento (ppm)
b	61.9	61.5
c	62.9	62.7
d	63.6	63.5
e	68.3	68.0
f	68.6	68.3
g	69.7	69.4
h	70.4	70.1
i	75.2	74.8
j	75.9	75.5
k	79.3	78.9
l	90.1	89.7
m	104.1	103.9

Tabla 5. Datos de RMN ^1H de sacarosa peracetilada (33).

Para <i>Eragrostis mexicana</i> (CDCl_3 , 200 MHz, espectro 16), δ (ppm)	Referencia 25 (D_2O , 400 MHz), δ (ppm). Sacarosa peracetilada
5.69 (d, 1 H, $J=3.7$ Hz)	5.45 (d, 1 H, $J= 3.9$ Hz)
	4.25 (d, 1 H, $J= 8.7$ Hz)
5.08 (dd, 1 H, $J= 9.8, 9.8$ Hz)	4.10 (app t, 1 H, $J= 8.7$ Hz)
4.10-4.35 (m, 8 H)	3.92-3.80 (m, 7 H)
5.42 (m, 3 H)	3.73 (s, 2 H)
4.87 (dd, 1 H, $J= 3.7, 10.0$ Hz)	3.60 (dd, 1 H, $J= 3.9, 10.0$ Hz)
	3.50 (app t, 1 H, $J= 9.2$ Hz)



peracetil sacarosa. 33

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Resumen y conclusiones.

En relación a un proyecto de investigación tendiente al conocer la composición química de ciertas malezas de nuestro país, y sus implicaciones ecológicas, se procedió a la colección y análisis de las partes aéreas de la planta *Eragrostis mexicana* (Gramineae), un vegetal arvense ampliamente distribuido en nuestro país, que invade diversos cultivos de importancia económica. La obtención de extractos selectivos, y su fraccionamiento por técnicas cromatográficas permitió el aislamiento de hidrocarburos, ácidos grasos, un esteroide, una flavona y varios carbohidratos, los cuales fueron caracterizados químicamente por métodos químicos, espectroscópicos, espectrométricos y cristalográficos.

Del extracto de acetato de etilo se obtuvieron las siguientes sustancias: isopentacosano (18), isoheptacosano (19), un isómero de nonacosano (20), 2-metiltriacontano (21), tridecanoato de metilo (22), ácido hexadecanoico (23), un triacil glicerol (24), eneicosano (25), β -sitosterol (10), tricina (16). Del extracto etanólico se obtuvieron: D-arabinitol (26), D-manitol (27), un posible fragmento de inulina (O- β -D-fructofuranosil (2-1)- β -D fructofuranosa, 28) y sacarosa (33).

Cabe señalar, que los rendimientos de las sustancias aisladas son relativamente bajos con respecto al peso seco de la planta. El aislamiento del flavonoide tricina (16) representó un reto experimental, ya que se encuentra en baja proporción en el vegetal, y para su purificación fué necesario eliminar los lípidos que tenían un r_f similar al de la tricina (16), en diversas mezclas eluyentes. Aunque los lípidos son los constituyentes mayoritarios en las gramíneas, [4, 5, 6, 8 y 9], en esta ocasión se empleó la metodología convencional debido al interés de purificar y caracterizar químicamente el mayor número de sustancias presentes en el vegetal con el fin de obtener estándares que posteriormente sean utilizados en técnicas de cromatografía de líquidos, o bien, cromatografía de gases para el análisis químico comparativo con otras malezas.

Los constituyentes químicos de *E. mexicana* no son diferentes a los informados previamente como constituyentes de otras especies del género, salvo los azúcares aquí informados, y que se encuentran en otras especies de plantas. La elucidación estructural de los carbohidratos no fué trivial; debido a la complejidad interpretativa en RMN 1H , y que a pesar de la separación de señales a 200 MHz, esta frecuencia no pudo evitar que aún se superpusieran algunas señales, dificultando la asignación de las mismas.

El objetivo general del presente proyecto de investigación fué alcanzado; ya que se realizó el análisis químico de esta especie, la cual no había sido estudiada previamente, generando resultados que contribuyen al conocimiento de la composición química de la vegetación. En relación a los objetivos particulares, se obtuvieron las sustancias puras, las cuales servirán de referencias para un posterior análisis comparativo de las semillas de *Eragrostis mexicana*.

A continuación se hacen algunas observaciones sobre las sustancias aisladas:

a) El flavonoide tricina (16), debido a su naturaleza fenólica, presumiblemente es un agente que actúe en contra de los microorganismos (hongos y bacterias), es decir, puede considerarse que posee actividad antiséptica.

b) En el análisis realizado de *E. mexicana*, se observa que una abundancia relativa de los lípidos y los azúcares, los cuales presumiblemente no tienen un efecto nocivo contra depredadores del vegetal. Es deseable realizar el análisis cuantitativo comparativo tomando en consideración las variaciones ontogénicas del vegetal.

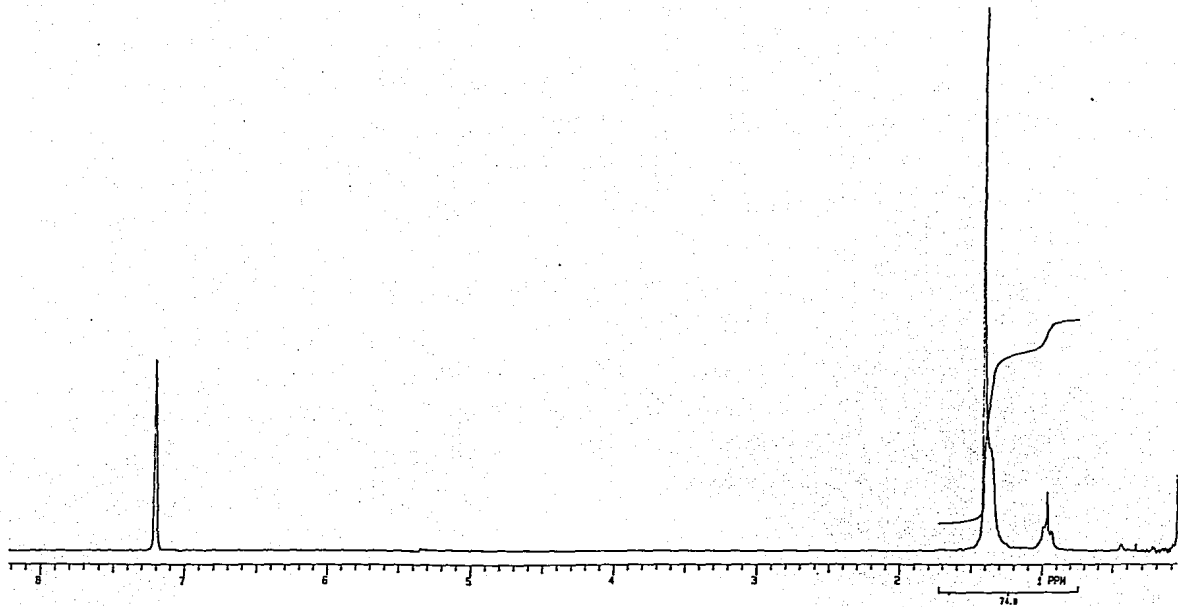
c) El conocimiento de las sustancias que biosintetiza *E. mexicana* puede coadyuvar a la ponderación de su empleo para la obtención de ciertas sustancias, como hidrocarburos, ácidos grasos, azúcares, entre otros, que ofrezcan fuentes alternas de obtención de estos productos [26].

d) Adicionalmente, en relación a los carbohidratos presentes en *E. mexicana* (O- β -D-fructofuranosil-(2 \rightarrow 1)- β -D-fructofuranosa, sacarosa, D-manitol y D-arabinitol), es conveniente mencionar que existe un renovado interés sobre este tipo de metabolitos secundarios, debido a que recientemente se ha reconocido su variada e importante actividad biológica, en particular, ciertos azúcares son ahora considerados de importancia en la industria farmacéutica. Tal es el caso de los aminoglicósidos como la doxorubicina, que se ha encontrado es una sustancia efectiva contra una amplia variedad de tumores y leucemias.[27].

Finalmente, es importante destacar que el presente trabajo puede considerarse como un primer paso tendiente al entendimiento de diversas interacciones de notable complejidad que se manifiestan en la naturaleza, en particular, las interacciones entre los vegetales e insectos, en las cuales los metabolitos secundarios desempeñan un papel protagónico. Los resultados de la presente investigación servirán de base para el diseño de experimentos tendientes a dilucidar estos fenómenos [28].

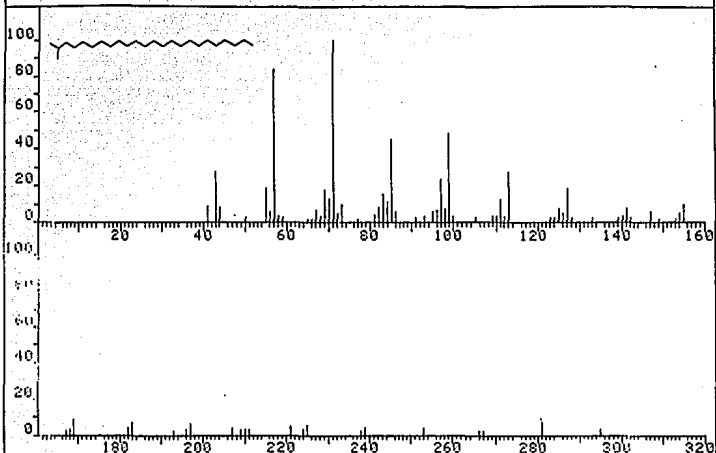
Es evidente que mediante la comprensión de estas interacciones podremos ser mejores habitantes de nuestro planeta, aprovechando racionalmente los recursos naturales que nos provee, conservando la biodiversidad y evitando alterar el delicado equilibrio ecológico.

ESPECTROS

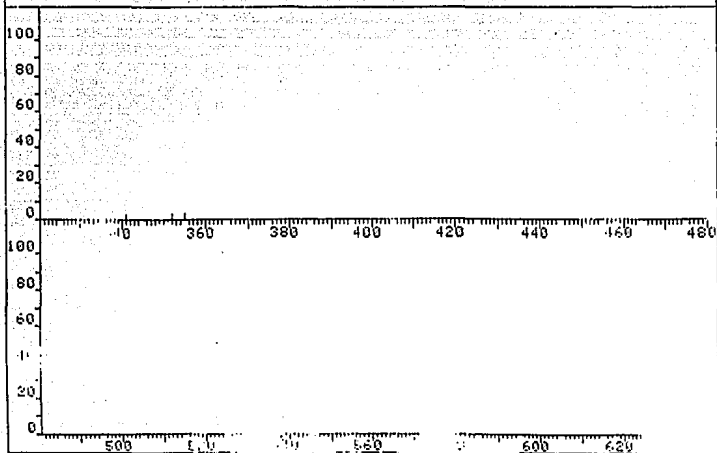


Espectro 1. RMN ^1H (200 MHz) de mezcla de hidrocarburos.

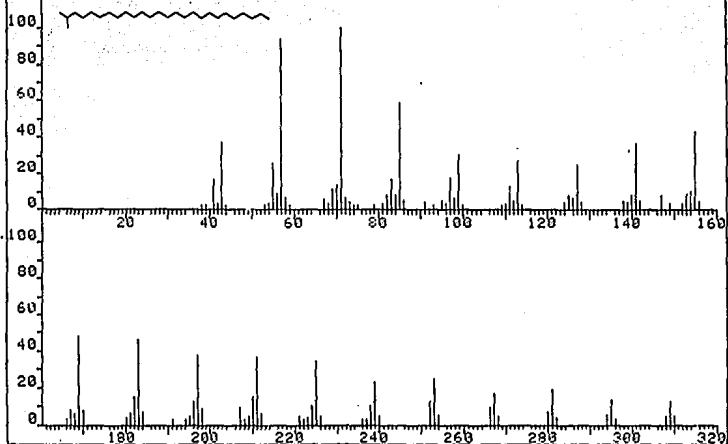
FRII 9740	SPECTRUM 142	RETENTION TIME 7.6
LARGST 4: 71.2, 100.0	57.2, 84.0	99.2, 48.3 85.2, 44.8
LAST 4: 295.1, 3.4	341.0, 2.4	352.4, 3.4 355.1, 3.2
		PAGE 1 Y = 1.00



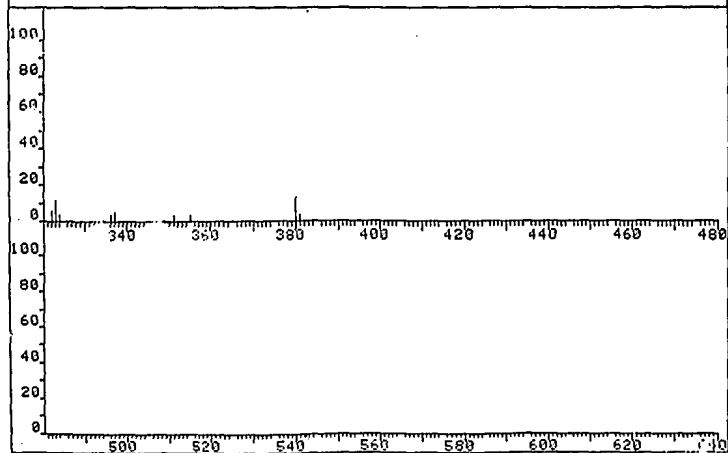
FRII 9740	SPECTRUM 142	RETENTION TIME 7.6
LARGST 4: 71.2, 100.0	57.2, 84.0	99.2, 48.3 85.2, 44.8
LAST 4: 295.1, 3.4	341.0, 2.4	352.4, 3.4 355.1, 3.2
		PAGE 2 Y = 1.00



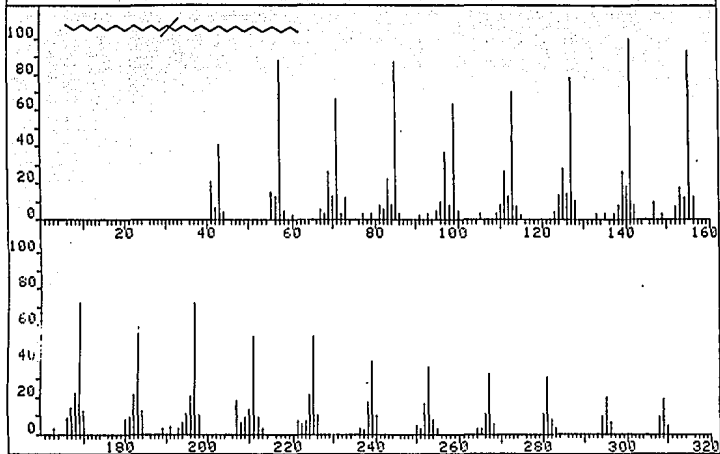
FRN 9740	SPECTRUM 171	RETENTION TIME 9.1
LARGST 4: 71.2, 100.0	57.2, 93.6	85.2, 58.7 169.2, 48.2
LAST 4: 351.3, 3.6	355.0, 3.6	380.4, 12.6 381.5, 3.3
		PAGE 1 Y = 1.00



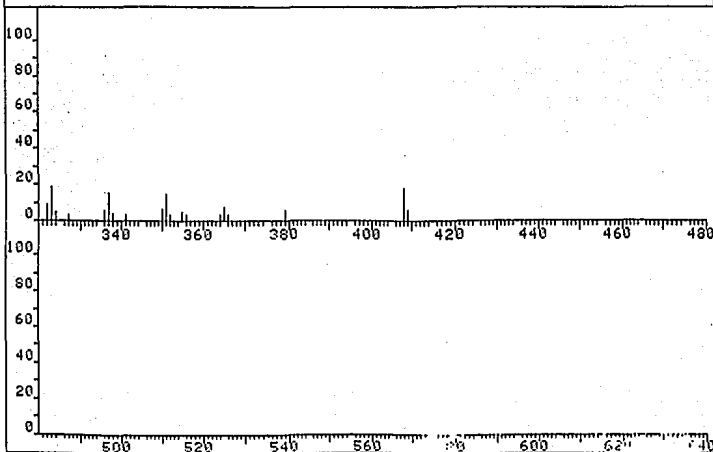
FRN 9740	SPECTRUM 171	RETENTION TIME 9.1
LARGST 4: 71.2, 100.0	57.2, 93.6	85.2, 58.7 169.2, 48.2
LAST 4: 351.3, 3.6	355.0, 3.6	380.4, 12.6 381.5, 3.3
		PAGE 2 Y = 1.00



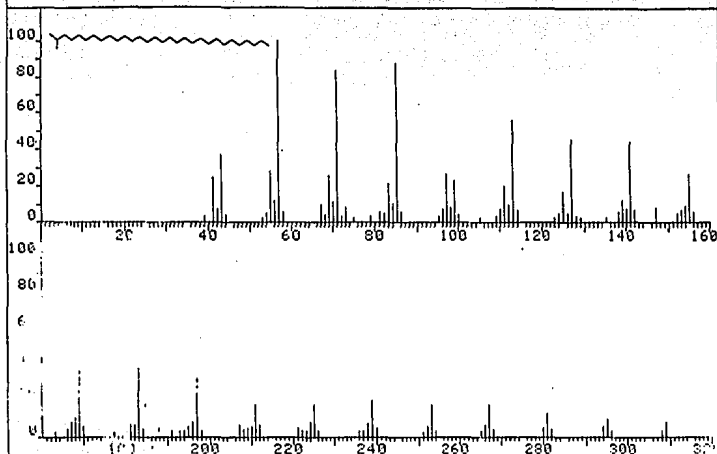
FRN 9740	SPECTRUM 200	RETENTION TIME 10.6
LARGST 4: 141.2, 100.0	155.2, 93.7	57.1, 87.8 85.2, 86.8
LAST 4: 366.4, 3.3	379.3, 5.6	408.4, 18.3 409.3, 6.1
		PAGE 1 Y = 1.00



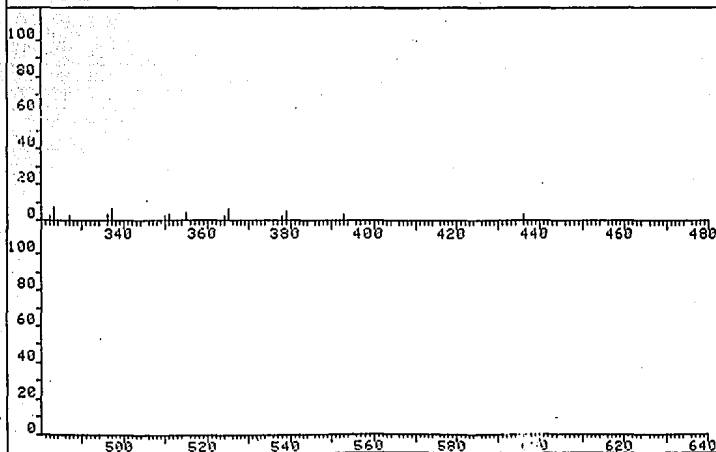
FRN 9740	SPECTRUM 200	RETENTION TIME 10.6
LARGST 4: 141.2, 100.0	155.2, 93.7	57.1, 87.8 85.2, 86.8
LAST 4: 366.4, 3.3	379.3, 5.6	408.4, 18.3 409.3, 6.1
		PAGE 2 Y = 1.00

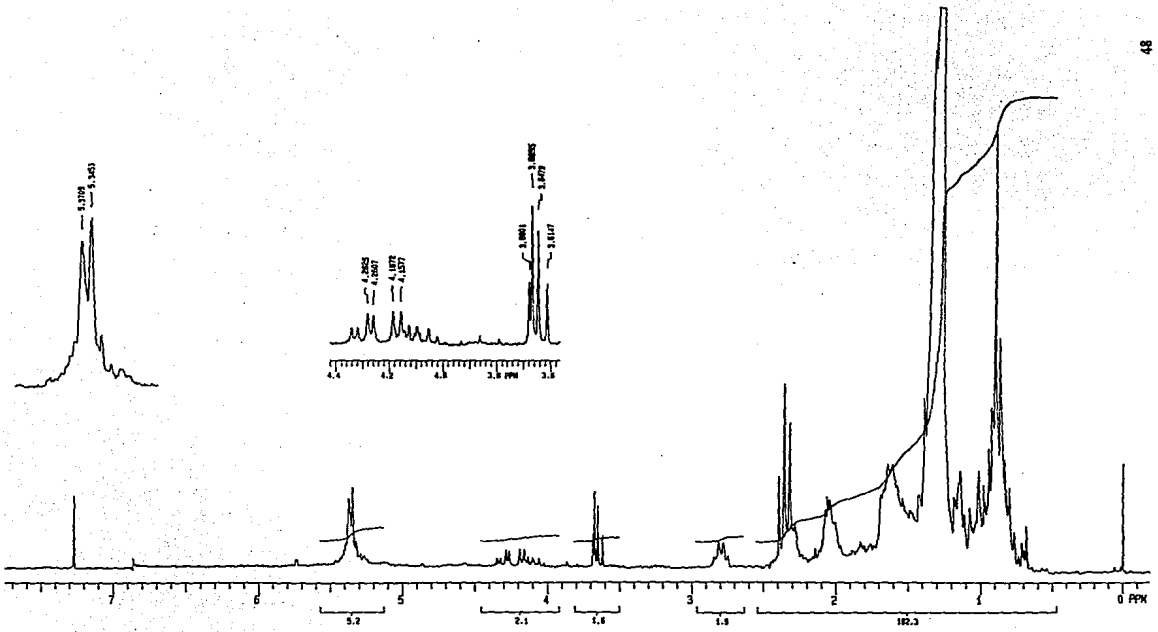


FRN 9740	SPECTRUM 241	RETENTION TIME 12.8
LARGST 4: 57.1, 100.0	85.2, 87.8	71.2, 84.0 113.1, 56.3
LAST 4: 378.5, 2.1	379.5, 4.9	393.4, 3.0 436.5, 3.8
PAGE 1 Y = 1.00		

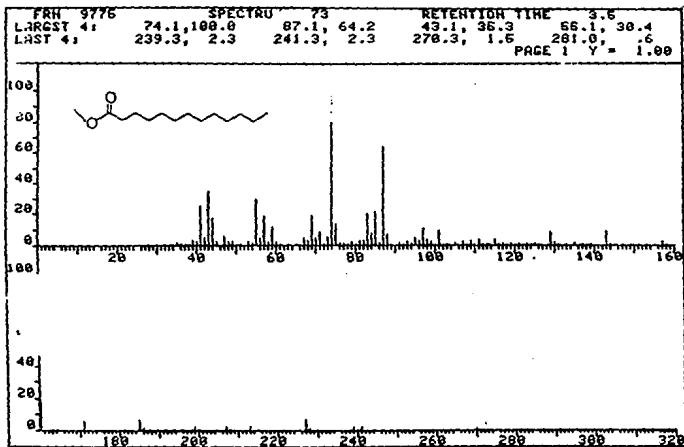


FRN 9740	SPECTRUM 241	RETENTION TIME 12.8
LARGST 4: 57.1, 100.0	85.2, 87.8	71.2, 84.0 113.1, 56.3
LAST 4: 378.5, 2.1	379.5, 4.9	393.4, 3.0 436.5, 3.8
PAGE 2 Y = 1.00		

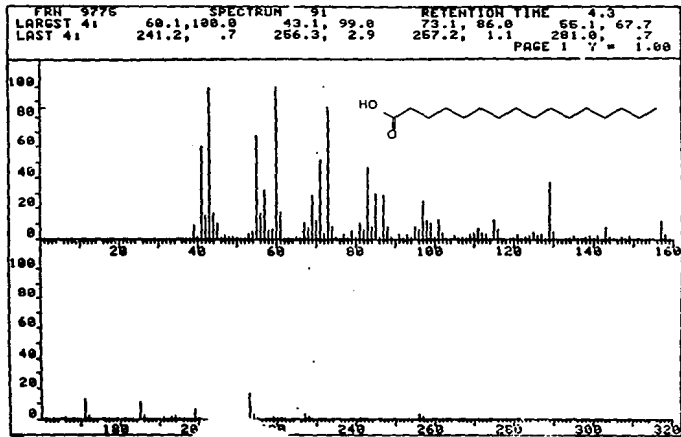




Espectro 6 RMN ^1H (200 MHz) de mezcla de ésteres de ácidos grasos.

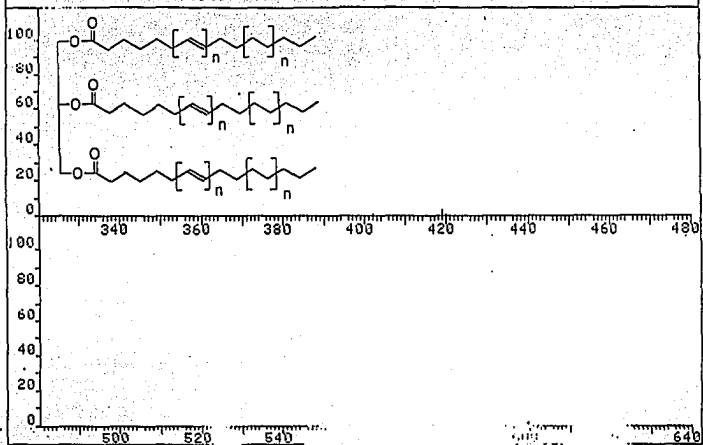


Espectro 7 EM (70 eV, impacto electrónico) de tridecanoato de metilo (22)

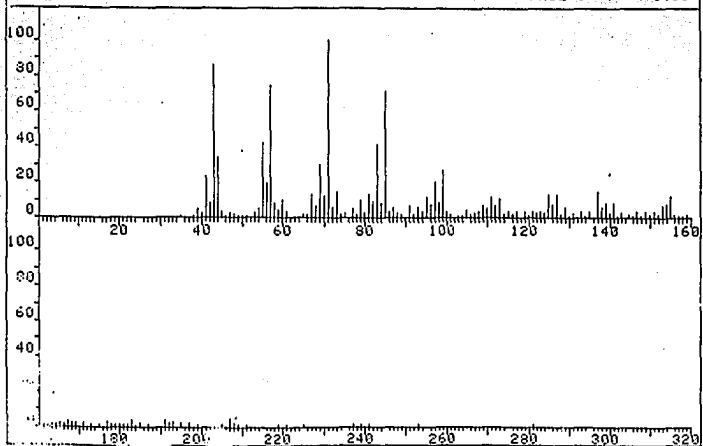


Espectro 8 EM (70 eV, impacto electrónico) de ácido hexadecanoico (23)

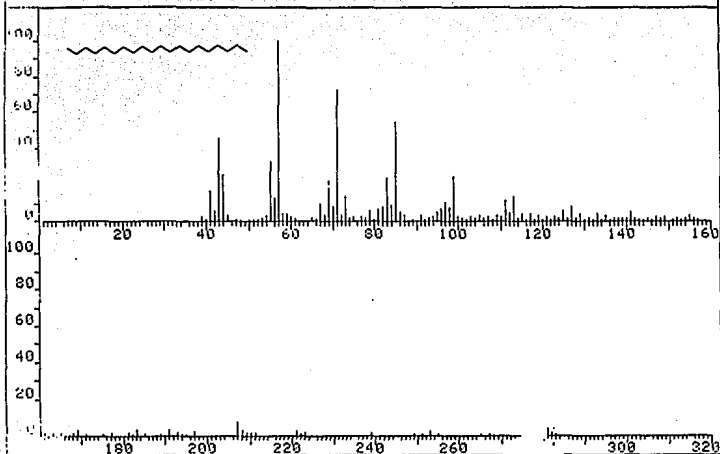
FRN 9775	SPECTRUM 168		RETENTION TIME 7.9	
LARGST 4: 71.2, 100.0	43.1, 86.0	57.1, 73.8	85.2, 70.7	
LAST 4: 281.1, 1.5	402.4, 1.2	419.3, 3.2	420.3, 1.0	PAGE 2 Y = 1.00



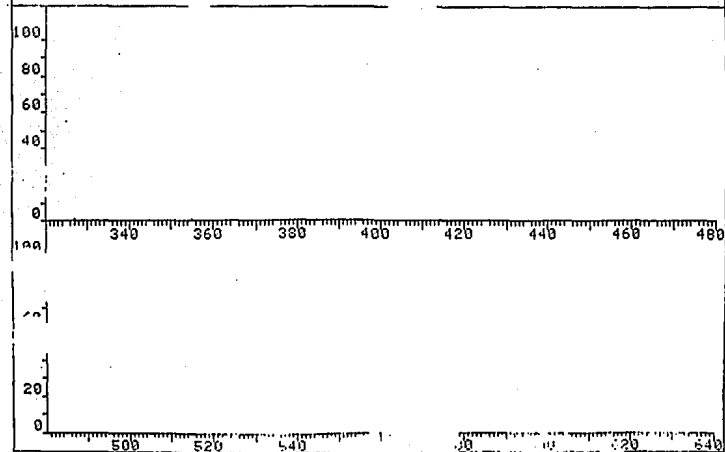
FRN 9775	SPECTRUM 168		RETENTION TIME 7.9	
LARGST 4: 71.2, 100.0	43.1, 86.0	57.1, 73.8	85.2, 70.7	
LAST 4: 281.1, 1.5	402.4, 1.2	419.3, 3.2	420.3, 1.0	PAGE 1 Y = 1.00

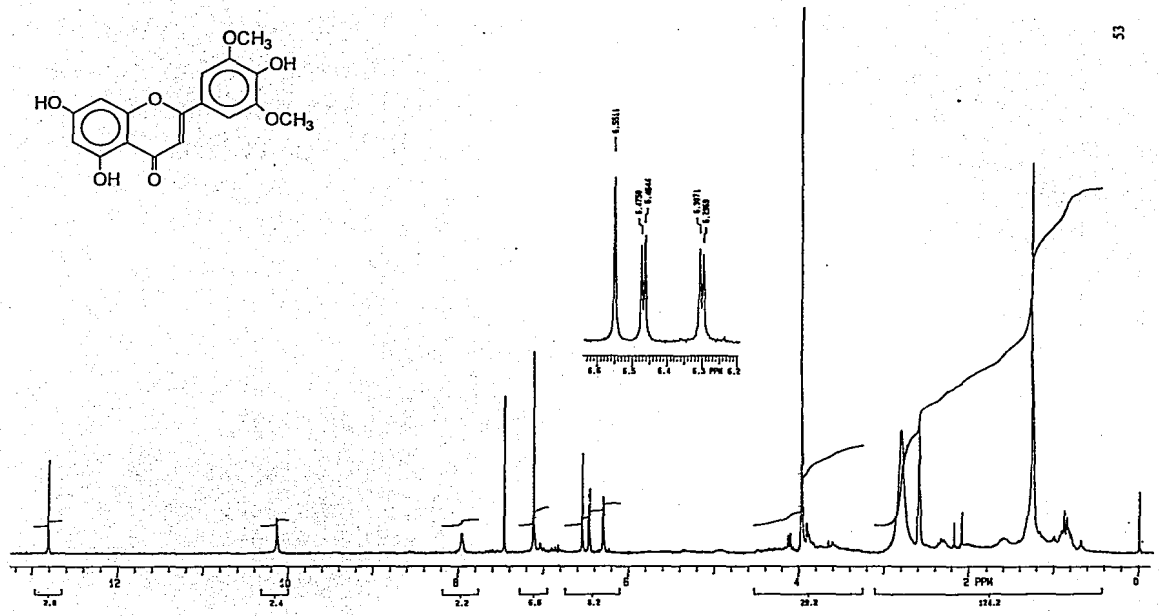
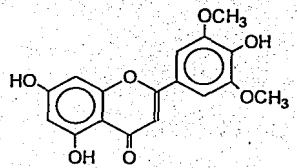


FRN 9775	SPECTRUM 269		RETENTION TIME 12.6	
LARGST 4:	57.1, 100.0	71.2, 72.3	85.2, 54.5	43.1, 45.8
LAST 4:	282.0, 1.0	283.1, .8	327.0, .7	355.1, .9
				PAGE 1 Y = 1.00

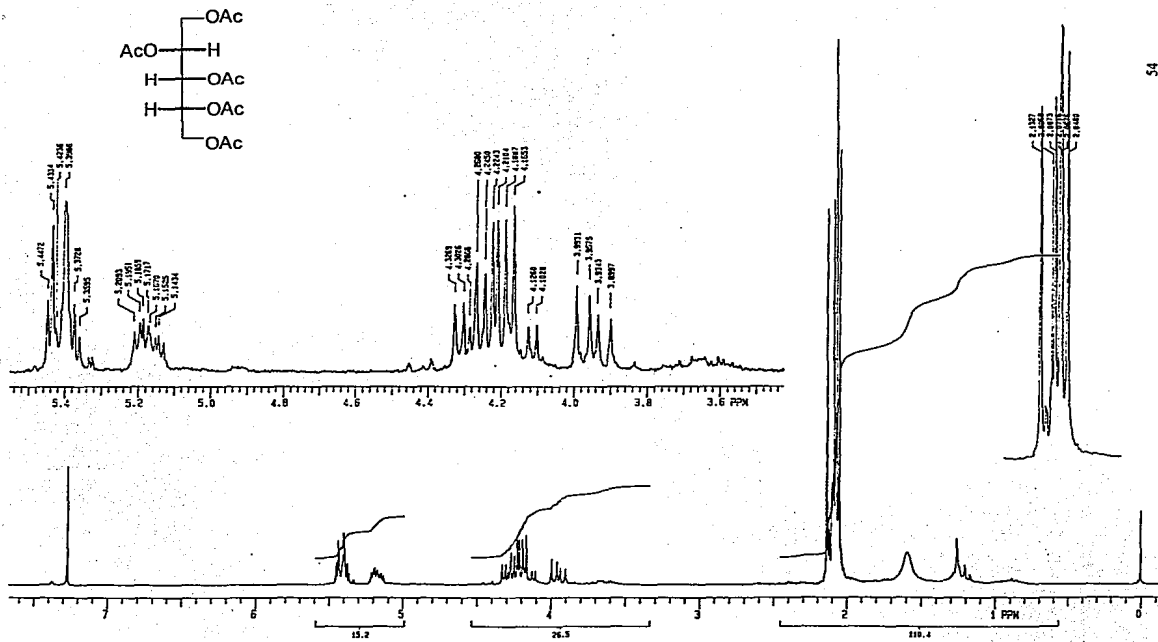


FRN 9775	SPECTRUM 269		RETENTION TIME 12.6	
LARGST 4:	57.1, 100.0	71.2, 72.3	85.2, 54.5	43.1, 45.8
LAST 4:	282.0, 1.0	283.1, .8	327.0, .7	355.1, .9
				PAGE 2 Y = 1.00

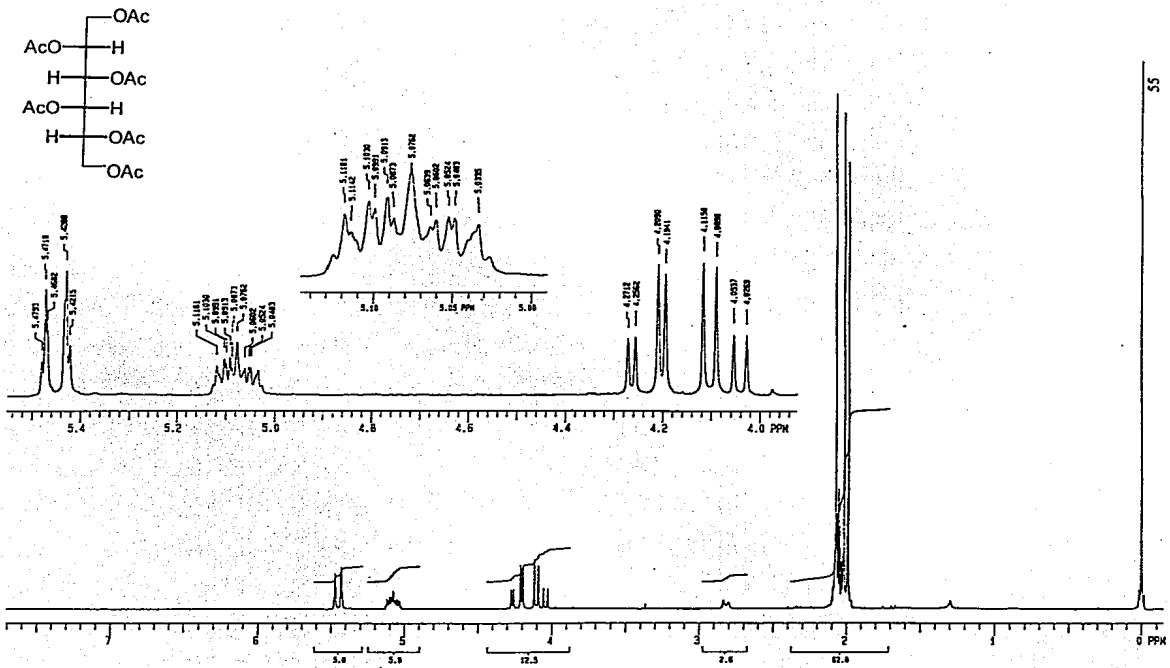




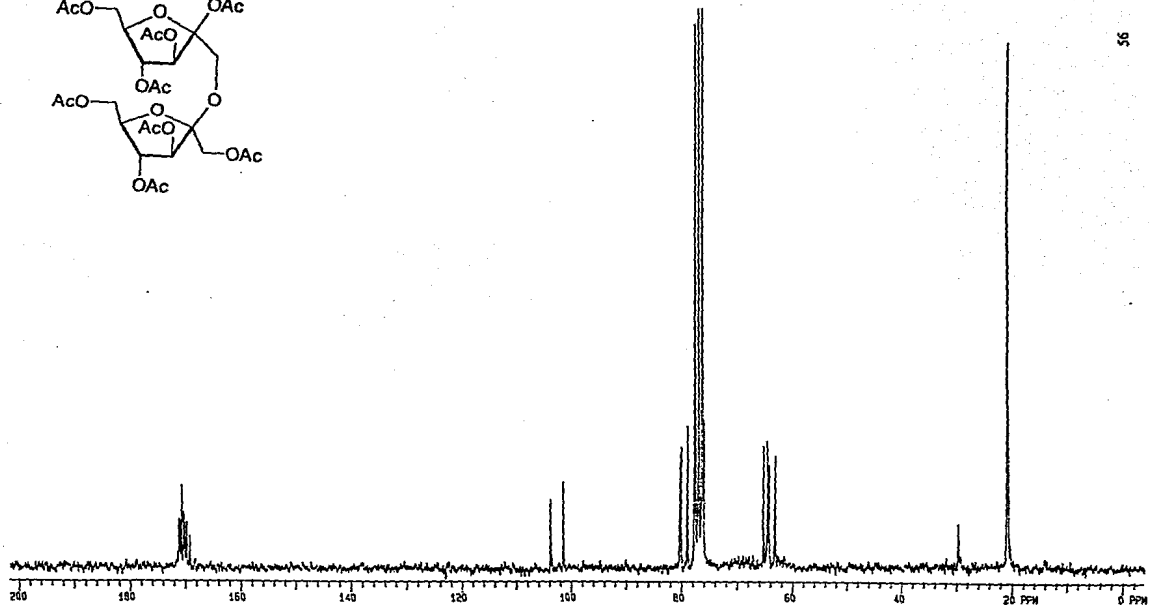
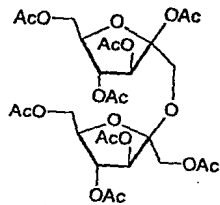
Espectro 11 RMN ¹H (200 MHz) de tricina (16)



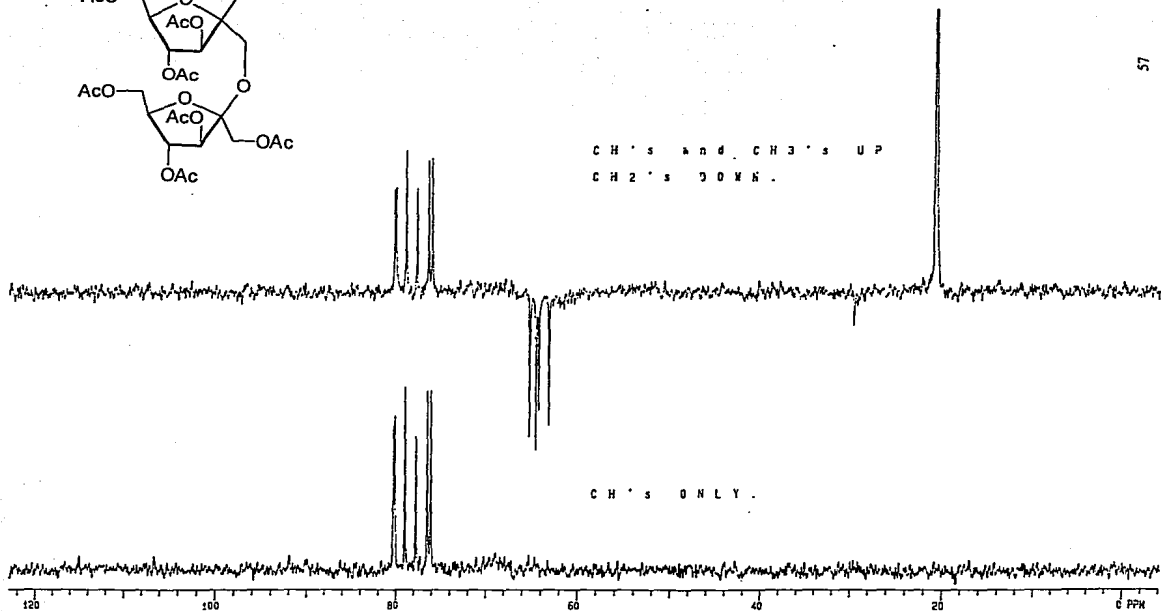
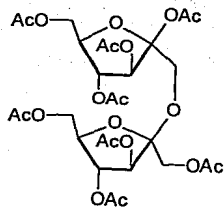
Espetro 12 RMN ^1H (200 MHz) de hexaacetil arabinitol (26).



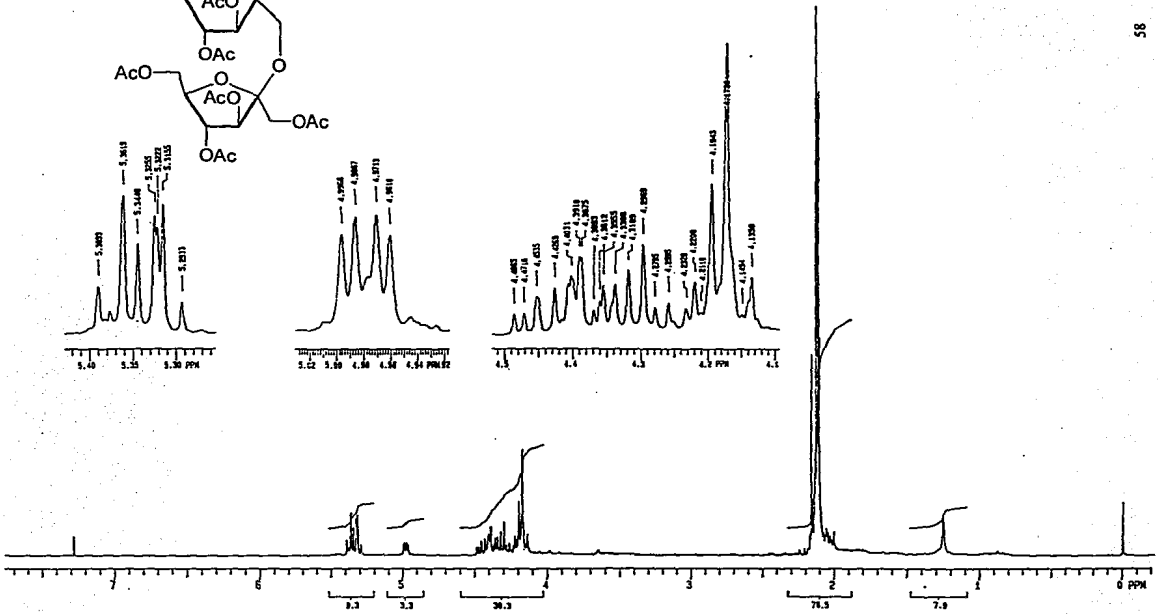
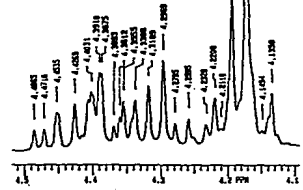
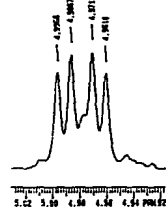
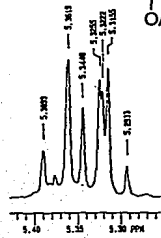
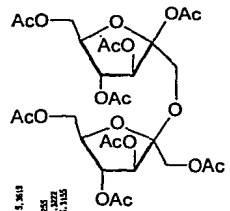
Spectro 13 RMN ¹H (200 MHz) de hexaacetil manitol (27).



Espectro 14 RMN ^{13}C (200 MHz) de O-β-D-fructofuranosil (2→1)-β-D-fructofuranosa peracetilado (28).

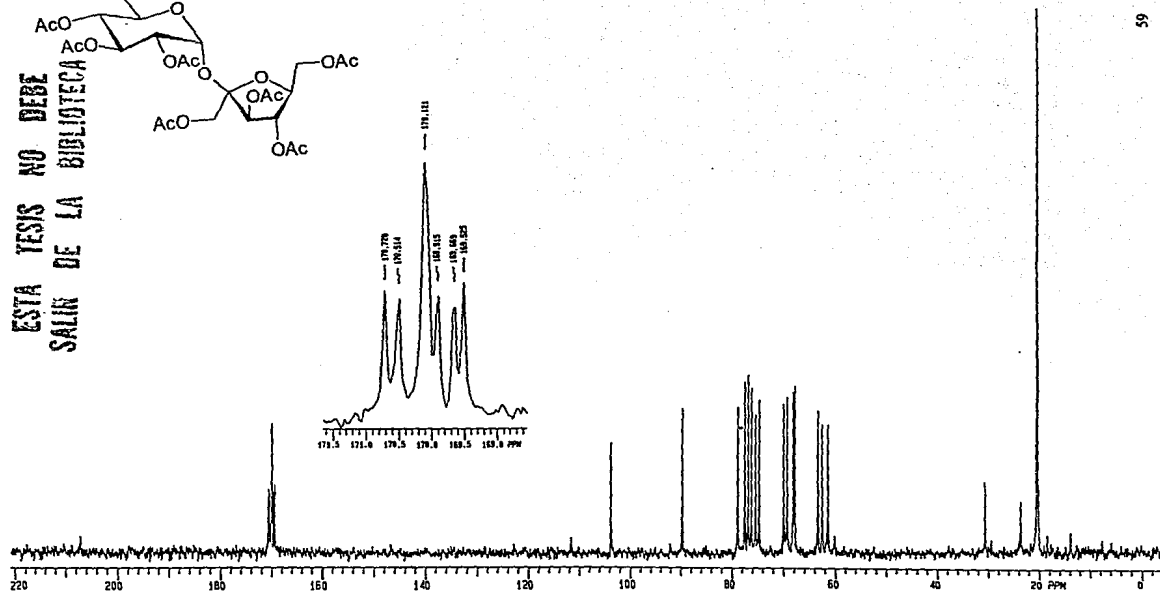
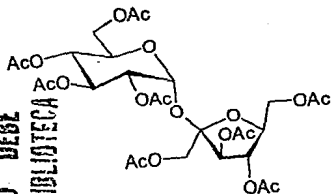


Espectro 14-A RMN ^{13}C DEPT (200 MHz) de O- β -D-fructofuranosil (2 \rightarrow 1)- β -D-fructofuranosa peracetilato (28).

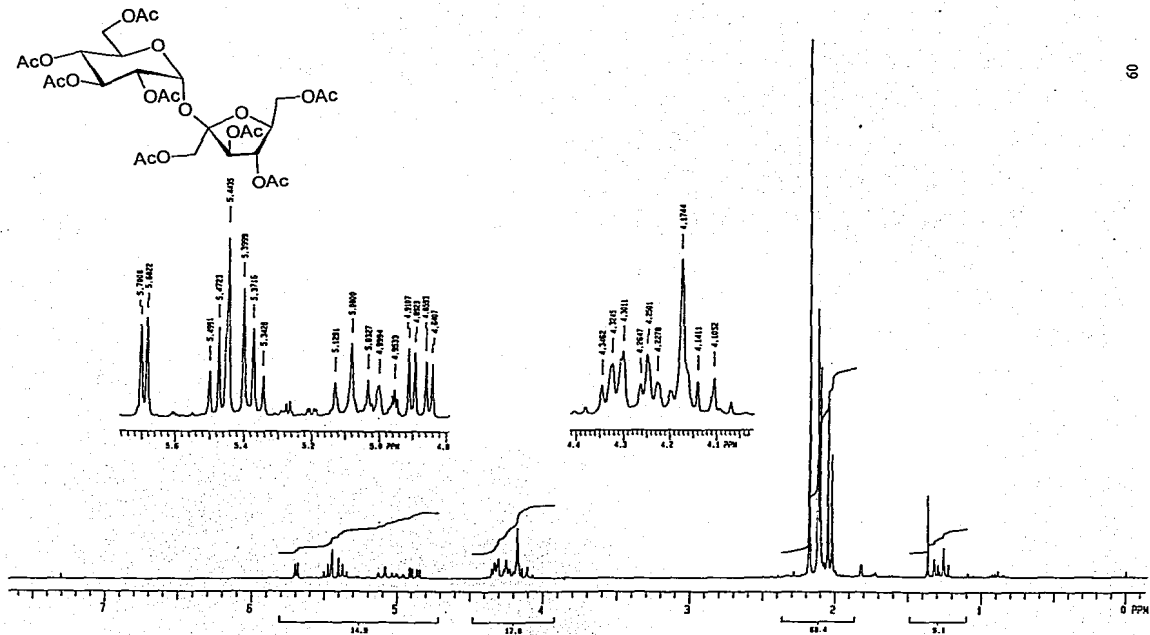


Espectro 14-B RMN ¹H (200 MHZ) de O-β-D-fructofuranosil (2→1)-β-D-fructofuranosa peracetilado (28).

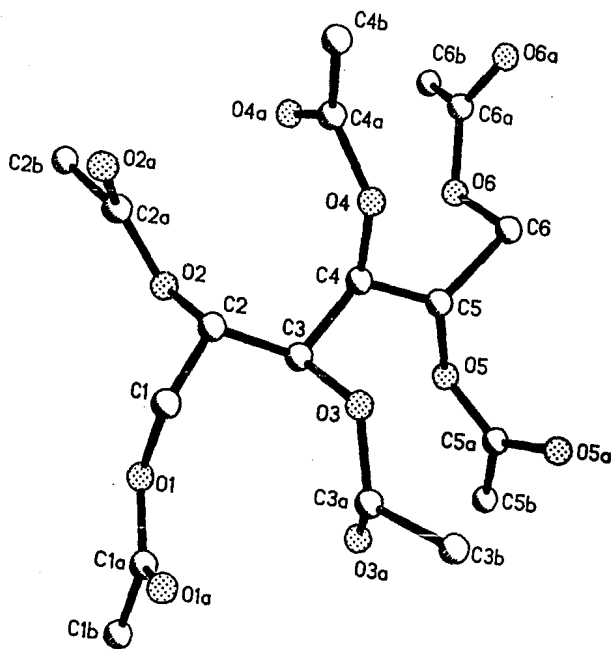
ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA



Espectro 15 RMN ^{13}C (200 MHz) de sacarosa peracetilada (33)



Espectro 16 RMN ^1H (200 MHz) de sacarosa peracetilada (33)



Hexaacetil manitol.

FIGURA J

BIBLIOGRAFIA

Bibliografía.

- [1].- J. B. Harborne, Introduction to Ecological Biochemistry, 3rd Edition, Academic Press 1988.
- [2].- Catálogo de especies vegetales consideradas maleza: 1a edición, ASOCIACION MEXICANA DE LA CIENCIA DE LA MALEZA, A.C., México. D.F., Nov/91.
- [3].- Las Gramíneas de México, Tomo III, SARH, COTECOCA 1991.
- [4].- A. P. Tulloch; Epicuticular Wax of *Eragrostis curvula*, *Phytochemistry* 21, 661-664, (1982).
- [5].- T. Ohomoto and M. Ikuse; Triterpenoids of the Gramineae, *Phytochemistry* 9, 2137-2148 (1970).
- [6].- A. P. Tulloch; Epicuticular Waxes of Four *Eragrostoid* grasses, *Phytochemistry* 23, 1619-1623 (1984).
- [7].- S. B. Jones, Sistemática Vegetal, McGraw Hill, 2^a edición, México, 1988.
- [8].- N. B. Bernard and M. W. Paul; Sterols in Grass Seeds, *Phytochemistry* 10, 3135-3137, (1971).
- [9].- K. Nishiya, et al; Diterpenoids from *Eragrostis ferruginea*, *Phytochemistry* 30, 2410-2411 (1991).
- [10].- K. Makoto and S. Noboru; Identification of Flavone Compounds in Eighteen *Gramineae* species, *Agr. Biol. Chem.* 37, 2663-2665 (1973).
- [11].- B. P. Shaw, A. Sahu, and A. K. Panigrahy; Mercury in Plants, Soil, and Water from a Caustic Chlorine Industry, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 36, 299-305 (1986).
- [12].- S. G. Kock and A. Kistner, Extent of Solubilization of α -Cellulose and Hemicellulose of Low-Protein Teff Hay by Pure Cultures of Cellulolytic Rumen Bacteria; *J. Gen. Microbiol.* 55, 459-462 (1969).
- [13].- P. Font Quer; Diccionario de Botánica; Editorial Labor S. A., 1975.

[14].- A. I. Vogel, A Text Book of Practical Organic Chemistry, Longmans, Green and Co., 3rd edition, 453-454, 1956.

[15].- NIST / EPA / MSDC Mass Spectral Database, PC Version 3.0, 1990. National Institute of Standards and Technology.

[16].- T. J. Mabry, K. R. Markham and M. B. Thomas; The Systematic Identification of Flavonoids, pp. 105, Springer-Verlag, 1970.

[17].-R. Braz Filho, et al; Flavonoids from Amazonian Leguminosae, *Phytochemistry* **12**, 1184-1186, 1973.

[18].- S. J. Angyal, R. Le Fur and D. Gagnaire; Conformations of Acyclic Sugar Derivatives, *Carbohydrate Research* **23**, 121-134 (1972) .

[19].- Z. Stein, D. Green and I. Goldberg; Structure of Hexaacetyl-D-mannitol, *Acta Cryst.* **C48**, 1141-1143 (1992).

[20].- D. Jacques, G. Andree; The Behaviour of D- Fructose and Inulin Towards Anhydrous Hydrogen Fluoride, *Carbohydrate Research* **136**, 53-65(1985) .

[21].-W. W. Pigman and M. L. Wolfrom, Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry, Academic Press inc., 42, 203, 1984, Table VI.

[22].- A. De Bruyn, et al; Isolation and Identification of O-β-D-Fructofuranosyl-(2→1)-O-β-D-fructofuranosyl-(2→1)-D-Fructose, a Product of the Enzymic Hydrolysis of the Inulin from *Cichorium intybus*, *Carbohydrate Research* **235**, 303-308 (1992).

[23].- G. O. Aspinall and R. G. J. Telfer; Studies on Fructosans. Part VI. The Degradation of Fructosans in Aqueous Solution, *Journal of the Chemical Society*, 1106-1110 (1955)

[24].- The Sadtler Standard Spectra 1989, Carbon-13 NMR, 26964-C.

[25].- A. G. M. Barrett, et al; Redox Glycosidation: the Use of Nozaki-Takai Methylenylation in a Highly Stereoselective Synthesis of Sucrose, *Carbohydrate Research* **232**, 259-272 (1992).

[26].- H. Baumann, et al; Natural Fats and Oils. Renewable Raw Materials for the Chemical Industry, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 27, 41-62 (1988).

[27].- A. G. Holstein, D. B. Copey, Carbohydrates. Biopharmaceutical Applications (Review), *Chimica oggi*, january-february, 9-11, 1991.

[28].- G. Delgado. Organic Natural Products from Some Mexican Plants. *Trends in Organic Chemistry* 3, 129-140 (1992).