

23
24.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIO FITOQUIMICO COMPARATIVO DE
OCHO ESPECIES PERTENECIENTES A LA
FAMILIA CONVULVACEAE

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:

WALTER AMADEO BRANDI SALINAS



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO. D. F.



FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

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.

CIUDAD UNIVERSITARIA



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
División de Estudios
Profesionales
Exp. Núm. 55

M. EN C. VIRGINIA ABRIN BATULE
Jefe de la División de Estudios Profesionales
Universidad Nacional Autónoma de México.
P r e s e n t e .

Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo
revisado el trabajo de tesis que realizo el pasante de Biología
BRANDI SALINAS WALTER AMADEO
con número de cuenta 8652389-3 con el título: _____
ESTUDIO FITOQUIMICO COMPARATIVO DE OCHO ESPECIES PERTENECIENTES A LA
FAMILIA CONVULVACEAE

Consideramos que reúne los méritos necesarios para que pueda conti-
nuar el trámite de su Examen Profesional para obtener el título de -
Biólogo

GRADO NOMBRE Y APELLIDOS COMPLETOS

FIRMA

DRA. MARIA CRISTINA PEREZ AMADOR	
Director de Tesis	
QUIM. AIDA NELLY GARCIA ARGAEZ	
BIOL. JOSEFINA HERRERA SANTOYO	
DRA. PATRICIA GUEVARA FEFER	
Suplente	
BIOL. ALMA OLIVIA SANCHEZ GONZALEZ	
Suplente	

Ciudad Universitaria, D.F., a 13de junio

de 1994

FL, mostrándome a cada momento rectitud y entereza; **FLA**, balentía y coraje; **AMOS**, siendo siempre el viento bajo mis alas con las cuales puedo volar.
Dedico esta Tesis a **MIS PADRES**: Don Humberto Amades Brandy Chanón y Doña Elba Olga Salinas Castellanos.

Muchas veces con pleitos y malentendidos, pero cuando ha llegado el momento de estar unidos, nadie nos puede vencer.

Dedico esta Tesis a **MIS HERMANOS**: Humberto Erick, Hermann Giobanni, Marco Alessandro, y a Elba Marina.

A ti, donde quiera que te encuentres.

¡Cuántos berrinches y desveladas me has aguantado! (¡; y las que faltan !!) Pero ahí estás siempre.

Esta dedicatoria es para Silbia.

Año, ha estado conmigo estos últimos años soportándome (¡no sé cómo!) y apoyándome en todo; otro, a pesar de las distancias, sé que está echándome porras en todo lo que hago. Soy muy afortunado de poder contar con ellos.

Dedico esta Tesis a **MIS AMIGOS** Juan Conde Gómez y Ulises Toyola García.

P.D. No puedo dejar de mencionar a Emma Lirio y a Magdalena.

Desde que estamos juntos, hemos realizado un buen de berrinches, pero también hemos disfrutado de muchos gratos momentos. No imagino mi camino sin su senda corriendo junto a la mía.

Esta dedicatoria va dirigida a Laura Guadalupe Vazquez Bustos (ch. h.)

Y finalmente, y en especial, dedico el presente Trabajo de Tesis A **MÍ**, como una tajante demostración de que no importan las vicisitudes a las que uno se llegue a enfrentar en la vida; con decisión, entrega y coraje se logra lo que uno desea, y para nuestra basta un botón.

AGRADECIMIENTOS

Realmente, carezco de las palabras precisas para expresar lo que quisiera decir, pero ahí voy:

A la Dra. María Cristina Pérez Amador, por haberme abierto las puertas de su Laboratorio de Química y permitirme realizar tan importante trabajo bajo su valiosa asesoría y supervisión;

A la Quím. Aída Nelly García Argaez, quien siempre supo orientarme a lo largo de mi trabajo de tesis, respondiéndome a tantas dudas que tuve y salvándome de cometer una que otra "equivocación indeseable";

A la Biól. Josefina Herrera Santoyo, quien siempre estuvo dispuesta a auxiliarme cada vez que gritaba a los cinco vientos : ¿ qué sucede aquí ?

A la Dra. Patricia Guevara Fefer, por darme sus opiniones con respecto a este trabajo de tesis tan importante para mí;

A la Biól. Alma Olivia Sanchez González, quien además de ser una gran amiga, se ofreció gustosa a revisar mi trabajo de tesis.

A mis cuates Martín, Rocío, Lucy, Israel, Angelina, y en sí, a todos aquéllos que de una u otra forma intervinieron con el desarrollo de esta Tesis.

En verdad, muchísimas gracias por todo.

INTRODUCCION.....	1
OBJETIVOS.....	5
JUSTIFICACION.....	7
ANTECEDENTES.....	8
1. Generales.....	8
2. Particulares.....	9
2.1 Terpenos esteroides, flavonoides, glucósidos, y alcaloides.....	9
A.1 Terpenos.....	9
A.2 Esteroides.....	11
B. Flavonoides.....	11
C. Glucósidos.....	12
D. Alcaloides.....	12
2.2 Marcadores específicos.....	14
C. Glicorresinas.....	14
D. Glucósidos kauranoicos.....	15
E. Alcaloides.....	16
Ubicación taxonómica.....	20
MATERIAL Y METODOS.....	21
I) Obtención de extractos hexánicos y metanólicos.....	22
II) Pruebas coloridas y de precipitación.....	24
II.a) Pruebas cuyas reacciones generan color.....	24
i) Prueba de Lieberman-Burchard para terpenos y esteroides.....	24
ii) Prueba de Shinoda para flavonoides.....	25
iii) Prueba de Molisch para la caracterización de glucósidos.....	25
II.b) Pruebas mediante reacciones de precipitación.....	25
i) Pruebas para alcaloides.....	25
ii) Con reactivo de Dragendorff.....	26
III) Perfiles cromatográficos de los extractos hexánicos y metanólicos.....	26
IV) Perfiles cromatográficos específicos para grupos de metabolitos secundarios.....	27
a) Glicorresinas.....	27
b) Glucósidos kauranoicos.....	29
c) Alcaloides.....	29
RESULTADOS Y DISCUSION.....	31
I) Pesos y rendimientos de los extractos hexánicos y metanólicos.....	31
II) Pruebas coloridas y de precipitación.....	31
III) Perfiles cromatográficos de extractos hexánicos y metanólicos.....	40
IV) Perfiles cromatográficos específicos para grupos de metabolitos secundarios.....	43
a) Glicorresinas.....	43
b. Glucósidos kauranoicos.....	46
c. Alcaloides.....	46
CONCLUSIONES.....	50
LITERATURA CITADA.....	52

INTRODUCCION

En el organismo vivo (i.e. in vivo) los compuestos químicos son sintetizados y degradados por medio de una serie de reacciones químicas, cada una mediada por una enzima. Estos procesos son conocidos colectivamente como *metabolismo*, agrupando *catabolismo* (degradación) y *anabolismo* (síntesis). Todos los organismos poseen vías metabólicas semejantes por las cuales sintetizan y emplean ciertas especies químicas esenciales: azúcares, aminoácidos, ácidos grasos comunes, ácidos nucleicos, y los polímeros derivados de ellos (polisacáridos, proteínas, lípidos, RNA, y DNA, etc.) Esto es *metabolismo primario*, y tales compuestos esenciales para la sobrevivencia y bienestar del organismo son *metabolitos primarios* (Mann, 1979).

La mayoría de los organismos también utilizan otras vías metabólicas, produciendo compuestos que usualmente no tienen utilidad aparente: estos son los *productos naturales*. Son *metabolitos secundarios*, y las vías de síntesis y uso constituyen el *metabolismo secundario*.

Los dos tipos de metabolismo están interconectados si consideramos al metabolismo secundario como una especialización del metabolismo primario para la elaboración de compuestos particulares.

El término 'producto natural' está comúnmente reservado a aquellos compuestos orgánicos de origen natural que son únicos de un organismo, o común a un pequeño número de organismos estrechamente relacionados. En la mayor parte de los casos, parecen no ser esenciales al organismo que los produce, en marcado contraste con otros compuestos orgánicos en la Naturaleza tales como azúcares, aminoácidos, ácidos nucleicos, y otros polímeros derivados de ellos, los cuales son tanto esenciales como ampliamente presentes.

El hombre ha empleado productos naturales, si bien como extractos crudos, desde sus primeros días, al encontrar que dichos extractos eran efectivos como medicinas, venenos y alucinógenos. Muchos de tales productos naturales aún son empleados actualmente, en general para los mismos fines.

Las características del metabolismo secundario emergieron paso a paso durante el desarrollo de la Química, Bioquímica, y Biología, comenzando a finales del siglo XVIII (Luckner, 1990). Entre 1769 y 1785, Scheele aisló los primeros productos naturales puros incluyendo compuestos secundarios, como los ácidos tartárico, oxálico, benzoico, gálico y úrico. En 1805 se aisló la morfina, y entre 1817 y 1820 se obtuvieron los primeros alcaloides en estado puro, incluyendo estricnina, brucina, quinina, cinchonina, emetina, piperina y cafeína, acuñando Meissner, en 1818, el término colectivo "alcaloides" para este grupo de productos secundarios. En 1843 Liebig ya conocía 2 000 productos primarios y secundarios y en el siguiente siglo el aislamiento, caracterización y síntesis de sustancias orgánicas derivadas de fuentes naturales fue uno de los objetivos más importantes en la Química Orgánica.

Con el desarrollo de la Bioquímica, se hizo obvio que solo algunos de los productos presentándose en la naturaleza son de primordial importancia en el mantenimiento de la vida. Se ha mostrado que su presencia es amplia y prácticamente universal. En contraste, otras sustancias solo tenían una distribución restringida y aparentemente eran características de ciertos organismos.

En general, hasta mediados del siglo XIX se aislaron más de veinte principios activos incluyendo morfina, quinina, cafeína, nicotina, codeína, y cocaína. Sin embargo, no fueron posibles análisis adecuados sino hasta 1935, e incluso entonces era raramente posible hacer algo más que presentar fórmulas moleculares y describir las reacciones características de los compuestos. Muchas de tales reacciones eran nuevas, a las que siguieron nuevas ideas de estructura molecular y reactividad.

En 1891, Kossel, un fisiólogo vegetal, aplicó por primera vez la designación "secundario" a estos constituyentes únicos. Posteriormente, en 1921, el término "secundario" fue adoptado por Czapek. Al inicio de la investigación de productos naturales, la formación de compuestos secundarios se asumió que era un monopolio de plantas superiores, pero el desarrollo de la Bioquímica llevó a la detección de productos secundarios también en cultivos microbianos y en animales.

En 1912, Trier hizo las primeras especulaciones sobre la biosíntesis de productos secundarios. Estas fueron sustanciadas en los siguientes años por la síntesis de productos secundarios bajo "condiciones fisiológicas" (temperatura ambiente, pH neutro, etc.) Estos experimentos, así como la comparación de estructuras químicas permitieron la formulación de reglas para la biosíntesis, i.e., de alcaloides (Robinson, 1955), isoprenoides (Ruzicka, 1959) y policétidos (Birch, 1962). En la segunda mitad de este siglo estas ideas fueron confirmadas por experimentos con precursores isotópicamente marcados y el empleo de preparaciones enzimáticas. Actualmente proveen la base para el arreglo de casi todos los productos secundarios conocidos, en grupos biogénicamente relacionados (Luckner, 1990).

Hasta mediados de este siglo se desconocían las funciones de estos metabolitos, por lo que la "ausencia de significado" fue generalmente aceptada como una característica principal del metabolismo secundario y productos metabólicos secundarios. En los setenta, se hizo obvio que el metabolismo secundario es una característica de especialización celular y que su expresión durante ciertas fases del desarrollo de los organismos productores se debe a una expresión genética diferencial. Este punto de vista permitió por primera vez la definición de metabolismo secundario en términos de biología molecular.

En los últimos 20 años, con el apoyo de la espectroscopía de resonancia magnética nuclear, espectrometría de masas, y cristalografía de rayos-X, la elucidación de estructuras se ha hecho más accesible, y se ha dedicado más tiempo para probar la hipótesis biogénica.

Por tanto, el interés contemporáneo en los productos naturales se está incrementando hacia tópicos más biológicos: Fitotaxonomía, estudios enzimáticos, y Ecología Química. La Fitotaxonomía está relacionada con la descripción y clasificación de plantas: si compuestos estructuralmente similares, derivados de diferentes especies de plantas, muestran compartir la misma vía biosintética, se pueden hacer afirmaciones tentativas de que ambas especies pertenezcan al mismo género o familia. Aunque en la mayoría de los casos la quimiotaxonomía sólo ha añadido evidencia confirmatoria a las clasificaciones de los taxónomos o ha servido para reforzar algunas

decisiones taxonómicas, es indudable que la adición de información química a los caracteres macro y micromorfológicos de los vegetales hará más seguras las decisiones taxonómicas.

OBJETIVOS

De acuerdo con lo anteriormente planteado, el presente trabajo tiene como objetivo

General: realizar un estudio fitoquímico comparativo interespecífico e intergenérico con ocho especies de plantas pertenecientes a la familia Convolvulaceae;

para lo cual se establecieron los siguientes objetivos

Particulares:

- 1.- Obtener extractos de tallos y hojas de las diferentes especies de convolvuláceas con hexano y metanol.
- 2.- Caracterizar algunos grupos de compuestos secundarios en dichos extractos por medio de reacciones de coloración o de precipitación.
- 3.- Realizar perfiles cromatográficos con estos extractos para conocer la complejidad de su composición.

- 4.- Determinar los perfiles cromatográficos para glicorresinas, glucósidos kauranoicos, y alcaloides.

- 5.- Comparar estos últimos perfiles cromatográficos para conocer la constancia interespecifica e intergenérica de los diferentes marcadores elegidos.

JUSTIFICACION

Existe cierta confusión con respecto a la taxonomía de las convolvuláceas, sobre todo con respecto a las especies del género *Ipomoea* y otras relacionadas (Genest y Sahasrabudhe, 1966). *Ipomoea nil* (L.) Roth tiene 17 sinonimias, de las que *Pharbitis nil* (L.) Choisy es empleada preferentemente en Japón. Por su parte, se conocen hasta 10 sinonimias para *Turbina corymbosa* Rafinesque; unos la conocen bajo este nombre, otros por el de *Rivea corymbosa*, y otros la ubican dentro del género *Ipomoea*; Gröger (1963) distingue a *Ipomoea rubro-caerulea* de *I. tricolor*, siendo que ambas son sinonimias de *I. violacea* (Genest y Sahasrabudhe, 1966).

También dentro de la literatura fitoquímica (Taber et al., 1963, Genest y Sahasrabudhe, 1966) algunos autores únicamente emplean nombres de variedades, lo cual crea aún más confusión; incluso las semillas de variedades de una misma especie pueden poseer idénticas características morfológicas, tal como lo hace notar Dcr Marderossian et al. en un estudio de semillas de convolvuláceas (1964).

Pérez Amador et al. (1980) propone el empleo de perfiles de alcaloides ergólicos y glucósidos kauranoicos, así como de glicoresinas (1988), en semillas de convolvuláceas como apoyo a la taxonomía morfológica.

En vista de que hay pocos trabajos en donde se empleen partes aéreas para este tipo de estudios (Taber y Vining, 1963, Gröger, 1963, Hofmann, 1963), se decidió utilizar tallos y hojas de diferentes especies de mantos. Siguiendo con la línea propuesta por Pérez Amador et al. (1980, 1989), se trabajaron especies de diferentes géneros para ver si existían semejanzas o diferencias con respecto a sus perfiles cromatográficos.

ANTECEDENTES

1. Generales

Las convolvuláceas son plantas cosmopolitas, aunque numerosas en los trópicos. Contienen 55 géneros y 1650 especies (Evans, 1989); el mayor de los géneros es *Ipomoea*, el cual contiene unas 500 especies habitando tanto en regiones secas, como húmedas (Standley et al., 1970). Una especie, *Ipomoea batatas*, es una planta alimenticia importante en los trópicos del mundo, mientras que otros miembros de esta familia son ornamentales. Por otra parte, las plantas conocidas como mantos se encuentran ampliamente como malas hierbas en campos de frijol de soya (Baldwin y Evans, 1972) y en otros cultivos (Buchanan et al., 1975; Crowley et al., 1979). Como las semillas de estas plantas no son inmediatamente separadas del frijol y otros granos durante la cosecha y limpieza de estos últimos, aquéllas pueden representar un problema para los consumidores, y en general, para los usuarios de los productos (Friedman, Dao y Gumbmann, 1989).

Las convolvuláceas (Cronquist, 1981) producen alcaloides del grupo indólico, principalmente del subgrupo de las ergolínicas. Son plantas comúnmente ricas en ácido cafeico y compuestos relacionados, además de resinas purgantes, ácidos fenólicos, y saponinas triterpenoides (Evans, 1989); no presentan iridoídes y generalmente contienen taninos. Comúnmente presentan varios tipos de cristales o agregados de oxalato de calcio en algunas células de los tejidos parenquimatosos.

Algunos de estos metabolitos (alcaloides, resinas purgantes), así como otros (terpenos esteroides, flavonoides, glucósidos) fueron contemplados en este trabajo, por lo que se consideró importante el detallar algunas generalidades de ellos.

2. Particulares

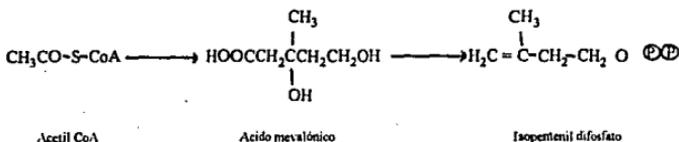
2.1 Terpenos esteroides, flavonoides, glucósidos, y alcaloides.

A.1 Terpenos.

Los terpenos se encuentran ampliamente distribuidos en microorganismos, plantas, y animales. Se les reconoce de acuerdo con el número de unidades de isopreno (2-metil-1,3-butadieno)(Lehninger, 1982) empleados como bloques de construcción. Así, el ácido abiético (constituyente de resinas), las giberelinas y la vitamina A son diterpenos (4 unidades de isopreno), mientras que el escualeno es un triterpeno (6 unidades).

Biosíntesis

Todos los terpenos se originan del isopentenil difosfato, el cual se forma a partir de acetil CoA, siendo un importante intermediario el ácido mevalónico:



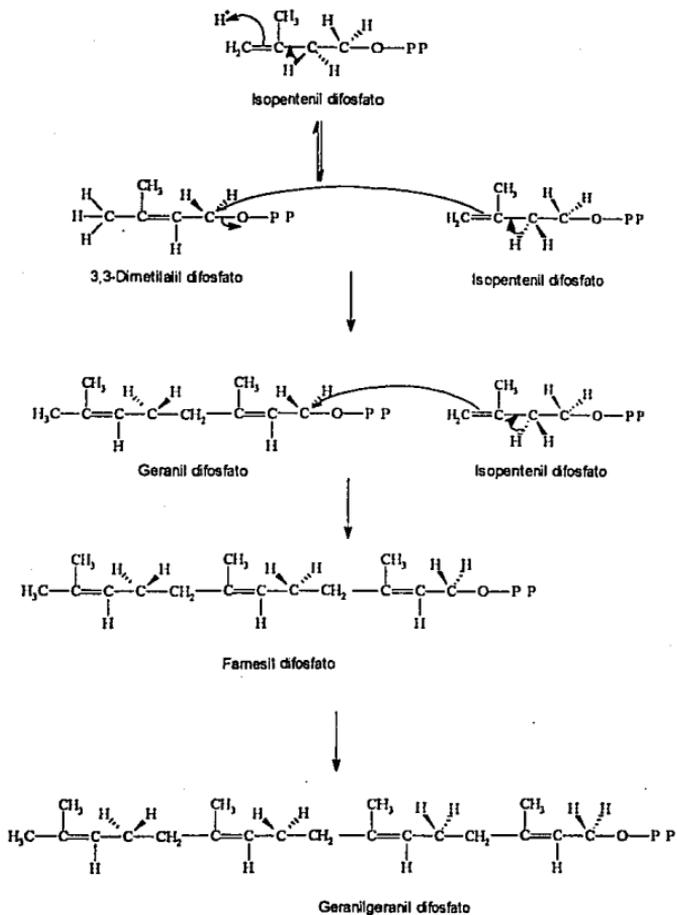


Fig. 1 Formación de los diferentes prenil difosfatos.

A esto sigue la polimerización del isopentenil difosfato, lo cual lleva a la formación de prenil difosfatos, todo ello catalizado por preniltransferasas. Finalmente, hay una condensación de los prenil difosfatos con la formación del triterpeno escualeno y del tetraterpeno fitoeno (Fig. 1).

A.2 Esteroides

Su núcleo básico lo constituye el hidrocarburo tetracíclico esterano (ciclopentanoperhidrofenantreno). Sustituyentes característicos son grupos hidroxilo en C-3, grupos metilo en C-10 y C-13, y una cadena lateral en C-17. Son sintetizados en la mayoría de los organismos.

La mayoría de los triterpenos cíclicos de origen vegetal son glicósidos con una mitad mono- u oligosacárida compuesta de hexosas, de pentosas, o metilpentosas.

Todos los tipos de triterpenos cíclicos se originan del escualeno.

Biosíntesis

En plantas, los triterpenos cíclicos se derivan del escualeno-2,3-epóxido, el cual se forma a partir del escualeno por una monooxigenasa. La acción de diferentes escualeno epóxido ciclasas dan por resultado la formación de triterpenos tri- y pentacíclicos.

B. Flavonoides

Se derivan de las subunidades aportadas por las vías del acetato y del shikimato (Mann, 1979). Son prácticamente exclusivos de plantas superiores (generalmente como glicósidos) y son

responsables de la mayoría del sabor de los alimentos y bebidas de origen vegetal, y del color de las flores. Se presenta una unidad básica C_{15} . La Fig. 2 muestra las clases de flavonoides junto con sus probables variantes biogénicas.

Las flavanonas son relativamente poco comunes, pero ocasionalmente se acumulan en frutas, flores, hojas, y madera. Ejemplos de ellas son la naringenina (glicósido naringina) de la cáscara de la toronja, y la hesperidina (glicósido hesperetina) de la cáscara de la naranja.

Por su parte, tanto flavonas como flavonoles están ampliamente distribuidos, siendo particularmente comunes la luteolina (flavona) y la quercetina (flavonol) en hojas.

Los isoflavonoides se presentan más comúnmente en plantas de la familia Leguminosae. Se cree que se forman directamente de una chalcona.

C. Glicósidos

Estos son acetales mixtos asimétricos de azúcares formados por la reacción del átomo de carbono anomérico del hemiacetal intramolecular del azúcar, con un grupo hidroxilo aportado por un alcohol, formando así un enlace glucosídico. El átomo de carbono anomérico de los glucósidos es asimétrico (Lehninger, 1982).

D. Alcaloides

El metabolismo secundario de aminoácidos es notable por la diversidad de vías que se emplean. Se producen muchos tipos diferentes de metabolitos, principalmente en plantas superiores, y los alcaloides comprenden la clase más amplia (Mann, 1979).

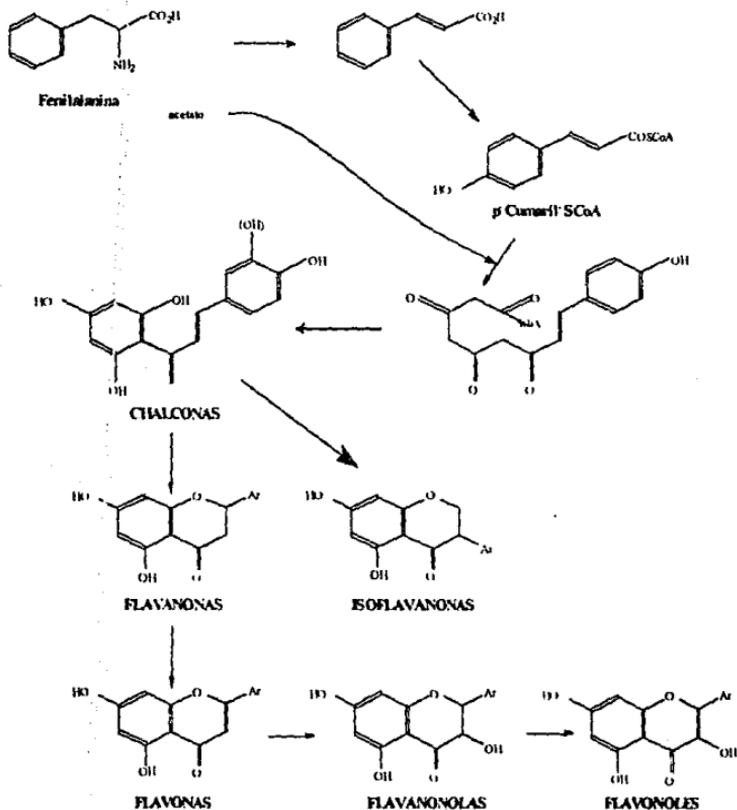


Figura 2. Flavonoides y variantes biogénicas probables.

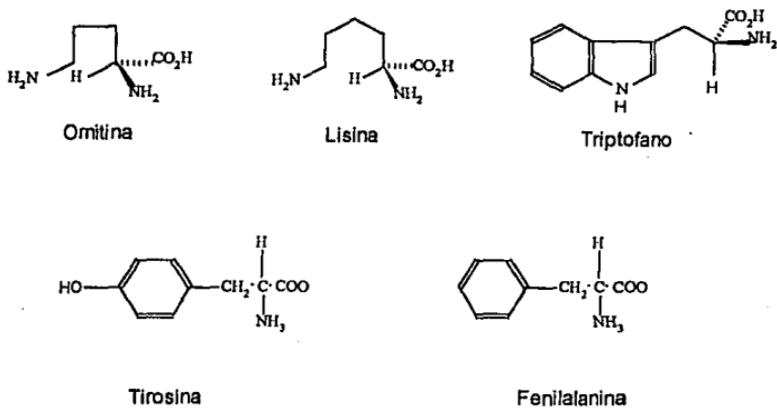


Figura 3

La mayoría de los alcaloides se derivan vía el metabolismo de los aminoácidos alifáticos ornitina y lisina, y de los aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirofano, y triptofano (Fig. 3).

2.2 Marcadores específicos.

Algunos metabolitos secundarios han sido propuestos como marcadores específicos, con fines taxonómicos. Dentro de tales metabolitos destacan las glicorresinas, los glucósidos kauranoicos, y los alcaloides indólicos.

C. Glicorresinas

La palabra 'resina' se asigna a productos sólidos, amorfos, y de naturaleza química compleja (Evans, 1989). Se hallan con frecuencia junto a esencias (oleo-resinas) y a gomas (gomo-resinas), o con esencia y goma (oleo-gomo-resinas). También, las resinas pueden estar combinadas en forma glucosídica con azúcares, como en el caso de las resinas de las Convolvulaceae.

Las llamadas glicorresinas de las convolvuláceas son conocidas como ingredientes purgantes característicos de algunos extractos crudos. Las investigaciones con respecto a ellas se iniciaron a mediados del siglo XIX (Johnston, 1840, citado en Noda et al., 1987). Pertenecen al grupo de los glicolípidos y se han aislado principalmente de tubérculos de varias especies (Pérez Amador et al., 1989). Hasta antes de la aparición de la cromatografía de alta resolución, no se habían podido separar glicorresinas puras, y los estudios químicos sólo se habían confinado a la caracterización de sus ácidos grasos, ácidos volátiles y azúcares, obtenidos por medio de hidrólisis alcalina y ácida de glicorresinas crudas.

Noda y colaboradores iniciaron a finales de la década de los 80 una serie de trabajos con respecto a glicorresinas: en el primero (1987) aislaron 4 compuestos llamados orizabina I, II, III, y IV, todos solubles en éter, a partir de la fracción denominada jalapina, de la

raíz de *Ipomoea orizabensis*, identificándolos como glicorresinas; en el segundo (1988) describieron los ácidos orgánicos y glicosídicos de la glicorresina cruda extraída de las semillas de *I. muricata*, identificando posteriormente (1988) seis compuestos a los que denominaron muricatinas I-VI, culminando estos trabajos con la posterior identificación (1988) de otros dos compuestos: muricatinas VII y VIII.

En 1989, Pérez Amador y colaboradores realizaron perfiles cromatográficos con semillas de diferentes especies de 3 géneros, empleando como marcadores una resina aislada de raíz de *Ipomoea orizabensis* y otra aislada de *I. murucoides*, encontrando glicorresinas en todas las especies, así como diferencias intergenéricas y similitud interespecifica, sugiriendo que estas resinas podrían emplearse con fines taxonómicos en convolvuláceas.

D. Glucósidos kauranoicos

Los compuestos derivados del kaurano solo se conocían en familias de pinos (Pérez Amador et al., 1980), sin embargo, en 1960, Pérez Amador y colaboradores obtuvieron un glucósido kauranoico, la turbicorina, a partir de semillas de *Turbina corymbosa*, dando posteriormente una detallada descripción (1964) de su estructura. Continuando con este tipo de investigaciones, García Jiménez y Pérez Amador (1967) obtienen otro glucósido a partir igualmente de semillas de *T. corymbosa*: la corimbosina. Estos glucósidos se pueden hidrolizar parcial o totalmente. De la hidrólisis parcial se obtienen la turbicorina y la corimbosina, y de la total, los alcoholes diterpénicos corimbol (6, 16, 17- kaurantriol) y el 16, 17, 19-kaurantriol (Pérez Amador et al., 1981). Se reporta también que *Operculina aurea* contiene glucósidos con este núcleo (Canonica, 1976). La diferencia filogenética existente entre los pinos y las convolvuláceas resalta la importancia de estos hallazgos.

En 1980, Pérez Amador y colaboradores -trabajando con semillas- realizaron perfiles cromatográficos de especies pertenecientes a 5 géneros de convolvuláceas empleando los glucósidos obtenidos de semillas de *T. corymbosa* como patrones de comparación, y sugirieron que tales glucósidos podrían emplearse como marcadores taxonómicos, sugerencia que posteriormente confirmaron Pérez Amador et al. en 1988.

E. Alcaloides

Hay algunos compuestos secundarios que incorporan dentro de sus estructuras subunidades biogenéticas de dos o más vías metabólicas. Dentro de éstos encontramos a los alcaloides ergólicos (Mann, 1979). Estos alcaloides se derivan del L-triptofano, del 3,3-dimetilalil difosfato y del grupo metilo de la S-adenosil-L-metionina, siendo intermediarios clave la chanoclavina I y la agroclavina (Luckner, 1990). La biosíntesis propuesta se muestra en la Fig. 4.

Las fuentes más importantes de alcaloides ergólicos son los esclerocios de hongos del género *Claviceps*. Derivados ergólicos también se forman en otros hongos como *Aspergillus*, *Rhizopus*, y *Penicillium* sp., así como en las plantas superiores pertenecientes a la familia Convolvulaceae.

El estudio hacia el descubrimiento de alcaloides indólicos en las convolvuláceas podemos decir que se inició a comienzos de los cuarenta con las investigaciones realizadas por Schultes respecto a *Rivea corymbosa*, al ser empleada tal planta como alucinógeno por ciertas poblaciones indígenas. En los cincuenta se realizaron algunas investigaciones con respecto a la acción alucinógena de las semillas de *R. corymbosa*, tanto en la propia persona del investigador - experimentando diversas sensaciones- (Osmond, 1955), como en voluntarios que no tuvieron sensaciones destacables (Kinross-Wright, 1958, tomado de Hofmann, 1963). En contraste, se reportó un suicidio después de ingestión de semillas de la variedad 'Heavenly Blue' (Cohen, 1964).

Sin embargo, fue hasta la década de los sesenta cuando se hizo más investigación química con respecto al tipo de compuestos que producían las alucinaciones. Hofmann y Tschertter (1960) identificaron la amida del ácido isolisérgico, la amida del ácido lisérgico y la chanoclavina, encontrando similares resultados en *Ipomoea tricolor* Cav. La detección de elimoclavina fue realizada un año después (Hofmann, 1961). Taber y Heacock (1962) demostraron que los alcaloides eran verdaderos productos metabólicos de las plantas y no de algún hongo infectante. Taber, Vining, y Heacock (1963) examinaron varias especies y variedades de mantos, destacando el hecho de que hallaron alcaloides en tallos y hojas de la variedad 'Pearly Gates'. Semejantes resultados fueron reportados por Gröger (1963) al trabajar con *Ipomoea rubro-caerulea* Hook.

Uno de los trabajos más importantes fue el realizado por Hofmann (1963) al reportar los principios activos de las semillas de *Rivea corymbosa* y de *Ipomoea violacea*, sintetizando por primera vez aquí a un alcaloide ergólico natural: el LSD. Der Marderosian et al. (1964) realizó un estudio en donde reportó algunas observaciones con respecto a morfología y contenido de alcaloides indólicos en algunas semillas de mantos, haciendo notar que la cantidad de alcaloides varía entre las diferentes especies.

Genest (1965) reportó que, farmacológicamente hablando, los alcaloides más importantes son la amida del ácido lisérgico y la amida del ácido isolisérgico, presentando un método para la determinación de alcaloides indólicos por densitometría en cromatografía de placa delgada. Genest y Sahasrabudhe (1966) trabajaron con estos alcaloides, destacando que tanto estos últimos, así como otros compuestos tales como componentes purgantes bien podrían ser empleados con fines quimiotaxonómicos. Esto último también fue destacado por Der Marderosian y Youngken (1966). McKey (1974) reportó un excelente trabajo con respecto a patrones adaptativos en la fisiología de los alcaloides, tomando en cuenta puntos tan importantes como el transporte y almacenamiento de estos.

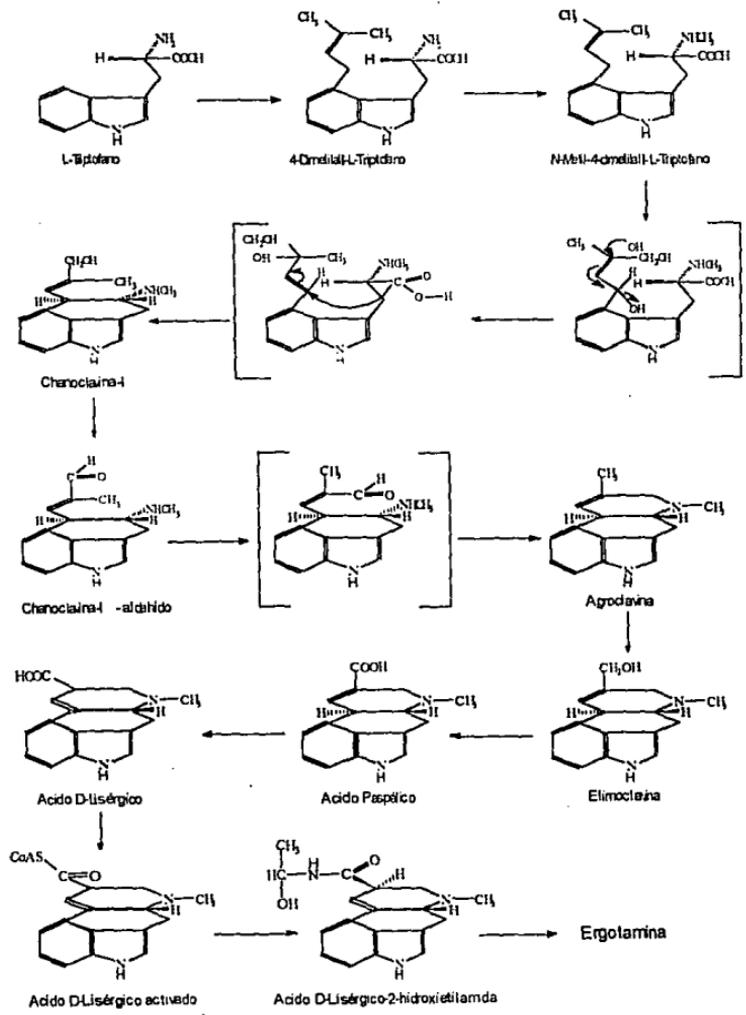


Fig. 4 Biogénesis sugerida para alcaloides indólicos.

El empleo de alcaloides indólicos con fines taxonómicos ha sido realizado recientemente por Pérez Amador et al. con diversas especies de convulváceas (1980, 1988) mediante perfiles cromatográficos y tomando como marcadores la amida del ácido lisérgico, la amida del ácido isolisérgico y la chanoclavina.

Ubicación taxonómica
(según Evans, 1989, y Standley et al., 1970)

División	Angiospermae	
Clase	Dycotiledoneae	
Subclase	Sympetalaе	Pétalos soldados.
Orden	Tubiflorae	
Familia	Convolvulaceae	
Género	<i>Ipomoea</i> L.	
Especies	<i>I. trifida</i> (H.B.K.) Don	
	<i>I. hederifolia</i> Linn.	
	<i>I. dumosa</i> (Benth.) L.O. Wms.	
	<i>I. indica</i> (Burn.) Merr.	
	<i>I. nil</i> (L.) Roth	
Género	<i>Merremia</i> Dennstedt	
Especie	<i>M. dissecta</i> (Jacq.) Hallier	
Género	<i>Operculina</i> Manso	
Especie	<i>O. tuberosa</i> (L.) Meissn.	
Género	<i>Turbina</i> Rafinesque	
Especie	<i>T. corymbosa</i> (L.) Raf.	

MATERIAL Y METODOS

Se emplearon dos partes aéreas: tallos y hojas, de 8 especies de plantas pertenecientes a la Familia Convolvulaceae: *Ipomoea trifida*, *I. hederifolia*, *I. dumosa*, *I. indica*, *I. nil*, *Merremia dissecta*, *Operculina tuberosa* y *Turbina corymbosa*. Todas ellas fueron colectadas en el periodo comprendido entre el 20 de Septiembre de 1990 y el 15 de Noviembre de 1991 entre las localidades de Jalcomulco (19°20' N 96°45'35 W) y Apazapan (19°15'38 N 96°40'40 W), en el Estado de Ver. (Tabla 1).

ESPECIE	Parte aérea	No. de colecta	Lugar de colecta
<i>Ipomoea trifida</i>	Tallo	20-09-90	Jalcomulco a Apazapan, Ver.
	Hoja	20-09-90	"
<i>I. hederifolia</i>	Tallo	15-11-91	Entre Jalcomulco y Apazapan, Ver.
	Hoja	15-11-91	"
<i>I. dumosa</i>	Tallo	20-09-90	Saliendo del pueblo de Apazapan, Ver.
	Hoja	20-09-90	"
<i>I. indica</i>	Tallo	20-09-90	Entre Coatepec y Jalcomulco, Ver.
	Hoja	20-09-90	"
<i>I. nil</i>	Tallo	23-09-90	Entre Jalcomulco y Apazapan, Ver.
	Hoja	23-09-90	"
<i>Merremia dissecta</i>	Tallo	23-09-90	"
	Hoja	23-09-90	"
<i>Operculina tuberosa</i>	Tallo	15-11-91	"
	Hoja	15-11-91	"
<i>Turbina corymbosa</i>	Tallo	15-11-91	"
	Hoja	15-11-91	"

Tabla 1. Relación de las diferentes especies con respecto a sus zonas y fechas de colecta.

El trabajo experimental se dividió en las siguientes partes (Figura 5):

l) Obtención de extractos hexánicos y metanólicos.

Se tomaron de 15 a 25 g (peso seco) de cada parte aérea de planta. Este material fue revisado macroscópicamente para eliminar cualquier tipo de basura o contaminante ajeno al órgano en cuestión. Posteriormente, las partes aéreas de cada especie fueron molidas con ayuda de un molino de manivela y depositadas en recipientes individuales etiquetados con el nombre de la especie, parte aérea, y cantidad en gramos.

Se emplearon 10 g peso seco de cada parte aérea por especie. Este material se puso por separado en un matraz de bola, en donde se agregó una cantidad de disolvente ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ ó CH_3OH , según el caso) tal que pudiese cubrir el material seco. Con ayuda de un refrigerante, se procedió a realizar extracción a reflujo, la cual se realizó en tres períodos de 8 h cada uno, hasta totalizar finalmente 24 h. Después de cada período, el material se filtró con ayuda de un embudo y papel filtro para colectar el extracto. Inmediatamente después, este último fue sometido a una destilación bajo presión reducida empleando un Rotavapor con el fin de concentrar el extracto. El disolvente obtenido fue empleado para las siguientes extracciones y, finalmente, el extracto se guardó en un frasco debidamente etiquetado con nombre y tipo de extracto desarrollado.

Se obtuvieron dos tipos de extractos; hexánicos y metanólicos, en este orden debido a que el hexano es de menor polaridad que el metanol. Una vez concluidas las tres extracciones hexánicas, el material se dejó secar, e inmediatamente después, se procedió de igual manera, pero ahora con metanol. Al completar las extracciones hexánicas y metanólicas, los extractos fueron secados con ayuda de vacío, y pesados para conocer sus rendimientos.

Posteriormente se preparó, para cada parte aérea, 10 ml de una solución madre con una concentración de 5 mg/ml. Para esto, se pesaron 50 mg de cada extracto empleando una balanza analítica, los cuales fueron depositados en tubos individuales con rosca, y se agregaron 10 ml de CHCl_3 ó de CH_3OH , según el caso. Cuando las soluciones se mostraron muy oscuras por alto contenido de clorofilas, se procedió a decolorarlas.

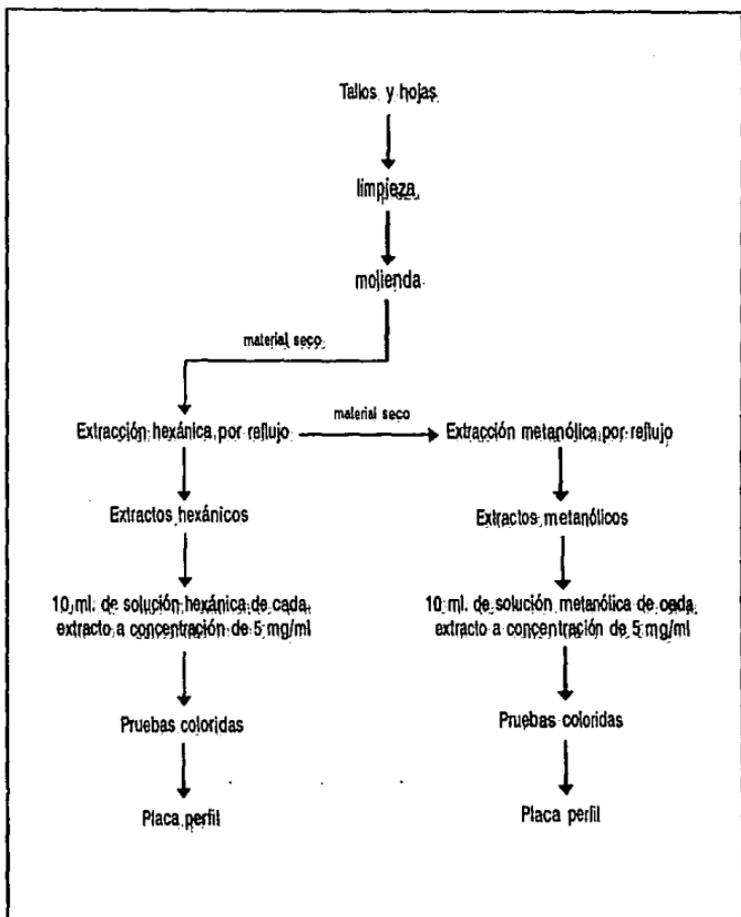


Figura 5 Diagrama metodológico para extractos hexánicos y metanólicos.

Decoloración. La solución a decolorar se deposita en un matraz Erlenmeyer con capacidad de 50 ml. Se agrega una cantidad muy pequeña de carbón activado y se calienta a ebullición -en un baño de vapor- entre 5 y 10 minutos máximo. Los extractos se filtran para eliminar el carbón activado, y se ajustan nuevamente a 10 ml.

II) Pruebas coloridas y de precipitación.

La segunda parte consistió en realizar un sondeo general para detección de terpenos y esteroides, flavonoides, glucósidos y alcaloides.

Se realizaron cinco tipos de pruebas; dos de ellas generan color, y las dos restantes, generan precipitados.

II.a) Pruebas cuyas reacciones generan color.

i) Prueba de Lieberman-Burchard para terpenos y esteroides.

Preparación del reactivo.- Se mezclan 1.0 ml de anhídrido acético y 1.0 ml de CHCl_3 . Esto se enfría a 0°C y se le añade 1 gota de H_2SO_4 concentrado.

Los extractos utilizados deben ser clorofórmicos, por lo que los metanólicos correspondientes deben ser llevados a sequedad y redisolultos en 1.0 ml de CHCl_3 .

Se toma 1.0 ml de la solución clorofórmica y se le agrega 1.0 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.

ii) Prueba de Shinoda para flavonoides.

Se toma 1.0 ml de la solución, se le agregan dos pedazos muy pequeños de limadura de magnesio mas dos gotas de ácido clorhídrico concentrado. La reacción es positiva si se generan colores anaranjado, rojo, rojo azulado, ó violeta.

IMPORTANTE: Los extractos hexánicos deben ser llevados a sequedad y redisueltos en 1.0 ml. de etanol.

iii) Prueba de Molisch para la caracterización de glucósidos.

Se toma 1.0 ml de la solución metanólica y se le agregan dos gotas de una solución de α -Naftol. Posteriormente y con mucho cuidado, se agrega lentamente 1.0 ml de H_2SO_4 concentrado. Si la reacción es positiva, aparecerá un anillo violeta en la interfase de los dos líquidos. Si el anillo es café, es indicativo de presencia de azúcares.

II.b) Pruebas mediante reacciones de precipitación.

i) Pruebas para alcaloides.

1) Con reactivo de ácido silicotúngstico.- Se toma 1.0 ml de la solución, se evapora a sequedad, se le agrega 1.0 ml de HCl al 10% mas dos gotas del reactivo de ácido silicotúngstico ($4 H_2O \cdot SO_2 \cdot 12 WO_3 \cdot 22 H_2O$). La reacción es positiva si se forma un precipitado amarillo paja.

ii) Con reactivo de Dragendorff.

Preparación del reactivo.- Se disuelven 8.0 g de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 20 ml de HNO_3 al 30% y 27.2 g de KI en 50 ml de agua. Se mezclan las dos soluciones y se dejan reposar 24 horas. Se decanta la solución y se afora con agua a 100 ml. Se usa sobre soluciones aciduladas.

Se toma 1.0 ml de la solución, se evapora a sequedad, se agrega 1.0 ml de HCl al 10% y se añaden dos gotas del reactivo. La reacción es positiva si se forma un precipitado naranja o marrón.

III) Perfiles cromatográficos de los extractos hexánicos y metanólicos.

A cada especie se le asignó un número de identificación. Estos se citan a continuación:

<i>Ipomoea</i>	<i>trifida</i>	1
<i>I.</i>	<i>hederifolia</i>	2
<i>I.</i>	<i>dumosa</i>	3
<i>I.</i>	<i>indica</i>	4
<i>I.</i>	<i>nil</i>	5
<i>Merremia</i>	<i>dissecta</i>	6
<i>Operculina</i>	<i>tuberosa</i>	7
<i>Turbina</i>	<i>corymbosa</i>	8

Dentro de cada placa, las especies se identificaron basándose en tales números. Se incluyeron, a su vez, indicaciones con respecto a la parte aérea trabajada, tipo de extracto, eluyente, frente, y revelador empleado.

Tanto aquí como para los restantes perfiles, se emplearon placas cromatográficas delgadas de gel de sílice Merck 60 F254 de 0.25 mm de espesor de 10.0 x 10.0 cm.

Se aplicaron 5 µl de las soluciones madre previamente elaboradas, por separado para tallo y hoja. Los eluyentes empleados fueron CHCl_3 -MeOH 9:1 para las soluciones hexánicas, y $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OH}$ -Acético- H_2O (B:A:W) 5:1:4 para las correspondientes metanólicas. Las placas se corrieron con un frente de 8.4 cm y se revelaron con luz UV de onda larga, y con el revelador de H_2SO_4 -Sulfato cérico.

IV) Perfiles cromatográficos específicos para grupos de metabolitos secundarios.

Las técnicas empleadas para alcaloides y glicósidos kauranoicos fueron modificaciones a las reportadas por Pérez Amador et al., 1980; la correspondiente a glicorresinas corresponde a Pérez Amador et al., 1989 (Figura 6).

a) Glicorresinas.

Se tomaron 100 mg de cada parte aérea por separado y se desengrasaron por agitación constante con hexano por 1 h, 3 veces. El material se dejó secar y se agregaron 3.0 ml de acetato de etilo. Esto se maceró con mortero por una hora y se filtró. Cada extracto se depositó en un pequeño recipiente de vidrio, se tomaron 60µl de los extractos de tallo y 40 µl de los de hoja, y se aplicaron en placa delgada de gel de sílice, eluyendo con CHCl_3 - CH_3OH 9:1, empleando como

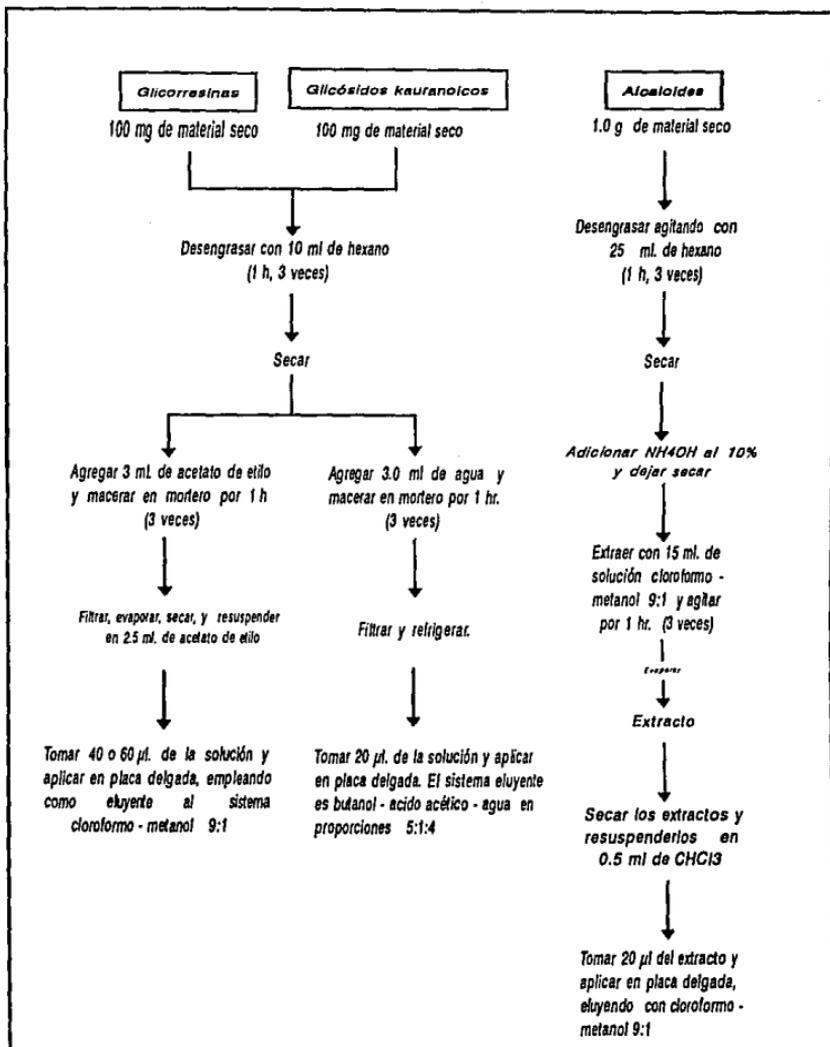


Figura 6 Desarrollo de grupos de metabolitos secundarios.

testigo una mezcla de resinas de raíz de *I. orizabensis* (T2). Las placas se corrieron con frente de 8.4 cm (tallos) y de 10.0 cm (hojas) y se revelaron con revelador de H₂SO₄-sulfato cérico.

b) Glucósidos kauranoicos.

La técnica fue similar a la correspondiente con glicorresinas, salvo que la extracción se realizó con agua. Los extractos obtenidos se depositaron en recipientes individuales de vidrio, se tomaron 20 µl y se aplicaron en placa delgada. El eluyente utilizado fue B:A:W 5:1:4, tomando como testigo al extracto acuoso de semillas de *Turbina corymbosa* de Oaxaca. El frente fue de 8.0 cm y se revelaron con revelador de H₂SO₄-sulfato cérico.

c) Alcaloides.

Se tomaron 1.0 g de cada parte aérea por separado y se desengrasaron con 25 ml de hexano (3 veces). El hexano se desechó y se dejó secar el material. Posteriormente, se adicionó una solución de NH₄OH al 10% hasta que el material tuvo una apariencia y consistencia pastosa, dejándose secar a temperatura ambiente. A continuación, se agregaron 15 ml de una solución CHCl₃-CH₃OH 9:1 y se agitó durante 1 h. Se filtró el material y el filtrado se colectó en matraces Erlenmeyer de 50 ml. Se agregaron otros 15 ml de la solución 9:1 y se repitió el proceso, hasta totalizar 3 extracciones. El filtrado (45 ml) se sometió a una destilación a presión reducida y se colectó el extracto. Estos últimos fueron depositados en recipientes individuales de vidrio, se dejaron secar, fueron pesados para conocer sus rendimientos, y se resuspendieron en 0.5 ml de

CHCl_3 . Una vez que el extracto se disolvió, se tomaron 20 μl del mismo y se aplicaron en placa delgada, utilizando el sistema $\text{CHCl}_3\text{-CH}_3\text{OH}$ 9:1 como eluyente. El testigo utilizado fue un extracto alcaloídico de semillas de *Turbina corymbosa* de Chiapas. Las placas se corrieron con un frente de 7.8 cm para tallo, y de 8.5 cm para hoja, siendo reveladas con luz UV de onda larga y con revelador de Van Urk.

RESULTADOS Y DISCUSION

I) Pesos y rendimientos de los extractos hexánicos y metanólicos.

La Tabla 2 muestra los pesos obtenidos para los extractos hexánicos y metanólicos. Podemos observar en ella que hay poca cantidad para los primeros con respecto a los extractos metanólicos. De los extractos hexánicos, la especie que menor rendimiento tuvo fue *Turbina corymbosa* (52.3 mg para tallo y 94.2 mg para hoja), siendo su contraparte *Ipomoea trifida* (267.4 mg para tallo y 239.4 mg para hoja). Con respecto a los extractos metanólicos, la especie con menor cantidad de extracto fue, para tallo, *Ipomoea dumosa* (851.6 mg), y para hoja, *I. nil* (859.3 mg). Estos resultados son más evidentes en la Gráfica 1 y en los correspondientes rendimientos porcentuales sobre peso seco, los cuales se muestran en la Tabla 3 y Gráfica 2.

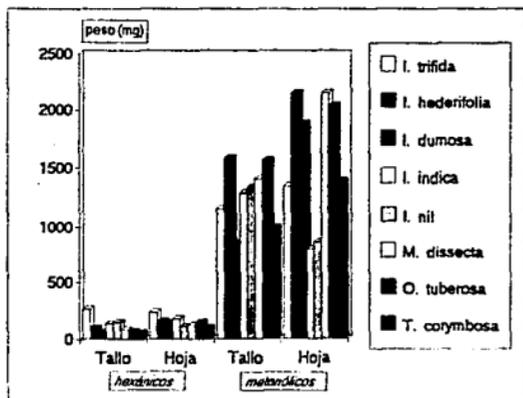
II) Pruebas coloridas y de precipitación.

En la Tabla 4 aparecen los resultados de las diversas pruebas coloridas y de precipitación aplicadas a ambos extractos. Se puede apreciar que todos los extractos hexánicos (Gráfica 3) mostraron reacciones positivas para terpenos y esteroides, las cuales tuvieron una intensidad de 1 hasta 4 ya fuese en tallos o en hojas. En contraste, dentro de los extractos metanólicos (Gráfica 4) las reacciones fueron mínimas, alcanzando máximos de 1 en las hojas de *I. indica*, *I. nil*, *O. tuberosa* y *T. corymbosa*, así como en tallo de *O. tuberosa*, y reacciones negativas en *I. trifida*, *I. hederifolia*, *I. dumosa* y en los tallos de *I. indica*.

Los flavonoides se presentaron en los dos tipos de extractos, sin embargo, se apreció que este grupo de metabolitos fue más constante en los extractos hexánicos (Gráfica 5), los cuales mostraron en general una reacción positiva de 1, y observando reacciones de 2 en *I. indica* (hoja),

Tabla 2. Pesos de extractos hexánicos y metanólicos en mg.

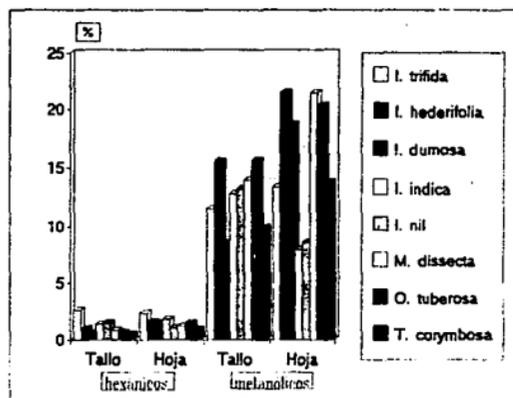
<i>I. hederifolia</i>	96.8	158.5	1588.1	2154.1
<i>I. indica</i>	137.8	181.7	1289.8	798.1
<i>M. dissecta</i>	83.3	121.8	1403.6	2149.8
<i>T. corymbosa</i>	52.3	94.2	990.2	1382.9



Gráfica 1. Pesos de extractos hexánicos y metanólicos en mg.

Tabla 3. Rendimientos de extractos hexánicos y metanólicos (%)

	HEXANICOS		METANOLICOS	
	Tallo	Hoja	Tallo	Hoja
<i>I. trifida</i>	2.674	2.394	11.592	13.451
<i>I. hederifolia</i>	0.968	1.585	15.581	21.541
<i>I. dumosa</i>	0.578	1.436	8.516	18.765
<i>I. indica</i>	1.378	1.817	12.898	7.981
<i>I. nil</i>	1.523	1.109	13.328	8.593
<i>M. dissecta</i>	0.833	1.218	14.036	21.498
<i>O. tuberosa</i>	0.679	1.485	15.649	20.317
<i>T. corymbosa</i>	0.523	0.942	9.902	13.829



Gráfica 2. Rendimientos de extractos hexánicos y metanólicos.

Tabla 4 PRUEBAS COLORIDAS

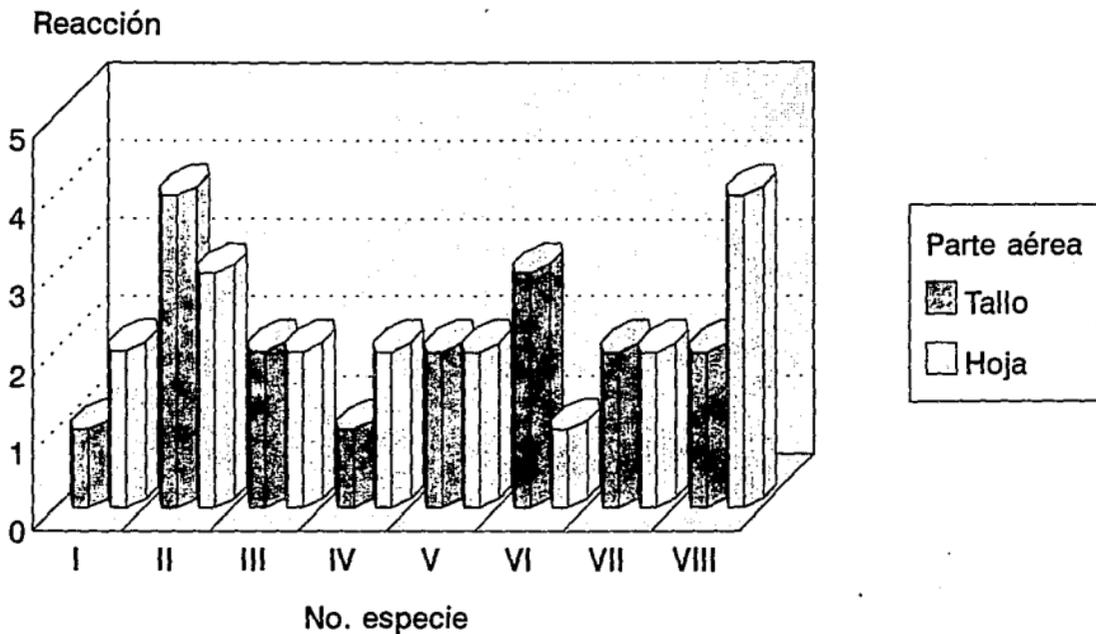
		EXTRACTOS HEXANICOS							
		Terpenos		Flavonoides		Acido silicotínigico		Dragendorff	
		esteroides							
		hoja	Tallo	hoja	Tallo	hoja	Tallo	hoja	Tallo
<i>Ipomoea</i>	<i>trifida</i>	+	++ lig +	+	-	-	-	-	-
<i>I.</i>	<i>hederifolia</i>	++++	+++ +	+	-	-	-	-	-
<i>I.</i>	<i>densa</i>	++	++ +	+	-	-	-	-	-
<i>I.</i>	<i>indica</i>	+	++ +	++	-	-	-	-	-
<i>I.</i>	<i>nil</i>	++	++ +	+	-	-	-	-	-
<i>Merrania</i>	<i>dissecta</i>	+++	++ ++	+	-	-	-	-	-
<i>Operculina</i>	<i>tuberosa</i>	++	++ +	+	-	-	-	-	-
<i>Turbina</i>	<i>corymbosa</i>	++	++++ +	++	-	-	-	-	-

		EXTRACTOS METANOLICOS									
		Terpenos		Flavonoides		Acido silicotínigico		Dragendorff		Glucósidos	
		esteroides									
		hoja	Tallo	hoja	Tallo	hoja	Tallo	hoja	Tallo	hoja	Tallo
<i>Ipomoea</i>	<i>trifida</i>	-	-	R lig +	lig +	lig +	-	-	-	++	-
<i>I.</i>	<i>hederifolia</i>	-	+R	R++	-	-	-	-	-	+	+
<i>I.</i>	<i>densa</i>	-	lig + N	N++	-	-	-	-	-	-	-
<i>I.</i>	<i>indica</i>	-	V+	-	lig +	lig +	-	-	-	-	-
<i>I.</i>	<i>nil</i>	lig + r	r+	lig + V	V+	-	-	-	-	+	+
<i>Merrania</i>	<i>dissecta</i>	lig + V	V lig +	+R	R++	-	-	-	-	+	-
<i>Operculina</i>	<i>tuberosa</i>	+V	V+	lig + R	R+	-	-	-	-	+	lig +
<i>Turbina</i>	<i>corymbosa</i>	lig + V	V+	lig + R	V++	-	lig +	-	-	++	lig +

R = rojo; r = rosa; N = naranja; V = verde

PRUEBAS COLORIDAS

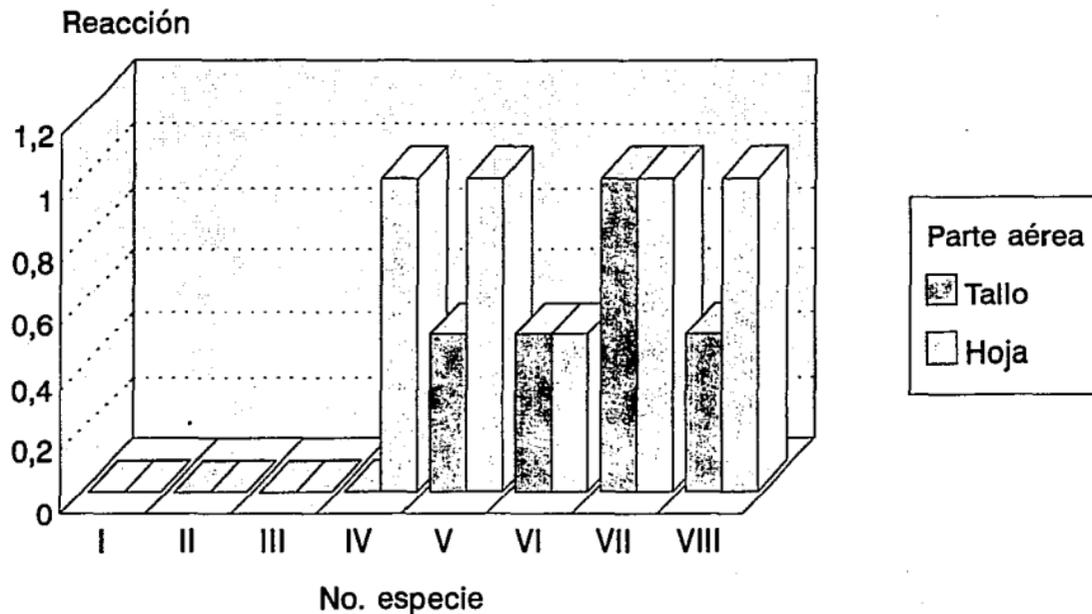
Terpenos esteroides



Gráfica 3 Resultados para extractos hexánicos.

PRUEBAS COLORIDAS

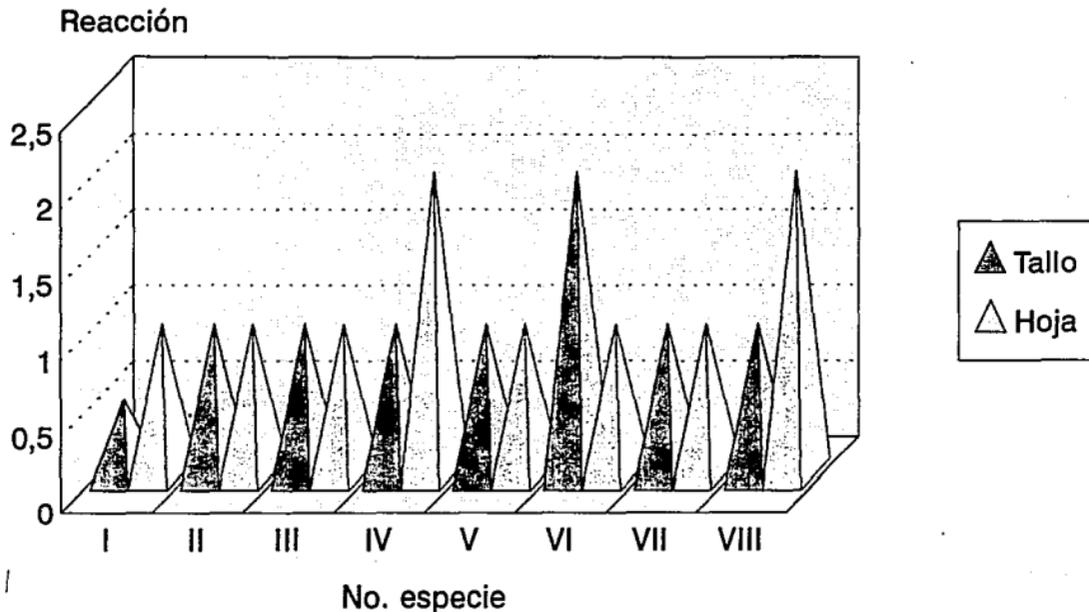
Terpenos esteroides



Gráfica 4 Resultados para extractos metanólicos.

PRUEBAS COLORIDAS

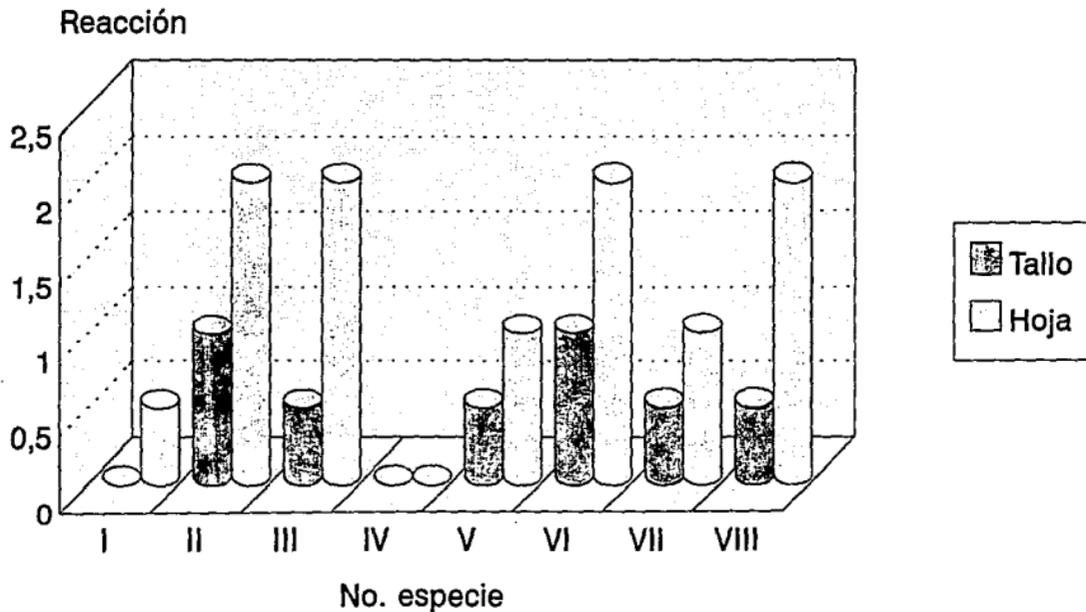
Flavonoides



Gráfica 5 Resultados para extractos hexánicos.

PRUEBAS COLORIDAS

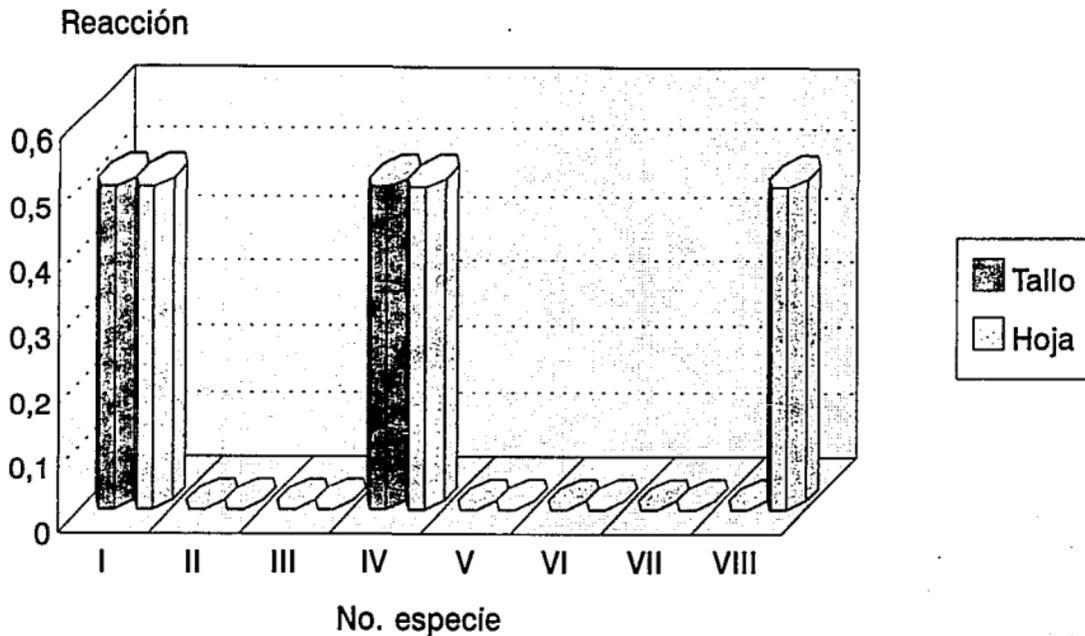
Flavonoides



Gráfica 6 Resultados para extractos metanólicos.

PRUEBAS COLORIDAS

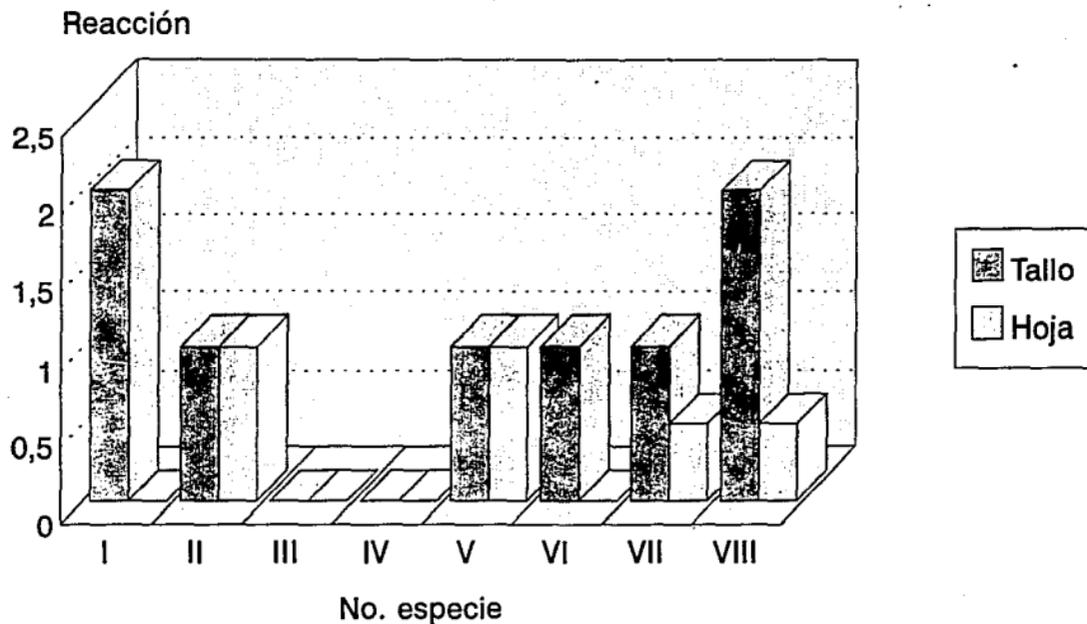
Alcaloides



Gráfica 7 Resultados en extractos metanólicos.

PRUEBAS COLORIDAS

Glucósidos



Gráfica 8 Resultados en extractos metanólicos.

M. dissecta (tallo) y *T. corymbosa* (hoja). El tallo de *I. trifida* fue el que mostró menor reacción, la cual fue de ligeramente positiva. Los extractos metanólicos (Gráfica 6) mostraron reacciones desde negativas (como *I. trifida* (tallo) e *I. indica*) hasta reacciones positivas 2 correspondientes a las hojas de *I. hederifolia*, *I. dumosa*, *M. dissecta* y *T. corymbosa*.

Para alcaloides se hicieron dos tipos de pruebas: con el reactivo de Dragendorff, en las cuales se obtuvieron reacciones negativas en ambos extractos; y con ácido silicotúngstico. Con este último, las reacciones fueron igualmente negativas en los extractos hexánicos, apreciándose por otra parte reacciones ligeramente positivas en los extractos metanólicos de *I. trifida*, *I. indica* y *T. corymbosa* (hoja) (Gráfica 7); en las restantes especies las reacciones fueron negativas.

En la prueba para detección de glucósidos, efectuada únicamente con los extractos metanólicos (Gráfica 8), los tallos de *I. trifida* y *T. corymbosa* mostraron reacciones positivas de 2; *I. hederifolia*, *I. nil*, *M. dissecta* (tallo) y *O. tuberosa* (tallo) dieron reacción positiva de 1; *O. tuberosa* (hoja) y *T. corymbosa* (hoja) fueron ligeramente positivos; *I. trifida* (hoja), *M. dissecta* (hoja), así como *I. dumosa* e *I. indica* no reaccionaron.

III) Perfiles cromatográficos de extractos hexánicos y metanólicos.

La Figura 8 muestra el perfil cromatográfico en placa delgada para el extracto hexánico de tallos. Se puede apreciar que dicho perfil es muy uniforme para todas las especies analizadas, (básicamente 8 manchas por especie) salvo la mancha marcada con I ($R_f = 0.58$), la cual no aparece en las tres últimas especies; la marcada II ($R_f = 0.69$), que se presentó sólo en las especies *I. trifida*, *I. hederifolia*, y *M. dissecta*; la mancha III ($R_f = 0.86$) es única de *I. indica*.

En la Figura 9 vemos el correspondiente perfil para hojas, también del extracto hexánico. Dentro del género *Ipomoea*, 4 de 16 manchas con el mismo R_f se presentaron en las 5 especies; la marcada VI ($R_f = 0.67$) solamente se presentó en *I. hederifolia*, y la VIII ($R_f = 0.74$)

PARTE AEREA : TALLO
 EXTRACTO : METANOLICO
 ELUYENTE : BUTOH-ACET-H₂O
 5 : 1 : 4
 FRENTE : 8.4 CM
 REVELADORES :

○ H₂SO₄-SULFATO CERICO
 ⊙ LUZ UV DE ONDA LARGA

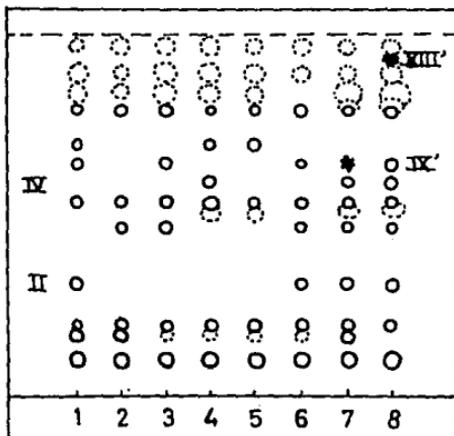
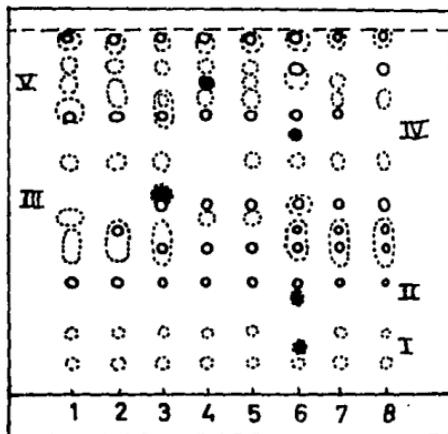


FIGURA 10. PERFIL CROMATOGRAFICO PARA TALLOS.



PARTE AEREA : HOJA
 EXTRACTO : METANOLICO
 ELUYENTE : BUTOH-ACET-H₂O
 5 : 1 : 4
 FRENTE : 8.4 CM
 REVELADORES :

○ H₂SO₄-SULFATO CERICO
 ⊙ LUZ UV DE ONDA LARGA

FIGURA 11. PERFIL CROMATOGRAFICO PARA HOJAS.

se mostró como exclusiva de *I. trifida*. Intergenéricamente, 4 de 16 manchas se presentaron en las ocho especies.

El perfil de tallo para los extractos metanólicos se muestran en la Figura 10. Siete de quince manchas se presentaron en las 5 especies del género *Ipomoea*; la mancha II ($R_f = 0.30$) y la IV ($R_f = 0.59$) fueron propias de *I. trifida* e *I. indica*, respectivamente. Intergenéricamente, 6 de 18 manchas se encontraron en todas las especies; la mancha II la comparte *I. trifida* con los otros 3 géneros, y la mancha IV la comparten *I. indica*, *O. tuberosa* y *T. corymbosa*. Las manchas marcadas con IX' y XIII' son propias de *O. tuberosa* y *T. corymbosa*, respectivamente.

En la Figura 11 encontramos el perfil para hojas de los extractos metanólicos. Dentro del género *Ipomoea*, 8 de 17 manchas estuvieron presentes en las 5 especies; la mancha III ($R_f = 0.55$) sólo se presentó en *I. dumosa*, mientras que la V ($R_f = 0.85$) fue propia de *I. indica* por el hecho de que solo se reveló con sulfato cérico, no obstante que hubieron otras manchas con similar R_f , pero reveladas con luz UV. Intergenéricamente, 4 de 20 manchas aparecieron en las 8 especies; las manchas I ($R_f = 0.13$), II ($R_f = 0.27$), y IV ($R_f = 0.72$) fueron propias de *M. dissecta*.

IV) Perfiles cromatográficos específicos para grupos de metabolitos secundarios.

a) Glicoresinas.

En el testigo T2 se ubicaron las resinas B ($R_f = 0.29$), C ($R_f = 0.24$), D ($R_f = 0.17$) y E ($R_f = 0.054$).

La Figura 12 indica el perfil cromatográfico obtenido para tallos. Todas las especies de *Ipomoea* presentaron manchas correspondientes a B; mientras que D solamente en las especies 1, 4, y 5. Tomando en cuenta el trabajo realizado por Pérez Amador et al. (1989) fue posible ubicar

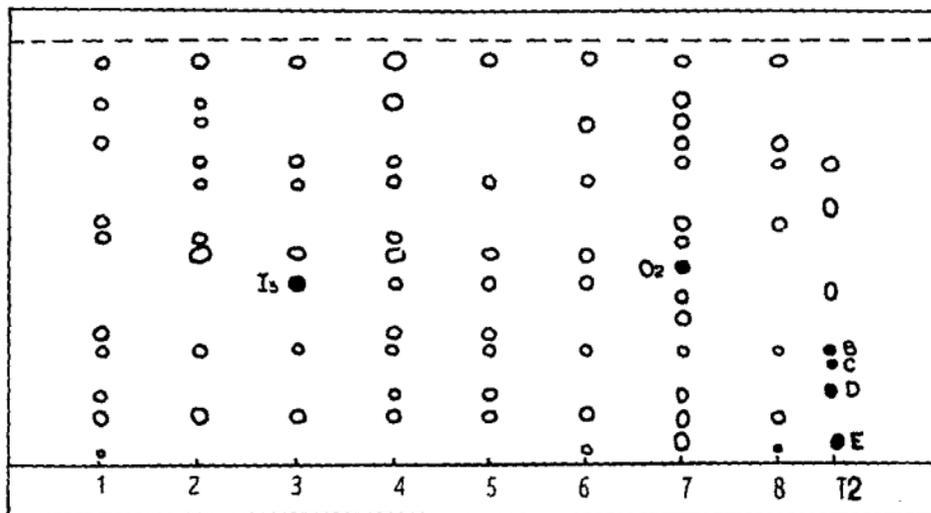


FIGURA 12. PERFIL CROMATOGRAFICO PARA TALLOS.

PARTE AEREA : TALLO
 EXTRACTO : ACETATO DE ETILO
 ELUYENTE : CHCl₃-METOH 9 : 1
 FRENTA : 8.4 CM
 REVELADOR : H₂SO₄-SULFATO CERICO

TESTIGO: Ipomoea orizabensis

T2

(MEZCLA DE RESINAS)

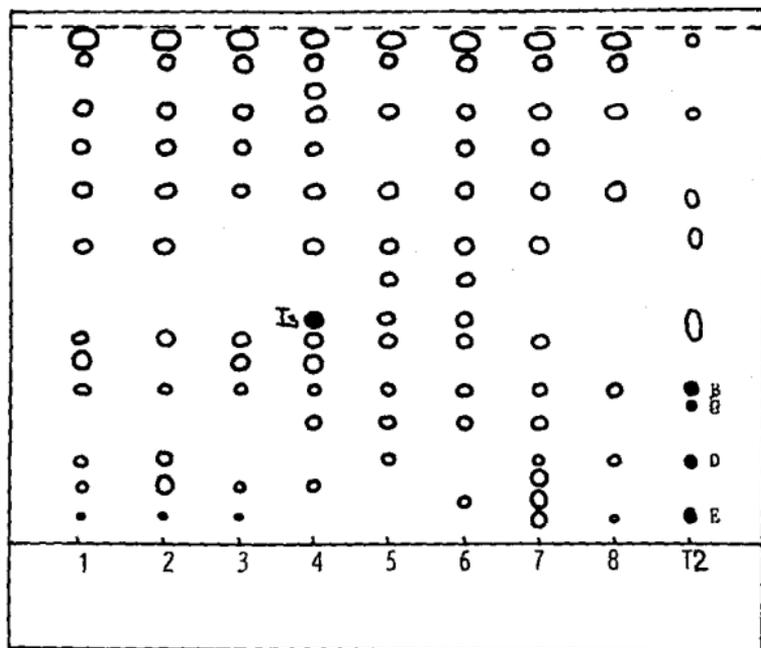


FIGURA 13. PERFIL CROMATOGRAFICO PARA HOJAS.

PARTE AEREA : HOJA
 EXTRACTO : ACETATO DE ETILO
 ELUYENTE : CH_2Cl_2 - METOH 9 : 1
 FRENTE : 10.0 CM
 REVELADOR : H_2SO_4 - SULFATO CERICCO

TESTIGO : Inuomea orizabensis
 T2
 (MEZCLA DE RESINAS)

a la resina marcada como **I₁** (Rf = 0.42) en las especies 3, 4, y 5, así como la resina **O₁** (Rf = 0.51) en *O. tuberosa*. Intergenéricamente, **B** apareció en todas las especies; **D** en 4 especies, y **E** únicamente en *O. tuberosa*.

El perfil para hojas se ilustra en la Figura 13. Nuevamente parece ser que la resina **B** se encuentra en todas las especies de todos los géneros estudiados. **I₁** apareció en *I. indica* e *I. nil*. Por otra parte, hay resinas semejantes a la marcada como **D** en *I. trifida*, *I. hederifolia*, *I. nil*, *O. tuberosa*, y *T. corymbosa*.

b. Glucósidos kauranoicos.

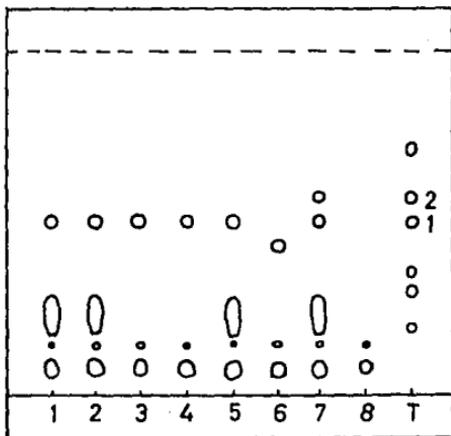
De acuerdo con el perfil observado en tallos (Figura 14) y salvo *M. dissecta* y *T. corymbosa*, las seis especies restantes presentan turbicorina (Rf = 0.5); la corimbosina (Rf = 0.57) únicamente fue hallada en *O. tuberosa*.

Con respecto a hojas (Figura 15), la turbicorina se encontró en *I. trifida*, *I. hederifolia*, e *I. nil*; por otra parte, la corimbosina se presentó en *I. trifida*, *I. hederifolia*, *I. dumosa*, y *M. dissecta*.

De acuerdo con estas placas, *T. corymbosa* no presenta glucósido alguno ni en tallo ni en hoja.

c. Alcaloides.

Tanto en el perfil de tallo (Figura 16) como en el de hoja (Figura 17) no se encontraron los alcaloides indólicos buscados: amida del ácido lisérgico (I, Rf = 0.07), chanoclavina (II, Rf = 0.27) y amida del ácido isolisérgico (III, Rf = 0.43). Revelando con luz U-V se apreciaron compuestos con tonalidades verdes y azules; el revelador de Van Urk muestra algunos compuestos rosas.



PARTE AEREA : TALLO
 EXTRACTO : H₂O
 ELUYENTE : BUTOH-ACET-H₂O
 5 : 1 : 4
 FRENTE : 8.0 CM
 REVELADOR :

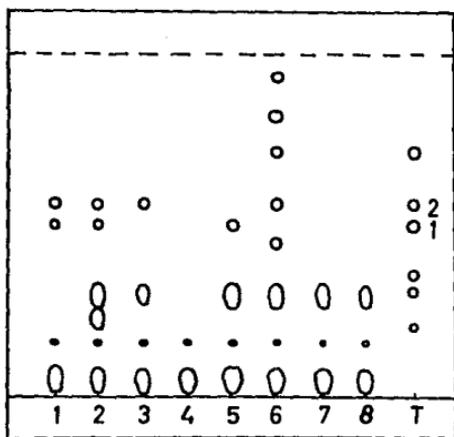
H₂SO₄-SULFATO CERICO

TESTIGO : Turbina corymbosa

(SEMILLAS)

1 TURBICORINA
 2 CORIMBOSINA

FIGURA 14. PERFIL CROMATOGRAFICO PARA TALLOS.



PARTE AEREA : HOJA
 EXTRACTO : H₂O
 ELUYENTE : BUTOH-ACET-H₂O
 5 : 1 : 4
 FRENTE : 8.0 CM
 REVELADOR :

H₂SO₄-SULFATO CERICO

TESTIGO : Turbina corymbosa

(SEMILLAS)

1 TURBICORINA
 2 CORIMBOSINA

FIGURA 15. PERFIL CROMATOGRAFICO PARA HOJAS.

PARTE AEREA : TALLO
 EXTRACTO : CHCl_3 - MeOH
 9 : 1
 ELUYENTE : CHCl_3 - MeOH
 9 : 1
 FRENTA : 7.8 CM
 REVELADORES :

○ REVELADOR DE VAN URK
 ⊙ LUZ UV DE ONDA LARGA

TESTIGO : Turbina corvmbosa
 (SEMILLAS)

I ANIDA DEL ACIDO LISERGICO
 II CHANOCCLAVINA
 III ANIDA DEL ACIDO ISOLISERGICO

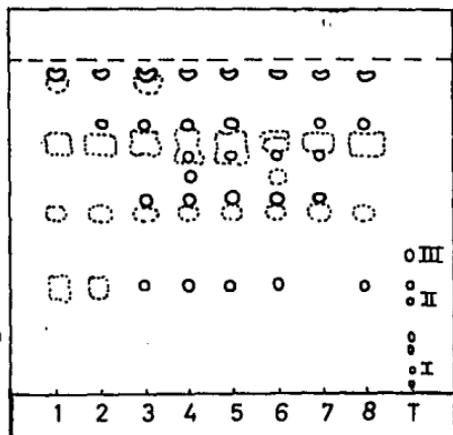


FIGURA 16. PERFIL CROMATOGRAFICO PARA TALLOS.

PARTE AEREA : HOJA
 EXTRACTO : CHCl_3 - MeOH
 9 : 1
 ELUYENTE : CHCl_3 - MeOH
 9 : 1
 FRENTA : 8.5 CM
 REVELADORES :

○ REVELADOR DE VAN URK
 ⊙ LUZ UV DE ONDA LARGA

TESTIGO : Turbina corvmbosa
 (SEMILLAS)

I ANIDA DEL ACIDO LISERGICO
 II CHANOCCLAVINA
 III ANIDA DEL ACIDO ISOLISERGICO

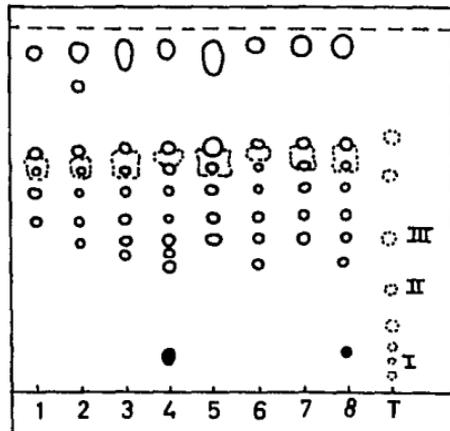


FIGURA 17. PERFIL CROMATOGRAFICO PARA HOJAS.

Dentro del perfil de hoja, sin embargo, se ven dos compuestos que reaccionaron positivamente al reactivo de Van Urk: uno de ellos se presenta con *I. indica* (I, Rf = 0.088) y otro con *T. corymbosa* (II, Rf = 0.094). Ninguno de ellos corresponde a alguno de los marcadores, o en sí, a alguno de los compuestos presentes en el testigo.

Los alcaloides deben ser movidos desde su lugar de síntesis (en este caso, desde el embrión) hasta otros sitios que pueden ser de almacenamiento, sin embargo, poco se sabe del movimiento de alcaloides de las hojas al sistema vascular o viceversa (McKey, 1974). Por otra parte, parece ser que mientras más joven y mayor metabolismo presente un tejido, mayor será la cantidad de alcaloides presentes en él.

Algunos investigadores han trabajado tallos y hojas de diversas especies y variedades, encontrando alcaloides. Sin embargo, se pueden apreciar dos cosas: que el contenido de alcaloides es menor mientras más maduro sea el tejido (Vining y Heacock, 1963) y que los alcaloides han sido encontrados en variedades domésticas, trabajadas por el hombre (Vining y Heacock, 1963; Gröger, 1963; Hofmann, 1963; Friedman, Dao, y Gumbmann, 1989). Todas las especies empleadas en este estudio fueron silvestres, por lo que parece ser que las variedades no domésticas sólo pueden contener trazos de alcaloides indólicos, apoyando la hipótesis formulada por Friedman, Dao, y Gumbmann.

La literatura reporta un amplio rango de valores con respecto al contenido de alcaloides indólicos de varias mantos. Estos datos son difíciles de interpretar debido a la variedad de métodos de extracción y preparación para estimar el contenido de alcaloides.

En este trabajo solamente se buscó la detección de diversos compuestos tales como glicoresinas, glucósidos kauranoicos, y alcaloides, pero debido a la sensibilidad de los métodos no podemos asegurar que no presenten las especies estudiadas estos compuestos, según los casos, ya que algunos de ellos difícilmente pudieron ser detectados con los diferentes reveladores empleados. Es por ello que, buscando reducir esta posibilidad, se aplicó en todos los casos una mayor cantidad de muestra que las reportadas en trabajos anteriores.

CONCLUSIONES

1) **Perfil cromatográfico para tallos, extracto hexánico.** Salvo algunos casos particulares de algunas especies, en general todas estas presentaron 8 manchas cada una. 53.84% de las manchas se presentaron en las cinco especies del género *Ipomoea*, y 50.00% en todas las especies. Hay diferencias interespecíficas e intergenéricas.

2) **Perfil cromatográfico para hojas, extracto hexánico.** 25.00 % de las manchas se presentaron en las 5 especies del género *Ipomoea*. 25.00 % de las manchas se presentaron en las 8 especies. Hay diferencias interespecíficas e intergenéricas.

3) **Perfil cromatográfico para tallos, extracto metanólico.** Un 46.66 % del total de las manchas se presentaron en las 5 especies del género *Ipomoea*. 33.33 % se presentaron en las 8 especies. Hay diferencias interespecíficas e intergenéricas.

4) **Perfil cromatográfico para hojas, extracto metanólico.** 47.06 % de las manchas aparecieron en todas las especies del género *Ipomoea*, y 20.00 % se presentaron en las 8 especies. Hay diferencias interespecíficas e intergenéricas.

Marcadores.

5) **Glicorresinas, tallos.** La resina **B** se presentó en todas las especies del género *Ipomoea*; la resina **D** apareció en 3 especies de éste género. Intergenéricamente, la resina **B** se encontró en todas las especies estudiadas, mientras que la resina **D** se presentó solo en el 50.00 % del total de las especies, y en este mismo porcentaje de 50.00 % se presentaron ambas resinas.

Con respecto a la resina **B** hay semejanzas tanto interespecíficas como intergenéricas. Por otra parte, hay diferencias interespecíficas e intergenéricas en cuanto a la resina **D**. Tomando en cuenta ambas resinas, hay diferencias interespecíficas e intergenéricas.

Hay diferencias interespecíficas e intergenéricas, pero se pueden emplear algunas de tales resinas como marcadores para apoyo taxonómico.

6) **Glicorresinas, hojas.** **B** apareció en todas las especies del género *Ipomoea*, así como en todas las especies estudiadas, por lo que hay semejanzas interespecíficas e intergenéricas con respecto a ella; **D**, **E**, **L**, y **O₂** marcan diferencias intergenéricas e interespecíficas.

7) **Glucósidos kauranoicos, tallos.** Dentro de las especies de *Ipomoea*, ninguna presentó corimbosina, mientras que todas mostraron turbicorina, por lo que éste glucósido es constante dentro del género, así como la ausencia de corimbosina. Intergenéricamente, sólo *Operculina tuberosa* mostró ambos glucósidos, mientras que las especies de los géneros *Merremia* y *Turbina* no presentaron glucósido alguno. Esto significa que hay semejanza interespecífica y diferencias intergenéricas, por lo que este perfil puede ser útil para la caracterización de miembros de la familia Convolvulaceae.

8) **Glucósidos kauranoicos, hojas.** Interspecíficamente sólo 3 especies (*I. trifida*, *I. hederifolia*, *I. nil*) mostraron turbicorina, y 3, corimbosina (*I. trifida*, *I. hederifolia*, *I. dumosa*). Solo *I. trifida* e *I. hederifolia* mostraron ambos glucósidos. Intergenéricamente y salvo *Ipomoea*, los otros géneros no mostraron turbicorina, mientras que la corimbosina se encontró en *M. dissecta*. Todo lo anterior implica que hay diferencias interespecíficas, así como intergenéricas.

9) **Alcaloides, tallos y hojas.** Los perfiles fueron muy semejantes entre las especies de acuerdo con la parte aérea trabajada. Ninguna de estas últimas mostró a los marcadores. Podemos decir entonces que hay semejanzas interespecíficas e intergenéricas.

LITERATURA CITADA

- Auterhoff, H. y Demleitner, H. (1955). *Vergleichende Untersuchungen an Convolvulaceen-Harzen*. Arzneimittel-Forschung/ Drug Research, 5 , 402-407.
- Beyerman, H.C. y Van de Linde, A. (1963). *Over ergot alkaloiden uit planten*. Chemisch Weekblad, 59 , 508-509.
- Cohen, S. (1964). *Suicide following morning glory seed ingestion*. American Journal of Psychiatry, 120 , 1024-1025.
- Der Marderosian, A.H., Hauke, R.L. y Youngken, H.W., Jr. (1964). *Preliminary Studies of the Comparative Morphology and Certain Indoles of Ipomoea seeds*. Economic Botany, 18 , 67-76.
- Der Marderosian, A.H. y Youngken, H.W., Jr. (1966). *The Distribution of Indole Alkaloids Among Certain Species and Varieties of Ipomoea, Rivea and Convolvulus (Convolvulaceae)*, Lloydia, 29 , 35-42.
- Domínguez, X.A. (1973). *Métodos de Investigación Fitoquímica*. México: Limusa.
- Evans, W.C. (1989). *Farmacognosia* (13a. ed.). México: Interamericana-McGraw-Hill .
- Friedman, M., Dao, L., y Gumbmann, M.R. (1989). *Ergot Alkaloid and Chlorogenic Acid Content in Different Varieties of Morning-glory (Ipomoea spp.) Seeds*. Journal of Agricultural Food Chemistry, 37 , 708-712.

- Genest, K. (1965). *A Direct Densitometric Method on Thin-Layer Plates for the Determination of Lysergic Acid Amide, Isolysergic Acid Amide and Clavine Alkaloids in Morning Glory Seeds.* Journal of Chromatography, **19**, 531-539.
- Genest, K. y Sahasrabudhe, M.R. (1966). *Alkaloids and Lipids of Ipomoea Rivea and Convolvulus and Their Application to Chemotaxonomy.* Economic Botany, **20**, 416-428.
- Gröger, V.D. (1963). *Über das Vorkommen von Ergolinderivaten in Ipomoea-Arten.* Flora, Bd., **153**, 373-382.
- House, M.D. (1908). *The North American Species of the Genus Ipomoea.* Annals of the New York Academic Sciences, **18** (6) 2: 181-263.
- Hofmann, A. y Tschertter, H. (1960). *Isolierung von Lysergäure-Alkaloiden aus der mexikanischen Zauberdroge Ololiuqui (Rivea corymbosa (L.) Hall. f.)* Experientia, **16**, 414.
- Hofmann, A. (1961). Planta Medica, **9**, 354-367.
- Hofmann, A. 1963. *The Active Principles of the Seeds of Rivea corymbosa and Ipomoea violacea.* Botanical Museum Leaflets (Harvard Univ.), **20**, 194-212.
- Jaretzky, R. y Risse, E. (1940). *Vergleichende Untersuchungen über Harz- und Gerbstoffgehalt sowie Wirksamkeit verschiedener Convolvulaceen.* Arch. Exper. Pathol. Pharm., **195**, 226-231.
- Jaretzky, R. y Risse, E. (1940). *Beiträge zur Chemie verschiedener Convolvulaceenharze.* Arch. Pharm., **278**, 379-389.

- Lehninger, A.L. (1982). *Bioquímica*. Barcelona: Omega, S.A.

- Luckner, M. (1990). *Secondary Metabolism in Microorganisms, Plants, and Animals* (3a. ed.). New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

- Mann, J. (1979). *Secondary Metabolism*. Londres: Clarendon Express, Oxford.

- McKey, D. 1974. *Adaptative Patterns in Alkaloid Physiology*. The American Naturalist, 108 (961) , 305-320.

- Noda, N., Ono, M., Miyahara, K., Kawasaki, T., y Okabe, M. (1987). *Resin glycosides: I. Isolation and structure elucidation of orizabin I, II, III and IV, genuine resin glycosides from the root of Ipomoea orizabensis*. Tetrahedron, 43 (17) , 3889-3902.

- Noda, N., Kobayashi, H., Miyahara, K., y Kawasaki, T. (1988). *Resin glycosides: II. Identification and characterization of the component organic and glycosidic acids of the crude resin glycoside from the seeds of Ipomoea muricata*. Chemical Pharmacological Bulletin (Tokio), 36 (2) , 648-653.

- Noda, N., Kobayashi, H., Miyahara, K., y Kawasaki, T. (1988). *Resin glycosides, III: Isolation and structural study of the genuine resin glycosides, muricatins I-VI, from the seeds of Ipomoea muricata*. Chemical Pharmacological Bulletin (Tokio), 36 (3) , 920-929.

- Noda, N., Nishi, M., Miyahara, K., y Kawasaki, T. (1988). *Resin glycosides: IV. Two new resin glycosides, muricatins VII and VIII, from the seeds of Ipomoea muricata*. Chemical Pharmacological Bulletin (Tokio), 36 (5) , 1707-1713.

- Pérez Amador, M.C. y Herrán, J. (1960). *Turbicoryn*, a new glucoside obtained from the seeds of a sacred plant. Tetrahedron Letters, (7), 30-32.

- Pérez Amador, M.C., García Jiménez, F., Herrán, J., y Flores, S.E. (1964). *Structure of turbicoryn*, a new glucoside from *Turbina corymbosa*. Tetrahedron, 20, 2999-3009.

- García Jiménez, F. y Pérez Amador, M.C. (1967). *Corymbosin*, a glucoside from *Turbina corymbosa*. Tetrahedron, 23, 2557-2561.

- Pérez Amador, M.C., González, A. E., Márquez, J., Bailín, J., García Jiménez, F. y Collera, O. (1980). *Perfiles cromatográficos de semillas de algunas especies de Convolvuláceas*. PYTON, 39, 85-94.

- Pérez Amador, M.C., Márquez Guzmán, J., Laguna-Hernández, G. y García Jiménez, F. (1981). *Hidrólisis enzimática de la turbicorina y la corimbosina en las semillas de *Turbina corymbosa**. PYTON, 40 (2), 195-201.

- Pérez Amador, M.C., García Argáez, A., Varela, G. y García Jiménez, F. (1988). *Perfiles cromatográficos de semillas de algunas especies de Convolvuláceas. II. Análisis de tres especies de *Merremia**. PYTON, 48 (1/2), 97-99.

- Pérez Amador, M.C., García Argáez, A., Osuna Fernández, M., García Jiménez, F., y Collera, O. (1989). *Resinas glicosídicas en semillas de Convolvuláceas*. PYTON, 50 (1/2), 35-39.

- Standley, P.C., Williams, L.O. y Gibson, D.N. (1970-73). *Fieldiana: Botany*. Field Museum of Natural History, 24 (1-4) 9, 1-85.

- Taber, W.A. y Heacock, R.A. (1962). *Location of Ergot Alkaloid and Fungi in the Seed of Rivea corymbosa* (L.) Hall. f. "Ololiuqui". Canadian Journal of Microbiology, **8**, 137-143.
- Taber, W.A., Vining, L.C., y Heacock, R.A. (1963). *Clavine and Lysergic Acid Alkaloids in Varieties of Morning Glory*. Phytochemistry, **2**, 65-70.
- Vallete, G. y Liber, A. (1938). *Pouvoir bactéricide des résines de Convolvulacées*. Comptes Rendus des Seances-Societe de Biologie et de ses Filiales, **128**, 362-363.