



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

"ESTUDIO QUIMICO Y BIOLOGICO DE LAS HOJAS DE
HELIANTHELLA QUINQUENERVIS. DETERMINACION
DEL POTENCIAL ALELOPATICO DE DIVERSAS
ESPECIES MEDICINALES MEXICANAS."

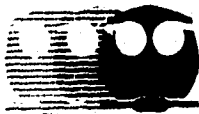
T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A

GRISELDA RIOS LOPEZ



MEXICO, D. F.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.


JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE Dra. Rachel Mata Essayag
VOCAL Dr. Rogelio Pereda Miranda
SECRETARIO M. en C. Perla Carolina Castañeda López
1er. SUPLENTE M. en C. José Fausto Rivero Cruz
2do. SUPLENTE M. en C. Irma Susana Rojas Tome

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

LABORATORIO 124, DEPARTAMENTO DE FARMACIA, EDIFICIO E,
FACULTAD DE QUÍMICA; UNAM.

ASESOR:


M. en C. Perla Carolina Castañeda López

SUSTENTANTE:


Griselda Rios López

AGRADECIMIENTOS

Con todo respeto y admiración a la M. en C. Perla Castañeda por su amista, consejos y sobre todo a su paciencia durante la realización de este trabajo.

A la Dra. Rachel Mata por la oportunidad que me brindo al pertenecer a su grupo de trabajo, por su calidad humana y a las recomendaciones para mejorar el trabajo.

Al Dr. Rogelio Pereda Miranda por los consejos y sugerencias durante la revisión de éste trabajo.

Al Dr. Robert Bye del Jardín Botánico del Instituto de Biología y al B. Gustavo Carmona de la Universidad de Jalapa por proporcionar e identificar el material vegetal utilizado en el presente estudio.

A los M. en C. Federico del Río e Isabel Chávez de los laboratorios de RMN del Instituto de Química de la UNAM, por el registro de los espectros de RMN.

A la QFB. Graciela Chávez y a la Q. Marisela Guitierrez de la Facultad de Química, por el registro de los espectros de IR.

El trabajo experimental de esta tesis se realizó mediante el apoyo económico otorgado a través de los proyectos DGAPA (Dirección General de Asuntos de Personal Académico) IN206795 y CONACYT (Convenio no. 400313-S-2576PM).

A mis compañeros del laboratorio 124 y 6, especialmente a Leda, Susy, Martha y Daniel por su ayuda desinteresada.

DEDICATORIAS

A mis padres Estela y Felipe por todo el apoyo, cariño, comprensión que me brindaron a lo largo de mi vida, por sus consejos y principios que me inculcaron, espero que nunca los defraude, mil gracias.

A mis hermanos Sandra, Alfredo, Mirna y Araceli por compartir alegrías y tristeza, espero que siempre estemos juntos como hasta ahora.

A mis tíos, primos por ser una familia unida y especialmente a Don Agus que siempre ha estado con nosotros en las buenas y en las malas.

A Isabel, Blanca, Irma Mirza, Doris, Chayo, Maricela, Ofelia, Araceli, Julia, Mari, Gloria, Lorena, Angeles, Ageda por brindarme su amistad.

INDICE

Lista de abreviaturas	I
Lista de cuadros	III
Lista de gráficas	V
Lista de figuras	VI
Lista de espectros	VII
I INTRODUCCION	1
1. Alelopatía	1
2. Arvenses y tipos de arvenses	2
3. Antecedentes de las especies objeto de estudio	5
3. 1. Antecedentes de la familia Annonaceae	5
3. 2. Antecedentes de <i>Annona purpurea</i> Moc & Sessé ex Dunal	5
3. 3. Antecedentes de <i>Rollinia jimenezii</i> Saff	6
3. 4. Antecedentes de <i>Desmopsis trunciflora</i> (Schol. Cham) G. E. schatz var <i>glabra</i> G. E. schatz	7
3. 5. Antecedentes de <i>Guamia mexicana</i>	7
3. 6. Antecedentes de <i>Tridimeris tuxtensis</i>	7
3. 7. Antecedentes de <i>Bursera simaruba</i>	9
3. 8. Antecedentes de <i>Scaphyglottis livida</i> (Lindl.) Schltr	10
3. 9. Antecedentes de <i>Helianthella quinque-nervis</i> (Hook) A. Gray	10
3.9.a. Actividades biológicas de benzofuranos y benzopiranos de	15

la familia Asteraceae

II JUSTIFICACION Y OBJETIVOS	21
III PARTE EXPERIMENTAL	24
1. Material vegetal y preparación de los extractos vegetales	24
2. Determinación del efecto fitotóxico de los extractos vegetales	26
3. Fraccionamiento primario de <i>Helianthella quinquenervis</i>	27
4. Análisis cromatográficos	28
5. Determinación de la toxicidad para el crustáceo <i>Artemia salina</i>	30
Leach	
6. Aislamiento y purificación de los compuesto	31
6. 1. Obtención de la desmetilencecalina (10) y euparina (1)	32
6. 2. Obtención de la encecalina (9)	32
6. 3. Obtención de la 3-metoxi-6-hidroxi tremetona (7)	32
7. Determinación de las constantes físicas y espectroscópicas de los productos naturales	34
IV RESULTADOS Y DISCUSION	35
1. Resultados obtenidos de los extractos orgánico sobre el crecimiento radicular de <i>Amaranthus hypochondriacus</i> , <i>Echinochloa crusgalli</i> y <i>Tricum sativum</i>	35
2. <i>Helianthella quinquenervis</i>	36
3. <i>Rollinia jimenezii</i>	38
4. <i>Bursera simaruba</i>	39

5. <i>Annona purpurea</i>	47
6. <i>Desmopsis trunciflora</i>	48
7. <i>Scaphyglottis livida</i>	51
8. <i>Tridimeris tuxtensis</i>	53
9. <i>Guamia mexicana</i>	59
10. Identificación de la desmetilencecalina (10) y euparina (1)	71
11. Identificación de la encecalina (9)	71
12. Identificación de la 3-metoxi-6-hidroxi tremetona (7)	72
V CONCLUSIONES	77
VI BIBLIOGRAFIA	78

Lista de Abreviaturas

AcOEt	Acetato de etilo
2,4-D	ácido 2,4-diclorofenoxiacético
H ₂ O	agua
cm	centímetro
CHCl ₃	cloroformo
CDCl ₃	cloroformo deuterado
CDCl ₃	cloroformo deuterado
CI ₅₀	concentración media inhibitoria
CL ₅₀	concentración letal 50
J	constante de acoplamiento
δ	desplazamiento químico
d	doblete
edo	estado
°C	grados centígrados
g	gramos
Hz	hertz
Hex	hexano
IR	infrarrojo
L	litros
MeOH	metanol
μg	microgramos

μL	microlitros
mg	miligramos
mL	mililitros
ppm	partes por millón
%	por ciento
RMN- ^{13}C	resonancia magnética nuclear de carbono
RMN- ^1H	resonancia magnética nuclear protónica
s	singlete
TMS	tetrametilsilano
UV	ultravioleta

Lista de cuadros

Cuadro 1.	Compuestos aislados de <i>Annona purpurea</i>	6
Cuadro 2.	Acetogeninas aisladas del género <i>Rollinia</i>	8
Cuadro 3.	Compuestos aislados de <i>Bursera simaruba</i>	9
Cuadro 4.	Compuestos aislados del género <i>Helianthella</i>	12
Cuadro 5.	Actividad biológica de algunos benzopiranos y benzofuranos	15
Cuadro 6.	Especies vegetales objeto de evaluación	24
Cuadro 7.	Fraccionamiento preliminar vía cromatografía en columna del extracto metanólico de <i>Helianthella quinquenervis</i>	28
Cuadro 8.	Sistema de elución empleados para los análisis cromatográficos en capa fina	29
Cuadro 9	Agentes cromógenos utilizados para los análisis cromatográficos en capa fina	29
Cuadro 10	Fraccionamiento secundario de la fracción C	31
Cuadro 11	Fraccionamiento secundario de la fracción primaria D	33
Cuadro 12	Resultados de fitoinhibición del extracto metanólico de <i>Helianthella quinquenervis</i>	36
Cuadro 13	Resultados de los bioensayos de fitoinhibición de los extractos de <i>Rollinia jimenezii</i>	38
Cuadro 14	Resultados de los bioensayos de fitoinhibición de los extractos de <i>Bursera simaruba</i>	40
Cuadro 15	Resultados de los bioensayos De fitoinhibición de los extractos de <i>Annona purpurea</i>	47

Cuadro 16	Resultados de los bioensayos de fitoinhibición de los extractos de <i>Desmopsis trunciflora</i>	51
Cuadro 17	Resultados de los bioensayos de fitoinhibición de los extractos de <i>Scaphyglottis livida</i>	52
Cuadro 18	Resultados de los bioensayos de fitoinhibición de los extractos de <i>Tridimeris tuxtliensis</i>	59
Cuadro 19.	Resultados de los bioensayos de fitoinhibición de los extractos de <i>Guamia mexicana</i>	60
Cuadro 20.	Especie más activas sobre el crecimiento radicular de las semillas de prueba	67
Cuadro 21	Resultados de los bioensayos de las fracciones primarias	70
Cuadro 22.	Constantes espectroscópicas y físicas de la desmetilencecalina (10)	73
Cuadro 23.	Constantes espectroscópicas y físicas de la euparina (1)	74
Cuadro 24.	Constantes espectroscópicas y físicas de la enecalina (9)	75
Cuadro 25.	Constantes espectroscópicas y físicas de la 3-metoxi-6-hidroxi-tremetona (7)	76

Lista de Gráficas

Gráfica 1.	Efecto del extracto de <i>Helianthella quinquenervis</i> sobre el crecimiento radicular	37
Gráfica 2.	Efecto del extracto de <i>Rollinia jimenezii</i> (hojas) sobre el crecimiento radicular	41
Gráfica 3.	Efecto del extracto de <i>Rollinia jimenezii</i> (corteza) sobre el crecimiento radicular	42
Gráfica 4.	Efecto del extracto de <i>Rollinia jimenezii</i> (semillas) sobre el crecimiento radicular	43
Gráfica 5.	Efecto del extracto hexánico de <i>Bursera simaruba</i> sobre el crecimiento radicular	44
Gráfica 6.	Efecto del extracto clorofórmico de <i>Bursera simaruba</i> sobre el crecimiento radicular	45
Gráfica 7.	Efecto del extracto metanólico de <i>Bursera simaruba</i> sobre el crecimiento radicular	46
Gráfica 8.	Efecto del extracto de <i>Annona purpurea</i> (semillas) sobre el crecimiento radicular	49
Gráfica 9.	Efecto del extracto <i>Annona purpurea</i> (corteza) sobre el crecimiento radicular	50
Gráfica 10.	Efecto del extracto de <i>Desmopsis trunciflora</i> (corteza) sobre el crecimiento radicular	54
Gráfica 11.	Efecto del extracto de <i>Desmopsis trunciflora</i> (hojas) sobre el crecimiento radicular	55

Gráfica 12. Efecto del extracto hexánico de <i>Scaphyglottis livida</i> sobre el crecimiento radicular	56
Gráfica 13. Efecto del extracto clorofórmico de <i>Scaphyglottis livida</i> sobre el crecimiento radicular	57
Gráfica 14. Efecto del extracto metanólico de <i>Scaphyglottis livida</i> sobre el crecimiento radicular	58
Gráfica 15. Efecto del extracto de <i>Tridimeris tuxtliensis</i> (hojas) sobre el crecimiento radicular	62
Gráfica 16. Efecto del extracto de <i>Tridimeris tuxtliensis</i> (ramas) sobre el crecimiento radicular	63
Gráfica 17. Efecto del extracto de <i>Guamia mexicana</i> (corteza de tronco) sobre el crecimiento radicular	64
Gráfica 18. Efecto del extracto de <i>Guamia mexicana</i> (corteza de ramillas) sobre el crecimiento radicular	65
Gráfica 19. Efecto del extracto de <i>Guamia mexicana</i> (hojas) sobre el crecimiento radicular	66

Lista de figuras

Figura 1 <i>Helianthella quinquenervis</i> (Hook) A. Gray (Asteraceae)	11
------------------------------------------------------------------------	----

Lista de espectros

Espectro 1.	Espectro de IR de la desmetilencecalina (10)	85
Espectro 2.	Espectro de RMN ^1H de la desmetilencecalina (10)	86
Espectro 3.	Espectro de RMN ^{13}C de la desmetilencecalina (10)	87
Espectro 4.	Espectro de RMN ^{13}C modalidad DEPT de la desmetilencecalina (10)	88
Espectro 5.	Espectro de IR de la euparina (1)	89
Espectro 6.	Espectro de RMN ^1H de la euparina (1)	90
Espectro 7.	Espectro de RMN ^{13}C de la euparina (1)	91
Espectro 8.	Espectro de RMN ^{13}C modalidad DEPT de la euparina (1)	92
Espectro 9.	Espectro de IR de la encecalina (9)	93
Espectro 10.	Espectro de RMN ^1H de la encecalina (9)	94
Espectro 11.	Espectro de RMN ^{13}C de la encecalina (9)	95
Espectro 12.	Espectro de RMN ^{13}C modalidad DEPT de la encecalina (9)	96
Espectro 13.	Espectro de IR de la 3-metoxi-6-hidroxi tremetona (7)	97
Espectro 14.	Espectro de RMN ^1H de la 3-metoxi-6-hidroxi tremetona (7)	98
Espectro 15.	Espectro de RMN ^{13}C de la 3-metoxi-6-hidroxi tremetona (7)	99
Espectro 16.	Espectro de RMN ^{13}C modalidad DEPT de la 3-metoxi-6-hidroxi tremetona (7)	100

I INTRODUCCION

1. Alelopatía

Existen diferentes definiciones del termino alelopatía; por ejemplo, el diccionario Webster's Third New International lo define como la repercusión e influencia dañina de una planta sobre otra debido a la excreción de sustancias tóxicas. Por otro lado, Willis (1994) lo define como la interacción de planta-planta y/o microorganismo debido a la secreción de metabolitos secundarios los cuales pueden ser eliminados por volatilización a traves de las hojas, lixiviados, exudados, a traves de las raíces, por liberación de compuestos de restos orgánicos, etc.

Una vez que estas sustancias son liberadas al medio pueden ser transformadas, las cuales llegan al receptor provocando alteración en la fisiología a nivel de crecimiento, desarrollo, reproducción, etc.

Estos trastornos son difíciles de observar, por lo que se han propuesto diversas metodologías para determinar algunas alteraciones; un ejemplo lo constituye la determinación del crecimiento radicular mediante métodos bioautográficos y en caja de Petri (Anaya *et al.*, 1990).

Uno de los objetivos de estas evaluaciones, es encontrar posibles herbicidas de origen natural, por lo que en estos estudios se usan semillas arvenses.

2. Arvenses y tipos de arvenses

Las arvenses son especies que constituyen la vegetación que invade y crece entre los cultivos y los prados artificiales, viviendo en competencia con la vegetación cultivada. Son dañinas e inútiles, ya que compiten por el espacio, luz, agua y nutrientes. Muchas de ellas presentan características como: ciclo de vida cortos, autofertilización, producción de gran cantidad de semillas, etc. (Villegas, 1979). Estas plantas son perjudiciales al hombre debido a que dañan cultivos y jardines, aunque pueden ser de gran utilidad muchas de ellas se usan como alimento, abonos, forrajes, adornos, protectores del suelo, en la medicina tradicional, etc. (Villegas 1979). Algunas de éstas se cultivan como el romero, el epazote, la alegría, etc.

En el caso particular de nuestro país, algunas especies arvenses (Villegas, 1979) que crecen en los cultivos de la cuenca de México son:

-*Amaranthus hybridus* (quelite). Arvense del maíz, frijol y hortalizas; cuando esta tierna es comestible.

-*Chenopodium ambrosioides* (epazote). Arvense escasa en los cultivos; se emplea como condimento, y en la medicina tradicional es empleada como antihelmíntico.

-*Suaeda diffusa* (romero). Arvense del maíz, frijol, hortaliza, etc. Es comestible.

-*Cosmos bipinnatus* (girasol o mirasol). Arvense de maíz, frijol, hortaliza, etc. Se emplea como planta de ornato.

-*Sonchus oleraceus* (lechuguilla). Arvense de alfalfa, frijol, avena, cebada, etc. Algunas personas la usan como alimento.

-*Taraxacum officinale* (diente de león). Arvense de alfalfa, nopal, etc. Se emplea como alimento y en la medicina tradicional como laxante.

-*Tithonia tubaeformis* (gigantón). Arvense de maíz, frijol, cebada, avena etc. Se emplea como planta de ornato.

-*Trifolium repens* (trébol). Arvense principalmente de cultivos de granos; se emplea como planta de ornato.

-*Argemone ochroleuca* (chicalote, cardo). Invade suelos en descanso; se usa en la medicina tradicional como laxante, para conciliar el sueño.

-*Portulaca oleracea* (verdolaga). Invade terrenos en descanso. Es comestible.

A continuación se mencionan algunas características de las arvenses empleadas en el presente estudio.

Echinochloa crusgalli (Gramineae)

Es una planta anual. Se le conoce con el nombre de zacate pinto. Fue introducida de Europa y se distribuye actualmente en zonas templadas y cálidas, lugares con humedad; afecta áreas de cultivo, huertos y ocasionalmente jardines.

Florece durante el verano y otoño, se propaga por semillas y se le considera forraje de mala calidad (Villareal, 1983).

Amaranthus hypochondriacus (Amaranthaceae)

Es una planta americana que se distribuye en México y Estados Unidos. En California, no se cultiva ya que constituye su hábitat natural. En México, se cultiva en los estados de Guerrero, Jalisco, Sonora, Durango y Estado de México. Se le conoce popularmente como "alegría". Actualmente, se cultiva por su valor nutricional. Se ajusta rápidamente en tamaño, forma y niveles de producción a las limitaciones ambientales, sobre todo a la disponibilidad de nutrientes en el suelo (Sanchez, 1991).

Triticum sativum (Gramineae)

Es una planta del viejo mundo; actualmente se cultiva en todo el mundo en medios herbáceos como prados naturales y cultivados, sabanas, estepas, dunas, etc.

Por su valor alimenticio y por sus numerosas utilidades de todo tipo, el trigo ocupa un lugar privilegiado entre las plantas de mayor importancia económica; de las semillas se obtiene la harina, el bagazo de las semillas y del tallo se ocupa como forraje (Paule, 1989).

3. Antecedentes de las especies objeto de estudio

3. 1. Antecedentes de la familia Annonaceae.

La familia de las Annonaceas se caracteriza por tener metabolitos secundarios tales como los alcaloides (Cave *et al.*, 1987), sesquiterpenos (Waterman *et al.*, 1985), cetonas (Salatino *et al.*, 1983), benzoquinolinas (Waterman *et al.*, 1984), alcaloides isoquinolínicos (Waterman *et al.*, 1984), lactonas (Maillard *et al.*, 1994) y acetogeninas (Fontana *et al.*, 1994, Xin-Ping *et al.*, 1993, Fang *et al.*, 1993).

Cabe mencionar que estos últimos metabolitos son los más estudiados y han demostrado diversas actividades biológicas como: citotóxica (Cave *et al.*, 1993, Fontana *et al.*, 1994), antiparasitaria (Cave *et al.*, 1993), antifúngica (Cepleanu *et al.*, 1993), antibacteriana (Cepleanu *et al.*, 1993), pesticida (Cave *et al.*, 1993, Mikolajczak *et al.*, 1987, Xin-Ping *et al.*, 1993, Fang *et al.*, 1993), antitumoral (Xin-Ping *et al.*, 1993 y Fontana *et al.*, 1994) e inhibición del transporte de electrones en la mitocondria (Xin-Ping *et al.*, 1993, Fang *et al.*, 1993).

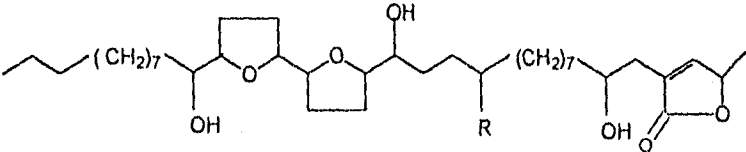
3. 2. Antecedentes de *Annona purpurea* Moc & Sessé ex Dunal

Annona purpurea (Annonaceae) es un árbol de 7 m de altura, que se distribuye en Veracruz, Jalisco, Michoacán, Oaxaca, Chiapas y Yucatán. Se le

conoce comúnmente como anona morada, cabeza llama, cabeza negro, chincuya, papanaca e ilama. Su fruto es comestible y se emplea en la medicina tradicional como antipirético y anticatarral (Martínez, 1979).

Estudios químicos realizados sobre esta especie han permitido aislar y caracterizar acetogeninas. Algunos ejemplos de estos compuestos se presentan en el cuadro 1.

Cuadro. 1. Compuestos aislados de *Annona purpurea*.

Especie	Compuesto	Referencia
		
<i>Annona purpurea</i>	R=H (bulatacina)	Ceplanu <i>et al.</i> , 1993
	R=OH (purpureacina)	Ceplanu <i>et al.</i> , 1993

3. 3. Antecedentes de *Rollinia jimenezii* Saff

Rollinea jimenezii (Annonaceae), es un árbol que se distribuye en Oaxaca y Veracruz (Martínez, 1979). Es conocida popularmente como anonolla y rollinea. Investigaciones realizadas a este género han permitido aislar acetogeninas de

tipo tetrahidrofurano (Abreo et al., 1991). En el cuadro 2 se incluyen algunos ejemplos de las acetogeninas aisladas del género *Rollinia*.

3. 4. Antecedentes de *Desmopsis trunciflora* (Schol. Cham) G. E. schatz var *glabra* G. E. schatz.

Desmopsis trunciflora (Annonaceae) es un árbol de 3m de altura; en la región de recolección son escasos los ejemplares y se encuentra distribuido en el estado Veracruz. No se cuenta con estudios químicos previos.

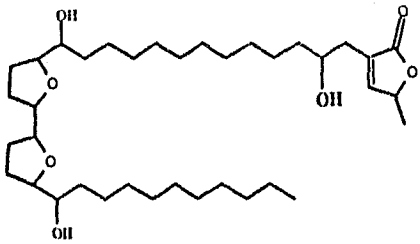
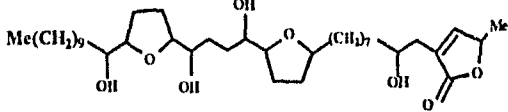
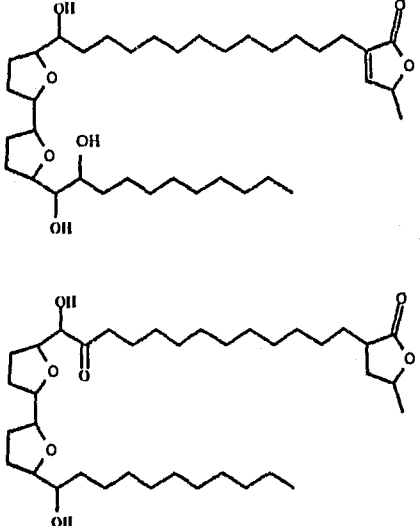
3. 5. Antecedentes de *Guamia mexicana*

Guamia mexicana (Annonaceae) es un árbol que su fruto es comestible y se encuentra distribuida en Veracruz. No se cuenta con estudios químicos previos de esta especie.

3. 6. Antecedentes de *Tridimeris tuxtliensis*

Tridimeris tuxtliensis (Annonaceae) es un árbol que se encuentra distribuido en Veracruz y no se cuenta con información fitoquímica previa de esta especie.

Cuadro 2. Acetogeninas aisladas del género *Rollinia*

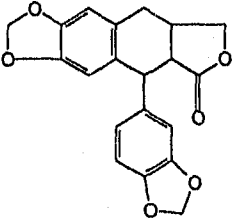
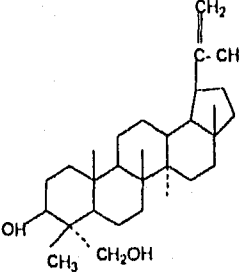
Especie	Compuesto	Referencia
<i>Rollinia mucosa</i>		Fontana <i>et al.</i> , 1994
<i>Rollinia silvatica</i>		Kent <i>et al.</i> , 1990
<i>Rollinia papilionella</i>		Kent <i>et al.</i> , 1990

3. 7. Antecedentes de *Bursera simaruba*

Bursera simaruba (Burseraceae) es un árbol que se distribuye en Sinaloa, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán, Chiapas, Oaxaca, Campeche y Quintana Roo; se le conoce popularmente como palo mulato, piocha, quiote, cohuite y copafillo. Su madera se usa para la fabricación de muebles rústicos y mangos de herramientas. En la medicina tradicional se usa como antipirético, antidoto de quemaduras, diurético, purgante (Niembro, 1986 y Martínez, 1979) y como antidoto para la dermatitis causada por *Metopium brownei* (Pereza *et al.*, 1992).

De este género se han aislado triterpenos, lignanos y flavonoides algunos ejemplos se muestran en el cuadro 3.

Cuadro 3. Compuestos aislados de *Bursera simaruba*

Especie	Compuesto	Referencia
<i>Bursera simaruba</i>		Pereza <i>et al.</i> , 1992
<i>Bursera simaruba</i>		Pereza <i>et al.</i> , 1995

3.8. Antecedentes de *Scaphyglottis livida* (Lindl.) Schltr.

Scaphyglottis livida (Orchideaceae) es un arbusto que se distribuye en Veracruz; se le conoce como parásita. Es empleada en la medicina tradicional como agente antiabortivo, antiulceroso y para lavar heridas. Es dominante en su hábitat (Bye, comunicación personal). Desde el punto de vista fitoquímico, la especie no ha sido objeto de estudio.

3.9. Antecedentes de *Helianthella quinquenervis* (Hook) A. Gray

El género *Helianthella* pertenece a la familia Asteraceae (subtribu Heliantheae), el cual incluye tres especies: *Helianthella madrensis*, *Helianthella uniflora* y *Helianthella quinquenervis*.

Helianthella quinquenervis (Figura 1) se encuentra distribuida al oeste de los Estados Unidos de América, Canadá y México (Herz *et al.*, 1983). En el caso particular de México, se encuentra localizada en el estado de Chihuahua, donde es empleada por los tarahumaras en la piel de humanos y animales domésticos para eliminar ectoparásitos; así mismo en infusión como agente antiparasitario y para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales. En ambos casos se usa la raíz, (Bye *et al.*, 1985).

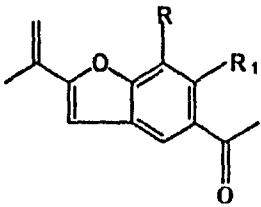
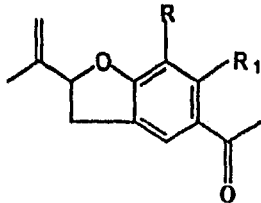
Los estudios químicos de este género son pocos, se han realizado únicamente investigaciones de *H. uniflora* (Bohlmann *et al.*, 1970) y *H. quinquenervis* (Herz *et al.*, 1983; Castañeda *et al.*, 1996; Inouye *et al.*, 1980). Estos estudios condujeron al aislamiento e identificación de diversos



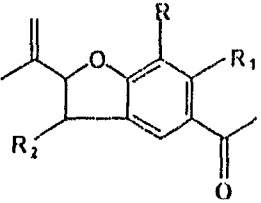
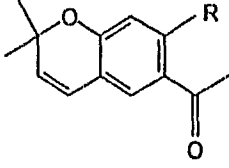
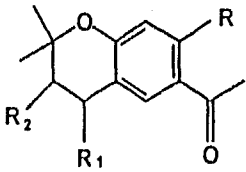
Figura 1. *Helianthella quinquenervis* (Hook) A. Gray

benzofuranos, benzopiranos y prenilacetofenonas. En el cuadro 4 se muestran los compuestos aislados de ambas.

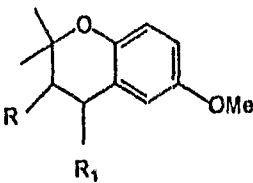
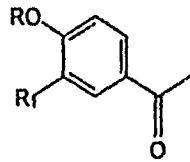
Cuadro 4. Compuestos aislados del género *Helianthella*

Fuente natural	Compuesto	Referencia
<i>H. uniflora</i> y		
<i>H. quinquenervis</i>	R=-H R ₁ =-OH (1)	Bohlmann <i>et al.</i> , 1970, Castañeda <i>et al.</i> , 1996.
	R=-OMe R ₁ =-OH (2)	Bohlmann <i>et al.</i> , 1970
<i>H. uniflora</i> y		
<i>H. quinquenervis</i>	R=-H R ₁ =-OH (3)	Bohlmann <i>et al.</i> , 1970
	R=-OMe R ₁ =-OH (4)	Bohlmann <i>et al.</i> , 1970, Herz <i>et al.</i> , 1983
	R=- OMe R ₁ =-H (5)	Bohlmann <i>et al.</i> , 1970

Cuadro 4. Compuestos aislados del género *Helianthella* (continuación)

Fuente natural	Compuesto	Referencia
<i>H. quinquenervis</i>		
	R=-H R ₁ =-MeO R ₂ =-H (6)	Castañeda <i>et al.</i> , 1996
	R=-H R ₁ =-OH R ₂ =-OMe (7)	Castañeda <i>et al.</i> , 1996
<i>H. quinquenervis</i>		
	R=-OAc (8)	Herz <i>et al.</i> , 1983
	R=-OMe (9)	Herz <i>et al.</i> , 1983, Castañeda <i>et al.</i> , 1996
<i>H. uniflora</i> y <i>H. quinquenervis</i>	R=-OH (10)	Bohlmann <i>et al.</i> , 1970, Herz <i>et al.</i> , 1983, Castañeda <i>et al.</i> , 1996
	R=-H (11)	Bohlmann <i>et al.</i> , 1970, Herz <i>et al.</i> , 1983
<i>H. quinquenervis</i>		
	R=R ₁ =R ₂ =-OH (12)	Herz <i>et al.</i> , 1983
	R=-OH R ₁ =-H R ₂ =-CH ₃ (13)	Herz <i>et al.</i> , 1983

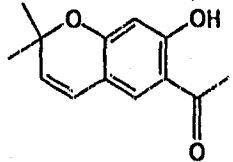
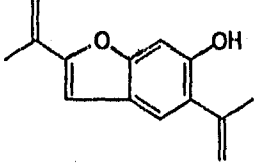
Cuadro 4. Compuestos aislados del género *Hellanthella* (continuación)

Fuente natural	Compuesto	Referencia
<i>H. quinquenervis</i>		Herz <i>et al.</i> , 1983
	R=OH R ₁ =OH (14)	
<i>H. quinquenervis</i>		Castañeda <i>et al.</i> , 1996
	$R_1 = \text{CH} = \text{CH} - \text{C}(\text{CH}_3)_2$ R=β-D-glucopiranosil (15)	
	$R_1 = \text{CH} = \text{CH} - \text{C}(\text{CH}_3)_2$ R=H (16)	
<i>H. uniflora</i>	$R_1 = \text{CH} = \text{CH} - \text{C}(\text{CH}_3)_2$ OMe	Bohlmann <i>et al.</i> , 1970
	$R_1 = \text{CH} = \text{CH} - \text{C}(\text{CH}_3)_2$ OH	
	R=H(18)	

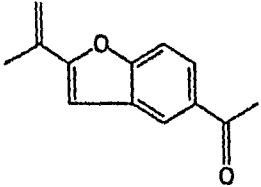
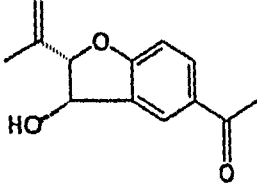
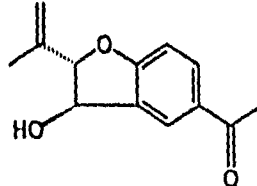
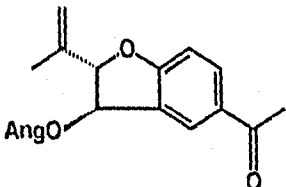
3. 9. a. Actividades biológicas de benzopiranos y benzofuranos aislados de la familia Asteraceae.

La familia de las Asteraceae es muy amplia y comprende diversas tribus que se han estudiado por separado; de esta familia se han aislado e identificado más de 167 benzopiranos y 170 benzofuranos (Proksch *et al.*, 1983), de los cuales se ha demostrado que presentan diversas actividades biológicas tales como: insecticida, bacteriostática, antifúngica, fitotóxica, fototóxica, citotóxica, antitumoral y hormonas vegetales. En el cuadro 5 se mencionan algunos ejemplos de compuestos, así como sus actividades biológicas.

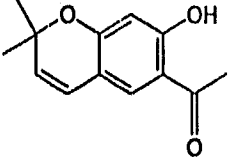
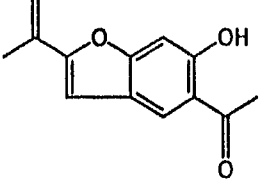
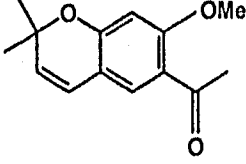
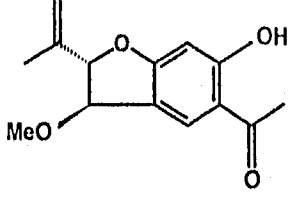
Cuadro 5. Actividad biológica de algunos benzopiranos y benzofuranos

Actividad Biológica	Compuesto	Referencia
Antifúngicos	 Desmetilencecallina (10)	Castañeda <i>et al.</i> , 1996
	 Euparina (1)	

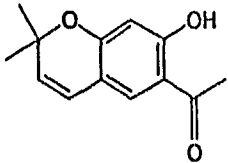
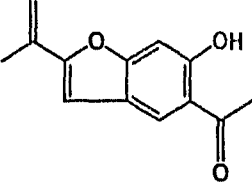
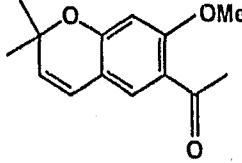
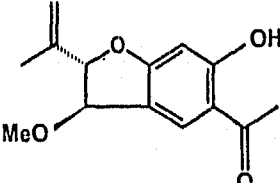
Cuadro 5. Actividad biológica de algunos benzopiranos y benzofuranos (continuación)

Actividad Biológica	Compuesto	Referencia
Bacteriostáticos	 <p data-bbox="506 842 744 874">Dehidrotremetona (19)</p>	Proksch <i>et al.</i> , 1983
	 <p data-bbox="579 1124 685 1157">Toxol (20)</p>	
Antitumorales	 <p data-bbox="579 1413 685 1445">Toxol (20)</p>	Proksch <i>et al.</i> , 1983
	 <p data-bbox="515 1695 758 1727">Angelato de toxilo (21)</p>	

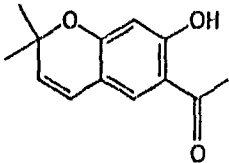
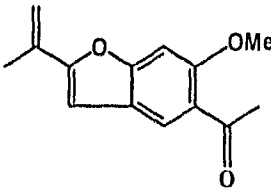
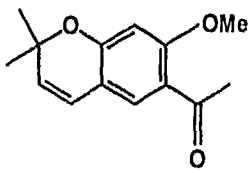
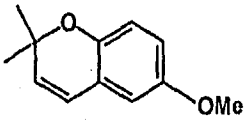
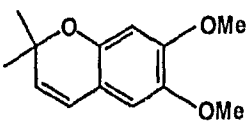
Cuadro 5. Actividad biológica de algunos benzopiranos y benzofuranos (continuación)

Actividad Biológica	Compuesto	Referencia
Citotóxico	 <p>Desmetilencecalina (10)</p>	Castañeda <i>et al.</i> , 1996
	 <p>Euparina (1)</p>	
	 <p>Encecalina (9)</p>	
	 <p>3-metoxi-6-hidroxi-tremetona (7)</p>	

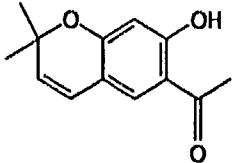
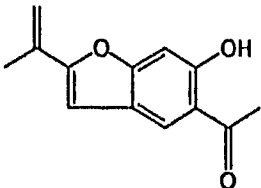
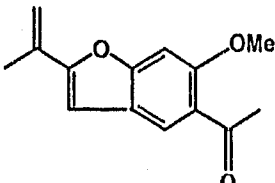
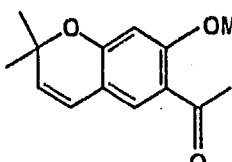
Cuadro 5. Actividad biológica de algunos benzopiranos y benzofuranos (continuación)

Actividad Biológica	Compuesto	Referencia
Fitotóxicos	 <p>Desmetilencecalina (10)</p>	Castañeda <i>et al.</i> , 1996
	 <p>Euparina (1)</p>	
	 <p>Encecalina (9)</p>	
	 <p>3-metoxi-6-hidroxi tremetona (7)</p>	

Cuadro 5. Actividades biológica de algunos benzopiranos y benzofuranos (continuación)

Actividad biológica	Compuesto	Referencia
Fototóxicos	 <p>Desmetilencecalina (10)</p>  <p>6-metoxi euparina (24)</p>  <p>Encecalina (9)</p>	Proksch <i>et al.</i> , 1983
Hormonas vegetales	 <p>Precoceno I (22)</p>  <p>Precoceno II (23)</p>	Proksch <i>et al.</i> , 1983

Cuadro 5. Actividad biológica de algunos benzopiranos y benzofuranos (continuación).

Actividad Biológica	Compuesto	Referencia
Insecticida	 <p>Desmetilencecalina (10)</p>	Srivastava <i>et al.</i> , 1990
	 <p>Euparina (1)</p>	Srivastava <i>et al.</i> , 1990, Wisdom <i>et al.</i> , 1985
	 <p>6 -metoxi-euparina (24)</p>	Wisdom <i>et al.</i> , 1985, Srivastava <i>et al.</i> , 1990
	 <p>Encecalina (9)</p>	Proksch <i>et al.</i> , 1983, Srivastava <i>et al.</i> , 1990, Wisdom <i>et al.</i> , 1985.

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

En nuestro país existe una amplia diversidad de fauna y flora, esto se debe a la variedad de climas que encontramos a lo largo del territorio nacional. Podemos encontrar desde plantas de desierto (cactus) hasta plantas tropicales (caucho, tabaco); esta variabilidad de especies nos ha permitido el empleo de la flora como: fuente alimenticia, en la fabricación de herramientas y muebles, ornamentales y en la medicina tradicional, entre otras.

Por lo que respecta al uso medicinal es muy practicado en diversos estratos sociales. Se sabe que desde la época prehispánica los grupos indigenistas usaban la herbolaria para curar enfermedades y en sus ritos religiosos. En los últimos años la investigación de plantas medicinales mexicanas ha tomado importancia debido a la gran variedad de propiedades biológicas demostradas, además de que constituyen una fuente potencial de nuevos y/o conocidos principios bioactivos de interés medicinal y agroquímico. Sin embargo, la búsqueda de agentes herbicidas de origen natural es una rama que no ha sido desarrollada ampliamente en nuestro país.

La necesidad de controlar el crecimiento de arvenses con productos químicos no es reciente. Desde hace más de 5000 años las arvenses comenzaron a competir con los cultivos, por humedad, nutrientes, luz, etc. En la actualidad, se emplean diversos herbicidas sintéticos con todas las desventajas que con lleva su

uso: no son biodegradables y causan daño al ambiente, por tan solo mencionar algunos.

En consecuencia, la búsqueda de herbicidas de origen natural cobra una gran importancia.

Considerando lo antes mencionado, se planteó un proyecto encaminado a la búsqueda de posibles herbicidas naturales mediante la evaluación del efecto fitotóxico de extractos derivados de algunas especies mexicanas, por lo cual se plantearon los siguientes objetivos generales.

Objetivos generales

1. Realizar una evaluación del potencial alelopático de especies vegetales seleccionadas para la detección de posibles candidatos para estudios biodirigidos conducentes al aislamiento de herbicidas naturales.

2. Realizar el estudio químico biodirigido de la especie que demuestre el mayor potencial fitotóxico.

Para el cumplimiento de los objetivos generales se contemplaron los siguientes objetivos específicos:

1. Recopilar la información botánica, etnobotánica y química de cada una de las especies seleccionadas.

2. Preparar los extractos vegetales de las plantas seleccionadas mediante un proceso de maceración.

3. Determinar el efecto fitotóxico de los extractos vegetales preparados a partir de las especies seleccionadas.

4. Fraccionar el extracto más activo por métodos cromatográficos.

5. Separar mediante métodos fitoquímicos convencionales los constituyentes mayoritarios de las diferentes fracciones.

6. Identificar mediante métodos químicos y espectroscópicos las sustancias aisladas.

III. PARTE EXPERIMENTAL.

1. Material vegetal y preparación de los extractos vegetales.

Las especies objeto de estudio y su sitio de recolección se indican en el cuadro 6. Una muestra de referencia de *R. jimenezii*, *D. trunciflora*, *T. tuxtliensis*, *A. purpurea* y *G. mexicana* se depositó en la colección del Instituto de Ecología de Jalapa Veracruz; de las especies *S. livida* y *H. quinquenervis* se depositaron en la colección etnobotánica del Herbario Nacional (MEXU), Instituto de Biología, UNAM.

20 g de cada especie vegetal se secaron a temperatura ambiente y se fragmentaron manualmente. Para preparar el extracto, el material vegetal se extrajo con diversos disolventes mediante un proceso de maceración. Finalmente, todos los extractos se concentraron a sequedad mediante un rotaevaporador. Los disolventes empleados y las proporciones se indican en el cuadro 6.

Cuadro 6. Especies vegetales objeto de evaluación

Espece vegetal	Sitio de recolección	Parte empleada	Disolvente de extracción
<i>Tridimeris</i>	San Andres Tuxtla, Veracruz	Hojas	MeOH 100%
<i>tuxtliensis</i>	San Andres Tuxtla, Veracruz	Ramillas jovenes	MeOH 100%

Cuadro 6. Especies vegetales objeto de evaluación (continuación)

Espece vegetal	Sitio de recolección	Parte empleada	Disolvente de extracción
<i>Guamia mexicana</i>	San Andres Tuxtla, Veracruz	Corteza (tronco)	CHCl ₃ /MeOH (1:1)
	San Andres Tuxtla, Veracruz	Corteza (ramas)	CHCl ₃ /MeOH (1:1)
	San Andres Tuxtla, Veracruz	Hojas	CHCl ₃ /MeOH (1:1)
<i>Desmopsis trunciflora</i>	Cuatotolapan Catemaco, Veracruz	Hojas	CHCl ₃ /MeOH (1:1)
	Cuatotolapan Catemaco, Veracruz	Corteza	CHCl ₃ /MeOH (1:1)
<i>Annona purpurea</i>	Pipiapan Catemaco, Veracruz	Corteza	CHCl ₃ /MeOH (1:1)
	Pipiapan Catemaco, Veracruz	Semillas	CHCl ₃ /MeOH (1:1)
<i>Rollinia jimenezii</i>	San Rafael Catemaco, Veracruz	Hojas	CHCl ₃ /MeOH (1:1)
	San Rafael Catemaco, Veracruz	Semillas	CHCl ₃ /MeOH (1:1)
	San Rafael Catemaco, Veracruz	Corteza	CHCl ₃ /MeOH (1:1)
<i>Scaphyglottis livida</i>	Ruiz Cortines Catemaco, Veracruz	Planta completa	Hexano 100%
	Ruiz Cortines Catemaco, Veracruz	Planta completa	CHCl ₃ 100%
	Ruiz Cortines Catemaco, Veracruz	Planta completa	MeOH 100%

Cuadro 6. Especies vegetales objeto de evaluación (continuación)

Especie vegetal	Sitio de recolección	Parte empleada	Disolvente de extracción
<i>Bursera simuruba</i>	Naranjillo Catemaco, Veracruz	Corteza	Hexano 100%
	Naranjillo Catemaco, Veracruz	Corteza	CHCl ₃ 100%
	Naranjillo Catemaco, Veracruz	Corteza	MeOH 100%
<i>Helianthella quinquenervis</i>	Bocoyna, Chihuahua	Hojas	MeOH 100%

2. Determinación del efecto fitotóxico de los extractos vegetales.

El potencial alelopático de los extractos y fracciones se determinó midiendo el efecto sobre el crecimiento radicular de *A. hypochondriacus*, *E. crusgalli* y *T. sativum*.

Los bioensayos se realizaron en cajas de Petri (Anaya *et al.*, 1990) de 9 cm de diámetro interno. Cada una de las muestras de prueba se disolvieron en CHCl₃ o en CHCl₃/MeOH (1:1) y se prepararon soluciones a diferentes concentraciones; 1 mL de estas soluciones se vertieron en las cajas de Petri sobre un disco de papel filtro, y el disolvente se evaporó mediante una corriente de aire.

Para el caso de *T. sativum*, las semillas se lavaron en una solución de hipoclorito de sodio al 10 %, previo a la germinación de las mismas.

Posteriormente, se inició la germinación de 10 semillas de cada una de las especies vegetales de prueba, humedeciendo el papel filtro con 2 a 3 mL de agua

destilada. El mismo procedimiento se utilizó para los controles, uno que contenía únicamente disolvente y otro el control positivo (Ácido 2,4 clorofenoxiacético).

Las cajas de Petri se sellaron y se mantuvieron en la oscuridad a 30°C. La actividad fitotóxica se registró midiendo la longitud de las radículas después de 24 horas para *A. hypochondriacus* y 48 horas para *E. crusgalli* y *T. sativum*. En todos los casos se realizaron 4 réplicas.

Los resultados obtenidos se analizaron mediante la prueba estadística de ANOVA, ($p < 0.05$); los valores de concentración media inhibitoria (CI_{50}) se obtuvieron mediante el programa de Finney.

3. Fraccionamiento primario de *Helianthella quinquenervis*.

El material molido (212 g) se extrajo con MeOH, se filtró y se concentró al vacío, obteniéndose 26.5 g de extracto concentrado, el cual se trató con carbón activado, obteniéndose finalmente 16 g de extracto.

El extracto tratado se fraccionó mediante cromatografía en columna abierta, utilizando como adsorbente gel de sílice (160 g de sílica Gel G-60 Merck, gránulo de 0.2-0.5 mm, malla 70-230). El proceso de elución se efectuó con hexano, $CHCl_3$ y MeOH en diferentes proporciones, obteniéndose un total de 185 fracciones, combinándose aquellas que presentaron características cromatográficas similares. (Cuadro 7).

Cuadro 7. Fraccionamiento preliminar vía cromatografía en columna del extracto metanólico de *Helianthella quinquenervis*

Eluyente	Proporción	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave de la fracción combinada
Hexano	100	1-6		
Hexano/CHCl ₃	90-10	7-23	1-35	
	80-20	24-34		
	70-30	35-76	36	A
			37-44	B
			45-49	C
			50-60	D
			61-82	E
	60-40	77-92	83-110	F
	50-50	93-102		
	40-60	103-117		
CHCl ₃	100	126-139	111-140	H
CHCl ₃ /MeOH	95-5	140-156	141-151	I
			152-156	J
	90-10	157-174	157-171	K
	70-30	175-184	172-178	L
	50-50	185	179-185	M

4. Análisis cromatográficos

Los análisis cromatográficos en capa fina se realizaron siguiendo las técnicas convencionales, utilizando placas de aluminio recubiertas de gel de sílice (sílica

gel 60 F₂₅₄ Merck), varios sistemas de eluyentes y diferentes agentes cromógenos. Los sistemas de elución y los reactivos reveladores empleados se resumen en los cuadros 8 y 9, respectivamente

Cuadro 8. Sistemas de elución empleados para los análisis cromatográficos en capa fina.

Sistema	Composición	Proporción %
A	Hex/CHCl ₃	Diversas
B	CHCl ₃ /MeOH	Diversas
C	CHCl ₃	100
D	Benceno/AcOEt	Diversas
E	Benceno/CHCl ₃	Diversas
F	Acetona/H ₂ O	90-10

Cuadro 9. Agentes cromógenos utilizados para los análisis cromatográficos en capa fina

Reactivos	Composición	Referencia
Sulfato cérico	Sulfato cérico 12.0g	Gringeb, 1991
	Ácido sulfúrico 22.2 mL	
	Hielo 350 g	
Anisaldehído	Anisaldehído 0.5 mL	
	Etanol 9.0 mL	
	Ácido sulfúrico concentrado 0.5 mL	
	Ácido acético 1.0 mL	

Para el desarrollo de color es necesario calentar por dos minutos aproximadamente a 110°C

5. Determinación de la toxicidad para el crustáceo *Artemia salina* Leach.

Para determinar la toxicidad para *Artemia salina*, se utilizó el método descrito por Meyer y colaboradores (1982), el cual se describe a continuación:

Los huevecillos del crustáceo *Artemia salina* se incubaron en un medio salino artificial durante 48 horas; al término de este tiempo los crustáceos se encontraban en disposición de ser usados para el bioensayo.

Para la preparación de las muestras, se pesaron 20 mg de la muestra de prueba (extracto ó fracción) y se disolvieron en 2 mL del disolvente apropiado. De la solución anterior se transfirieron 5, 50 y 500 μL a viales de manera independiente y por triplicado. El disolvente se dejó evaporar a sequedad a temperatura ambiente o al vacío.

Se transfirieron 10 crustáceos a cada uno de los viales que contenían las muestras de prueba y se aforó a 5 mL con un medio salino artificial. De esta forma se obtuvieron concentraciones finales de 10, 100 y 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente.

Los frascos se mantuvieron con iluminación artificial durante 24 horas; transcurrido este tiempo se procedió a contar el número de crustáceos sobrevivientes. Para el cálculo de la concentración letal media (CL_{50}) se utilizó el programa de análisis de probabilidad de Finney. Para que un extracto o fracción se considere activo, la CL_{50} debe ser menor a 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y en caso de un compuesto puro, la CL_{50} debe ser menor a 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Anderson *et al.*, 1991).

6. Aislamiento y purificación de los compuestos

La fracción primaria activa C (1.478 g cuadro 7), se recromatografió en una columna abierta, utilizándose como adsorbente 15 g de gel de sílice. El proceso de elución se llevo a cabo con hexano, hexano-benceno (diferentes proporciones), benceno, benceno-CHCl₃ (diferentes proporciones) y CHCl₃. Se recolectaron 381 fracciones de 10 ml cada una y se analizaron por cromatografía en capa fina, combinándose aquellas que presentaron características cromatográficas similares. En el cuadro 6 se resume el fraccionamiento secundario de la fracción C.

Cuadro 10. Fraccionamiento secundario de la fracción primaria C.

Eluyente	Proporción %	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave	
Hexano	100	1-8	1-43		
Hexano/benceno	90-10	9-20			
	80-20	21-32			
	70-30	33-171	42-184	C.I	
	60-40	172-194	185-201	C.II	
	50-50		195-245	202-209	C.III
				210-230	C.IV
	40-60	246-335	231-352	C.V	
30-70	336-348				
Benceno	100	349-352			
Benceno/CHCl ₃	50-50	353-366	353-366	C.VI	
CHCl ₃	100	367-381	367-381	C.VII	

6. 1. Obtención de la desmetilencecalina (10) y euparina (1).

La fracción secundaria C.I (cuadro 10), se cromatografió en una placa preparativa con 21.3 mg de muestra en un sistema de elución Hex/Benceno 4:6, la cual permitió aislar dos compuestos sólidos de punto de fusión 71-72°C (10) y 120-121°C (1), respectivamente.

6. 2. Obtención de la encecalina (9)

La fracción secundaria C.V (cuadro 10), se cromatografió en una placa preparativa con 21.36 mg de muestra en un sistema de elución Hex/benceno 45:55, obteniéndose 15 mg de un compuesto de aspecto aceitoso, color amarillo.

6. 3. Obtención de la 3-metoxi-6-hidroxi-tremetona (7)

La fracción primaria D (1.4265 g cuadro 7), se recromatografió en una columna abierta, utilizándose como adsorbente 15g de gel de sílice. El proceso de elución se llevó a cabo con Hexano/Benceno (diferentes proporciones), Benceno, Benceno/CHCl₃ (diferentes proporciones) y CHCl₃. Se recolectó un total de 212 fracciones de 10 mL cada una y se analizaron por cromatografía en capa fina, combinándose aquellas que presentaron características cromatográficas similares.

En el cuadro 11 se resumen las fracciones obtenidas, los sistemas de elución empleados y las fracciones combinadas.

Cuadro 11. Fraccionamiento secundario de la fracción primaria D

Eluyente	Proporción	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave
Hex/Benceno	50-50	1-178	1-9	
			10-12	D.I
			13-15	D.II
			16-24	D.III
			25-30	D.IV
			31-58	D.V
			59-73	D.VI
			74-83	D.VII
			84-109	D.VIII
			110-141	D.IX
			142	D.X
		143-148	D.XI	
	40-60	179-187		
Benceno	100	188-200		
Benceno/CHCl ₃	50-50	201-206		
CHCl ₃	100	207-212		

Sucesivas cromatografías preparativas en capa fina de la fracción secundaria D.V, utilizando como eluyente una mezcla de CHCl₃/MeOH (98:2), permitieron el aislamiento de 6 mg de un sólido con punto de fusión de 81-83°C.

Finalmente, de las fracciones secundarias D.I, D.II y D.III se identificaron los compuestos aislados en la fracción C.I., mediante cromatografía comparativa en capa fina.

7. Determinación de las constantes físicas y espectroscópicas de los productos naturales.

a) Los puntos de fusión se midieron en un aparato Fisher-Jhones, y se reportaron sin corregir.

b) Los espectros de infrarrojo se registraron en un espectrofotómetro de rejillas Perkin-Elmer, modelo 599; en pastilla de KBr.

Los espectros de resonancia magnética nuclear se registraron en un aparato Varian VXR-3005 (Instituto de Química UNAM), utilizando como disolvente CDCl_3 y como referencia interna TMS.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

1. Resultados obtenidos de los extractos orgánicos sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus hypochondriacus*, *Echinochloa crusgalli* y *Tricum sativum*.

El presente estudio comprendió la determinación del potencial alelopático de 19 extractos derivados de 8 especies vegetales.

Cabe mencionar que la preselección de dichas especies objeto de estudio de algunas de ellas se realizó por el uso medicinal y al azar, ya que se ha encontrado que algunas plantas contienen compuestos que pueden inhibir el crecimiento radicular de algunas especies arvenses (Acevedo, 1995; Sanchez, 1993). En todos los casos el material vegetal recolectado se desecó a temperatura ambiente y se fragmentó.

Posteriormente, se extrajo mediante un proceso de maceración empleando diferentes disolventes. En el caso de *Tridimeris tuxtensis* y *Helianthella quinquenervis* se empleó metanol; en el caso particular de *Bursera simaruba* y *Scaphyglottis livida* se utilizaron hexano, cloroformo y metanol como disolventes de extracción. Para *Guamia mexicana*, *Rollinia jimenezii*, *Annona purpurea* y *Desmopsis trunciflora*, se uso una mezcla de MeOH:CHCl₃, 1:1.

La evaluación alelopática se determinó mediante el crecimiento radicular de *A. hypochondriacus*, *E. crusgalli* y *T. sativum*. Los resultados obtenidos de estas evaluaciones, se indican en los cuadros 12-19.

2. *Helianthella quinquenervis*

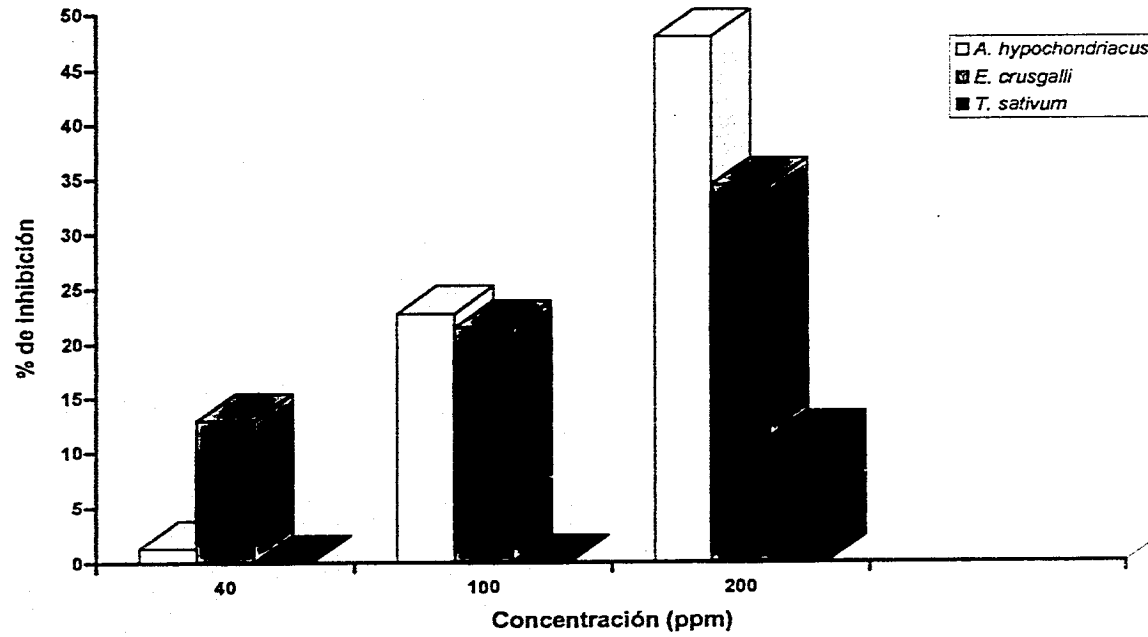
Los resultados obtenidos del extracto metanólico de *Helianthella quinquenervis* (Cuadro 12), demostraron una significativa actividad fitotóxica para las semillas evaluadas; a 200 ppm mostró 47 y 35 % de inhibición para *A. hypochondriacus* y *E. crusgalli*, respectivamente, mientras que para *T. sativum* la actividad fue nula.

Cuadro 12. Resultados de fitoinhibición del extracto metanólico de *Helianthella quinquenervis*

Tratamiento	% de inhibición de <i>A. hypochondriacus</i>	% de inhibición de <i>E. crusgalli</i>	% de inhibición de <i>T. sativum</i>
Control (H ₂ O)	0.0 ±1.1	0.0 ±1.9	0.0 ±3.5
Control (50 µg/mL 2,4 D)	100	100	100
40 µg/mL	0.0 ±1.3	12.96 ±1.8	0.0 ±3.3
100 µg/mL	22.81 ±1.2	21.49 ±2.5	0.0 ±3.8
200 µg/mL	47.95 ±1.1	34.46 ±2.8	11.32 ±3.4

Valores que no difieren significativamente del control (Dunns α 0.05). Cada cifra representa el promedio de 4 repeticiones

Gráfica 1. Efecto del extracto de *Helianthella quinquenervis* sobre el crecimiento radicular



3. *Rollinia jimenezii*

Como se puede observar en las gráficas 2 y 3 los extractos obtenidos de las hojas y corteza de esta especie mostraron un comportamiento similar; inhiben de manera significativa el crecimiento radicular de *A. hypochondriacus* y *E. crusgalli* a concentraciones de 500 y 1000 ppm e inhiben moderadamente el crecimiento de *T. sativum*. Los resultados se pueden observar en el Cuadro 13. Por otra parte, el extracto de las semillas inhibió pobremente el crecimiento radicular de *E. crusgalli*, *A. hypochondriacus* y *T. sativum*.

Cuadro 13. Resultados de los bioensayos de fitoinhibición de los extractos de *Rollinia jimenezii*.

Tratamiento	% de inhibición <i>A. hypochondriacus</i>	% de inhibición <i>E. crusgalli</i>	% de inhibición <i>T. sativum</i>
Control (50 µg/mL 2, 4 D)	100	100	100
Control (H ₂ O)	0.0 ±1.2	0.0 ±2.0	0.0 ±2.9
Corteza			
50 µg/mL	0.0 ±1.2	8.72 ±2.6	6.74 ±3.4
100 µg/mL	8.38 ±1.3	2.28 ±2.3	4.44 ±3.6
500 µg/mL	42.5 ±1.9	18.8 ±2.5	6.37 ±4.2
1000 µg/mL	65.5 ±1.9	30.75 ±2.5	12.04 ±3.4
Hojas			
50 µg/mL	6.38 ±1.25	20.23 ±3.6	7.26 ±4.0
100 µg/mL	19.66 ±1.3	20.83 ±3.5	14.35 ±3.9
500 µg/mL	52.89 ±1.4	55.83 ±3.4	24.89 ±3.8
1000 µg/mL	73.0 ±1.3	60.0 ±3.5	36.83 ±3.7

Cuadro 13. Resultados de los bioensayos de fitoinhibición de los extractos de *Rollinia jimenezii* (continuación)

Tratamiento	% de inhibición <i>A. hypochondriacus</i>	% de inhibición <i>E. crusgalli</i>	% de inhibición <i>T. sativum</i>
Control (50 µg/mL 2, 4 D)	100	100	100
Control (H ₂ O)	0.0 ±1.2	0.0 ±2.0	0.0 ±2.9
Semillas			
50 µg/mL	0.0 ±1.5	0.0 ±3.2	0.0 ±4.2
100 µg/mL	4.7 ±1.6	2.6 ±3.5	0.0 ±3.9
500 µg/mL	8.9 ±1.9	5.2 ±3.8	5.3 ±3.6
1000 µg/mL	10.0 ±1.8	5.6 ±4.0	13.271 ±3.7

Valores que no difieren significativamente del control (Dunns α 0.05). Cada cifra representa el promedio de 4 repeticiones.

4. *Bursera simaruba*

Los resultados de los bioensayos de los extractos de *Bursera simaruba* se muestran en el Cuadro 14, y en las gráficas 5, 6 y 7.

El extracto clorofórmico y hexánico presentan el mismo comportamiento, inhibiendo significativamente el crecimiento radicular de *A. hypochondriacus* (40 %) y *E. crusgalli* (30 %) a 1000 ppm mientras que para *T. sativum* a la misma concentración no presenta un efecto significativo.

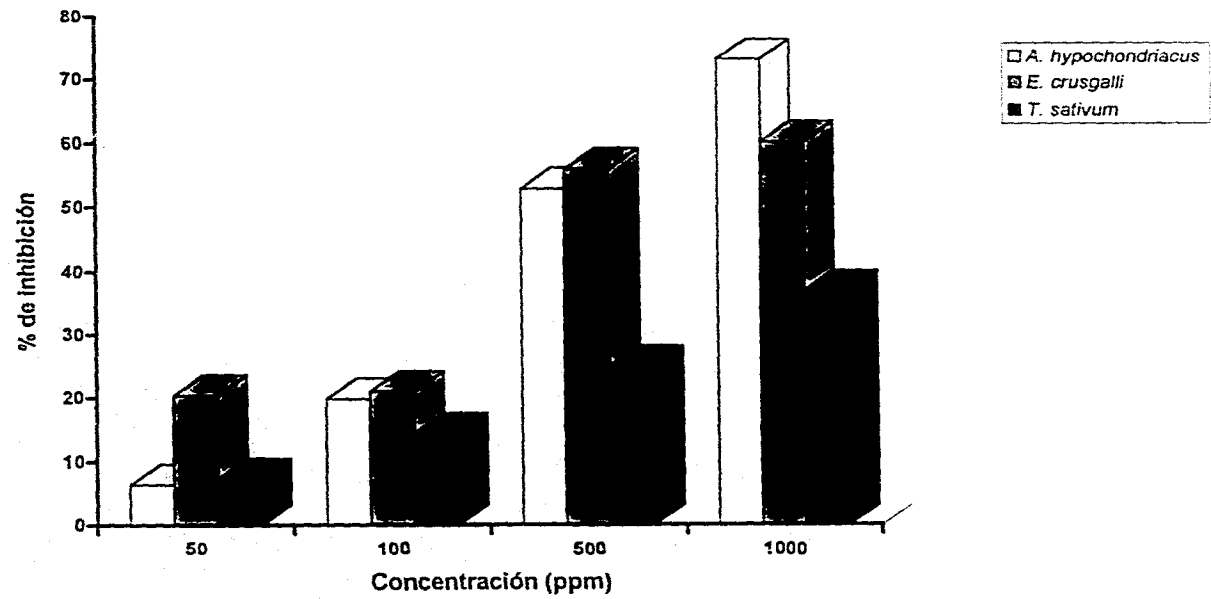
El extracto metanólico presentó un efecto mayor para *A. hypochondriacus*, ya que a 500 ppm inhibe un 40 %, similar al que presentan los extractos clorofórmico y hexánico a 1000 ppm. Sin embargo, para *E. crusgalli* y *T. sativum* no mostró efecto significativo.

Cuadro 14. Resultados de los bioensayos de fitoinhibición de los extractos de *Bursera simaruba*.

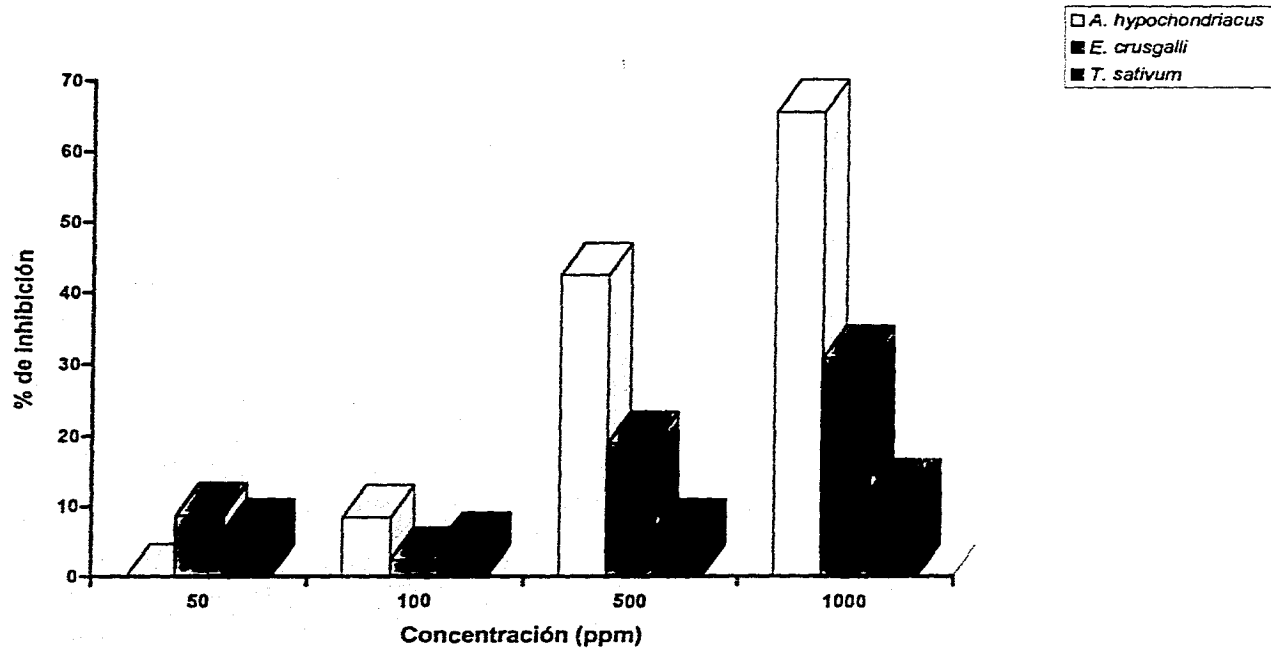
Tratamiento	% de inhibición A. <i>hypochondriacus</i>	% de inhibición E. <i>crusgalli</i>	% de inhibición T. <i>sativum</i>
Control (50 µg/mL 2, 4 D)	100	100	100
Control (H ₂ O)	0.0 ±0.9	0.0 ±2.3	0.0 ±3.0
Extracto hexánico			
50 µg/mL	0.0 ±1.1	0.0 ±2.5	7.5 ±3.2
100 µg/mL	17.3 ±1.2	11.6 ±2.3	7.26 ±3.3
500 µg/mL	28.26 ±1.1	19.6 ±2.3	11.25 ±3.4
1000 µg/mL	43.28 ±0.8	32.0 ±2.2	12.0 ±3.3
Extracto clorofórmico			
50 µg/mL	3.3 ±0.9	15.26 ±2.7	0.0 ±3.5
100 µg/mL	23.3 ±1.1	17.29 ±2.4	3.5 ±3.4
500 µg/mL	29.2 ±1.2	19.0 ±2.5	5.94 ±3.6
1000 µg/mL	46.6 ±1.3	34.04 ±2.7	8.56 ±3.8
Extracto metanólico			
50 µg/mL	0.0 ±1.4	1.77 ±2.6	1.53 ±3.8
100 µg/mL	22.5 ±1.8	11.12 ±2.7	5.98 ±3.9
500 µg/mL	40.0 ±1.7	13.8. ±2.6	9.5 ±3.4
1000 µg/mL	60.0 ±1.6	21.29 ±2.4	10.95 ±3.5

Valores que no difieren significativamente del control (Dunns α 0.05). Cada cifra representa el promedio de 4 repeticiones

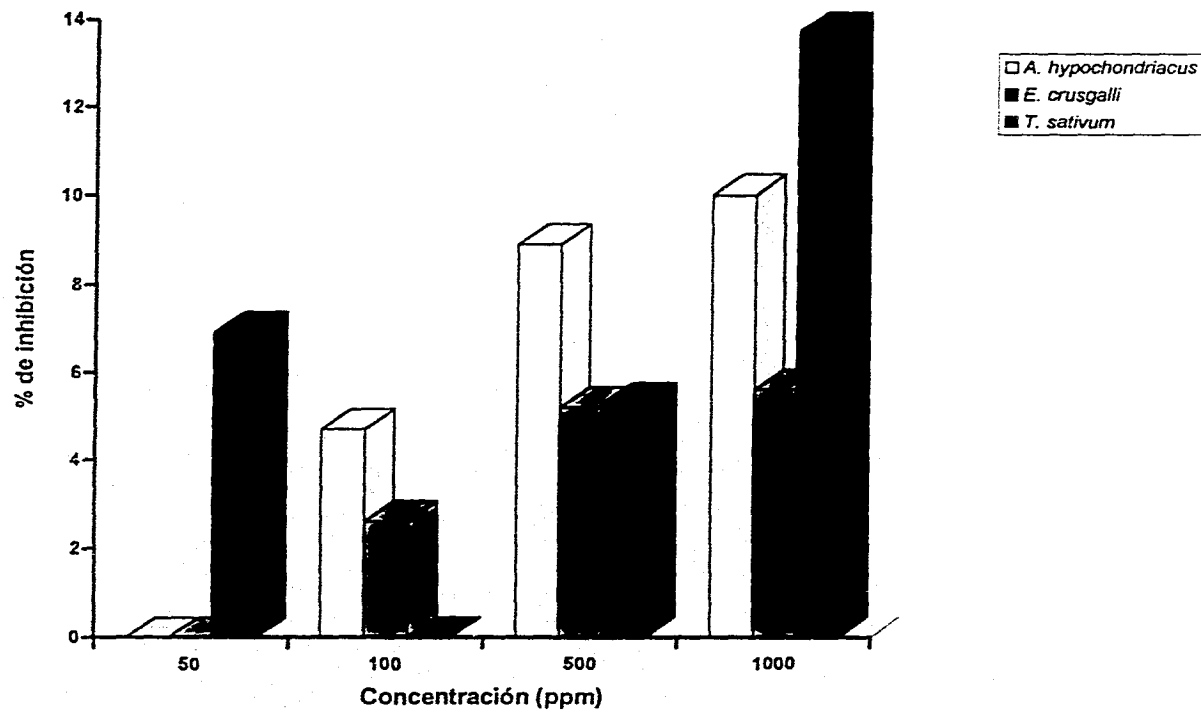
Gráfica 2. Efecto del extracto de *Rollinia jimenezii* (hojas) sobre el crecimiento radicular



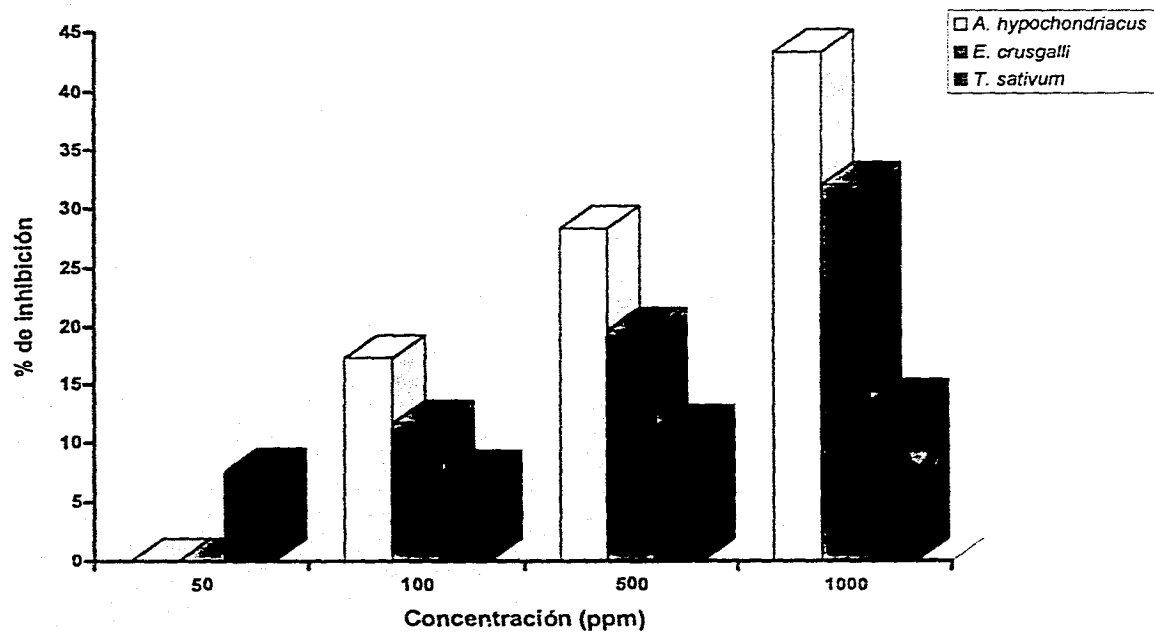
Gráfica 3. Efecto del extracto de *Rollinia jimenezii* (Corteza) sobre el crecimiento radicular



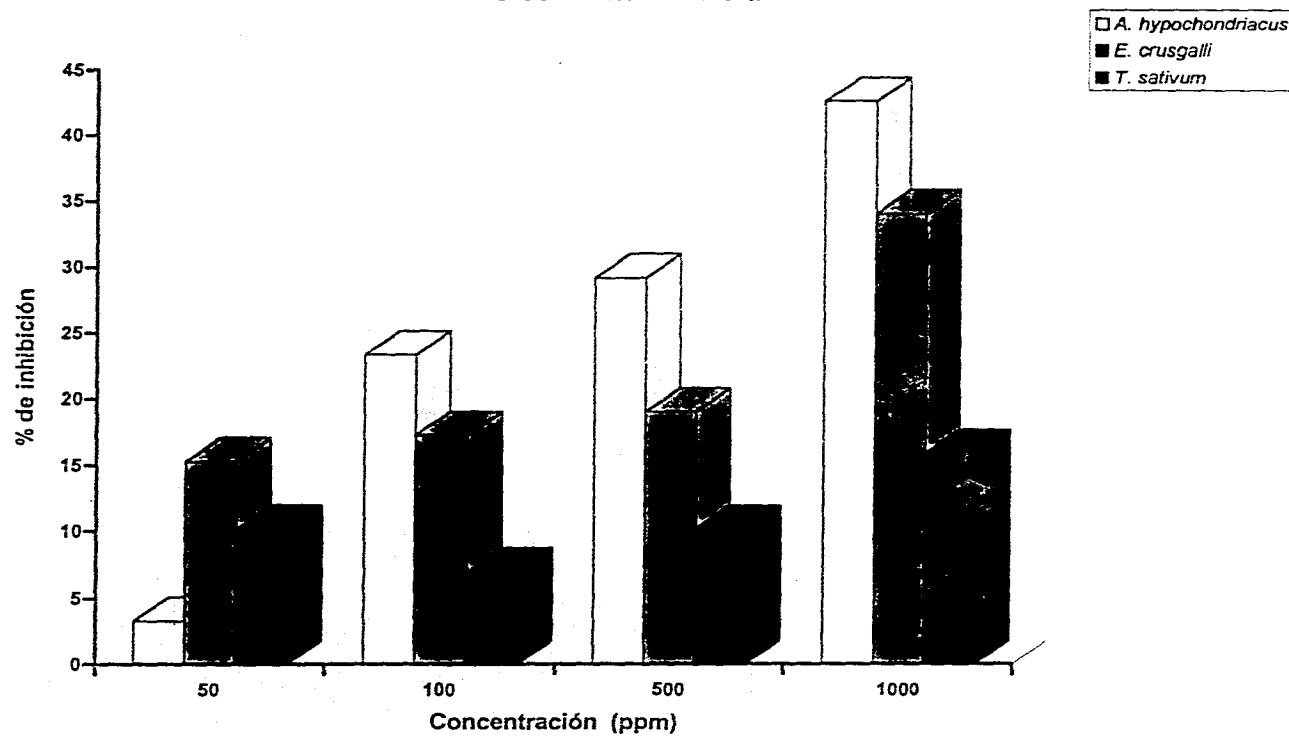
Gráfica 4. Efecto del extracto de *Rollinia jimenezii* (Semillas) sobre el crecimiento radicular



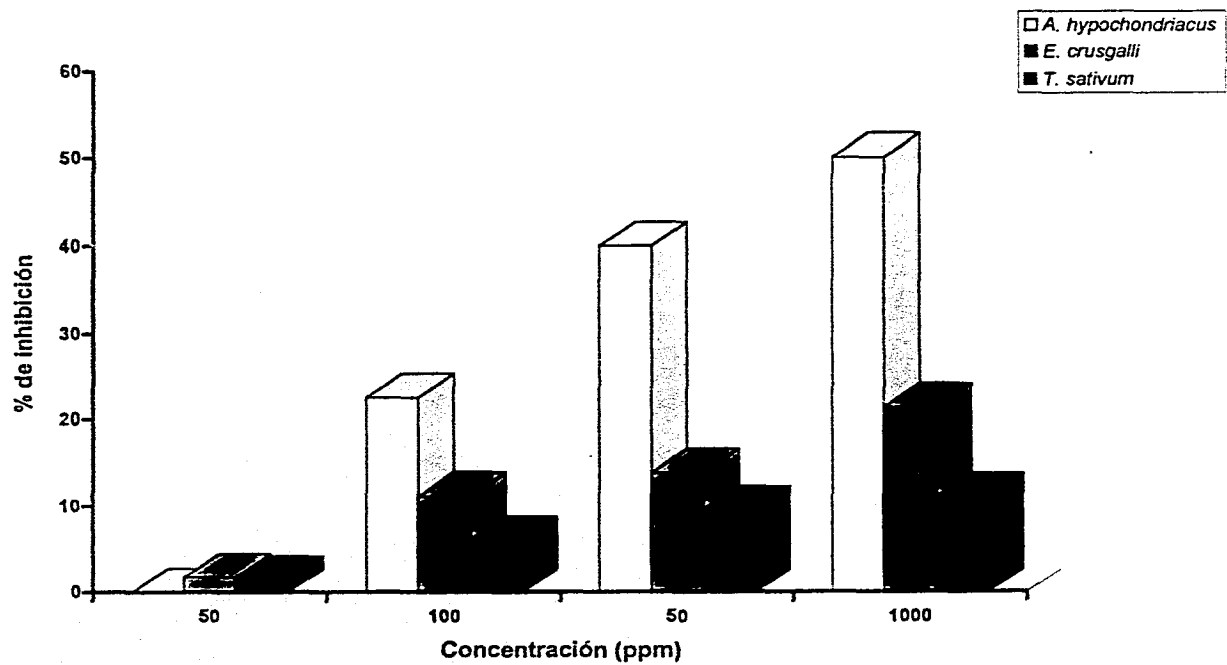
Gráfica 5. Efecto del extracto hexánico de *Bursera simaruba* sobre el crecimiento radicular



Gráfica 6. Efecto del extracto clorofórmico de *Bursera simaruba* sobre el crecimiento radicular



Gráfica 7. Efecto del extracto metanólico de *Bursera simaruba* sobre el crecimiento radicular



5. *Annona purpurea*

Los resultados obtenidos de los extractos de *Annona purpurea* (corteza y hojas) se muestran en el cuadro 15 y en las gráficas 8 y 9.

Annona purpurea (corteza) mostró únicamente actividad significativa para la semilla de *A. hypochondriacus* a 1000 y 500 ppm con porcentajes de inhibición de 75 y 56 %, respectivamente.

Por otro lado, el extracto de las semillas mostró también un efecto significativo para *A. hypochondriacus* a una concentración de 1000 ppm.

Sin embargo, las dos semillas restantes mostraron una pobre inhibición de crecimiento radicular a 50, 100, 500 y 1000 ppm.

Cuadro 15. Resultados de los bioensayos de fitoinhibición de los extractos de *Annona purpurea*.

Tratamiento	% de inhibición <i>A. hypochondriacus</i>	% de inhibición <i>E. crusgalli</i>	% de inhibición <i>T. sativum</i>
Control (50 µg/mL 2, 4 D)	100	100	100
Control (H ₂ O)	0.0 ±0.9	0.0 ±2.8	0.0 ±3.4
Semillas			
50 µg/mL	4.2 ±1.2	0.0 ± 2.7	8.58 ±3.6
100 µg/mL	5.9 ±1.3	0.0 ±2.3	10.88 ±2.9
500 µg/mL	23.01 ±1.1	6.3 ±1.9	13.567 ±2.5
1000 µg/mL	69.71 ±0.9	16.46 ±2.5	13.98 ±2.8

Cuadro 15. Resultados de los bioensayos de fitoinhibición de los extractos de *Annona purpurea* (continuación)

Tratamiento	% de inhibición <i>A. hypochondriacus</i>	% de inhibición <i>E. crusgalli</i>	% de inhibición <i>T. sativum</i>
Control (50 µg/mL 2, 4 D)	100	100	100
Control (H ₂ O)	0.0 ±0.9	0.0 ±2.8	0.0 ±3.4
Corteza			
50 µg/mL	18.56 ±0.8	0.0 ±1.9	2.37 ±3.5
100 µg/mL	21.3 ±1.2	2.3 ±1.8	16.11 ±3.8
500 µg/mL	52.56 ±1.1	7.11 ±2.2	18.95 ±3.6
1000 µg/mL	74.49 ±1.4	21.59 ±2.4	18.96 ±2.9

Valores que no difieren significativamente del control (Dunns α 0.05). Cada cifra representa el promedio de 4 repeticiones

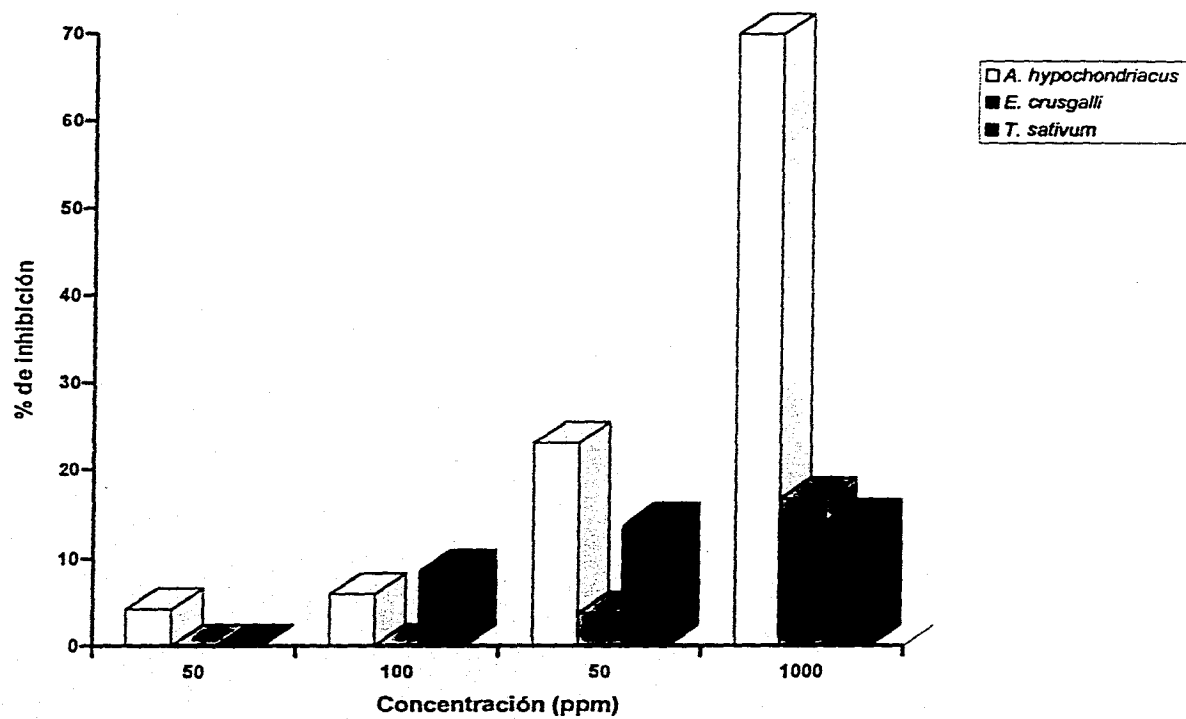
6. *Desmopsis trunciflora*

Las gráficas 10 y 11 muestran los resultados obtenidos de la evaluación del extracto de corteza y hojas de la especie antes mencionada, sobre el crecimiento radicular de *A. hypochondriacus*, *E. crusgalli* y *T. sativum*.

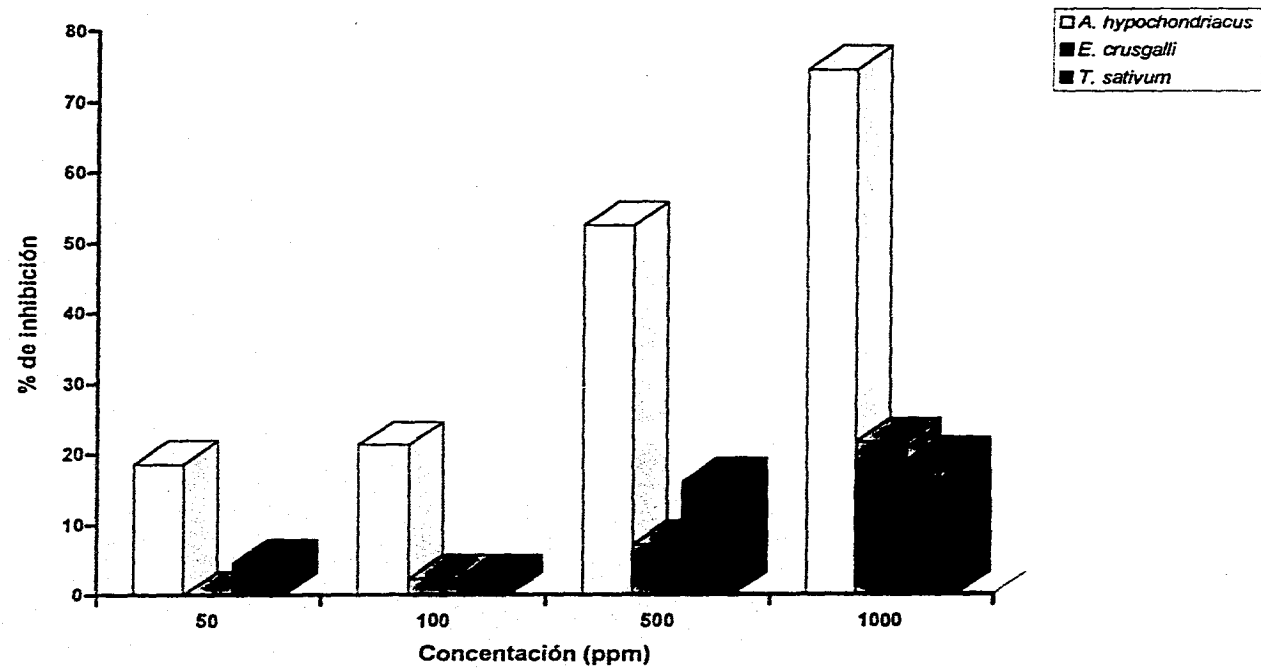
Como se puede apreciar, el extracto de hojas inhibió de manera significativa el crecimiento radicular de *A. hypochondriacus* a 500 y 1000 ppm; mientras que el extracto de la corteza mostró un efecto más moderado para la misma semilla.

A concentraciones de 50 y 100 ppm el efecto del extracto de las hojas es prácticamente nulo para las semillas evaluadas; por otro lado, el extracto de la corteza presentó actividad moderada para *E. crusgalli* a una concentración de 100 ppm.

Gráfica 8. Efecto del extracto de *Annona purpurea* (semillas) sobre el crecimiento radicular



Gráfica 9. Efecto del extracto de *Annona purpurea* (corteza) sobre el crecimiento radicular



Cuadro 16. Resultados de los bioensayos de fitoinhibición de los extractos de *Desmopsis trunciflora*.

Tratamiento	% de inhibición <i>A. hypochondriacus</i>	% de inhibición <i>E. crusgalli</i>	% de inhibición <i>T. sativum</i>
Control (50 µg/mL 2, 4 D)	100	100	100
Control (H ₂ O)	0.0 ±1.2	0.0 ±2.1	0.0 ±3.5
Corteza			
50 µg/mL	0.0 ±1.2	5.0 ±2.7	6.71 ±3.4
100 µg/mL	1.53 ±0.9	13.8 ±2.6	8.75 ±2.9
500 µg/mL	19.6 ±0.8	21.8 ±2.3	11.88 ±
1000 µg/mL	36.23 ±1.1	26.12 ±2.1	18.74 ±3.5
Hojas			
50 µg/mL	0.0 ±0.9	10.08 ±2.6	4.81 ±3.2
100 µg/mL	6.34 ±1.1	19.6 ±2.5	13.33 ±3.3
500 µg/mL	42.45 ±1.3	33.65 ±1.9	20.58 ±3.6
1000 µg/mL	52.6 ±1.2	39.65 ±2.0	27.62 ±3.7

Valores que no difieren significativamente del control (Dunns α 0.05). Cada cifra represente el promedio de 4 repeticiones

7. *Scaphyglottis livida*.

Los resultados de los bioensayos de los extractos de *Scaphyglottis livida* se muestran en la Cuadro 17.

Los extractos se obtuvieron de la planta completa utilizandose para ello, disolventes de diferente polaridad (hexano, cloroformo y metanol).

Como se puede observar en las gráficas 12, 13 y 14, los extractos que presentaron mayor actividad fue el metanólico y hexánico para A.

hypochondriacus, en tanto que para *E. crusgalli* mostraron un efecto más moderado; para *T. sativum* el efecto fue nulo.

El extracto clorofórmico mostró un moderado porcentaje de inhibición para *A. hypochondriacus* a 1000 ppm; para las dos semillas de prueba restantes el efecto fue prácticamente nulo.

Cuadro 17. Resultados de los bloensayos de fitoinhibición de los extractos de *Scaphyglottis livida*

Tratamiento	% de inhibición <i>A. hypochondriacus</i>	% de inhibición <i>E. crusgalli</i>	% de inhibición <i>T. sativum</i>
Control ($\mu\text{g/mL}$ 2, 4 D)	100	100	100
Control (H_2O)	0.0 \pm 1.1	0.0 \pm 2.4	0.0 \pm 3.5
Extracto hexánico			
50 $\mu\text{g/mL}$	0.0 \pm 1.2	0.0 \pm 2.1	0.0 \pm 3.9
100 $\mu\text{g/mL}$	18.58 \pm 0.9	15.11 \pm 2.5	9.64 \pm 3.8
500 $\mu\text{g/mL}$	34.82 \pm 1.3	20.58 \pm 2.3	5.19 \pm 3.5
1000 $\mu\text{g/mL}$	38 \pm 1.1	29.66 \pm 2.9	8.05 \pm 3.4
Extracto clorofórmico			
50 $\mu\text{g/mL}$	7.91 \pm 1.1	1.64 \pm 1.9	5.4 \pm 4.5
100 $\mu\text{g/mL}$	9.82 \pm 1.6	6.34 \pm 2.3	0.37 \pm 3.9
500 $\mu\text{g/mL}$	20.57 \pm 9	22.1 \pm 2.1	0.12 \pm 3.8
1000 $\mu\text{g/mL}$	43.37 \pm 1.6	25.14 \pm 2.5	5.8 \pm 3.6

Cuadro 17. Resultados de los bioensayos de fitoinhibición de los extractos de *Scaphyglottis livida* (continuación)

Tratamiento	% de inhibición <i>A. hypochondriacus</i>	% de inhibición <i>E. crusgalli</i>	% de inhibición <i>T. sativum</i>
Control ($\mu\text{g/mL}$ 2, 4 D)	100	100	100
Control (H_2O)	0.0 \pm 1.1	0.0 \pm 2.4	0.0 \pm 3.5
Extracto metanólico			
50 $\mu\text{g/mL}$	18.58 \pm 1.1	0.0 \pm 1.9	13.36 \pm 3.6
100 $\mu\text{g/mL}$	22.54 \pm 0.9	1.95 \pm 2.3	12.95 \pm 3.7
500 $\mu\text{g/mL}$	40.0 \pm 0.8	15.67 \pm 2.1	13.26 \pm 3.1
1000 $\mu\text{g/mL}$	50.0 \pm 0.9	17.65 \pm 2.3	14.20 \pm 2.9

Valores que no difieren significativamente del control (Dunns α 0.05). Cada cifra representa el promedio de 4 repeticiones

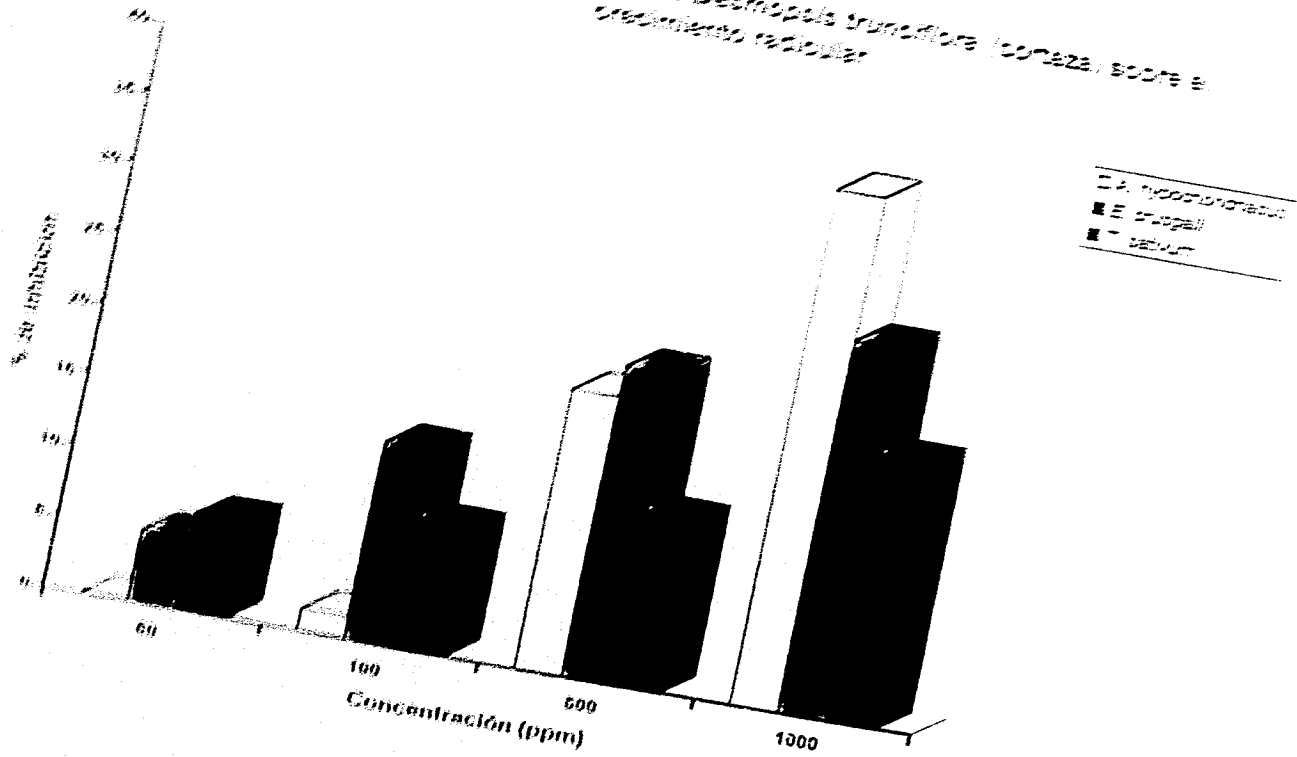
8. *Tridimeris tuxtliensis*

Los resultados obtenidos de los bioensayos realizados de los extractos de *Tridimeris tuxtliensis* sobre las semillas evaluadas se presentan en el Cuadro 18 y en las gráficas 15 y 16.

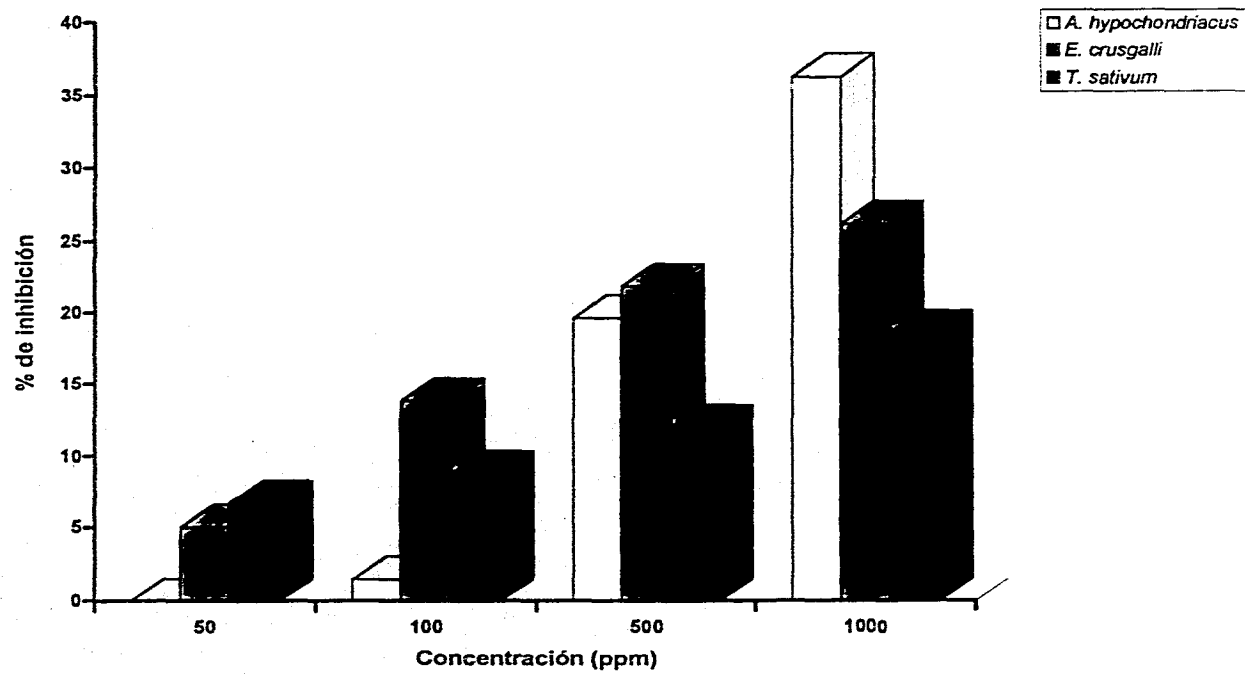
Las hojas de *Tridimeris tuxtliensis* mostraron una moderada inhibición del crecimiento radicular de *A. hypochondriacus*, *E. crusgalli* y *T. sativum* a 1000, 500 y 100 ppm.

Por otra parte, el extracto obtenido a partir de las ramas mostró una pobre inhibición del crecimiento radicular de las semillas evaluadas a 1000 ppm.

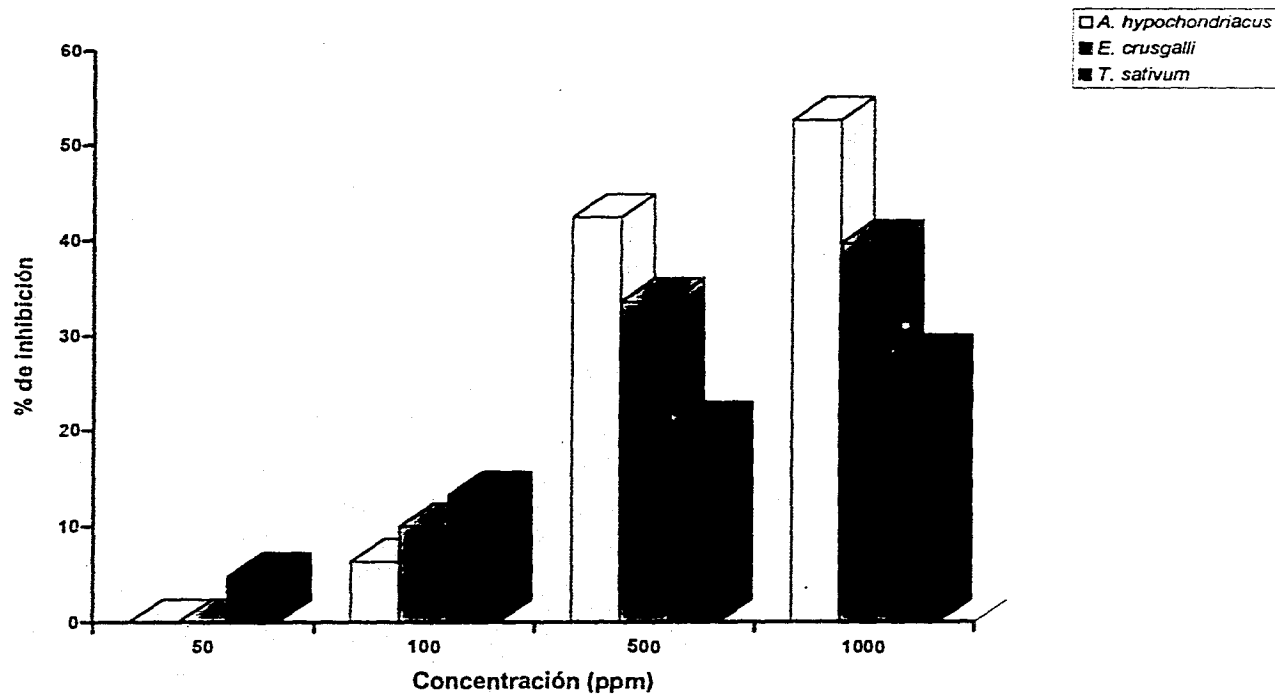
Figura 11. Efecto del estrés de Desmopais truncifera (correa) sobre el crecimiento poblacional.



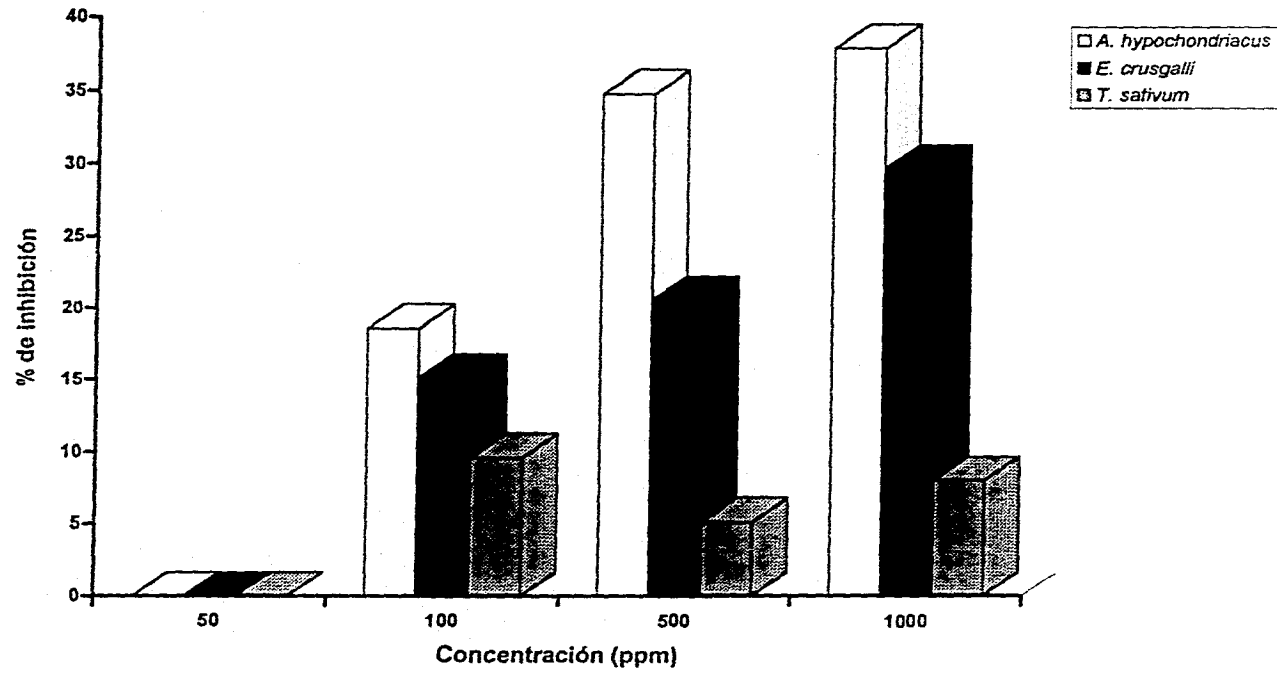
Gráfica 10. Efecto del extracto de *Desmopsis trunciflora* (corteza) sobre el crecimiento radicular



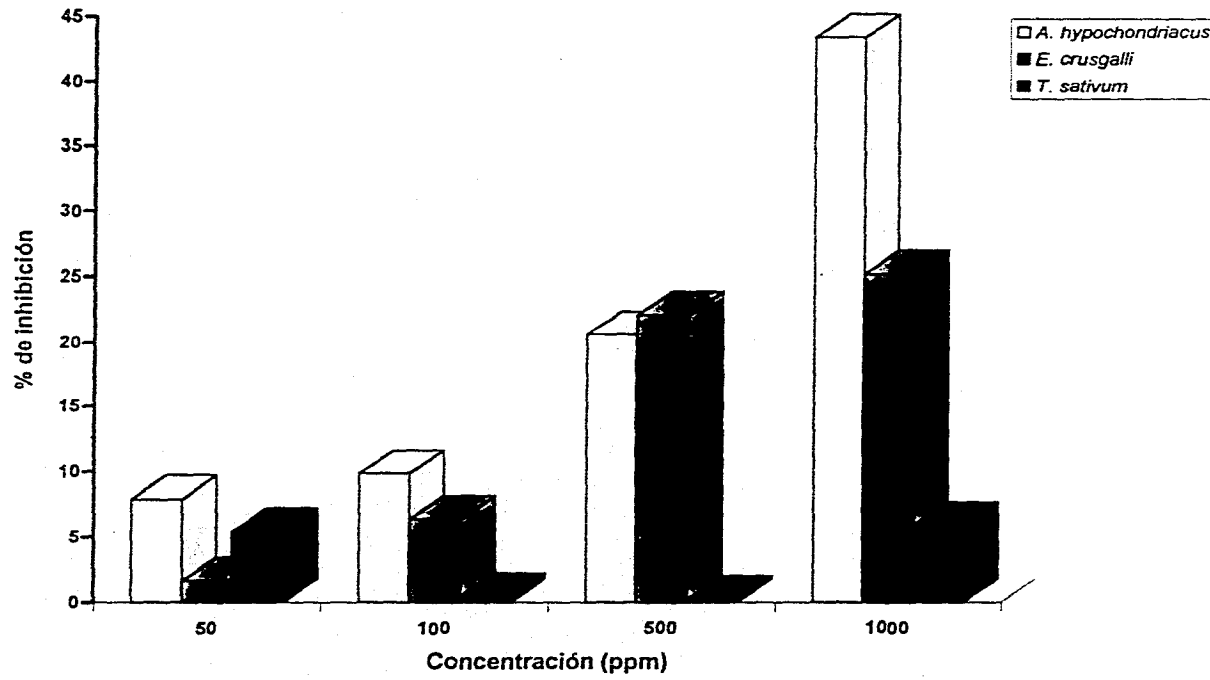
Gráfica 11. Efecto del extracto *Desmopsis trunciflora* (hojas) sobre el crecimiento radicular



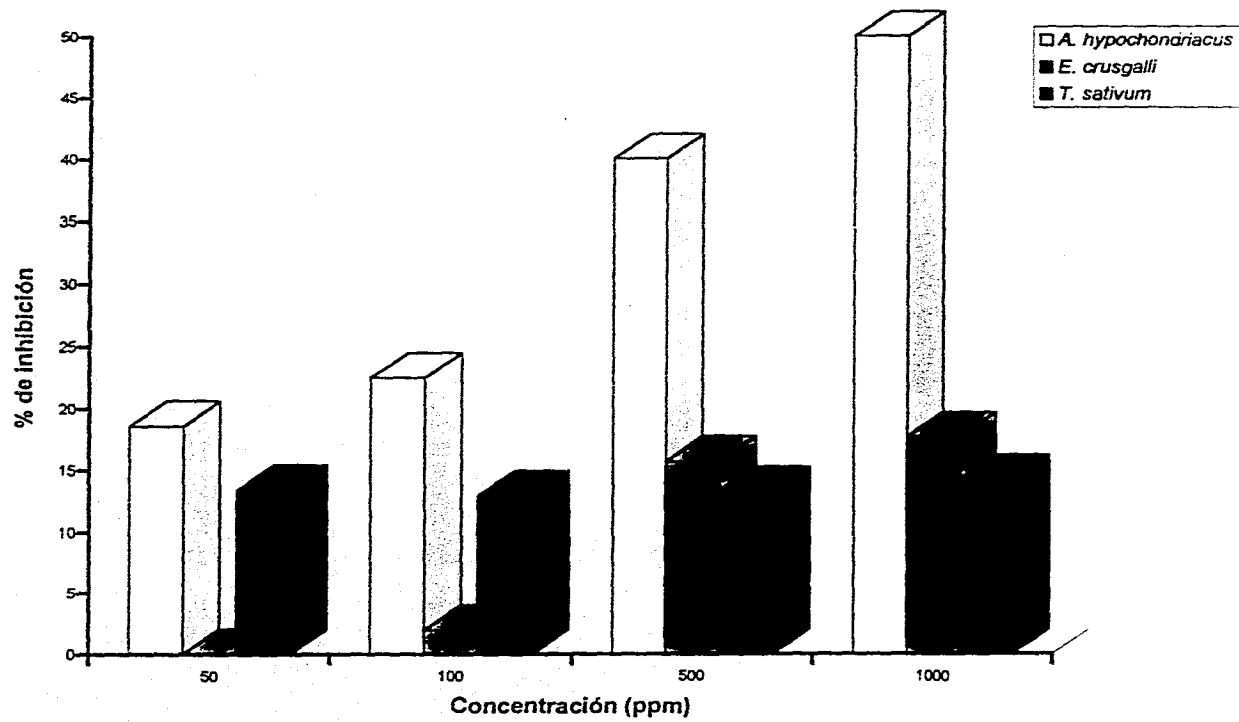
Gráfica 12. Efecto del extracto hexánico de *Scaphyglottis livida* sobre el crecimiento radicular



Gráfica 13. Efecto del extracto clorofórmico de *Scaphyglottis livida* sobre el crecimiento radicular



Gráfica 14. Efecto del extracto metanólico de *Scaphyglottis livida* sobre el crecimiento radicular



Cuadro 18. Resultados de los bioensayos de fitoinhibición de los extractos de *Tridimeris tuxtensis*

Tratamiento	% de inhibición <i>A. hypochondriacus</i>	% de inhibición <i>E. crusgalli</i>	% de inhibición <i>T. sativum</i>
Control (50 µg/mL 2, 4 D)	100	100	100
Control (H ₂ O)	0.0 ±1.1	0.0 ±2.0	0.0 ±3.4
Hojas			
50 µg/mL	12.29 ±0.9	6.35 ±2.3	1.32 ±3.6
100 µg/mL	22.37 ±0.8	12.3 ±2.5	1.22 ±3.9
500 µg/mL	25.64 ±1.1	21.30 ±1.9	19.7 ±3.5
1000 µg/mL	29.43 ±1.3	37.67 ±2.8	32.28 ±3.2
Ramas			
50 µg/mL	0.0 ±0.7	0.0 ±2.6	2.1 ±3.4
100 µg/mL	16.0 ±1.4	0.0 ±2.8	3.1 ±3.6
500 µg/mL	26.5 ±1.5	6.25 ±1.9	1.1 ±3.3
1000 µg/mL	25.0 ±1.2	10.03 ±2.5	22.6 ±3.8

Valores que no difieren significativamente del control (Dunns α 0.05). Cada cifra representa el promedio de 4 repeticiones.

9. *Guamía mexicana*

Los resultados obtenidos en los bioensayos realizados con los extractos de *Guamía mexicana* (corteza de tronco, corteza de ramillas y hojas) se muestran en el Cuadro 19.

Como se puede observar en la gráfica 17, el extracto de hojas mostró una moderada inhibición a 1000 ppm para las tres semillas evaluadas. A 50 y 100 ppm la inhibición fue prácticamente nula.

Por otro lado, el extracto de corteza de ramillas inhibió 40 % el crecimiento radicular de *E. crusgalli*; para *A. hypochondriacus* y *T. sativum* a la misma concentración, inhibió 30% y 18 %, respectivamente.

El extracto de corteza de tronco mostró un comportamiento similar al antes descrito, con la diferencia que este extracto inhibe 36 % el crecimiento de *E. crusgalli* a una menor concentración (500 ppm).

Cuadro 19. Resultados de los bioensayos de fitoinhibición de los extractos de *Guamía mexicana*

Tratamiento	% de inhibición <i>A. hypochondriacus</i>	% de inhibición <i>E. crusgalli</i>	% de inhibición <i>T. sativum</i>
Control (50 µg/mL 2, 4 D)	100	100	100
Control	0.0 ±1.2	0.0 ±2.5	0.0 ±3.4
Hojas			
50 µg/mL	0.0 ±1.4	0.0±3.0.	0.0 ±3.9
100 µg/mL	0.0 ±2.0	4.2 ±1.9	0.0 ±3.4
500 µg/mL	11.88 ±1.9	9.2 ±2.5	12.66 ±3.8
1000 µg/mL	17.47 ±1.2	20.74 ±2.1.	14.36 ±3.7
Corteza de ramillas			
50 µg/mL	1.429 ±1.1	13.17 ±2.5	11.79 ±3.5
100 µg/mL	4.92 ±1.3	19.6 ±2.6	11.52 ±3.6
500 µg/mL	22.55 ±1.6	32.79 ±2.3	18.65 ±3.7
1000 µg/mL	29.77 ±1.3	38.70 ±3.0	17.85 ±3.6

Cuadro 19. Resultados de los bioensayos de fitoinhibición de los extractos de *Guamia mexicana* (continuación)

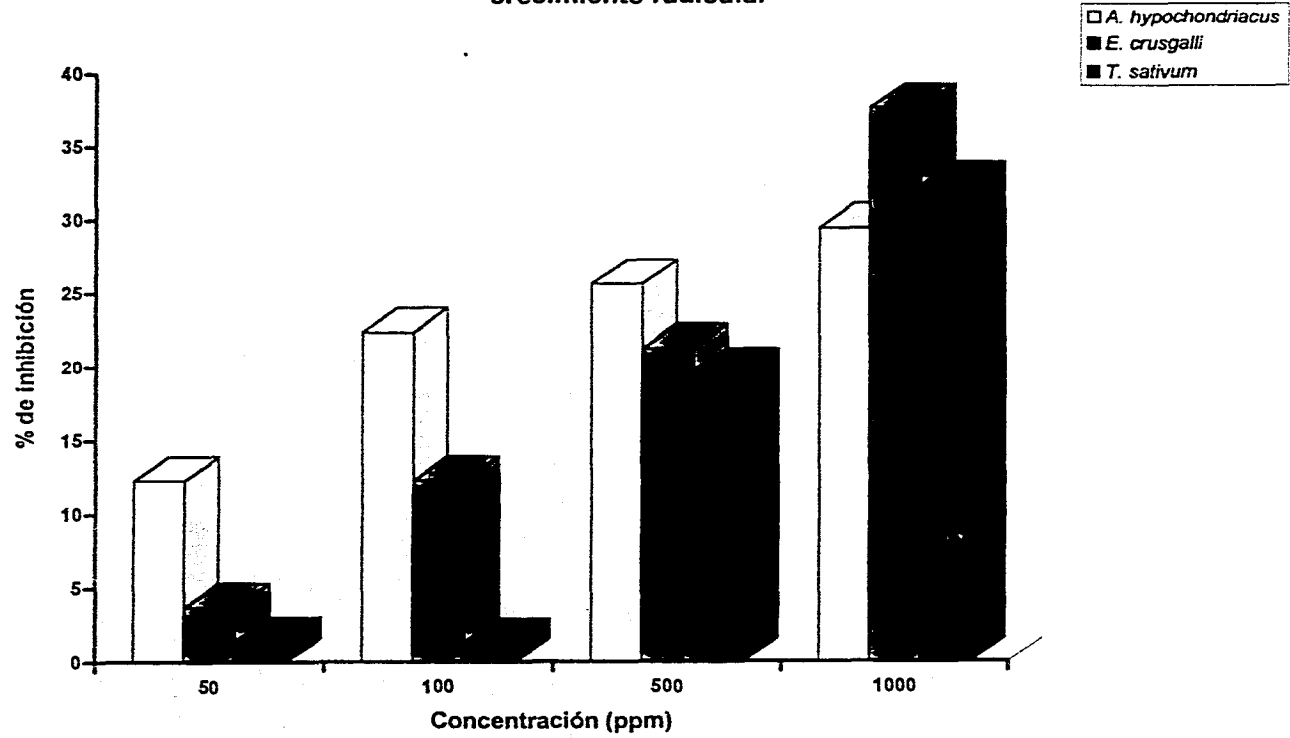
Tratamiento	% de inhibición <i>A. hypochondriacus</i>	% de inhibición <i>E. crusgalli</i>	% de inhibición <i>T. sativum</i>
Control (50 µg/mL 2, 4 D)	100	100	100
Control	0.0 ±1.3	0.0 ±2.5	0.0 ±3.6
Corteza de tronco			
50 µg/mL	3.48 ±1.4	10.76 ±	0.2 ±3.9
100 µg/mL	3.0 ±1.2	17.03 ±	0.86 ±3.6
500 µg/mL	20.09 ±1.5	35.77 ±	8.16 ±3.7
1000 µg/mL	27.19 ±1.9	43.30 ±	13.79 ±3.4

Valores que no difieren significativamente del control (Dunns α 0.05). Cada cifra representa el promedio de 4 repeticiones.

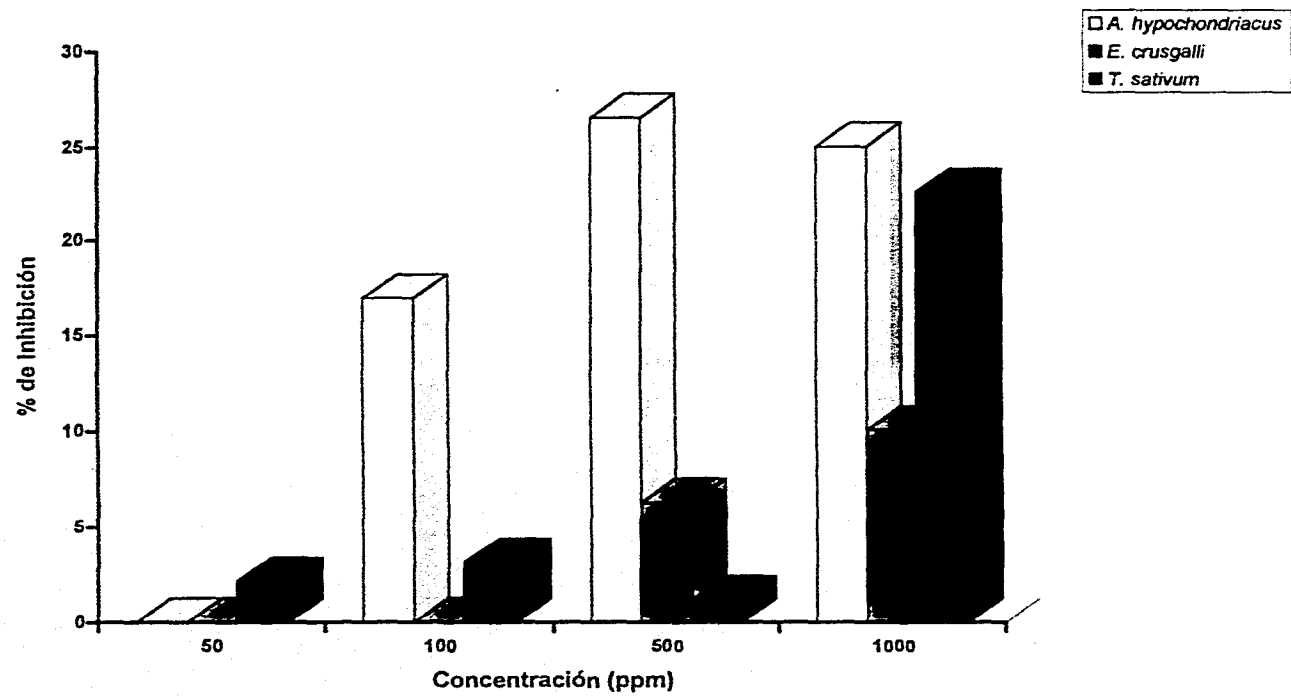
De los resultados discutidos previamente se desprende que, siete extractos derivados de cinco especies vegetales fueron los que demostraron actividad fitotóxica significativa (Cuadro 20).

Sin embargo, las semillas empleadas en el bioensayo presentaron diferentes grados de sensibilidad. De manera general, los extractos activos inhiben selectivamente la semilla de *A. hypochondriacus* y únicamente dos de ellas inhibió el crecimiento radicular de *E. crusgalli*; el efecto sobre *T. sativum* fué prácticamente nulo.

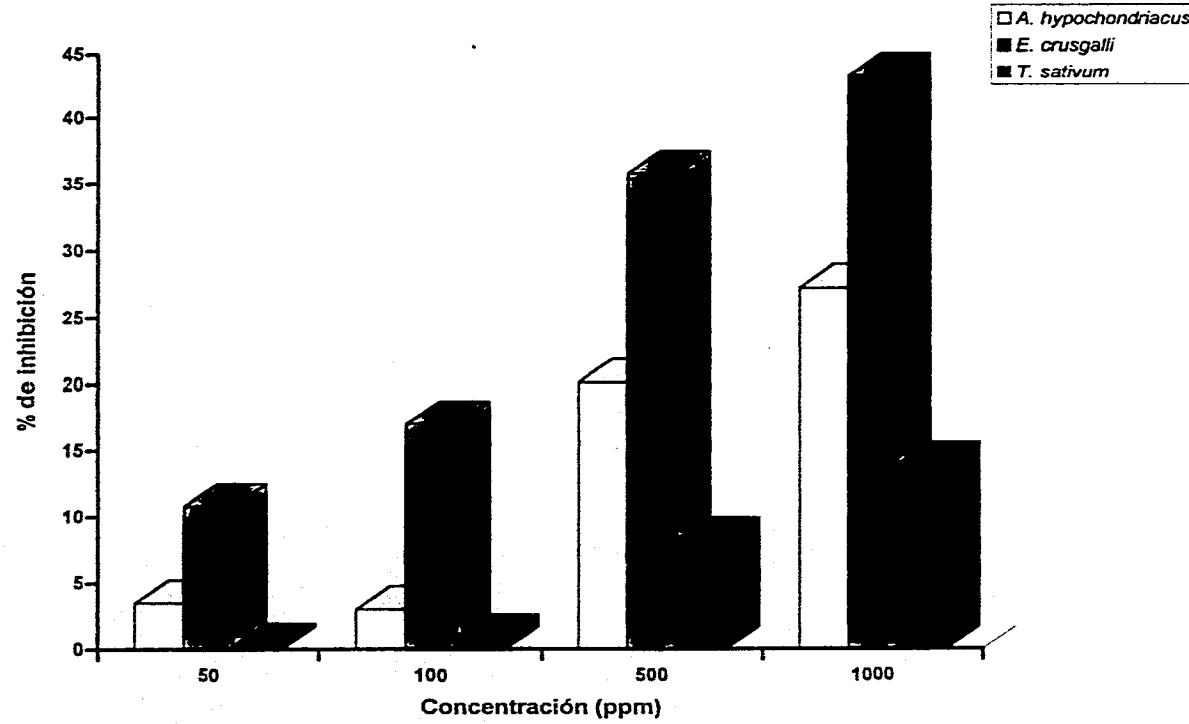
Gráfica 15. Efecto del extracto de *Tridimeris tuxtliensis* (hojas) sobre el crecimiento radicular



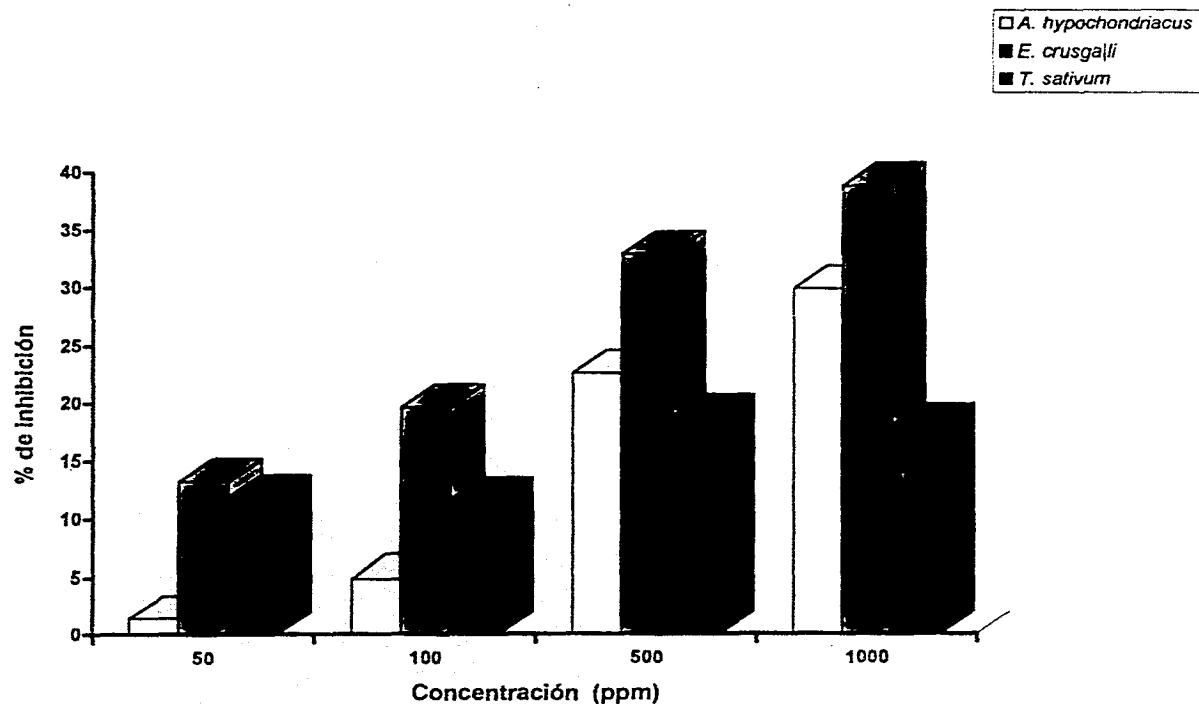
Gráfica 16. Efecto del extracto de *Tridimeris tuxtensis* (ramas) sobre el crecimiento radícula



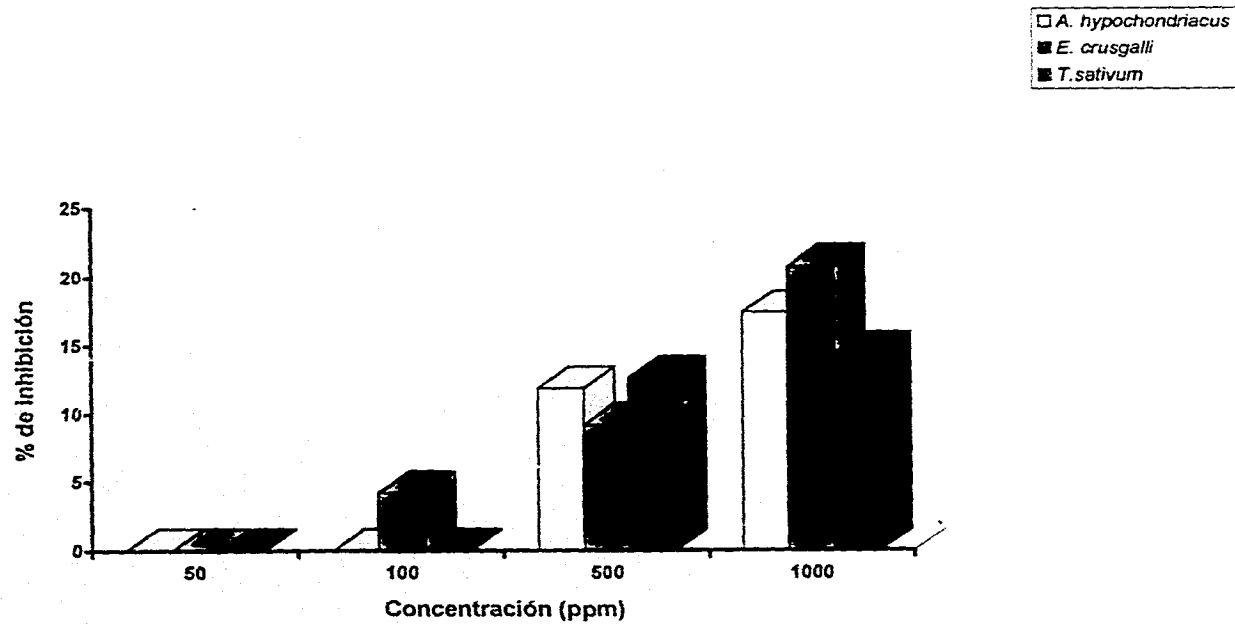
Gráfica 17. Efecto del extracto *Guamia mexicana* (corteza de tronco) sobre el crecimiento radicular



Gráfica 18. Efecto del extracto de *Guamia mexicana* (corteza de ramillas) sobre el crecimiento radicular



Gráfica 19. Efecto del extracto de *Guamia mexicana* (hojas) sobre el crecimiento radicular



Cuadro 20. Especies más activas sobre el crecimiento radicular de las semillas de prueba

Especie vegetal y parte empleada	IC ₅₀ de <i>A. hipochondriacus</i>	IC ₅₀ de <i>E. crusgalli</i>	IC ₅₀ de <i>T. sativum</i>
<i>Helianthella quinquenervis</i> (hojas)	199.21	432.5756	>1000
<i>Annona purpurea</i> (corteza)	359.97	>1000	>1000
<i>Rollinia jimenezii</i> (hojas)	415.65	469.28	>1000
<i>Rollinia jimenezii</i> (corteza)	615.84	>1000	>1000
<i>Bursera simaruba</i> (Extracto metanolico)	659.07	>1000	>1000
<i>Annona purpurea</i> (semillas)	757.75	>1000	>1000
<i>Desmopsis trunciflora</i> (hojas)	787.03	>1000	>1000

Como se puede apreciar en el cuadro 20, la especie *Rollinia jimenezii* (extracto hojas y corteza) fue una de las especies más activa, sin embargo el extracto de semillas de esta misma especie inhibió pobremente el crecimiento radicular de las tres semillas evaluadas.

En este punto cabe mencionar, que el extracto de hojas y corteza de esta misma especie demostraron pobre efecto larvicida sobre el crustáceo *A. salina*

En el presente trabajo se determinó el potencial alelopático del extracto de las hojas de esta misma especie, obteniéndose un efecto menor para las mismas semillas de prueba (Cuadro 20).

De manera adicional se determinó la toxicidad para el crustáceo *A. salina* del extracto de las hojas obteniéndose una CL_{50} menor al de la raíz (CL_{50} hojas=32.64 $\mu\text{g/mL}$ y ; CL_{50} raíz= 9.47 $\mu\text{g/mL}$).

Las diferencias encontradas en ambos bioensayos para los extractos de raíz y hojas de *H. quinquenervis* pueden ser debidas a la parte del material vegetal empleado. Por lo tanto es posible esperar una variación en el contenido metabólico y en consecuencia en cambio en la actividad biológica.

Considerando estos resultados, así como el estudio previo realizado a la raíz de esta especie (Castañeda *et al.*, 1996), se procedió a realizar un estudio químico biodirigido de esta especie.

Los ensayos biológicos utilizados para conducir el estudio incluyeron también, la determinación de la toxicidad para *Artemia salina* y la determinación del crecimiento radicular de *E. crusgalli* y *A. hypochondriacus*.

El extracto metanólico obtenido de las hojas de *H. quinquenervis* mediante un proceso de maceración, se trató con carbón activado con la finalidad de eliminar los pigmentos y así facilitar el fraccionamiento primario. Posteriormente, se fraccionó mediante una cromatografía en columna abierta sobre gel de sílice. Se obtuvieron 12 fracciones primarias las cuales se evaluaron mediante los ensayos biológicos antes mencionados; como se desprende de los mismos, la

actividad tóxica para *A. salina* y fitotóxica para *A. hypochondriacus* y *E. crusgalli* se concentraba en la fracción primaria C.

Sin embargo las fracciones A, B, y D mostraron también una actividad moderada para *A. salina* y las fracciones B y D presentaron actividad fitoinhibidora para *A. hypochondriacus* y *E. crusgalli*.

En el cuadro 21 se resumen los resultados obtenidos para ambos bioensayos de las fracciones primarias.

Cuadro 21. Resultados de los bioensayos de las fracciones primarias

Clave de las fracciones	CL ₅₀ (µg/mL) <i>A. salina</i>	Cl ₅₀ (µg/mL) <i>A.</i> <i>hypochondriacus</i>	Cl ₅₀ (µg/mL) <i>E. crusgalli</i>
A	86.92	>1000	>1000
B	50.98	127.06	1000
C	10.0	97.95	196.62
D	25.0117	265.95	1000
E	1000	1000	>1000
F	>1000	>1000	>1000
G	>1000	>1000	>1000
H	>1000	>1000	>1000
I	>1000	1000	>1000
J	>1000	>1000	>1000
K	>1000	>1000	>1000
L	>1000	>1000	>1000
M	>1000	>1000	>1000

10. Identificación de la desmetilencecalina (10) y euparina (1)

Como ya se mencionó anteriormente, la fracción C mostró mayor actividad larvicida y fitotóxica por lo que se procedió a separar los compuestos responsables de ambas actividades, mediante cromatografía en columna abierta sobre gel de sílice, obteniéndose ocho fracciones secundarias. La fracción secundaria C.I. se sometió a sucesivas cromatografías en capa fina preparativa, empleando como sistema de elución Hex/Benceno 4:6.

Como resultado de este proceso se obtuvieron dos compuestos los cuales se identificaron como la desmetilencecalina (10) y la euparina (1), mediante la comparación de sus constantes físicas y espectroscópicas, con los descritos previamente en la literatura (Proksch *et al.*, 1982, Bolhmann *et al.*, 1979, Arnokunze *et al.*, 1996, Proksch *et al.*, 1987, Bolhmann *et al.*, 1970, Castañeda *et al.*, 1996, Proksch *et al.*, 1986, Bjeldanes *et al.*, 1969, Proksch *et al.*, 1987, Bolhmann *et al.*, 1983, Herz *et al.*, 1981, y Rainer *et al.*, 1985), así como por la identificación preliminar por ccf con una muestra auténtica.

En los cuadros 22 y 23 se resumen los datos espectroscópicos para la desmetilencecalina (10) y euparina (1).

11. Identificación de la encecalina (9)

10.3 mg de la fracción secundaria C. IV se cromatografio (ccp) en un sistema de elución de hexano/benceno 45:55 obteniéndose un compuesto aceitoso de color amarillo que se identificó como encecalina.

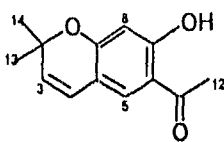
La identificación preliminar de este compuesto se realizó mediante la comparación de sus constantes físicas y espectroscópicas con los reportados en la literatura (Bjeldanes *et al.*, 1969, Cornelius *et al.*, 1979, Proksch *et al.*, 1982, Arnokunze *et al.*, 1996, Proksch *et al.*, 1986, Bohlmann *et al.*, 1979, González *et al.*, 1991, Herz *et al.*, 1981 y Castañeda *et al.*, 1996), así como por la comparación con una muestra auténtica en ccf. En el Cuadro 24 se resumen los datos espectroscópicos de este compuesto.

12. Identificación de la 3-metoxi-6-hidroxi tremetona (7).

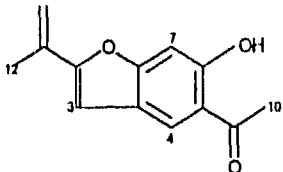
La segunda fracción primaria objeto de estudio fue la fracción D la cual mostró resultados significativos en los bioensayos antes mencionados. Se realizó una cromatografía en columna abierta con sílica gel de la cual se obtuvieron once fracciones secundarias. De la fracción D.II (cuadro 11) se realizaron sucesivas cromatografías en capa fina preparativa obteniéndose un sólido con punto de fusión de 81-83°C.

El compuesto se identificó como la 3-metoxi-6-hidroxi tremetona por comparación de sus constantes físicas y espectroscópicas (cuadro 25), con las descritas en la literatura (Castañeda *et al.*, 1996, Bohlmann *et al.*, 1988, 1982).

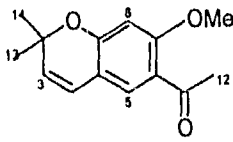
Cuadro 22. Constantes espectroscópicas y físicas de la desmetilencecalina (10)

	
Punto de fusión	71-72°C
IR v _{max} (KBr) cm ⁻¹ (Espectro 1)	3052, 2970, 2862, 1388, 1644, 1490.
RMN- ¹ H, δ (CDCl ₃) (Espectro 2)	d, 5.55, J=10 (H-3); d, 6.30, J=10 (H-4); s, 7.31, (H-5); s, 6.25, (H-8); s, 2.5 (H-12); s, 1.45 (H-13); s 1.45 (H-14); s, 12.55, (OH)
RMN- ¹³ C, δ (CDCl ₃) (Espectro 3-4)	26.2 (C-13, C-14), 28.5 (C-12), 77.8 (C-2), 104.4 (C-8), 113.9 (C-10), 120.9 (C-3), 122.9 (C-6), 128.5 (C-4), 128.8 (C-5), 160.4 (C-9), 165.1 (C-7), 202.3 (C-11).

Cuadro 23. Constantes espectroscópicas y físicas de la euparina (1).

	
Punto de fusión	120-121°C
IR Vmax (KBr) cm ⁻¹ (Espectro 5)	3414, 2922, 2852, 1742, 1642, 1464.
RMN- ¹ H, δ (CDCl ₃) (Espectro 6)	s, 12.51, (OH); s, 6.52, (H-3); s, 7.9, (H-4); s, 6.95, (H-7); s, 5.86, (H-12); s, 5.20, (H-12); s, 2.78 (3H-14); s, 2.10, (3H-11).
RMN- ¹³ C, δ (CDCl ₃) (Espectro 7-8)	204.33 (C-13); 160.27 (C-8); 158.59 (C-6); 156.75(C-2); 132.0 (C-5); 124.79 (C-4); 121.3 (C-9); 117.15(C-10); 113.12 (C-11); 103.35 (C-3); 98.48 (C-7); 27.23 (C-14); 18.69 (C-12).

Cuadro 24 Constantes espectroscópicas de la enecalina (9).

	
IR Vmax (KBr) cm ⁻¹ (Espectro 9)	2974, 1664, 1562, 1284, 1110.
RMN- ¹ H δ (CDCl ₃) (Espectro 10)	s, 7.56, (H-5); s, 6.6, (H-8); d, 6.3, (H-3); d, 5.5, (H-4); s, 3.8, (H-13); s, 2.58, (H-12); s, 1.45, 2(-CH ₃).
RMN- ¹³ C δ (Espectro 11-12)	28.3 (C-12), 31.8 (C-13, C-14), 55.5 (7-OMe), 77.8 (C-2), 99.5 (C-8), 113.8 (C-10), 120.5 (C-3), 121.2 (C-6), 128.3 (C-4), 128.9 (C-5), 158.3 (C-9), 161.0 (C-7), 197.4 (C-11).

**Cuadro 25 Constantes espectroscópicas y físicas de 3-metoxi-6-hidroxi
tremetona (7)**

Punto de fusión	81-83°C
IR Vmax (KBr) cm ⁻¹ (Espectro 13)	2928, 3200, 2855, 2827, 1637, 1484.
RMN- ¹ H δ (CDCl ₃) (Espectro 14)	s, 12.9, (OH); s, 6.42, (H-7); d, 5.03 (H-2); d, 4.69, (H-3); d, 7.24, (H-4); s, 2.56, (H-9); s, 3.28, (H-11); s, 4.92, (H-11); s, 1.69, (H-12); s, 3.39 (OMe).
RMN- ¹³ C δ (CDCl ₃) (Espectro 15-16)	17.5 (C-12), 29.7 (C-14), 55.3(OMe), 83.3 (C-2), 92.2 (C-3), 92.9 (C-7), 113.2 (C-11), 114.4 (C-9), 117.8 (C-10), 129.2 (C-4), 141.1 (C-5), 167.1 (C-6, C-8), 202.2 (C-13).

V. CONCLUSIONES

1. La determinación del potencial alelopático de siete especies vegetales permitió detectar a las especies de *Helianthella quinquenervis* (hojas), *Rollinia jimenezii* (hojas y corteza), *Bursera simaruba*, *Desmopsis trunciflora* (hojas) y *Annona purpurea* (corteza y semillas) como candidatos idóneos para realizar estudios fitoquímicos biodirigidos, conducentes a la obtención de posibles herbicidas de origen natural.

2. El fraccionamiento biodirigido mediante la determinación de la toxicidad para *A. salina* y la determinación del crecimiento radicular de las semillas de *A. hypochondriacus* y *E. crusgalli* del extracto metanólico de *H. quinquenervis* permitió aislar y caracterizar cuatro metabolitos secundarios bioactivos: la encecalina, la desmetilencecalina, la euparina y 3-metoxi-6-hidroxi-tremetona.

3. El presente trabajo constituye el primer reporte de la presencia de la 3-metoxi-6-hidroxi tremetona en las hojas de *H. quinquenervis*.

4. La actividad larvívica y fitotóxica mostrada por el extracto total de las hojas fue menor al reportado para las raíces, debido quizá a la ausencia de los metabolitos secundarios encontrados en la raíz.

VI Bibliografía

Acevedo, A. L. A., Estrada, S. S. E. (1995) Estudio químico y biológico preliminar de *Conyza filaginoides* (D.C.) Hieron (Asteraceae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM

Anaya, A. L., Calera, M., Mata, R., Pereda, M. R. (1990) Allelopathic potencial of compounds isolated from *Ipomea tricolor* Cav (Convolvulaceae) *Journal of Chemical Ecology* **16**, 2145-2152.

Anaya, A. L., Ramos, O. R., Hernandez, J. (1987) Studies on allelopathy in México. Ed G. R. Waller (Ed.) *Allelochemicals: Role in Agriculture and Forestry*. ACS Symposium Series 330, 89-101 Washington.

Anderson, A. L., Goetz, C. M., McLaughlin, J. L. (1991) A blind comparison of simple bench-top bioassays and human tumor cell cytotoxicities as antitumor prescreens. *Phytochemical Analysis* **2**, 107-111.

Bjeldanes, L. F., Geissman, T. A. (1969) Euparinoid constituents of *Encelia californica*. *Phytochemistry* **8**, 1293-1296.

Bohlmann F., Heinz K., King R. M., Robinson H. (1979) Neue α santalen- und labdan-derivate Aus *Ayapana* a *Amygdalina*. *Phytochemistry* **18**, 1997-2002.

Bohlmann F., Zdero C., Kumar R., King R. M., Harold R. (1980) Diterpenes and tetranorditerpenes from *Acrotopappus* species. *Phytochemistry* **19**, 2695-2705.

Bohlmann F., Jakupovic J. (1979) Neue sesquiterpene, triterpene, flavanone und andere aromatische Verbindungen aus *Flourensia heterolepis*. *Phytochemistry* **18**, 1189-1194.

Bohlmann F., Ahmed M., Robinson H., King R. M. (1981) Derivative from *Liatris scariosa*. *Phytochemistry* 20, 6.

Bohlmann F., Fiedler L. Robinson H. y King R.M. (1981) A labdane derivative from *Chromolaena collina* and hidroxyacetophenone derivative from *Stomatanthes corumbensis*. *Phytochemistry* 20, 5.

Bohlmann, F., Grenz, M. (1970) Neue Isopentenyl-acetophenon Derivate aus *Helianthella uniflora*. *Chem Ber* 103, 90-96.

Bohlmann, F., Mahanta, P. K., Natu, A. A., King, R. M., Robinson, H. (1978) New germacranolides from *Isocarpha species*. *Phytochemistry* 17, 471-474.

Bohlmann, F., Jakupovic, J., Dhar, A. K., King, R.M., Robinson, H. (1981) Heliangolides and diterpenes from *Hartwrightia floridana*. *Phytochemistry* 20, 4.

Bohlmann, F., Jakupovic, J., Schuster, A., King, R.M., Harold, R. (1982) Guainolides and homoditerpenes from *Lasiolaena morii*. *Phytochemistry* 21, 161-165.

Bohlmann, F., Tsankova, E., Jakupovic, J., King, R. M., Robinson, H. (1983) Dimeric chromenes and mixed of a chromene with euparin from *Encelia canescens*. *Phytochemistry* 22, 557-560.

Bye R. (1985). In two Mummies from Chihuahua; A multidisciplinary study; Tyson, R. A. Elñevick, D. V., Eds.; San Diego Museum papers: San Diego, Vol. 19, pp 77-104.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Castañeda, L. P., Gómez, L. L., Mata R., Lotina B., Anaya M. L., Bye R. (1996) Phytochemical growth inhibitory and antifungal constituents of *Helianthella quinquenervis*. *Journal of Natural Products* 56, 323-326.

Cave A. (1993) Annonaceous acetogenins, chemistry and biological activities. *Chemical Abstracts* 119.

Cave, A., Leboeuf, M., Waterman, P. G. (1987) The aporphinoid alkaloids of the Annonaceae *Chemical Abstracts* 107.

Cepleanu, F., Ohtani, K., Hamburger, M., Gupta, M. P., Solis, P., Hostettmann, K., (1993) Novel acetogenins from the leaves of *Annona purpurea* *Chemical Abstracts* 119.

Cornelius, S., Marshall, G.P. (1979) Structure, syntheses, and chemotaxonomic significance of some new acetophenone derivatives from *Encelia farinosa* Gray. *Journal Organic Chemistry* 44, 9.

Corsin, P.; *Flora Universal* (1989) Vol.5, 290.

Fang, Xin-Ping, Rieser, M. J., Gu, Z.M., Zhao, G. X., McLaughlin, J. L. (1993) Annonaceous acetogenins: an updated review. *Chemical Abstracts* 119.

Fontana, J. D., Almeida, E. R. A., Baron, M., Guimaraes, Deschamps, F. C., Schwartzmann G., Cervi, A. C., Zanatte, F., Villegas, J., Lanchas, F. M. (1994). Screening of acetogenin-producing plants in Brazilian flora; *Applied Biochemistry and Biotechnology* 45, 295-313.

Gómez León L. C. (1993) Estudio químico y biológico preliminar de *Helianthella quinquenervis*. Tesis de licenciatura Facultad de Química, UNAM.

González, A. G., Aguiar, Z. E., Grillo, T. A., Luis J. G., Rivera, A., Calle, J. (1991) Chromenes from *Ageratum conyzoides*. *Phytochemistry* 30, 4.

González, A. G., Aguiar, Z. E., Grillo, T. A., Calle, J. (1991) Chromenes from *Ageratum conyzoides*. *Phytochemistry* 20, 4.

Grinberg, N. (1991) Modern thin Layer Chromatography. En N. Grinberg (Ed.), *Chromatography Science Series*, Vol 52 New York, Marcel Dekker.

Harborne, J. B. (1988) Introduction to Ecological Biochemistry, third edition; Academic press; 277-299.

Herz, W., Kulanthaivel, P. (1983) Chromans from *Helianthella quinquenervis*. *Phytochemistry* 23, 435-437.

Herz, W., Kumar, N. (1981) Aromatic and other constituents of four *Verbersina* specie structure and stereochemistry of verbesindiol. *Phytochemistry* 20, 247-250.

Inouye, D., Inouye, R. (1980) The amino acids of extrafloral nectar from *Helianthella quinquenervis* (Asteraceae). *American Journal Botanic* 67, 9.

Kent, R. J., Yu-Hua H., McLaughlin, J. L. (1990) Annonaceous acetogenins: review. *Journal of natural products* 53, 237-278.

Kunze, A., Aregullin, M., Rodriguez, E., Proksch, P. (1996) Fate of the chromene enecalinal in the interaction of *Encelia farinosa* and its specialized herbivore *Trirhabda geminata*. *Journal of Chemical Ecology* 22, 3.

Maillard, M. P.; Wolfender, J. L., Hostettman, K. (1994) Use of liquid chromatography-thermospray mass spectrometry in phytochemical analysis of crude plant extracts. *Chemical Abstracts* 120.

Martínez M. (1979) Catalogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas; De Fondo de Cultura Ecómica; México 1979 pp 61, 121.

Merrill G. B. (1989) Eupariochromene and enecalinal, plant growth regulators from yellow starthistle (*Centaurea solstitialis* L.). *Journal of Chemical Ecology* 15, 7.

Meyer, B. N., Ferrigni, N.R., Putnam, J. E., Jacobsen, L.B., Nichols, D. E., McLaughlin, J. L. (1982) Briden shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica* 45, 31-40.

Mikolajczak, K. L.; McLaughlin, J. L.; Rupprecht, J. K. (1987) Control of pests with annonaceous acetogenins. *Chemical Abstracts* 106.

Pereza S. S. R.; Salazar A., Peña R. L. (1995) A new triterpene from the resin of *Bursera simaruba*. *Chemical Abstracts* 122.

Pereza S. S., Peña R. L. (1992) Isolation of picropolygamain from the resin of *Bursera simaruba*. *Journal Natural Products* 55, 12.

Proksch, P., Clark, C. (1986) Systematic Implications of chromenes and benzofurans from *Encelia* (Asteraceae). *Phytochemistry* 26, 1.

Proksch, P., Rodriguez, E. (1983) Chromenes and benzofurans of the Asteraceae, their chemistry and biological significance. *Phytochemistry* 22, 2335-2348.

Proksch, P., Mitsakos, A., Bodden, J., Wollenweber, E. (1986) Benzofurans and methylated flavonoids of *Geraea* (Asteraceae). *Phytochemistry* **25**, 10.

Proksch, P., Murray, B.I., Witte, L., Hartmann, T. (1987) Metabolites of insecticidal Chromenes from the migratory grasshopper *Melanoplus sanguinipes*. *Phytochemistry* **26**, 8.

Proksch, P., Palmer, J., Hartmann, T. (1986) Metabolism and bioconversion of chromene derivatives in *Ageratina adenophora* (Asteraceae). *Planta* **169**, 130-134.

Proksch, P., Rodriguez, E. (1982) High-performance liquid chromatography of chromenes and benzofurans from the genus *Encelia* (Asteraceae). *Journal of Chromatography* **240**, 540-54.

Salatino, M. L. F., Salatino, A. (1983) Constituents of the unsaponifiable fraction of the foliar epicuticular wax and the Annonaceae. *Chemical Abstracts* **99**.

Sanchez M. A. (1991) Potencial agroindustrial del Amarantho; Centro de estudios economicos y sociales del tercer mundo;

Srivastava, R. P., Proksch, P. (1990) Toxicity and feeding deterrence of natural chromene and benzofuran derivatives to *Epilachna varivestis*. *Naturwissenschaften* **77**, 435-437.

Sutfeld, R., Balza, F., Neil, T. G.H. (1985) A Benzofuran from *Tangentis patula* Seebtings. *Phytochemistry* **24**, 4.

Villareal, J. A. (1983) Malezas de Buenavista Coahuila; Universidad Autónoma Agraria, Antonia Narro Buenavista Saltillo Coahuila, pp 34-35.

Villegas, M.(1979) Malezas de la cuenca de México; Instituto de Ecología, Museo de Historia Natural de la Ciudad de México.

Waterman, P. (1984) Unusual metabolites from some *African Annonaceae*. *Revista Latinoamericana Química* **15**, 3.

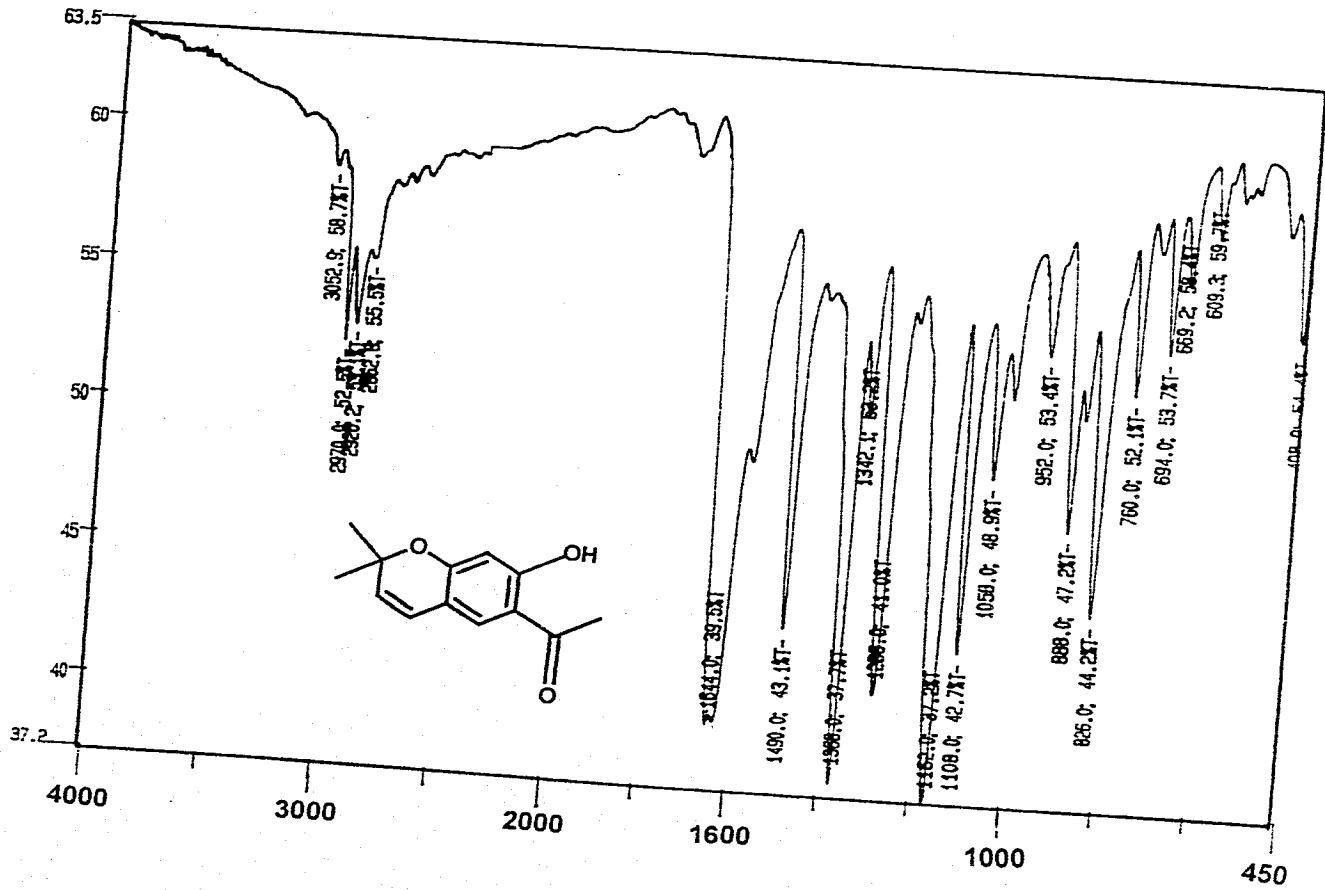
Waterman, P. G. (1985) Unusual metabolites from some *Africana Annonaceae*. *Chemical Abstracts* **102**.

Werner, H., Kumar, N. (1981) Aromatic and other constituents of four *Versina* species: Structure and stereochemistry of verbesindiol. *Phytochemistry* **20**, 247-250.

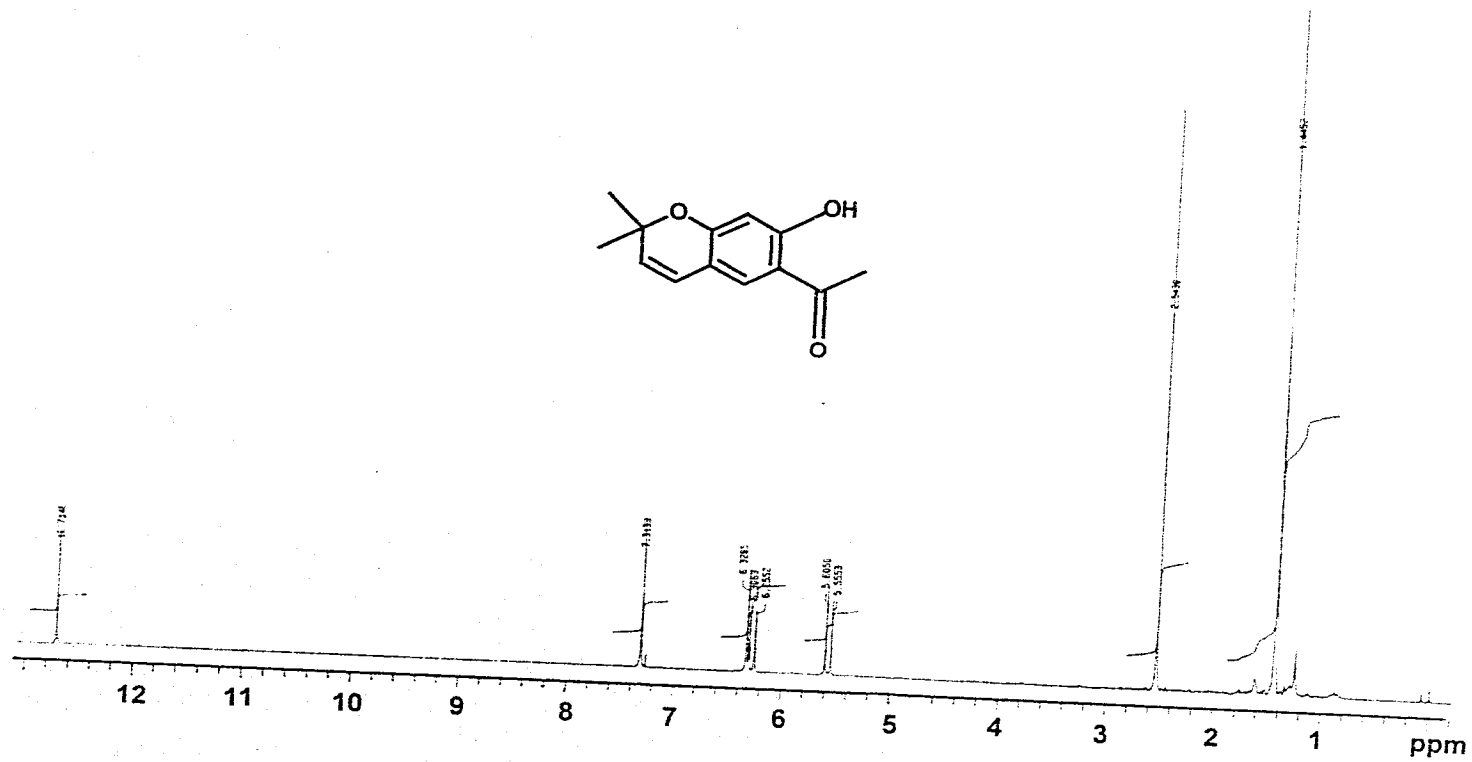
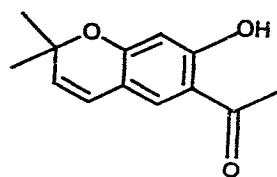
Willis R. J. (1994) Terminology and trends in allelopathy. *Allelopathy Journal*. **16-28**.

Wisdom, C. S . Use of chemical variation and predations plant defenses by *Encelia farinosa* against a specialist herbivore. *Journal of Chemical Ecology* **11**, 11.

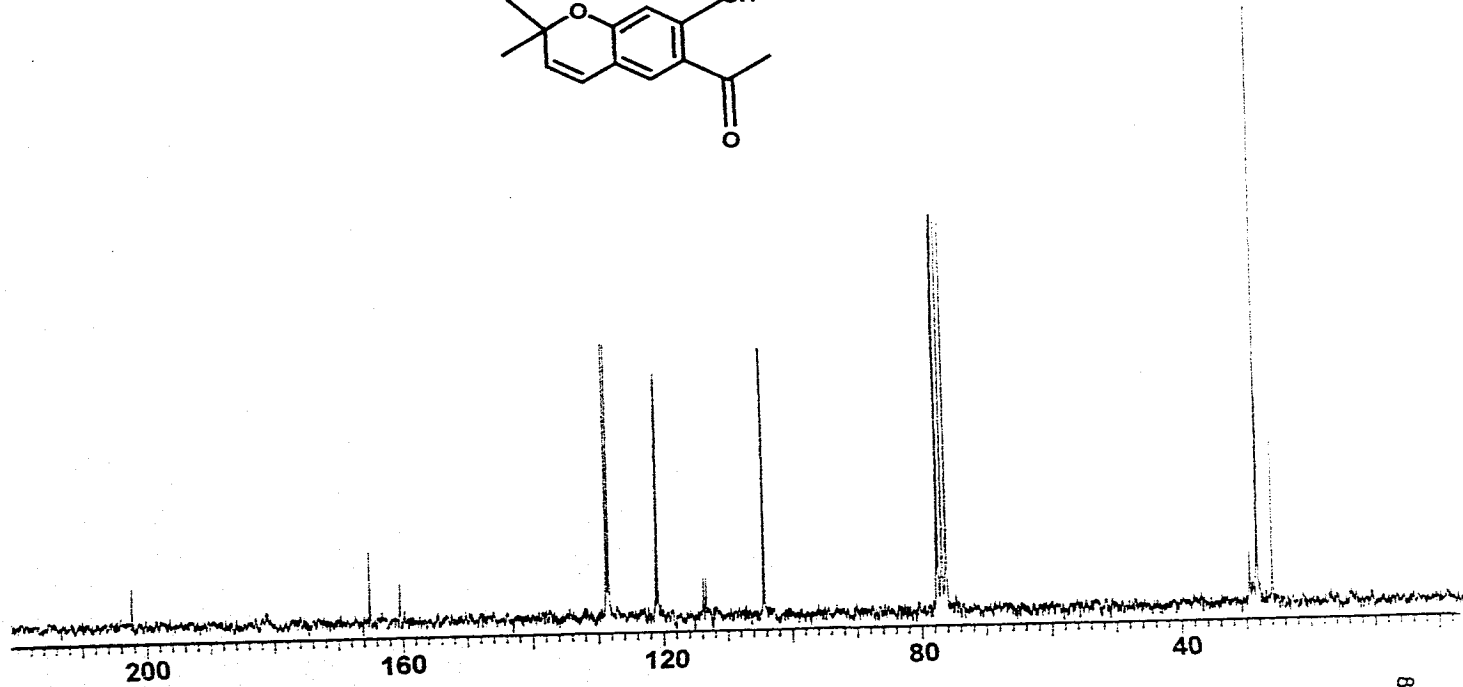
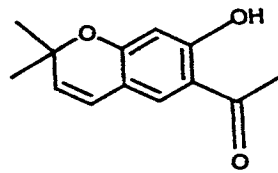
Xing-Ping, F., Matthew, J. R., Zhe-Ming, G., Geng-Xian, Z., Mc Laughlin, J. L. (1993) Annonaceous acetogenins: an updated Review. *Phytochemistry Analysis* **24**, 27-48.



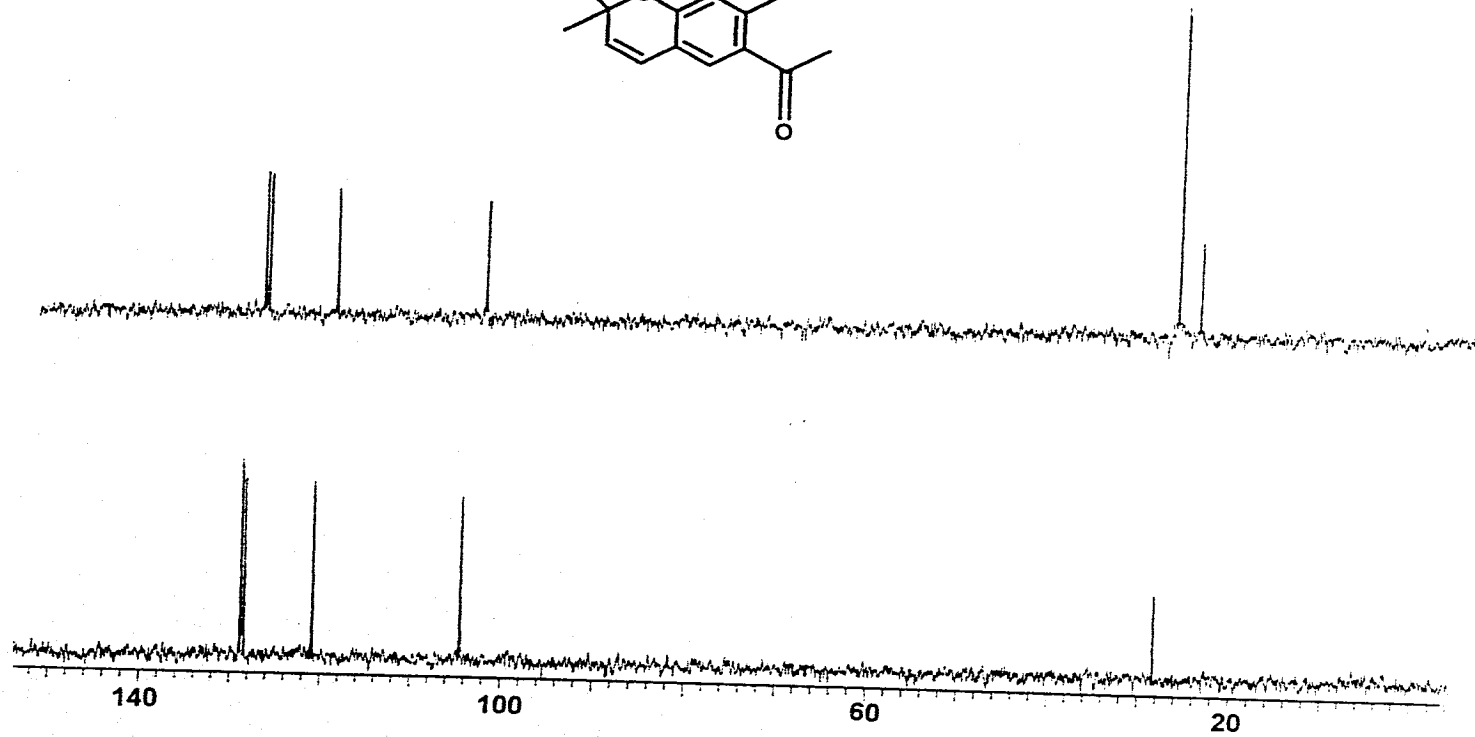
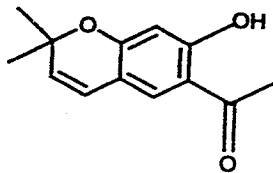
ESPECTRO 1



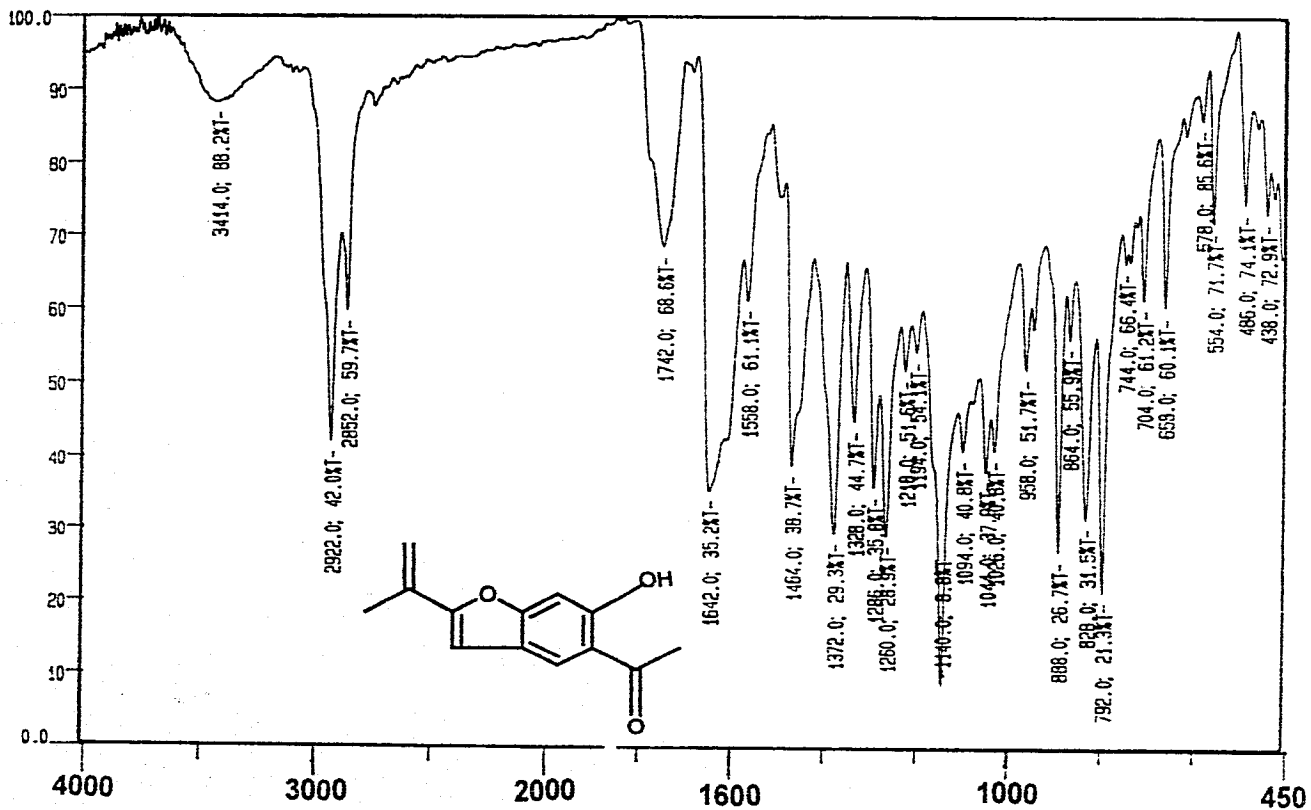
ESPECTRO 2



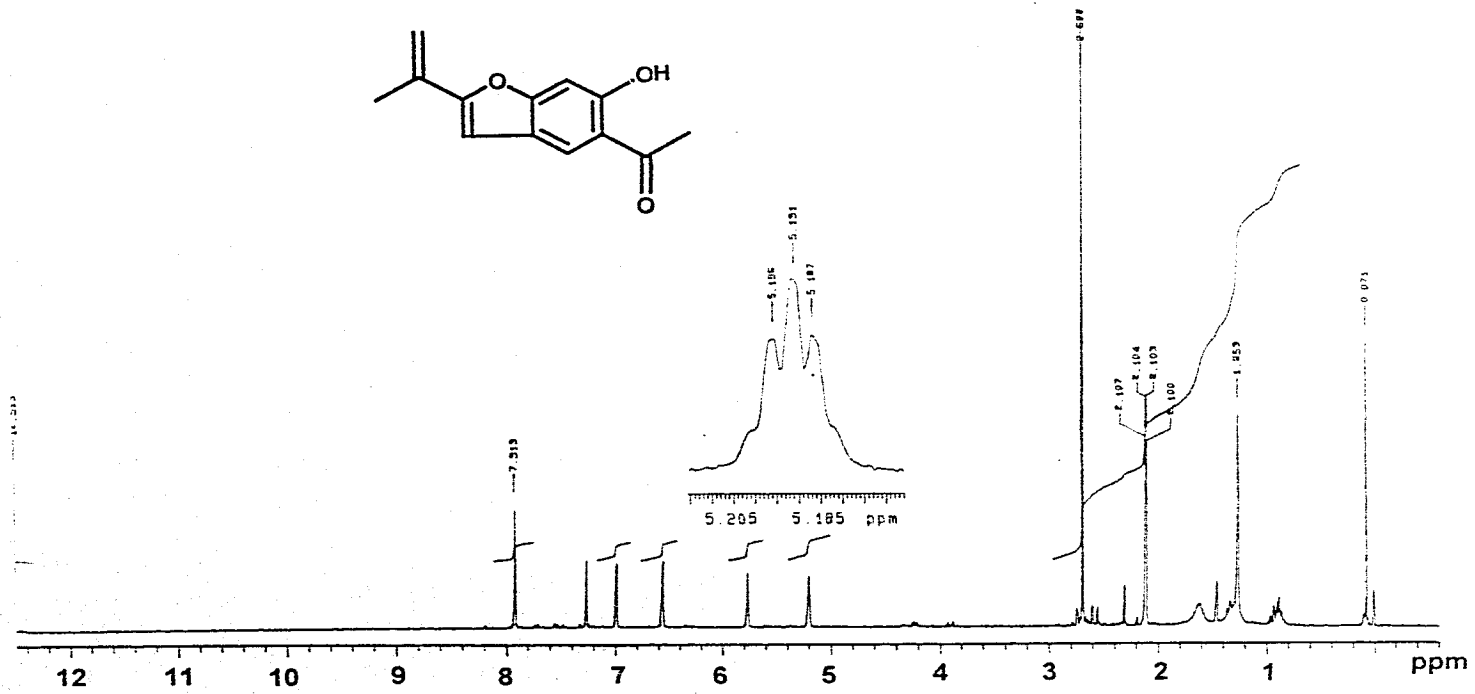
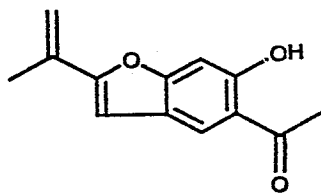
ESPECTRO 3



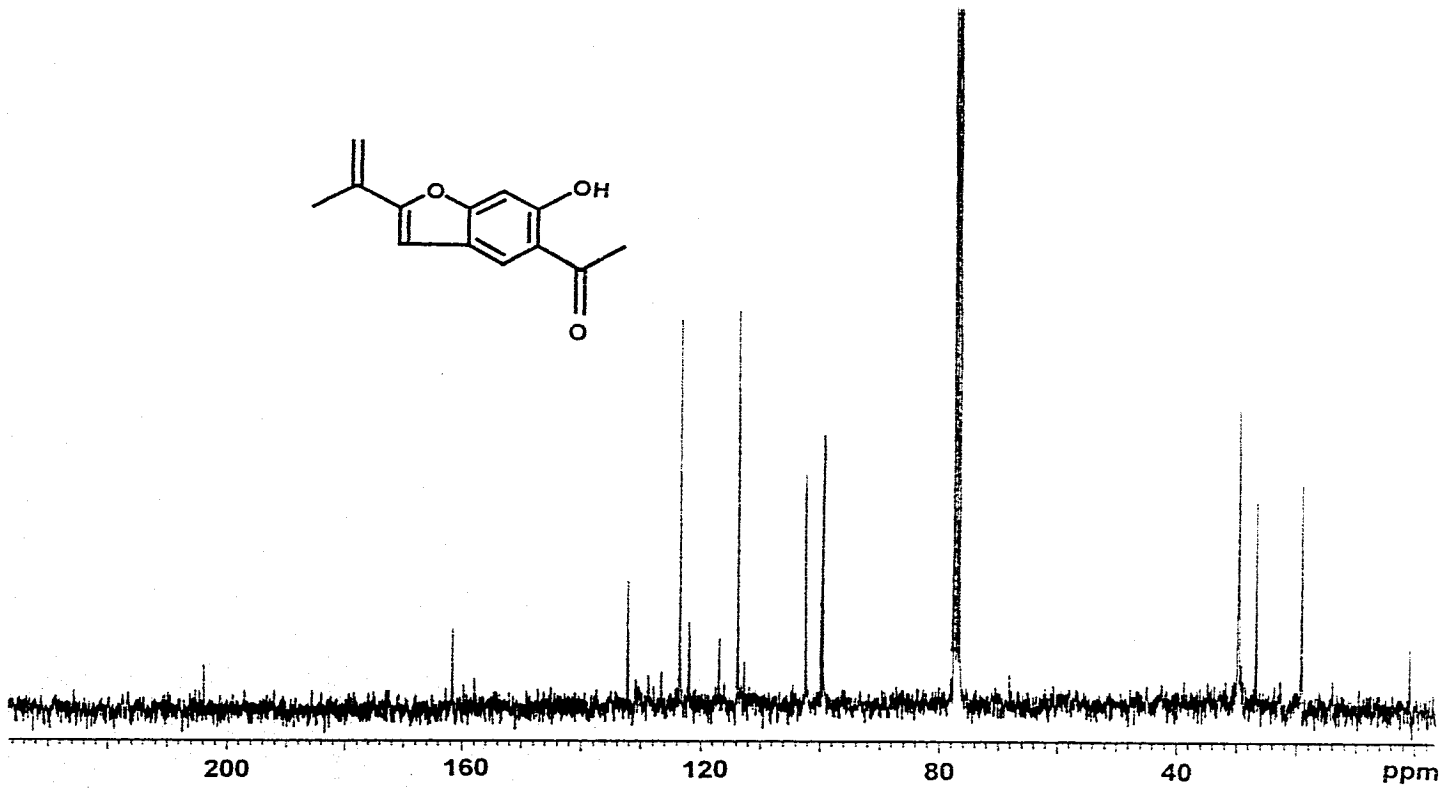
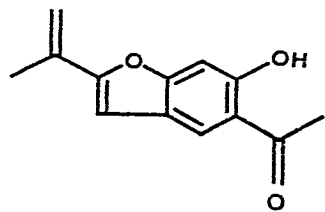
ESPECTRO 4



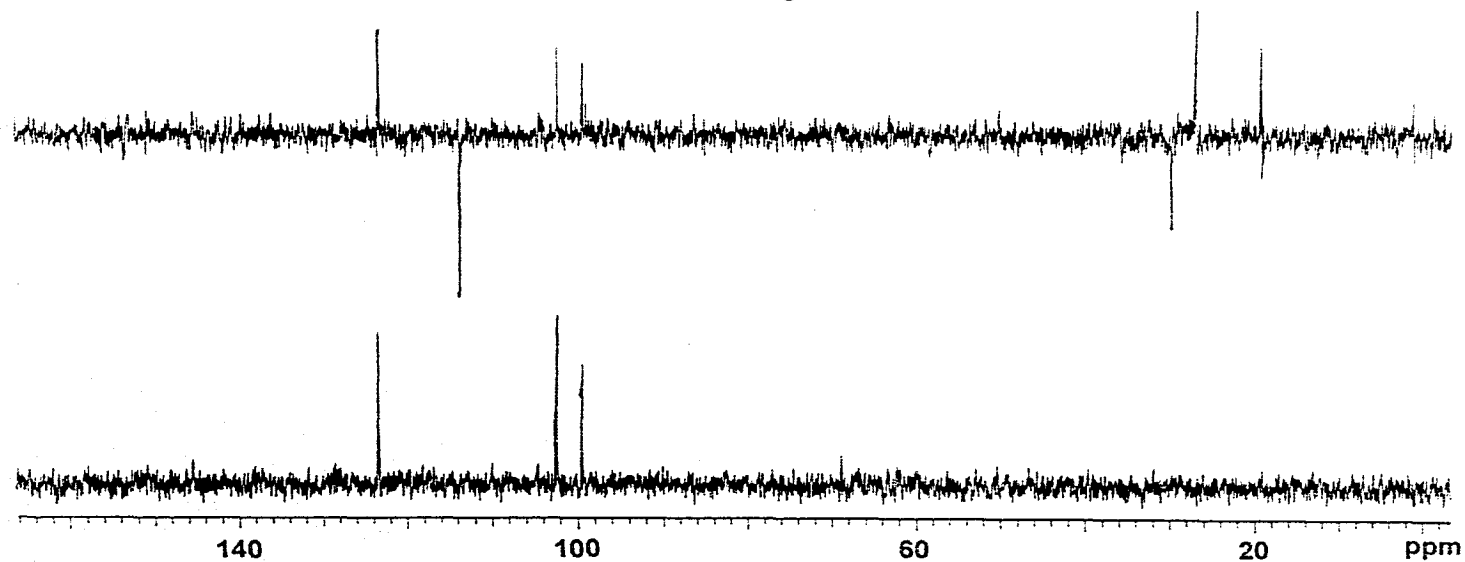
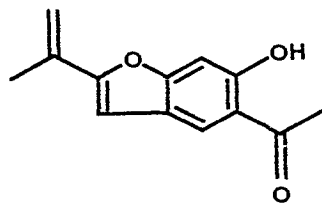
ESPECTRO 5



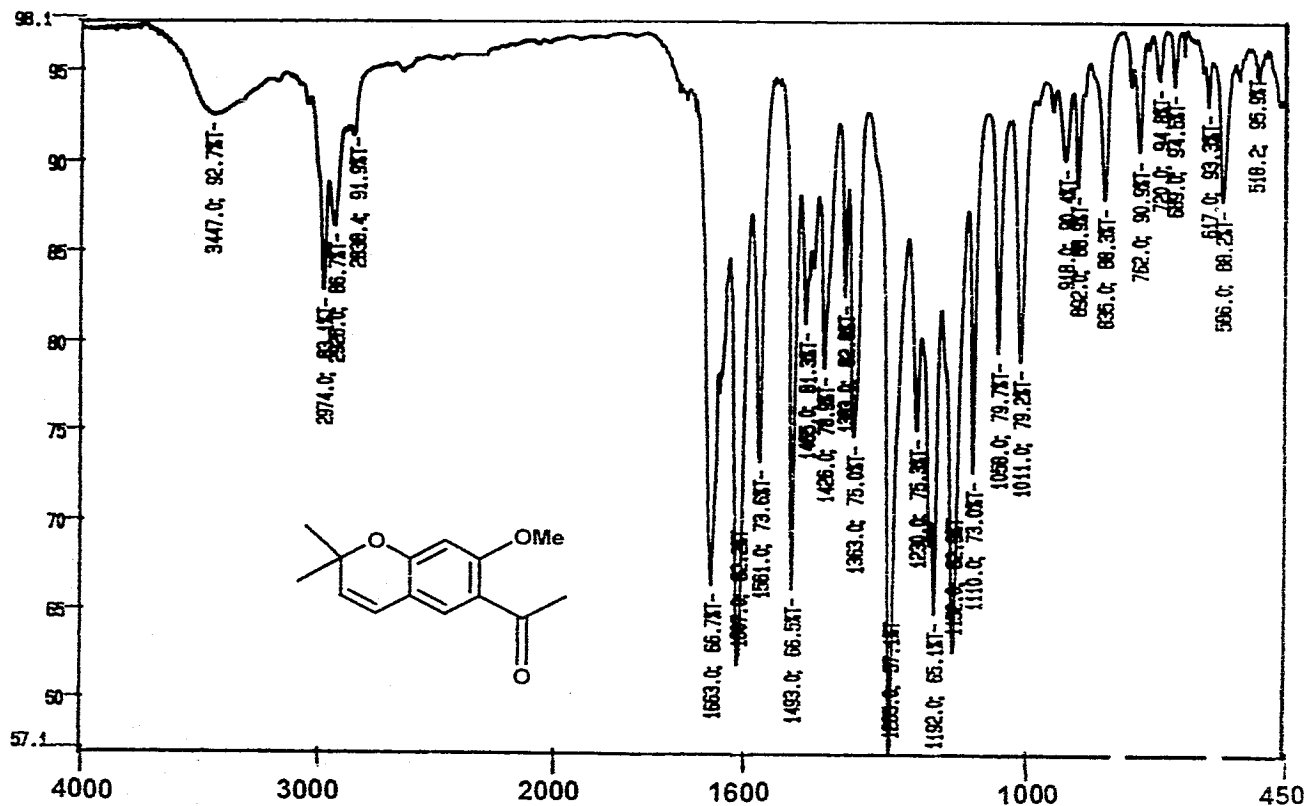
ESPECTRO 6



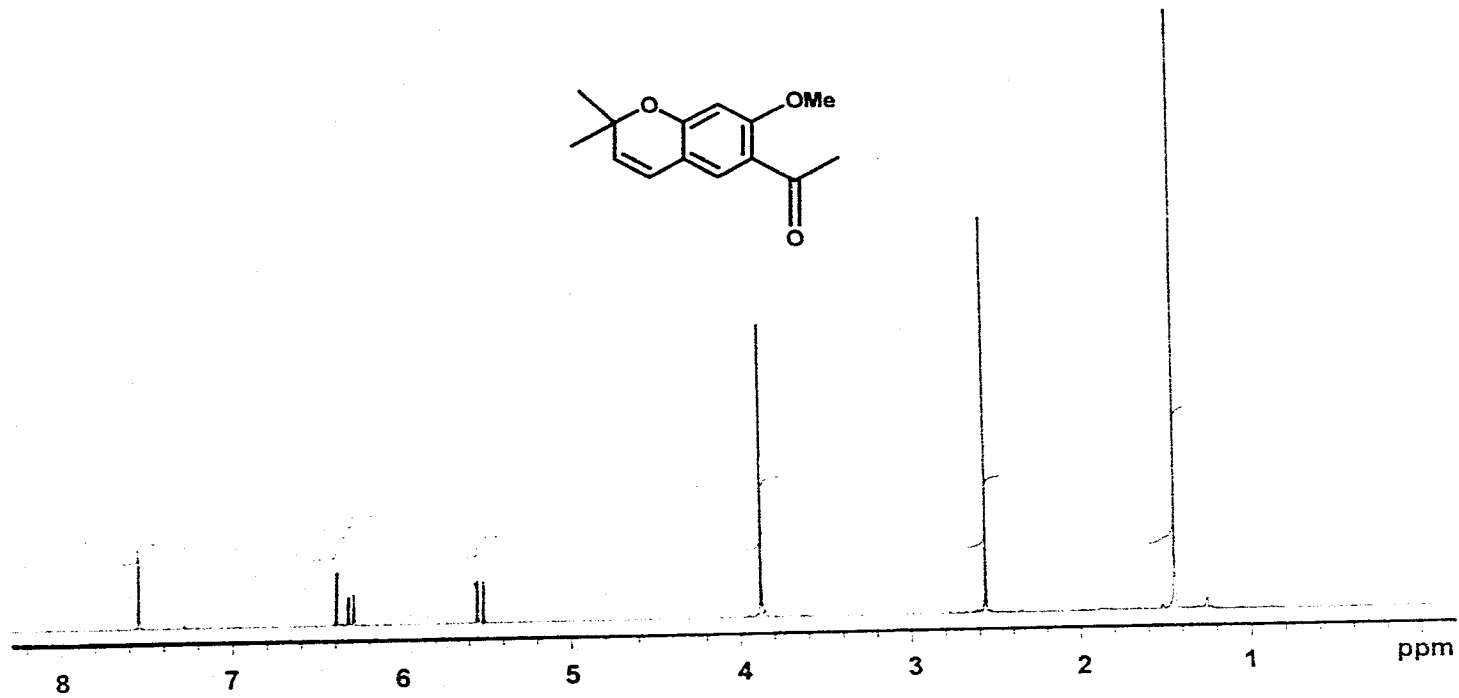
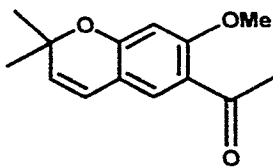
ESPECTRO 7



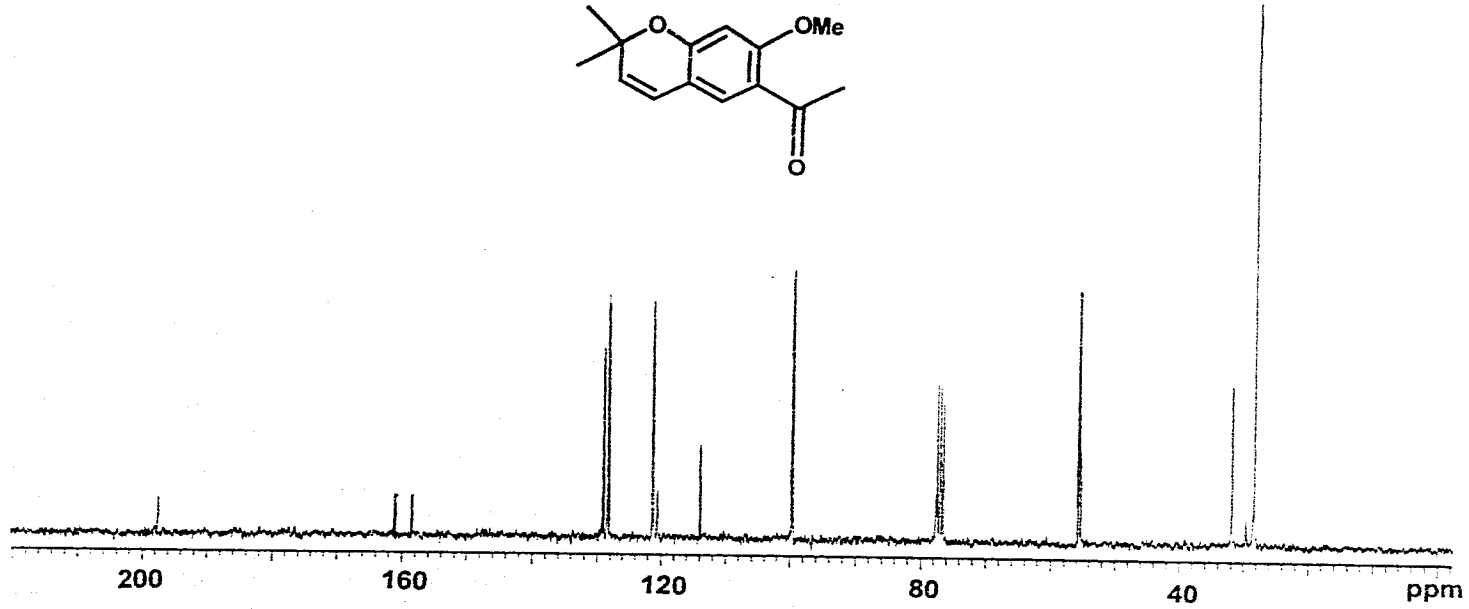
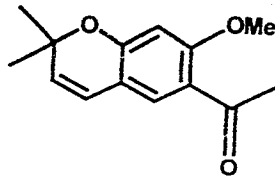
ESPECTRO 8



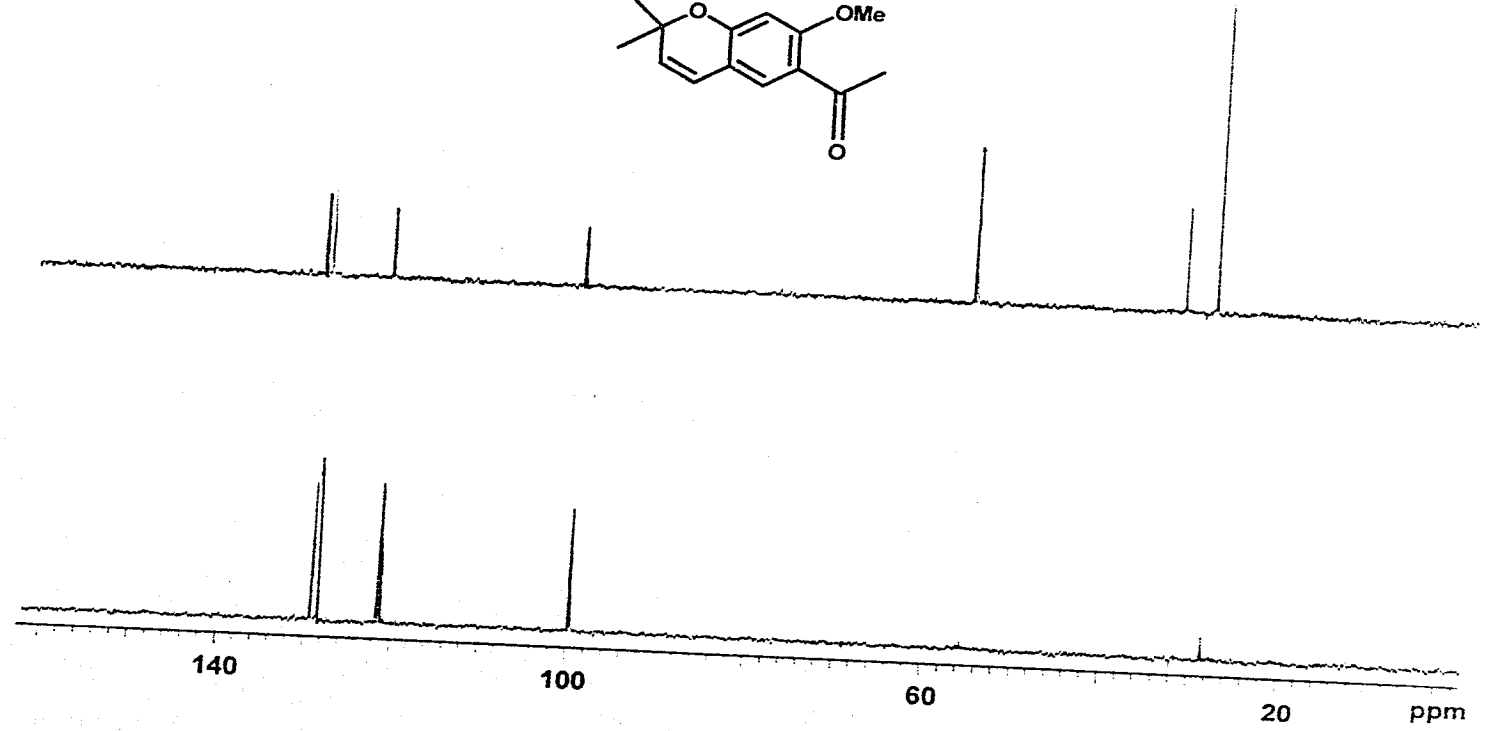
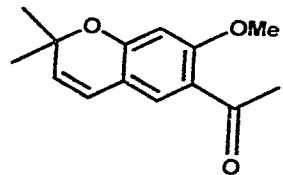
ESPECTRO 9



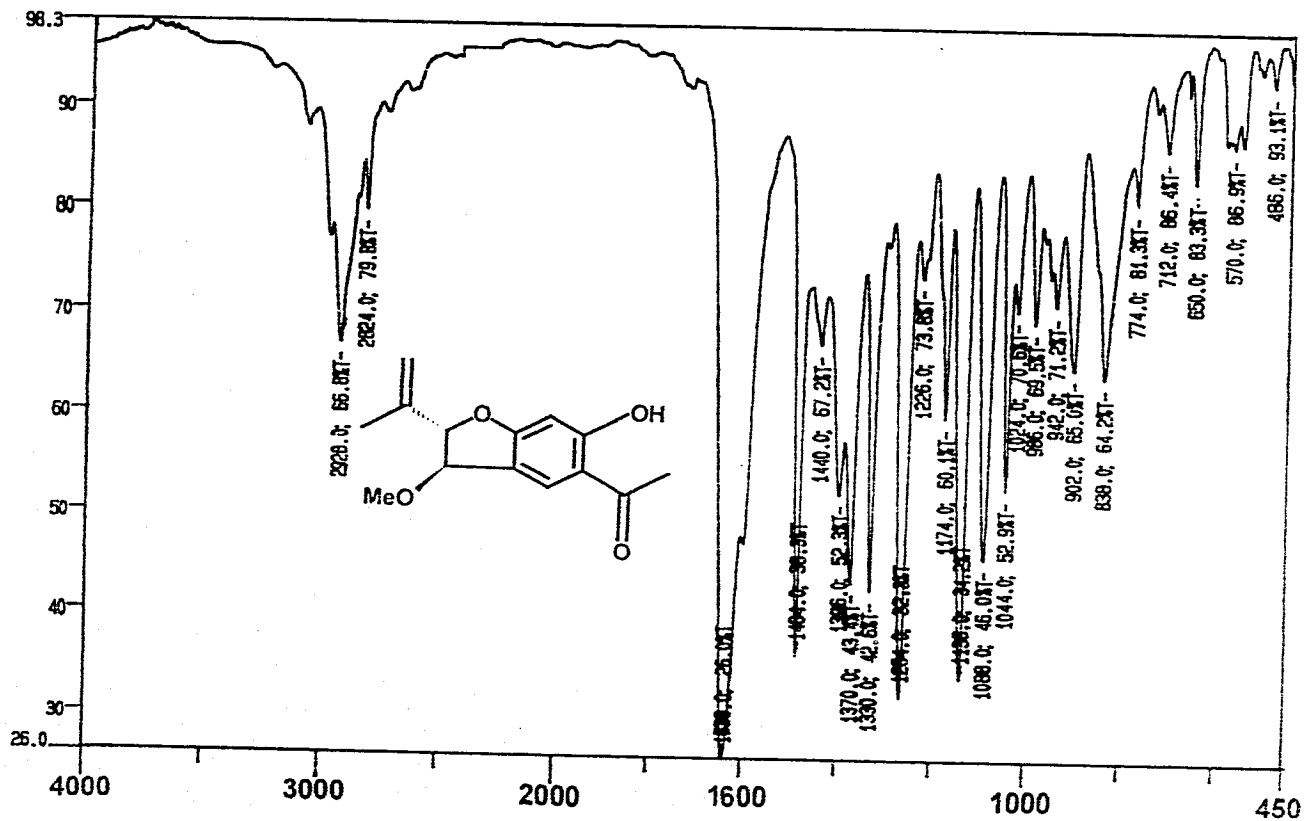
ESPECTRO 10



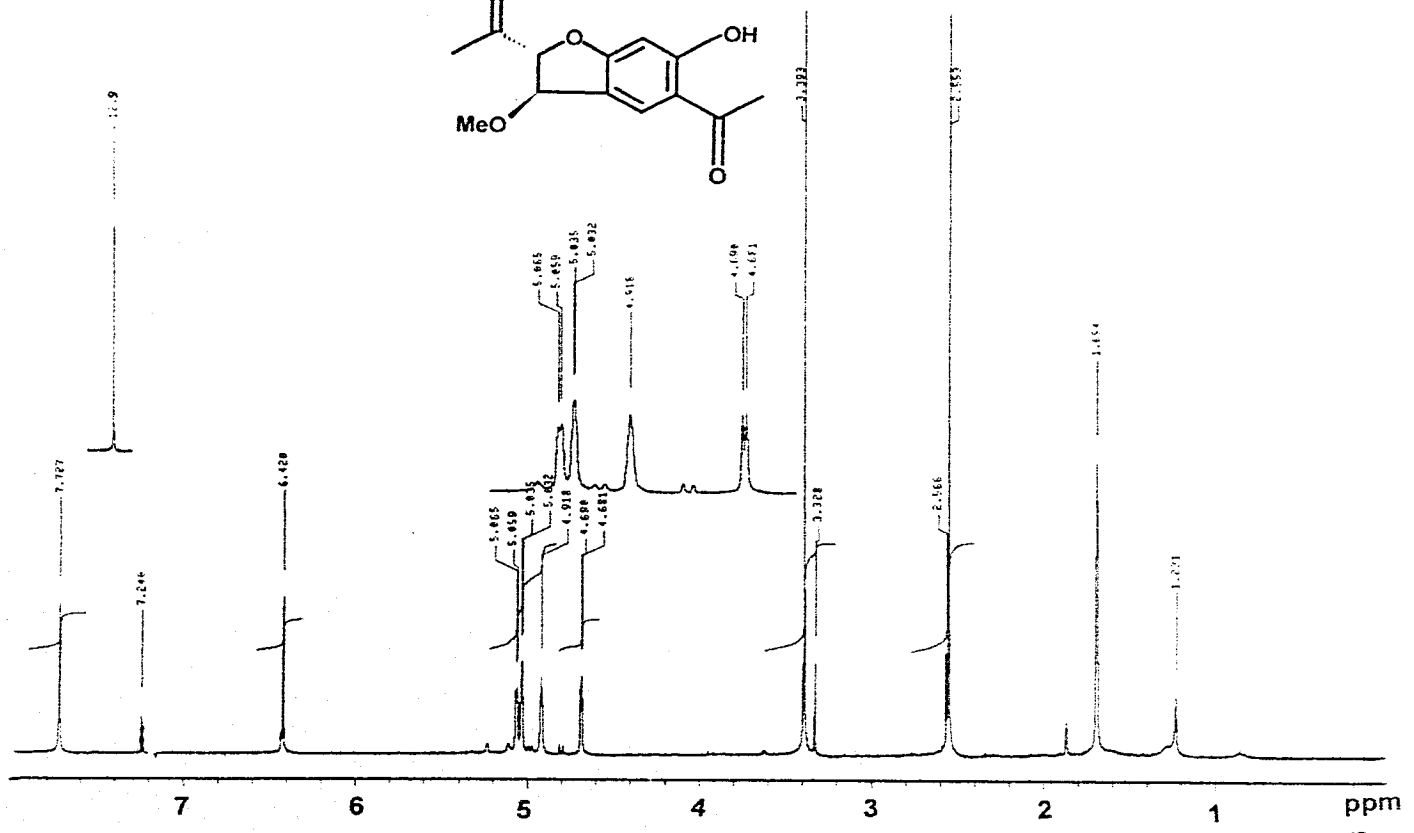
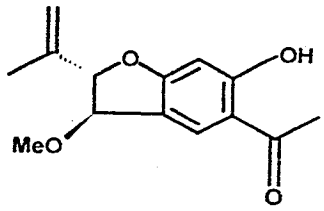
ESPECTRO 11



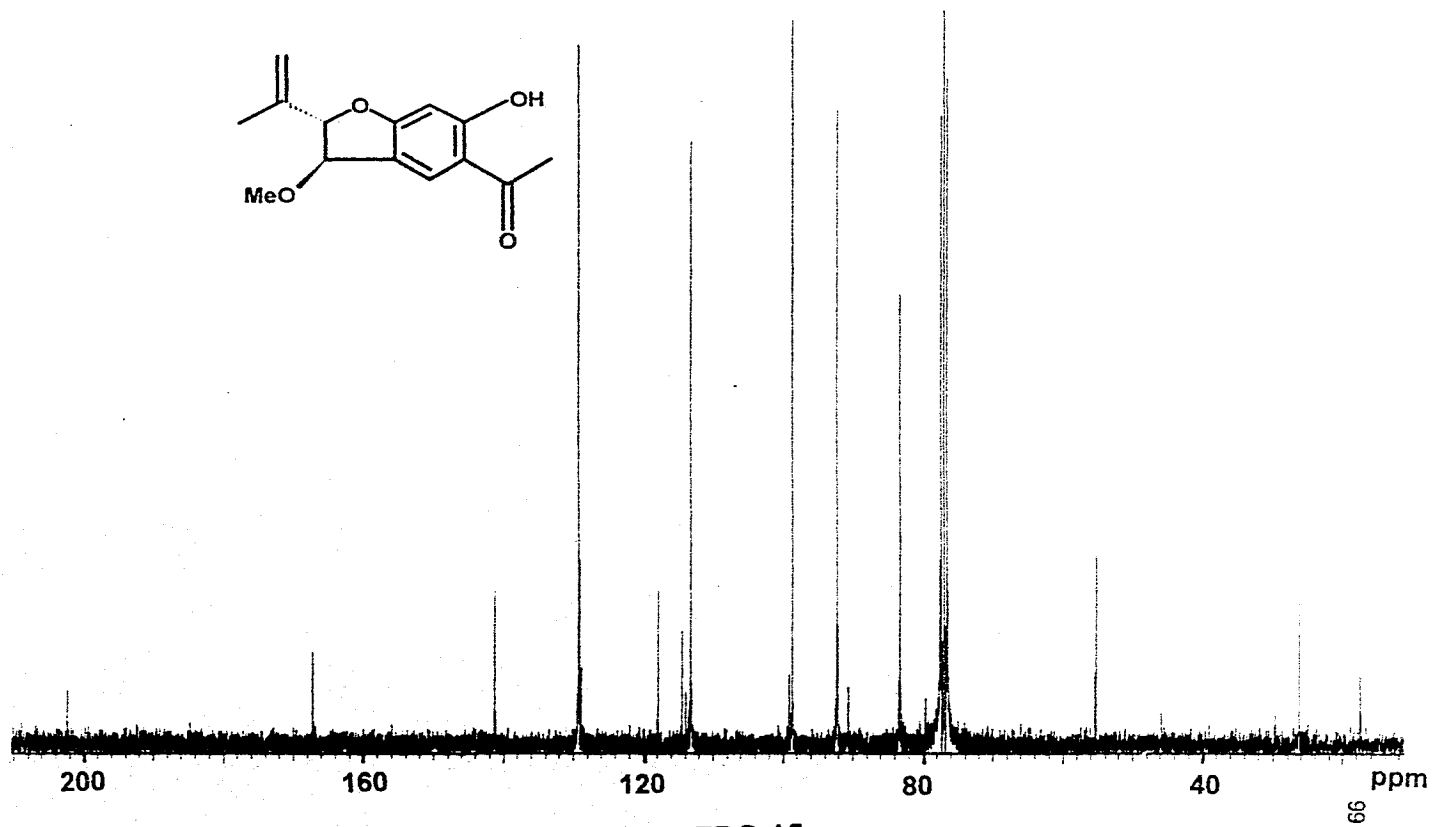
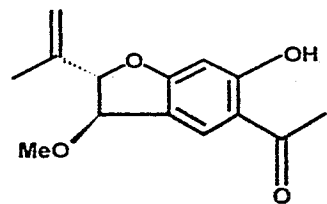
ESPECTRO 12



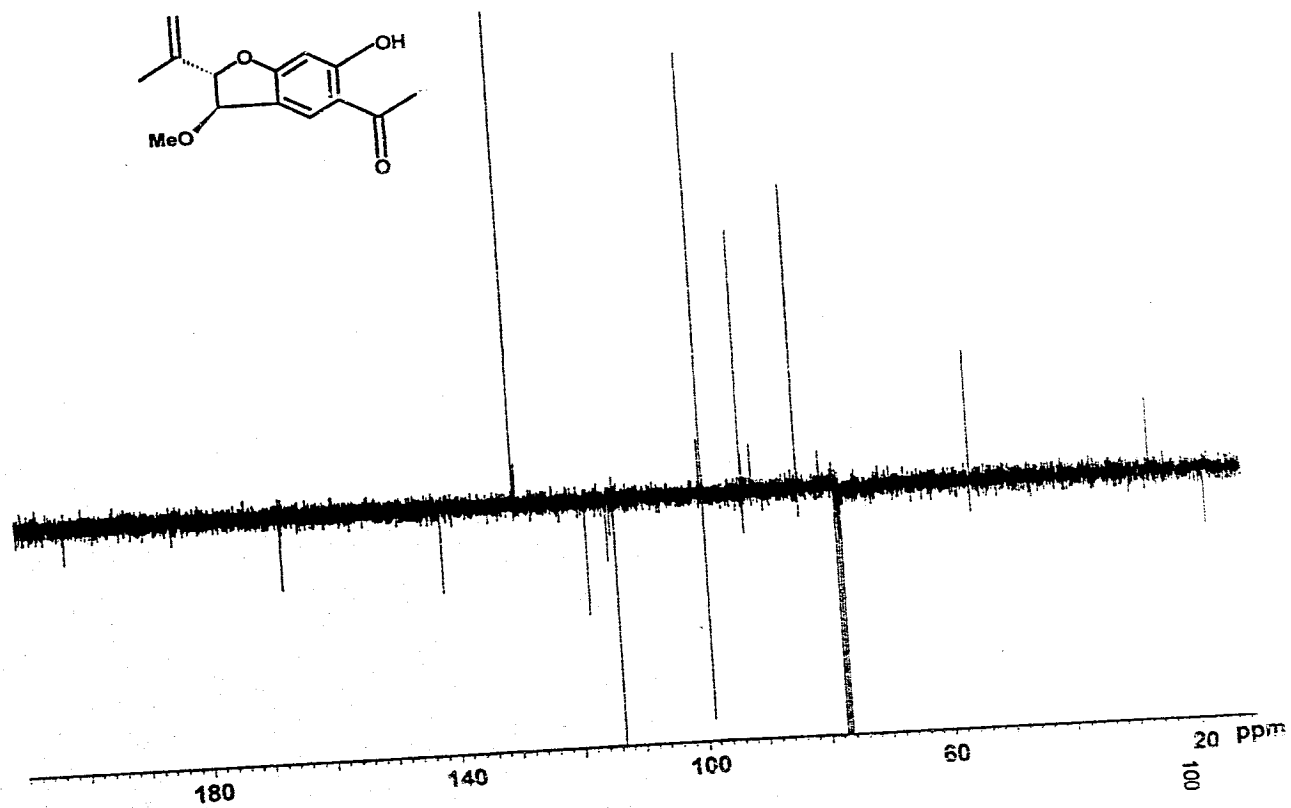
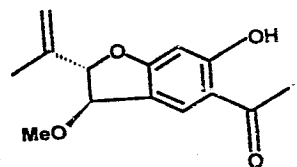
ESPECTRO 13



ESPECTRO 14



ESPECTRO 15



ESPECTRO 16