



78
Lej

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS

"ESTUDIO QUIMICO COMPARATIVO DE HOJAS Y LATEX DE
CUATRO ESPECIES DEL GENERO JATROPHA (EUPHORBIACEAE)"

T E S I S

Que para obtener el título de

B I O L O G O

presenta

PATRICIA GUEVARA FEFER

MEXICO, D. F.

1988



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

	PAGINAS
RESUMEN	1
I. INTRODUCCION.	2
Objetivos	3
II. ANTECEDENTES.	4
A) Botánicos	4
B) Químicos	6
- Descripción específica	11
III. MATERIAL Y METODOS.	19
1.- Preparación del material	19
a)- Colecta	19
b)- Secado	19
c)- Molienda	20
2.- Extracción selectiva	20
3.- Análisis de los extractos	23
IV. RESULTADOS Y DISCUSION.	28
a)- Rendimiento de los extractos	28
b)- Análisis de los grupos químicos encontrados	33
c)- Cronatogramas	50
V. CONCLUSIONES.	58
VI. BIBLIOGRAFIA.	59
APENDICE.	62

RESUMEN

El presente estudio es una aportación preliminar al análisis químico del género Jatropha (Euphorbiaceae) en México.

Se estudiaron cuatro especies del género, subgénero Curcas, pertenecientes a tres secciones diferentes, estableciéndose las similitudes y diferencias encontradas desde el punto de vista del análisis realizado.

I

I N T R O D U C C I O N

El estudio taxonómico del género Jatropha muestra una gran diversidad de especies, algunas con características similares, lo que dificulta su determinación.

Deghan (1979), en sus trabajos sobre el género elaboró un esquema taxonómico que muestra las relaciones infragenéricas que existen, y en base a los estudios realizados, dividió el género en dos subgéneros: El subgénero Curcas (ampliamente distribuido en América, especialmente en los desiertos de Sonora, Chihuahua, así como los de Arizona y Texas) y el subgénero Jatropha (ampliamente distribuido en Africa). Estos dos subgéneros, a su vez, los dividió en secciones y subsecciones respectivamente. Todo esto da idea de la complejidad del género y de los problemas que se presentan en la determinación de las especies.

Por otro lado los estudios fitoquímicos del género han revelado la presencia de diversos compuestos químicos, la mayoría de los cuales pertenecen a grupos tales como: flavonoides, terpenos, lignanos, saponinas y alcaloides; algunos de estos compuestos han sido caracterizados con toda precisión.

Tomando en consideración la gran diversidad de especies que ocurren en México, algunas de las cuales presentan una distribución muy restringida, se consideró pertinente la exploración química preliminar de 4 especies pertenecientes a 3 secciones del subgénero Curcas.

Las especies estudiadas son:

Jatropha elbae. Jiménez Ramírez. Sec. Mozzina.
(Ortega) Pax.

Jatropha tlalcozotitlanensis. Jiménez Ramírez.
Sec. Lourcira (Cav) Muell. Arg. ex Pax.

Jatropha malacophylla. Stand. Sec. Curcas.
Deghan et Webster (citado en Jiménez, 1982)

Jatropha galvani. Jiménez Ramírez. Sec. Loureira
(Cav) Muell. Arg. ex Pax.

O B J E T I V O S

I. General:

El objetivo general del presente trabajo fué la investigación de la presencia de los principales grupos de metabolitos secundarios en las cuatro especies del género Jatropha, citadas anteriormente, y la comparación de los resultados obtenidos para establecer semejanzas o diferencias interespecíficas.

II. Particulares:

Obtención de extractos con diferentes disolventes, de hojas de látex.

Determinación de grupos de compuestos químicos (alcaloides, flavonoides, terpenos y esteroides, glicósidos y saponinas) en los extractos.

Determinación del número aproximado de componentes de los extractos por cromatografía en placa delgada.

II

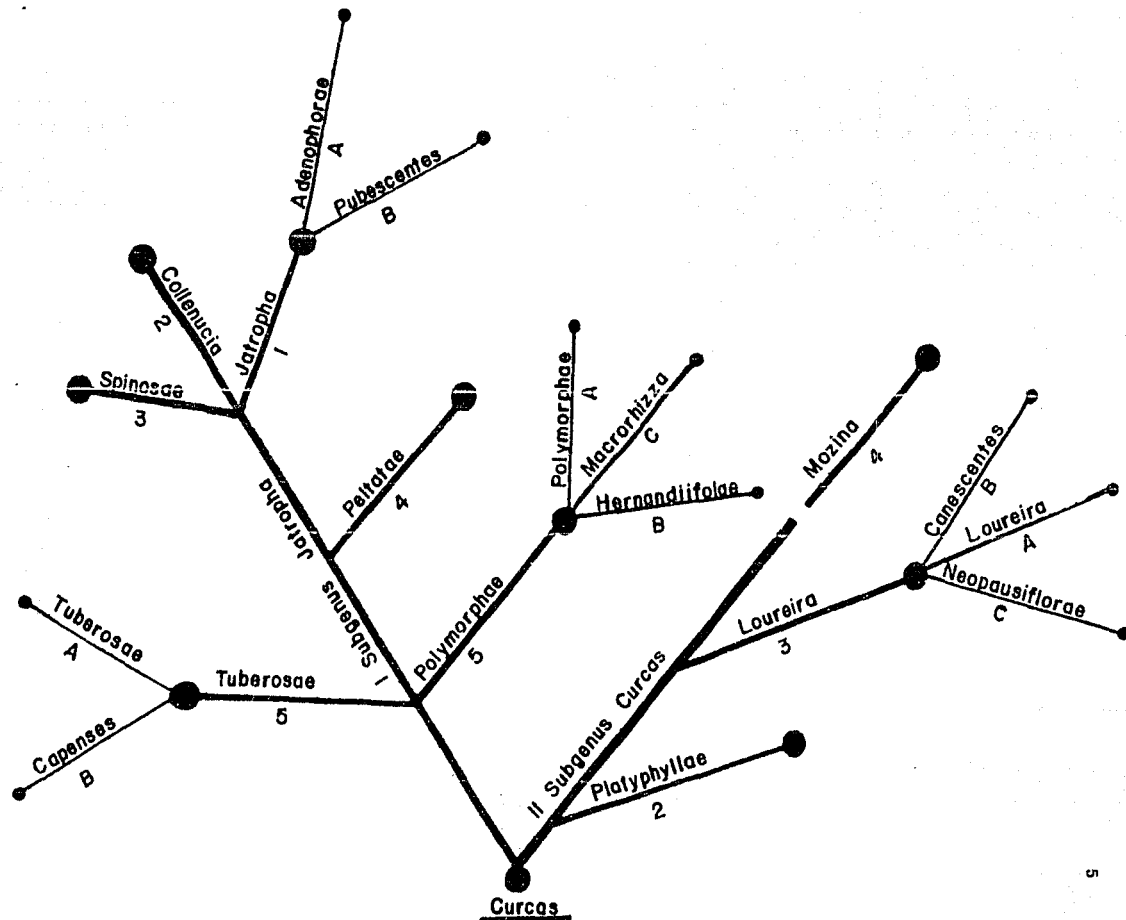
ANTECEDENTES

A). Botánicos

Son numerosos los autores que han estudiado la taxonomía del género que fue descrito por Linneo en su *Genera Plantarum* (1737), y quien además describe varias especies en trabajos posteriores (1753,1763); Adanson (1773), Phol (1827); Baillon (1858); Max y Hofman (1919,1931); llevaron a cabo diversos arreglos taxonómicos dentro del género. (Citado en Jiménez 1982).

Más recientemente Mc. Vaugh (1954), hizo la tipificación del género Jatropha (citando en Jiménez 1982); y finalmente Deghan (1976, 1978), Deghan y Craig (1978); y Deghan y Webster (1979), realizan una revisión a nivel seccional estudiando material vivo y efectuando cruza entre las especies (20 especies). Proponiendo un esquema donde divide al género en dos subgéneros: el subgénero Jatropha y el subgénero Curcas, señalando dos caminos evolutivos diferentes: por un lado, la mayoría de las especies endémicas mexicanas del subgénero Curcas, y por otro lado el resto de las especies del subgénero Jatropha de distribución Pantropical, cuya estructura general conserva las características primitivas del género.

En el siguiente esquema se muestra el arreglo filogenético de los diferentes taxa que comprenden el género según los autores.

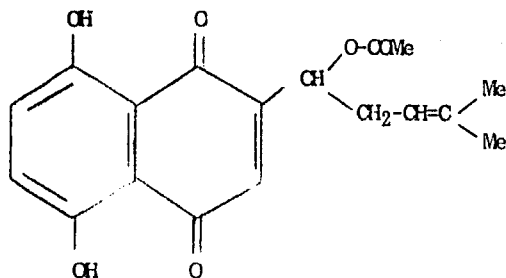
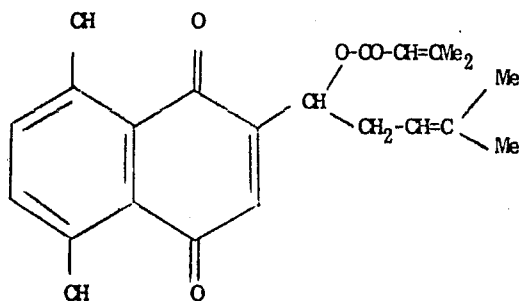


Sections ●
Subsections ●

FILIGENIA DEL GENERO *JATROPHA* L. SEGUN LOS AUTORES DEHGAN Y WEBSTER, 1978.

B). Químicos:Compuestos encontrados en el género JatrophaPigmentos:

J.A. Ballantine (1969), en un análisis de secciones del tronco y ramas de Jatropha glandulifera, aisló la 3-3dimetil-acrylshikonina (I), la cual constituye el principal pigmento responsable del color del tronco del arbusto y que se encuentra junto con pequeñas cantidades de shikonina (II).



Flavonoides:

Subramanian y col. (1971) encontraron en hojas secas de Jatropha helnii, quercetina, quercetina-3-galactósido, vitexina e isovitexina, y de los extractos de hojas frescas de J. curcas, aislaron apigenina, vitexina e isovitexina. Estos mismos flavonoides los encontraron en hojas frescas de J. gossypifolia.

Terpenos:

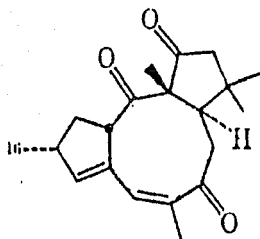
De los extractos de éter de petróleo de raíces de Jatropha dioica var. sessiliflora, Domínguez y col. (1980), aislaron la rioloza---triona, diterpeno que representa un nuevo tipo de estructura que puede provenir de la trasposición de un derivado del latiroil, o bien de algún precursor macrocíclico.

Kupchan y col. (1976), aislaron de la raíz de Jatropha gossypifolia un nuevo derivado diterpénico macrocíclico, la jatrofona, con propiedades antitumorales, cuya estructura determinaron por los métodos espectroscópicos usuales y confirmaron con rayos X.

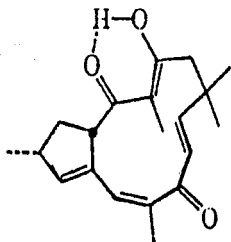
De la misma especie y también de la raíz, Koshiparambil y col. (1979) aislaron dos cetónas diterpénicas, la jatrofolona A y su epímero en C₂, la jatrofolona B.

Otro diterpeno con propiedades antitumorales, la jatrofona---triona, se aisló de Jatropha macrorhiza, (Sserling y col. 1979).

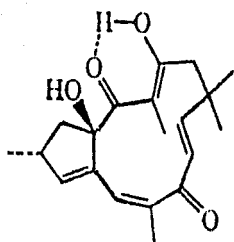
Estructuralmente se encuentra relacionada con la jatrofona, aislada de Jatropha gossypifolia (Kupchan, y col. 1976) y se propone una posible ruta biosintética para ambas cetónas a partir de un precursor bicíclico común.



Jatrophatriona



Precursor



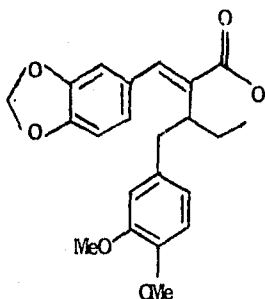
Jatrophona

Adolf y col. (1984), aislaron de los aceites de 4 especies de Jatropha ésteres diterpénicos del tipo del tigliano, con ácidos poli--insaturados. Los alcoholes diterpénicos correspondientes se identificaron como: el 16-hidroxi-forbol, para J. podagrica y J. multifida, y el 12-desoxi-16hidroxi-forbol, para J. Curcas y J. gossypifolia.

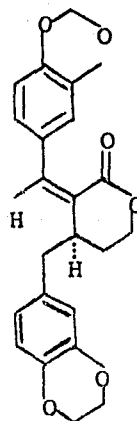
En el látex de Jatropha acotinifolia, por cromatografía directa en gel de sílice, Rosquete y Morales (1979) aislaron acetato de epilupeol, siendo esta la primera vez que se encuentra en la naturaleza y además, B-sitosterol.

Lignanos:

En 1981, Chatterjee y col. aislaron de los extractos de éter de petróleo de tallos, raíz y semillas de Jatropha gossypifolia un lignano al cual denominaron jatrofona (I) y posteriormente Banerji y col. (1984), aislaron un segundo lignano al que llamaron gadaina (II).



I



II

Parthasarathy y Saradhi (1984), encontraron en el extracto metanólico de raíz de Jatropha glandulifera tres compuestos; jatrolona A, un lignano-cumarina y fraxetina.

Saponinas:

Anzaldo y col. (1956), determinaron la presencia de saponinas esteroidales en Jatropha Curcas.

Glucósidos cianogénicos:

Se menciona la presencia de glucósidos cianogénicos en Jatropha angustidens (Heyl, 1902), y en Jatropha capensis (Van der Walt y col. 1940). En esta última se hizo el análisis de la planta seca, sin flores ni frutos, y se obtuvieron 0.15 mg de HCN por 100g de material.

Alcaloides:

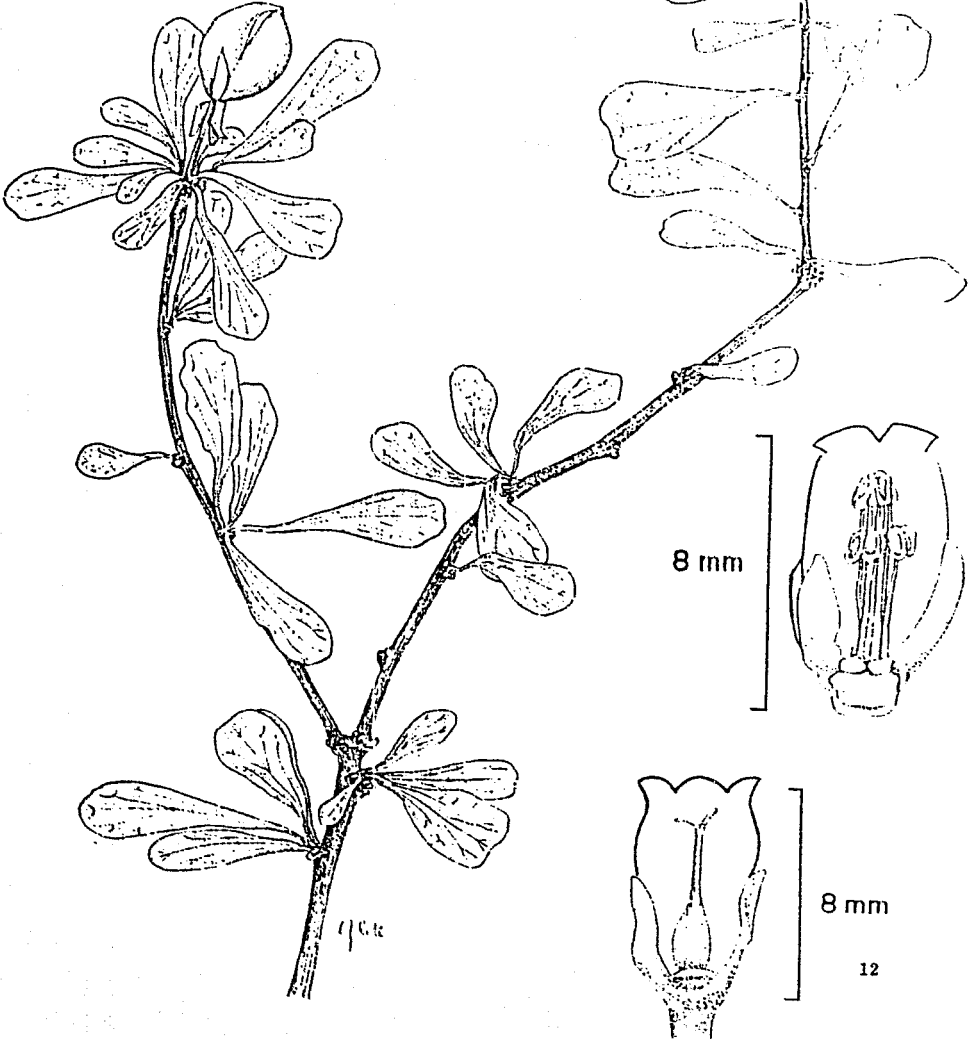
De Jatropha gossypifolia L. var. elegans se aisló la jatrophina (Henry, 1937) y de Jatropha macrantha (Mayorga, 1956), con un rendimiento de 0.05%. De ambos alcaloides se desconoce su estructura.

DESCRIPCION ESPECIFICA

Jatropha elbae. Jiménez Ramírez. Sec. Mozinna (Ortega) Pax.

Arbusto o árbol dioico, de 3-8 m de altura; corteza parda; lámina cuneiforme, de 3-6 cm de largo por 1-3 cm de ancho, ocasionalmente trilobada, venación pinnada, haz verde obscuro, glabra, peciolo de 1-4 mm de longitud, con 3 trazas foliares; estípulas pequeñas, prontamente deciduas. La inflorescencia masculina es un dicasio compuesto, de 1.5-1.85 cm de largo, pedúnculo de 0.9-1 cm, brácteas triangulares de 0.3-0.5 mm de largo, las flores femeninas solitarias. Flor estaminada urceolado-tubular, blanca; sépalos oblongos, de 3.3-3.5 mm de longitud, glabros; corola de 6-8 mm de largo, lóbulos reflejos de 1.5-2 mm de longitud; glándulas ovoides, de 0.6-0.7 mm de altura; estambres 10, biseriados, monadelfos, los filamentos de la serie externa de 2-2.1 mm de longitud, los de la serie interna connados $1/2$ de sus 4-5 mm de longitud; anteras ovoides, de 1.6-1.8 mm de largo. Flor pistilada urceolado-tubular, blanca; sépalos oblongos, de 6-6.5 mm de longitud, glabros y con el ápice redondo; corola de 9.5-10.3 mm de largo, lóbulos reflejos de 1.3-1.8 mm de longitud, glabros; disco con 5 glándulas de 0.5-0.8 mm de alto y ancho; pistilo unilocular excepcionalmente bilocular; estilo de 0.8-1 mm de largo; semilla elipsoidal, de 1.7-2 cm de largo por 0.9-1.2 cm de ancho, carúncula vestigial, parda; testa muy gruesa, de 2.5-3 mm y dura.

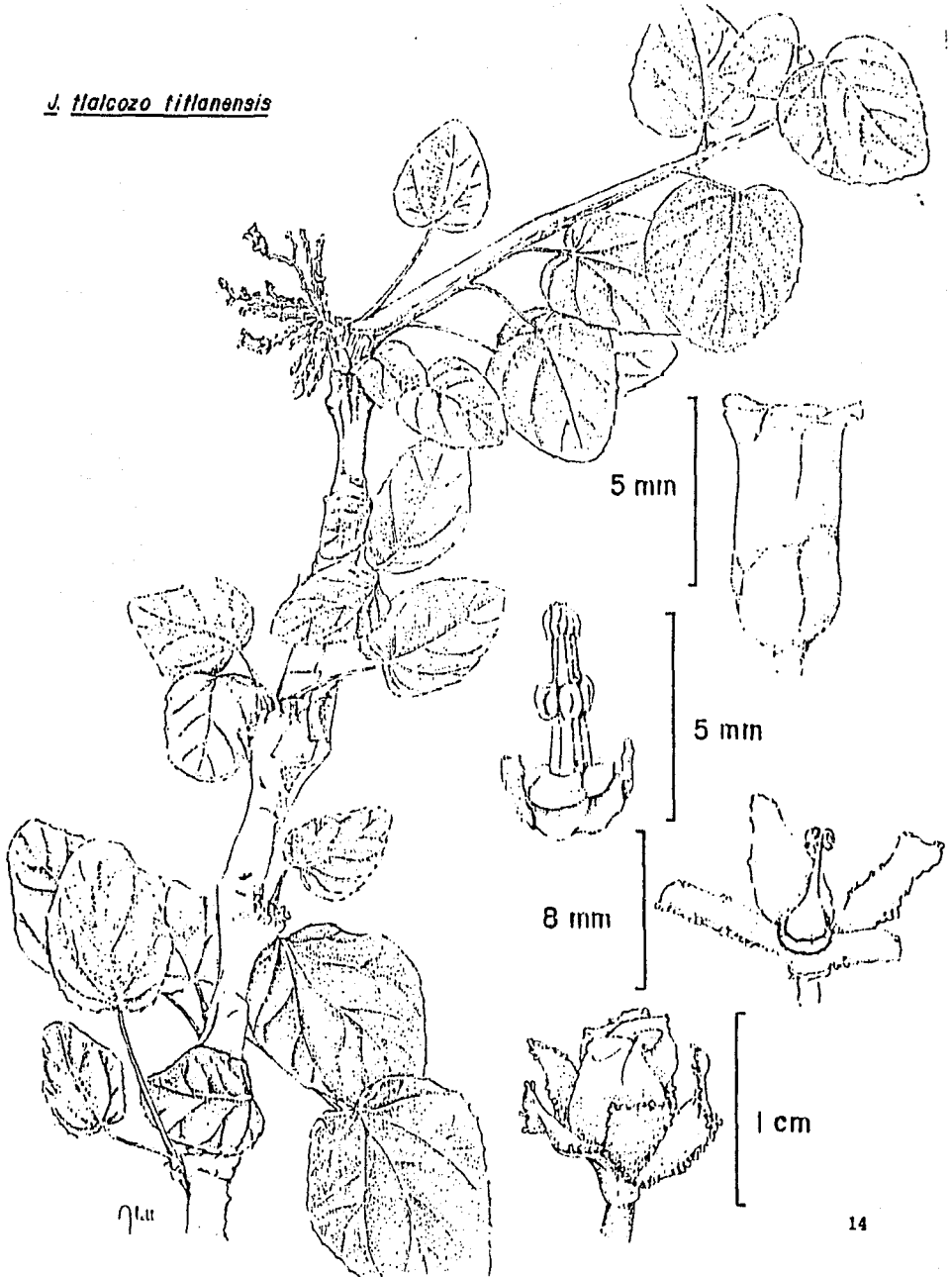
Jatropha elbae



Jatropha tlalcozotitlanensis. Jiménez Ramírez. Sec. Loureira.
(Cav.) Muell. Arg. ex Pax.

Arbusto monoico, de 1-2.5 m de altura; la corteza amarilla y exfoliante, Lámina foliar ovada u orbicular de 3-4.2 cm de largo, 2.5-3 cm de ancho, ápice redondeado, base cordada y asimétrica, haz verde claro, abundantemente hirsuta, el envés cubierto por tomento denso, margen entero, con algunas glándulas estipitadas en el ápice de las venas secundarias, venación actinodroma (5 venas); pecíolo cubierto de pubescencia hirsuta, de 1.5-2 cm de largo. Estípulas caedizas, pilosas, 0.4-0.5 mm de largo. Inflorescencia ginodioica, paniculada, ocasionalmente las flores femeninas solitarias. Flor estaminada: cáliz con lóbulos ovados u ovado-trianguulares, de 2.3 mm de largo por 1.4-1.5 mm de ancho, velutinos externamente glabros internamente; corola urceolado tubular, de color anaranjado rojizo, de 5.5-6.4 mm de largo, lóbulos de 1.2-2.4 mm de largo; disco con 5 glándulas globosas de 0.4-0.5 mm de alto; estambres 10, biserialados y monadelfos, la serie externa de 2.0-2.3 mm de largo, la interna de 3.5-4.0 mm de longitud, anteras elípticas, de 0.9-1.1 mm de largo. Flor pistilada: pedunculada, cáliz con lóbulos oblongo-lanceolados de 7-9 mm por 3.5-4.5 mm, en la superficie externa hirsutos, en la superficie interna verde claro, margen glandular; corola urceolada-tubular, roja de 6-9 mm de largo, lóbulos de 1.8-2.7 mm de largo; disco con 5 glándulas globosas de 0.5 mm de alto. Pistilo tricarpelar de 6-7.5 mm de largo; estilo único, de 3.5-4.0 mm de longitud, estigma tripartido. Fruto blanco, elíptico, de 0.7-0.9 cm de diámetro; semillas 3, de 0.7-0.8 cm de largo, pardas, con la carúncula fibrosa.

J. falcozo tiffanensis



Jatropha malacophylla Stand. Sec. Curcas. Deghan
et Webster (citado en Jiménez, 1982).

Arbusto o árbol de 7 m ramillas seculentas, corteza púrpura, ramas densamente tomentosas con pelos cortos y gris, hojas confinadas a los ápices, lámina de la hoja casi orbicular de 3 a 7 cm de largo y ancho, trilobada hasta la base (en ocasiones o lobulos adicionales en la base), base truncada o levemente cortada, superficie totalmente tomentosa velutina; pecíolo robusto de 5-20 cm de largo, densamente tomentoso-velutino, estípulas filiformes; brácteas lanceolados-triángulares; flor estimada, sépalos oblongos lanceolados, de 3-5 mm de longitud, esparcidamente hirsutos en la superficie externa, corola, ligeramente conados en la base, de 5-6 mm de largo, pétalos con el ápice redondo, con pilosidad interna, estambres 10 biseriados, conados en la base; anteras ovadas, de 1.3 mm de longitud. Flor pistilada, cáliz con lobulos oblongos de 6.2 mm de largo, el ápice de los lobulos apiculado, densamente pubescente en toda su superficie; corola blanco-amarillenta pétalos de 6.1 mm de largo; pistilo no visto, cápsula con 6 valvas piramidal de 2 cm de alto con tres semillas.

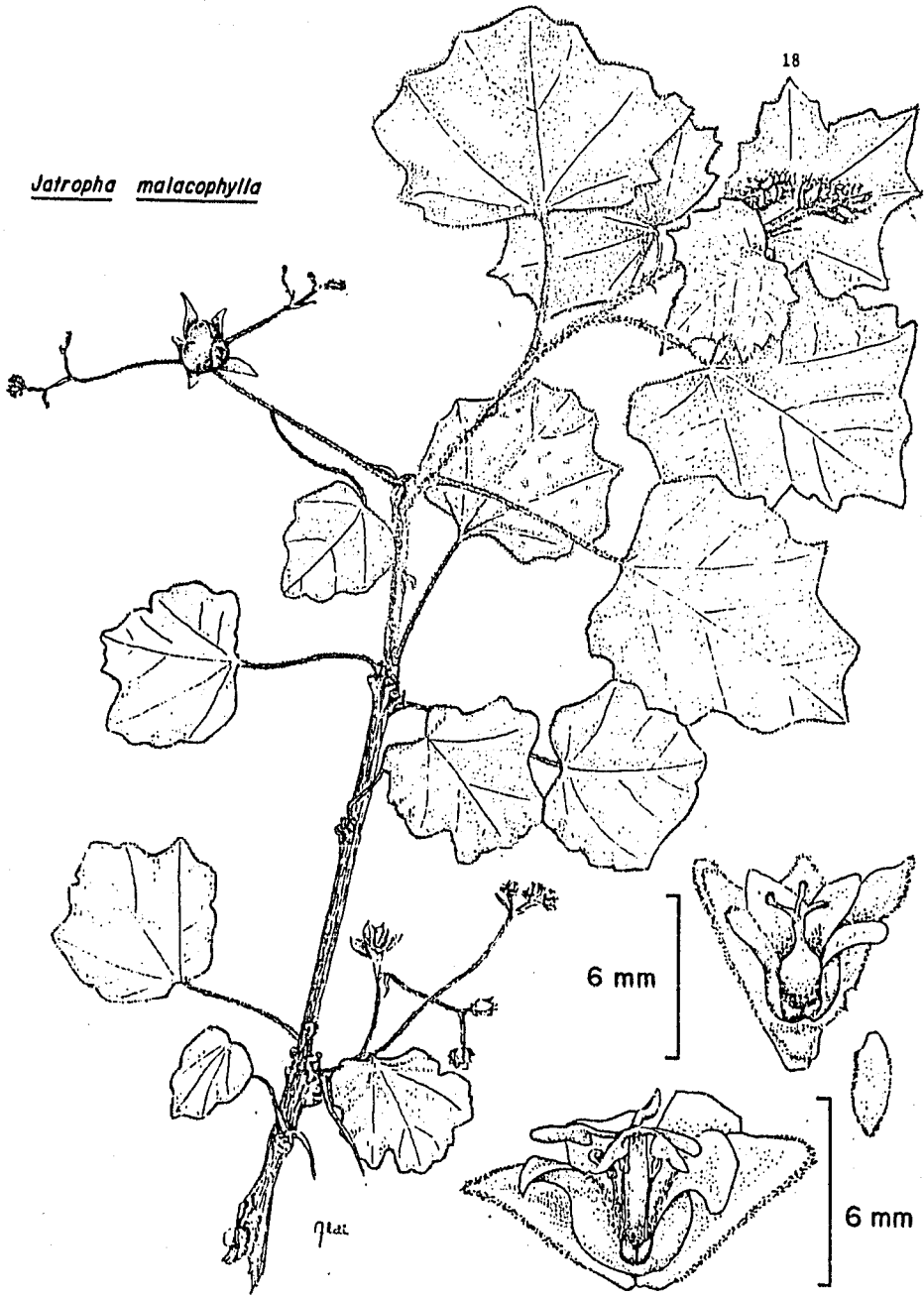
Jatropha galvani. Jiménez Ramírez. Sec. Loureira
(Cav.) Muell. Arg. ex pax.

Arbol dióico, de 4 a 8 m de altura; corteza exfoliante y amarilla; ramas viejas con abundantes branquiblastos y lenticelas convexas, las jóvenes puberulentas. Hojas alternas o agrupadas cerca del ápice del branquiblasto; lámina ovado-deltoidea, irregularmente tri o pentalobulada, hasta de 4.75 cm de longitud y 3.98 cm de anchura, glabra, verrucosa adaxialmente (excepto las jóvenes), margen sinuado, con glándulas globosas y sésiles que degeneran con la edad, palmatinervia, con 5 venas (la media conspicua y esparcidamente estrigosa), ápice caudado y base

truncada o levemente cordada. Pecíolo largo, hasta de 6.6 cm con 5 trazas, delgado, cubierto por abundante pilosidad blanca, y la axila, con pubescencia roja; estípulas con glándulas estipitadas, prontamente caducas. Inflorescencia dióica. La masculina es un dicasio compuesto que surge en la axila de la hoja o cerca del ápice del branquiblasto; eje principal piloso y de longitud viable; paracladio piloso, hasta de 2.5 cm de longitud; coflorescencia generalmente indistinguible; la flor terminal sin bráctea y prontamente caduca. Brácteas deltadas, hasta de 1.5 cm de longitud y 0.65 mm de anchura, ápice agudo, base ampliada, la superficie abaxial con pilosidad blanca, la superficie adaxial cubierta por tricomas rojos y multicelulares. Excepcionalmente hay flores femeninas en el árbol masculino, pero en pares una flor estaminada y otra pistilada. En el árbol femenino las flores se encuentran solitarias o en pares. Flor estaminada campanulada; cáliz ligeramente parecido a la corola, con 5 lóbulos levemente connados en la base, oblongos de 3 mm de longitud y 1.5 mm de anchura, ápice agudo e imbricado; corola de 5 pétalos ligeramente connados en la base, obovados, hasta de 7.5 mm de longitud y 3.5 mm de anchura, ápice obtuso, de color crema, guías púrpuras, venas principales conspicuas, pubescentes en la base adaxial (desaparecen con la edad); disco de 5 glándulas separadas, globosas de 0.65 mm de anchura y 0.3 mm de altura; 10 estambres monadelfos, biseriados (5 en cada una), filamentos connados en un tercio de longitud, de 2.7 mm de longitud los de la serie interior; anteras oblongos-lanceoladas, de 0.6 mm de longitud y con la base sagitada. Flores pistiladas campanuladas, surgiendo en las axilas de las hojas; pedicelo de 0.5 cm de longitud, glabros y gruesos; cáliz con 5 sépalos libres, desiguales (3 grandes y 2 pequeños), de 4.5 mm a 7.2 mm de longitud de 2.2 mm de anchura, foliáceos, oblongos-lanceolados, con glándulas sésiles en el margen, pilosos; corola de 5 pétalos casi libres, ovoides, glabros, de 7 mm de longitud y 3.8 mm de anchura, ápice obtuso, de color crema, guías púrpuras, venas conspicuas, disco de 5 glándulas globosas, separadas, de 0.9 mm de anchura y 0.2 mm de altura, con un ápice mamilado y oblicuo; ovario bicarpelar, elipsoidal, comprimido perpendicularmente al septo, piloso, un óvulo en cada lóculo, columna estilar gruesa y unida hasta un me

dio de su longitud; 2 estilos libres, uno de los cuales tiene un estigma claramente bifido y otro hendido levemente. El fruto es una cápsula bilobular y comprimida, de 2.5 a 2.85 cm de anchura y de 1.5 a 2 cm de longitud, bicarpelar, con una semilla en cada lóculo (algunas veces una semilla no se desarrolla), de color rojo-verdoso, con sépalos persistentes, hasta de 1.1 cm de longitud y 0.6 cm de anchura. Semilla más o menos globosa, de color pardo oscuro, de 2.0 cm de longitud y 1.4 cm de anchura, carúncula vestigial.

Jatropha malacophylla



III

MATERIAL Y METODOS

1. Preparación del material.

a) Colecta.

El material utilizado se colectó en septiembre de 1986, en dos zonas, una en el Edo. de Guerrero y otra en el Edo. de Michoacán, ambas dentro de la Cuenca del Balsas. En el Edo. de Guerrero se colectó: Jatropha elbae, a 4 km al S. de Copalillo, Jatropha tlalcozotitlanensis, a 2 km al S de Tlalcozotitlán y Jatropha malacophylla, a 4 km al S de Mexcala. En el Edo. de Michoacán se colectó, Jatropha galvani, a 11 km al S de Zicuirán.

De las cuatro especies se colectó hojas, ramas y látex.

ai) Hojas. Se efectuaron cortes de hojas y ramas al azar, de diferentes individuos, y se colocaron en bolsas de papel hasta su traslado al laboratorio.

aii) Látex. De los cortes realizados al azar de hojas, ramas y algunas incisiones hechas en el tronco, se colocaron las gotas que salían en frascos, se taparon perfectamente, cubriéndose con papel de aluminio con el fin de no exponerlos a la luz, y se refrigeraron hasta su traslado al laboratorio.

b) Secado.

bi) Hojas. Las hojas y ramas se colocaron sobre papel periódico y se dejaron secar a temperatura ambiente.

bii) Látex. Se colocaron las diferentes muestras de látex en cajas de Petri y se secaron sobre baño de vapor hasta que quedaron en for

ma de polvo.

c) Molienda. Una vez secadas las hojas se procedió a una molienda fina con ayuda de un molino manual. El material se guardó en frascos y se etiquetó de acuerdo al orden de colecta, quedando listo para su estudio químico.

2. Extracción Selectiva.

2i) Hojas. Se realizó una extracción selectiva de cada una de las muestras por el método de Soxhlet, con tres disolventes de polaridad creciente: hexano, acetato de etilo y metanol. Con cada disolvente se efectuaron tres extracciones consecutivas durante 8 horas cada una con la cantidad de muestra y disolvente indicados en la tabla I.

Las tres soluciones así obtenidas de la misma muestra y para cada uno de los disolventes se reunieron y se concentraron casi a sequedad, eliminando el disolvente por destilación a presión reducida. Estos extractos se trasvasaron a un frasco previamente pesado para su secado completo y posteriormente se pesaron a fin de calcular el rendimiento (tablas 2,3 y 4).

2ii) Látex. Se realizó una extracción selectiva de cada muestra de látex con tres disolventes de polaridad creciente: acetona, etanol y agua, utilizando un volumen de 15 a 30 ml según la cantidad de muestra por extraer (tabla 1'). Al término de cada extracción se filtro la solución, se reunieron las tres extracciones efectuadas con un mismo disolvente y se trabajaron como en el caso anterior. Con el etanol antes de la extracción a reflujo se efectuó una extracción en frío y con agitación. Para los extractos acuosos se procedió a liofilizar la solución.

Una vez obtenidos todos los extractos secos se pesaron y se calculó el rendimiento para cada una de las muestras (tabla 5).

TABLA 1.
EXTRACCION SELECTIVA DE HOJAS.

Cantidad de muestra (g)	No. de extracciones	Disolvente	Cantidad de disolvente (ml)	Tiempo de extracción (hrs)
1, 41.2	3		500	8 c/u
2, 29.2	3	hexáno. acetato de etilo.	500	8 c/u
3, 37.0	3	metanol.	500	8 c/u
4, 47.1	3		500	8 c/u

NOTA: 1, Jatropha elbae.
 2, J. tlalcozotitlanensis.
 3, J. malacophylla.
 4, J. galvani.

TABLA 1'
EXTRACCION SELECTIVA DE LATEX.

Cantidad de muestra (g)	No. de extracciones	Disolvente	Cantidad de disolvente (ml)	Tiempo de extracción (hrs)
1, 6.059	4	acetona	30	8 c/u
2, 1.0744	4	etanol*	30	8 c/u
3, 1.8875	4	etanol**	20	8 c/u
4, 1.2685	4	agua	15	8 c/u

NOTA: 1, Jatropha elbae.

2, J. tlalcozotitlanensis.

3, J. malacophylla.

4, J. glavani.

* extracción en frío y con agitación.

** extracción a reflujo.

3.- Análisis de los extractos.

Según las consideraciones hechas por Fransworth, (1966) los métodos usados en las investigaciones fitoquímicas de sondeo deben ser: simples, selectivos para la clase de compuestos bajo estudio, requerir poco equipo y se deben conocer los límites inferiores de capacidad de detección de los mismos. La metodología empleada en este trabajo cumple con todos estos requisitos.

Al analizar los resultados aquí expuestos no se debe olvidar el carácter exploratorio preliminar de la investigación que esta destinada a proporcionar la información necesaria para un estudio posterior más profundo.

Las pruebas que se efectuaron fueron las siguientes:

1.- Alcaloides.

En un interesante estudio donde se comparan la sensibilidad y eficiencia de doce reactivos en la detección de alcaloides, Martello y Fransworth, (1962) encontraron que el reactivo de Dragendorff, y el ácido siclicotúngstico dan reacciones positivas con concentraciones promedio de 0.01% de alcaloides. Estos dos reactivos son de lo más sensibles y sólo son superados por los de Wagner y Bouchardat, por lo cual, los consideran como adecuados para la detección de cualquier tipo de alcaloides, excepto la efedrina. Además el reactivo de Dragendorff es uno de los que muestra menor dependencia del método de extracción empleado.

1.- Fenoles.

En la detección de productos con oxhidrilos fenólicos la prueba de cloruro férrico es efectiva en tanto que no haya presencia de taninos, los cuales producen un color negro con el reactivo Fransworth (1966).

3.- Flavonoides.

Aún cuando existen reacciones específicas para grupos especiales de flavonoides, en estudios preliminares y exploratorios, como el presente trabajo es preferible utilizar una prueba general como la de Shinoda o Willstätter, con la cual se detecta cualquier compuesto que con tenga el núcleo γ -benzopirona (Fransworth, 1966).

4.- Terpenos-esteroides.

La prueba de Lieberman-Burchard, es una de las pruebas de carácter menos general, por que aunque se indica que los colores dados por la prueba guardan relación con el tipo de compuestos presentes, ya sea terpénico o esteroidal, esta característica depende de una serie de condiciones como: el tiempo transcurrido entre el inicio de la prueba y la lectura del resultado o la presencia de sustancias interferentes como xántofilas y carotenos (Fransworth, 1966) que la hacen incierta, a esto podemos agregar que los ésteres de los esteroides dan reacciones más intensas que los alcoholes correspondientes, y que en el caso contrario se presenta en los terpenos pentacíclicos, de manera que una mayor intensidad de reacción no necesariamente indica mayor concentración de terpenos y/o esteroides. Lo que podemos decir con certeza es que una reacción positiva indica la presencia de esteroides con ciertas características estructurales como son: dos enlaces conjugados en el anillo B, o un metileno en el C₇ que sea susceptible de oxidación o deshidratación, o bien, triterpenos pentacíclicos con un metileno en el C₁₁.

5.- Glicósidos.

Se han descrito varios métodos para determinar la presencia de glicósidos; la mayoría detectan el enlace hemiacetálico, que los caracteriza, muchos requieren acción enzimática y otros revelan la presencia de la aglicona de los mismos. Todos estos métodos presentan alguna objeción, para el presente trabajo se utilizó la reacción de Molisch, por tratarse de un método sencillo y seguro que dan razón de la existencia de enlaces hemiacetálicos.

6.- Saponinas.

Existen varias características de las saponinas que pueden usarse en su detección, como son: su capacidad de formar espuma en soluciones acuosas, su carácter hemolítico y su capacidad de paralizar las branquias de los peces.

ai) Hojas. Debido a la polaridad de sus componentes los extractos hexánicos solo se sometieron a la prueba de terpenos y esteroides, en tanto que los extractos de acetato de etilo y metanol se probaron para alcaloides, fenoles, flavonoides, terpenos-esteroides, glicósidos y saponinas.

Para la realización de las pruebas se prepararon soluciones patrón de cada extracto a una concentración de 5 mg/ml. Debido a la presencia de clorofila, se procedió a decolorar con carbón activado (2% del peso de la muestra), calentando a baño maría durante 5 min, posteriormente se filtraron estas soluciones y se ajustó el nivel del disolvente con el fin de mantener la concentración inicial. Los tubos conteniendo las soluciones se mantuvieron tapados con el fin de evitar la evaporación del disolvente.

De las soluciones patrón así preparadas se tomó 1 ml a fin de realizar las siguientes pruebas cuyos resultados se muestran en las tablas 6,7 y 8.

Alcaloides . La presencia de alcaloides se determinó mediante las reacciones de Dragendorff y el ácido silicotúngstico. Para ambos casos se tomó 1 ml de cada una de las soluciones. Las del extracto del acetato de etilo se evaporaron a sequedad y se redisolvieron en 1 ml de metanol, las del extracto metanólico se emplearon directamente por estar disueltas en metanol. Se agregó a todas una gota de ácido clorhídrico concentrado y dos gotas del reactivo correspondiente. La prueba es positiva si forma un precipitado de color naranja-marrón con el reactivo de Dragendorff y amarillo paja con el ácido silicotúngstico.

Fenoles. La prueba de cloruro férrico para determinar la presencia de fenoles consistió en agregar dos gotas del reactivo a 1 ml de las soluciones patrón de los extractos de acetato de etilo y metanol (llevadas a sequedad las primeras y redisueltas en metanol). La prueba es positiva si la solución vira a color azul o verde.

Flavonoides. La presencia de flavonoides se determinó mediante la prueba de Shinoda, que consistió en agregar a 1 ml de cada una de las soluciones patrón de los extractos de acetato de etilo y metanol un trocito de lima-dura de magnesio y dos gotas de ácido clorhídrico concentrado. La prueba es positiva si la solución vira a color anaranjado, roja-azulosa, violeta, verde o azul.

Terpenos y esteroides. A 1 ml de las soluciones patrón de los extractos de hexano de acetato de etilo y metanol, llevadas a sequedad y redisueltas en cloroformo se les agregó 1 ml del reactivo de Liebermann-Burchard. La prueba es positiva si la solución vira a azul-verdoso, rosa, rojo o violeta.

Glicósidos. A 1 ml de cada una de las soluciones patrón de los extractos de acetato de etilo y metanol se les agregó dos gotas de una solución etanólica de α -naftol al 5% y 1 ml de ácido sulfúrico concentrado, resbalándolo por las paredes del tubo para que se estratificara a fin de poder observar el anillo colorido que se forma en la interfase, que en caso de ser violeta indica la presencia de glicósidos.

Saponinas. La presencia de saponinas se determinó mediante la prueba de espuma, que consistió en agregar 1 ml de agua a cada tubo conteniendo la muestra del extracto de acetato de etilo y de metanol y agitar fuertemente durante 30 seg. La prueba es positiva si se produce espuma que perdure 5 min o más.

NOTA: La preparación de los reactivos se encuentra en el apéndice.

aii) Látex. Considerando la polaridad de los componentes de los extractos, se llevaron a cabo de la misma forma que para las hojas las siguientes pruebas de: alcaloides, flavonoides, glicósidos y saponinas, cuyos resultados se muestran en la tabla 9.

b) Determinación del número aproximado de componentes de los extractos mediante cromatografía en capa fina.

bii) Hojas. En placas cromatográficas de 5 cm de largo se buscaron los sistemas de eluyentes adecuados para cromatografía en gel de sílice de los extractos hexánicos, de acetato de etilo y metanol.

EXTRACTO	ELUYENTES OPTIMOS
Hexánico	Hexano-acetato de etilo 8:2
Acetato de etilo	Acetato de etilo puro 1:3 2 sistemas Hexano-acetato de etilo
Metanólico	Acetato de etilo-metanol 2:8 Acetato de etilo-metanol 4:6 3 sistemas Butanol-ác. acético agua 5:1:4

Una vez corridas las muestras con el sistema de eluyentes adecuados se procedió a observar las placas con luz ultravioleta de onda larga (U.V., líneas punteadas), y a revelar con sulfato cerico (líneas llenas) (fig. 1-6).

bii) Látex. Los extractos de látex, dada la polaridad de sus componentes se corrieron en placa delgada solo con butanol-ác. acético agua 5:1:4 como eluyente, se observaron a la luz ultravioleta y se revelaron con sulfato cerico (fig. 7 y 8).

IV

RESULTADOS Y DISCUSION

a) Rendimiento de los extractos.

Una de las premisas fundamentales en la metodología de un análisis fitoquímico preliminar es la selección del disolvente de extracción adecuado, sin embargo con frecuencia son difíciles de seguir las reglas de solubilidad generales o esperadas para una clase de constituyentes químicos, debido a que generalmente existen sustancias de carácter desconocido, las cuales afectan la solubilidad de los compuestos de interés (Fransworth 1966). En nuestro caso esto fue resuelto al usar una serie de disolventes de polaridad creciente en extracciones exhaustivas de la muestra en aparato de Soxhlet; de esta manera se asegura la obtención de casi todas las sustancias de interés. Bajo estas condiciones, cuando se analizan las tablas 2,3 y 4, se hace evidente que en las extracciones con hexano de las hojas de las 4 especies, los rendimientos de los extractos fueron variados, (tabla 2); siendo la muestra de Jatropha tlalcozotiltlanensis la que dió mayor rendimiento y la de J. galvani, la que dió menor rendimiento.

Las extracciones con acetato de etilo indican un rendimiento de los extractos más o menos uniforme para todas las muestra (tabla 3), y las extracciones con metanol, rendimientos que varían entre sí. Además con este disolvente se obtuvo la mayor cantidad de extracto en todas las muestras (tabla 4).

Para el caso de las muestras de látex de las cuatro especies, el rendimiento por especie fué siempre diferente en los tres disolventes empleados. Analizando los porcentajes obtenidos con cada uno de los disolventes se aprecia, que en general el mayor rendimiento se obtuvo con la extracción etanólica en frío, siguiendo en orden decreciente, el obtenido con la extracción acetónica, etanólica en caliente y finalmente, con la acuosa se obtuvo un rendimiento muy bajo (tabla 5).

TABLA 2
RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS HEXANICOS DE HOJAS

Muestra	Cantidad de extracto (g)	Rendimiento (%)
<u>Jatropha elbae</u>	1.86	4.52
<u>J. tlalcozotitlanensis</u>	2.15	7.36
<u>J. malacophylla</u>	2.06	5.58
<u>J. galvani</u>	1.28	2.72

NOTA: El rendimiento se calculó sobre la cantidad de muestra inicial empleada para las extracciones (tabla 1).

TABLA 3
RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS DE ACETATO DE ETILO DE HOJAS

Muestra	Cantidad de muestra (g)	Rendimiento (%)
<u>Jatropha elbae</u>	0.84	2.06
<u>J. tlalcozotitlanensis</u>	0.82	2.80
<u>J. malacophylla</u>	0.93	2.52
<u>J. galvani</u>	1.12	2.39

NOEA: El rendimiento se claculó sobre la cantidad de muestra inicial empleadas para las extracciones (tabla 1).

TABLA 4
RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS METANOLICOS DE HOJAS

Muestra	Cantidad de extracto (g)	Rendimiento (%)
<u>Jatropha elbae</u>	2.39	5.80
<u>J. ilacozotitlanensis</u>	3.71	12.70
<u>J. malacophylla</u>	5.20	14.07
<u>J. galvani</u>	8.94	18.98

NOTA: El rendimiento se calculó sobre la cantidad de muestra inicial empleadas para las extracciones (tabla 1).

TABLA 5
 RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS ACETONICOS, ETANOLICOS EN FRIO, ETANOLICOS
 EN CALIENTE, Y ACUOSOS PARA LAS MUESTRAS DE LATEX DE LAS DIFE-
 RENTES ESPECIES

Muestra	Extracto acetónico		Extracto etanólico en frío		Extracto etanólico en caliente		Extracto acuoso	
	Peso (g)	Rendimiento (%)	Peso (g)	Rendimiento (%)	Peso (g)	Rendimiento (%)	Peso (g)	Rend. (%)
1	0.43	7.16	3.86	63.82	0.06	1.10	.0064	0.10
2	0.14	13.56	0.63	58.85	0.06	5.82	.0050	0.46
3	0.06	3.26	0.93	49.38	0.41	21.75	.0115	0.60
4	0.49	38.78	0.19	15.72	0.01	1.33	.0075	0.59

NOTA: 1, Jatropha elbae
 2, J. tlalcozotiflanensis
 3, J. malacophylla
 4, J. galvani

b) Análisis de los grupos químicos encontrados.

Del análisis de la gráfica 1, construida con los resultados de las tablas 6,7 y 8 podemos considerar lo siguiente:

La mayor concentración de alcaloides en hojas se presentó en las muestras de Jatropha galvani, seguida de la de J. malacophylla. Las muestras de J. elbae y J. tlacozotitlanensis tuvieron ambas una cantidad igual de alcaloides pero menor de las otras dos especies.

En cuanto a la presencia de flavonoides, la mayor concentración se presentó en las muestras de J. elbae y J. tlacozotitlanensis, en tanto que J. malacophylla y J. galvani tuvieron una concentración igual pero menor que la de las dos primeras especies.

Las muestras de J. elbae y J. tlacozotitlanensis tuvieron una mayor cantidad de terpenos y esteroides que las de J. malacophylla y J. galvani.

Respecto a la presencia de glicósidos, las muestras de las especies de J. malacophylla y J. galvani muestran una mayor concentración que las de J. elbae y J. tlacozotitlanensis.

J. galvani, fue la única especie que presentó saponinas, resultando negativa la prueba de espuma para las otras tres especies.

Finalmente podemos decir que J. elbae y J. tlacozotitlanensis tuvieron cantidades iguales de terpenos y esteroides, glicósidos, flavonoides y alcaloides y no tuvieron saponinas. J. malacophylla y J. galvani son similares en cuanto a la cantidad de terpenos y esteroides, glicósidos y flavonoides y difieren en la concentración relativa de alcaloides y en la presencia de saponinas.

En base al análisis de la gráfica 2 construida con la tabla 9, podemos considerar lo siguiente:

La mayor concentración de alcaloides en látex se presentó en la especie J. elbae; J. malacophylla tuvo una cantidad menor y J. tlalcozotitlanensis y J. galvani tuvieron cantidades iguales, pero menores que las de las anteriores.

En cuanto a la presencia de flavonoides, J. tlalcozotitlanensis y J. galvani tuvieron cantidades iguales pero menores que las de las otras dos especies.

J. elbae y J. malacophylla presentaron cantidades iguales de glicósidos y mayores que las J. tlalcozotitlanensis y J. galvani.

En contraste con los resultados obtenidos para las hojas (gráfica 1), en látex todas las especies presentaron saponinas, teniendo J. galvani la mayor cantidad y J. elbae la menor.

La determinación de terpenos-esteroides no se efectuó por no ser solubles las muestras en el disolvente requerido.

Resumiendo, J. tlalcozotitlanensis y J. galvani guardan similitud entre sí, presentan cantidades iguales de glicósidos, flavonoides y alcaloides, y difieren solo en la concentración de saponinas. Las otras dos especies igualmente, guardan similitud entre sí, pero difieren de las dos anteriores. Tienen cantidades iguales de glicósidos, flavonoides y alcaloides y difieren en la concentración de saponinas.

TABLA 6
REACCION DE LIEBERMAN-BURCHARD PARA LOS
EXTRACTOS HEXANICOS DE HOJAS

Muestra	Terpenos-esteroides
<u>Jatropha elbae</u>	++
<u>J. tlalcozotitlanensis</u>	++
<u>J. malucophylla</u>	+
<u>J. galvani</u>	+

NOTA: +, ligeramente positiva
++, positiva

TABLA 8
REACCIONES COLORIDAS Y DE PRECIPITACION PARA LOS EXTRACTOS METANOLICOS
DE HOJAS

Muestra	Alcaloides		Fenoles FeCl ₃	Flavonoides Shinoda	Glicósidos Molisch	Espuma Saponinas
	Dra.	Sil.				
<u>Jatropha elbae</u>	+	++	+++	++++	++	-
<u>J. tlacozoti- tlanensis</u>	h	++	+++	++++	+++	-
<u>J. malacophylla</u>	++	h	++	+++	+++	-
<u>J. galvani</u>	++++	++++	++	+++	+++	++

NOTA: Dra. = Dragendorff
 Sil. = Silicotúngstico
 +, Positiva
 ++, Ligeramente positiva
 +++, Positiva marcada
 +++, Fuertemente positiva
 -, Negativa

GRAFICA 1

CONTENIDO RELATIVO DE GRUPOS QUIMICOS PARA HOJAS.

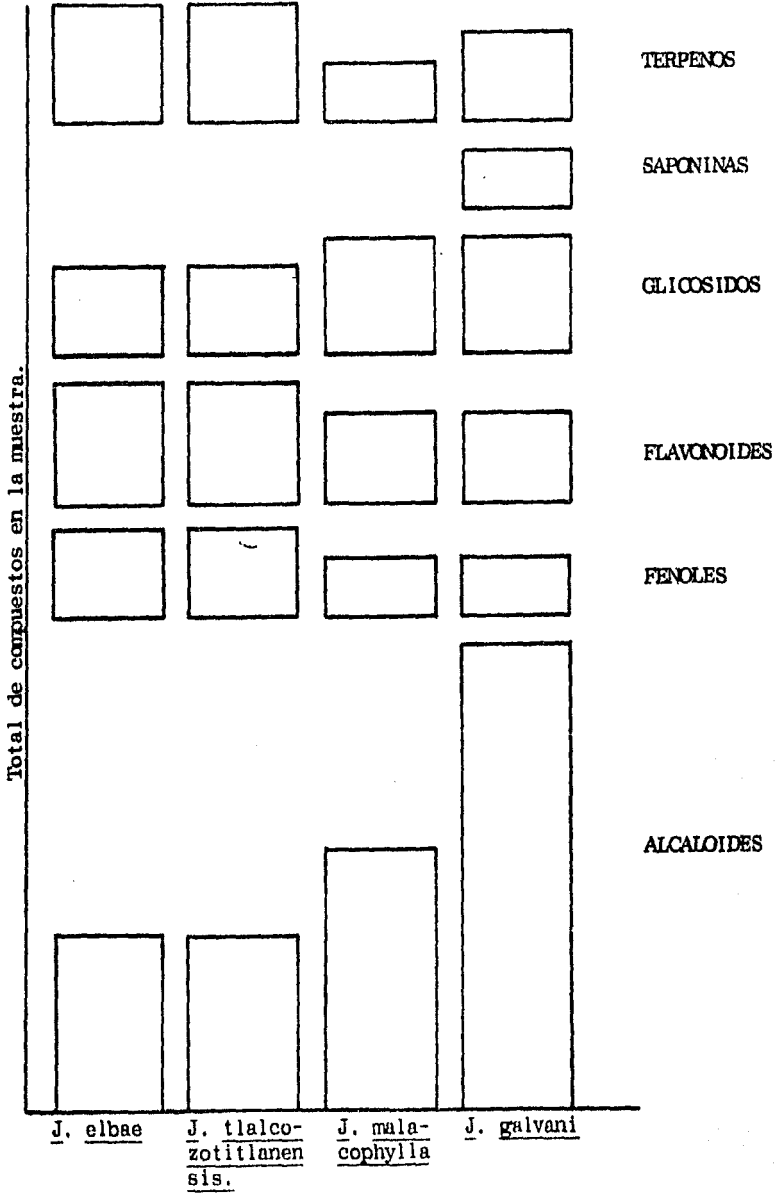


TABLA 9
REACCIONES COLORIDAS Y DE PRECIPITACION PARA LOS
EXTRACTOS DE LATEX

Muestra	Alcaloides		Flavonoides Shinoda	Glicósidos Molish	Saponinas Espuma
	Dragendorff	Silicotúngstico			
1a	-	++	-	++++	-
2a	-	-	-	++	++
3a	+	-	-	++++	-
4a	-	-	+	+	+++
1b	-	++	++	++++	++++
2b	-	+	++	+++	++++
3b	-	+	++	++++	++++
4b	-	+	+	++++	++++
1c	-	+	+	++++	+
2c	-	-	-	+	+
3c	-	-	+++	++++	++++
4c	-	-	+	+	++
1d	0	0	0	0	-
2d	0	0	0	0	++
3d	0	0	0	0	-
4d	0	0	0	0	++++

NOTA: 1, Jatroha elbae
 2, J. tlacozotitlanensis
 3, J. malacophylla
 4, J. galvani

a, extracción acetónica
 b, ext. etanólica en frío
 c, ext. etanólica en caliente
 d, ext. acuosa
 0, prueba no realizada

GRAFICA 2

CONTENIDO RELATIVO DE GRUPOS QUIMICOS PARA EL LATEX
DE LAS CUATRO ESPECIES ESTUDIADAS.

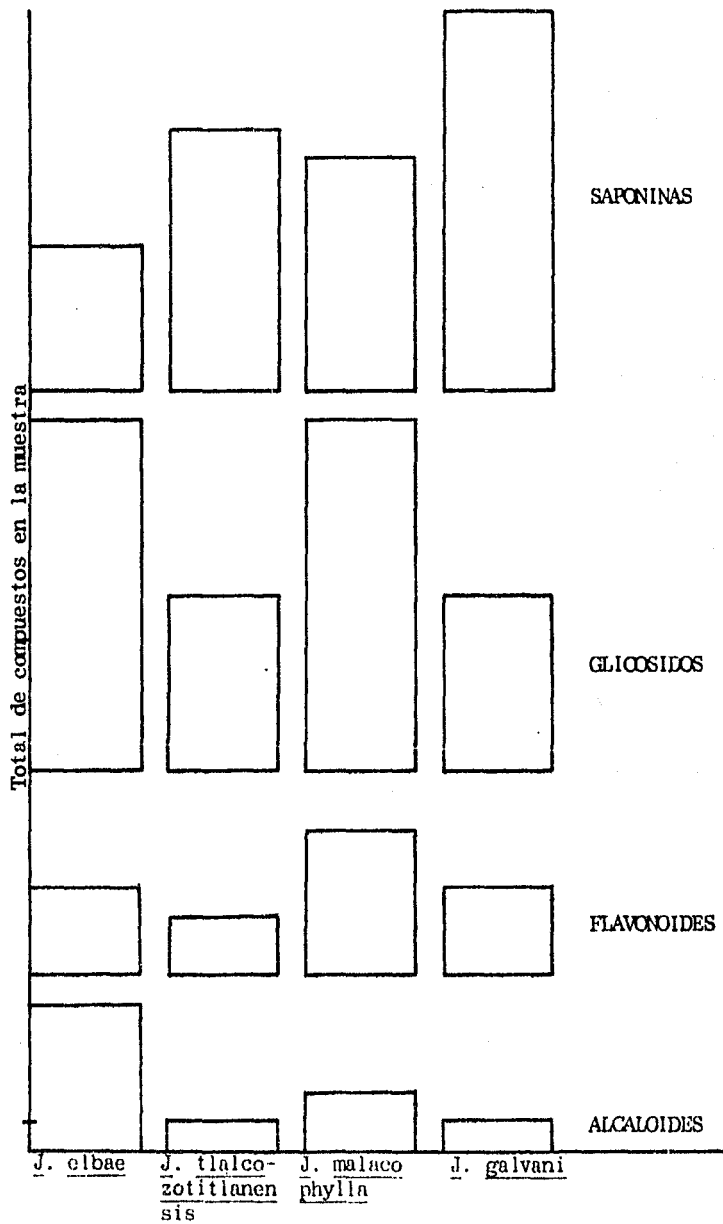
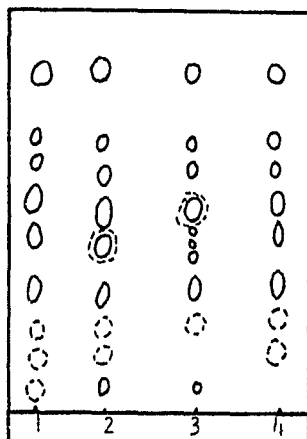


FIGURA 1

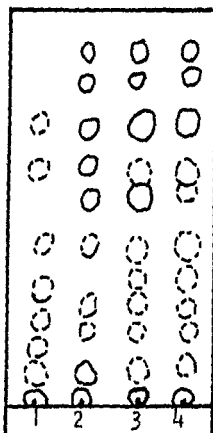
CROMATOGRAMA DE LAS MUESTRAS DE LOS EXTRACTOS
HEXANICOS DE HOJAS

Eluyente: hexáno-acetato de etilo 8:2

- Muestra: 1, Jatropha elbae
2, J. tlalcozotitlanensis
3, J. malacophylla
4, J. galvani

FIGURA 2

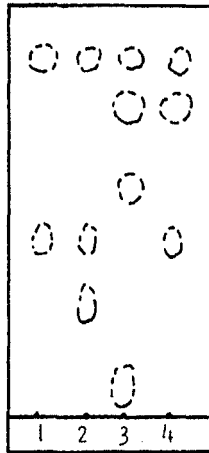
CROMATOGRAMA DE LAS MUESTRAS DE LOS EXTRACTOS DE
ACETATO DE ETILO DE HOJAS.



Eluyente: acetato de etilo

Muestra: 1, Jatropha eibae
2, J. tlacozotitlanensis
3, J. malacophylla
4, J. galvani

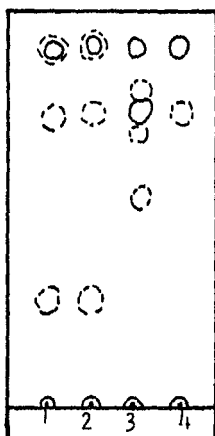
FIGURA 3
CROMATOGRAMA DE LAS MUESTRAS DE LOS EXTRACTOS DE
ACETATO DE ETILO DE HOJAS



Eluyente: hexano-acetato de etilo 1:3

- Muestra: 1, Jatropha elbæ
2, J. tlaozotitlanensis
3, J. malucophylla
4, J. galvani

FIGURA 4

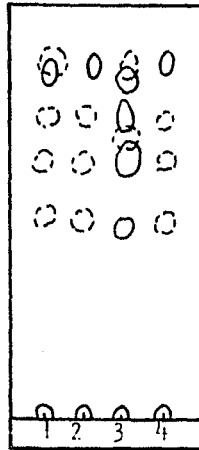
CROMATOGRAMA DE LAS MUESTRAS DE LOS EXTRACTOS
METANOLICOS DE LAS HOJAS.

Eluyente: acetato de etilo-metanol 4:6

Muestra: 1, Jatropha elbae
2, J. tlalcozotitlanensis
3, J. malacophylla
4, J. galvani

FIGURA 5

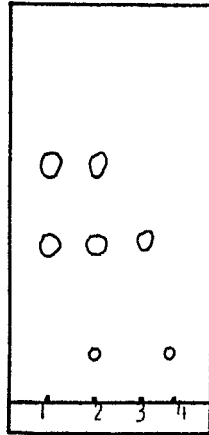
CRONATOCGRAMA DE LAS MUESTRAS DE LOS EXTRACTOS
METANOLICOS DE LAS HOJAS



Eluyente: acetato de etilo-metanol 2:8

Muestra: 1, Jatropha elbae
2, J. tlucozotitlanensis
3, J. malacphylla
4, J. galvani

FIGURA 6

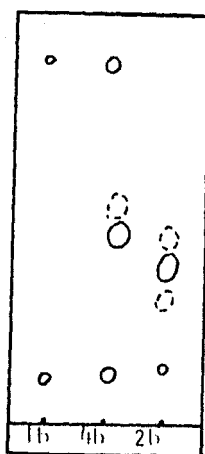
CROMATOGRAMA DE LAS MUESTRAS DE LOS EXTRACCIONES
METANOLICAS DE LAS HOJAS

Eluyente: butanol-ac. acético-agua 5:1:4

- Muestra: 1, Jatropha elbae
2, J. tlacozotitlanensis
3, J. malacophylla
4, J. galvani

FIGURA 7

CROMATOGRAMA DE LOS EXTRACTOS PROBADOS DE LATEX



Eluyente: butanol-ac. acético-agua 5:1:4

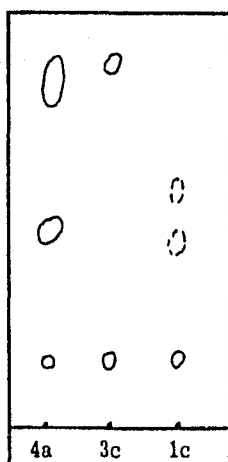
Muestra: 1b, extracto etanólico en frío de J. elbae

1b, extracto etanólico en frío de J. tlacozotitlanensis

4b, extracto etanólico en frío de J. glavani

FIGURA 8

CROMATOGRAMA DE LOS EXTRACCIONES PROBADOS DE LATEX



Eluyente: butanol-ac. acético-agua 5:1:4

Muestra: 4a, extracto acetónico de J. galvani
1c, extracto etanólico en caliente
de J. elbae
3c, extracto etanólico en caliente
de J. malacophylla

CUADRO 1
RESUMEN DE LAS MANCHAS CROMATOGRAFICAS DE LAS
PLACAS 1, 2 y 5.

	X	X	X	X
	X		X	
	X	X	X	X
metanol			X	
	X	X	X	X
	X	X	X	X
	X	X	X	X
	<hr/>			
		X	X	X
		X	X	X
acetato de etilo	X	X	X	X
	X	X	X	X
	X	X	X	X
		X	X	
	X	X	X	X
	X	X	X	X
	X			
	X	X	X	X
	X	X	X	X
	<hr/>			
	X	X	X	X
	X	X	X	X
hexano	X	X	X	X
	X	X	X	X
		X		
		X		
	X	X	X	X
	X	X	X	X
	X	X		X
	X	X	X	
	<hr/>			
	1	2	3	4

NOTA: 1, Jatropha elbae
2, J. tlalcozotitlanensis
3, J. malacophylla
4, J. galvani

c) Cromatogramas.

En las figuras 1 a 6, se muestran las placas corridas con el eluyente considerado como óptimo, después de haber probado varios sistemas diferentes con los extractos hexánicos, de acetato de etilo y metanólicos, para las hojas.

Estas placas tienen interés, pues muestran el número aproximado de componentes que son susceptibles de separar por diversos métodos cromatográficos. Los compuestos que se observan a la U.V., y no se revelan con sulfato cérico, existen en muy pequeña cantidad en el extracto y no son de interés para la separación, por lo que sólo se consideran susceptibles de obtenerse con buen rendimiento aquellos que se observan con sulfato cérico.

La polaridad de los componentes del extracto hexánico cae dentro de un rango más reducido que la de los componentes de los extractos de acetato de etilo y metanólicos, por lo que con un solo eluyente se lo---gró situarlos dentro de la placa. Para los otros dos extractos hubo que co--rrer placas con eluyentes de menor a mayor polaridad. Con el eluyente de menor polaridad se quedaron los compuestos de mayor polaridad en el punto de aplicación, por lo que hubo que correr otra placa con eluyente de mayor polaridad que desplace estos compuestos, aún cuando los de menor polaridad se vayan al frente del disolvente.

El cromatograma de la fig. 1, muestra que la composición de los cuatro extractos hexánicos es prácticamente igual, difieren solo en la zona de compuestos más polares.

Los perfiles del cromatograma de los extractos de acetato de etilo corridos con este mismo disolvente son similares, excepto de J. elbae en el cual faltan las dos manchas menos polares (fig 2). El comatograma corrido con hexano-acetato de etilo 1:3 muestran perfiles diferentes para las cuatro especies coincidiendo solo en la mancha más polar (fig 3).

Los cromatogramas de los extractos metanólicos indican que tienen compuestos con un rango de polaridad amplia y mayor que los de acetato de etilo. En la zona de menor polaridad los perfiles de Jatropha elbae y J. tlalcozotitlanensis son idénticos, difiriendo de los de las otras dos especies ligeramente (fig. 4). En la zona de mediana polaridad las cuatro especies tienen perfiles similares, mostrándose una mayor concentración de los componentes J. malacophylla (fig. 5). En la zona de mayor polaridad nuevamente la mayor semejanza de los perfiles corresponde a las muestras de J. elbae y J. tlalcozotitlanensis (fig. 6).

Los extractos de látex resultaron muy insolubles, algunos aún en agua, por lo que no se pudieron determinar los perfiles de todos y consecuentemente no se puede establecer comparación (figs. 7 y 8).

En base a las figuras 1, 2 y 5, las cuales representan los cromatogramas en los que se obtuvieron el mayor número de manchas para cada uno de los extractos de hojas de las cuatro especies, se construyó el cuadro 1; en dicho cuadro cada uno de los renglones representa un R_f registrado y cada una de las columnas la composición de metabolitos para una especie dada de tal forma que las 'X', significan la presencia de un metabolito secundario y los espacios en blanco la ausencia de los mismos. Pese a que no podemos asegurar la identidad de cada mancha como un metabolito secundario, ni que se haya extraído la totalidad de los mismos, sí podemos suponer que ésta es una representación muy cercana a la verdadera composición en metabolitos secundarios para cada especie (dentro del rango de polaridad abarcada), por lo que al comparar las diferencias entre las columnas del cuadro, tenemos una idea aceptable de las diferencias en la composición de dichas sustancias entre las cuatro especies estudiadas.

En base a lo anterior se realizó el análisis del cuadro que consistió en contar los caracteres no compartidos entre cada una de las especies con respecto a las demás; de esta manera se obtuvieron los

siguientes datos:

Diferencia de la especie:	con respecto a la especie:
<u>Jatropha elbae</u>	<u>J. elbae</u> = 0
<u>J. elbae</u>	<u>J. tlalcozotitlanensis</u> = 5
<u>J. elbae</u>	<u>J. malacophylla</u> = 9
<u>J. elbae</u>	<u>J. galvani</u> = 7
<u>J. tlalcozotitlanensis</u>	<u>J. tlalcozotitlanensis</u> = 0
<u>J. tlalcozotitlanensis</u>	<u>J. malacophylla</u> = 6
<u>J. tlalcozotitlanensis</u>	<u>J. galvani</u> = 2
<u>J. malacophylla</u>	<u>J. galvani</u> = 6

Al considerar que la mayor diferencia posible es de 30 y la menos de 0, se calculó la similitud entre las especies de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de similitud} = \frac{\text{máxima similitud posible} - [(\text{diferencia obtenida} + \text{máxima diferencia posible}) / 100]}{100}$$

Con la cual se obtuvo la siguiente tabla que nos muestra el porcentaje de similitud entre las especies:

% de similitud	entre las especies
100	1 y 1
83.3	1 y 2
70	1 y 3
80	1 y 4
100	2 y 2
80	2 y 3
93.4	2 y 4
100	3 y 3
80	3 y 4
100	4 y 4

- NOTA: 1, Jatropha elbae
 2, J. tlalcozotitlanensis
 3, J. malacophylla
 4, J. galvani

Reordenando la tabla anterior se construyó la siguiente matriz:

	e	t	m	g
e	100	83.3	70	76.7
t	83.3	100	80	93.4
m	70	80.0	100	80.0
g	76.7	93.4	80	100

Como resultado obtenemos una matriz simétrica por lo que podemos omitir los datos encerrados en el triángulo quedando como sigue:

	e	t	m	g
e	100	83.3	70	76.7
t		100	80	93.4
m			100	80
g				100

A partir de esta matriz se elaboraron los dendrogramas de similitud de patrones cromatográficos como se indica a continuación:

1) Se eligió el % de similitud más alto presente en la matriz y que no correspondiera la semejanza de una especie consigo misma.

	e	t	m	g
e	100	83.3	70	76.7
t		100	80	93.4
m			100	80
g				100

2) Se elaboró una nueva matriz considerando al renglón y a la columna que se interceptan en dicho valor como una sola identidad. Para conocer los nuevos porcentajes de similitud entre esta nueva identidad y las restantes 2 especies se siguieron 3 métodos:

- a) Elegir la máxima similitud entre los componentes de la nueva identidad y cada una de las especies restantes.
- b) Elegir la mínima similitud entre los componentes de la nueva identidad y cada una de las especies restantes.
- c) Calcular el promedio entre ambos números anteriores.

NOTA: e, Jatropha elbae
 t, J. tlalcozotitlanensis
 m, J. malacophylla
 g, J. galvani

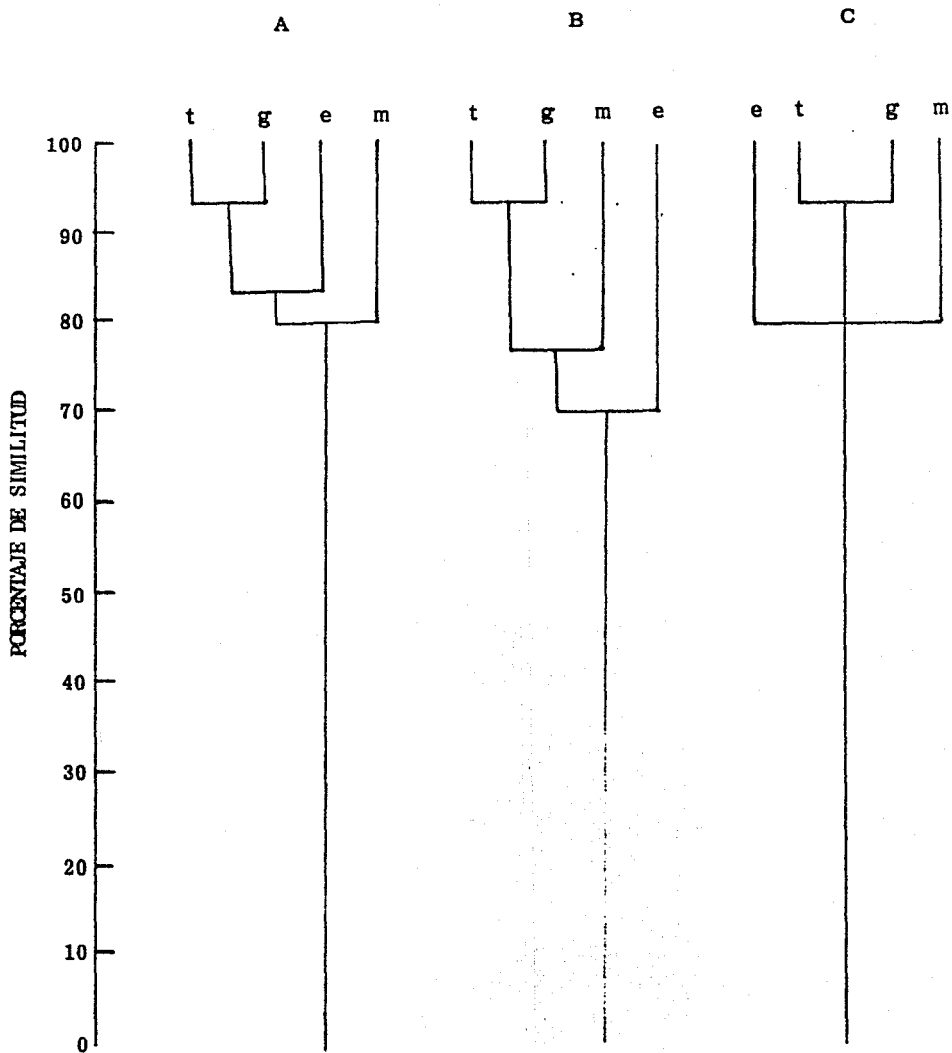
	MAXIMO	MINIMO	PROMEDIO																																																
	<table style="border-collapse: collapse; margin: auto;"> <tr><td></td><td>e</td><td>tg</td><td>m</td></tr> <tr><td>e</td><td>100</td><td>83.3</td><td>70</td></tr> <tr><td>tg</td><td></td><td>100</td><td>80</td></tr> <tr><td>m</td><td></td><td></td><td>100</td></tr> </table>		e	tg	m	e	100	83.3	70	tg		100	80	m			100	<table style="border-collapse: collapse; margin: auto;"> <tr><td></td><td>e</td><td>tg</td><td>m</td></tr> <tr><td>e</td><td>100</td><td>76.7</td><td>70</td></tr> <tr><td>tg</td><td></td><td>100</td><td>80</td></tr> <tr><td>m</td><td></td><td></td><td>100</td></tr> </table>		e	tg	m	e	100	76.7	70	tg		100	80	m			100	<table style="border-collapse: collapse; margin: auto;"> <tr><td></td><td>e</td><td>tg</td><td>m</td></tr> <tr><td>e</td><td>100</td><td>80</td><td>70</td></tr> <tr><td>tg</td><td></td><td>100</td><td>80</td></tr> <tr><td>m</td><td></td><td></td><td>100</td></tr> </table>		e	tg	m	e	100	80	70	tg		100	80	m			100
	e	tg	m																																																
e	100	83.3	70																																																
tg		100	80																																																
m			100																																																
	e	tg	m																																																
e	100	76.7	70																																																
tg		100	80																																																
m			100																																																
	e	tg	m																																																
e	100	80	70																																																
tg		100	80																																																
m			100																																																

Con estas 3 nuevas matrices se repitieron los pasos 1 y 2 obteniéndose las siguientes:

	<table style="border-collapse: collapse; margin: auto;"> <tr><td></td><td>tge</td><td>m</td></tr> <tr><td>tge</td><td>100</td><td>80</td></tr> <tr><td>m</td><td></td><td>100</td></tr> </table>		tge	m	tge	100	80	m		100	<table style="border-collapse: collapse; margin: auto;"> <tr><td></td><td>tgn</td><td>e</td></tr> <tr><td>tgn</td><td>100</td><td>70</td></tr> <tr><td>e</td><td></td><td>100</td></tr> </table>		tgn	e	tgn	100	70	e		100	<table style="border-collapse: collapse; margin: auto;"> <tr><td></td><td>tge</td><td>m</td></tr> <tr><td>tge</td><td>100</td><td>75</td></tr> <tr><td>m</td><td></td><td>100</td></tr> </table>		tge	m	tge	100	75	m		100
	tge	m																												
tge	100	80																												
m		100																												
	tgn	e																												
tgn	100	70																												
e		100																												
	tge	m																												
tge	100	75																												
m		100																												

Finalmente el resultado de estas 3 matrices fué expresado mediante los siguientes 3 dendrogramas.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**



Como puede verse las especies originales bajo estudio se colocaron en el nivel máximo de similitud (100%) y fueron uniéndose mediante líneas paralelas verticales unidas por horizontes perpendiculares a las mismas al nivel de similitud que indican las matrices y en el orden de las mismas, de tal forma que cuando dos o más especies constituían una nueva identidad dejaban de considerarse por separado para unir las como grupo a las especies restantes.

Como puede verse los 3 dendrogramas consideran a las especies t y g, como las más cercanas respecto al contenido de sus metabolitos secundarios, en tanto que muestran de manera opuesta la relación entre las especies e y m con respecto a la identidad tg. Esto lo podemos explicar si analogamos el procedimiento matemático antes explicado con la pérdida de resolución al observar un objeto tridimensional (tetraedro) desde diferentes perspectivas. En dicho tetraedro las especies t y g estarían en las 2 aristas más cercanas, en tanto que las especies e y m, estarían en los vértices más alejados entre sí y de los 2 antes mencionados de tal manera que si se observa la figura a gran resolución por los vértices t y g (matriz A) es claro que son estos los más cercanos; a mediana resolución (matriz B), y desde esa misma perspectiva los vértices m y e aparecerían equidistantes del punto t y g (dendrograma C). Si a esta misma resolución la figura girase hasta poner el vértice m casi detrás del punto tg este vértice parecería más cercano de dicho punto que el vértice correspondiente a e (dendrograma B). Si por el contrario la figura girase hasta quedar con el vértice e detrás del punto tg este vértice se vería más cercano de tg que el vértice m (dendrograma A).

En otras palabras las distancias que separan a m y a e de la identidad tg son tan similares que difícilmente podemos elucidar cual de las dos esta más separada de dicha unidad, aunque es claro que las unidades m y e no son cercanas (químicamente hablando entre sí).

V

CONCLUSIONES

1.- Grupos de compuestos químicos en los extractos.

De los grupos investigados se encontraron, en hojas de todas las especies: alcaloides, flavonoides, terpenos y esteroides y glicósidos. Saponinas sólo se encontraron en Jatropha galvani.

En Látex, en todas las especies se encontraron: alcaloides, flavonoides, glicósidos y saponinas. No se investigaron terpenos y esteroides por la insolubilidad de los extractos.

2.- Perfiles cromatográficos de los extractosa) De Hojas:

- extractos hexánicos: Las cuatro especies estudiadas tienen perfiles similares.

- extractos de acetato de etilo: Hay similitud en los perfiles de las cuatro especies en la zona menos polar y difieren en la zona de mayor polaridad.

- extractos metanólicos: Los perfiles de los extractos de Jatropha elbae y J. tlalcozotitlanensis, en la zona de mayor y menor polaridad son iguales y difieren ligeramente de los de las otras dos especies. Los perfiles en la zona de mediana polaridad son similares para las cuatro especies.

b) De Látex:

No se pudieron determinar los perfiles de todos los extractos debido a la insolubilidad, por lo que no se pudieron establecer comparaciones entre las especies.

El análisis de matrices indica una gran similitud química entre Jatropha elbae y J. tlalcozotitlanensis así como una gran diferencia en la composición de metabolitos secundarios entre J. malacophylla y J. elbae.

Por otro lado este análisis mostró que la diferencia química que separa a J. elbae de las especies J. galvani y J. tlalcozotitlanensis es muy similar a la que separa a J. malacophylla de las dos primeras, por lo que no podemos determinar con claridad cuál de las dos especies guarda una relación química más estrecha con la identidad J. tlalcozotitlanensis - J. galvani.

b) De Látex

No se pudieron determinar los perfiles de todos los extractos debido a la insolubilidad, por lo que no se pudieron establecer comparaciones entre las especies.

VI

B I B L I O G R A F I A

- 1)- Adolf, W., H.J. Opferkuch, and E. Hecker.
1984. Irritant Phorbol derivatives from four Jatropha species. Phytochemistry 23(1):129-132.
- 2)- Amor, P.D. 1987. Estudio Químico Preliminar a Hojas de Ipomea Wolcottiana (Convolvulaceae) en dos Diferentes Etapas de Desarrollo. Tesis profesional (Biologo) Fac. de Ciencias, U.N.A.M.
- 3)- Ballantine, J.A. 1969. The isolation of two esters of the naphthaquinone alcohol, shikonin, from the shrub Jatropha glandulifera. Phytochemistry 8:1587-1590.
- 4)- Banerji, J., B. Das, A. Chatterjee and N.J. Shoolery.
1984. Gadain, a lignan from Jatropha gossypifolia. phytochemistry (10):2323-2327.
- 5)- Chatterjee, A., D. Biswanath, C. Pascard, and T. Pranget.
1981. Crystal structure of a lignan from Jatropha gossypifolia. Phytochemistry 20(8):2047-2048.
- 6)- Deghan, B. and M.C. Craig. 1978. Types of laticifers and crystals in Jatropha and their taxonomic implications. Amer. J. Bot. (65):345-352.
- 7)- Deghan, B., and G.L. Webster. 1979. Morphology and Infrageneric relationships of the genus Jatropha (Euphorbiaceae). Univ. Calif. Publ. Bot. (24):74.
- 8)- Deghan, B. 1982 Comparative anatomy of the petiole in Jatropha. Amer. Jour. of Botany. 69(8):1283-1395.
- 9)- Domínguez, X.A. 1973. Métodos de Investigación Fitoquímica, Limusa. Mex. pags. 141, 153, 204, 218.
- 10)- Domínguez, X.A., G. Cano, R. Franco, A.M. Villarreal, W.H. Watson, and B. Zabel, 1980. Riolozatrione, a new class of diterpene from Jatropha dioica var. ssesiliflora. phytochemistry (10):2468.
- 11)- Estoës, F., J. Mareñon, and Ancheta, F. 1957. Screening of philippine plants for steroidal sapogenins. Philippine J. Sci. (87):191-195.

- 12)- Fransworth, N.R. 1966. Biological and Phytochemical screening of plants. *Jour. Phan. Sci.* 55(3):225-276.
- 13)- Heywood, V.H. 1968. *Taxonomia Vegetal*. Alhambra. Madrid. pags 73-81.
- 14)- Jiménez, J. 1981 *Jatropha galvani* (Euphorbiaceae). Especie nueva de la Cuenca del Balsas. *Cact. Suc. Mex.* XXVI:3-6.
- 15)- Jiménez, J. 1982. Contribución al conocimiento del género *Jatropha* en México. Tesis profesional (Biologo). Fac. de Ciencias, U.N.A.M.
- 16)- Jiménez, J. 1985. Dos especies nuevas del género *Jatropha* en México. *Cact. Suc. Mex.* XXX:80-84.
- 17)- Jiménez, J. 1986. Una especie de *Jatropha* del estado de Guerrero. *Cact. Suc. Mex.* XXXI:3-5.
- 18)- Kozhiparambil K.P. and Chandrasekharen. 1979. Jatrophenolones A and B new diterpenoids from the roots of *Jatropha gossypifolia* (Euphorbiaceae) Crystal structure analysis of Jatrophenolone B. *Tetrahedron Letters* (11):979-980.
- 19)- Kupchan, S.M., C.W., Sigel, M.L. Matz, e.j. Gilmore, and R.F. Bryan. (1976). Structure and stereochemistry of jatrophone, a novel macrocyclic diterpenoid tumor inhibitor. *Jorn, of the american chemical society.* 98(14):2295-2300.
- 20)- Mc. Vaugh. R. 1945. Thegenus *Jatropha* in America: Principal intergeneric groups. *Bull. Torrey. Bot. Club* (72): 271-294.
- 21)- Martello, R., R. Fransworth. 1962. Observations on the sensitive of several common alkaloid precipitating reagents. *Llodia* 25(3):176-185.
- 22)- Mayorga, G. 1956. Phytochemical study of *Jatropha macrantha*. *Anales Fac. Farm. y Bioquim. Univ. Nacl., mayor San Marcos* (7):141-159.
- 23)- Parthasarathy, M.R., and K.P. Saradhi. 1984. A coumarino-lignan from *Jatropha glandulifera*. *Phytochemistry.* 23(4):867-869.
- 24)- Rao, A.R., and M. Malaviya. 1965 on the Latex cells and latex of *Jatropha*. *Proc. Ind. Acad. Sci., B,* 60(4):95-106.
- 25)- Rosquete, C. y M.A. Morales. 1979. Componentes del latex de *Jatropha acotinifolia* Willd. var. *palmata* (wild) Mvell. *Arq. Rev. Latinoameri. Quím.* (10):35-36.

- 26)- Subramanian, S.S., Nagaranjan, and, N. Sulochana. 1971. Flavonoids of the leaves of Jatropha gossypifolia. *Phytochemistry*. (10):1960.
- 27)- Torrence, S.J., R.M. Wiedhopf, and R.J. Cole. 1976. Antitumor agents from Jatropha macrorhiza (euphorbiaceae). 11. Isolation and characterization of Jatropha-trione. *J. Org. Chem.* 41(10):1855-1857.
- 28)- Van der Walt, S.J., and D.G. Steyn. 1940. Recent investigations in to the toxicity of know and unknow poisonous plants in the Union of South Africa. *J. Vet. Sci. Animal. Ind.* 15:261-277.

A P E N D I C E

- Método de Soxhlet.

Es un proceso de extracción en caliente empleando el aparato de Soxhlet. Este sistema funciona con continua extracción de un sólido por un disolvente caliente. El material a trabajar (hojas secas pulverizadas) se pone en un dedal poroso (formado de papel filtro) que se coloca en el interior del tubo del aparato de Soxhlet. A la parte inferior del aparato se adapta un matraz de fondo redondo, del tamaño apropiado, para contener el disolvente. Este matraz se coloca en un baño de vapor con objeto de que el disolvente ebulle suavemente. El vapor del disolvente asciende a través del aparato y se condensa en el refrigerante colocado en la parte superior del tubo de Soxhlet. El disolvente condensado cae dentro del cartucho de papel filtro, llenándolo lentamente. Cuando el disolvente alcanza el tope del sifón lateral, el líquido cae al matraz llevando en solución las sustancias extraídas. El proceso se repite automáticamente hasta obtener la extracción completa.

- Rotavapor.

Una vez obtenido el extracto en solución, se elimina el disolvente con ayuda del rotavapor, esta es un aparato en el que evaporación del disolvente se hace a presión reducida, y por consiguiente a menor temperatura. El matraz que contiene el extracto disuelto en el disolvente se conecta al refrigerante del aparato y se calienta a temperatura apropiada en baño de vapor, girando durante la evaporación. Esto asegura la regulación de la ebullición.

El disolvente que esta evaporando, se condensa en el refrigerante de espiral (en el cual esta pasando agua continuamente) y cae en el matraz receptor.

El disolvente que se esta evaporando, se condensa en el refrigerante de espiral (en el cual esta pasando agua continuamente) y cae

en el matraz receptor.

- Reactivo de Lieberman-Burchard.

Mezclar volúmenes iguales de anhídrido acético y cloroformo, enfriar la mezcla cubriendo el recipiente que la contiene con hielo molido y agregar tantas gotas de ácido sulfúrico concentrado como mililitros de cloroformo contenga la mezcla.

- Reactivo de Dragendorff.

Solución A:

8.0 g	Bi (NO ₃) ₅ H ₂ O
20.0 ml	NH ₃ al 3%

Solución B:

27.2 g	KI
100.0 ml	H ₂ O

Se mezclan ambas soluciones

- Reactivo de ácido silicotúngstico.

Se disuelven 5.0 g de ácido silicotúngstico en ácido sulfúrico 6 N para formar 100 ml de una solución.

- Sulfato cérico.

Se agregan 40 ml de ácido sulfúrico a 350 g de hielo molido, se calienta a 40° C y se le disuelven 14 g. de sulfato cérico.

- Solución de butanol-ac. acético-agua 5:1:4.

Se preparó agregando butanol, ácido acético glacial y agua destilada en las proporciones indicadas, en un embudo de separación

donde se mezclan por agitación ligera y se deja reposar la mezcla hasta que se han separado completamente la fase orgánica de la fase acuosa. En ocasiones es conveniente ayudar a dicha separación golpeando suavemente el embudo o sometiendo a un movimiento circular mientras se mantiene en posición vertical. Una vez lograda la separación, se elimina la fase acuosa y se utiliza la orgánica como eluyente.

- Cromatografías.

Todas las cromatografías se corrieron en cámaras previamente estabilizadas con el eluyente empleado.

este debe cubrir por lo menos los 3 mm inferiores de las placas, que en todos los casos fueron delgadas, del gel de sílice Merck 60, F/254 y se introdujeron y retiraron de la cámara con ayuda de unas pinzas. Durante el corrimiento, la cámara permaneció cerrada. Una vez alcanzado el frente se retiró la placa y se dejó secar completamente para observarla con luz U.V. de onda larga. Las manchas que aparecieron se indicaron con líneas punteadas, usando para ello un lápiz suave. Posteriormente, se revelaron con sulfato cérico, aplicándose con un rosiador de aire a una distancia de 30 cm. Enseguida se calentaron sobre una parrilla calefactora al 120°C, las manchas que aparecieron se marcaron con una línea continua usando lápiz suave.