

24
rej.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

BIOLOGIA

T E S I S

"AISLAMIENTO DE ALGUNOS METABOLITOS SECUNDARIOS
DE EXTRACTOS DE Jatropha malacophylla (EUPHORBIACEAE)"

SANDRA LUZ BARRIOS HERNANDEZ

LABORATORIO DE QUIMICA

1 9 8 8



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

I)	INTRODUCCION	1
	OBJETIVOS	3
II)	ANTECEDENTES	4
	1. BOTANICOS	4
	2. QUIMICOS	7
III)	MATERIAL Y METODOS	15
	1. MATERIAL BIOLÓGICO	15
	2. EXTRACCION SELECTIVA	15
	3. ANALISIS DE LOS EXTRACTOS.	15
	4. EXTRACTO HEXANICO	16
	5. EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO	17
	6. EXTRACTO METANOLICO	18
	7. EXTRACTO DE ETANOL ACUOSO	19
IV)	RESULTADOS	20
V)	DISCUSION	41
	1. RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS	41
	2. EXTRACTO HEXANICO	42
	3. EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO	43
	4. EXTRACTO METANOLICO	44
	5. EXTRACTO DE ETANOL ACUOSO	47
VI)	CONCLUSIONES	48
VII)	BIBLIOGRAFIA	49

.....

I

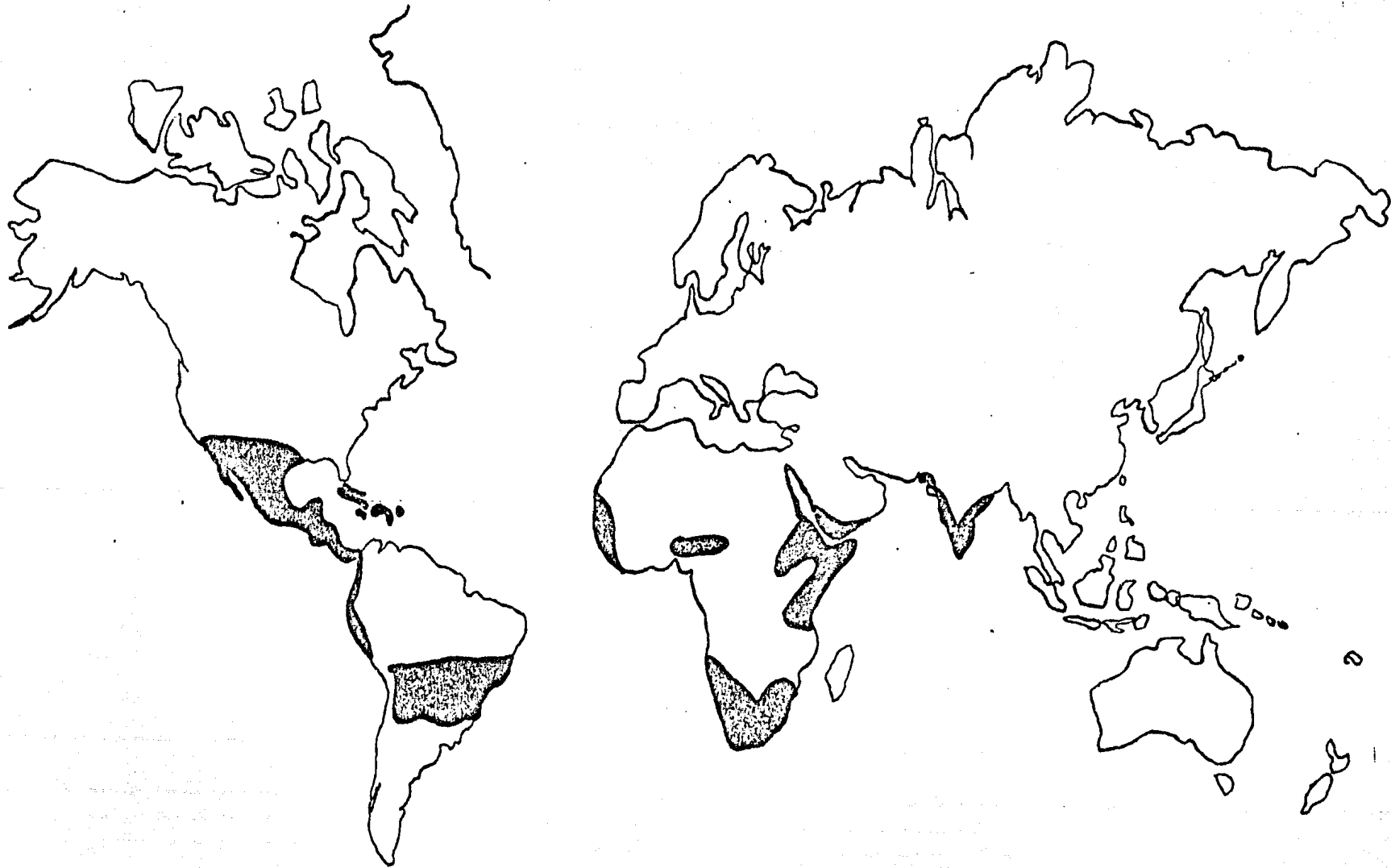
INTRODUCCION

El conocimiento de la flora es requisito indispensable para el establecimiento de un adecuado sistemas de manejo para los recursos naturales, especialmente cuando las especies vegetales presentan un rango de distribución amplio que las involucra en muchas y muy variadas interacciones ecológicas. Este es el caso del género Jatropha, que además de contar con una distribución tanto en América como en Africa, presenta gran diversidad de especies con diferentes formas de crecimiento y cuyas relaciones filogenéticas no han quedado totalmente esclarecidas (Dehgan y Webster, 1979).

El género en cuestión ha sido dividido en dos subgéneros: el subgénero Curcas, ampliamente distribuida en América, hasta los desiertos de Texas y Arizona, y el subgénero Jatropha, que se encuentra en Africa, también con un amplio rango de distribución (Dehgan y Webster, 1979) (Mapa I).

Una de las especies pertenecientes al subgénero Curcas y que tiene amplia distribución en el territorio mexicano es Jatropha malacophylla, de la cual existen registros para los estados de Sonora, Durango, Guerrero y Michoacán, entre otros (Standley, 1940 en Dehgan y Webster, 1979). No obstante, siendo una especie ampliamente distribuida en el país y que pertenece al subgénero típico para América, Jatropha malacophylla ha sido poco estudiada y consecuentemente, se desconoce gran

MAPA I.- DISTRIBUCION DEL GENERO Jatropha (Dehgan y Webster, 1979).



parte de su biología.

Partiendo de que los estudios fitoquímicos son menos abundantes e igualmente importantes que los morfológicos y ecológicos para el conocimiento de cualquier especie, se consideró necesaria la realización del presente trabajo cuyos objetivos son los siguientes:

OBJETIVO GENERAL:

Realizar un análisis químico de los extractos obtenidos de Jatropha malacophylla.

OBJETIVOS PARTICULARES:

Preparar, mediante extracción selectiva, extractos hexánico, de acetato de etilo, metanólico y de etanol acuoso.

Analizar los extractos que reporten mayor rendimiento para separar algunos compuestos.

Caracterizar, mediante análisis espectroscópicos, los productos aislados.

II

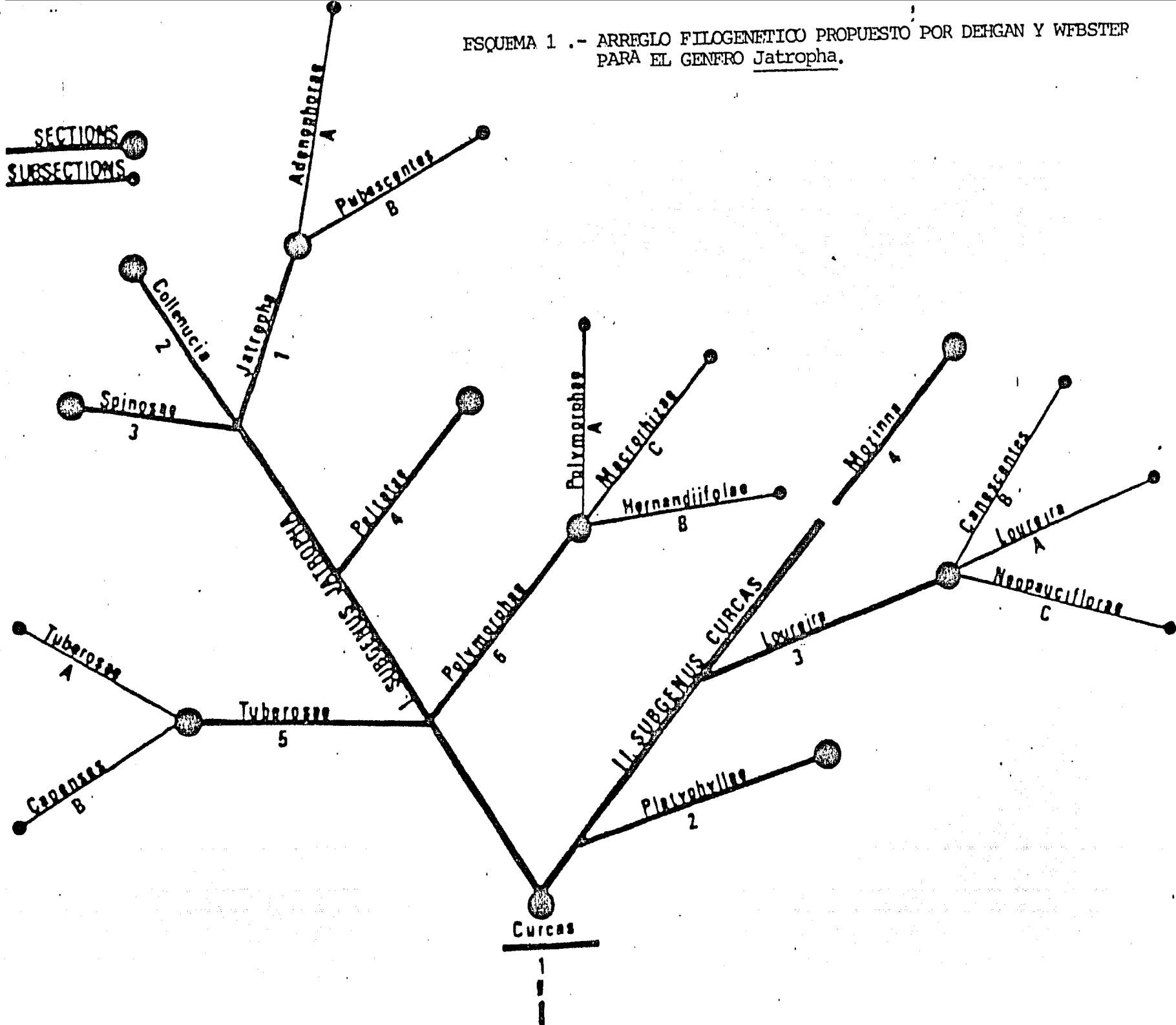
ANTECEDENTES

1. BOTANICOS

Son numerosos los autores que han estudiado el género Jatropha, que fué descrito por Linneo en el Genera Plantarum (1737); entre ellos se encuentran Adanson (1773), Phol (1827), Baillon (1858) y Max y Hofman (1919,1931). Todos estos investigadores desarrollaron diferentes arreglos taxonómicos del género (en Jiménez, 1982).

En 1945, Mc Vaugh hizo la tipificación del género, punto que ha sido retomado por Dehgan y Craig (1978), Dehgan y Webster (1979) y Dehgan (1982). Este último y Webster realizaron una revisión a nivel seccional y propusieron un arreglo taxonómico (actualmente el más aceptado) que incluye la división del género en dos subgéneros: Curcas y Jatropha. El subgénero Jatropha conserva las características primitivas del género y es de distribución pantropical, en tanto que el subgénero Curcas comprende a la mayoría de las especies de distribución americana, dentro de las que se encuentra Jatropha malacophylla. Sin embargo esta especie cuenta con pocos estudios, siendo descrita por Standley en 1924 (en Jiménez, 1982), es retomada por él mismo en 1940 y no es sino hasta la década de los setentas cuando reaparece en los trabajos que Dehgan y Webster (1979) realizaron sobre morfología y relaciones infragenéricas para el género Jatropha, colocando esta especie en la sección Curcas (esquema 1).

ESQUEMA 1 .- ARREGLO FILOGENETICO PROPUESTO POR DEHGAN Y WEBSTER PARA EL GENERO Jatropha.



En 1982, Jatropha malacophylla forma parte de un trabajo de tesis en el que se estudian algunas especies del género, abordando la problemática taxonómica que presenta el grupo para el caso particular de las especies con distribución en la República Mexicana (Jiménez, 1982).

Ubicación taxonómica y descripción específica

Jatropha malacophylla es una especie perteneciente al subgénero Curcas del género Jatropha, que forma parte de la familia Euphorbiaceae. El subgénero está formado por individuos dioicos, ginodioicos u ocasionalmente monoicos; con inflorescencias con muchas flores o flores solitarias; lóbulos del cáliz imbricados y foliáceos; los pétalos nunca están totalmente libres a excepción de dos especies; los estambres suelen ser diez y rara vez ocho, generalmente son monadelfos; pueden haber 1, 2 o 3 carpelos; las semillas son esféricas y la carándula es pequeña o no existe; hay laticíferos con idioblastos; los tricomas son unicelulares y verrucosos (en Jiménez, 1982).

Descripción específica

Jatropha malacophylla Stand. Sec. Curcas. Dehgan et Webster

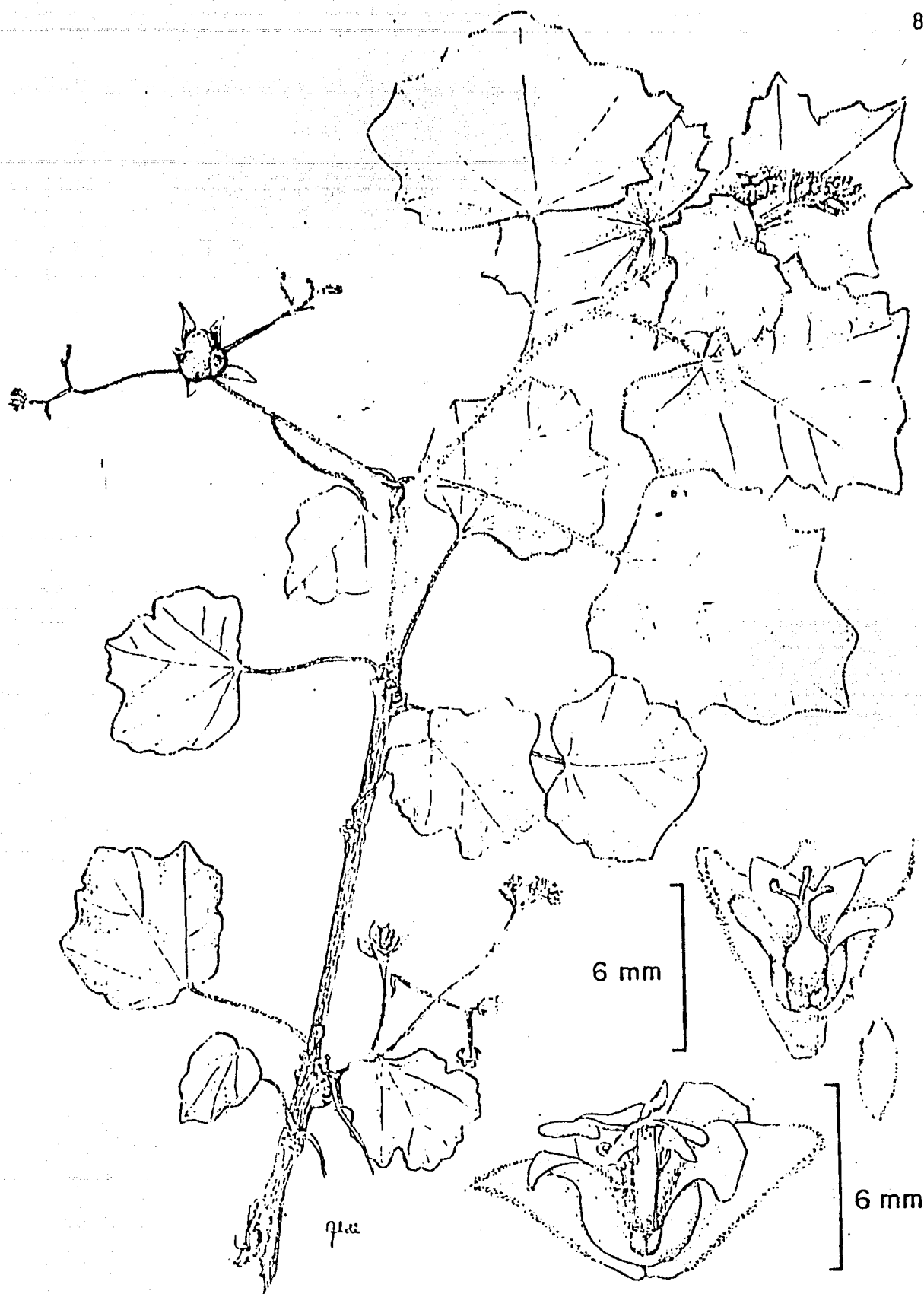
Arbusto o árbol de 7 m, ramillas suculentas, corteza púrpura, ramas densamente tomentosas con pelos cortos y grises, hojas confinadas a los ápices, lámina de la hoja casi orbicular de 3 cm de largo y 7 cm de ancho, trilobadas hasta la base en ocasiones o con lóbulos adicionales en la base, base truncada o levemente cortada, superficie totalmente tomentosa velutina;

pecíolo robusto de 5 a 20 cm de largo, densamente tomentoso-velutino, estípulas filiformes; brácteas lanceolado-triangu-lares. Flor estaminada, sépalos oblongos lanceolados, de 3 a 5 mm de longitud, esparcidamente hirsutos en la base, de 5 a 6 mm de largo, pétalos con el ápice redondo, con pilosidad interna, 10 estambres biseriados, conados en la base; anteras ovadas, de 1.3 mm de longitud; flor pistilada, cáliz con lóbu-los oblongos de 6.2 mm de largo, el ápice de los lóbulos apicu-lado, densamente pubescente en toda su superficie; corola blanco-amarillenta, pétalos de 6.1 mm de largo; pistilo no vis-to, cápsula con 6 valvas, piramidal, de 2 cm de alto con tres semillas (Jiménez, 1982) (esquema 2).

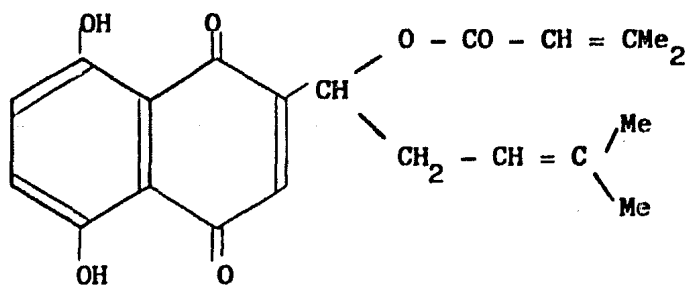
2. QUIMICOS

A nivel genérico se cuenta con varios estudios químicos de Jatropha, a través de los cuales se conocen actualmente gran núme-ro de compuestos químicos constituyentes de las especies enmar-cadas dentro de este género. Los trabajos que a continuación se mencionan están ordenados de acuerdo al grupo de metabolitos que haya sido tomado como objeto de estudio.

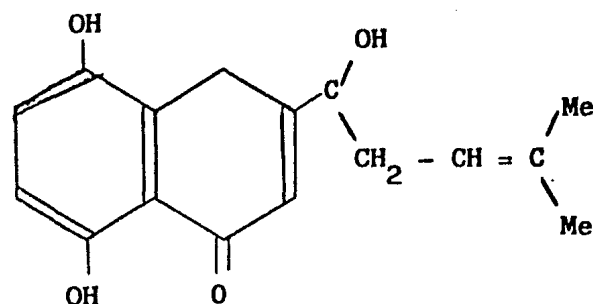
Así, en cuanto a pigmentos se refiere, se cuenta con los es-tudios realizados en 1969 por Ballantine, quien, a través de un análisis seccional a nivel de troncos y ramas de Jatropha glandulifera, aisló la 3,3-dimetil-acryl-shikonina (I), principal pigmento res-ponsable de la coloración del tronco del arbusto y que fué encon-trado junto con pequeñas cantidades de shikonina (II).



ESQUEMA 2.-*Jatropha malacophylla* (en Jiménez, 1982).



(I) 3,3-dimetil-acril-shikonina



(II) Shikonina

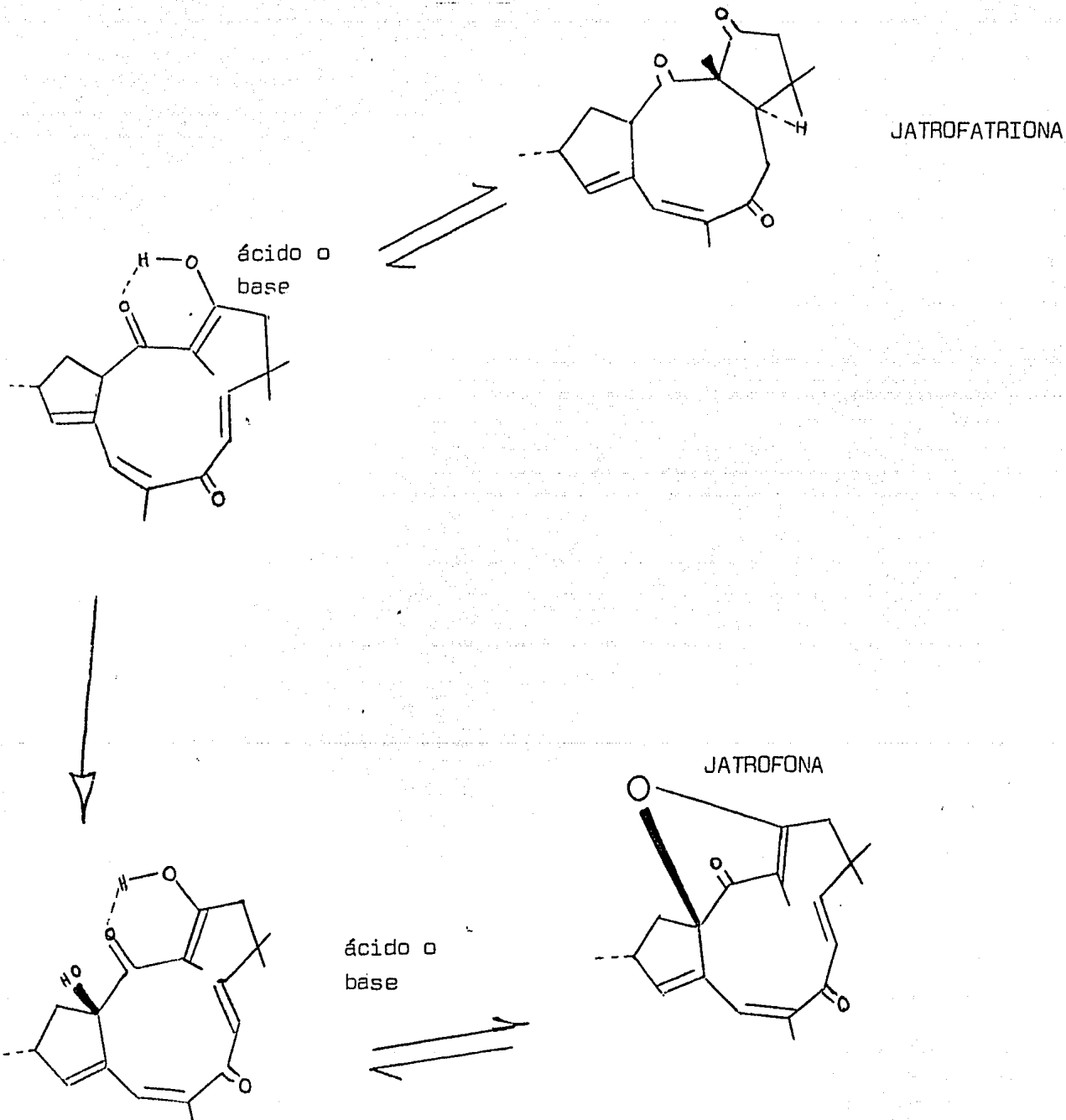
Para el grupo de los flavonoides, hay muy variados estudios realizados para el género en cuestión, entre los que se encuentran los trabajos de Subramanian y col. (1971), quienes encontraron quercetina, quercetina-3-galactósido, vitexina e isovitexina, en hojas secas de Jatropha heinii, y apigenina, vitexina e isovitexina, en los extractos de hojas frescas de J. curcas. El mismo grupo de investigadores encontró estos flavonoides en hojas secas de J. gossypifolia.

En el caso de los terpenos, Kupchan y col. lograron aislar, en 1976, jatrofona de la raíz de Jatropha gossypifolia, derivado diterpénico macrocíclico que tiene propiedades antitumorales y cuya estructura fue determinada por los métodos usuales del análisis espectroscópico, siendo confirmada con rayos X.

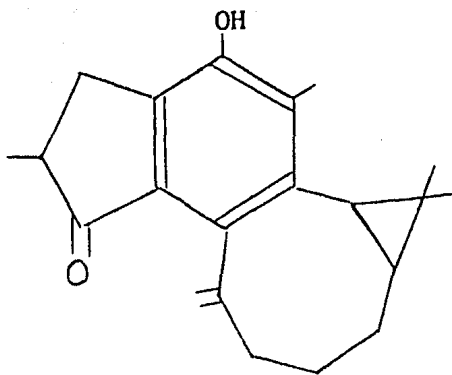
Relacionada estructuralmente con la jatrofona, la jatrofatrio na fue aislada en 1976 por el mismo grupo de investigadores, a partir de J. gossypifolia, proponiéndose una posible ruta biosintética para ambas cetonas a partir de un precursor bicíclico

Esquema 3.- POSIBLE RUTA BIOSINTETICA DE LA JATROFONA Y LA JATROFATRIONA
A PARTIR DE UN PRECURSOR BICICLICO (Sterling y col, 1975)

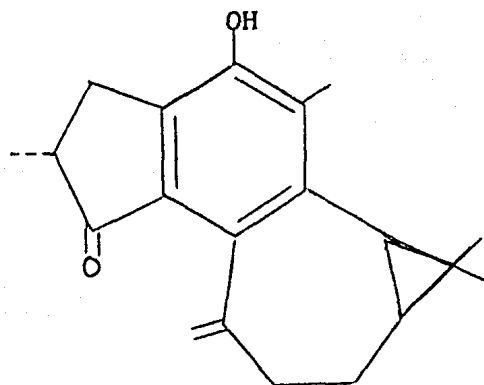
PRECURSOR
BICICLICO



Kozhiparambil y col. aislaron en 1969, dos cetonas diterpénicas a partir de Jatropha gossypifolia: la jatrolona A (I) y su epímero en C₂, la jatrolona B (II).

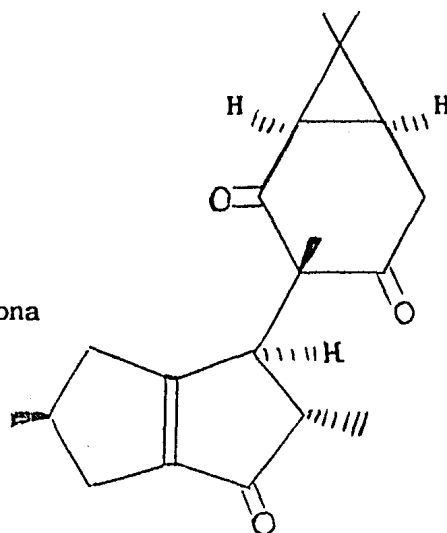


(I) Jatrolona A



(II) Jatrolona B

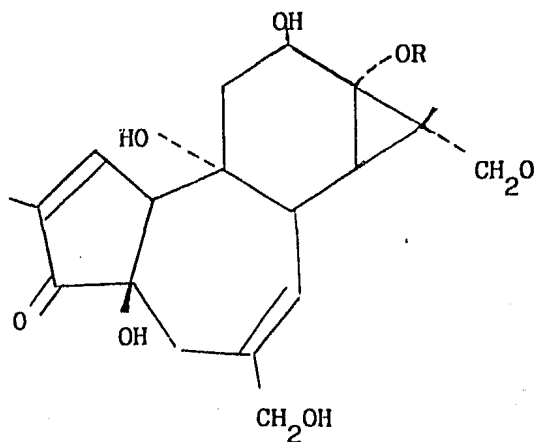
En 1980, Domínguez y col. aislaron la riolozatriona (III) a partir de los extractos de éter de petróleo de las raíces de Jatropha dioica var. sessiliflora. Este diterpeno representa un nuevo tipo estructural que quizá provenga de la trasposición de un derivado del latirool o de algún precursor macrocíclico.



(III) Riolozatriona

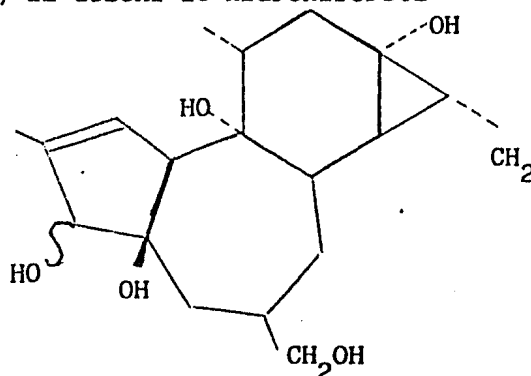
Finalmente,, Adolf y col. (1984), aislaron de los aceites de 4 especies de Jatropha, ésteres diterpénicos del tipo del ti gliano, con ácidos poliinsaturados, cuyos alcoholes diterpénicos correspondientes fueron identificados como :

el 16-hidroxiforbol (I), en Jatropha podagrica y en Jatropha multifida; y el 12-desoxi-16-hidroxiforbol (II), en J. curcas y en J. gossypifolia.

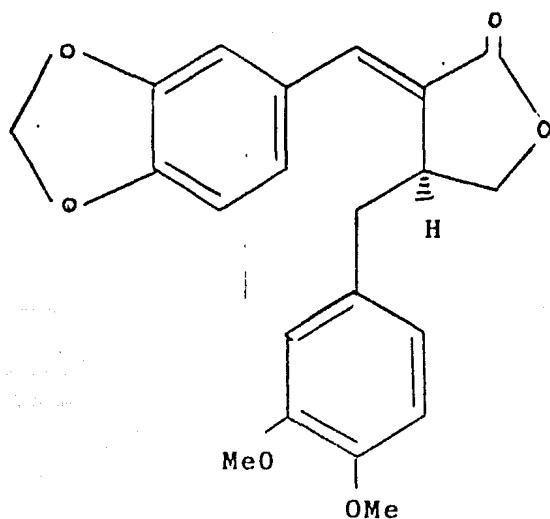


(I) 16-hidroxiforbol

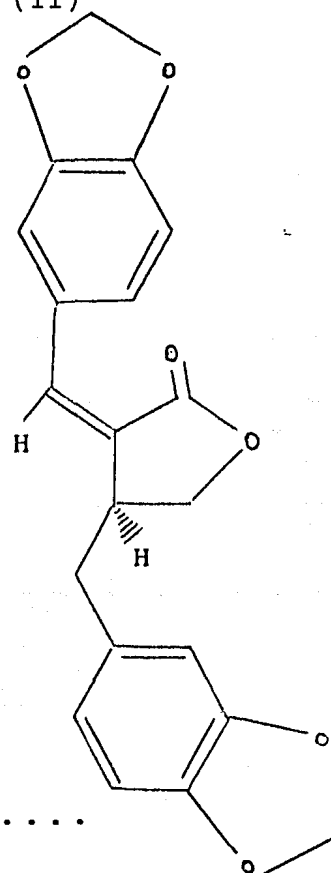
(II) 12-desoxi-16-hidroxiforbol



Por lo que a lignanos se refiere, la bibliografía reporta los trabajos de Chatterjee y col. (1981), quienes aislaron la 2-piperonilidina-3-veritriil-3R- γ -butirolactona (I) de tallos, raices y semillas de J. gossypifolia, especie a partir de la cual Banerji y col. (1984) aislaron gadaina (II)

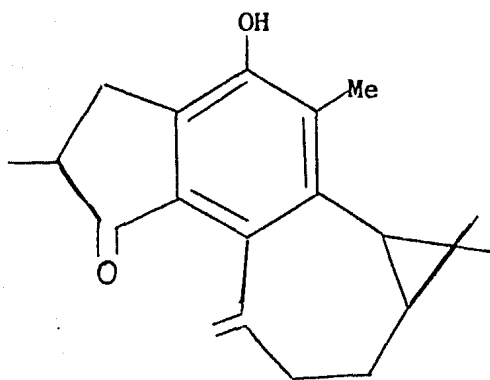


(I) 2-piperonilidina-3-veritriil-3R- γ -butirolactona

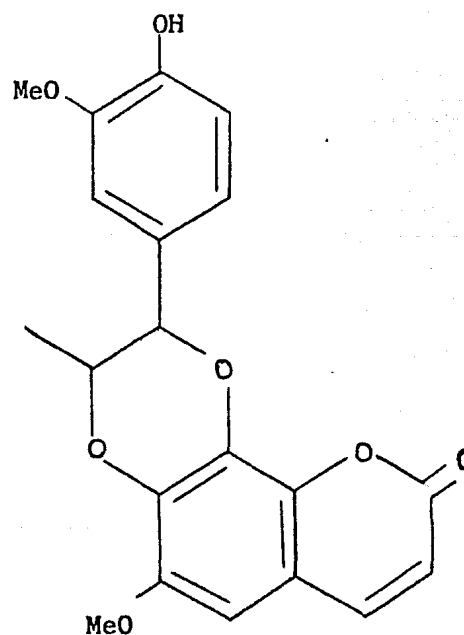


(II) Gadaina

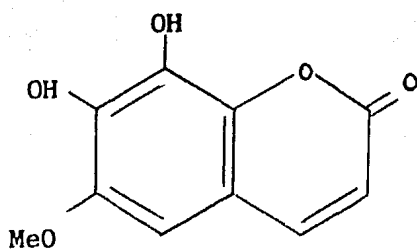
Parthasathy y Saradhi (1984) encontraron jatrofolona A (I), una lignanocumarina (II) y fraxetina (III) en el extracto metanólico de la raíz de Jatropha glandulifera.



(I) Jatrofolona A



(II) Lignanocumarina



(III) Fraxetina

Del grupo de las saponinas sólo se encuentra en la bibliografía el reporte de un estudio realizado en 1956 por Anzaldo y col., quienes determinaron la presencia de saponinas esteroídicas en Jatropha curcas.

Se menciona la presencia de glucósidos cianogenéticos en J. angustidens (Heyl, 1902) y en J. capensis (Van der Walt y col., (1940). Para esta última especie se realizó, además, un análisis en plantas secas, sin flores ni frutos, obteniéndose 0.15 mg de ácido cianhídrico por 100 g de material.

Por último, respecto a los alcaloides, se ha aislado jatrofi_n de dos especies, J. gossypifolia (Henry, 1937) y J. macrantha (Mayorga, 1956), pero se desconoce la estructura de este compuesto.

Para Jatropha malacophylla, la bibliografía es escasa. La tesis realizada por Guevara (1988), desarrolla un análisis químico preliminar para cuatro especies del género, entre las que está incluida la especie en cuestión, que, según este trabajo, tiene los siguientes grupos de compuestos: terpenos y esteroides, flavonoides, glucósidos, fenoles y alcaloides.

III

MATERIAL Y METODOS

1. MATERIAL BIOLÓGICO

Se emplearon hojas con peciolo, secas y molidas, procedentes de la cuenca del río Balsas, localidad ubicada a 4 km al sur de Mexcala, en el estado de Guerrero

2. EXTRACCIÓN SELECTIVA

Por el método de Soxhlet, se extrajeron 86.5 g de muestra con cuatro disolventes de polaridad creciente (500 ml/8h/3 veces), utilizando consecutivamente: hexano, acetato de etilo, metanol y etanol acuoso (8:2). Los extractos obtenidos fueron llevados a sequedad, eliminando el disolvente mediante un rotavapor y posteriormente calculando su rendimiento (Tabla I).

3. ANÁLISIS DE LOS EXTRACTOS

Para determinar el número aproximado de componentes, se emplearon placas cromatográficas de 5 cm de longitud para cada extracto, utilizando los sistemas de eluyentes señalados por Guevara (1988) como los adecuados para una mejor separación de los componentes de los extractos analizados:

EXTRACTO	ELUYENTE
hexánico	hexano-acetato de etilo 8:2
acetato de etilo (dos sistemas)	acetato de etilo puro hexano-acetato de etilo 1:3
Metanólico (tres sistemas)	acetato de etilo-metanol 2:8 y 4:6 butanol-ácido acético-agua 5:1:4

Las placas elaboradas se observaron con luz ultravioleta de onda larga y se revelaron con sulfato cérico (figuras 1 y 2).

Se hicieron diferentes pruebas químicas para la determinación de los principales grupos de metabolitos secundarios presentes en los extractos obtenidos (Guevara, 1988). Para el extracto hexánico, se realizaron pruebas de terpenos y esteroides; para los extractos de acetato de etilo y metanólico, de terpenos y esteroides, alcaloides, fenoles, saponinas, glucósidos y flavonoides; mientras que en el caso del extracto de etanol acuoso, las pruebas realizadas fueron para determinar la presencia de glucósidos y saponinas (Tabla II).

4. EXTRACTO HEXANICO

Aislamiento de sustancias por precipitación

Durante la realización de las pruebas de solubilidad para el extracto hexánico, se observó, al tratar de disolverlo en acetato de etilo, la precipitación de un compuesto sólido, de color blanco (Compuesto A), que se separó mediante filtración al vacío y se corrió en placa fina de gel de sílice, empleando como eluyente acetato de etilo-metanol (4:6), para comprobar pureza (figura 4). Mediante recristalizaciones de metanol caliente se logró su purificación, obteniéndose un sólido blanco con punto de fusión de 84-86°C (Tabla IV), al cual se le determinaron espectros de infrarrojo, de resonancia magnética nuclear y de masas (Gráficas I, II y III).

Separación de sustancias por cromatografía en columna de gel de sílice Merck G-60

Una vez eliminado el compuesto sólido, el extracto hexánico resultó muy soluble en disolventes de baja polaridad, lo que favoreció la separación de sustancias por cromatografía en columna. Con 3.2 g de extracto, se montó una columna de 4 cm de diámetro, con 240 g de gel de sílice activado (80 g de sílice por cada gramo de muestra) como adsorbente y como eluyentes se emplearon disolventes y mezclas de polaridad creciente, comenzando con hexano puro y terminando con acetato de etilo-metanol. La polaridad del sistema eluyente empleado fue incrementándose gradualmente a medida que la separación lo requería.

La separación de las fracciones colectadas se determinó mediante cromatografía en placa fina de gel de sílice y se reunieron aquellas que presentaron perfiles iguales. Finalmente, se pesaron estas nuevas fracciones, se calculó su rendimiento y el punto de fusión a las fracciones sólidas (Tabla III).

5. EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO

Para separar la fracción alcalóidica, el extracto se disolvió en acetato de etilo puro y se extrajo con agua clorhídrica al 10%. La fase acuosa se alcalinizó con hidróxido de sodio hasta obtener un pH=13 y se extrajo con cloroformo, después con éter y finalmente con acetato de etilo. Estas soluciones orgánicas se lavaron con agua, se secaron con sulfato de sodio anhidro y se concentraron al vacío.

Los extractos concentrados dieron un precipitado blanco, cristalino, que se filtró. Después fueron llevados a sequedad, se pesaron y se calculó su rendimiento (Tabla V).

Con estos tres extractos y los cristales correspondientes, se corrieron dos placas finas en gel de sílice, empleando como eluyente cloroformo-metanol (3:1) y revelando con reactivo de Dragendorff y Van Urk, respectivamente (figura 6), para determinar su naturaleza alcaloídica.

6. EXTRACTO METANOLICO

Aislamiento de sustancias por precipitación

Al efectuar las pruebas de solubilidad de este extracto, precipitó con metanol un compuesto sólido, amarillo ocre, que se separó por medio de filtración al vacío (Tabla IV). Esta sustancia (Compuesto B) se pesó, se calculó su rendimiento y se determinó su punto de fusión (225-230°C), así como sus espectros en el ultravioleta, en el infrarrojo, de resonancia magnética nuclear y de masas (Gráficas IV, V, VI y VII).

Cromatografía en placa fina de gel de sílice y en papel

El Compuesto B se corrió con tres sistemas de eluyentes diferentes; en papel con Forestal (HCl-AcOH-H₂O, 3:30:10) y Fórmico (HCl-HCOOH-H₂O, 2:5:3) y en placa fina de gel de sílice con BAW (butanol-ácido acético-agua, 4:1:5) (figura 5).

7. EXTRACTO DE ETANOL ACUOSO (8:2)

Con este extracto se realizaron pruebas para determinación de saponinas y glucósidos. Sin embargo, como los resultados obtenidos fueron negativos, el análisis del extracto se dio por concluido con estas pruebas (Tabla II).

IV

RESULTADOS

Los resultados se presentan en un diagrama de procesamiento y en una serie de tablas (I-V), perfiles cromatográficos (figuras 1-6) y gráficas (7, de espectros). El diagrama de flujo dá la metodología desarrollada a lo largo de este trabajo y va seguido de los resultados propiamente dichos, que se han agrupado según el tipo de estudio, técnica o análisis empleados. De esta manera se tiene una visión global de lo realizado.

La Tabla I registra la cantidad de muestra a partir de la cual se obtuvieron cuatro extractos diferentes por extracción selectiva, se anota el peso de cada extracto y su rendimiento. La Tabla II resume los grupos de metabolitos cuya presencia se investigó en cada uno de los extractos; se dan los resultados en forma semicuantitativa para las reacciones positivas. En la Tabla III se encuentran las fracciones obtenidas de la columna cromatográfica corrida con el extracto hexánico; se anotan algunas características como color y constitución, punto de fusión de los compuestos sólidos, peso y rendimiento. La Tabla IV incluye los rendimientos, puntos de fusión y solubilidad de los productos sólidos aislados por precipitación de dos de los extractos (hexánico y metanólico). Finalmente en la Tabla V se encuentran los rendimientos de la extracción para alcaloides.

En cuanto al bloque de figuras, corresponden a todos los perfiles

obtenidos de las cromatografías en placa fina de gel de sílice y en papel, tanto las de sondeo, para ver la composición de un extracto, como las que específicamente se realizaron para comprobar la pureza de los compuestos aislados.

Se integran además, todas las gráficas de los análisis espectros c_ópicos practicados a los productos aislados.

DIAGRAMA DE PROCESAMIENTO DE LAS HOJAS DE Jatropha malacophylla.

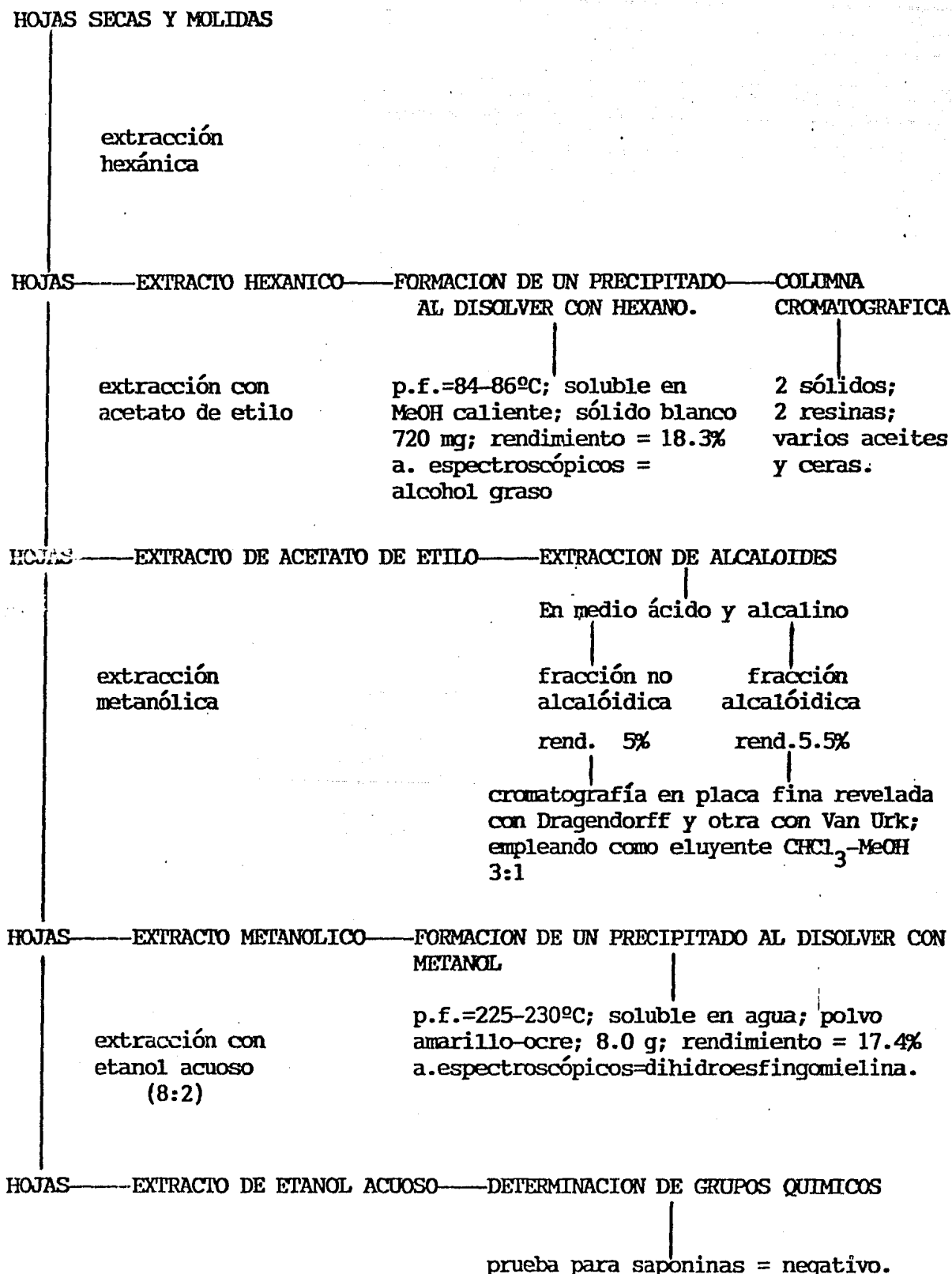


TABLA I.- RENDIMIENTOS OBTENIDOS DE LA EXTRACCION SELECTIVA.

E S P E C I E	CANTIDAD de MUESTRA.	E X T R A C C I O N E S							
		HEXANO		ACETATO DE ETILO		METANOL		ETANOL ACUOSO	
		g	%	g	%	g	%	g	%
<u>Jatropha malacophylla</u>	86.5	3.94	4.5	1.21	1.4	8.0	9.2	2.81	3.2

peso : en gramos

rendimiento : %, calculado sobre peso seco de hoja.

TABLA II.- DETERMINACION DE LOS PRINCIPALES GRUPOS DE METABOLICOS SECUNDARIOS

EXTRACTO ANALIZADO	GRUPOS DE METABOLITOS SECUNDARIOS INVESTIGADOS						
	ALCALOIDES		FENOLES	TERPENOS y ESTEROIDES L-B	GLUCOSIDOS	SAPONINAS	FLAVONOIDES
	DRA	SIL	SHINODA		MOLISCH	ESPUMA.	FeCl ₃
* HEXANICO				+			
ACETATO DE ETILO	++++	+++	-	+	+	-	-
* METANOLICO	+++	+	+	+	+	-	+++
*ETANOL ACUOSO					-	-	

* tomado de Guevara, 1988.

DRA= Dragendorff

SIL= Silicotúngstico

TABLA III .- CROMATOGRAFIA EN COLUMNA DEL EXTRACTO HEXANICO.

CLAVE	FRACCIONES INCLUIDAS	ELUYENTE	CARACTERISTICAS	PUNTO DE FUSION °C	PESO	RENDIMIEN TO %
A	9 - 13	h	Cera blanca	11 [*] 45-50	0.17	5.3
B	59 - 64	h-a 95:5	Cera naranja	60 [*] 38-40	0.61	18.9
C	65 - 82	h-a 90:10	Aceite anbar	--	0.10	2.5
D	83 - 95	h-a 90:10	Aceite anbar	--	0.01	0.3
E ₁	96 - 97	h-a 90:10	Aceite amarillo	--	0.03	1.0
E ₂	98 - 106	h-a 85:15	Sólido blanco	103 [*] 73-77	0.20	5.8
E ₃	107 - 108	h-a 85:15	Sólido blanco	--	0.03	1.0
F	109 - 110	h-a 85:15	Aceite anbar	--	0.03	1.0
G	111 - 112	h-a 85:15	Aceite anbar	--	0.10	2.0
H ₁	121 - 123	h-a 85:15	Aceite anbar	--	0.30	0.8
H ₂	124 - 125	h-a 85:15	Resina anbar	--	0.20	0.7
H ₃	126 - 131	h-a 85:15	Resina verde	129 [*] 96-100	0.63	2.0
H ₄	132 - 133	h-a 85:15	Resina verde	--	0.15	0.5
I	134 (161) 183	h-a 80:20, 75:25	Aceite verde	--	0.22	5.6
J	184 - 195	h-a 70:30	Aceite verde	--	0.22	5.6
K	196 - 205	h-a 70:30	Aceite anbar	--	0.04	1.8
L ₁	206 - 212	h-a 70:30	Sólido amarillo	--	0.03	0.8
L ₂	213 - 214	h-a 70:30	Sólido blanco	213 [*] 70-75 214 [*] 78-82	0.003	0.09
L ₃	215 - 227	h-a 70:30	Sólido amarillo	--	0.05	1.3
M	226 - 235	h-a 60:40	Aceite anbar	--	0.20	5.1
N ₁	261 - 267	h-a 40:60	Aceite amarillo	--	0.01	0.3
N ₂	268	h-a 40:60	Sólido blanco	95.100	0.003	0.09
O	269 - 275	h-a 40:60	Cera amarilla	--	0.01	0.03
P	276 - 283	h-a 30:70	Cera amarilla	--	0.01	0.3
Q	296 (300) 307	h-a 10:90, a	Cera amarilla	--	0.01	0.03
R	310 - 318	a-m 98:2	Cera amarilla	--	0.10	2.0

* fracción a la que corresponde el punto de fusión registrado; h-hexano; a-acetato de etilo m-metanol.

TABLA IV.- CARACTERISTICAS DE LOS PRODUCTOS AISLADOS POR PRECIPITACION.

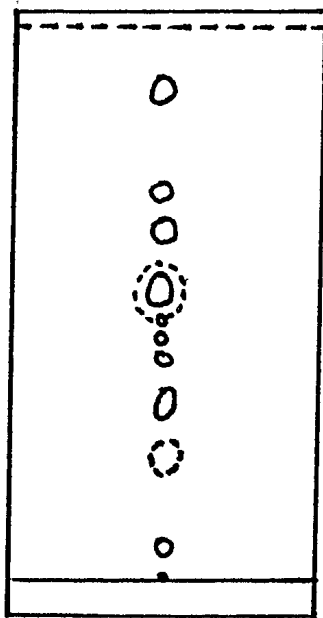
EXTRACTO ORIGINAL	PESO TOTAL g	PESO DEL PROD AISLADO g	RENDIMIENTO %	PUNTO DE FUSION °C	SOLUBILIDAD	COLOR
HEXANICO	3.94	0.7	18.3	84-86	metanol caliente	blanco
METANOLICO	8.0	1.4	17.4	225 - 230	agua	amarillo ocre

TABLA V.- EXTRACCION DE ALCALOIDES DEL EXTRACTO CRUDO DE ACETATO DE ETILO

E X T R A C C I O N				
DISOLVENTE	CRISTALES		FILTRADO	
	mg	% *	mg	% *
CHCl ₃	13.9	1.1	21.8	1.8
ETER	12.5	1.0	21.0	1.7
ACETATO DE ETILO	35.6	2.9	23.8	2.0
T O T A L	62.0	5.0	66.6	5.5

* referido al extracto crudo

FIGURA 1 .- PERFIL CROMATOGRAFICO DEL EXTRACTO HEXANICO.

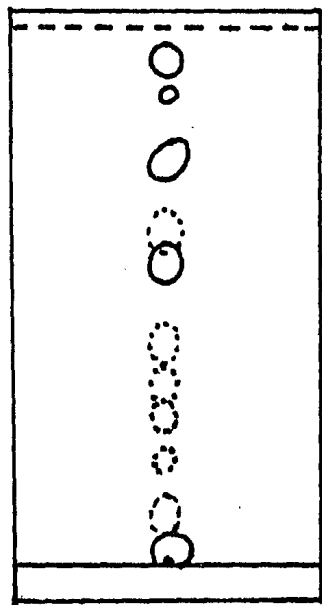


eluyente : hexano-acetato de etilo 8:2

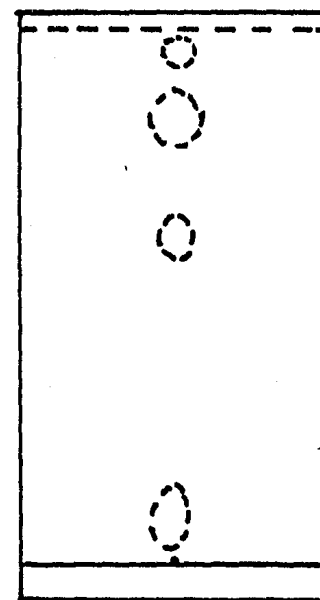
— : ultravioleta

— : sulfato cérico

FIGURA 2 .- PERFILES CROMATOGRAFICOS DEL EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO



eluyente: acetato de etilo

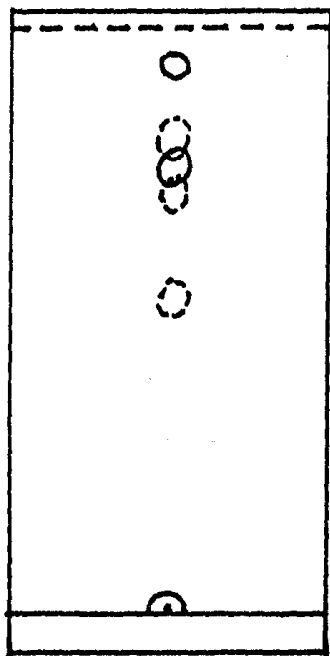


eluyente: hexano-acetato de etilo

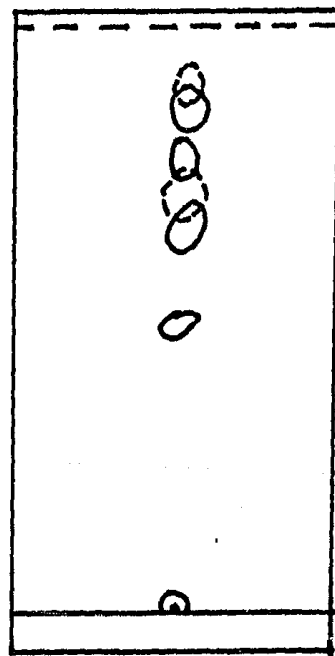
8:2

— : ultravioleta
- - : sulfato cérico

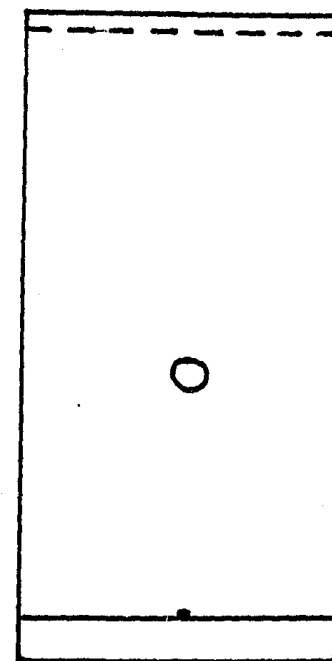
FIGURA 3 .- PERFILES CROMATOGRAFICOS DEL EXTRACTO METANOLICO.



eluyente: acetato de etilo-metanol 2:8



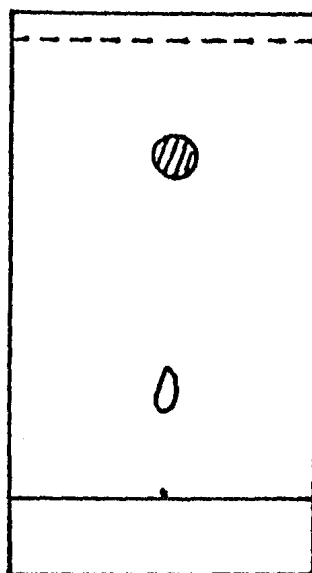
eluyente: acetato de etilo-metanol 4:6



eluyente: BAW 4:1:5

—: ultraviolete ; ___: sulfato cérico

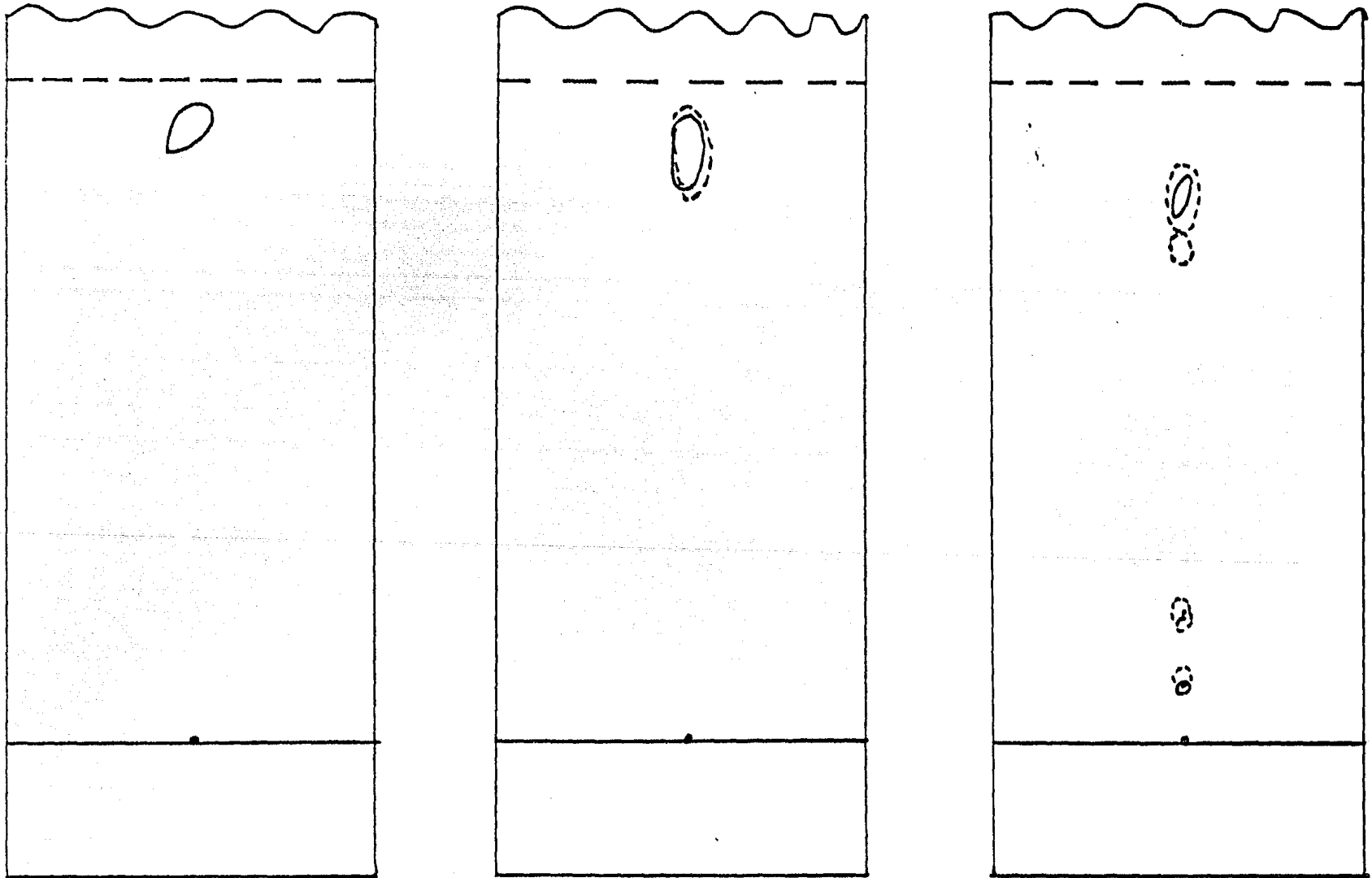
FIGURA 4 .- PERFIL CROMATOGRAFICO DEL COMPUESTO A.



eluyente: acetato de etilo-metanol 4:6

⊙: producto principal

FIGURA 5 .- PERFILES CROMATOGRAFICOS DEL COMPUESTO B.
CROMATOGRAFIA EN PAPEL.



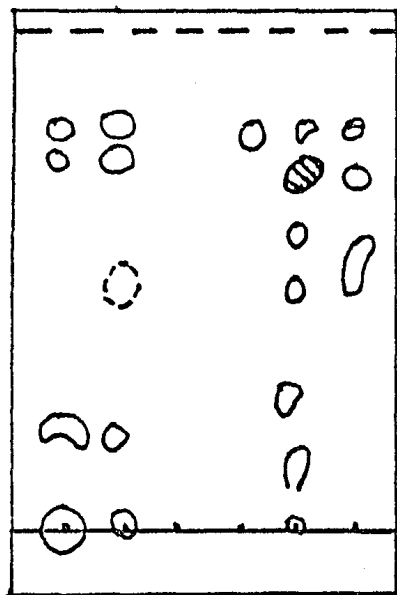
sistema : FORMICO

sistema : FORESTAL

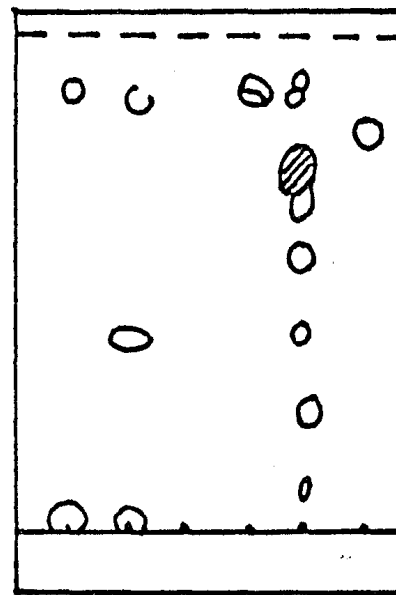
sistema : BAW

— : ultravioleta ; ___ : sulfato cérico

FIGURA 6 .- PERFIL CROMATOGRAFICO DE LA EXTRACCION DE ALCALOIDES DEL EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO.



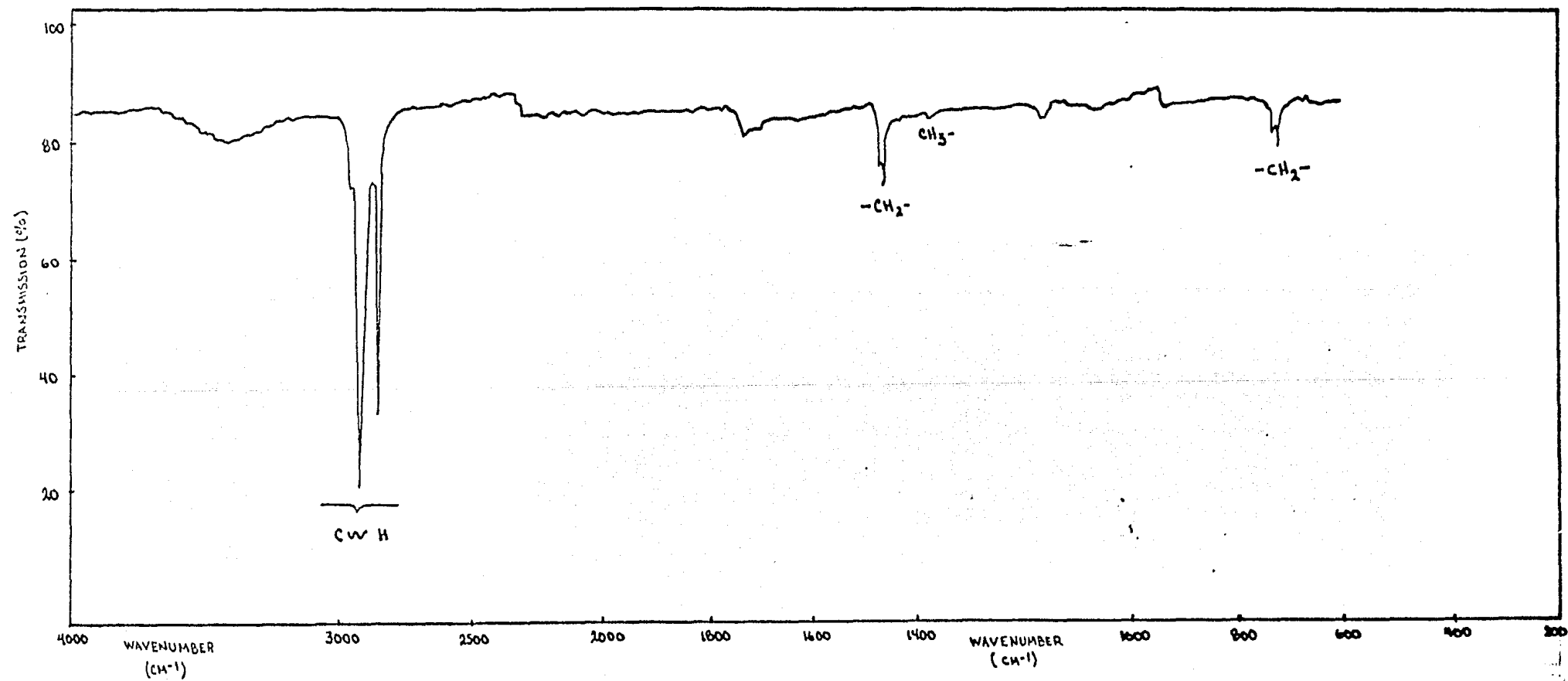
revelador: Dragendorff



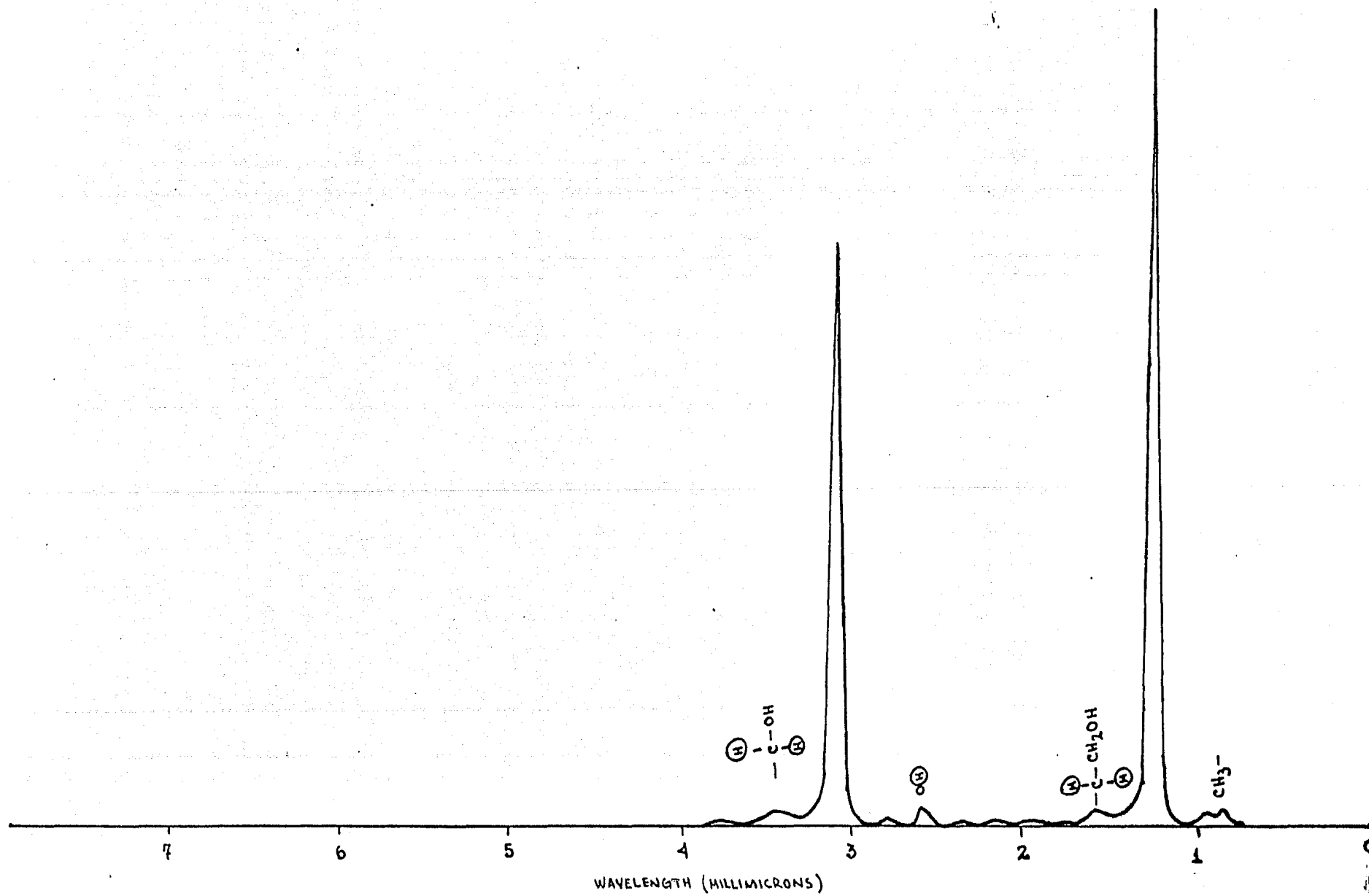
revelador: Van Urk

cristales	disolvente de extracción	filtrado
1	cloroformo	4
2	eter	5
3	acetato de etilo	6
Ø	fracción alcalóidica	

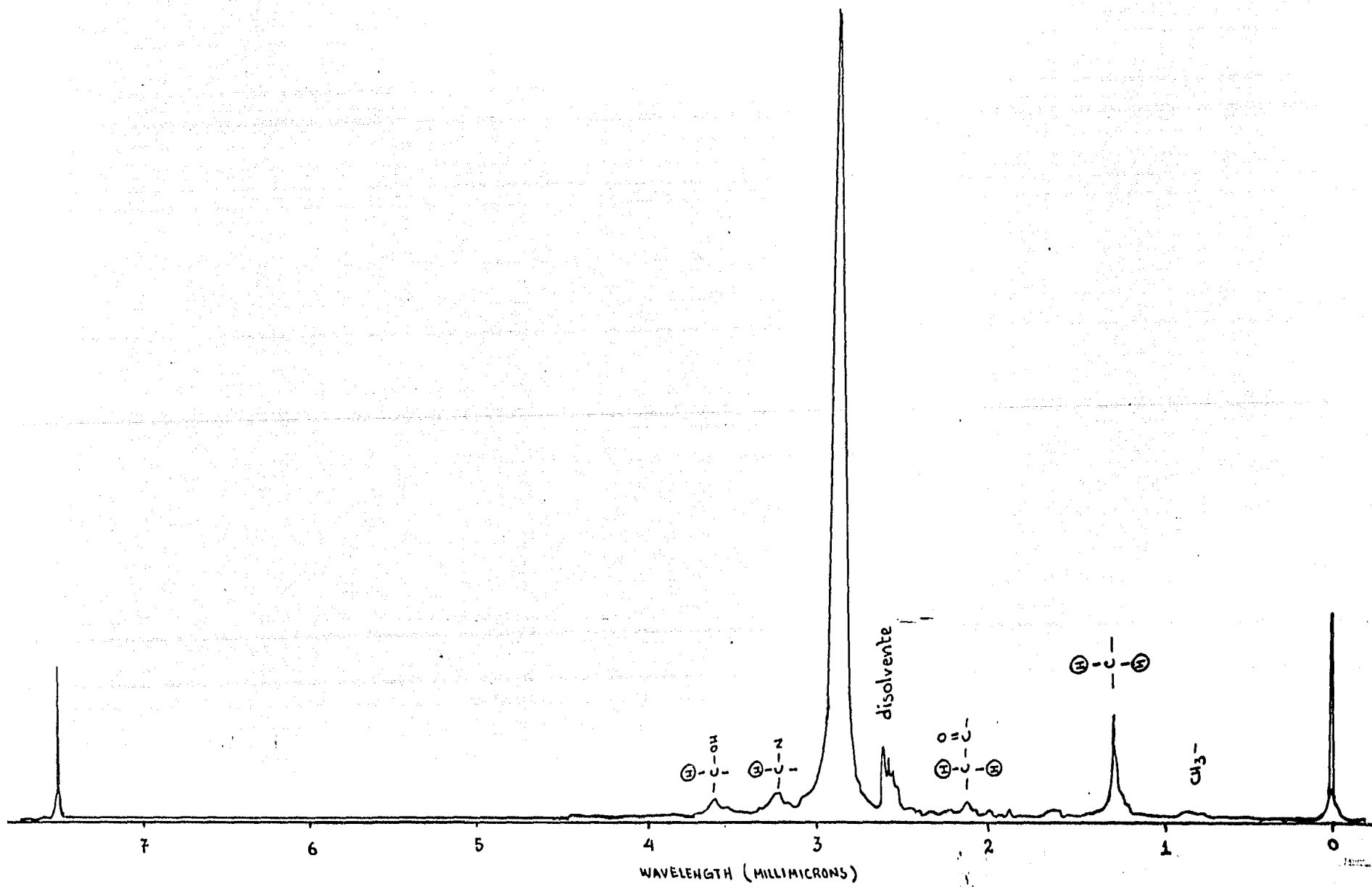
GRAFICA I.- ESPECTRO EN EL INFRARROJO DEL COMPUESTO A.



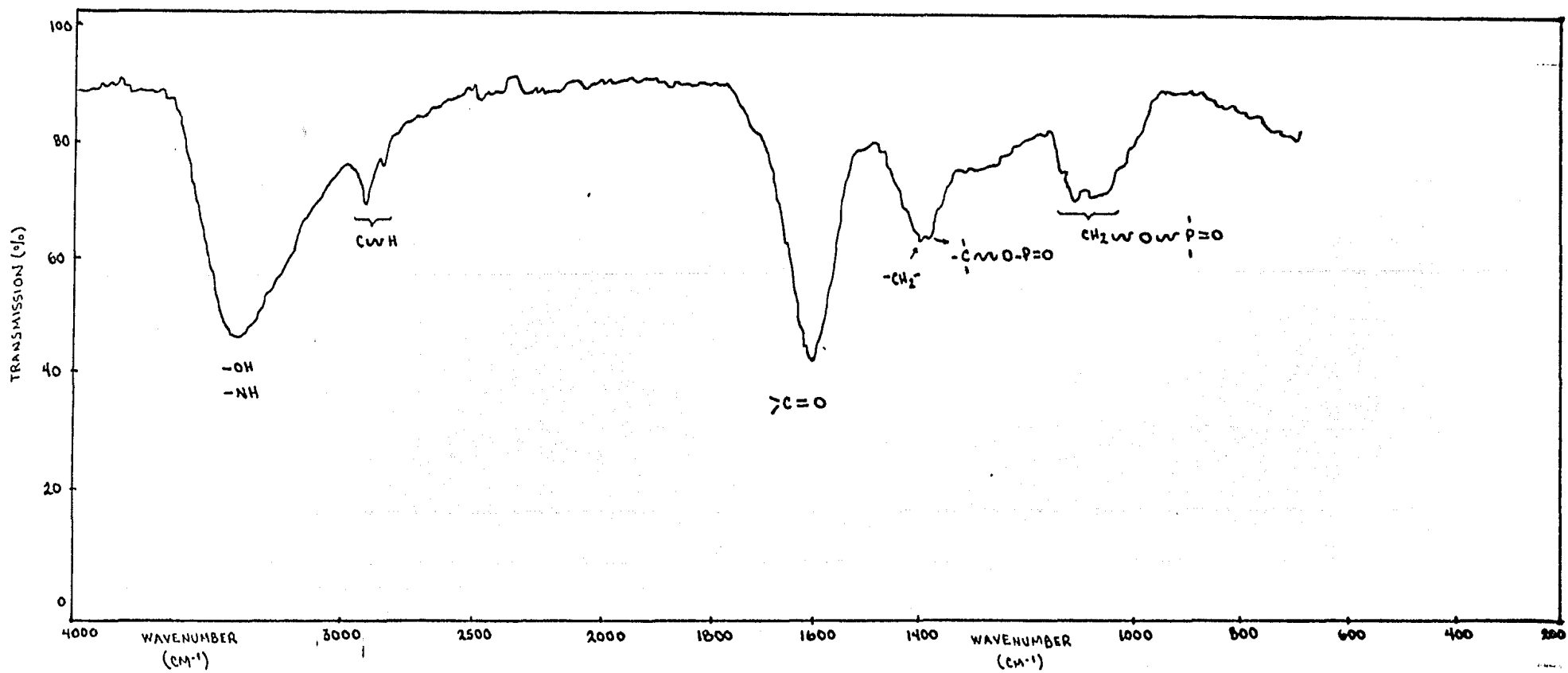
GRAFICA II.- ESPECTRO DE RMN DEL COMPUESTO A.



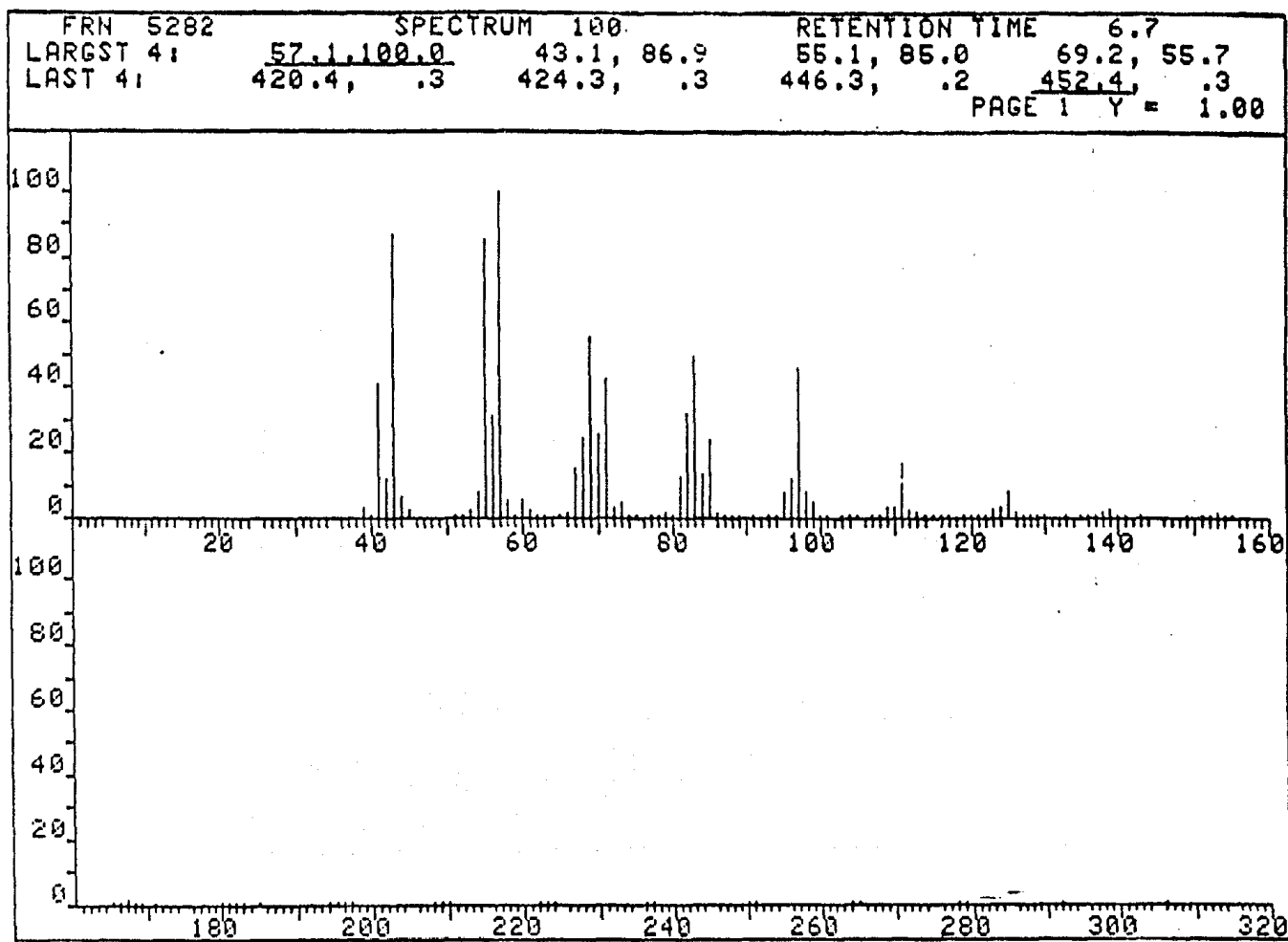
GRAFICA VI.- ESPECTRO DE RMN DEL COMPUESTO B.



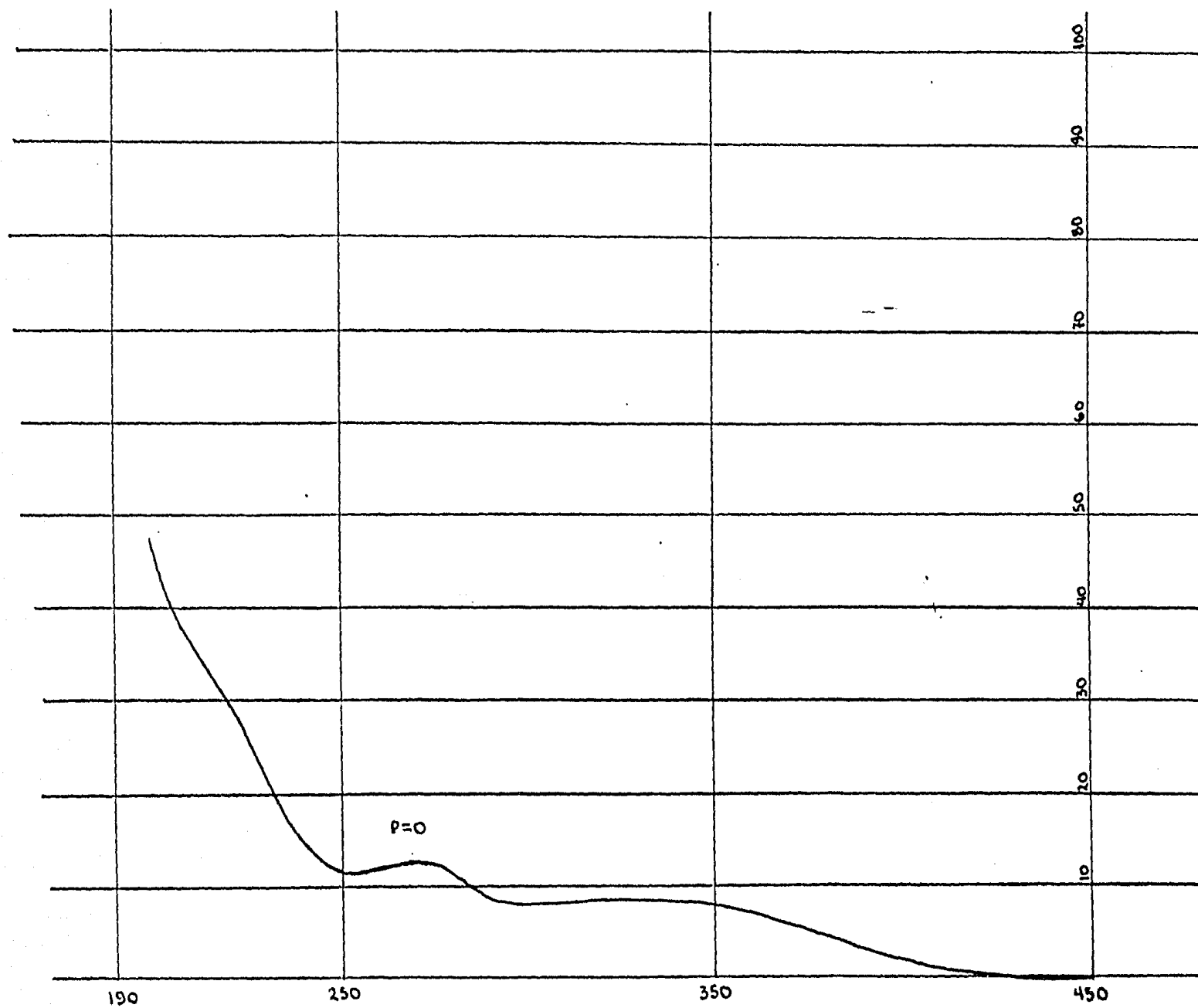
GRAFICA V.- ESPECTRO EN EL INFRARROJO DEL COMPUESTO B.



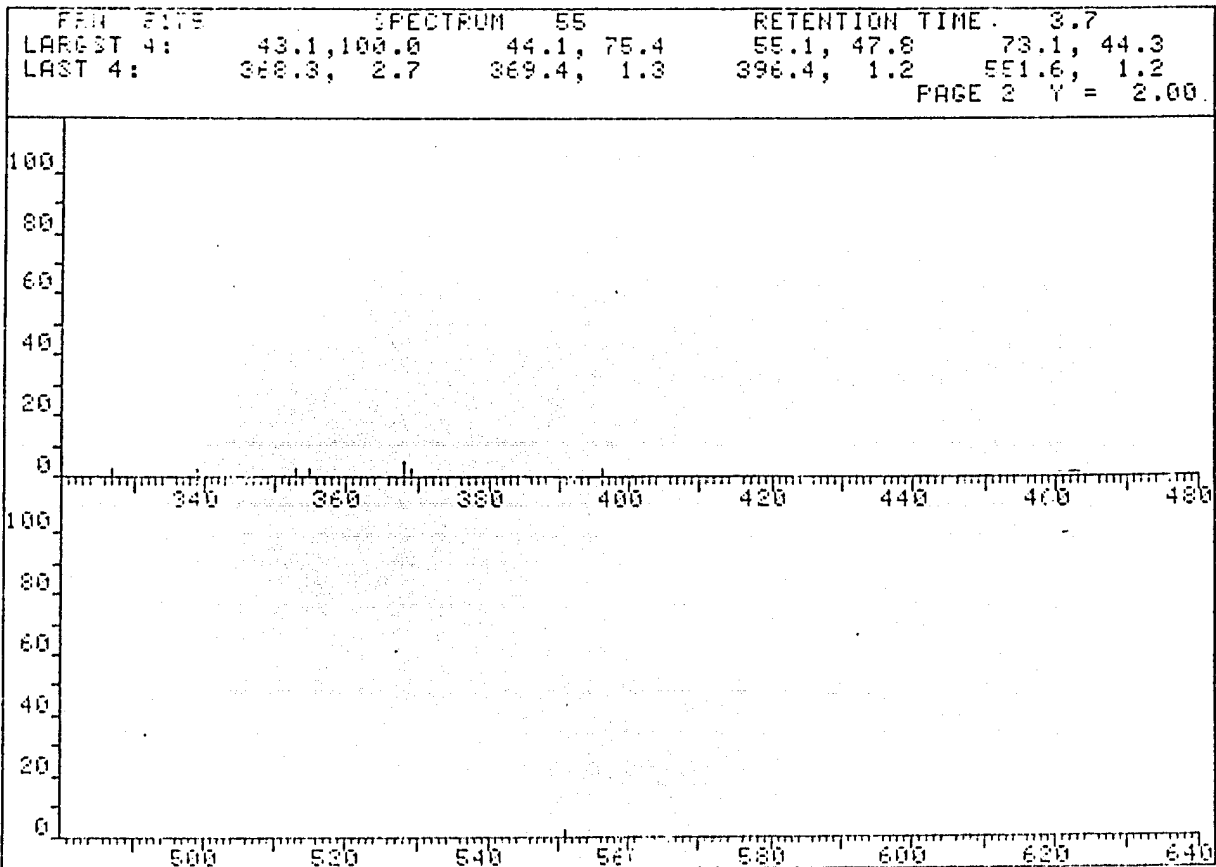
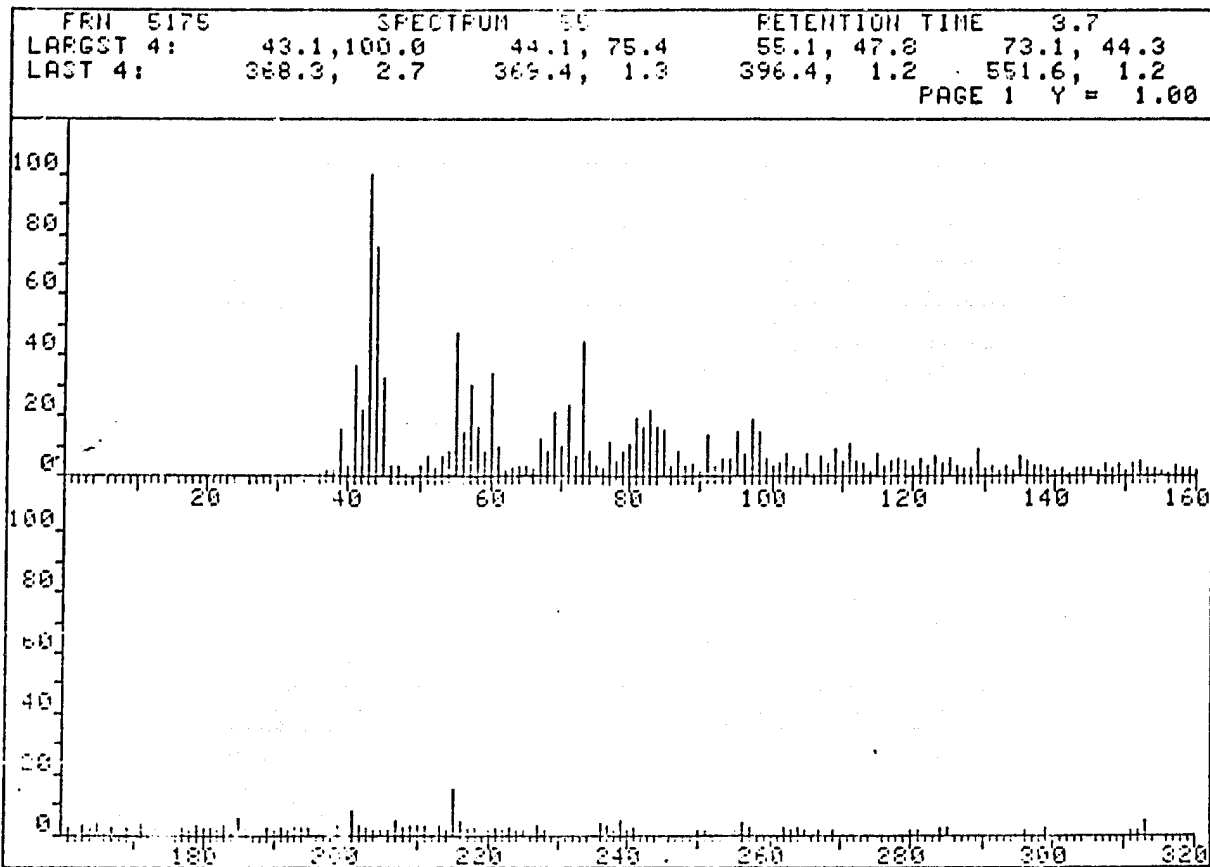
GRAFICA III.- ESPECTRO DE MASAS DEL COMPUESTO A



GRÁFICA IV.- ESPECTRO EN EL ULTRAVIOLETA DEL COMPUESTO B



GRAFICA VII.- ESPECTRO DE MASAS DEL COMPUESTO B.



DISCUSION

1. RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS

El empleo de disolventes de polaridad creciente durante la realización de la extracción selectiva, garantizó la obtención de la mayor parte de los compuestos químicos constituyentes de la muestra, en forma fraccionada de acuerdo con su polaridad.

Los rendimientos obtenidos para cada extracto fueron diferentes (Tabla I) , observándose el mayor en la extracción metanólica, con la que se obtuvieron 8.0 g de extracto, que representan un rendimiento de 9.2%; en tanto que el rendimiento inmediato menor obtenido fue para el extracto hexánico, que arroja un porcentaje de 4.5%, con un peso de 3.94 g. El extracto de etanol acuoso y el de acetato de etilo generaron rendimientos más bajos, siendo el primer caso de 3.2%, con un peso de 2.81 g, y el segundo 1.4%, con un peso de 1.21 g. La variación de estas cifras está relacionada con la cantidad de componentes de una determinada polaridad, existentes en la planta y que se extraen con el disolvente de polaridad similar.

Los rendimientos de los extractos y la polaridad de los disolventes con los que fueron obtenidos, fueron factores de peso para decidir la técnica a emplear para la separación realizada en cada uno de los casos.

2. EXTRACTO HEXANICO

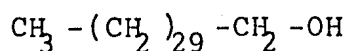
Compuesto A

El análisis espectrométrico (Gráficas I, II y III) del Compuesto A, obtenido del extracto hexánico por precipitación con acetato de etilo, indica que se trata de un alcohol graso de 31 átomos de carbono.

En el espectro de infrarrojo, se observan las bandas de absorción de la vibración longitudinal del grupo $-OH$ a 3400 cm^{-1} y de $C-H$ a 2955 , 2920 y 2847 cm^{-1} ; a 1463 , 1470 , 726 y 747 cm^{-1} las de deformación de metilenos y a 1377 la del metilo.

En el espectro de resonancia magnética nuclear, la señal para los protones del metilo se encuentra a 0.85 ppm, la de los metilenos a 1.27 ppm. A 1.60 ppm, está la de los protones vecinos al $-CH_2OH$; el protón del $-OH$ se encuentra a 2.6 ppm y los protones base del $-OH$ a 3.47 ppm.

El espectro de masas presenta la fragmentación típica de una cadena hidrocarbonada, con el fragmento más estable a $m/e=57$. El ión molecular M^+452 , corresponde a la fórmula $C_{31}H_{44}O$, P.M. 452, por lo que, y de acuerdo con todos los espectros, el alcohol tiene la siguiente fórmula desarrollada:



Cromatografía en columna

En cuanto a la columna cromatográfica, es importante señalar que el extracto hexánico fue el más adecuado para este tipo de separación, ya que el hexano es un disolvente de baja polaridad, que permitió un amplio gradiente de elución, con lo que se aseguró una buena separación de los componentes de la muestra, y que además arrojó un rendimiento adecuado para el empleo de esta técnica de separación.

De la columna cromatográfica se obtuvieron 26 grupos de fracciones, con variados aspecto y color: ceras, aceites, resinas y sólidos; sin embargo, el bajo rendimiento obtenido no permitió un análisis más a fondo de estas fracciones (Tabla III), pudiéndose observar que la fracción E₂ es la parte del Compuesto A que quedó en el extracto.

3. EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO

El bajo rendimiento de este extracto no permitió una separación por cromatografía en columna, sin embargo, como las pruebas para grupos de compuestos químicos realizadas pusieron de manifiesto la presencia de alcaloides (++++) (Tabla II), mediante extracción selectiva, se logró la separación de éstos, aunque en pequeña cantidad (66.6 mg; 5.5%, en relación al peso del extracto crudo), corroborándose su presencia mediante cromatografía en placa fina de gel de sílice (figura 6), en donde se aprecia una mancha de color naranja al revelar la placa con Dragendorff y la misma pero de color violeta para la

placa revelada con Van Urk. Las manchas no sombreadas corresponden a productos que se encuentran en menor cantidad y que, probablemente no se alcanzan a revelar con los reactivos de alcaloides, o bien, pueden ser productos que no pertenezcan a este grupo.

Respecto a los cristales que se obtuvieron, registran un punto de fusión superior a 300°C, son solubles en agua y dan reacción de sodio a la flama, por lo que se supone que se trata de una sal de sodio de algún ácido orgánico, que no es de naturaleza alcalóidica puesto que no dió reacción positiva para este grupo de metabolitos secundarios.

De los tres disolventes de extracción que fueron empleados, el éter resultó ser el adecuado, lo cual se comprobó en la placa delgada que se elaboró.

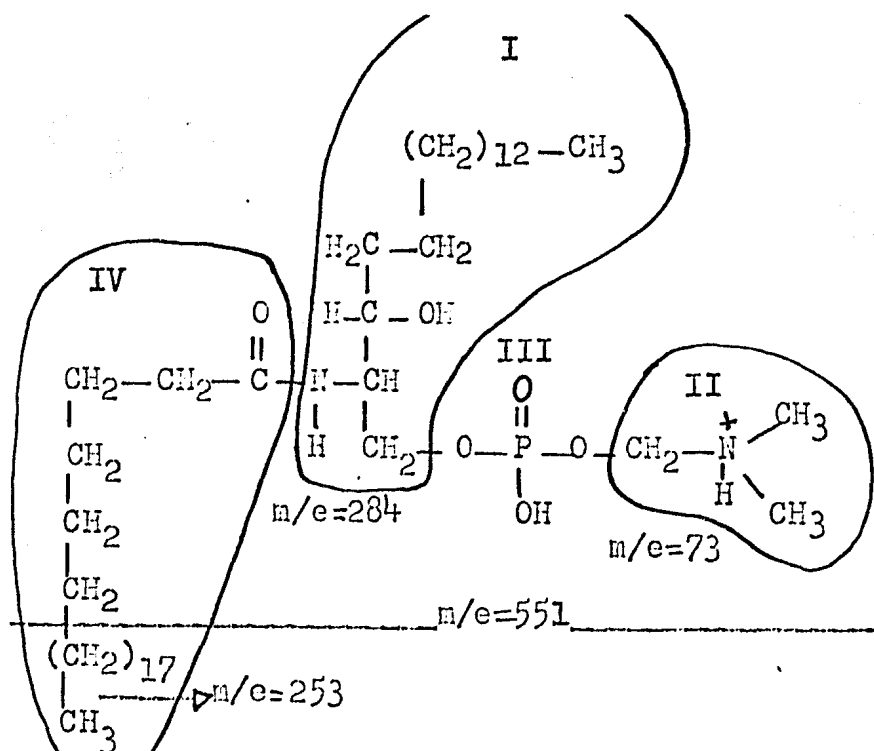
4. EXTRACTO METANOLICO

El Compuesto B, que se separó de este extracto por precipitación, presenta en cromatografía en placa fina de gel de sílice dos manchas, una principal -la más polar- y otra en menor proporción, como impureza. Como no pudo recristalizarse por su alta polaridad y la impureza detectada era mínima, se analizó sin mayor purificación.

La coloración amarilla del Compuesto B y su punto de fusión, hicieron pensar en la posibilidad de que fuese un flavonoide, por lo que se corrieron cromatografías en placa fina de gel de

sílice y en papel con tres sistemas diferentes (figura 5), cuyos perfiles muestran dos productos, uno principal y otro en huellas. Su R_f y su fluorescencia al ultravioleta no corresponden a este grupo de metabolitos.

Los datos del análisis espectrométrico (Gráficas I, II, III y IV), indican que se trata de una molécula de estructura compleja y concuerdan en todo para la de una dihidroesfingomielina, cuya estructura se describe a continuación:



Esta molécula está constituida por una unidad de dihidroesfingocina (I), una de colina (II), una de ácido fosfórico (III) y una de ácido lignocérico (IV).

En el espectro de ultravioleta hay una absorción a 270 nm que corresponde al grupo $-P=O$.

En el espectro de infrarrojo se encuentran absorciones correspondientes al grupo $-OH$ y $-NH$ (3400 cm^{-1}) de la dihidroesfingosina; a las vibraciones longitudinales $C-H$ (2900 y 2845 cm^{-1}) de las cadenas hidrocarbonadas; al grupo $C=O$ (1605 cm^{-1}) del enlace amida entre el carboxilo del ácido lignocérico y la amina de la dihidroesfingosina; a 1400 cm^{-1} , la banda de absorción de las vibraciones de deformación de los metilenos; a 1380 cm^{-1} la del grupo $-C-O-P=O$ y a 1110 y 1086 las correspondientes al grupo $CH_2-O-P=O$.

En el espectro de resonancia magnética nuclear, la señal de los protones de metilos se encuentran a 0.92 ppm ; la de protones metilénicos a 1.3 ppm ; para los protones del metileno α al grupo carbonilo la señal se refleja en 2.2 ppm ; a 3.3 ppm se encuentra la señal del protón base de la amina y a 3.7 ppm la del protón base del oxhidrilo, ambos grupos pertenecientes a la unidad de la dihidroesfingosina.

En el espectro de masas no se observa la señal correspondiente al ión molecular (803) debido a la inestabilidad de la molécula. El fragmento de mayor masa que se registra es el de $m/e=551$, que corresponde a la molécula con la cadena del ácido lignocérico fragmentada en 18 unidades metilénicas ($803-252=551$). Este fragmento de 18 carbonos se encuentra a $m/e=253$.

El fragmento de la esfingosina lo encontramos a $m/e=284$ y el de la colina a $m/e=73$.

5. EXTRACTO DE ETANOL ACUOSO.

Este extracto se separó con el fin de aislar saponinas esteroidales, reportadas en la bibliografía (Anzaldo y col., 1956) para el género; pero al realizar las pruebas correspondientes se obtuvieron resultados negativos; por lo que el estudio se dio por concluido (Tabla II).

Los resultados de este análisis químico para Jatropha malacophylla ponen de manifiesto la necesidad de que a futuro se realicen más estudios para la especie y el género en cuestión, a fin de contar con un banco de información más abundante, que al incrementar el conocimiento del grupo, incremente asimismo el conocimiento de la flora mexicana, cuyo aprovechamiento y manejo adecuados permitirán al país mantener la riqueza de sus recursos naturales.

VI

CONCLUSIONES

EXTRACTO HEXANICO.

Se aisló y caracterizó un alcohol graso de 31 carbonos y se separaron por cromatografía en columna dos resinas, dos productos sólidos, varios aceites y ceras.

EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO

Se aisló la fracción alcalóidica, formada por un compuesto principal que pudo apreciarse en la cromatografía en palca fina en gel de sílice.

EXTRACTO METANOLICO.

Se aisló un compuesto que se caracterizó como una dihidroesfin gomielina.

EXTRACTO DE ETANOL ACUOSO.

En este extracto, específico para saponinas esteroidales, no se encontró dicho grupo.

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) Anzaldo, F. et al. 1956. Screening of Philippine plants for steroidal sapogenins. *Philippine J. Sci.* (85):305.
- 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 (Cuphorbiaceae). *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) Guevara, F.P. 1988. Análisis químico comparativo de hojas y látex de cuatro especies de género Jatropha (Euphorbiaceae) Tesis. Facultad de Ciencias U.N.A.M.

- 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. Jatropholones A and B new diterpenoids from the roots of Jatropha gossypifolia.
- 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. Journ. of the American Chemical Society. 98(14):2295-2300.
- 20) Mc. Vaugh. R. 1945. The genus 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 aprecipating 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) Pharthasarathy, M.R., and K.P. Saradhi. 1984. A coumarino-lignan from Jatropha glandulifera. Phytochemistry. 23(4):867-869.
- 24) Porushothaman, K.K., Chandrasekharan., S. Cameron, A.F., Connolly, J.D., Labbé, C., Maltz, A., Rycroft, D.S. 1979 Jatropholones A and B, new diterpenoids from the roots of Jatropha gossypifolia (Euphorbiaceae) -crystal structure analysis of jatropholone B. Tetrahedron Letters (II):979-980.
- 25) Rosquete, C. y M.A. Morales. 1979. Componentes del latex de Jatropha acotinifolia Mill. var. palmata (wild) Mvell. Arq. Rev. Latinoameri. Quím. (10):35-36.
- 26) Subramaian, 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 Jatrophatrione. 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.