

44 2e)



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

USO DE LA ESPUMA FLEXIBLE DEL
POLIURETANO COMO ADSORBENTE EN
LA SEPARACION DE PRODUCTOS
NATURALES

TESIS CON
FALSA DE ORIGEN

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
MA. DE LA LUZ ESPINOSA COLIN

MEXICO D. F.

MARZO 1990.



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.

I N D I C E

INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES	3
USOS DE LAS ESPUMAS DE POLIURETANO	12
PARTE EXPERIMENTAL	17
DISCUSION Y RESULTADOS	26
CONCLUSIONES	38
BIBLIOGRAFIA	40
ESPECTROS	43

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

Para llevar a cabo un estudio fitoquímico es necesario aislar, separar y purificar los constituyentes químicos de las plantas.

Posteriormente se establecerá su fórmula estructural, con lo cual es posible estudiar si presentan o tienen alguna actividad biológica. Y si es así, llevar a cabo su síntesis y después desarrollar su potencial terapéutico en forma industrial.

Debido a la complejidad de las mezclas de productos que constituyen a los seres vivos, el Químico cuenta con diversos métodos para llevar a cabo su separación. Basados generalmente en sus propiedades fisicoquímicas como el punto de ebullición, punto de fusión, cristalización, coeficiente de partición, etc.

Sin embargo muchas veces estos métodos son insuficientes para lograr una buena separación.

A partir de los años cuarenta se han desarrollado los Métodos Cromatográficos, que con el paso del tiempo han ido evolucionando y perfeccionándose hasta llegar a los métodos actuales.

El método que más se utiliza es la cromatografía de adsorción en columna con lo cual se puede obtener desde una separación gruesa, hasta lograr una buena resolución.

Muchas veces dependiendo de la naturaleza de los compuestos no se llega a obtener la separación deseada, por lo tanto se tiene que recurrir al uso de otros métodos como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y de otras nuevas técnicas que se están desarrollando. En

la cromatografía de adsorción en columna la fase estacionaria que se utiliza depende de las características de los componentes de las mezclas.

Los adsorbentes más empleados en este tipo de cromatografía son sílica gel, alúmina, carbón activado, celulosa, celita, tonsil, etc.

El objetivo de este trabajo es probar que la Espuma Flexible del Poliuretano (E.F.P.) de deshecho, se puede usar como adsorbente barato para recuperar o separar más rápido los metabolitos secundarios de las plantas, que se están trabajando en este laboratorio del Instituto de Química de la U. N. A. M.

A continuación se describe el empleo de la espuma flexible del poliuretano de deshecho como adsorbente. En este caso se utilizó para recuperar algunos productos naturales, de las soluciones o aguas madres de las que ya no fué posible recuperar más producto aunque se utilizan los adsorbentes tradicionales.

Consideramos que los resultados obtenidos en los casos estudiados son excelentes.

Actualmente se sigue con este estudio para optimizar su uso así como para mejorar las condiciones de trabajo de la espuma flexible del poliuretano de deshecho en la recuperación de metabolitos secundarios.

A N T E C E D E N T E S

A partir de 1906 el botánico ruso M. S. Tswett trabajando con mezclas de pigmentos vegetales desarrolló una nueva técnica de separación a la que llamó cromatografía. Su técnica consistió en pasar la mezcla que se había de separar a través de una columna de adsorbente reducido a polvo fino. La mezcla se depositaba en la parte superior de la columna empezando a eluir la columna con un disolvente orgánico.

A medida que se desarrollaba el proceso de separación los diversos -- componentes de la mezcla eluían a diferentes velocidades que finalmente se separaban por completo y se podían recuperar en fracciones o haciendo salir la columna del tubo donde estaba contenida y cortando las zonas de los compuestos separados, ya que como eran pigmentos vegetales se formaban bandas coloridas por lo que eran fácilmente visibles, (1).

Posteriormente en 1938 N. A. Izmailov y M. S. Shraiber describen por primera vez la cromatografía en capa fina (2) T. U. Taylor y H. C. Urey -- iniciaron la cromatografía de intercambio iónico con zeolitas en 1938 (3), Samuelson en 1939 utiliza por vez primera resinas sintéticas de intercambio iónico en la separación cromatográfica, (4).

En 1941 A.J.P. Martin y R.L.M. Synge realizan el primer trabajo sobre la cromatografía de partición Líquido - Líquido y fué a partir de esta fecha que los métodos cromatográficos empezaron a desarrollarse vertiginosamente hasta llegar a las técnicas cromatográficas de alta eficacia.

La CROMATOGRAFIA puede ser definida como un método de separación de una mezcla de compuestos basada en las diferentes velocidades con que se mueve cada una de ellas, a través de una fase estacionaria cuando son -- arrastrados por una fase móvil.

FASE ESTACIONARIA.- Generalmente es un sólido poroso finamente pulverizado o bien un líquido. Las fases estacionarias sólidas más utilizadas son (ya sea en polvo o en forma de papel), sílica gel, alúmina, carbón activado, poliamidas, resinas, polímeros derivados del dextrano, saphadex, elulosa, etc.

FASE MOVIL.- Es un fluido en movimiento que arrastra los componentes de la mezcla a través de la fase estacionaria. Se le da el nombre -- también de eluyente y puede ser un líquido o un gas.

Por lo general la velocidad de desplazamiento de cada componente de penderá de la afinidad que tenga con cada una de las fases, es decir sal drán primero aquellos componentes que tenga afinidad por la fase móvil y quedarán más retenidos los que tengan afinidad por la fase estacionaria.

La Cromatografía se puede clasificar de acuerdo al soporte y al mecanismo utilizado para llevarse a cabo la separación como:

I.- Los que utilizan Fase Estacionaria Sólida

A.- Sistemas Planares: Cromatografía en Papel

Cromatografía en Capa Fina

B.-

Cromatografía en Columna

I.- Cromatografía en Papel. La fase estacionaria es sólida, se -- utilizan hojas grandes de papel con un cierto grosos (0.3 - 0.8 mm.) para que se pueda adsorber una cierta cantidad de muestra para los méto-

dos preparativos. El papel más utilizado como soporte es el Whatman No. 3 la elución se realiza en cámaras herméticamente cerradas. De acuerdo al tipo de elución se clasifican en:

-Cromatografía Ascendente.- El disolvente asciende a través del pa pel por acción capilar, a medida que la fase móvil atraviesa la gota de muestra, se produce una distribución Líquido - Líquido que es la base de todas las separaciones por partición.

-Cromatografía Descendente.- Se suministra el eluyente por la parte superior del papel, que se encuentra colgado. El eluyente avanza por ca pilaridad y gravedad, siendo más rápida que la ascendente.

-Cromatografía Radial.- Se emplea papel filtro circular en donde la muestra se aplica en el centro del papel que se superpone en posición ho rizontal contra una fuente que contiene el revelador. El movimiento radial del disolvente en el disco produce anillos concéntricos.

II.- Cromatografía en Capa Fina. Se utilizan placas, generalmente de vidrio sobre las cuales se extiende una capa de soporte sólido (sílica gel, celulosa, aluminio, etc.), de un grosor de 1 mm. y de 1 cm. en el caso de la cromatografía preparativa, aunque la cromatografía se realiza generalmente como método cromatográfico de adsorción, es perfectamente factible efectuar la cromatografía en Capa fina de partición debido a que hay muchos sistemas de disolventes que originan un efecto com binado de partición - adsorción durante la separación.

III.- Cromatografía Centrífuga, en Capa Fina. Esta técnica se basa en el uso de la fuerza centrífuga para la elución, se utilizan placas circulares de vidrio o aluminio presentando un orificio en el centro

donde es adaptado a la centrifuga. La muestra es aplicada a 2.5 cms. del centro y se introduce en el eluyente con el flujo constante a través de un dispositivo, se cuenta con un motor que hace girar la placa de 500 a 700 r.p.m. La muestra eluye en bandas concéntricas por capilaridad al ser arrastradas por el eluyente y por la fuerza centrífuga a que están sometidas con el giro de la placa efectuándose la separación en 35 min. --- aproximadamente.

IV.- Cromatografía en Capa Fina en Dos Dimensiones.-

La primera aplicación de este método fué hecho por Kirchner (5). Se utilizan placas de vidrio aplicando la muestra en una esquina de la placa eluyéndose de manera usual, se elimina el disolvente y se pone en un segundo disolvente eluyéndose la placa en dirección perpendicular con respecto a la primera elución utilizando un segundo disolvente para efectuar la separación de los componentes no separados.

B. I.- Cromatografía en Columna.- El proceso de elución es un equilibrio de distribución del soluto entre la fase móvil y la superficie sólida de la fase estacionaria, esto es debido a la diferencia de las fuerzas de adsorción del soluto entre la fase estacionaria y la fase móvil, - siendo éstas fuerzas de Vander Waals. En muchas ocasiones debido a una fuerte adsorción o retención del soluto es necesario aumentar la polaridad del eluyente en forma constante y uniforme con lo cual se logra un incremento de solubilidad del soluto en la fase móvil.

Durante la elución podemos mantener constante la composición del eluyente (elución isocrática), o bien ir variando su composición para aumentar o disminuir la polaridad (elución en gradiente). La separación va a depender de varios factores:

- Composición y flujo de la fase móvil.
- Tipo y tamaño de partícula de la fase estacionaria.
- Temperatura de trabajo.
- Presión

B. II.- Cromatografía Flash.- Se basa en la utilización de un gas normalmente N_2 , a presión para forzar el paso del eluyente a través de la columna. La presión de trabajo es ligeramente superior a la atmosférica.

Se utiliza una columna cromatográfica clásica cuya parte superior lleva un embudo que actúa como reservorio del eluyente, el tapón del embudo está sustituido por un controlador del flujo el cual regula la presión de trabajo.

Como fase estacionaria se utiliza sílica gel con un tamaño de partícula 0.040 - 0.063 mm. El montaje de la columna se hace en seco, seguidamente se agrega el eluyente y se empieza a regular la presión haciendo pasar el eluyente hasta que la columna llegue al equilibrio.

Se recogen fracciones de 30 - 50 ml. que se van analizando por cromatografía en capa fina para seguir la separación.

B.III.- Cromatografía de Alta Presión HPLC.- Las altas presiones con que se trabaja en este sistema requieren de un aparato más sofisticado en su diseño.

Teniendo en cuenta su polaridad en relación con el de la fase estacionaria, se cuenta con dos tipos de cromatografía:

1.- Cromatografía en Fase Normal.- La fase estacionaria es más polar que la fase móvil. Las muestras polares quedan retenidas en la columna durante tiempos mayores que los de menor polaridad.

2.- Cromatografía en Fase Inversa.- La fase estacionaria es menos polar que la fase móvil, normalmente es agua o alcohol, en este caso si la muestra es no polar será mayor la retención por la fase móvil.

Se utiliza un tamaño de partícula muy pequeña (3 a 10 u) lo cual permite alcanzar una alta resolución.

B. IV.- Cromatografía de Intercambio Iónico.- La fase estacionaria tiene una superficie cargada iónicamente con carga contraria a la de la muestra. Esta técnica se usa con muestras iónicas o ionizables, cuando mayor sea la carga de la muestra más fuertemente será atraída hacia la superficie iónica y por lo tanto más tiempo tardará en ser eluida. La fase móvil es una solución buffer en la que el pH y la polaridad se utilizan para controlar el tiempo de elución.

B. V.- Cromatografía de Exclusión Molecular.- La fase estacionaria es de un material que posee poros de dimensiones moleculares comprendidos entre ciertos límites con lo que la muestra es retenida o filtrada según su tamaño molecular.

Estos materiales tienen la propiedad de permitir la entrada al retículo interno a iones y moléculas más pequeñas que el tamaño del poro -- del retículo y expulsar del interior a moléculas o iones mayores que el tamaño del poro.

J. Porath y P. Flodin introducen la cromatografía sobre geles permeables utilizando geles de dextrano. (6)

En 1962 J. C. Moore introduce los geles poliméricos macroporosos para la cromatografía sobre geles permeables (7).

A partir de 1970 se han publicado trabajos en donde se utiliza espuma flexible del poliuretano como soporte de columna en la cromatografía

Gel - Permeación, Cromatografía Líquido - Líquido y cromatografía de gases (8, 9, 10).

B. VI.- Cromatografía Líquido - Líquido.- El adsorbente sólido es reemplazado por una fase estacionaria que es un líquido. La muestra es distribuida entre las dos fases líquidas e inmóviles llevándose a cabo el fenómeno de partición. Este tipo de cromatografía ofrece importantes ventajas respecto a los sistemas cromatográficos que utilizan fase estacionaria sólida, se eliminan:

Problemas de adsorción.

Desnaturalización de productos de contaminación debida a la fase estacionaria.

La estabilidad química y física del poliuretano, junto con su tamaño de partícula homogénea, y la posibilidad de preparar columnas por su porosidad y funcionalidad, hacen de este material un soporte ideal para la cromatografía líquida. Algunos autores reportan la separación de dicloro-anilinas, así como también de acetona y O-aminofenol en columnas de Poliuretano de celda abierta (11).

B. VII.- Cromatografía Gas-Sólido.- En este tipo de cromatografía el gas es la fase móvil y la fase estacionaria es un sólido y por lo tanto se va a llevar a cabo el fenómeno de adsorción. La muestra se desplaza a través del sistema cromatográfico a velocidades determinadas por sus afinidades por la fase estacionaria. El gas portador es un gas inerte, por lo tanto, el coeficiente de distribución está determinado únicamente por la afinidad de la muestra por la fase estacionaria.

La aplicación de las microesferas del poliuretano de celda abierta sin carga para las separaciones cromatográficas gas - sólido fué sug

rida en 1970 (12, 13, 14). Se estableció que componentes no plares, por ejemplo los hidrocarburos alifáticos generalmente se separan sobre las - columnas de poliuretano sin carga dependiendo del punto de ebullición.

- OTROS TIPOS DE ADSORBENTES PARA CROMATOGRAFIA -

A partir de 1940 hubo un gran desarrollo de la industria de los polímeros y a la vez de la fabricación comercial de espumas principalmente de poliuretano. Las propiedades físicas de este último han permitido -- que se emplee en diferentes ramas de la industria y tenga múltiples aplicaciones en la vida diaria como en la fabricación de colchones, sillones, asientos para automóviles, etc.

Existen antecedentes de usos de materiales de geometría celular semejante al poliuretano.

Brunschwing (15) colocó en el sistema de destilación, una esponja - natural tratada con aceite de oliva y logró purificar etanol, esta experiencia es la precursora de la cromatografía de partición gas - líquido, - en donde la esponja se considera como el soporte sólido, el aceite de -- oliva la fase estacionaria y el vapor del etanol la fase móvil.

Esta técnica fué comprobada por Bayer (16) en 1962 y posteriormente se extendió su uso.

Durante la década pasada, las espumas plásticas (principalmente de Poliuretano) se han probado como soporte de cromatografía de extracción - en fase inversa (17) y en cromatografía gas - sólido y gas - líquido - - (18).

- CARACTERISTICAS DE LAS ESPUMAS FLEXIBLES DEL POLIURETANO -

Debido a la gran superficie que presentan y su estructura celular,

la espuma de poliuretano resulta muy adecuada como un adsorbente y como material de relleno para columnas.

La espuma de poliuretano presenta formas microesféricas teniendo -- una excelente capacidad para retener firmemente varias cargas de disolventes y agentes extractantes.

La espuma de poliuretano puede ser definida como un material de -- plástico en que una porción de la fase sólida está reemplazada por gas, -- formándose numerosas celdas. El gas al ser suministrado en fase conti-- nua produce un material de celda abierta o puede ser suministrado en fog ma discontinua. La espuma de poliuretano puede ser preparada como espumas flexibles o rígidas siendo preparadas a partir de una variedad de pol ióteres y poliésteres.

Generalmente las propiedades físicas de la espuma de poliuretano de penden del método por el cual han sido preparadas.

Las espumas rígidas son plásticos celulares, producidos por la reacci ón química de dos líquidos, un poliol y poliisocianato, requiriéndose además agentes espumantes, surfactantes y catalizadores ya que dependendo del tipo de isocianato y de polioles se tienen espumas con diferentes características.

Debido a sus propiedades hidrodinámicas, a su excelente adsorción y a la capacidad de recobrar su forma después de haberse sometido a un esfuerzo se le ha utilizado en procedimientos de separación.

Las espumas de poliuretano no son afectadas por agua, ácido clorhídrico (6M), ácido acético glacial (2M), hidróxido de amonio (2M), ácido sulfúrico (4M), ácido nítrico (2M), hidróxido de sodio (2M) y los disolventes orgánicos: petróleo ligero, benceno, tetracloruro de carbono, -

cloroformo, éter dietílico, éter diisopropílico, acetona, acetato de isopentilo y alcoholes. Sin embargo las espumas se disuelven en ácido sulfúrico concentrado, cloruro de arsénico (III) caliente y son destruidas con ácido nítrico concentrado y cambian lentamente a un color café a la luz ultravioleta (19) y se degradan a 180-200° C.

- OTROS USOS DE LAS ESPUMAS DE POLIURETANO -

Bowen (20) inició en 1970 la aplicación de las espumas para la absorción y recuperación de numerosos compuestos orgánicos e inorgánicos--provenientes de soluciones acuosas, iniciando con ésto muchas aplicaciones de las espumas de poliuretano.

Gesser et. al. (21) inicia el uso de las espumas de poliuretano de tipo polieter en columna para la extracción y recuperación de contaminantes orgánicos del agua.

La extracción de compuestos bifenilos policlorados (2-20ppm) se ha logrado pasando a través de una columna con espuma, con un flujo de 80-ml. $\text{cm}^2 \text{min}^{-1}$. utilizando como eluyentes acetona y hexano. Los cuales se concentran en un rotavapor determinando la concentración de estos --compuestos por cromatografía de gases.

Walezky et. al. (22) realizó estudios de adsorción para la recuperación de productos derivados del petróleo cuando éstos son derramados--en el agua, lográndose la purificación de ésta.

Empleó de 0.2 - 0.3 kg. de espuma por m^2 de superficie de agua contaminada con un tamaño de partícula de más o menos 1mm. Recuperando aproximadamente de 75 a 98% de productos derivados del petróleo.

El antimonio es un metal de interés comercial por lo que se han de

sarrollado métodos de recuperación. Valente I. y Bowen H. J. M. (23) - proponen un método para determinar la concentración de antimonio presente en el agua de ríos.

Este método de concentración de antimonio de aguas proveniente de ríos, fué realizado con espuma de poliuretano, con una solución al 1% de 1, 2-etanoditiol en benceno, y la recuperación de antimonio absorbido con acetona, siendo determinada por un análisis de espectrofotometría de absorción atómica.

Existen muy pequeñas cantidades de antimonio presente en estas -- aguas y necesariamente se tiene que llegar a una concentración determinada para poder ser cuantificadas mediante algún método analítico tal como la coprecipitación (24, 25), cocrystalización (26), liofilización (27), extracción con disolventes (28) y la generación de hidruro de antimonio, pero tiene un límite de aplicación. Estos métodos no son muy utilizados debido a la poca selectividad que presentan y a la interferencia o presencia de otros elementos. El intercambio iónico es el único método que puede adaptarse fácilmente para el antimonio concentrado a partir de grandes volúmenes de agua.

Se utilizaron muestras del río Tamesis filtrándose a través de un millipore de 0.45 mm. durante 10 minutos.

La columna cromatográfica con la cual se realizó la separación tiene las siguientes dimensiones (15mm. de diámetro X 12 cms. de longitud) y en la parte superior de la columna un embudo de separación para alimentar con el eluyente a la columna, ésta fué empacada con cubos de poliuretano de 5mm. los cuales fueron lavados con ácido clorhídrico (1M)-seguido de agua destilada, hasta que los lavados estuvieron libres de iones cloruro.

La espuma fué secada y posteriormente lavada con acetona, secándose con aire y se llevó a un equilibrio con una solución al 1% v/v de etano-ditiol en benceno hasta llegar a la completa saturación.

Se eluyó un litro de muestra y el flujo de la columna fué de 5 ml. por minuto con lo cual se logró la separación de antimonio usando una columna empacada con espuma de poliuretano. Además que el método resulta ser selectivo para el antimonio evitando la interferencia de otros iones como el ^{76}As , ^{203}Hg , que también son retenidos, pero no interfieren en la determinación de antimonio.

F. D. Hileman y R. E. Sievers (29) realizaron estudios sobre la preparación y propiedades de las columnas cromatográficas formadas por precipitación in situ de la espuma de poliuretano de poro abierto (OPP).

Las columnas se rellenan con el disolvente que contiene el monómero precursor de la espuma, ocurriendo después la polimerización. Posteriormente el disolvente se elimina de los poros del polímero. La microfotografía electrónica revela la consistencia de las esferas como son altamente uniformes con diámetros en el rango de micrones y de alta permeabilidad. La densidad de los poros de poliuretano precipitado varía entre un rango de $0.10 - 0.24 \text{ g/cm}^3$ dependiendo del cambio en las condiciones de polimerización, la óptima densidad es de 0.15 g/cm^3 .

Se han utilizado estas columnas rellenas para separaciones de diversos compuestos incluyendo alcoholes, quelatos, compuestos aromáticos, etc.

Se utilizaron columnas de vidrio con un diámetro de 4mm. interior, usando una jeringa para su llenado dejándose rotar por 18 hrs. en un cuarto a temperatura ambiente, asegurándose de la uniformidad de las es-

feras, eliminándose el disolvente a temperatura ambiente. Inmediatamente la columna es llevada al cromatógrafo de gases para acondicionarla a 100°C con flujo de gas por 3 horas, sin conectar al detector.

Se llegó a la conclusión que debido a la uniformidad en el tamaño de las esferas, la permeabilidad del monómero y las condiciones de reacción lo hacen un excelente soporte.

La permeabilidad que presentan las columnas de OPP pueden llegar a ser comparables con las de Cromosorb W.

La penetración de isómeros bifenilos policlorados (PCB) en los poros de la espuma del poliuretano (PPF), pasando un volumen de aire, fue investigado por C.G. Simón et. al. (30) por elusión de los isómeros bifenilos policlorinados a través de una columna empacada en secciones de 1 cm. de Espuma de Poliuretano.

Los isómeros fueron eluidos a través de la columna en distintas -- bandas y en orden decreciente a la volatilidad, la penetración de la -- banda máxima siendo lineal con el volumen de aire total.

Los volúmenes de retención para 7.6 cm. de diámetro por 15 cms. de largo para la columna de poliuretano fue de 1250 y 2700 m³ para 3,3' diclorobifenilo y 2, 4, 5- triclorobifenilo respectivamente.

Los resultados indican que efectivamente la columna de espuma de poliuretano retiene todos los compuestos bifenilos policlorados (PCB) - mezclados en un período de 24 hrs. con una muestra de 600 m³ de aire.

La aplicación de microsferas de poliuretano de celda abierta sin carga para separaciones cromatográficas gas - sólido, fue sugerido en 1970 (31, 32). Reportando que componentes no polares, por ejemplo hi-

drocarburos alifáticos, generalmente se separan sobre las columnas de poliuretano sin carga dependiendo del punto de ebullición.

A partir de 1970 se han descrito trabajos en donde se utiliza espuma flexible del poliuretano como soporte de columnas para cromatografía líquida y cromatografía de gases (33).

La estabilidad física y química del poliuretano y la posibilidad de preparar columnas por su porosidad y funcionalidad, hace este material un soporte ideal para la cromatografía líquida. Algunos autores reportan la separación de dicloro-anilinas, así como también acetona y orto-amino fenol en columnas de poliuretano de celda abierta (34,35).

PARTE EXPERIMENTAL

Se recolectó un lote de la planta *Loeselia mexicana* en la carretera México-Querétaro (Km. 57).

De este lote, las partes aéreas de la planta, secas y molidas - - - (500 g) se pusieron a macerar en metanol durante dos días a temperatura ambiente; esta operación se hizo dos veces más. Se filtró el disolvente y se concentró por destilación simple, obteniéndose el extracto semisólido de color café (50 g). Al que se le hizo pruebas de espuma y de Lieberman - Buchard para saponinas triterpénicas y resultando éstas positivas.

Una porción de este extracto se desengrasó en un sistema de extracción continua con hexano. El residuo se disolvió en etanol formando un precipitado el cual se eliminó por filtración y al evaporar el etanol -- quedó un sólido amorfo de color café.

Se realizó una hidrólisis ácida del sólido amorfo (5g) disuelto en etanol, se le adicionó HCl (2N) y se calentó a reflujo por 2 hrs., después se le adicionó una solución de NaOH (4N).

La solución resultante se extrajo con acetato de etilo que se trabajó en la forma usual, y se concentró.

Quedó un aceite (800 mg) que al agregarse acetona se formó un precipitado el que se purificó dando al producto II (30mg) el resto del aceite se fraccionó por cromatografía en columna en alúmina neutra. De las fracciones con hexano/AcOEt (7:3) se obtuvo un sólido (200 mg) que todavía se purificó por cromatografía en columna flash ($\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$) y se obtuvo un producto cristalino que se recrystalizó de hexano/éter etílico y finalmente de acetonitrilo, obteniéndose de esta manera el cristal para el estudio de difracción de Rayos X para el producto I.

- SEPARACION CON LA ESPUMA FLEXIBLE DEL POLIURETANO -

Se pesaron 5 g. del extracto metanólico, se disolvieron en una cantidad mínima de metanol y se adsorbió en espuma flexible del poliuretano -- (EFP) eliminando el disolvente a temperatura ambiente, transfiriéndose a una columna de vidrio de 7.5 X 30 cms. de largo empacada con 100g. de *Espuma Flexible del Poliuretano limpia, empezando la elusión con hexano, -- mezclas hexano/AcOEt con aumento progresivo de este último hasta llegar a AcOEt/MeOH (1:1).

De las fracciones eluidas con AcOEt/MeOH (1:1) se obtuvo un sólido - de color café claro (3.5g), el cual se cromatografió en capa fina observándose, que es ésta la fracción en donde se encuentra la mezcla de saponinas triterpénicas.

Para poder llegar a la separación y la caracterización de ellas, se realizó una hidrólisis ácida.

En 10 ml. de una solución de HCl al 5% en etanol se disolvieron -- (0.835g) del sólido, la solución obtenida se puso a reflujo durante 15 -- min. e inmediatamente se le eliminó el disolvente se extrajo con acetato de etilo de la forma usual y se concentró quedando un aceite (0.1149g) -- que al realizar una cromatografía en capa fina se observa al compuesto I.

Para su purificación se procedió a realizar una cromatografía capa - fina sílica gel (preparativa) $\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ (1:1). Se extrajo de la sílica con acetato de etilo se concentró y recristalizó de acetonitrilo obteniendo un sólido cristalino, el cual se comparó por cromatografía en capa fina $\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ (1:1) con el compuesto I obtenido primeramente. Presentando el mismo Rf 0.70, punto de fusión 145-146°C y propiedades espectroscópicas.

* Agradecemos al Ingeniero José Luis Ramírez González y la Fábrica Central de Industrias, S.A. de C.V. por habernos proporcionado este material para la realización de esta Tesis

-Compuesto I

UV λ max. a 214 nm. (13000) de doble enlace.

I.R. (CHCl₃) max = 3600 OH, 3010, 1648, 635 (C-H insaturado), 1736- (carbonilo de éster), 1457 y 1389 (gem dimetilo)

¹H - RMN (CDCl₃) = 6.09 (s, ancho, H-1), 5.39 (d,d, 1H, H-16) 5.29 (s, ancho de H-12), 3.76 (d,d, H-28), 3.75 (d, H-21), 3.20 (d,d, - H-3), 2.02 y 2.0 (2s, metilos de acetatos), 1.80 (m, 3H metilo vi nílico), 1.30 a 0.80 (7 s, metilos).

E.M. m/z M⁺ 657 m/z 639 (M⁺-H₂O) m/z 597 y 473 de fragmentos carac terísticos de compuestos con esqueleto del oleanano y con doble li gadura en el C-12.

-Compuesto II

I.R. (CHCl₃) max = 3600-3500 OH, 2950-2900 (C-H saturado), 1645 -- (C=C), 1450 (C-H).

¹H-RMN (CDCl₃) = 5.25 señal H-12, 3.25 (señal que desaparece con - agua deuterada), 2.65 (señal para H-26), 1.0-0.8 (7 s metilos).

E.M. m/z M⁺ 490, 472 (M⁺- H₂O), 272 - 208 señales características para C-H.

Compuesto II con punto de fusión 278°C- 280°C, que analizó para - C₃₀H₅₀O₅.

- PREPARACION DE LA ESPUMA FLEXIBLE DEL POLIURETANO -

La espuma flexible del poliuretano que se utilizó como adsorbente, es de desecho de la Fábrica Central de Industrias, S. A. de C. V., que se dedica a construir mobiliario a base de espuma flexible del poliuretano, se nos proporcionó para realizar este trabajo de Tesis.

Para poder usar la espuma flexible del poliuretano como adsorbente, se somete a un tratamiento previo para facilitar su uso, ya que es muy importante que se encuentre limpia para evitar alguna contaminación de los productos que se están separando.

PRIMERAMENTE:

- Se cortaron en pequeños trozos las placas de espuma flexible del poliuretano (EFP).

- En una licuadora con acetona se molieron a alta velocidad obteniéndose así un producto lo más homogéneo posible.

- Este se puso en un embudo Buchner en donde se le hizo una serie de lavados con varios litros de disolventes tales como: hexano, acetato de etilo, metanol y agua.

Anteriormente para lavar la EFP se ponía en una columna de vidrio y se le hacía pasar a través de ella varios litros de estos disolventes observándose de esta manera que no se llegaba a tener completamente limpia la EFP, por lo tanto se optó por realizar esta operación.

- Se dejó secar al vacío la EFP perfectamente.

De esta forma se obtuvo la EFP libre de ceras y otras impurezas que son arrastradas por los disolventes.

También se contó con EFP que tenía mayor tiempo de haber sido fabri

cada, presentando una coloración amarillo fuerte, a la cual se le realizó el mismo tratamiento para su limpieza.

Ambas EFP fueron usadas como adsorbentes en la separación de productos que ya eran imposible de obtenerlos por medio de recristalización o con los adsorbentes tradicionales como se describe enseguida.

- SEPARACION DE ACIDO AMBROSICO -

6.0 g. del extracto de las aguas madres de la planta *Ambrosia cuma--nensis*, se disolvieron en una mínima cantidad de metanol y se adsorbieron en espuma flexible del poliuretano eliminando el disolvente a temperatura ambiente.

Se empacó en una columna de vidrio de 7.5 X 30 cms. de largo con 100 g. de espuma flexible del poliuretano añadiéndose el extracto adsorbido en una pequeña cantidad de espuma flexible del poliuretano libre del disolvente.

Se empezó a eluir con hexano y mezclas hexano-acetato de etilo con el aumento progresivo de éste último.

Las fracciones eluidas fueron de 0.5 litro cada una, de las eluidas con hexano/ AcOEt (8:2) se obtuvieron cristales de color blanco con punto de fusión 215 - 216°C de ácido ambrósico (482 mg), éste se comparó -- con ácido ambrósico puro por cromatografía en capa fina con acetato de etilo al 100% observándose, que ambos presentan el mismo Rf 0.60 hexano/ AcOEt (8:2) y el mismo punto de fusión. Se prosiguió a sacar más fracciones hasta agotar el producto. Al aumentar la polaridad del eluyente, no se encontró algún otro compuesto de interés.

SEPARACION DEL PIQUEROL Y TRINERVINA

10 g. de las aguas madres del extracto clorofórmico de la planta Pi queria trinervia, se disolvieron en una cantidad mínima de cloroformo, la cual se adsorbió en espuma flexible del poliuretano limpio.

La columna que se utilizó fue la misma que para el Acido ambrósico, se empacó y trabajó en las mismas condiciones.

De las fracciones eluidas con hexano (100%) se obtuvo un aceite de color amarillo con olor característico a un aceite esencial se continuó con la elusión de la columna.

De las fracciones eluidas con hexano / AcOEt (9:1), se obtuvo un sólido cristalino con punto de fusión 135 - 136°C (246 mg.), el cual se comparó por cromatografía en capa fina, hexano /AcOEt (1:1) con piquerol- (muestra pura) observándose que ambos tienen el mismo Rf 0.38 y el mismo punto de fusión.

De las fracciones eluidas con hexano /AcOEt (1:1) se obtuvo un sólido amorfo de color blanco con punto de fusión 195 - 196°C (187 mg.) que se comparó por cromatografía en capa fina, acetato de etilo (100%), con una muestra pura de Trinervina presentando el mismo Rf 0.31 y punto de fusión, se continuó con la elusión de la columna hasta agotar todo el producto.

SEPARACION DE RICININA

De las aguas madres del extracto agotado de la planta Ricino comunis que ya no cristalizaba, se pesó 5 g. del extracto etanólico, se disolvió en metanol y se adsorbió en una pequeña porción de espuma flexible del poliuretano eliminándose el disolvente a temperatura ambiente.

Las condiciones en que fué trabajado, el extracto son las mismas que los anteriores extractos. Empezándose la elusión con hexano y siguiendo con mezclas hexano / AcEOr con lo que primeramente se fué eliminando el aceite de ricino con un aumento progresivo de acetato de etilo.

De las fracciones eluidas con acetato de etilo (100%), se obtuvo un sólido cristalino que se recrystalizó de metanol con punto de fusión - - 201 - 202°C (87 mg) que se comparó por cromatografía en capa fina, AcOEt/ MeOH (8:2) con una muestra de ricinina, observándose que ambos presentan el mismo Rf 0.41 y el mismo punto de fusión.

A P A R A T O S

Las constantes físicas y espectroscópicas fueron determinadas en los siguientes aparatos:

- Los espectros de Infrarrojo se determinaron por los Químicos Josefi na Espiñeira Cortizas y Misael Torres Hernández, en un Espectrofotómetro - Perkin Elmer 283 B y un Perkin - Elmer 681, en solución de cloroformo o en suspensión de nujol, las unidades están dadas en cm^{-1} .

- Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno $^1\text{H-RMN}$, se determinaron por los Químicos Jorge Cárdenas Pérez y Rubén Gaviño Ramírez, en un aparato Varian FT-80 y 20 MHz; en solución de cloroformo, dimetil sulfóxido o mezcla de ambas empleando como referencia interna tetrametil silano (TMS). Los desplazamientos químicos se indican en partes por millón (ppm), la multiplicidad de las señales se indican con las siguientes abreviaciones. s. singulete, d doblete, dd doblete de doblete y m múltipleto.

- Los espectros de masas, fueron determinados por el Químico Luis Velazco Ibarra y el Q. José Federico del Río Portilla, en un espectrofotómetro Hewlett-Packard 5985 B, por impacto electrónico o por ionización química, las unidades están dadas en masa sobre carga (m/z).

- El desarrollo de reacciones y pureza de productos se determinaron mediante cromatografía en capa fina de sílica gel F 254 Merck de 0.25 mm. de espesor empleando como revelador sulfato cérico al 1% en un ácido sulfúrico 2N. Para la purificación de los productos se usó también cromatografía en placa preparativa F-254 Merck de 2mm. de espesor.

DISCUSION Y RESULTADOS

Dentro del estudio sistemático de las plantas de la flora Mexicana que se está desarrollando en este laboratorio del Instituto de Química de la U.N.A.M., se han aislado y caracterizado algunos metabolitos secundarios como el ácido ambrósico (36), el piquerol (37), la trinervina (38), la ricinina, los componentes de la planta *Loeselia mexicana* y algunos otros.

A estos compuestos se les ha encontrado que tienen cierta actividad biológica y que para continuar con este estudio químico se requiere de una mayor cantidad de ellos. Debido a esto se está tratando de aumentar la eficacia de su obtención y purificación, por lo cual se decidió desarrollar un método sencillo, barato y que se pueda realizar en cualquier laboratorio (ver parte experimental).

Con anterioridad en el laboratorio se realizó el estudio de la planta *Castilleja tenuiflora* (Scrophulariaceae) (39), y se hizo un estudio comparativo del uso de la espuma flexible del poliuretano, con el empleo de carbón activado - celita para lograr una primera separación de las mezclas complejas de los compuestos polares que caracterizan a las plantas de la familia Scrophulariaceae, es decir los Iridiodes.

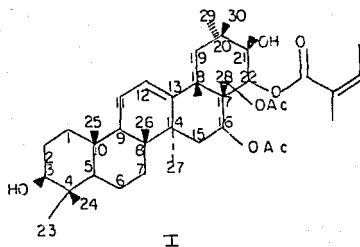
Se concluyó que usando la espuma flexible del poliuretano se tiene un método más barato y rápido de separación; observándose que si existen clorofilas en los extractos de las plantas el método pierde eficacia, por lo que es necesario eliminarlas previamente.

Lo anterior nos motivó a continuar con este trabajo por lo que decidimos estudiar la planta *Loeselia mexicana* de la familia Polemoneasea. Esta planta se conoce con los nombres vulgares de espinosilla, chuparro

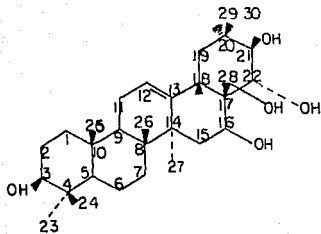
sa, quinchile, etc., que dentro de la medicina popular se le ha atribuido diferentes propiedades tales como: diurético, purgativo, emético y antipirético. Los antiguos habitantes del Valle de México la emplearon como jabón moliéndola hasta que forma espuma.

Anteriormente se había hecho la separación cromatográfica (SiO_2 y Al_2O_3) del extracto metanólico de las partes aéreas de esta planta, pero no fué posible aislar ningún producto homogéneo. Sin embargo se encontró que el extracto acuoso formaba una espuma abundante, al que se le hizo la prueba de Lieberman - Buchard para saponinas triterpénicas - siendo ésta positiva. Por lo que se hizo la hidrólisis ácida para poder aislar las saponinas o aglicones. De la mezcla de la reacción de hidrólisis, se obtuvo un aceite que se pudo separar por cromatografía en SiO_2 y Al_2O_3 , aislándose dos compuestos con fórmula estructural que se presenta por I y II (figura No. 1).

La determinación de la estructura I y II se hizo en base a la interpretación de los siguientes datos el compuesto I, cristales blancos recristalizados de acetonitrilo, con punto de fusión $145-146^\circ$ que analizó para $\text{C}_{39}\text{H}_{60}\text{O}_8$, presenta en el U. V. una máx. a 214 nm (13000) de doble enlace en el I.R. muestra a 3600 cm^{-1} banda correspondiente a grupos hidroxilo, señal de un doble enlace ($3010, 1648, 635\text{-cm}^{-1}$), además en la región de los carbonilos una señal de éster a 1736 cm^{-1} , y señal de gem dimetilo (1457 y 1389 cm^{-1}). El espectro de $^1\text{HRMN}$ presenta a 6.09 (s, ancho, 1H) que se atribuyó a un protón vinílico del angelato a 5.39 (d, d, 1H de H16), a 5.29 (s, ancho de H12), 3.78 (d, d, H- 28), 3.75 (d, H - 21), 3.20 (d, d, H-3), a 2.02 y 2.0 (2s, metilos acetatos), - 1.80 (m, 3H, metilo vinílico), de 1.30 a 0.80 ppm. (7s, metilos)



I



II

En el espectro de masas se observa el ión molecular M^+657 , muestra además los picos m/z 639 ($M^+ - H_2O$), m/z 597 y 473 de fragmentos característicos de compuestos con esqueleto del oleanano y con doble ligadura en el C 12.

En base a los datos anteriores se estableció que el compuesto I es un triterpéno pentacíclico con dos grupos oxhidrilo y tres ésteres.

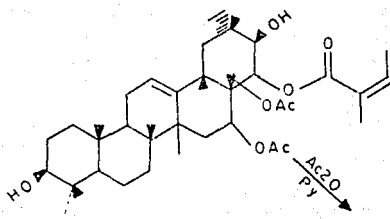
Para establecer la posición de los ésteres (dos acetatos y un angelato), se hicieron experimentos de resonancia en dos dimensiones. Un apoyo determinante en esto fué el estudio de difracción de Rayos X del compuesto I estableciéndose que es del tipo del Barringtonenol C.

Compuesto semejante a I son las Aescinas (saponinas), que tienen acción antiinflamatoria y son administradas oralmente para usos clínicos -- (40).

La hidrólisis básica de I ($KOH/EtOH/H_2O$), produjo un compuesto B, -- que resultó tener todas las características del Barringtonenol C y que -- también fué semejante al producto que inicialmente llamamos compuesto No. II.

Para confirmar esta correspondencia con la del Barringtonenol C se hizo la acetilación del producto de hidrólisis básica en las condiciones descritas en la literatura(41), obteniéndose el tetraacetato D; igualmente el compuesto B se peracetiló (fig. 2). Obteniéndose los datos espectroscópicos de los productos anteriores, estando de acuerdo con lo propuesto.

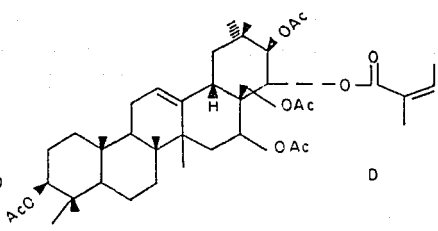
En un intento por aislar las saponinas directamente, decidimos usar la espuma flexible del poliuretano, para ésto se tomó el extracto metanólico desengrasado de la planta *Loeselia mexicana* (5g.), y se inició su se



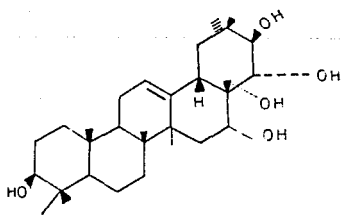
I

↓

KOH | EtOH | H₂O



D



B (II)

FIG (2)

paración o fraccionamiento adsorbiéndose en un poco de espuma, los 5 -- gramos disueltos en un volúmen mínimo de metanol, se dejó evaporar el - disolvente y se agregó a la cabeza de la columna de poliuretano limpio- con que se había llenado la columna de vidrio de las dimensiones esta- blecidas.

Se empezó la elusión con hexano, obteniéndose fracciones de 0.5 li tros y continuando con mezclas hexano/ AcOEt con un aumento progresivo de éste último hasta llegar a AcOEt /MeOH (1:1).

De las fracciones eluidas con AcOEt/MeOH (1:1) se obtuvo un sólido de color café claro (3.5g) que por cromatografía en capa fina se obser- vó que es donde se encuentra la mezcla de saponinas triterpénicas. Para separarlas y caracterizarlas, se realizó una hidrólisis ácida. Para és- to el sólido anterior se disolvió en una solución de HCl al 5% en eta- nol, se calentó a reflujo durante 15 mín., y eliminó el disolvente, pos- teriormente se extrajo con varias porciones de acetato de etilo.

Se concentró el disolvente quedando un aceite, el cual se purificó por cromatografía en capa fina obteniendo un sólido que se recrystalizó de acetonitrilo, el cual se comparó por cromatografía en capa fina - - CHCl_3 /AcOEt (1:1) con el compuesto I obtenido previamente, presentando el mismo Rf 0.70 con punto de fusión $145 - 146^\circ\text{C}$ y las señales espec- - troscópicas concuerdan con las ya descritas.

Para continuar con este estudio decidimos tratar las aguas madres- que ya no cristalizaban de los productos, que se describen en seguida.

A manera de comparación en la primera parte explicaremos la forma en que se obtienen los productos Nos. 1, 2, 3, 4 y en seguida lo que - sucede al usar la espuma flexible del poliuretano para obtener una ma- yor cantidad de productos y mejorar la eficiencia de su obtención.

Así pues iniciamos con el ácido ambrósico No. 1., la manera de obtenerlo es la siguiente, el extracto metanólico de la planta *Ambrosia cumanaensis* primeramente se le eliminó las clorofilas por precipitación y se realizó una extracción con acetato de etilo, quedando un residuo aceitoso, al cual se le hizo una extracción con una base (NaOH acuoso) formando la sal que es soluble en la fase acuosa, se aciduló la fase y se extrajo de nuevo con acetato de etilo. Se llevó a cabo la cristalización del ácido, sin embargo las aguas madres quedaron ricas en este compuesto, entonces se decidió usar la espuma flexible del poliuretano para poder separar un poco más de este compuesto realizándose de la siguiente manera:

El extracto de las aguas madres se disolvió en una cantidad mínima de metanol y se adsorbió en una porción de la espuma flexible del poliuretano, transfiriéndose inmediatamente a la columna con hexano y mezclas hexano/ACOEt, con un aumento progresivo de éste último y sacando fracciones de 0.5 litros.

De las fracciones eluidas hexano/AcOEt (8:2), se obtuvieron unos cristales de color blanco con punto de fusión 215 - 216°C que se comparó por cromatografía en capa fina de acetato de etilo al (100%) con una muestra pura de ácido ambrósico, observándose que ambos presentan el mismo Rf 0.60 hexano / AcOEt (8:2) y el mismo punto de fusión.

El piquero No. 2 y la trinervina No. 3, se obtienen de la siguiente manera. A la planta molida primeramente se le extrae con hexano, con lo cual se le eliminan las ceras, posteriormente se extrae con agua y a esta fracción acuosa se le hacen varias extracciones con cloroformo, obteniéndose un extracto el cual mediante una cristalización fraccionada se

llega a obtener el piquero y la trinervina.

Quedando las aguas madres ricas en estos dos compuestos resultando imposible su recristalización o separación.

Para realizar la separación con la espuma flexible del poliuretano se siguió la misma metodología que para el ácido ambrósico, comenzando la elusión con hexano y mezclas hexano/AcOEt.

De las fracciones eluidas con hexano/AcOEt (9:1) se obtuvo un sólido cristalino con punto de fusión 135-136°C, el cual se comparó por cromatografía en capa fina hexano/AcOEt (1:1) con piquero A observándose que ambos presentan el mismo Rf 0.38 y punto de fusión.

Se continuó con la elusión y de las fracciones eluidas de hexano/AcOEt (1:1) se obtuvo un sólido con punto de fusión 195-196°C, el cual se comparó por cromatografía en capa fina con Trinervina presentando ambos el mismo Rf 0.31 y el mismo punto de fusión.

Para la obtención de la Ricinina primeramente se realiza la extracción del bagazo de la semilla de la planta Ricino comúnis por extracción continua (Soxhlet) con etanol. Se obtiene el extracto etanólico, el cual se extrae varias veces con hexano para eliminar el aceite de Ricino y posteriormente también eliminar los azúcares precipitándolos con acetona. Se evaporó la acetona quedando el extracto, el cual se induce a la cristalización para obtener la ricinina con metanol. Quedando las aguas madres ricas en éste compuesto, resultando difícil ya de cristalizar.

Para la obtención de la ricinina con la espuma flexible del poliuretano se sigue el mismo procedimiento que en los anteriores productos- (ver parte experimental).

Se empezó la elusión de la columna con hexano con lo cual se logró eliminar el aceite de ricino que impide que recristalice la ricinina.

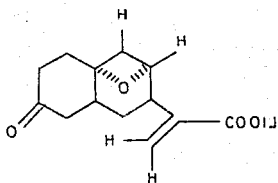
Se siguió eluyendo con mezclas hexano/AcOEt con un aumento progresivo de ésta último.

De las fracciones eluidas con AcOEt al 100% se obtuvieron cristales, que se recristalizaron en metanol con punto de fusión 201 - 202°C - que se compararon por cromatografía en capa fina AcOEt/MeOH (8:2) con ricinina presentando ambos el mismo Rf.

De acuerdo a los resultados obtenidos para el caso de la planta -- Loeselia mexicana podemos establecer que la separación realizada con la espuma flexible del poliuretano es una separación primera o en grueso, - ya que con ésto eliminamos parte del extracto que no nos interesa y que puede enmascarar a los productos que deseamos separar.

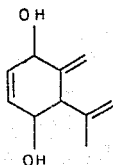
La separación que se realizó con la espuma flexible del poliuretano no se puede comparar con una separación hecha con sílice u otro adsorbente tradicional, ya que la sílice debido a sus propiedades tiene un tamaño de partícula estandarizada, obteniéndose así una buena resolución en la separación. En cambio la espuma flexible del poliuretano debido a sus propiedades hidrodinámicas no se puede obtener un tamaño de partícula uniforme, (como se describe en la parte experimental) cuando se muelen los trozos de poliuretano. Cuando se adicionó el disolvente a la columna, la espuma flexible del poliuretano tiende a expandirse o a contraerse dependiendo del disolvente, por ejemplo con acetona o acetato de etilo tiende a expandirse, por lo contrario con agua se contrae por lo que se eligió una columna de vidrio de un diámetro mayor. Observándose también que el disolvente no se retiene en la columna, sino que baja con mucha velocidad por esta razón se sacaron fracciones de 0.5 litros. También se probó tomar fracciones de menor volumen (30ml) como se ha

AC. AMBROSICO



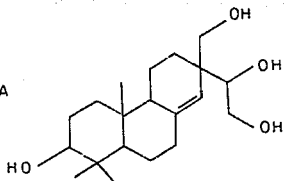
No. 1

PIQUEROL A



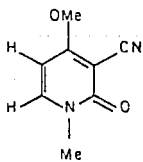
No. 2

TRINERVINA



No. 3

RICININA



No. 4

ce con la sílice con el fin de llegar a tener una buena resolución en la separación, pero se observó que no mejoraba; por lo tanto se siguieron - obteniendo fracciones de 0.5 litros en todas las columnas realizadas en este trabajo.

También se observó que al evaporar el disolvente de todas las fracciones, quedaba un residuo aceitoso de color amarillo, el cual no interfirió en la cristalización de los productos y se eliminó al filtrar los cristales.

Además se probaron dos tipos de poliuretano uno con mayor tiempo de fabricación y otro de fabricación reciente. Para probar si el poliuretano de mayor tiempo de fabricación se llegaba a tener la misma recuperación o presentaba alguna interferencia en la cristalización de los productos. El poliuretano que tenía mayor tiempo de fabricación fué cambiando su coloración hasta tornarse amarillo fuerte, debido a la exposición a la luz y al aire. Sin embargo se comparó con el otro poliuretano, llegándose a obtener los mismos resultados en ambos casos.

Funcionó perfectamente la columna con poliuretano en la recuperación de los productos de las aguas madres. Tomando en cuenta que estos extractos prácticamente ya eran de desecho, se llegaron a obtener buenos rendimientos: para el ácido ambrósico 8.03%, piquerol 2.48%, trinervina 1.87% y ricinina 1.74%.

Se puede considerar que estos rendimientos son buenos ya que se parte de un extracto en el que ha sido agotado el producto buscado, sabiendo que de un extracto original de la planta no se llega a obtener el 100% de este producto, generalmente están en muy bajas concentraciones del orden 0.01% al 2% en peso de la planta.

Lo cual es muy importante para nosotros debido a que se puede recu-

perar un poco más de producto, porque muchas veces no se llega a tener más planta para poder proseguir con la investigación de estos compuestos.

CONCLUSIONES

- 1).- Se logró probar que la Espuma Flexible del Poliuretano de desecho previo tratamiento se puede usar como adsorbente para la separación y recuperación de Productos naturales.
- 2).- Este método de separación resultó muy útil para recuperar algunos principios activos (incristalizables) de las aguas madres de las plantas previamente estudiadas, lo que mejoró su rendimiento de obtención. Esto es importante para probar la actividad biológica de éstos ya que se requiere de cantidades apreciables de los mismos.
- 3).- La espuma flexible del poliuretano aparentemente es inocua, no causa reacciones de descomposición de los metabolitos secundarios. Puesto que también las aguas madres se trataron de separar usando como adsorbentes sílica gel y alúmina, por este método no se logró recuperar metabolitos puros.
- 4).- Por la forma en que se realizó la molienda y el lavado de la espuma flexible del poliuretano y a sus características hidrodinámicas las partículas no son homogéneas, lo que no permitió determinar su tamaño de partícula, pero se llega a tener una gran superficie de contacto.
- 5).- El flujo del disolvente a través de la columna de la espuma flexible del poliuretano es muy rápido, comparándolo con la sílica gel y la alúmina.
Se requiere del empleo de grandes volúmenes de disolvente (1 li

tro) por fracción, observándose que a volúmenes de disolventes menores por fracción, no se obtienen mejores resultados.

Se emplearon mezclas de disolventes de polaridad creciente desde hexano hasta agua.

- 6).- La espuma flexible del poliuretano que se utilizó es de desecho de la fábrica que lo proporcionó por lo que resulta sumamente barato - y su empleo es prometedor.

Por lo que se espera que otras personas lo empleen y se incremente su uso en otras separaciones. En nuestro laboratorio se siguen bugcando otras aplicaciones.

- 7).- En base a los resultados obtenidos se confirmó la estructura del -- compuesto I (triterpeno pentacíclico con dos grupos hidroxilos y -- tres ésteres), siendo éste el principio activo de la planta Loeselia mexicana.

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

- 1.- Stock R. y Rice, Chromatographic Methods Vol. 1, 3-15 (1980)
- 2.- Pelick N., Bollinger H. R. y Mangold H. K., Advances in Chromatography Vol. 3, 85-118 (1966).
- 3.- Taylor T. I. y Urey H. C., J. Chem Phys., Vol. 6 429-438, (1938).
- 4.- Samuelson O., Anal. Chem. Vol. 116,328 (1939).
- 5.- Kirchener J. G., Miller J. M. y Keller J. G., Anal. Chem Vol. 23 - - 426, (1951).
- 6.- Porath J. y Flodin P. Nature (Londres) Vol. 183, 1657-1659, (1959).
- 7.- Moore J. C. Journal Polymer Sci. A2 835-843 (1964).
- 8.- Kornbau N. D. y Ziegler D. C., Anal. Chem. Vol. 42 1290 (1970).
- 9.- Hasen L. C. y Sievers R. F. Journal Chromatography Vol. 99, 123 (1974).
- 10.- Ross W. y Jefferson R. T. Journal Chromatography, Sci. Vol. 8, 386 - (1970).
- 11.- Hileman F. D., Sievers R. E., Hess G. G. y Ross W. D. Analy. Chem 45, 1126 (1973).
- 12.- Braun T. y Farag A. B. Analytical Chem Acta Vol. 73 301 (1974).
- 13.- Ross W. D. y Jefferson R. T. Journal Chromatography. Sci Vol. 8, 386, (1970).
- 14.- Schecko H. y Bieber O. Chromatography Vol. 4, 109, (1971).
- 15.- Braun T. y Farag A. B., Analytica Chimica Acta Vol. 99, 1-36, (1978).
- 16.- Bayer E. Gas Chromatographic 2 End p 4 Springer. Verlag Heidelberg (1962).
- 17.- Braun T. y Farag A. B. Talanta. Vol. 22, 699 (1975).

- 18.- Braun T. y Farag A. B. Extraction Chromatography (Amsterdam) (1975).
- 19.- Moody G. J. y Thomas J. D. R. The Analyst Vol. 104 1-15, (1979).
- 20.- Bowen H. J. M., J. Chem Soc. Vol. 8, 1082-1085 (1970).
- 21.- Gesser H. D. Achow F. C. y Reinke J. Anal. Letters Vol. 4, 883, - - (1971).
- 22.- Walezyk A. Waladyslam E. et.al Chemical Abstracts Vol. 103, 5599, (1985).
- 23.- Valente y Bowen H. J. Analytica Chimica Acta Vol. 90, 315-318, (1977).
- 24.- Noddack I. y Noddack W. Ark Zoo Vol. 1, 32 (1940).
- 25.- Portman J. E. y Riley J. P. Anal Chim. Acta Vol. 35, 35 (1966).
- 26.- Talmi Y. y Norvell V. E. Anal Chim. Vol. 47, 1510, (1975).
- 27.- Schutz D. F. y Turekian K. K. Geochim. Acta Vol. 29, 259, (1905).
- 28.- Mulford C. E. At Absorp. News1 Vol. 5, 8, (1966).
- 29.- Hileman F. D. y Sievers R. E. Analytical Chemistry Vol. 45, 1126, (1973).
- 30.- Simon G. C. y Bidleman T.F. Analytical Chemistry. Vol. 51, 1110 (1979).
- 31.- Ross W. D. y Jefferson R. T. J. Chromatography Sci. Vol. 8,386 (1970).
- 32.- Schecko H. y Bieber O. Chromatographic. Vol. 4, 109, (1971).
- 33.- Ernes David A. y Hanshumaker David T. Anal. Chem. Vol. 55, 408-409, (1983).

- 34.- Hasen L. C. y Sievers R. E. J. Chromatographic. Vol. 99, 123, (1974).
- 35.- Lyn T. R. Rushneck D. R. y Cooper A. R. J. Chromatographic Sci. (1975).
- 36.- Romo J., Joseph Nathan P. y Siade G. Tetrahedron Vol. 22, 1499-1506, (1966).
- 37.- Chavarin Rivera Carolina. Contribución a la Química del Piquerol. Tesis Inst. de Química U.N.A.M. (1985).
- 38.- González de la Parra Irigoyen Mario. Aislamiento y Estudio Químico de un Diterpeno de la planta Piqueria trinervia. Tesis Instituto de Química U.N.A.M. (1986).
- 39.- Padilla Orostico Ma. Elena. Empleo de la Espuma de Poliuretano en la separación de los componentes químicos de la planta Castilleja-tenuiflora. Tesis Inst. de Química (1986).
- 40.- Wulff G. y Tschesche R. Tetrahedron Vol. 25, 415-436 (1969).
- 41.- Yosioka, Nishimura Tadashi. Chim. Pharm. Bull. Vol.18 1610-1620, (1970).

