

73
24



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**"ANALISIS QUIMICO DE TRES EXTRACTOS DE
HOJAS DE Jatropha galvani (Euphorbiaceae)"**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A :

GUSTAVO GOMEZ SERRANO

Director de Tesis: Dra. Ma. Cristina Pérez Amador

México, D. F.

Febrero, 1992

**TESIS CON
FALLA-DE ORIGEN**



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.- Importancia de los metabolitos secundarios.
 - 2.- Motivo del estudio.
 - 3.- Objetivos.
- II. ANTECEDENTES.
- III. UBICACION TAXONOMICA Y DESCRIPCION DE LA ESPECIE.
- IV. MATERIAL Y METODOS.
 - 1.- Preparación del material.
 - 2.- Extracciones.
 - a) Extracciones en soxhlet.
 - i) Con hexano.
 - ii) Con acetato de etilo.
 - iii) Con metanol.
 - b) Extracción para alcaloides.
 - 3.- Perfiles cromatográficos de los extractos.

4.- Aislamiento y purificación de compuestos.

- a) Extracto hexánico. Cromatografía en columna.
- b) Extracto metanólico. Cromatografía preparativa.
- c) Extracto de alcaloides. Cromatografía en columna.

5.- Caracterización de los compuestos aislados, por espectrometría.

V. RESULTADOS Y DISCUSION.

- 1.- Extracciones.
- 2.- Tablas de datos y cromatogramas.
- 3.- Análisis espectrométricos.

VI. CONCLUSION.

VII. BIBLIOGRAFIA.

I. INTRODUCCION.

Importancia de los Metabolitos Secundarios.

Dentro de la gran diversidad de sustancias químicas que producen las plantas, existe un número considerable de ellas que forman parte de metabolismo secundario, lo cual no las hace ni más ni menos importantes que las del metabolismo primario, pero si les confiere características muy particulares, algunas de las cuales se aprovechan para diferentes propósitos.

Tomando como base algunas características específicas de los metabolitos secundarios, como lo son, su distribución restringida, sus propiedades farmacológicas y de defensa de las plantas, entre otras, se han utilizado para estudios taxonómicos y en farmacología.

La función de estas sustancias en las plantas se ha discutido desde dos puntos de vista. Uno sostiene que estos productos son principalmente sustancias de desecho del metabolismo de las plantas (Krebs, 1985). Otro, opuesto, establece que los metabolitos han surgido específicamente para rechazar a los herbívoros (Krebs, 1985).

Lo más probable es que estas sustancias químicas estén presentes gracias al proceso de evolución y a las interacciones que las plantas han establecido con otros organismos.

Existen metabolitos secundarios que adquieren otro tipo de importancia en el momento en que el hombre los utiliza. Los taxónomos clásicos miran los diversos componentes químicos vegetales como caracteres a considerar junto con otros aspectos de las plantas tradicionalmente empleados en taxonomía (Trease, 1984).

Los caracteres químicos tienen sobre los morfológicos la ventaja de ser, por lo general, más precisos y fácilmente definidos; por otra parte, compuestos iguales raramente tienen distribución amplia en los vegetales (Trease, 1984).

Sin embargo aunque es muy fácil demostrar la presencia de un determinado compuesto se hace muy difícil afirmar su ausencia, sobre todo por que los metabolitos secundarios se presentan en muy pequeñas cantidades y esto dificulta su detección.

Otra utilidad que presentan estos compuestos químicos es en el área farmacológica. Desde tiempos antiguos la utilización de vegetales como elementos curativos de diversos tipos de enfermedades era muy frecuente; ahora, algunos principios activos se pueden extraer de las plantas para suministrarlos a pacientes con algún tipo de padecimiento.

Motivo del estudio.

Debido a la gran importancia que se está dando a los metabolitos secundarios como herramienta taxonomica, el presente análisis químico se basa en el interés de poder aportar algo sobre la química de una especie del género Jatropha, para que se pueda establecer la relación existente con otras especies del mismo género. Este estudio se realizó sobre la especie Jatropha galvani, perteneciente a la sección Loureira.

Objetivos.

Objetivo general.-

Analizar extractos de hojas de Jatropha galvani con la finalidad de aislar y caracterizar metabolitos secundarios.

Objetivos particulares.-

a) Realizar una extracción en medio ácido para alcaloides y separar algunos componentes del extracto.

b) Obtener un extracto hexánico y otro metanólico para aislar metabolitos secundarios mediante cromatografía.

c) Analizar los compuestos obtenidos por espectrometría U. V., I. R., de RMN y de masas.

II. ANTECEDENTES.

Los estudios realizados sobre el género Jatropha son muy diversos y abarcan diferentes campos, como el taxonómico, el botánico, el químico, farmacológico y toxicológico.

Dentro de este género se pueden encontrar varias especies importantes por su aporte al conocimiento de las áreas anteriormente mencionadas. Se pueden citar como las más conocidas Jatropha curcas, J. gossypifolia, J. dioica y J. multifida. En los últimos años en número de especies conocidas ha aumentado, una de esas nuevas especies es Jatropha galvani, descrita en 1982 (Jiménez R.J. -- 1982) y sobre la cual se han realizado pocos estudios.

En el género Jatropha, al igual que se fué desarrollando el conocimiento de las plantas, se inició su caracterización química. Este grupo tiene, dentro de sus componentes químicos, esteroides, flavonoides, diterpenos, alcaloides y otros productos naturales como ésteres, alcoholes, ácidos orgánicos, aminoácidos y aceites, distribuidos en diversos órganos de la planta.

Desde el punto de vista químico, los análisis de Jatropha podagrica indican la presencia de esteroides y flavonoides (Odebiyi, 1985). En esta misma especie se pudo aislar el alcaloide tetrametilpirazina (Ojewole, 1984), el cual actúa como sustancia antibacteriana (Odebiyi, 1980). de J. gossypifolia se han podido aislar ésteres y alcoholes (Ahmad, 1984). En extractos de J. curcas se encontraron tres aminoácidos: valina, metionina e hidroxiprolina (Noor, 1982). Los diterpenos citralitrona, jatropholona A, jatropholona B y jatrophol, se aislaron de la raíz de J. dioica y J. curcas (Villarreal, 1988; Chen, 1988). - También en J. curcas se encontraron aceites propuestos como posibles combustibles (Martín, 1984).

Por otro lado se ha podido comprobar que los extractos de algunas especies del género alteran la fisiología de algunos organismos. En vertebrados, por ejemplo, extractos de J. curcas alteran el funcionamiento del aparato circulatorio, modificando la presión arterial y la concentración de leucocitos en la sangre (Ojewole, 1984; Ahmed, 1979). Igualmente, en estos organismos, tratados con extractos de J. podagrica, el mecanismo de contracción muscular a nivel neuromuscular sufrió modificaciones, incluyendo también el funcionamiento cardiovascular (Ojewole, 1980). Muy relacionado a esta actividad existen muchos trabajos que tratan sobre la toxicidad de los extractos de J. curcas, J. acerosides y J. glauca sobre vertebrados e invertebrados, encontrando que se alte-

ran las funciones reproductivas (Consoli, 1989), respiratorias (Adewunmi, 1986) excretoras (Barri, 1983) y accidentalmente se comprobó que en los seres humanos J. curcas es altamente tóxica (Abdu-Aguye, 1986).

Finalmente, los efectos causados en diversos organismos se han utilizado en muchas formas. Estudios sobre bacterias y virus, tratados con extractos de J. curcas y J. podagrica, revelaron su toxicidad frente a estos organismos, de tal forma que los extractos se han utilizado contra infecciones en animales y vegetales (Tewari, 1982; Odebiyi, 1980). Así mismo, el latex de J. multifida, se ha probado en el tratamiento de heridas infectadas, con buenos resultados (Kosasi, 1989).

Jatropha galvani es una especie recientemente descrita y caracterizada como una especie nueva del género (Jiménez R. J., 1982). Químicamente, el primer trabajo que se realizó sobre J. galvani fue un estudio preliminar en donde se determinó la presencia de algunos grupos de metabolitos secundarios. En el extracto hexánico se detectaron concentraciones pequeñas de terpenos y esteroides; en el extracto de acetato de etilo, glicósidos, terpenos y alcaloides, estos últimos en concentraciones altas; por último en el extracto metanólico, en altas concentraciones alcaloides y, en menor proporción, flavonoides, glicósidos y saponinas (Guevara, F. P., 1988).

III. UBICACION TAXONOMICA Y DESCRIPCION DE LA
ESPECIE.

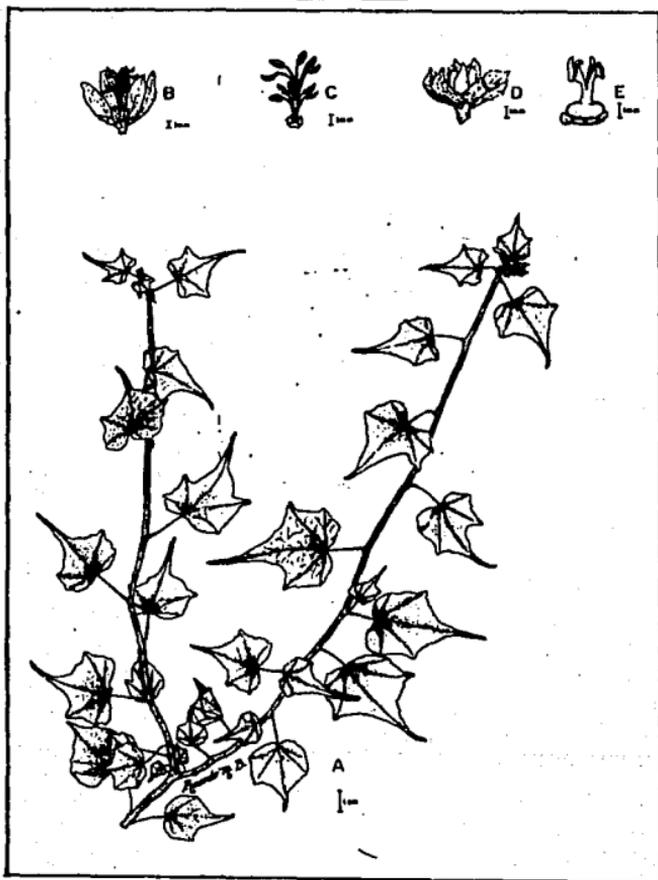
REINO	Plantae
DIVISION	Magnoliophyta
CLASE	Magnoliopsida
SUBCLASE	Rosidae
ORDEN	Euphorbiales
FAMILIA	Euphorbiaceae
GENERO	<u>Jatropha</u>
SUBGENERO	Curcas
ESPECIE	<u>Jatropha galvani</u>
SECCION	Loureira

(Cronquist, 1981)

Esta especie es un árbol con rango de altura de cuatro a ocho metros, corteza exfoliante, ramas de apariencia vieja con numerosos branquiblastos y lenticelas convexas. Hojas alternas o agrupadas cerca del ápice del branquiblasto lamina ovado deltoidea irregularmente lobulada con tres o cinco lóbulos, con el margen sinuado y glándulas globosas que degeneran con la edad, lamina con cinco venas, ápice caudado y base truncada. Presenta abundante pilosidad sobre un peciolo delgado y largo en cuya axila existe pubescencia roja.

Especie dioica, inflorescencias masculinas que surgen de la axila del pedicelo o cerca del ápice del branquiblasto. En el árbol femenino las flores son solitarias o están agrupadas en pares. Las flores son campanuladas, el fruto consta de una capsula bilobular comprimida, es bicarpelar y en cada carpelo existe una semilla color pardo y de forma globosa (Guevara, F. P., 1988) (Esquema 1).

Jatropha galvani.



Esquema 1

IV. MATERIAL Y METODOS.

Material.

El material utilizado lo constituyen hojas de Jatropha galvani colectadas a once kilometros al sur de Zicuirán, perteneciente al estado de Michoacán, el 9 de Septiembre de 1986. El ejemplar de herbario se depositó en el herbario de la Facultad de Ciencias de la UNAM (FCME).

Metodología.

Preparación del material.

El material se extendió sobre papel para que se secase y posteriormente se pudiera triturar lo más finamente posible. Los peciolo y nervaduras demasiado gruesos se eliminaron. Por último se pesó y se guardó en frascos tapados y etiquetados.

Extracciones.

Se realizaron dos tipos diferentes de extracciones, efectuadas por dos -

distintos métodos.

El primer tipo fué una extracción selectiva en Soxhlet con tres disolventes de polaridad creciente: hexano, acetato de etilo y metanol.

El segundo tipo de extracción que se realizó fué una en medio ácido, en frío, específica para alcaloides, utilizando dos diferentes disolventes: cloroformo y éter.

a) Extracciones en Soxhlet.

Se efectuaron extracciones consecutivas con hexano, acetato de etilo y metanol. Con cada disolvente se realizaron tres extracciones con una duración de ocho horas para cada una.

Se usó un aparato de Soxhlet, en el interior del cual se colocó la muestra (94 g) dentro de un cartucho de papel filtro. En la parte superior del Soxhlet se puso un refrigerante y en la inferior se ensambló un matraz de fondo redondo, con el disolvente. Este aparato se colocó sobre un baño de vapor con el fin de llevar a ebullición el disolvente e iniciar el proceso de extracción. Al finalizar las extracciones con el primer disolvente, se sacó el cartucho, se dejó secar al aire, se colocó nuevamente en el aparato y se repitió el proceso con el segundo y tercer disolvente en el siguiente orden: hexano--acetato de etilo--metanol. Posteriormente se eliminó el disolvente de cada extracto a

presión reducida, con un rotavapor, para obtener los extractos secos, los cuales se pesaron y se calculó su rendimiento. Además se hizo una placa cromatográfica, en capa fina, de cada uno de los extractos.

b) Extracción para alcaloides.

La extracción para alcaloides se realizó según el método de Tiwari (1981) (Esquema 2) (Bustamente, M. G., 1986).

Se trabajó con dos muestras de hojas secas y molidas. A cada muestra (50 g) se agregaron 500 mililitros de ácido acético al 2% y se agitaron durante 24 horas, después de las cuales se filtraron. Los extractos, se alcalinizaron con NH_4OH al 25% hasta $\text{pH}=9$ y se extrajeron, una muestra con cloroformo y la otra con éter. Se realizaron cinco extracciones consecutivas, controlando el final de las extracciones con reactivo de Dragendorff para asegurar que ya no hubiera alcaloides en las muestras. La fase acuosa de las extracciones anteriores se alcalinizó hasta un $\text{pH}=13$ con NaOH al 25% y nuevamente las dos muestras fueron extraídas con cloroformo y éter.

Al final se obtuvieron cuatro extractos. Dos, a $\text{pH}=9$, uno clorofórmico y uno etéreo; y dos, a $\text{pH}=13$, uno clorofórmico y otro etéreo. Estos extractos se lavaron con agua, se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se llevaron a sequedad, se pe

saron y se calculó su rendimiento. Además, se hicieron placas cromatográficas, en capa fina, de cada uno de ellos.

Perfiles cromatográficos de los extractos.

Se determinaron en placa fina de gel de sílice Merck-60 sin activar, utilizando eluyente y revelador según el tipo de extracto. Para las placas de los extractos obtenidos en Soxhlet se utilizaron como eluyentes: hexano-acetato de etilo 8:2 para el extracto hexánico, acetato de etilo para el extracto de acetato de etilo, acetato de etilo-metanol 4:6 para el extracto metanólico y como revelador luz UV y sulfato cérico. En el caso de los extractos obtenidos de las extracciones para alcaloides se utilizó como eluyente acetato de etilo y como revelador luz UV y reactivo de Dragendorff. Para las fracciones obtenidas de la cromatografía en columna de los extractos para alcaloides se utilizaron como eluyentes cloroformo para la fracción A, acetato de etilo-hexano 8:2 para la fracción B y como revelador luz UV y Dragendorff. En las fracciones de la cromatografía en columna, del extracto hexánico, se utilizó como eluyente hexano-acetato de etilo 8:2 para la fracción C, hexano-acetato de etilo 5:5 para la fracción D y como revelador luz UV y sulfato cérico. Para las placas del extracto metanólico el eluyente utilizado fué butanol-ácido acético-agua 5:1:4 y como revelador luz UV y sulfato cérico. Estos mismos se utilizaron para las

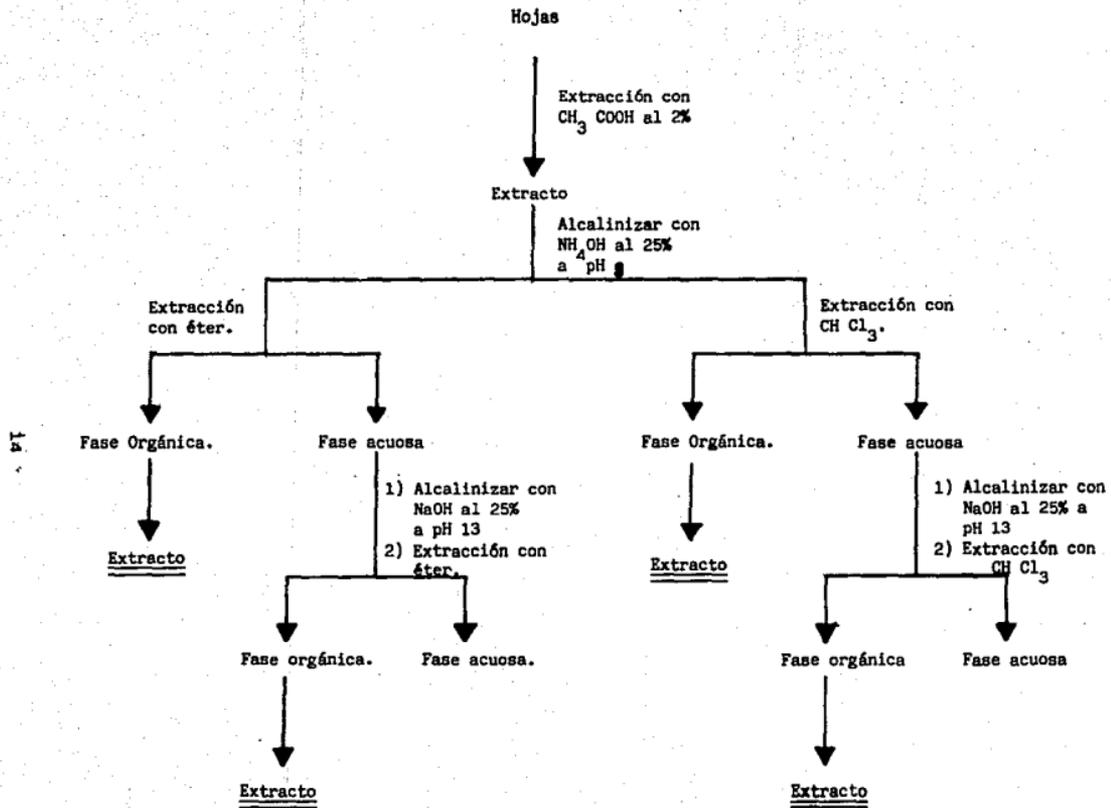


Figura 2

fracciones de la cromatografía preparativa de extracto metanólico.

Aislamiento y purificación de compuestos.

a) Extracto hexánico (Cromatografía en columna).

Para la cromatografía del extracto hexánico se procedió a disolver, en la menor cantidad posible de hexano, la muestra. Al disolverlo se formó un precipitado amarillento que se separó por filtración. Ya separado, el precipitado - se recrystalizó, se tomó su punto de fusión, se le hicieron pruebas de solubilidad y se determinaron sus espectros de infrarrojo, de ultravioleta y de masas.

El líquido del filtrado se evaporó a sequedad y el residuo (2.3 g) se cromatografió en columna de la siguiente forma:

Se utilizó una columna de vidrio de 2.5 cm de diámetro y como adsorbente, gel de sílice Merck-60 en proporción muestra-adsorbente de 1:80. La sílice se activó durante una hora a 120°C. La columna se montó colocando en la base un poco de algodón, después se agregó una capa de arena, posteriormente se colocó la sílice humedecida perfectamente con hexano a una consistencia similar a una papilla, se vació en la columna, dejando el tiempo necesario para que se compactara, adicionando eluyente (hexano) y drenando la columna abriendo ligeramente la llave. Por último, y después de que se compactó la sílice, se agregó

otra capa de arena. El eluyente se dejó fluir hasta que el nivel de este, en la parte superior de la columna, quedara a unos milímetros de la capa de arena. Con ayuda de una pipeta Pasteur y con el extracto disuelto en hexano, se fue agregando a la columna de manera uniforme. Al terminar de agregar toda la muestra se hicieron varios enjuagues del recipiente que contenía el extracto, colocando cada enjuague en la columna de la misma forma descrita anteriormente y luego de esto se llenó con eluyente para principiar el fraccionamiento.

Se colectaron fracciones de 40 ml. En el transcurso del corrimiento la polaridad se aumentó paulatinamente con acetato de etilo hasta terminar con acetato de etilo 100% (Tabla 5).

Ya obtenidas todas las fracciones (209), se procedió a reunir aquellas que tuvieron el mismo perfil en las placas de control, que previamente se habían corrido para cada fracción.

Se formaron así 30 fracciones, a las que se les determinó su peso y su punto de fusión a aquellas que fueron sólidos. Para análisis espectroscópico se seleccionaron las dos fracciones que se obtuvieron puras, la C (60-63) y la D (123-124).

b) Extracto metanólico (Cromatografía preparativa).

El extracto metanólico se redisolvió en metanol, formándose un precipita-

do se le hicieron pruebas de solubilidad y determinación del punto de fusión, y el extracto obtenido del líquido filtrado se cromatografió en placa preparativa.

Para la cromatografía (300 miligramos de muestra) se usaron seis placas preparativas de gel de sílice Merck-60, de 20 por 20 centímetros, las cuales se activaron por una hora a 110°C, después de lo cual se dejaron enfriar dentro de un desecador. Se marcó en la parte inferior de cada placa un margen de dos centímetros para aplicar sobre esa línea la muestra, disuelta en metanol (50 mg), con un capilar, punteando a lo largo de la línea de aplicación, con una separación de medio centímetro entre cada punto. Con todas las placas se repitió la operación hasta que se terminó la muestra.

Para eluir las placas se utilizó butanol-ácido acético-agua en una proporción de 5:1:4. Este eluyente se colocó en la cámara cromatográfica y después de diez minutos de estabilización se introdujeron las placas. Cuando terminaron de correr se retiraron de la cámara y se dejaron secar hasta que todo el eluyente se evaporara totalmente. El revelado se hizo primero con luz ultravioleta y después con sulfato cérico, sobre un margen lateral de las placas de un centímetro de ancho, delimitando las franjas en que se obtuvieron. Estas se separaron de la placa y se colocaron en matraces para posteriormente extraer -

los compuestos. Las extracciones se hicieron con metanol. Los extractos se llevaron a sequedad, se pesaron, se calculó su rendimiento, se tomó su punto de fusión de los sólidos y se hizo una placa cromatográfica en capa fina de todas las muestras (Figura 6 y tabla 7).

c) Extracto de alcaloides (Cromatografía en columna).

Los extractos de alcaloides con cloroformo y éter a pH=9 tuvieron un perfil igual en placa delgada y se reunieron, al igual que los de cloroformo y éter a pH=13. Se determinó el perfil en placa fina de ambos y como resultaron iguales se reunieron también (Figura 2).

El extracto total (0.095) se cromatografió en columna, con gel de sílice Merck-60, activado durante una hora a 120°C. El eluyente utilizado fué cloroformo y mezclas de cloroformo metanol. El montaje de la columna fué igual al de la cromatografía hexánica. Se colectaron fracciones de 15 mililitros, controlando su pureza mediante placa fina. Se registro el peso de cada fracción y se reunieron las de igual perfil cromatográfico (Tabla 3).

Las dos fracciones que se obtuvieron en mayor cantidad y pureza adecuada (A y B), se analizaron por espectrometría (Figura 3 y tabla 3).

V. RESULTADOS Y DISCUSION.

Los resultados obtenidos se presentan haciendo uso de tablas, gráficas y/o esquemas.

Los rendimientos de los extractos fueron variables (Tabla 1), siendo el mayor el del extracto metanólico y el menor, el de acetato de etilo.

Los perfiles cromatográficos de los extractos obtenidos (Figura 1) presentaron patrones de manchas, con diferente resolución, que nos permitieron elegir los extractos más adecuados para la separación de sus componentes.

Los perfiles con mejor resolución fueron los de los extractos hexánico y metanólico, por lo que se seleccionaron éstos para ser analizados.

Extracción de alcaloides.

Para obtener estos compuestos se hizo una extracción en medio ácido de acuerdo con el método de Tiwari. Los alcaloides se precipitaron de la solución

acética de extracción con dos diferentes bases con objeto de hacer una primera separación tentativa, con hidróxido de amonio, a un pH de 9, y con hidróxido de sodio, a un pH de 13, y se extrajeron con cloroformo y éter, para determinar cual era el mejor disolvente de extracción. En esta forma se obtuvieron cuatro fracciones dos clorofórmicas y dos etéreas. Las placas cromatográficas corridas con estas cuatro fracciones y reveladas con Dragendorff muestran muy poca diferencia (Figura 2b).

Los perfiles de los extractos etéreos y clorofórmicos, obtenidos de la alcalinización a un mismo pH, fueron idénticos por lo que se reunieron ambos extractos para trabajarlos juntos.

Respecto a los perfiles de la extracción con amoníaco y con sosa, estos mostraron muy poca diferencia por lo que se decidió reunir también estas fracciones quedando así una sola fracción alcaloídica, cuyos componentes se separaron por cromatografía en columna.

De esta cromatografía se aisló una fracción pura (A, tabla 3), un sólido ceroso con punto de fusión 70-75°C, que dió una sola mancha en placa delgada, y otra fracción, también de consistencia cerosa (B, tabla 3), con punto de fusión 72-74°C, cuya placa (Figura 3) muestra que está formada por un producto principal y huellas de dos más. Estas dos fracciones se obtuvieron en cantidad

suficiente para analizarlas con fines de caracterización.

La fracción A se identificó como una amina alifática, mediante el análisis de sus espectros en IR, UV y de RMN (Gráficas 1, 2 y 3), con la fórmula - que se indica en la tabla 8.

La fracción B no fué un compuesto nitrogenado. De acuerdo con los resultados que arrojaron sus espectros de UV, IR RMN y Masas (Gráficas 4, 5, 6 y 7) - se le asignó la fórmula que aparece en la tabla 9.

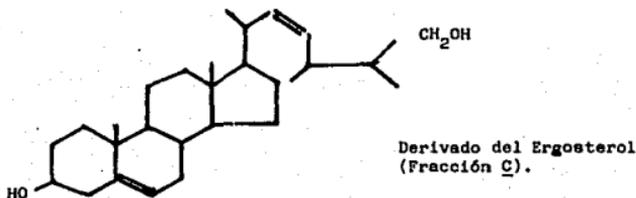
Extracto hexánico.

Al momento de redissolver este extracto en hexano, precipitó un polvo amarillo, con punto de fusión 81-83°C, cuyos datos de solubilidad se encuentran - en la tabla 4.

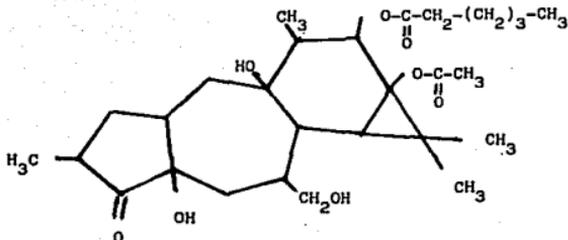
Los resultados del análisis espectrométrico (Tabla 12, Figuras 16, 17 y - 18) condujeron a la proposición de la fórmula indicada, correspondiente a una cera, formada por un alcohol y un ácido, ambos de 16 átomos de carbono y con - tres dobles enlaces en la molécula.

Después de separar el precipitado antes mencionado, el resto del extracto se cromatografió en columna para aislar algunos de sus componentes. De esta -- cromatografía se aislaron ceras en las fracciones eluidas con la mezcla de di-

solventes menos polar (hexano-acetato de etilo 95:5). Del resto de las fracciones se eligieron los dos que se obtuvieron puras (61 a 63, fracción C, y 123-124, fracción D, Tabla 5; una mancha en cromatoplaqa, Figura 4). La primera -- fracción, C, se caracterizó, mediante un análisis espectrométrico UV, IR, RMN y M (Gráficas 8, 9, 10 y 11) y comparación de los espectros de IR, MN con los reportados en el catalogo Sadtler, como un derivado del ergosterol (Tabla 10).



La segunda fracción D se analizó en la misma forma que la anterior, determinándose una serie igual de espectros (Tabla 11, Gráficas 12, 13, 14 y 15). Se propone que el compuesto sea un ester del Forbol con la siguiente fórmula en la cual se hallan indicadas las principales señales de resonancia magnética nuclear.



Ester del Forbol
(Fracción D).

En el espectro de masas (Gráfica 15) se pueden apreciar los fragmentos: m/z 368, que corresponde al núcleo del Forbol, M^+ 43, al acetilo y M^+ 99 al hexanoilo, y que vienen a apoyar la fórmula propuesta.

Extracto metanólico.

Al igual que en el extracto hexánico, el metanólico dió un precipitado al redisolverlo en metanol.

El precipitado, de color café oscuro, es una sustancia que funde a más de 300°C y es poco soluble en disolventes polares (Tabla 6). Por todo esto no fué posible analizar este compuesto espectrométricamente y se supone que sean tan nos oxidados.

Con respecto al filtrado, obtenido durante la separación del precipitado,

se vió, por su perfil cromatográfico. (Figura 5) la posibilidad de separar algunos compuestos por cromatografía preparativa. Se obtuvieron así diez fracciones puras (Figura 6), pero no en cantidad suficiente (Tabla 7) como para caracterizarse espectroscópicamente.

TABLA DE RENDIMIENTOS DE LOS EXTRACTOS
(Extracciones en Soxhlet).

EXTRACCIONES			
Peso de la muestra.	94 g		
Disolvente	Hexano	Acetato de etilo	Metanol
Peso del Extracto	2.3637 g	2.2323 g	12.1829 g
Rendimiento	2.51 %	2.36 %	12.90 %

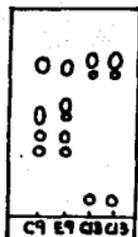
Tabla 1

TABLA DE RENDIMIENTOS
(Extracción para Alcaloides).

Peso de la Muestra	50 g		50 g	
	Con Cloroformo a pH=9	Con éter a pH=9	Con Cloroformo a pH=13	Con éter a pH=13
Extracto				
Peso del Extracto	0.0545 g	0.0365 g	0.0128 g	0.0177 g
Rendimiento	0.109 %	0.73 %	0.0256 %	0.0354 %

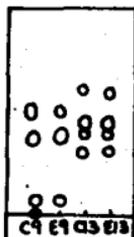
PLACAS DE LAS EXTRACCIONES
PARA
ALCALOIDES

(A)



Eluyente: AcOEt
Revelado con: Luz UV

(B)



Eluyente: AcOEt
Revelado con: Dragendorff.

C = Extracto Clorofórmico.

E = Extracto etereo.

9 = a pH=9

13 = a pH=13

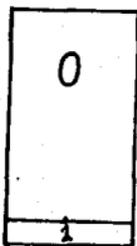
Figura 2

CROMATOGRAFIA EN COLUMNA
EXTRACTO PARA ALCALOIDES.

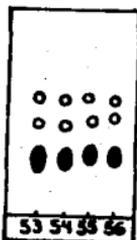
FRACCION	ELUYENTE	PESO	ASPECTO	OBSERVACIONES
1 (A)	CHCl ₃	0.0301 g	Solido/cer 70-75°C	Una Mancha.
2	"	0.0042 g	Aceitoso	Dos Manchas.
3 - 5	"	-	"	Dos Manchas.
6 - 8	"	0.0010 g	"	Una Mancha.
9	"	-	"	Mezcla.
10	"	-	"	Mezcla.
11 - 20	"	-	"	Mezcla.
21 - 23	"	-	"	Huellas.
24 - 30	"	-	"	Huellas.
31 - 33	CHCl ₃ :MetOH 99:1	0.0019 g	"	Mezcla.
34	"	-	"	Mezcla.
35 - 37	"	0.0030 g	"	Una Mancha.
38 - 68 (B)	"	0.0105 g	Solido/cer 72-74°C	Mezcla, una Mancha principal.
69 - 79	CHCl ₃ :MetOH 98:2	0.0032 g	Aceitoso	Huellas.
80 - 92	CHCl ₃ :MetOH 96:4	-	"	Huellas.

Tabla 3

PLACAS DE LAS FRACCIONES A Y B DE LA
CROMATOGRAFIA
DEL
EXTRACTO PARA ALCALOIDES.



Fracción A
Eluyente :Cloroformo.
Revelador :Dragendorff.



Fracción B
Eluyente: AcOEt-hexano 8:2
Revelador: Dragendorff.

Figura 3

PRECIPITADO DEL EXTRACTO
HEXANICO.

- Peso: 0.7551 g

- Polvo Fino Color Amarillo.

- Punto de Fusión: 81-83°C.

SOLUBILIDAD				
	Hexano	Metanol	Agua	Cloroformo
E h Frfo	Poco Soluble	Muy Poco Soluble	Insoluble	Poco Soluble
E h Caliente	Soluble	Poco Soluble	Insoluble	Muy Soluble

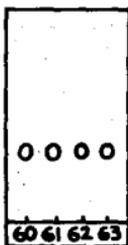
Tabla 4

CROMATOGRAFIA EN COLUMNA EXTRACTO HEXANICO.

FRACCION	ELUYENTE	PESO	PUNTO DE FUSION	CARACTERISTICAS
1 - 16	Hexano	0.1822 g	43-45°C	Cera Blanca
17	Hexano-AcOEt 95:5	0.3240 g	48-50°C	Sólido-ceroso-Amarillo
18 - 26	" 95:5	0.2113 g	44-49°C	Sólido-ceroso-Amarillo
27 - 34	" 90:10	0.2131 g		Cera Naranja
35 - 38	" 90:10	0.0896 g		Cera Amarilla
39 - 40	" 90:10	0.0467 g	60-60°C	Sólido Ceroso
41 - 42	" 90:10	0.0665 g		Sólido Ceroso
43 - 54	" 85:15	0.0808 g		Cera
55 - 59	" 85:15	0.0348 g		Cera
60	" 85:15	0.0290 g	114-119°C	Resina
61 - 63	" 85:15	0.0753 g	118-119°C	Resina (C)
64 - 71	" 85:15	0.0590 g	50 - 86°C	Resina
72 - 74	" 85:15	0.0099 g		Resina
75 - 92	" 80:20	0.0789 g		Sólido
93 - 99	" 75:25	0.0392 g		Aceite
100 - 118	" 70:30	0.1197 g		Aceite
119 - 122	" 70:30	0.0244 g		Aceite
123 - 124	" 70:30	0.0326 g	70-80°C	Sólido (D)
125 - 139	" 65:35	0.1714 g	44-47°C	Sólido
140 - 150	" 65:35	0.0636 g		Sólido Ceroso
151 - 156	" 60:40	0.0454 g		Aceite
157 - 163	" 50:50	0.0612 g		Aceite
164 - 168	" 45:55	0.0553 g		Aceite
169 - 172	" 40:60	0.0417 g		Aceite
173 - 177	" 35:65	0.0568 g		Aceite
178 - 181	" 30:70	0.0382 g		Aceite
182 - 186	" 25:75	0.0502 g		Aceite
187 - 190	" 20:80	0.0356 g		Aceite
191 - 194	" 15:85	0.0380 g		Aceite
195 - 198	" 10:90	0.0324 g		Aceite
199 - 202	" 5:95	0.0230 g		Aceite
203 - 209	AcOEt	0.0326 g		Aceite

Tabla 5

PLACAS DE LAS FRACCIONES C Y D DE LA
CROMATOGRAFIA
DEL
EXTRACTO HEXANICO.



Fracción (C)

Eluyente:
Hexano-AcOEt 8:2

Revelador: Sulfato Cérico.



Fracción (D)

Eluyente:
Hexano-AcOEt 5:5

Revelador: Sulfato Cérico.

Figura 4

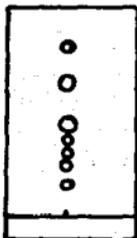
**PRECIPITADO DEL EXTRACTO
METANOLICO.**

- Peso 2.1227 g
- Polvo Café.
- Punto de Fusión: Funde a más de 300°C

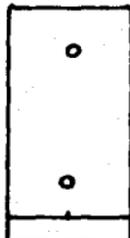
SOLUBILIDAD		
	Metanol	Agua
En Frío	Poco Soluble	Insoluble
En Caliente	Poco Soluble	Insoluble

Tabla 6

PLACAS DEL EXTRACTO
METANOLICO



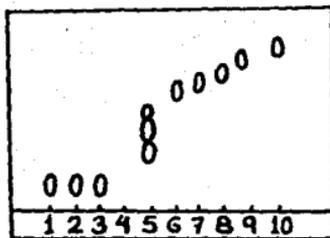
Eluyente:
Butanol-ácido acético-agua.
5:1:4
Revelador: Luz UV.



Eluyente:
Butanol-ácido acético-agua
5:1:4
Revelador: Sulfato Cérico.

Figura 5

PLACA DEL EXTRACTO METANOLICO
FRACCIONES DE LA CROMATOGRÁFIA PREPARATIVA.



Eluyente: Butanol-ácido acético-agua
5:1:4

Revelador: Sulfato cérico.

CROMATOGRAFIA PREPARATIVA
EXTRACTO METANOLICO.

Fracción	Peso (Mg).	Aspecto	Observaciones Cromatográficas.
1	8.64	Cera	Una Mancha.
2	4.19	Sólido	Una Mancha.
3	19.87	Sólido	Una Mancha.
4	39.95	Sólido	Una Mancha.
5	63.48	Sólido	Tres Manchas.
6	18.35	Sólido	Una Mancha.
7	6.84	Sólido	Una Mancha.
8	13.01	Sólido	Una Mancha.
9	10.37	Sólido	Una Mancha.
10	20.12	Sólido Cristales.	Una Mancha.
Total	204.82		

TABLA 7

ANALISIS ESPECTROMETRICO DE LA
FRACCION A DEL EXTRACTO DE
ALCALOIDES.

Fracción 1(A)

Ultravioleta:  hexano 198 n m
max. h-250 n m

Infrarrojo:

C  H { 2860 cm⁻¹
2929 " CH₃- 1375 cm⁻¹
2960 "

- CH₂- 1460 " " R > N - 1260 "
R

RMN:

CH₃- 0.88 (ppm) (Tripleto)
- CH₂- 1.23 "
CH₃ > N - 2.92 "
CH₃

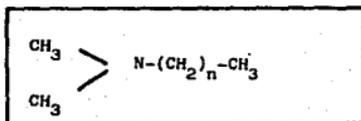
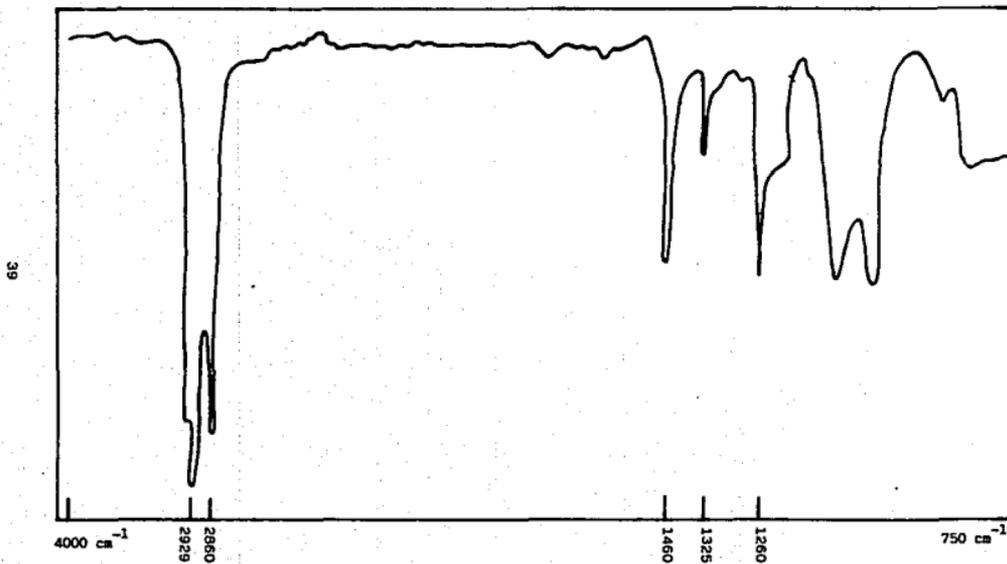


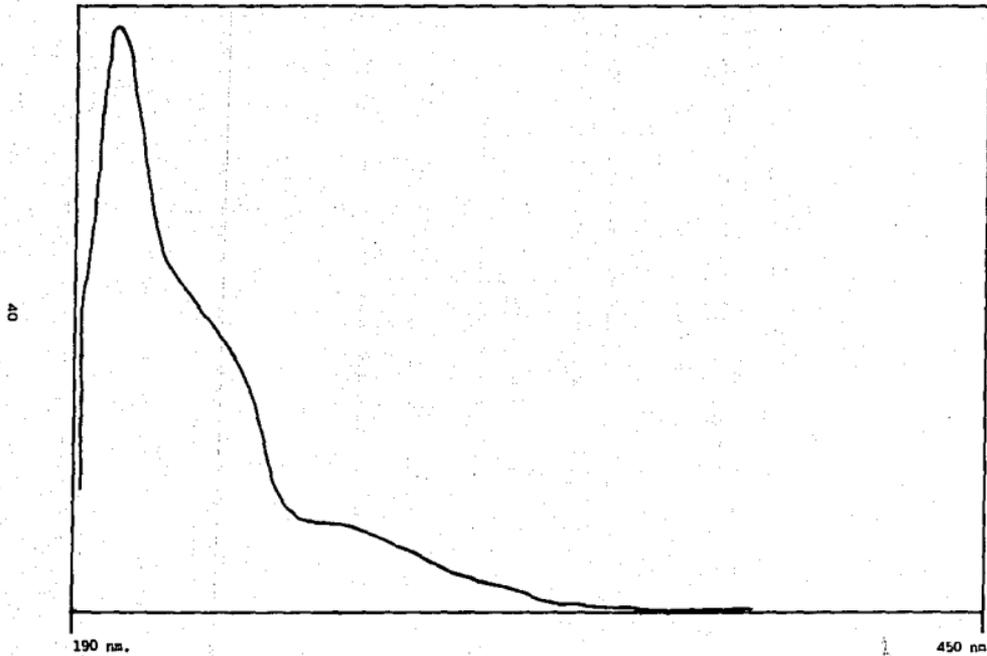
Tabla 8

ESPECTRO INFRARROJO FRACCION 1 (A).



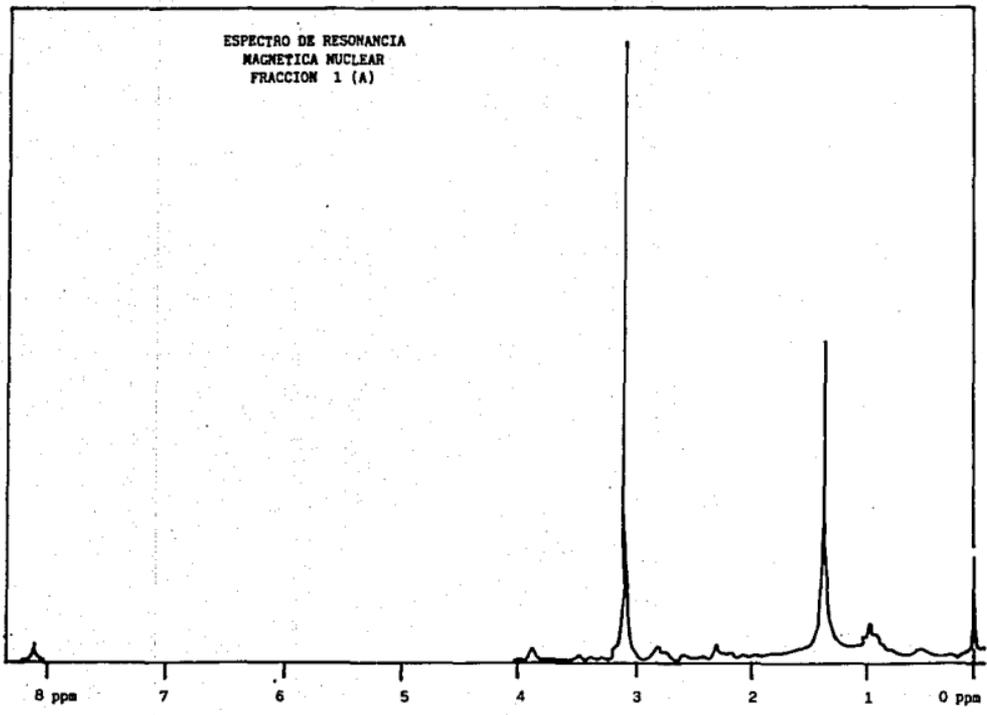
GRAFICA 1

ESPECTRO ULTRAVIOLETA FRACCION 1 (A)



GRAFICA 2

11



GRAFICA 3

ANALISIS ESPECTROMETRICO DE LA
FRACCION B DEL EXTRACTO DE
ALCALOIDES.

Fracción 38-68 (B).

Ultravioleta:

hexano

195 nm

λ max.

h - 280 nm

Infrarrojo:

OH	3600	cm ⁻¹
C \sim H	2960	cm ⁻¹
	2922	cm ⁻¹
	2850	cm ⁻¹
- C = O	1710	cm ⁻¹
	1670	cm ⁻¹
- CH ₂ -	1460	cm ⁻¹
CH ₃	1330	cm ⁻¹
	1375	cm ⁻¹

Ester Alifático

Cetona seis Miembros

Insaturada.

α, β

RMN:

CH ₃	0.09	(ppm)	Doblete.
- CH ₂ -	1.22	(ppm)	
CH ₃ - $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \end{array}$ -	2.1	(ppm)	Multiplete.
H - C - OH	3.85	(ppm)	Multiplete.
	3.9	(ppm)	Singulete.
H ⁺ Vinílico	5.8	(ppm)	

TABLA 9

Espectro de Masas:

$M^+ = 208$

Fórmula Condensada:

$C_{12}H_{18}O_4$

Peso Molecular = 226

$(M^+ = M - 18)$

Fórmula Desarrollada:

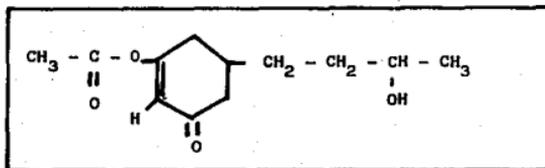
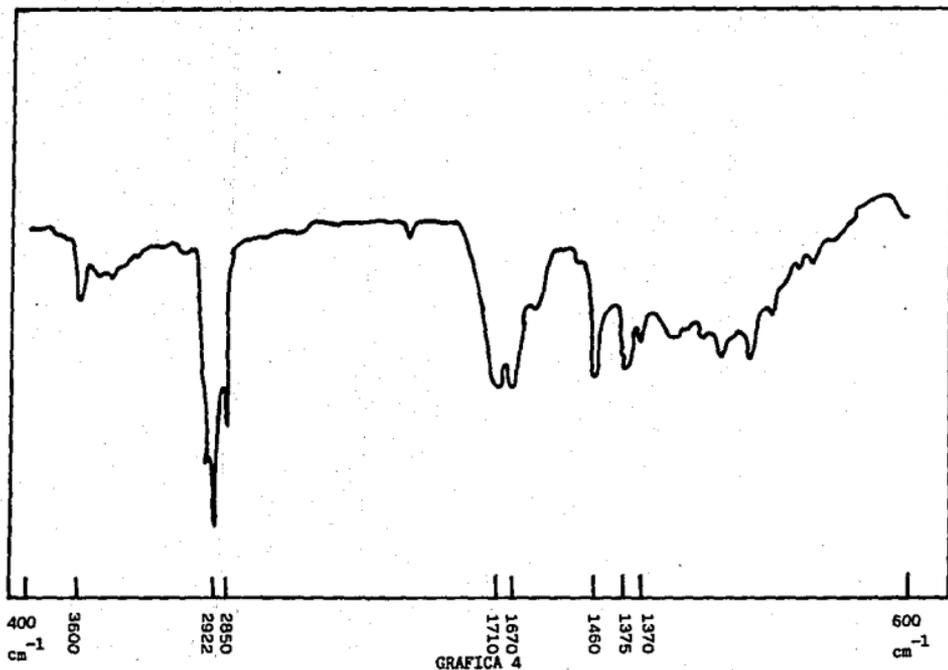
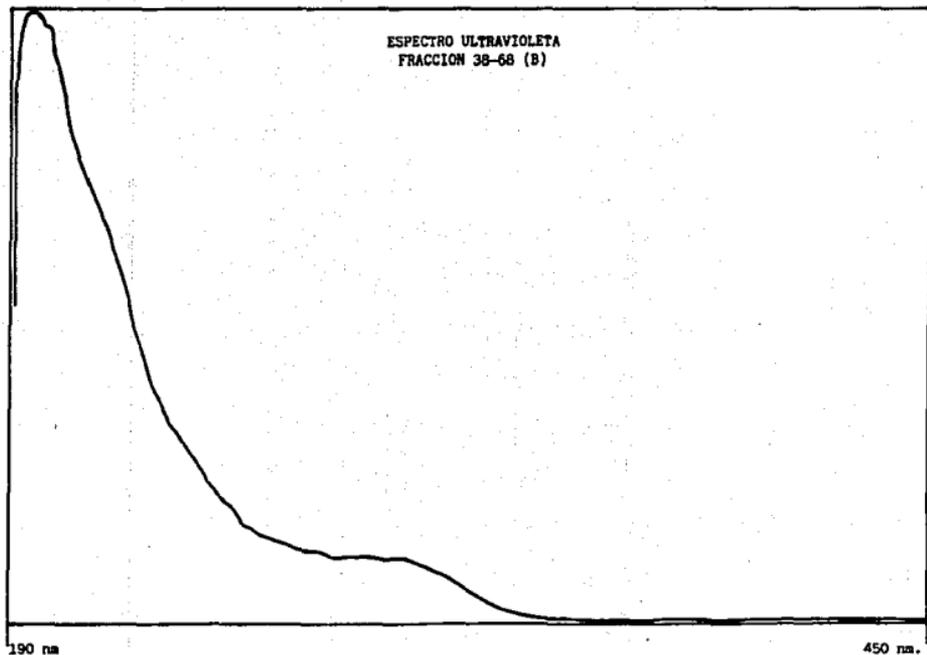


TABLA 9 Cont.

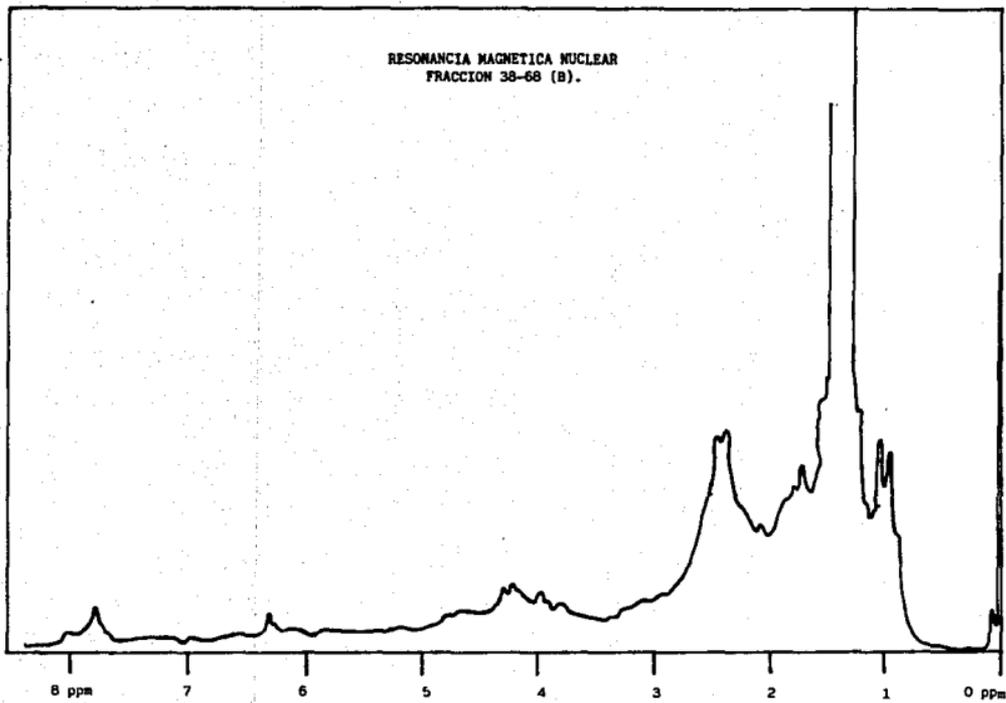
ESPECTRO INFRARROJO
FRACCION 38-68 (B).



45

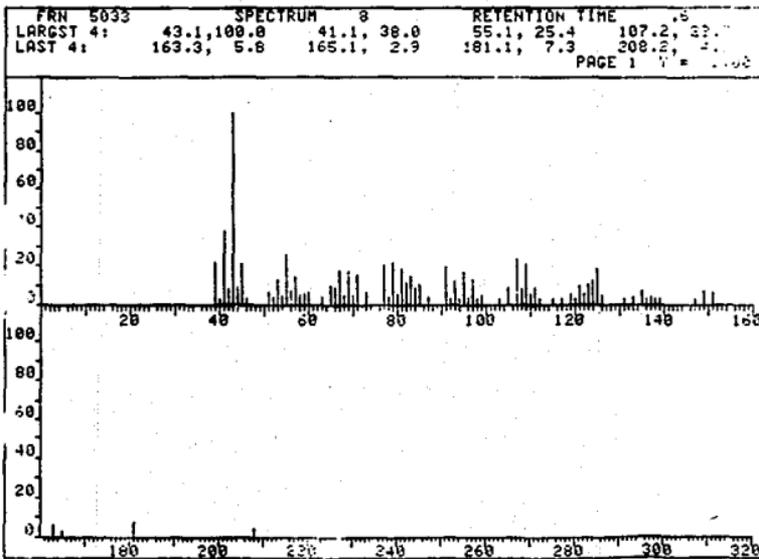


GRAFICA 5



GRAFICA 6

ESPECTRO DE MASAS
 FRACCION 38-68 (B).



GRAFICA 7

ANALISIS ESPECTROMETRICO
DEL
PRECIPITADO DEL EXTRACTO HEXANICO.

Ultravioleta:



hexano

190 nm.

max.

222 nm.

270 nm.

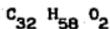
Infrarrojo:

C H	}	2920	cm ⁻¹
		2850	cm ⁻¹
C = O		1740	cm ⁻¹
- CH ₂ -		1460	cm ⁻¹
CH ₃ -	}	1365	cm ⁻¹
C = C		980	cm ⁻¹
		920	cm ⁻¹

Espectro de Masas:

$$M^+ = 474$$

Fórmula Condensada:



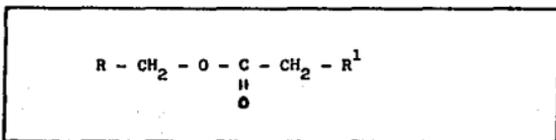
Peso Molecular 474

Cera con tres Insaturaciones, en los grupos R.

TABLA 12

ANALISIS ESPECTROMETRICO
DEL
PRECIPITADO DEL EXTRACTO HEXANICO.

Fórmula semidesarrollada:

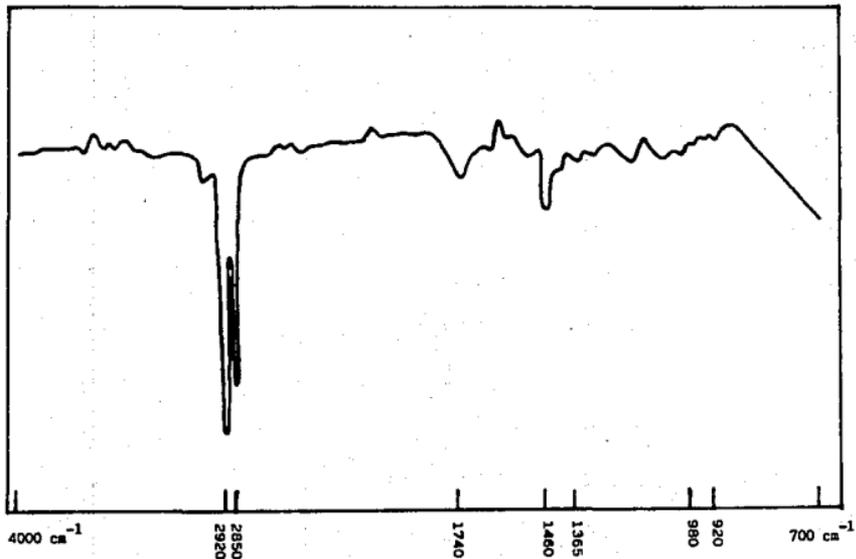


R (C₁₅).

R¹ (C₁₄).

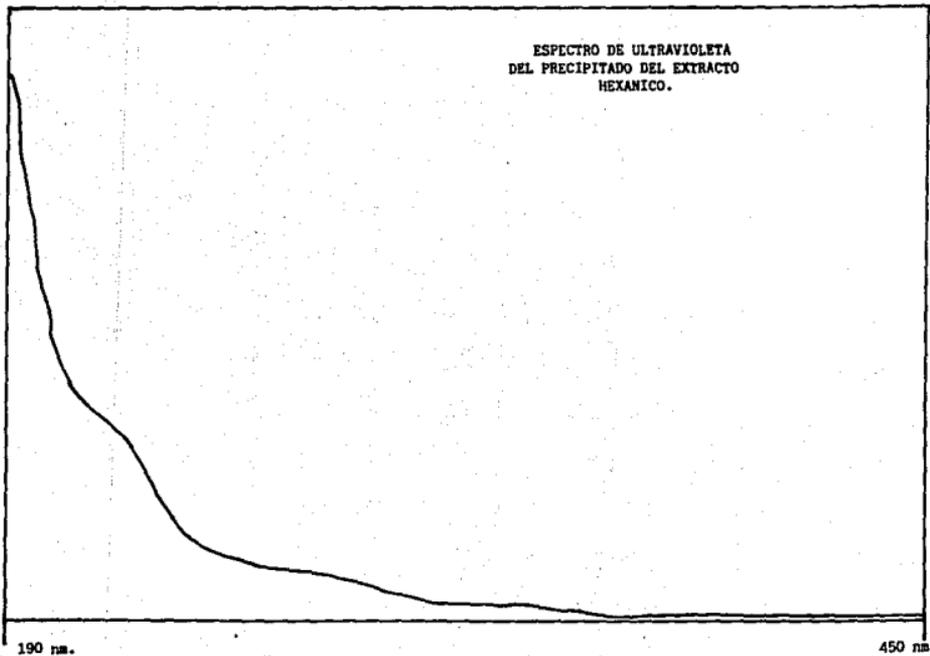
TABLA 12 Cont.

ESPECTRO INFRARROJO DEL
PRECIPITADO DEL EXTRACTO HEXANICO.



GRAFICA 16

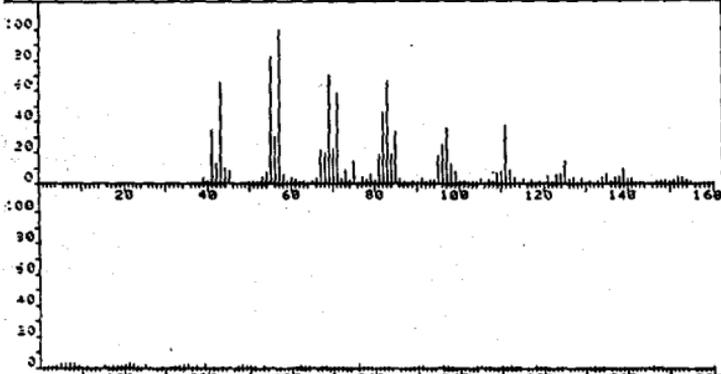
51



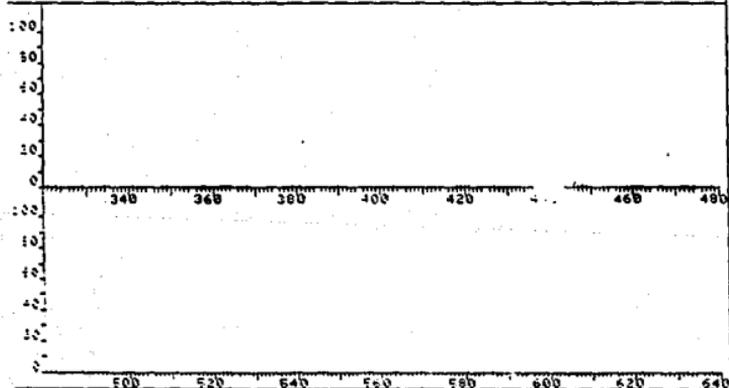
GRAFICA 17

ESPECTRO DE MASAS DEL
PRECIPITADO DEL EXTRACTO HEXANICO.

FRN	5017	SPECTRUM	99	RETENTION TIME	6.7
ARGST 41	57.2, 100.0	55.2, 82.3	83.1, 80.5	69.1, 70.0	
LACT 41	447.6, .7	448.5, 1.4	449.5, .7	474.6, .5	
					PAGE 1 Y = 1.00



FRN	5017	SPECTRUM	99	RETENTION TIME	6.7
ARGST 41	57.2, 100.0	55.2, 82.3	83.1, 80.5	69.1, 70.0	
LACT 41	447.6, .7	448.5, 1.4	449.5, .7	474.6, .5	
					PAGE 2 Y = 1.00



ANALISIS ESPECTROMETRICO
DE LA FRACCION C DEL EXTRACTO
HEXANICO.

Fracción 61-63 (C).

Ultravioleta:



193 nm
h 195 nm
198 nm

Infrarojo:

OH (No asociado)	3600 cm^{-1}				
OH (Asociado)	3360 cm^{-1}				
		CH ₃	}	1375	cm^{-1}
				1370 h	cm^{-1}
				1330	cm^{-1}
C H	{				
	2960 cm^{-1}				
	2940 cm^{-1}				
	2870 cm^{-1}				
C H (Olefinico)	1600 cm^{-1}	C H	{	1120	cm^{-1}
				1075	cm^{-1}
- CH ₂ -	1460 cm^{-1}			1040	cm^{-1}
		C H	{	890	cm^{-1}
				835	cm^{-1}
		(Oleofinico)			

RMN:

{	0.65 ppm	(Singlete)
	0.80 ppm	(Doblete)
	0.85 ppm	(Doblete)
	1.00 ppm	(Singlete)
	1.25 ppm	(Singlete)

TABLA 10

RMN (cont.)

H - C - OH 3.5 ppm
 |
 H
1 H⁺ (Vinílico) 5:05 ppm (Triplete)
2 H⁺ (Vinílico) 5:30 ppm (Doblete)

Espectro de masas:

M⁺ = 414

Fórmula Condensada:

C₂₈ H₄₆ O₂

Peso molecular = 414

Fórmula desarrollada:

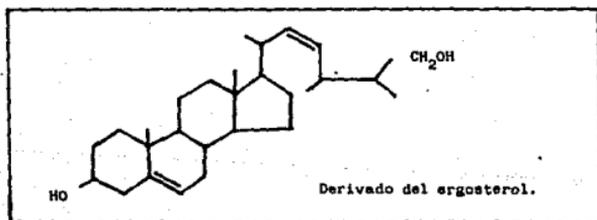
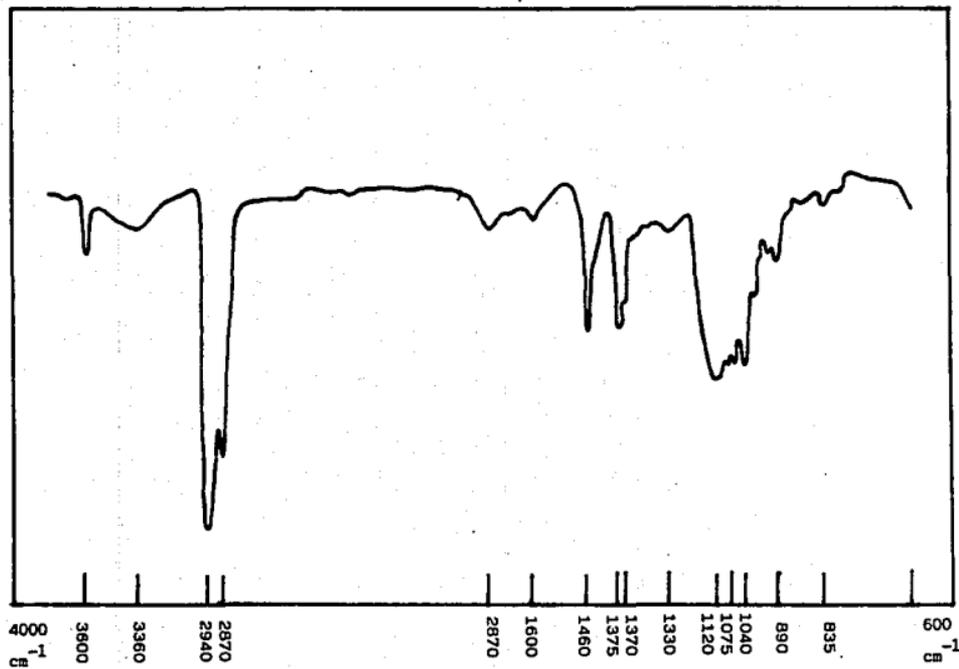


TABLA 10 cont.

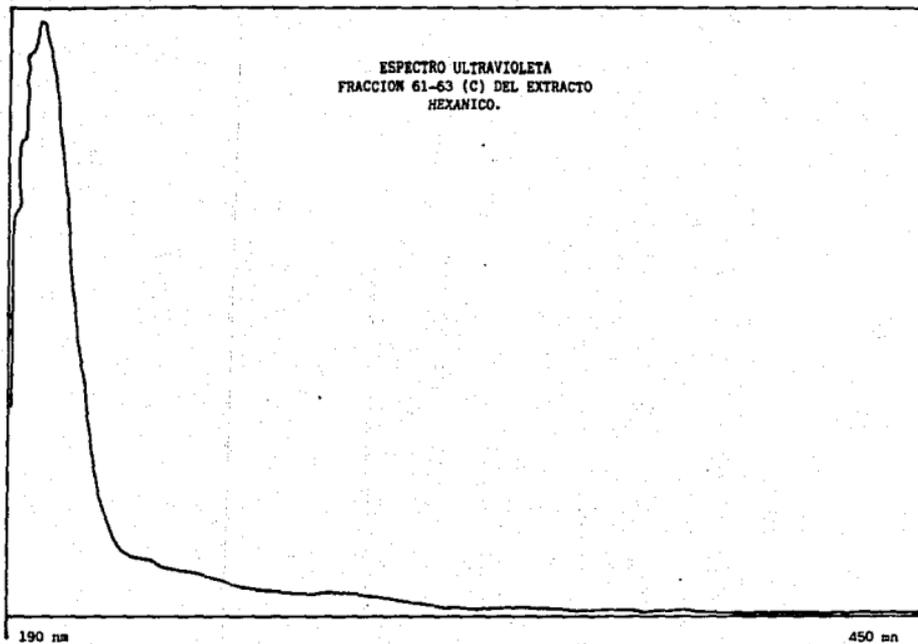
ESPECTRO INFRARROJO
FRACCION 61-63 (C) DEL EXTRACTO
HEXANICO.



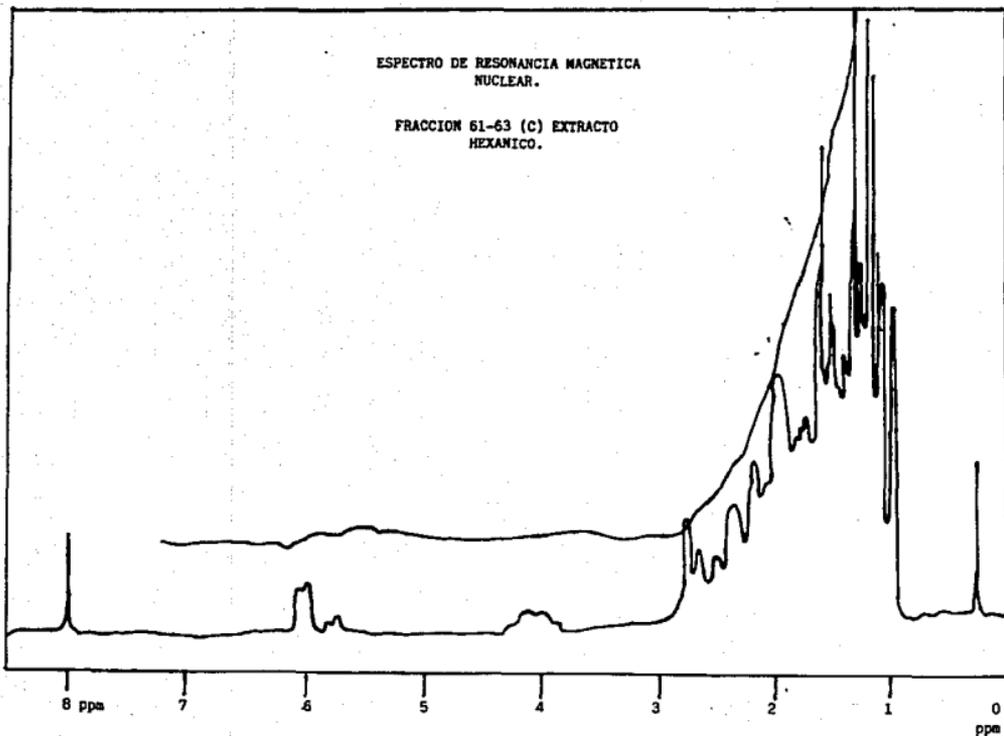
55

GRAFICA 8

56



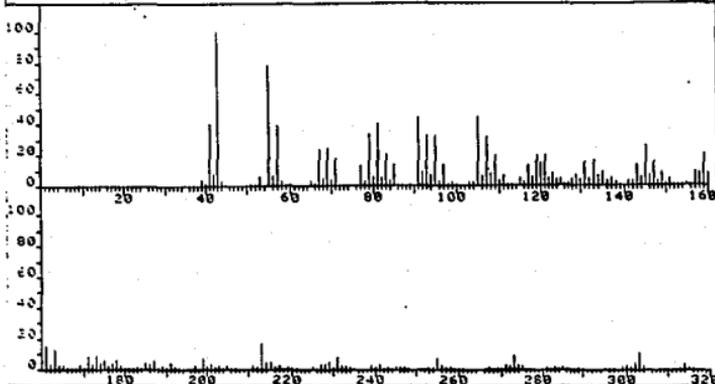
GRAFICA 9



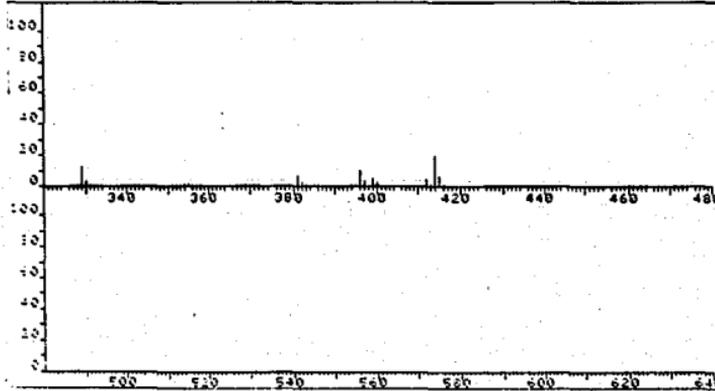
GRAFICA 10

ESPECTRO DE MASAS FRACCION 61-63 (C)
EXTRACTO HEXANICO.

FRN 6033	SPECTRUM 43	RETENTION TIME 3.0
LARGST 4: 43.1, 100.0	55.2, 78.0	105.2, 44.4
LAST 4: 413.3, 1.4	414.4, 19.5	415.2, 6.8
		91.2, 43.9
		416.3, 1.1
		PAGE 1 Y = 1.00



FRN 6033	SPECTRUM 43	RETENTION TIME 3.0
LARGST 4: 43.1, 100.0	55.2, 78.0	105.2, 44.4
LAST 4: 413.3, 1.4	414.4, 19.5	415.2, 6.8
		91.2, 43.9
		416.3, 1.1
		PAGE 2 Y = 1.00



GRAFICA 11

ANALISIS ESPECTROMETRICO
DE LA FRACCION D DEL EXTRACTO.
HEXANICO.

Fracción 123-124 (D)

Ultravioleta:

hexano
 máx

192 nm
h 222 nm
280 nm

Infrarojo:

- OH	3340	cm ⁻¹
C  H	{ 2930 2860	cm ⁻¹ cm ⁻¹
C = O	{ h 1740 1710	cm ⁻¹ cm ⁻¹
- CH ₂ -	1455	cm ⁻¹
CH ₃ -	1370	cm ⁻¹
C  O	{ 1110 1070	cm ⁻¹ cm ⁻¹

RMN:

CH ₃ -	{ 0.50 0.68 0.75 0.85 0.90	ppm ppm ppm ppm ppm
-------------------	--	---------------------------------

TABLA 11

RMN. (Cont):

- CH ₂ -		1.23	ppm	
- CH ₂ -	(Anillo)	1.5	ppm	(Doblete)
		1.75	ppm	(Doblete)
CH ₃ -	C=O	2.0	ppm	
- CH ₂ -	(Vecinos a C=O)	2.2	ppm	
		2.55	ppm	
H				
- C -	OH	3.5	ppm	

$ \begin{array}{c} R \\ \diagdown \\ C \\ \diagup \\ R \\ \\ H \end{array} - O - C = O $	$ \left\{ \begin{array}{l} 4.75 \\ 5.0 \end{array} \right. $	$ \begin{array}{l} \text{ppm} \\ \text{ppm} \end{array} $
---	--	---

Espectro de masas:

$$M^+ = 508$$

$$m/z = 99 \quad C_6H_{11}O$$

$$m/z = 43 \quad CH_3 - C = O$$

Fórmula Condensada:

C₂₈H₄₄O₈ Peso Molecular = 508

TABLA 11 cont.

Fórmula Desarrollada:

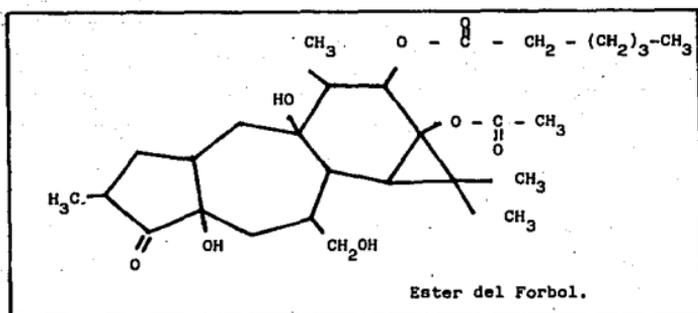
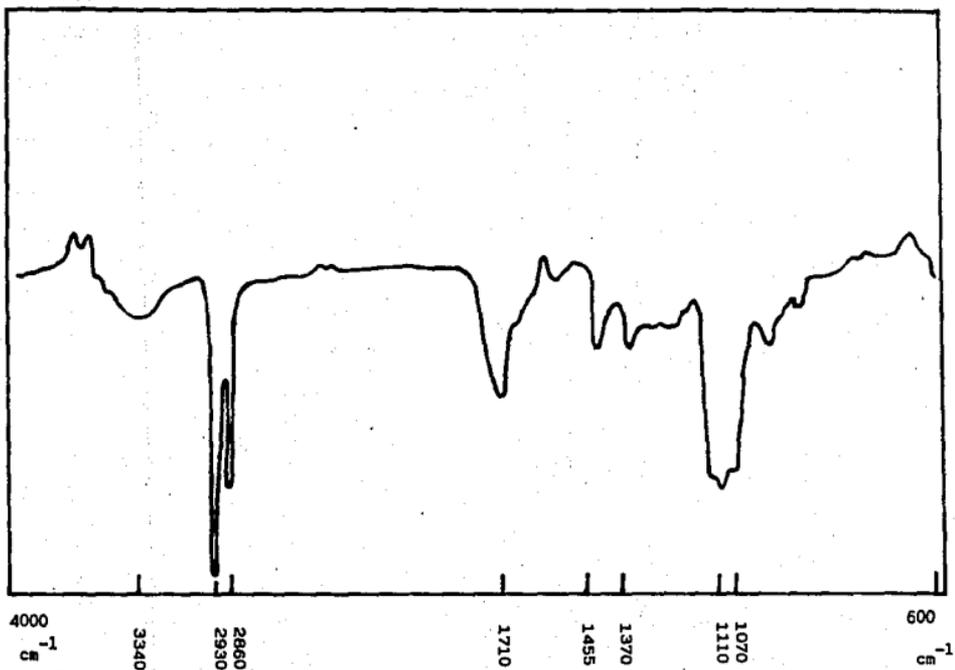


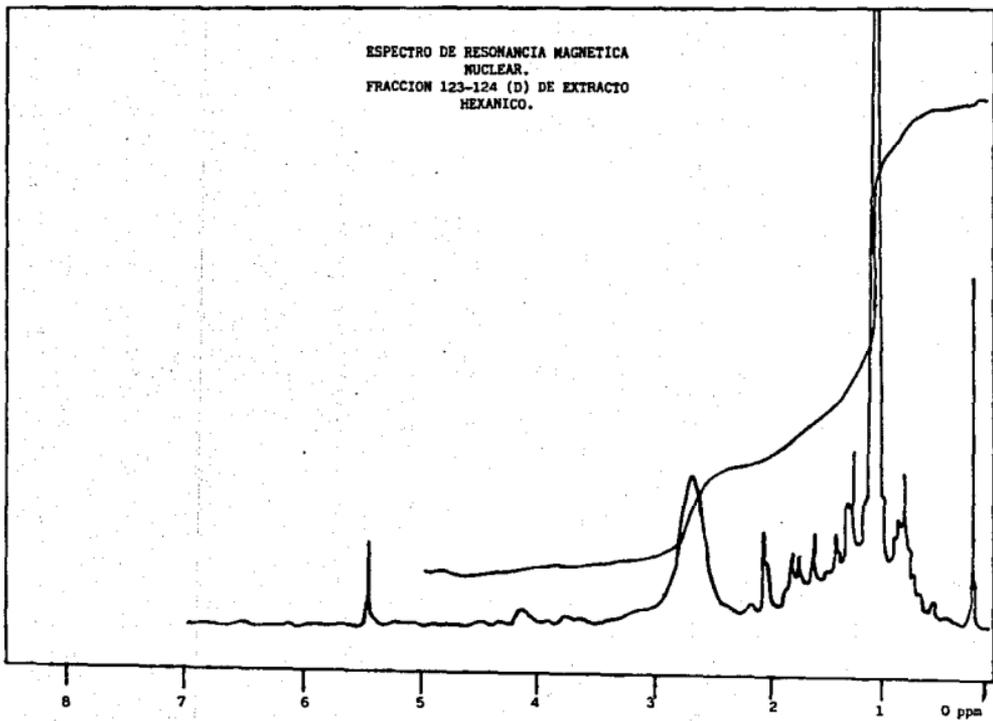
TABLA 11 cont.

ESPECTRO INFRAROJO
FRACCION 123-124 (D) DEL
EXTRACTO HEXANICO.

62



GRAFICA 12



GRAFICA 14

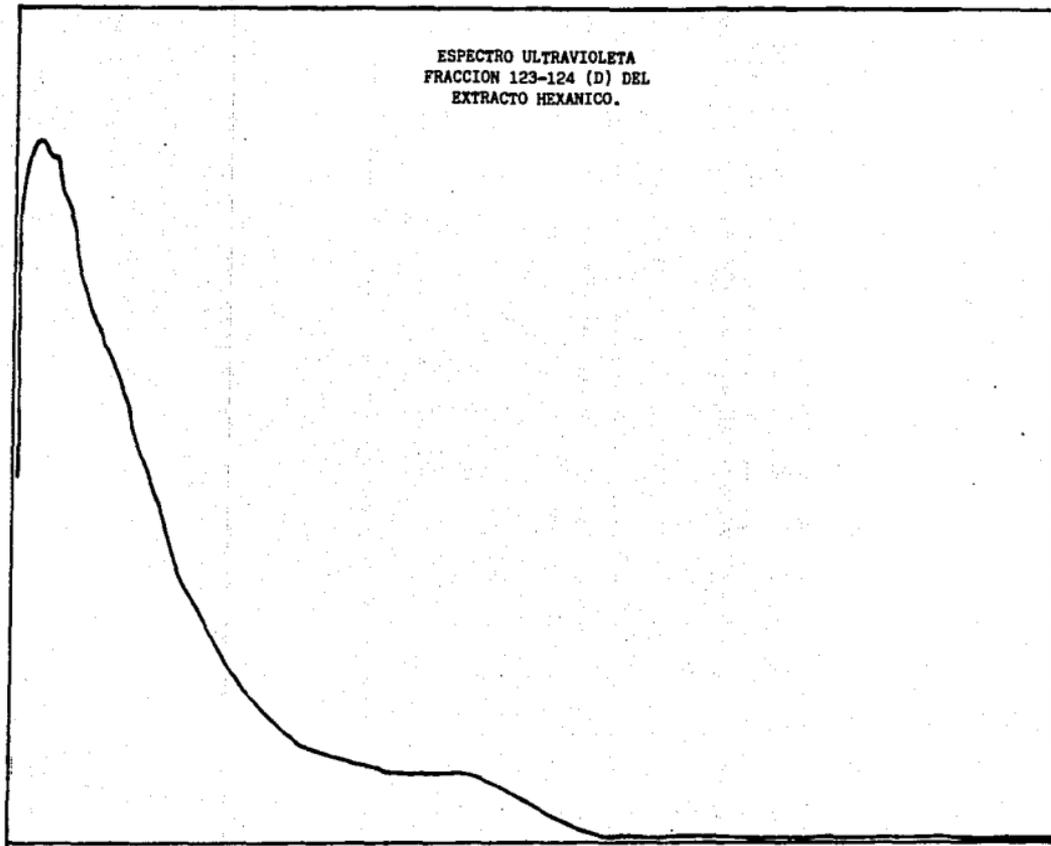
ESPECTRO ULTRAVIOLETA
FRACCION 123-124 (D) DEL
EXTRACTO HEXANICO.

63

190 nm

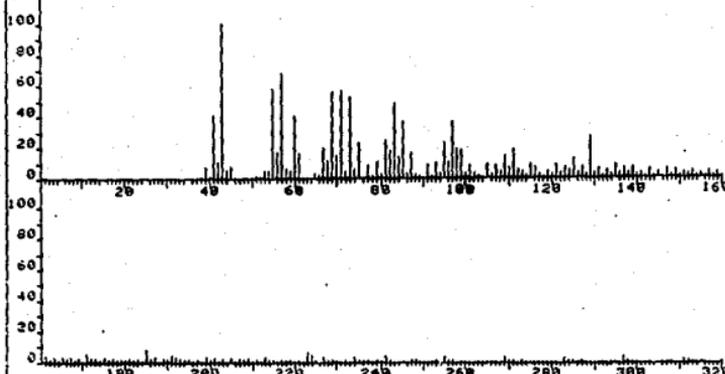
GRAFICA 13

450 nm

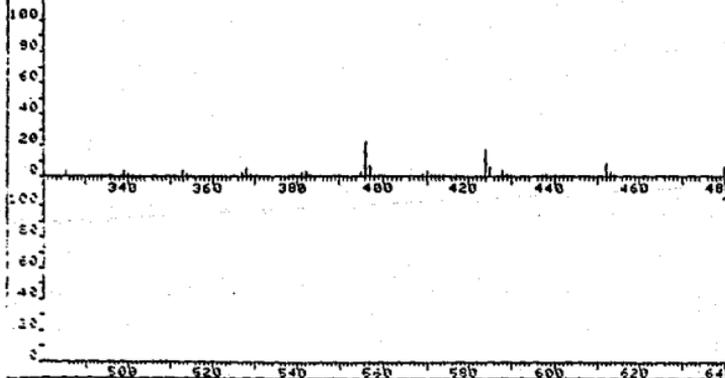


ESPECTRO DE MASAS
 FRACCIONES 123-124 (D) DEL EXTRACTO HEXANICO.

FRN 5035	SPECTRUM 27		RETENTION TIME 1.9	
LARGEST 4:	43.2, 100.0	57.1, 67.7	55.2, 58.2	71.1, 56.3
LAST 4:	466.4, .8	480.4, 5.8	481.4, 2.1	588.5, .6
				PAGE 1 Y = 1.00



FRN 5035	SPECTRUM 27		RETENTION TIME 1.9	
LARGEST 4:	43.2, 100.0	57.1, 67.7	55.2, 58.2	71.1, 56.3
LAST 4:	466.4, .8	480.4, 5.8	481.4, 2.1	588.5, .6
				PAGE 2 Y = 1.00



GRAFICA 15

VI. CONCLUSIONES.

Del análisis de los diferentes extractos se obtuvieron los siguientes com
puestos:

1.- De la extracción para alcaloides.

- a) Una amina alifática (compuesto A).
- b) Un derivado de la ciclohexenona (compuesto B)

2.- Del extracto hexánico.

- a) Una cera de P. M. = 474.
- b) Un alcohol derivado del ergosterol (compuesto C)
- c) Un ester del forbol (compuesto D).

VII. BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Abdul-Aguye, I., A. Sannusi, R. A. Alafiya-Tayo and S. R. Bhusnurmath. (1986). Acute toxicity studies with *Jatropha curcas*. Hum. Toxicol. 5 (4), 269-274.
- 2.- Adewunmi, C. O. and E. K. Adesogan. (1986). Toxicology of some Nigerian plants used in Schistosomiasis control. I the effect of molluscicides on molluscan hearts. Fitoterapia 57 (5), 353-358.
- 3.- Ahmed, O. M. M. and S.E.I. Adam. (1979). Toxicity of *Jatropha curcas* in sheep and goats. Res. vet. Sci. 27 (1), 89-96.
- 4.- Barri, M.E.S., Thorea O. Onsa, Alawia, A.E., Nhaid, Y.E., I. A. Wasfi, Ekhlas M. Abdul B. and S.E.E. Adam. (1983). Toxicity of 5 sudanese plants to young ruminants. J. Comp. Pathol. 93 (4), 559-576.
- 5.- Bustamante, M.G. (1986). Estudio químico de *Croton suberosus*. Tesis, Facultad de Ciencias U.N.A.M., México, D. F.

- 6.- Consoli, Rotraut, A.G.B., Nelymar M. Mendes, J.P. Pereira, Bernadete S. - Santos and Marlucia A. Lamounier. (1989). Influence of several plant extracts on the oviposition behavior of *Aedes aegypti* (Lutz) (Diptera: Culicidae) in the laboratory. Mem. wat. 84 (1), 47-52.
- 7.- Chen, Meng-Jing, Hou, Lin-Lin and Zhang Guo-Wen. (1988). The diterpenoids from *Jatropha curcas* L. Acta. Bot. Sin. 30 (3), 308-311.
- 8.- Cronquist, A. (1981). An Integrated System of Classification of Flowering Plants. New York, Columbia University Press.
- 9.- Guevara, F.P. (1988). Estudio químico comparativo de hojas y latex de cuatro especies del género Jatropha (Euphorbiaceae). Tesis, facultad de Ciencias, U.N.A.M., México, D. F.
10. Jimenez, R.J. (1982). Notas sobre las especies mexicanas del género Jatropha (Euphorbiaceae). Tesis, Facultad de Ciencias, U.N.A.M., México D. F.
11. Kosasi, S., L.A. T'Hart, H. Van Dijk and R.D. Labadie. (1989) Inhibitory activity of *Jatropha multifida* latex on classical complement pathway activity in human serum mediated by a calcium-binding proanthocyanidin. J. Ethno pharmacol 27 (1/2), 81-90.
12. Krebs, J. CH. (1985). Ecología. Estudio de la Distribución y la Abundancia México, Ed. Harla.

13. Martin, G. and A. Mayeux. (1984). Reflections on oil crops as sources of - energy: 2 curcas oil (Jatropha curcas) a possible fuel. Oleagineux. 39 (5) 238-267.
14. Noor, Laila and N.H. Khan. (1982). Studies on ninhydrin positive compounds present in some seeds. Daca. Univ. Stud. Part. B. 30 (1), 99-106.
15. Odebiyi, Olusheye, O. (1980). Antibacterial property of tetramethylpyrazine from the stem of Jatropha podagrica Planta Med. 38 (2), 144-146.
16. Odebiyi, O.O. (1985). Steroids and flavonoids from Jatropha podagrica stem bark, Fitoterapia. 56 (5), 302-303.
17. Ojewole, J.A.O. and Olusheye O. Odebiyi. (1984). Some studies on the pharmacology of tetramethylpyrazine an alkaloid from the stem bark of Jatropha podagrica. Fitoterapia. 55 (4), 213-226.
18. Ojewole, J.A.O. and O.O. Odebiyi. (1980). Neuromuscular and cardiovascular actions of tetramethylpyrazine from the stem of Jatropha podagrica. Planta Med. 38 (4), 332-338.
19. Ojewole, J.A.O. (1981). Effects of tetramethylpyrazine on isolated atria of the guinea pig. Planta Med. 42 (3), 223-228.
20. Tewari, J.P. and I.K. Shukla. (1982). Inhibition of infectivity of 2 strains of watermelon mosaic virus by latex of some angiosperms. Geobios (Jodhpur). 9 (3), 124-126.

21. Trease, G.E., Evans, W.CH. (1984). Farmacognosia. México. Cía. Editorial - Continental.
22. Villarreal, Ana María, Jorge Dominguez, Howard J. Williams, A. Ian Scott - and Joseph Reibnspies. (1988). Citlalitrione, a new diterpene from Jatropha dioica var. sessiliflora. J. Nat. Prod. (Lloydia) 51 (4), 749-753.



artes gráficas a su servicio

REP. DE BOLIVIA Nº 15 A CENTRO
MEXICO, 06020 D.F. TEL. 528-04-40