

80  
2. Guis



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA**

**ESTUDIO FITOQUIMICO DE DATURA  
SUAVEOLENS Y DATURA CANDIDA**

**T E S I S  
M A N C O M U N A D A**

**Que para obtener el Título de  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

**P r e s e n t a n**

**ADELA PAEZ CASTRO  
MA. ERNESTINA SANCHEZ GARCIA**



**1 9 8 5**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## C O N T E N I D O

1. INTRODUCCION
2. OBJETIVO
3. GENERALIDADES
4. PARTE EXPERIMENTAL
5. RESULTADOS
6. CONCLUSIONES
7. BIBLIOGRAFIA

# I N D I C E

	Página
CAPITULO 1	
INTRODUCCION -----	2
CAPITULO 2	
OBJETIVO -----	5
CAPITULO 3	
GENERALIDADES -----	6
3.1 Historia -----	7
3.2 Solanaceas -----	9
3.3 Alcaloides -----	16
3.4 Alcaloides del Tropano -----	21
3.5 Actividad Farmacológica -----	31
CAPITULO 4	
4.0 Esquema General de la parte experimental -----	36
4.1 Reactivos y Aparatos -----	37
4.2 Localización ,recolección e identificación del material biológico -----	39
4.3 Identificación cualitativa de alcaloides en el -- material biológico -----	42
4.4 Determinación cuantitativa preliminar de alcaloides totales -----	44
4.5 Selección de la parte de la planta con mayor -- contenido de alcaloides -----	51

	Página
a) Corola de <u>Datura suaveolens</u> Xochimilco -----	51
b) Hoja de <u>Datura suaveolens</u> Xochimilco -----	60
4.6 Acidos grasos y esteroides -----	67
CAPITULO 5	
RESULTADOS -----	73
CAPITULO 6	
CONCLUSIONES -----	101
CAPITULO 7	
BIBLIOGRAFIA -----	104

## **CAPITULO 1**

### **INTRODUCCION**

## 1. INTRODUCCION.

La obtención de fármacos utilizando los recursos naturales existentes en el país, resulta de capital importancia si se toma en consideración la severa crisis económica por la que atraviesa el país.

Dentro de este contexto, merece la pena señalar el hecho de que México importó atropina y escopolamina por valor de \$ 13,484.00 Dls. en 1983. Estos alcaloides se obtienen industrialmente por dos métodos.

1. Por síntesis.
2. Extracción de plantas pertenecientes a la familia de las Solanáceas.

Esta familia de las Solanáceas, cuenta con unos noventa géneros y más de dos mil especies distribuidas en zonas templadas y tropicales de toda la tierra. Muchas son originarias de Suramérica y se encuentran ampliamente distribuidas por toda la República Mexicana.

De la revisión bibliográfica realizada se concluye que estas plantas contienen alcaloides derivados del grupo tropano, en particular atropina y escopolamina. A nivel industrial se extraen de Datura stramonium que contiene de 0.2-0.7% y de Atropa belladonna que contiene 0.3 ó 0.4% en base seca de alcaloides totales.

Se considero pertinente realizar un estudio fitoquímico de Datura suaveolens y Datura candida en cuanto a la

cantidad de alcaloides totales y de manera más precisa, a la proporción en la que se encuentran la atropina y la es copolamina.



## **CAPITULO 2**

### **OBJETIVO**

## 2. OBJETIVO.

El presente trabajo tiene como objetivo el realizar el estudio fitoquímico de dos *Daturas* que crecen en México: *Datura suaveolens* y *Datura candida*, recolectadas en cuatro diferentes estados de la República Mexicana.

El estudio fitoquímico involucra tanto la investigación del % de alcaloides totales en las diferentes partes de la planta (corola, flor, hoja, tallo y raíz). como la proporción relativa de atropina y escopolamina presentes.

Si los resultados fueran satisfactorios, se podrá contar con una materia prima mexicana, para la obtención a nivel industrial de estos alcaloides.

## **CAPITULO 3**

### **GENERALIDADES**

### 3.1 HISTORIA.

Empujado, quizá por la imperativa necesidad de poner remedio a sus males, el hombre dirigió toda su atención al mundo vegetal, ya que si éste le proporcionaba alimentos y materias primas con que construir sus viviendas y herramientas, podía pensarse también que le fuera de gran utilidad para curar sus enfermedades, o mitigar un dolor determinado en su organismo.

El Hyosciamus niger (beleño negro) fué conocido por los egipcios quienes lo mencionaron en el papiro de Ebers (1500 a. de J.C.) y que fué utilizado en la Roma antigua y medieval en las bebidas mágicas.

La Datura suaveolens, Datura sanguinea, Datura candida, son plantas cultivadas. Generalmente proceden de América del Sur, del Perú, las cuales se han adaptado a los diversos climas que existen en México. La Datura candida la menciona el padre Acosta (1571 a 1578), en su Historia Natural y Moral de las Indias, pero sólo como ornamental digna de figurar en los jardines reales<sup>(20)</sup>.

Otros autores mencionan a estas Daturas como es el padre Cobo en su Historia del Nuevo Mundo (1653), dando una descripción de cómo eran empleadas las hojas machacadas aplicándolas calientes en forma de emplastos sobre la rotura de los huesos.

Las Daturas han sido utilizadas tanto en el Viejo

Mundo como en el Nuevo Mundo, en los ritos mágico-religiosos. En México se cultivan varias Daturas arbustivas Suramericanas que llevan el nombre general de floripondios.

La Datura stramonium cuyo verdadero origen permanece desconocido aún cuando, la mayor parte de los autores afirman que es originaria de Asia, naturalizada desde hace mucho en Europa y América. Otros al contrario creen que es nativa de América entre ellos el mismo Linneo, lo cierto es que esta planta se le conocía en el México prehispánico llamándola en lengua náhuatl con diferentes nombres: tlapatl, tolohuaxihuitl y toloatzin. En esta cultura la utilizaban no sólo para ritos mágicos; sino que tenía usos medicinales en especial para aliviar dolores reumáticos y reducir hinchazones; este uso aún persiste en diversas regiones de México<sup>(18)</sup>.

Entre las plantas mencionadas podemos considerar que las Daturas han tenido diversos usos en la medicina popular, porque lo mismo se han utilizado como eficaces medicamentos, que como tóxicos empleados por gente mal intencionada.

En el estado de Oaxaca hoy en día estas Daturas no sólo las cultivan por sus flores hermosas, sino para ser utilizadas en infusiones para diferentes usos.

### 3.2 SOLANACEAS.

Entre las dicotiledóneas se incluyen a las Solanaceas, que constituyen una importante familia de plantas herbáceas; también las hay leñosas con una cantidad aproximada de unas 1700 a 2000 especies, propias de los países cálidos y templados<sup>(21)</sup>.

A esta familia pertenecen plantas como la patata o papa (Solanum tuberosum), el tomate (Solanum lycopersicum), el pimiento (Capsicum annum), la berenjena (Solanum melongena), y desde luego las Daturas<sup>(22,3)</sup>.

Esta familia tiene las siguientes características botánicas: las hojas son esparcidas alternas con excepción de la región floral lobuladas y raramente compuestas; flores solitarias o en inflorescencia, actinomorfas, hermafroditas, con cinco y hasta siete estambres, insertados en el tubo de la corola.

La corola es pentalobulada de una pieza la cual tiene forma de un embudo, lo que permite quedar abierta a todos los insectos abejas, mariposas y avispas. Filamentos cortos y largos, anteras con dehiscencia longitudinal; pistilo bicarpelar, estilo alargado con estigma bilobulado, el cáliz persistente y de cinco sépalos, el fruto es una cápsula o una baya<sup>(22, 23, 18)</sup>.

El nombre genérico Datura deriva del nombre de veneno,

o dhat en Grabe y que se prepara a partir de especies indias<sup>(17)</sup>.

Dependiendo de la descripción que se tiene de éstas se les ha incluido, en la familia de las Solanaceas; existen en México unas 300 especies aproximadamente, éstas llevan el nombre general de floripondios, se encuentran tanto en climas cálidos como en climas húmedos<sup>(21)</sup>.

Datura stramonium L.

Esta planta se le conoce con diferentes sinónimos entre los que se encuentran: hierba hedionda, higuera loca, manzana espinosa, chamico, clarín (Cuba, toloache, cabeza inclinada (haciendo referencia a su fruto), tapete, tlápatl, hierba de diablo, tohku, ñonque, etcétera<sup>(18)</sup>.

Es una planta anual, a menudo cultivada, de olor desagradable que alcanza una altura de 0.5-1 m., su tallo es hueco y se divide en 2 a 3 ramas verdes que a su vez se bifurcan y son portadores de hojas alternas de forma oval-aguda en su conjunto con lóbulos desiguales y en punta primero vellosas y después glabras; de unos 10 a 12 cm por 6-8 cm de color verde fuerte en la parte superior y verde pálido en la inferior y de olor desagradable.

Las flores aparecen en las bifurcaciones de las ramas soportadas por cortos pedúnculos, cada flor esta formada por un cáliz verde, de 5 dientes, por una corola de 8 a 10 cm, de color blanco con leve tinte violáceo, solitarias con pedúnculos muy cortos, el cáliz es de color verde con cinco dientes por una corola. Los estambres son 5 insertados en el tubo de la corola. El ovario es



DATURA CANDIDA



tetralobular, en la parte inferior y bilocular cerca del ápice

El fruto es una cápsula de 4 valvas, espinosas, con las espinas inferiores más cortas que las superiores. Las semillas son aplastadas, negro parduscas la cantidad total de alcaloides varía en las diversas partes de la planta y se encuentran desde una concentración de 0.2% hasta 0.7% (18,20,3).

#### Datura candida

Esta *Datura* tiene diferentes sinónimos Brugmancia candida, Datura arborea, Datura aurea, Brugmancia aurea, Brugmancia arborea, Datura affinis, Datura pittieri, Floripondio, borrachero, etcétera.

Es un arbusto o árbol pequeño que mide de 3-6 m. de alto, con hojas oblongo-elípticas, a menudo finamente vellosas; el limbo mide 10-40 cm de largo y de 5-16 cm de ancho, nace de un pecíolo, que puede medir hasta 13 cm de longitud. Las flores están inclinadas completamente pendulosas miden 18-23 cm de largo, son muy aromáticas, en especial por las mañanas, la corola tiene forma de trompeta, es blanca o amarillo oro hacia la boca de su parte basal es delgada y está completamente encerrada por el cáliz. El fruto es ovoide -elongado, liso, verde y variable en tamaño (19).



Datura suaveolens.

Sinónimo Datura gardneri. Arbusto de 2-4 m de alto, muy ramificado en la parte superior, tallos blandos, succulentos; hojas alternas, pecioladas, margen entero, aovadas o elípticas -aovadas, con el apice acuminado, lámina de 12-24.5 cm de largo, 4-8.5 cm de ancho, pecíolo delgado, 1.5-6 cm de largo; flores pedúnculas, cáliz tubular verde amarillento 11-17.5 cm. de largo, 2.3-2.5 cm de ancho, corola blanca, rojiza o rosada, la flor mide 36 cm. de largo.

Atropa belladonna.

La palabra ((atropa)), empleada para designar el género al cual pertenece la belladonna, deriva de una palabra griega sinónima de la ((parca)) encargada de cortar el hilo de la existencia humana, nombre que le fué asignado sin duda alguna a causa de los envenenamientos que era susceptible de provocar. En cuanto al nombre de belladonna deriva del italiano belladonna que quiere decir "dama hermosa", por el uso que hacían de sus frutos las mujeres italianas, para dilatar las pupilas de sus ojos y dar a su rostro un aspecto más bello<sup>(18)</sup>.

Es una planta herbácea y perenne muy ramificada, mide hasta 1.5 m. de alto, las hojas alcanzan una longitud de 20 cm., son simples no estipuladas, alternas en la parte inferior y dispuestas por pares, una más grande que la

otra al mismo lado del eje, sobre las ramas que llevan las flores solitarias, colgantes, campanuliformes de color café -púrpura, de aproximadamente 3 cm de longitud, produce bayas negras, lustrosas de 3-4 cm. de diámetro. Todas las partes de la planta contienen alcaloides principalmente hiosciamina, el contenido total de alcaloides en las hojas es de 0.4%, en las raíces de 0.5% y de 0.8% en las semillas<sup>(3,18)</sup>.

Hyoscyamus niger.

El beleño es una hierba herbácea gruesa anual o bi-anual, pegajosa, vellosa, de olor fuerte que mide aproximadamente 76 cm. de alto. Las hojas enteras u ocasionalmente con unos pocos dientes, ovadas, de 15-20 cm. de largo oblongas. Las flores son amarillas o amarillo verdosas, veteadas de púrpura; alcanzan una longitud de cerca de 4 cm, nacen en dos filas en la cima. El fruto es una cápsula de muchas semillas encerrada en el cáliz persistente, con sus cinco puntas trianguladas, que adquieren una consistencia rígida.

El contenido de alcaloides totales oscila de 0.05 y 0.2%<sup>(4)</sup>.

### 3.3 Alcaloides.

Los alcaloides constituyen un grupo muy heterógeno de bases vegetales nitrogenadas con acción fisiológica sobre el hombre y animales<sup>(1,2)</sup>.

Los alcaloides muestran una gran variedad en su estructura. Contienen por lo menos un átomo de nitrógeno, con pocas excepciones. Las bases púricas y pirimídicas están excluidas del grupo de alcaloides por carecer de acción fisiológica notable y por sus relaciones bioquímicas con los ácidos nucleicos<sup>(1)</sup>.

Los alcaloides se encuentran en diferentes familias de vegetales como son las Papaveraceas (adormidera ó amapola), Papilionaceas (altramuses, retamas), Ranunculaceas (acónitos), Solanaceas (tabaco, patata, belladona) y Rubiaceas (quina, café, ipecacuana)<sup>(3)</sup>.

Generalmente los alcaloides se encuentran localizados en diferentes partes de las plantas, siendo usual que en cada lugar se encuentren varios alcaloides estrechamente relacionados entre sí; estos se encuentran casi siempre en forma de sales con ácidos vegetales comunes como el ácido acético, ácido oxálico, ácido láctico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico o con ciertos ácidos especiales como el ácido fumárico, ácido aconítico, etcétera. Otros en cambio aparecen en forma de glucósidos de la ramnosa, galactosa y glucosa, otros existen libres en forma de ésteres de ácidos orgánicos<sup>(1,5)</sup>.

De las plantas monocotiledoneas se han aislado 488 alcaloides, de las dicotiledoneas se han obtenido unos 3600, alcaloides diferentes de las plantas gimnospermas se han aislado unos 115 alcaloides <sup>(1)</sup>.

Las angiospermas constituyen la fuente de la mayor parte de los productos medicinales de origen vegetal; en tre ellas se encuentran los alucinógenos y narcóticos, utilizados por el hombre <sup>(3)</sup>.

Casi todos los alcaloides presentan actividad óptica, siendo casi todos levógiros, aunque su poder rotatorio varíe según el disolvente empleado.

La mayoría de los alcaloides son sólidos incoloros algunos como la nicotina, confina y esparteína son líquidos o presentan coloración como la berberina la cual es amarilla, otras como las sales de la sanguinaria son de color rojo cobre <sup>(5,1,2)</sup>.

Los alcaloides son poco solubles en agua y solubles en disolventes orgánicos como éter, benceno, cloroformo, éter de petróleo, alcohol etílico, alcohol metílico, etcétera <sup>(5,6,1)</sup>.

La basicidad de los alcaloides es muy variable pues mientras unos son bases fuertes como la nicotina otros son bases débiles como la cafeína o la piperidina <sup>(1)</sup>.

No se sabe que función pueden tener estas sustancias especiales en la vida de las plantas. Como la mayor parte de los principios psicoactivos de las plan-

tas alucinógenas contienen nitrógeno, esto a hecho pensar que pueden ser productos de desecho del metabolismo, siendo su propósito eliminar el exceso de nitrógeno<sup>(1)</sup>.

Sin embargo, no todas las plantas contienen constituyentes nitrogenados semejantes lo cual no concuerda con esta teoría.

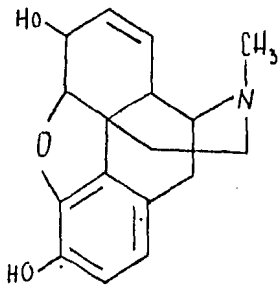
Una gran cantidad de los compuestos psicoactivos son tóxicos, si se toman en dosis altas o prolongadas, por lo que se ha dicho que podrían servir a la planta como protección frente a los ataques predatorios de insectos y animales herbívoros.

Esta teoría es también poco convincente, porque muchas plantas venenosas sirven de alimento a los animales que son inmunes a sus constituyentes tóxicos.

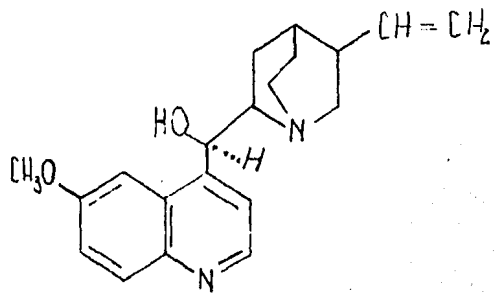
Algunos pueden intervenir en el crecimiento del vegetal por su capacidad de formar quelatos o mediar en fenómenos de óxido-reducción del vegetal<sup>(1,3)</sup>.

Estructura de algunos alcaloides representativos.

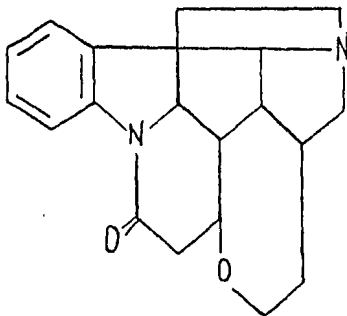
La enorme variación en cuanto a su estructura química se puede apreciar en el siguiente cuadro:



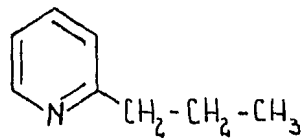
Morfina



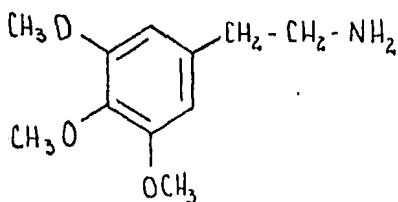
Quinina



Estricnina

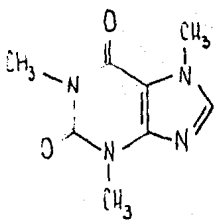


Coniina

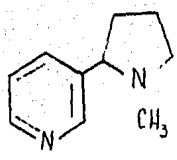


Mezcalina

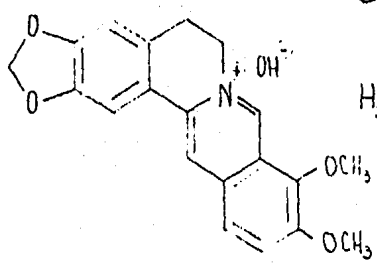




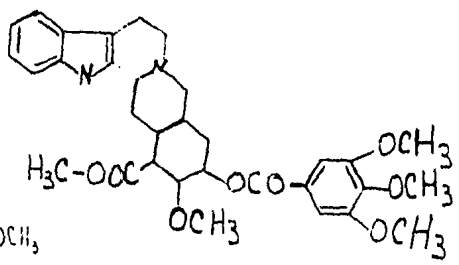
Cafeína



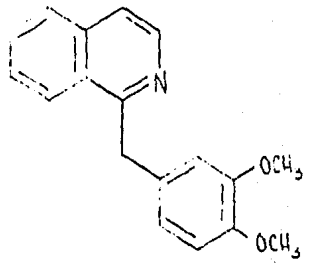
Nicotina



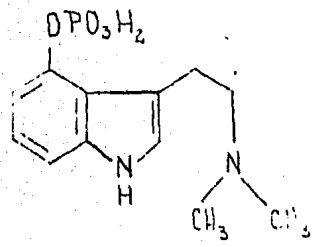
Berberina



Reserpina



Papaverina



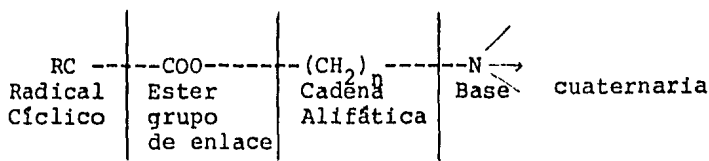
Psilocibina

### 3.4 Alcaloides del Tropano.

Los alcaloides del grupo del tropano se encuentran en plantas pertenecientes a la familia de las Solanaceas Datura stramonium; Hyoscyamus niger; Atropa belladonna, etcétera<sup>(3)</sup>, de donde son extraídos con agua, ácidos diluídos y en forma de bases libres con disolventes orgánicos como éter, cloroformo, éter de petróleo, alcohol etílico y alcohol metílico<sup>(4)</sup>.

Los alcaloides representativos de este grupo son atropina, escopolamina y cocaína. Poseen una estructura común formada por:

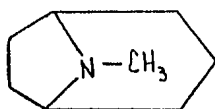
1. Un radical cíclico, aromático o heterocíclico, único o múltiple.
2. Un grupo de enlace generalmente una función éster.
3. Una base que puede ser una amina terciaria o un compuesto de amonio cuaternario.



Estos compuestos son ésteres formados por la unión de un ácido aromático y una base que generalmente es una amina terciaria.

En todos los casos el ácido es el trópico y la base es, para la atropina y la hiosciamina, el tropanol, 3-hidroxitropano ó tropina y para la cocaína la base corres

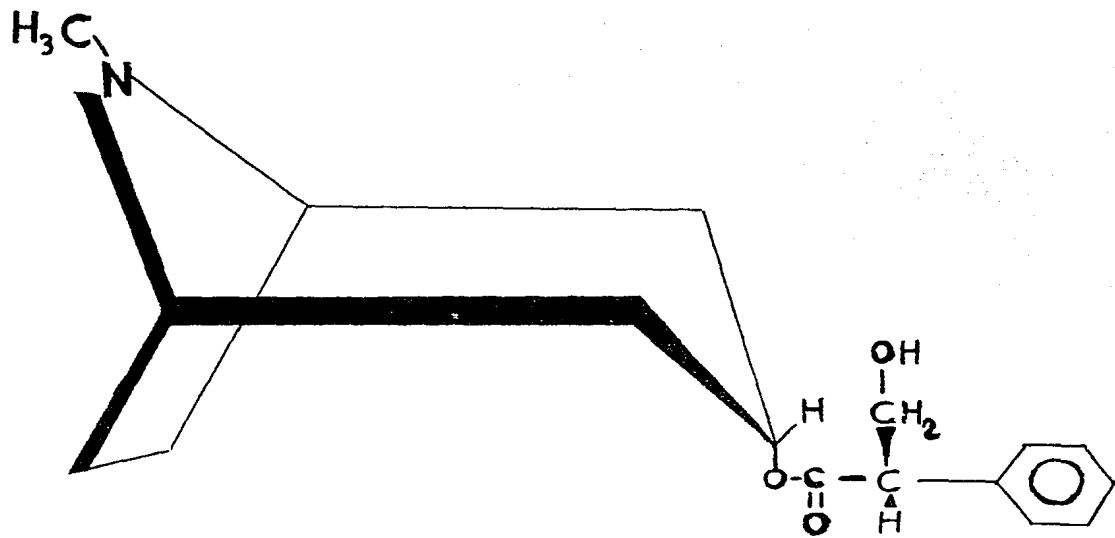
pondiente es la ecgonina. Para la escopolamina, la base es la escopina u oscina que se diferencia de la tropina, por la presencia de un epóxido entre los carbonos 6 y 7<sup>(11)</sup>. Los alcaloides del tropano derivan de la base fundamental Nortropano que es un azabicyclo [3.2.1] octano o llamado comunmente tropano<sup>(6,11,13)</sup>. El cual es un anillo de 7 átomos de carbono con un puente interior de nitrógeno.



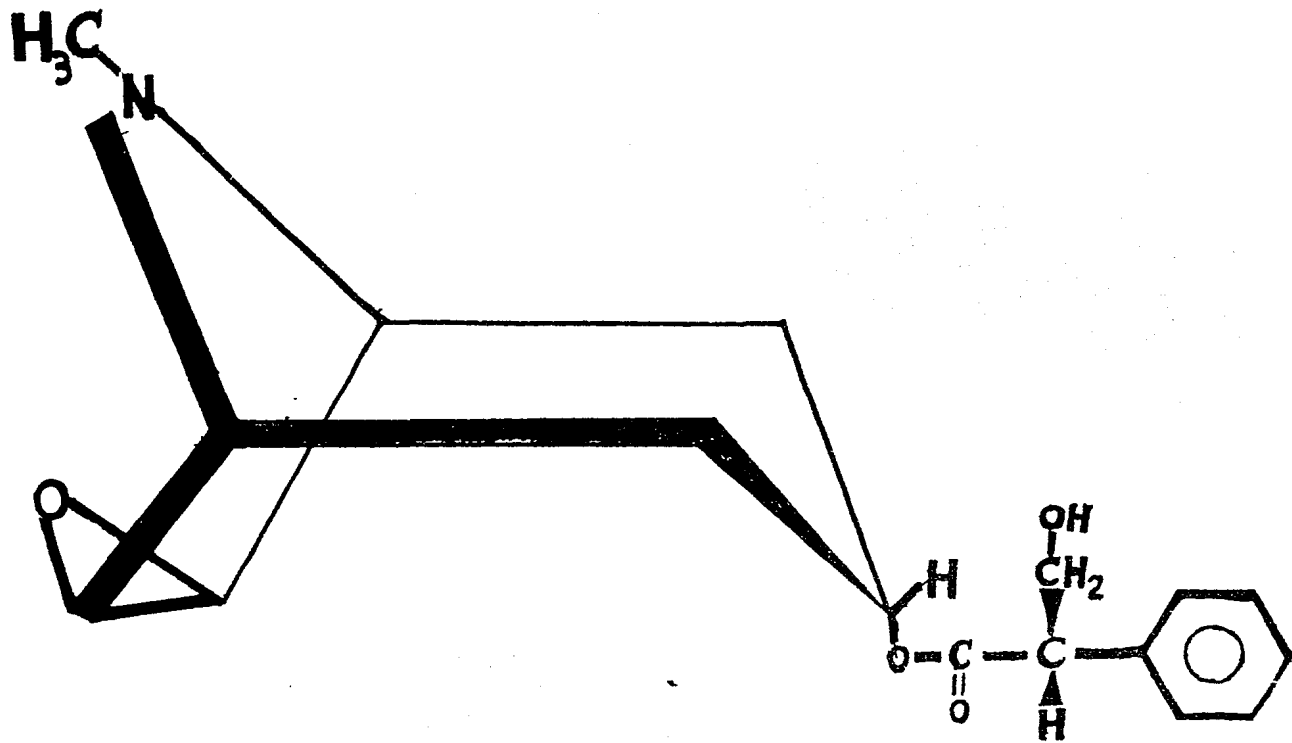
Los miembros del grupo del tropano son ésteres de aminoalcoholes a excepción de la oscina. Todos pueden re-esterificarse para dar el alcaloide original<sup>(7)</sup>.

Una gran cantidad de alcaloides del tropano dan como productos de hidrólisis, utilizando barita o ácidos minerales, aminoalcoholes monohidroxilados como es la tropina, pseudotropina y nortropina. También puede dar aminoalcoholes dihidroxilados como la valerina o también compuestos trihidroxilados como la teloidina.

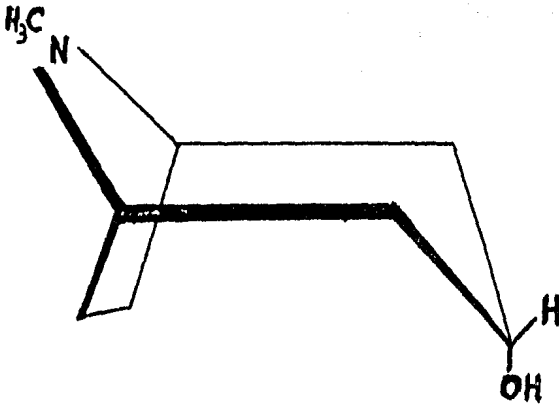
Los ácidos que se encuentran como productos de la hidrólisis varían desde ácidos alifáticos de cinco átomos de carbono como son el 2 y 3-metilbutírico y el ácido tíglico, hasta ácidos aromáticos como el ácido benzóico, verátrico y vanilínico, otros también como el trópicico y cinámico.



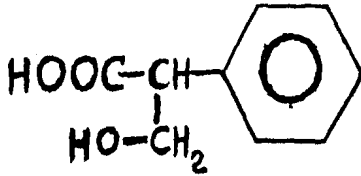
ATROPINA



ESCOPOLAMINA



TROPINA

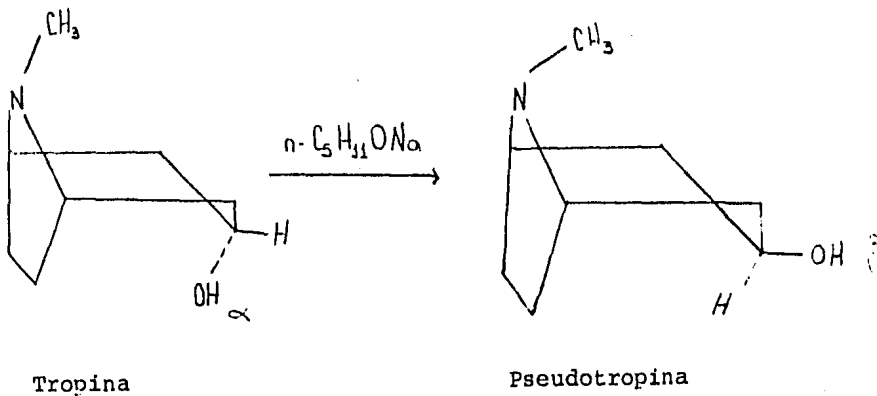


ACIDO TROPICO

La atropina es racémica y está formada por l y d-hiosciamina este alcaloide es por lo tanto la hiosciamina racémica.

Por hidrólisis la atropina da el ácido d,l-trópicico y el alcohol secundario tropina que tiene un plano de simetría y por tanto es ópticamente inactiva. El alcaloide isómero l-hiosciamina se hidroliza dando ácido l-trópicico y tropina; el calentamiento o tratamiento con álcalis convierte a la hiosciamina en atropina<sup>(7,8)</sup>, que al reducirla no solamente regenera la tropina sino que se produce su epímero o pseudotropina, la cual puede formarse directamente por epimerización de la tropina, cuando ésta se hierve a reflujo con solución de amilato de sodio. Esta reacción indica que la tropina es menos estable que la pseudotropina y por consiguiente que el grupo oxidrilo se encuentra en posición axial (alfa), respecto al anillo de piperidina, con la conformación de silla en la tropina, mientras que la pseudotropina es ecuatorial (beta)<sup>(8)</sup>.

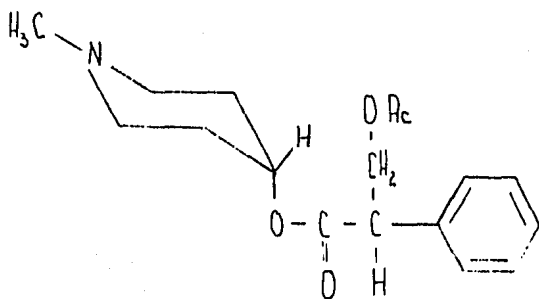
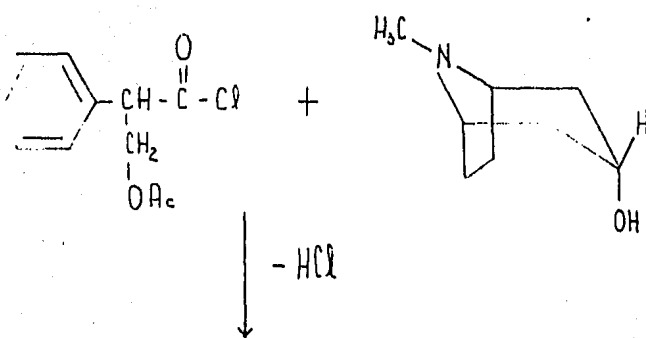
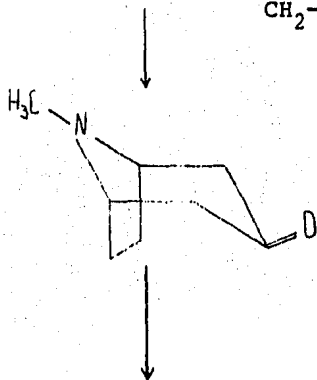
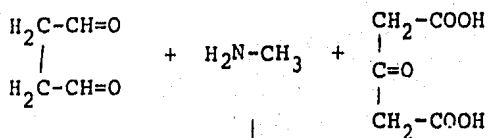
El nombre genérico que se les da a los ésteres de la tropina es el de tropeínas<sup>(7)</sup>.



La atropina se puede obtener también por síntesis siendo la más práctica la de Robinson con dialdehído suc cínico, metilamina y ácido acetondicarboxílico, que da en un sólo paso tropinona.

La reducción de la tropinona da tropina, que por re-esterificación con cloruro de acetiltropoilo da acetila-tropina, la cual por medio de una hidrólisis selectiva da atropina<sup>(7)</sup>.





hidrólisis

Atropina



La escopina es convertida, por bases, en oscina esto indica que la escopina es el producto primario de la hidrólisis del alcaloide, mientras que la oscina es un producto de transformación.

La cocaína, otro de los alcaloides derivados del tropano, se extrae de Erytroxylum coca y al hidrolizarse, en solución ácida, produce metanol, ácido benzoico y ecgonina, la cuál se reconoce como carboxitropina<sup>(7,8,1)</sup>.

La ecgonina contiene un grupo de amina terciaria con un N-metilo, un grupo carboxilo, y otro de alcohol secundario.

Por oxidación produce la tropinona, después de descarboxilarse, el  $\beta$ -cetoácido intermedio, que es el producto primario de la oxidación del  $\beta$ -oxiácido original. La ecgonina se epimeriza en C<sub>2</sub>, por acción de los álcalis, dando la pseudoecgonina<sup>(8,1)</sup>.

Otros alcaloides del grupo del tropano son: convolvamina, convolvina, poroidina, isoporoidina, tropococaína y tigloidina.

### 3.5 Actividad Farmacológica.

La atropina y escopolamina poseen dos acciones fundamentales: a) anticolinérgica o para simpaticolítica, bloqueando la acción muscarínica de la acetilcolina; b) acción sobre el sistema nervioso central estimulante o depresora, según el caso<sup>(13)</sup>.

La atropina y la escopolamina son antagonistas competitivos de la acetilcolina a nivel de los lugares receptores en músculo liso, cardíaco y diversas células glandulares<sup>(2)</sup>.

La atropina produce en el ojo midriasis (dilatación de la pupila) por administración sistémica o por aplicación local, y en este caso, los efectos quedan confinados en un sólo ojo.

La atropina en dosis de 0.5 mg provoca habitualmente disminución de la frecuencia cardíaca, a dosis mayores, de 1 a 2 mg la frecuencia aumenta pudiendo llegar a 150 pulsaciones por minuto en el hombre. Las dosis pequeñas de atropina no modifican la presión arterial, las dosis medianas pueden elevarla, mientras que a dosis altas, la presión cae por depresión del centro vasomotor. Si bien las dosis terapéuticas de atropina pueden aumentar algo la frecuencia y amplitud de la respiración, cuando el centro respiratorio está deprimido, la atropina no es capaz de estimularlo. Por el contra-

rio, a dosis altas deprimen este centro y la muerte por intoxicación atropínica se produce por parálisis de la respiración.

La escopolamina a dosis terapéuticas no deprime el centro respiratorio, puede estimularlo un poco, a dosis altas, se deprime este centro respiratorio produciéndose la muerte por intoxicación. Ambos alcaloides son potentes inhibidores de la secreción de las glándulas sudoríparas.

La atropina provoca generalmente estimulación de los centros cerebrales y bulbares a dosis terapéuticas, a dosis tóxicas, provoca inquietud, agitación, risas, alucinaciones y delirio, lo que se ha comparado con la ebriedad alcohólica, las dosis altas llevan siempre al final a fenómenos de depresión que llegan al coma y a la muerte por parálisis del centro respiratorio.

En cambio la escopolamina es un depresor central aún en dosis terapéutica produce sedación, somnolencia, amnesia y sueño aunque en ocasiones produce alucinaciones, delirio y aun excitación, las dosis altas deprimen los centros bulbares y la muerte se produce por parálisis de éste.

Ambos alcaloides se absorben en el tracto gastrointestinal por las vías parenterales, por aplicación a las mucosas, incluidas las del ojo y parcialmente por la piel intacta. Una vez absorbidas la atropina y escopolamina pa-

san a la sangre y a todos los tejidos, se metabolizan parcialmente en el hígado y el resto se excreta en la orina. Las dosis administradas de atropina se excretan en 24 horas, el 50% en forma intacta y el resto como metabolitos inactivos, muy poca pasa a la leche materna.

La atropina y escopolamina poseen acción antiparkinsoniana ya que son capaces de inhibir los trastornos como la rigidez y el temblor. Mejoran la marcha, la palabra y la actividad muscular; ambos alcaloides son útiles, aunque se acostumbra más emplear la escopolamina<sup>(15,14,16,13)</sup>.

**CAPITULO 4**

**PARTE EXPERIMENTAL**

## Esquema General de la Parte Experimental

- 4.1 Reactivos y aparatos.
- 4.2 Localización, recolección e identificación del material biológico.
- 4.3 Identificación cualitativa de alcaloides en el material biológico.
- 4.4 Determinación cuantitativa preliminar de alcaloides totales.
  - a) Acido base residual.
  - b) c.c.d.
- 4.5 Selección de la parte de la planta con mayor contenido de alcaloides.
  - a) Corola de Datura suaveolens Xochimilco.
  - b) Hoja de Datura suaveolens Xochimilco.



## a) Corola de Yochimilco

Desengrasar la muestra  
 Preparación de la muestra  
 Extracción de alcaloides  
 Separación y purificación  
 de alcaloides por cromatografía  
 de columna de alumina y placa  
 preparativa.  
 Identificación de alcaloides

## b) Hoja de Yochimilco

Desengrasar la Muestra  
 Preparación de la muestra  
 Extracción de alcaloides  
 Formación de reineckatos  
 Separación y purificación  
 de alcaloides por cromatografía  
 de columna aniónica y placa  
 preparativa.  
 Identificación de alcaloides

Por

Cromatografía en  
 Capa Delgada

Espectroscopía de  
 Infrarrojo

Espectroscopía de  
 Resonancia Magnética  
 Nuclear Protónica

#### 4.1 Reactivos y Aparatos.

##### a) Disolventes empleados.

Los disolventes empleados en la realización de este trabajo fueron proporcionados por el cuarto de destilación de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Química, U.N.A.M.

Los disolventes grado reactivo analítico empleados son de la Casa Merck.

b) Adsorbentes: para las cromatografías en capa delgada se utilizó Gel de Sílice GF<sub>254</sub> de la Casa Merck.

Los adsorbentes utilizados en las columnas son:

1) Resina aniónica de la Casa Merck. 2) Alúmina Básica tipo D5-F de Fluka. 3) Cromatofolios Al de Óxido de aluminio 60F<sub>254</sub> neutro (tipo E) para cromatografía en placa delgada de la Casa Merck. 4) Placas preparativas de Gel de Sílice GF<sub>254</sub> de la Casa Merck.

##### c) Aparatos.

Los espectros de infrarrojo se determinaron en la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Química en un espectrómetro Perkin Elmer 237, en película.

Las frecuencias están dadas en  $\text{cm}^{-1}$ .

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear se determinaron en la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Química en un espectrómetro Varian modelo EM-390.

#### 4.2 Localización, recolección e identificación del material biológico.

Las plantas utilizadas en el presente trabajo, se recolectaron en los estados de: Guerrero, Morelos, Oaxaca y en el Distrito Federal.

Las muestras biológicas fueron clasificadas por la bióloga Hilda Flores del Instituto de Biología de la U.N. A.M.

##### a) Xochimilco D.F.

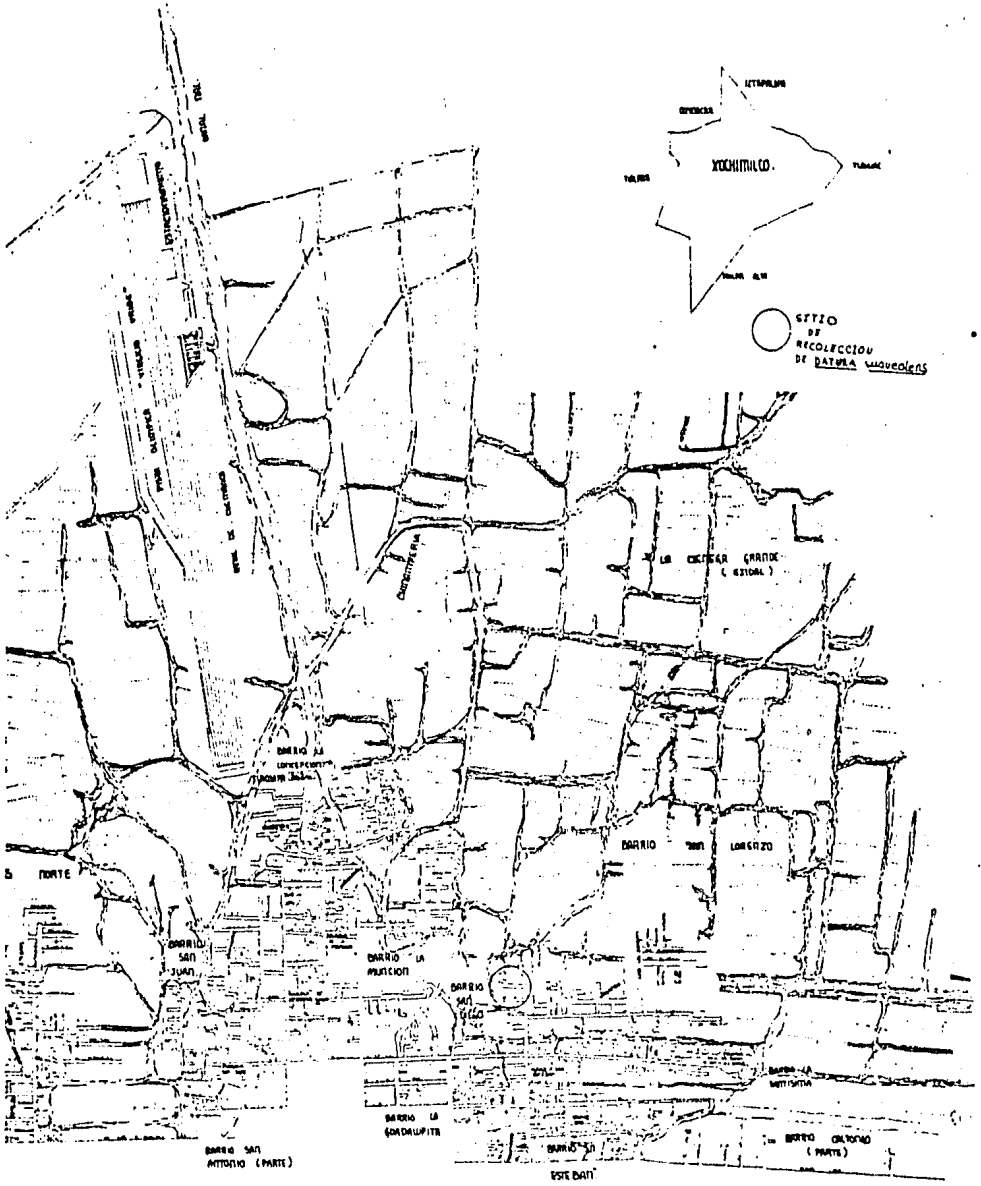
Se recolectó en Dalia Callejón Cortespan No. 1 barrio San Lorenzo (Ver Mapa) en la huerta particular del señor Angel Sánchez Cortés en donde se encontraron 40 árboles de Datura suaveolens en una área de 500 m<sup>2</sup>. Toda la muestra se recolectó en el mes de julio de 1983.

##### b) Huitzila Morelos.

Se recolectó a la orilla de la carretera federal México-Cuernavaca a la altura del kilómetro 60 que atraviesa este pueblo en una área de 2 Km. Encontrándose sólo en gran cantidad Datura candida y en poca cantidad Datura suaveolens. Toda la muestra de este lugar, se recogió en el mes de julio de 1983.

##### c) Taxco Guerrero.

Se recolectó Datura suaveolens en los alrededores de la ciudad de Taxco Guerrero en una área de 3 kilóme-



tros y Datura candida en una huerta particular en una área de 1.5 kilómetros, localizada en el pueblo de Landa Taxco Guerrero que se encuentra localizado a 5 kilómetros de la ciudad de Taxco Guerrero. En este estado se recolectó mayor cantidad de Datura candida. Toda la muestra botánica se recolectó en el mes de julio de 1983.

d) El Tule Oaxaca

El material botánico se recolectó en el poblado de Santa María el Tule Oaxaca, que se encuentra localizado a 10 kilómetros de la ciudad de Oaxaca sobre la carretera Federal Oaxaca -Tehuantepec, recolectándose dos variedades: 1) Datura suaveolens y 2) Datura candida, las dos en gran cantidad. Todas las muestras botánicas se recolectaron en el mes de abril de 1983.

#### 4.3 Identificación cualitativa de alcaloides en el material biológico.

Teniendo la información acerca de que las Daturas contienen alcaloides se procede a comprobar la presencia de éstos, con dos pruebas características para la identificación cualitativa de alcaloides en las muestras a estudiar.

a) Reacción de Dragendorff.

b) Reacción de Mayer.

a) Reacción de Dragendorff.

Se pesan aproximadamente dos gramos de muestra seca y finamente molida, se basifica con 1 ml de hidróxido de amonio al 25%, se deja por espacio de 24 horas en la campana, con la finalidad de eliminar el exceso de hidróxido de amonio. Posteriormente se agregan 10 ml de cloroformo, se deja en maceración durante 24 horas. Cumplido ese tiempo, se decanta y se filtra.

Del filtrado se toman 2 ml, se transfieren a un embudo de separación, esta fase, que contiene los alcaloides, se extrae con 2 ml de ácido clorhídrico al 5%. Se toma 1 ml de la fase acuosa en un tubo de ensaye y se le agregan unas gotas del reactivo de Dragendorff, la presencia de un precipitado de color rojo-ladrillo, indica que existen alcaloides en la muestra.

b) Reacción de Mayer.

De la fase acuosa (prueba anterior), se toma 1 ml

se le agregan unas gotas de reactivo de Mayer, la presencia de un enturbamiento blanco en la solución, indica la presencia de alcaloides en la muestra.

En caso de que el filtrado sea de color verde oscuro, se realiza con éste, una extracción ácido-base y posteriormente se procede a realizar la prueba.

Los resultados de este análisis cualitativo realizados con cada una de las muestras recolectadas en los 3 estados de la República y en el Distrito Federal, se muestran en el cuadro número 1.

En todos los casos se utilizó como estándar atropina y escopolamina.



#### 4.4 Determinación Cuantitativa Preliminar de alcaloides totales.

##### a) Acido Base Residual.

Una vez efectuada la prueba anterior y comprobada la presencia de alcaloides en las muestras de Daturas sometidas a dicho análisis, se cuantificaron los alcaloides totales presentes en las distintas partes de la planta, para lo cual se siguió la técnica de valoración que a continuación se describe:

Se pesan de 5 a 6 gramos de la muestra de planta seca y molida (hoja, raíz, tallo, corola y flor), se humedece con 2 ml de solución de hidróxido de amonio al 25%, formando una pasta homogénea y se coloca la muestra en un cartucho de papel filtro grueso, al cual se introduce a un soxhlet para efectuar una extracción con cloroformo durante 48 horas, utilizando tres cargas y media de cloroformo. Este tiempo demostró ser suficiente para que el disolvente que se encontraba en la cámara del soxhlet extrajera totalmente los alcaloides y por lo tanto, diera la reacción de Dragendorff negativa.

Se concentró el extracto clorofórmico por destilación a presión reducida, hasta un volumen conveniente, no se evapora a un volumen muy pequeño, con el propósito de evitar una posterior emulsificación del líquido clorofórmico que contiene los alcaloides. Una vez filtrado, se extrae 3 veces con solución de ácido sulfúrico al 5% para dejar la fase clorofórmica libre de alcaloides, juntándose las

tres fracciones ácidas para posteriormente ser llevadas a un pH alcalino de 9 con solución de hidróxido de amonio concentrado. Posteriormente, utilizando una porción menor de cloroformo con relación a la fase acuosa, se practican 3 extracciones para que todos los alcaloides pasen a la fase clorofórmica, repitiéndose 2 veces más todo el proceso de la extracción ácido-base, con el objeto de lograr una separación completa de los alcaloides.

Los extractos clorofórmicos finales se lavan varias veces con agua destilada y se secan sobre sulfato de sodio anhidro. Este extracto clorofórmico seco, se evapora a baño María, para posteriormente ser reconstituido con cloroformo, repitiendo esta operación 2 veces más y finalmente el extracto resultante se disuelve en una pequeña cantidad de cloroformo y se le añade 15 ml de ácido sulfúrico 0.02 N. Se procede entonces a titular el exceso de  $H_2SO_4$  con una solución valorada de hidróxido de sodio, usando como indicador rojo de metilo.

$$\% \text{ Alcaloides totales} = \frac{V \times N \times F \times 100}{P \text{ de } M}$$

V = mililitros gastados de ácido sulfúrico.

F = 5.787 mg de alcaloides totales.

P de M = Peso de la muestra seca.

Los valores obtenidos de la titulación, la cual se realizó

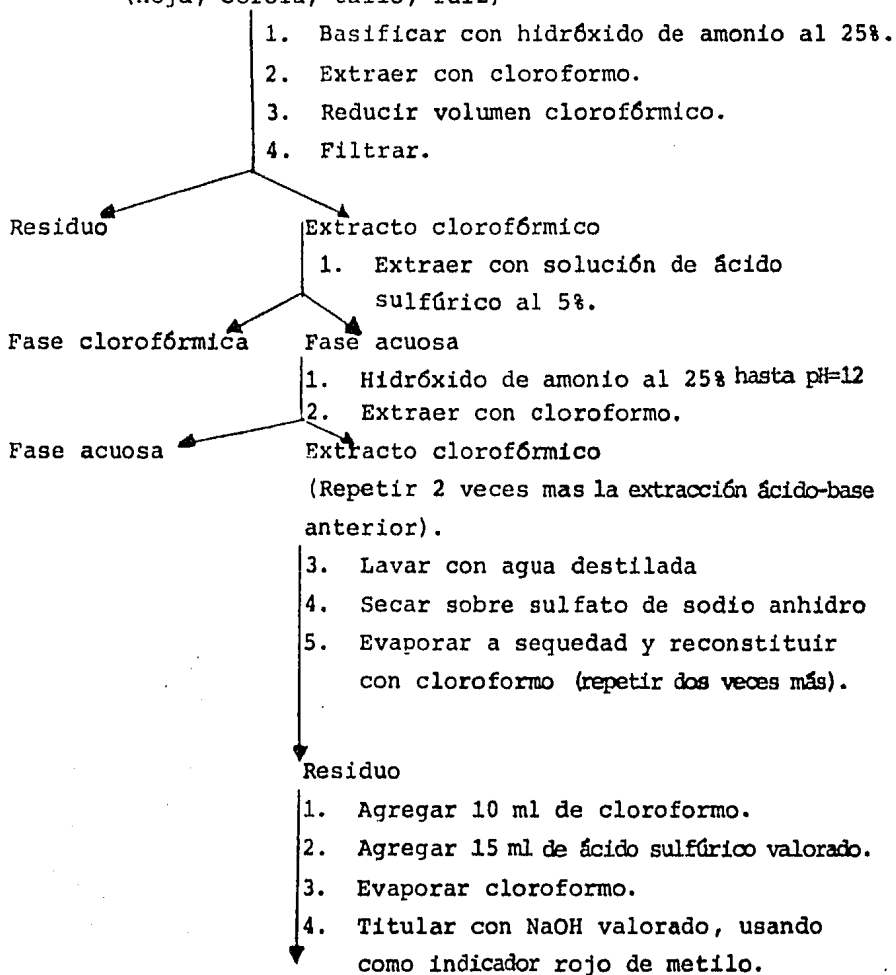
por triplicado para cada una de las muestras vegetales, se indican en el cuadro No. 2.

## ESQUEMA No. 1

## Determinación Cuantitativa Preliminar de Alcaloides Totales

## a) Acido Base Residual.

Parte de la planta molida  
(hoja, corola, tallo, raíz)



b) Cromatografía en Capa Delgada.

Una vez que se obtuvo el conocimiento acerca de cual de las especies de Daturas investigadas era la más rica en alcaloides, se procedió a realizar una cromatografía semi-cuantitativa de los alcaloides totales. El método que se empleó fue el siguiente:

La placa utilizada tenía como fase estacionaria Gel de Sílice GF<sub>254</sub> de la Casa Merck y como eluyente se empleó una mezcla de acetona:agua:solución de hidróxido de amonio al 25% en una proporción de 90:7:3.

1. Preparación de los estándares.

Atropina.

Se pesaron 64 mg de atropina en forma libre y se llevaron a 10 ml utilizando cloroformo como disolvente.

Escopolamina.

Se pesaron 50 mg de bromhidrato de escopolamina, se disuelven en 5 ml de agua destilada, se lleva a un pH de 12 con solución de hidróxido de amonio al 25% y se extrae con cloroformo. La fase orgánica se lava con agua y se seca sobre sulfato de sodio anhidro y finalmente se lleva a un volumen de 10 ml.

## 2. Preparación de la muestra.

Un gramo de la muestra (hoja, flor y corola) previamente molida y seca se extraen con 10 ml de una solución 0.1 N de ácido sulfúrico por 24 horas y transcurrido este tiempo, se filtra. El filtrado se trata con una solución de  $\text{NH}_4\text{OH}$  al 25%. La solución resultante se extrajo dos veces, con 5 ml de éter cada una, la capa etérea se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se procede a la evaporación de éter a baño María. El residuo se disolvió en 0.25 ml de metanol, se aplican 50 microlitros en cada punto de la placa de cromatografía que tiene como soporte gel de sílice GF<sub>254</sub> de la Casa Merck y como eluyente acetona-agua- $\text{NH}_4\text{OH}$  al 25% en una proporción de (90:7:3). La detección se realizó con luz ultravioleta y posteriormente revelando los estándares y una muestra del problema con reactivo de Dragendorff modificado por Vagúlfalvi y posteriormente con ácido sulfúrico 0.5 N.

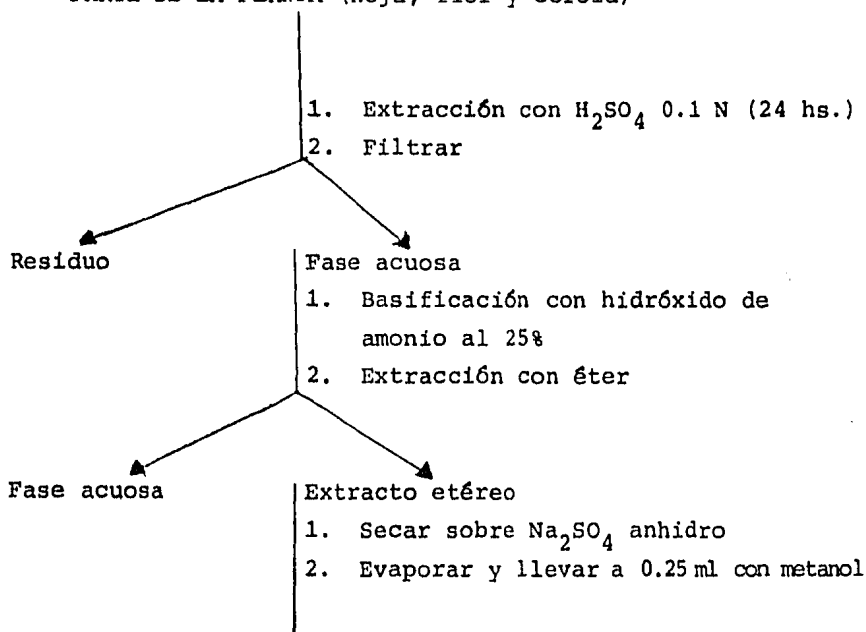
Se recupera cada punto de la placa cromatográfica. A cada muestra se le agregan 10 ml de cloroformo, se filtra y a la fase clorofórmica se le adicionan 5 ml de ácido sulfúrico 0.02 N, se procedió a evaporar el cloroformo a baño María, se enfría y se titula el exceso de ácido sulfúrico con hidróxido de sodio 0.02 N empleando rojo de metilo como indicador<sup>(26,24)</sup>.

Los valores que se obtuvieron de esta prueba se muestran en el cuadro No. 3.

## ESQUEMA No. 2

b) Cromatografía en Capa Delgada.

PARTE DE LA PLANTA (hoja, flor y corola)



Aplicación por duplicado de las muestras y los estándares de atropina y escopolamina en placa delgada y correr utilizando como eluyente acetona-  $H_2O$  - $NH_4$  OH al 25% en una proporción de 90:7:3.

1. Revelar con reactivo de Dragendorff una muestra y los estándares
2. Recuperar de la placa cada alcaloide por separado
3. Agregar 5 ml de cloroformo
4. Agregar 5 ml de ácido sulfúrico valorado
5. Evaporar el cloroformo
6. Titular con Na OH valorado usando como indicador rojo de metilo

#### 4.5 Selección de la parte de la planta con mayor contenido de alcaloides.

De acuerdo a los datos obtenidos en la determinación cualitativa y cuantitativa preliminar de alcaloides totales cuadro 1, 2 y 3 se procede a realizar la extracción de alcaloides de.

##### a) Corola de Datura suaveolens (Xochimilco).

Para ello se tomaron 1400 gramos de corola seca y molido la cual se sometió a extracción con hexano hirviendo a reflujo durante 12 horas cuando finaliza este tiempo, se decanta el hexano y se destila a presión reducida, obteniéndose el extracto hexánico. El hexano ya destilado, se volvió a utilizar para continuar con la extracción, esta operación se repitió 11 veces para desengrasar la muestra y evitar posteriores problemas de separación<sup>(11)</sup>.

Cabe señalar que a cada extracto hexánico obtenido se le hizo una prueba de identificación de alcaloides la cual consistió de tomar 5 ml de extracto agregar 10 ml de HCl al 5%, se agito 5 minutos, repitiendo esta operación dos veces más; las tres porciones ácidas se juntaron y se alcalinizaron con solución de hidróxido de amonio al 25% hasta obtener un pH de 12. Se procedió entonces, a realizar tres extracciones clorofórmicas con 5 ml de disolvente cada una. Los extractos clorofórmicos así obtenidos se extrajeron con tres porciones de 10 ml de HCl al 5%. Posteriormente en un tubo de ensaye se coloca 1 ml de la fase acuosa ácida obtenida y se añadieron unas gotas de



reactivo de Dragendorff. La aparición de un precipitado rojo ladrillo indica la presencia de alcaloides siendo en este caso negativa la reacción.

Una vez desengrasada la corola se seca y se humedece con solución de hidróxido de amonio concentrado utilizando 950 ml para formar una pasta homogénea lo que garantizó la completa basificación de ésta.

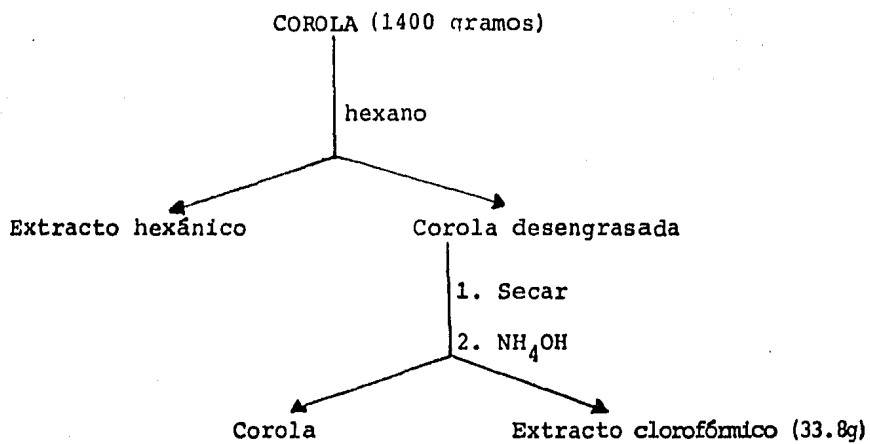
Se procedió a extraer los alcaloides con cloroformo hirviendo a reflujo y cambiando el disolvente cada 12 horas y después cada 24 horas. El extracto clorofórmico así obtenido se concentra utilizando para ello la destilación con vacío a una temperatura menor a 55°C, hasta que todo el disolvente fué eliminado. El peso del extracto clorofórmico fué de 33.8 gramos que corresponden al 2.42% del material inicial en base seca (Esquema No. 3, Diagrama de Extracción 1).

El extracto clorofórmico se presenta como un sólido pastoso de color café con olor característico no desagradable.

A este extracto se le hizo cromatografía en capa delgada para confirmar la presencia de alcaloides. Se realizaron pruebas con diferentes soportes y diversos sistemas de eluyentes obteniéndose la mejor separación en las siguientes condiciones:

## ESQUEMA No. 3

## DIAGRAMA DE EXTRACCION I



Fase estacionaria	Fase móvil
I) Alúmina Fluka tipo D5-F	Acetona: $\text{NH}_4\text{OH}$ al 25%: $\text{H}_2\text{O}$ (91:2:7)
II) Alúmina Fluka tipo D5-F	Etanol: Acetato de etilo: Cloroformo (1:5:1)

Una vez desarrollada la cromatoplaça se revela con:

1) Luz ultravioleta, 2) reactivo de Dragendorff pudiéndose apreciar en este último caso las características manchas de color naranja indicando la presencia de alcaloides.

Así se observa que la mejor combinación para lograr una buena separación de los alcaloides fué la número 1.

En todas las cromatoplaças se utilizaron patrones de atropina y escopolamina, pudiéndose observar que dos de los alcaloides presentes, en el extracto clorofórmico presentan el mismo  $R_f$  que las soluciones estándar de atropina y escopolamina cuyos  $R_f$ s de los alcaloides son:  $R_{f_1} = 0.44$  y  $R_{f_2} = 0.85$  respectivamente.

Se decidió entonces, realizar una extracción ácido-base para obtener los alcaloides crudos. El procedimiento consistió en colocar 20 gramos de extracto clorofórmico y agregar 50 ml de cloroformo para resuspenderlos, se procedió a extraerlos con porciones de 200 ml de ácido sulfúrico al 5% cada una hasta que la fase clorofórmica presenta negativa la prueba de Dragendorff y la fase acuosa presenta un pH entre 1 y 3. Se reúnen los extractos

Fase estacionaria	Fase móvil
I) Alúmina Fluka tipo D5-F	Acetona: $\text{NH}_4\text{OH}$ al 25%: $\text{H}_2\text{O}$ (91:2:7)
II) Alúmina Fluka tipo D5-F	Etanol: Acetato de etilo: Cloroformo (1:5:1)

Una vez desarrollada la cromatoplaaca se revela con:

1) Luz ultravioleta, 2) reactivo de Dragendorff pudiéndose apreciar en este último caso las características manchas de color naranja indicando la presencia de alcaloides.

Así se observa que la mejor combinación para lograr una buena separación de los alcaloides fué la número 1.

En todas las cromatoplacas se utilizaron patrones de atropina y escopolamina, pudiéndose observar que dos de los alcaloides presentes, en el extracto clorofórmico presentan el mismo  $R_f$  que las soluciones estándar de atropina y escopolamina cuyos  $R_f$ s de los alcaloides son:  $R_{f_1} = 0.44$  y  $R_{f_2} = 0.85$  respectivamente.

Se decidió entonces, realizar una extracción ácido-base para obtener los alcaloides crudos. El procedimiento consistió en colocar 20 gramos de extracto clorofórmico y agregar 50 ml de cloroformo para resuspenderlos, se procedió a extraerlos con porciones de 200 ml de ácido sulfúrico al 5% cada una hasta que la fase clorofórmica presenta negativa la prueba de Dragendorff y la fase acuosa presenta un pH entre 1 y 3. Se reúnen los extractos

ácidos, en donde permanecen los alcaloides en forma de sulfatos; a esta fase se le adiciona hidróxido de amonio concentrado hasta obtener un pH de 14. Posteriormente se extrae con porciones de 100 ml de cloroformo cada una, hasta que la fase acuosa dé negativa la reacción de Dragendorff. Se repite este proceso dos veces más y finalmente el extracto clorofórmico se evapora, al residuo se le adiciona 10 ml de etanol R.A. Se somete a un enfriamiento en hielo seco con acetona, obteniéndose en éste los alcaloides en forma cruda presentándose éstos como un sólido pastoso de color café rojizo, con olor característico, los cuales se filtran. El peso total obtenido fué de 1376 mg. (Esquema No. 4 Diagrama de extracción II).

Es de especial importancia indicar que en cada paso de la extracción ácido base se confirma la ausencia de alcaloides mediante la reacción de Dragendorff.

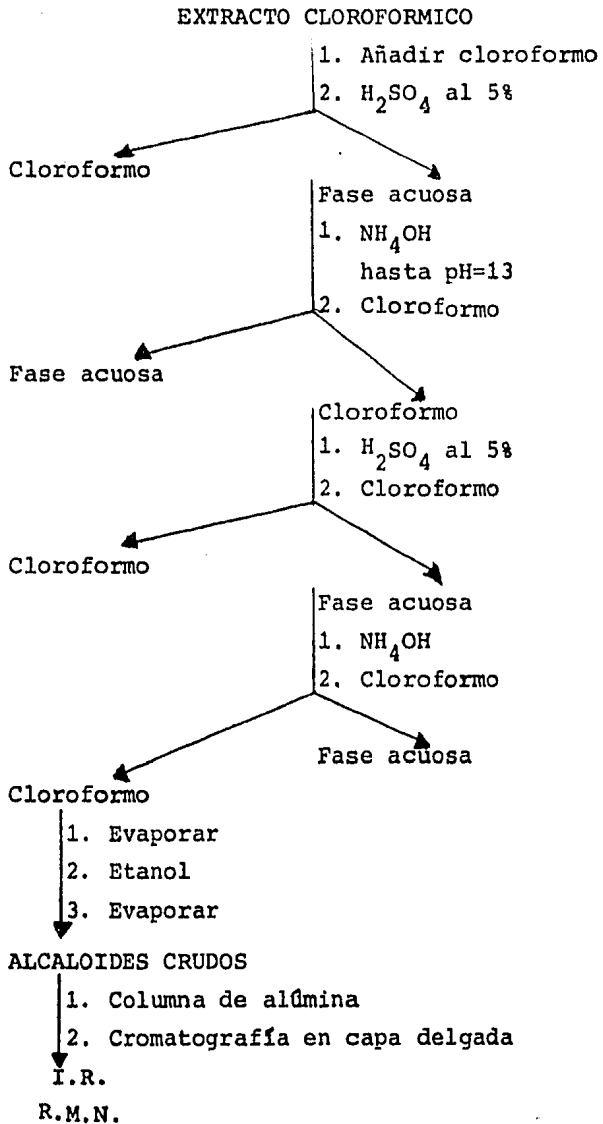
Con los alcaloides crudos así obtenidos, se llevó a cabo una cromatografía en capa delgada, usando como soporte alúmina neutra grado 111 y como eluyente etanol-acetato de etilo-cloroformo en una proporción de (2:5:3) y como revelador se utiliza 1) Luz ultravioleta, 2) Reactivos de Dragendorff modificado por Vagújfalvi<sup>(25)</sup>.

Al revelar la placa se observan cuatro manchas de color rojo ladrillo con los siguientes Rfs y sus respectivos nombres.

Rfs	nombre del alcaloide
Rf <sub>1</sub> = 0.03	A-I

## ESQUEMA No. 4

## DIAGRAMA DE EXTRACCION II



$RF_2 = 0.40$	A-II
$RF_3 = 0.84$	A-III
$RF_4 = 0.91$	A-IV

El valor de Rf del estandar de atropina es de 0.40 y el de escopolamina 0.91.

A los alcaloides encontrados en corola se le asignó su nombre siguiendo la secuencia de sus Rfs. de menor a mayor número, nombrándole así A-I al de menor Rf y A-IV al de mayor Rf.

Se tomaron 1.340 g para ser separados por cromatografía en columna, con las siguientes características en la columna:

1. Diámetro de la columna 1.3 cm.
2. Como soporte, óxido de aluminio 90 activo neutro para cromatografía en columna de la Casa Merck.
3. Cantidad de soporte 30 gramos.
4. Eluyente acetato de etilo-etanol-cloroformo (5:2:3).

Las fracciones colectadas fueron de 5 ml cada una, las cuales se controlaron por cromatografía en capa delgada, utilizando el mismo eluyente de la columna y como soporte alúmina neutra grado III de la Casa Merck para cromatografía en capa delgada. Como revelador 1) Luz U.V., 2) Reactivo de Dragendorff modificado por Vagófalvi.

Antes de colectar fracciones de la columna se eliminó un volumen muerto de 45 ml.

Se reunieron las fracciones del tubo No. 1 al tubo No. 10 por presentar sólo dos manchas. Después de

eliminar el eluyente se obtuvieron 406.0 mg. Al correr estas fracciones en una cromatografía en placa delgada, una de las manchas coincide con el estándar de escopolamina.

Del tubo No. 11 al tubo No. 68 se obtiene por c.c.d. las mismas 3 manchas (A-IV, A-II y A-I) por lo que se decidió reunir las fracciones y ello dió un peso total de 473.3 mg.

Del tubo No. 69 al tubo No. 95, se obtuvieron 39 mg de un sólo alcaloide, el cual al correr una cromatografía en capa delgada coincide el Rf, del alcaloide con el Rf del estándar de atropina.

Del tubo No. 96 al tubo No. 125 se obtienen 189 mg de alcaloides, los cuales, al correrlos en una cromatografía en capa delgada, junto con los estándares, corresponden a: A-II y A-I respectivamente; uno de ellos coincide con el estándar de atropina.

Del tubo No. 126 al tubo No. 193 se siguen obteniendo estos dos alcaloides con un peso de 10.2 mg. Así, el total de alcaloides de los tubos No. 96 al No. 193 fué de 199.2 mg.

Del tubo No. 194 al tubo No. 235 se obtiene un sólo alcaloide con un peso de 36 mg, que corresponde al alcaloide A-I.

Al llevar a cabo la separación de alcaloides en la columna descrita anteriormente no fué posible separar la escopolamina presente en la mezcla total de alcaloides; por lo tanto se procedió a separar la mezcla de dos al-



caloides que se obtuvieron de los primeros 10 tubos, por cromatografía en placa preparativa. El método a seguir es el siguiente: se buscó un eluyente apropiado para separar los dos alcaloides, encontrándose que el mejor, de una serie propuesta, es acetona-agua-cloroformo en una proporción de (90:7:3) y como soporte gel de sílice GF<sub>254</sub>. En estas condiciones se observan las siguientes manchas: Rf del alcaloide A-IV=0.74 y el Rf de alcaloide A-III = 0.20; el Rf del estándar de escopolamina Rf = 0.74, se tomaron 396 mg para separarlos por cromatografía en capa delgada. Después de desarrollar la placa se obtuvo un peso de A-IV = 110.8 mg y del alcaloide A-III un peso de 55.8 mg.

La polaridad del eluyente utilizado en la columna se fue aumentando conforme avanzaba el número de tubos recolectados con la finalidad de poder extraer totalmente los alcaloides que se encontraban en la columna.

A los resultados obtenidos de esta columna, así como las proporciones de cada eluyente y los Rfs de los alcaloides y estándares se encuentran en el Cuadro No. 4.

Los productos puros obtenidos de esta columna como el obtenido en cromatografía en placa preparativa, se les hizo además de cromatografía en capa delgada con diferentes eluyentes, un espectro de I.R. y un espectro de Resonancia Magnética Nuclear (Espectro de I.R. No. 1 y Espectro de R.M.N. No. 2, Espectro de I.R. No. 3 y Espectro de R.M.N. No. 4).

b) Hoja de Datura suaveolens (Xochimilco).

Se procedió a hacer la extracción y separación de los alcaloides presentes en la hoja de Datura suaveolens de Xochimilco por encontrarse en cantidades considerables.

El material se desengraso, en la forma ya descrita 850 g de material desengrasado se secaron y humedecieron con solución de hidróxido de amonio concentrado y se extrajeron con cloroformo hirviendo a reflujo y cambiando el disolvente cada 6 horas primero y después cada 12 horas. El extracto clorofórmico, así obtenido se concentró utilizando para ello la destilación al vacío a una temperatura menor 55°C, hasta que todo el disolvente fué eliminado. El peso del extracto clorofórmico fué de 19.13 gramos, lo que corresponde al 2.25% del material inicial en base seca. (Esquema No. 5 Diagrama de Extracción I).

A este extracto se le hizo cromatografía en capa delgada para verificar la presencia de alcaloides. Se realizaron pruebas con los siguientes soportes y sistemas de eluyentes<sup>(25)</sup>:

Fase estacionaria:

1) Gel de sílice GF<sub>254</sub>

2) Gel de sílice GF<sub>254</sub>

Rfs de sistema No. 1

2 manchas

Rf<sub>1</sub> = 0.15

Rf<sub>2</sub> = 0.26

Fase móvil:

1. Etanol-Acetato de etilo-metanol (2:5:3)

2. Acetona-agua-NH<sub>4</sub>OH al 25%

Rfs de sistema No. 2

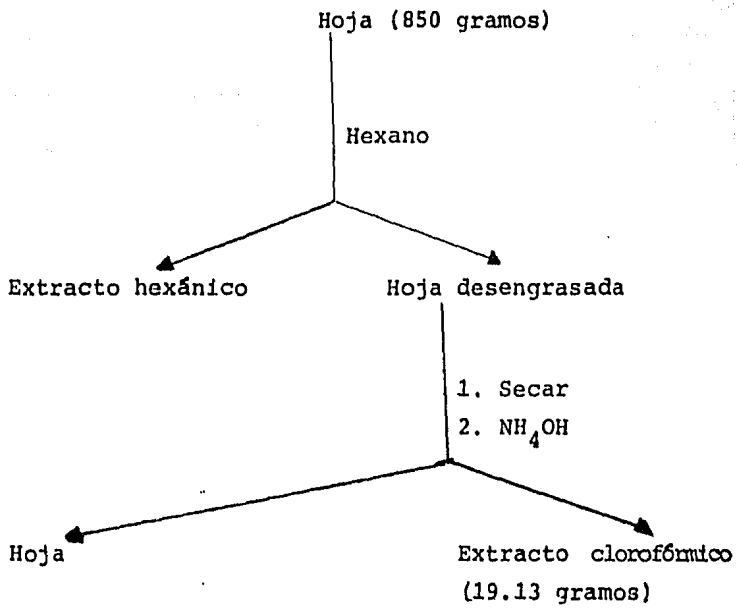
4 manchas

A-I = 0.021

A-II = 0.086

## ESQUEMA No. 5

## DIAGRAMA DE EXTRACCION 1



A-III = 0.32

A-IV = 0.72

Rfs de estándares Atropina = 0.086 Escopolamina Rf = 0.72

Una vez desarrollada la cromatoplacla se revela con:

1) Luz ultravioleta, 2) Reactivo de Dragendorff, pudiéndose observar en este último caso las características manchas de color naranja indicando la presencia de alcaloides.

En todas las cromatoplaclas se utilizaron patrones de atropina y escopolamina, pudiéndose observar que dos de los alcaloides presentes en el extracto clorofórmico presentaban el mismo Rf que las soluciones estándar de atropina y escopolamina.

Se procedió, a realizar una extracción ácido base para obtener los alcaloides crudos. El procedimiento consistió en colocar 19 gramos del extracto clorofórmico y añadir 100 ml de cloroformo posteriormente se extrajo con 250 ml de ácido clorhídrico al 5% hasta que la solución acuosa presentaba un pH entre 1 y 3 y la fase clorofórmica estaba excenta de alcaloides. En la fase acuosa permanecen los alcaloides en forma de clorhidratos; a esta fase se le adiciona una solución de hidróxido de amonio concentrado para obtener un pH de 13. Se extrae con cinco porciones de cloroformo que fueron las suficientes para que la fase acuosa diera negativa la prueba de Dragendorff; esta operación se repitió dos veces más y finalmente a la fase clorofórmica se evaporó a

sequedad agregando después una cantidad de etanol, precipitando los alcaloides crudos como un sólido pastoso de color café con un peso de 815.7 mg de alcaloides crudos. (Esquema No. 6 Diagrama de Extracción II).

A los alcaloides crudos se les hizo una cromatografía en capa delgada utilizando como soporte gel de sílice GF<sub>254</sub> y como sistema de eluyente acetona - H<sub>2</sub>O - NH<sub>4</sub> OH al 25% en una proporción de (88:9:3).

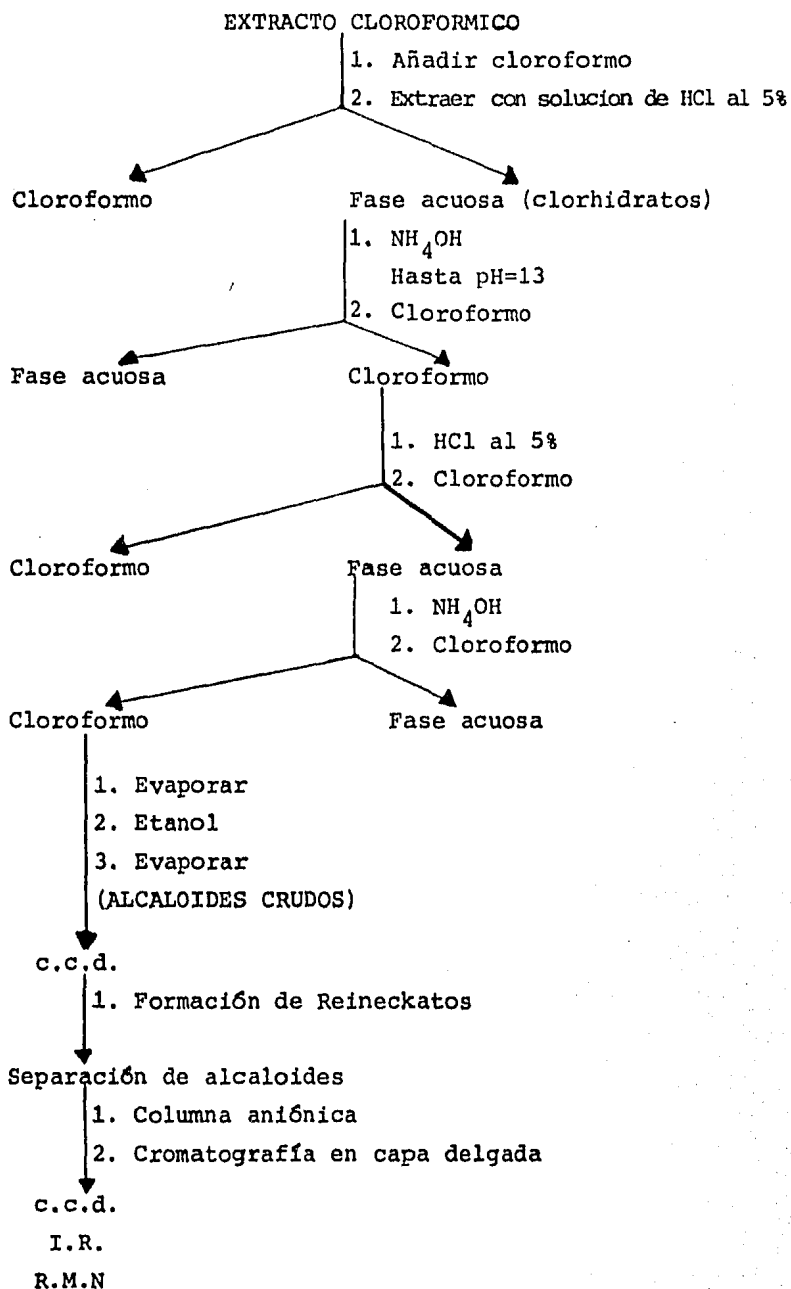
Al revelar con reactivo de Dragendorff se observan cuatro manchas con los siguientes Rfs.  $Rf_1=0.09$ ,  $Rf_2=0.53$ ,  $Rf_3=0.39$ ,  $Rf_4=0.78$ .

Se procedió a formar los reineckatos de los alcaloides crudos. Pevia a esta preparación, se efectuó la formación del reineckato de atropina. Para lo cual se disolvieron 50 mg de atropina en 5 ml de ácido sulfúrico 5N y se añadió gota a gota una solución acuosa de sal de Reinecke al 2% hasta que se observó una precipitación del producto. El precipitado de color rosa, así obtenido se separó por filtración y se lavó con éter frío<sup>(10,26)</sup>.

Se procedió entonces a formar los reineckatos de los alcaloides obtenidos de la hoja, para lo cual 815.7 mg se disolvieron en 10 ml de ácido sulfúrico 5N y se añadieron gota a gota la solución de la sal de reineckato al 2%, hasta la aparición de un precipitado de color café, el cual se separó por filtración y se lavó con éter frío. Una vez seco el producto se pesó obteniéndose

## ESQUEMA NO. 6

## DIAGRAMA DE EXTRACCION 11



367.3 mg de reineckatos. (Rendimiento = 45.0288%).

La separación de los alcaloides se efectuó utilizando la cromatografía en columna, que se preparó de la siguiente manera: 30 gramos de resina aniónica débilmente básica (No. de catalogo 4766 de la Casa Merck) se empacaron en una columna y se colocaron los reineckatos disueltos en la menor cantidad de etanol. Se eluyó con solución amortiguadora de citratos 0.1 M a pH de 5.3, 5.6, 5.9 y 6.2 la elución se hizo utilizando las soluciones de citratos de menor a mayor pH. Se recolectaron fracciones de 1 ml, las cuales fueron controladas por cromatografía en capa delgada, utilizando como soporte Gel de sílice GF<sub>254</sub> y como eluyente metanol-acetona-dietilamina (50-50-1.5) y se revelaron con reactivo de Dragendorff.

Se reunieron las fracciones del tubo No. 1 al No. 33 por presentar dos alcaloides con los siguientes Rf. Rf = 0.44 y Rf = 0.07, utilizando como soporte gel de sílice GF<sub>254</sub> y como eluyente metanol-acetona-dietilamina en una proporción de (50-50-1.5) y como revelador reactivo de Dragendorff.

Una vez reunidas las fracciones se llevó el pH a 13 con solución de hidróxido de amonio al 25% y se procedió a extraerlos con éter.

El disolvente se evaporó a sequedad obteniéndose un residuo amarillento el cual pesó 173.0 mg, lo que equivale a 0.20% de la hoja en base seca, a este producto se

le separó por cromatografía en capa delgada utilizando como soporte gel de sílice GF<sub>254</sub> (Placa preparativa) y como eluyente acetona-agua-NH<sub>4</sub>OH al 25% en una proporción de (90:7:3).

Obteniéndose dos productos que coinciden sus Rfs. con los estándares de atropina y escopolamina los cuales son para atropina Rf=0.33 y para escopolamina Rf=0.86 respectivamente. A los productos obtenidos se les asignó su nombre dependiendo del valor de su Rf, así a la mancha de atropina se le llamo A-I y la mancha que coincidía con el estándar de escopolamina A-II.

El peso obtenido de A-I fué de 28.4 mg mientras que el de A-II fué de 19 mg, el producto A-II se le hizo un espectro de resonancia magnética nuclear (Espectro RMN No. 3).



## ACIDOS GRASOS Y ESTEROLES.

Tratamiento del extracto hexánico obtenido de desen grasar las muestras secas y molidas de corola, hojas, fi lamentos y pistilos de Datura suaveolens proveniente de Xochimilco, D.F.

## Saponificación.

Se coloca a saponificar 8.23 g del extracto hexánico de corola con solución de hidróxido de potasio en metanol al 20% y se hierve a reflujo durante una hora.

Transcurrido este tiempo se evapora la muestra a sequedad por destilación a vacío del disolvente.

Saponificación de las fracciones saponificable e insaponificable.

El residuo obtenido del proceso anterior se extrae con éter de petróleo R.A. hasta agotamiento total, se juntas las porciones etéreas y se filtran porción insaponificable.

En el residuo sólido remanente de la extracción, que do la fracción saponificable Esquema No. 7.

Purificación de la fracción saponificable.

Extracción de ácidos grasos libres.

El residuo sólido restante después de las extraccio nes con éter de petróleo R.A. se seca a vacío obteniéndose un sólido de color ligeramente amarillo con olor agra

dable. Se resuspende con agua destilada caliente y se lleva a un pH de 3 con solución de ácido clorhídrico 0.1N; se extrae a temperatura ambiente con porciones de acetato de etilo R.A., la fase etérea se lava con agua, se se ca sobre sulfato de sodio anhidro, se filtra y se concen tra a vacío, obteniéndose 4.19 g (51%) de ácidos grasos libres que fueron controlados por c.c.d.

#### Esterificación de Acidos Grasos Libres.

Se usa para la esterificación 4 gramos de ácidos grasos libres, que se disuelven en 2 ml de potasa en metanol anhidro R.A. con 0.5 ml de ácido sulfúrico concentrado R.A. la mezcla se somete a reflujo con agitación continua durante 24 horas ó hasta que la muestra sea homogénea.

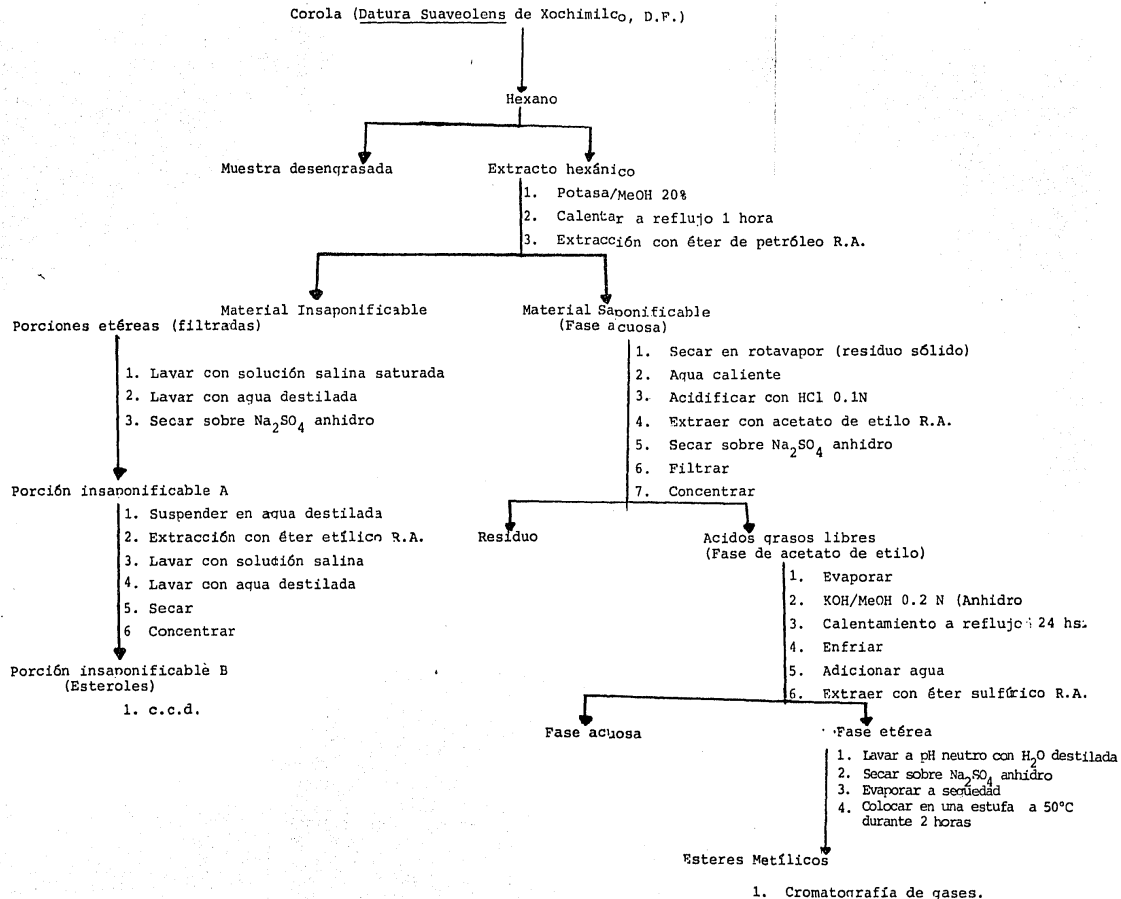
El producto de la reacción se le adiciona 50 ml de agua destilada fría quedando una solución opalescente, los ésteres metílicos formados se extraen con 3 porciones de éter sulfúrico R.A., se reúnen los extractos etéreos y se lavan hasta pH neutro, con agua destilada.

El extracto etéreo obtenido se filtra sobre sulfato de sodio anhidro, se evapora a sequedad y se coloca en una estufa a una temperatura de 50°C durante 2 horas.

#### Esquema No. 7.

Cabe mencionar que en el proceso de esterificación de ácidos grasos libres, tanto la muestra, como el material de vidrio y los reactivos deben estar en condiciones

## ESQUEMA No. 7



anhidas para que la reacción se lleve a cabo.

Los resultados obtenidos de los análisis anteriores se muestran en el cuadro No. 5.

Los ésteres metílicos se sometieron a una cromatografía de gases en las siguientes condiciones: se inyecó 1 microlitro de la sustancia completamente anhida a un cromatógrafo de gases marca Varian Aerograph modelo 2100 con las siguientes especificaciones.

Columna de acero inoxidable de 1/8 de pulgada empacada con chromosorb W-AW de 80/100 mallas.

Temperatura de horno 190°C

Temperatura de detector 200°C

Flujo de nitrógeno 30 ml/min

Flujo de hidrógeno 28 ml/min

Flujo de aire 300 ml/min

Velocidad de la carta 0.15 in/min.

Los resultados se encuentran en el Cuadro No. 6.

### Purificación de la Fracción Insaponificable.

Las porciones etéreas filtradas obtenidas del proceso de saponificación, se lavan primero con solución salina y después con agua destilada, la fase etérea se seca sobre sulfato de sodio anhidro se filtra y se concentra a vacío, obteniéndose la porción insaponificable A. Esta se resuspende en agua destilada y se extrae con éter etílico R.A. varias veces, las porciones etéreas se lavan primero con solución salina y posteriormente con agua destilada. La fase etérea se seca sobre sulfato de sodio anhidro y se concentra a vacío obteniéndose 4 g de la porción insaponificable B. Esta se analiza por cromatografía en capa delgada, utilizándose como eluyente hexano-acetato de etilo en una proporción de (75:25). Como soporte silica gel GF<sub>254</sub> de la Casa Merck y como patrones de referencia: B-sitosterol, estigmasterol fitosterol, sitosterol, colesterol y ergosterol. Como revelador se utiliza solución de ácido sulfúrico 5N.

El proceso anterior descrito para extracto hexánico de corola (Datura suaveolens proveniente de Xochimilco, D.F.), es el mismo proceso que se sigue para el análisis de los demás extractos hexánicos de la misma Datura los de pistilo, filamento, hoja y anteras.

Los resultados obtenidos de estos estudios se encuentran en el cuadro No. 5.

**CAPITULO 5**

**RESULTADOS**

CUADRO No. 1

## ANALISIS CUALITATIVO

a) Datura candida

	STA. MARIA DEL TULE OAXACA, OAXACA	LANDA TAXCO GUERRERO	HUITZILA MORELOS
COROLA	+++	++++	++++
FLOR	++	+++	+++
HOJA	+++	+++	+++
TALLO	+	++	+++
RAIZ	+++	-	-

b) Datura suaveolens

	STA. MARIA DEL TULE OAXACA, OAXACA	LANDA TAXCO GUERRERO	XOCHIMILCO D.F.
COROLA	+++	+++	+++
FLOR	++	++	+++
HOJA	+++	+++	+++
TALLO	++	++	+++

ATROPINA +++  
(estándar)

ESCOPOLAMINA +++  
(estándar)

(-) Prueba negativa  
(+) Débilmente positiva  
(++) Positiva  
(+++) Fuertemente positiva  
(+++) Atropina estándar  
(+++) Escopolamina estándar

## Determinación Cuantitativa Preliminar de Alcaloides Totales.

## a) Acido Base Residual.

## Datura suaveolens (Xochimilco)

Parte de la planta	% Alcaloides Totales	Promedio % de alcaloides Totales
Corola	0.21317	0.21749
	0.22145	
	0.21787	
Flor	0.18183	0.17789
	0.17592	
	0.17592	
Hoja	0.17871	0.1736
	0.17360	
	0.16849	
Tallo	0.01037	0.01628
	0.01629	
	0.0222	

## Datura Suaveolens (Oaxaca)

Parte de la planta	%Alcaloides Totales	Promedio % de alcaloides Totales
Corola	0.17592	0.17464
	0.1740	
	0.1740	
Flor	0.14408	0.14466
	0.14076	
	0.14916	



Datura suaveolens (Oaxaca)

Parte de la planta	%Alcaloides Totales	Promedio % de alcaloides Totales
Hoja	0.11158	0.10963
	0.10575	
	0.11158	
Tallo	0.0477	0.04766
	0.0417	
	0.0536	

Datura candida (Oaxaca)

Parte de la planta	%Alcaloides Totales	Promedio % de alcaloides Totales
Corola	0.17577	0.18347
	0.16410	
	0.21054	
Flor	0.12909	0.14075
	0.14076	
	0.15242	
Hoja	0.09408	0.09019
	0.08241	
	0.09408	
Tallo	0.09408	0.09019
	0.09408	
	0.08241	
Raíz	0.14175	0.13533
	0.12249	
	0.14175	

Datura suaveolens (Guerrero)

Parte de la planta	%Alcaloides Totales	Promedio % de Alcaloides Totales
Corola	0.1167	0.12059
	0.12837	
	0.1167	
Flor	0.08169	0.07002
	0.05835	
	0.07002	
Hoja	0.08169	0.08558
	0.09336	
	0.08 169	
Tallo	0.01293	0.01637
	0.01810	
	0.01810	

Datura candida (Guerrero)

Parte de la planta	% Al caloides Totales	Promedio % de Alcaloides Totales
Corola	0.08793	0.08172
	0.07658	
	0.08066	
Flor	0.01985	0.01606
	0.0085	
	0.01985	

Hoja	0,02552	
	0,01984	0,02173
	0,01984	
Tallo	0,014178	
	0,00282	0,00606
	0,00282	

Datura candida (Morelos)

Parte de la planta	% Alcaloides Totales	Promedio % de Alcaloides Totales
Corola	0,15243	
	0,14076	0,14465
	0,14076	
Flor	0,08225	
	0,07658	0,07983
	0,08066	
Hoja	0,12909	
	0,12909	0,13298
	0,14076	
Tallo	0,004178	
	0,00489	0,004652
	0,00489	

## CUADRO No. 3

Determinación Cuantitativa Preliminar de alcaloides totales.

b) Cromatografía en Capa Delgada.

Datura suaveolens (Xochimilco)

PARTE DE LA PLANTA	ALCALOIDE	Rf.	% RELATIVO
COROLA	C-I	0.27	7.8936
	C-II	0.34	18.4205
	C-III	0.71	2.6302
	C-IV	0.89	71.0554
FLOR	F-I	0.27	8.9979
	F-II	0.34	15.0009
	F-III	0.71	10.9978
	F-IV	0.89	65.0034
HOJA	H-I	0.27	8.9270
	H-II	0.34	19.6278
	H-III	0.71	8.9270
	H-IV	0.89	62.5184

II = atropina

IV = escopolamina

I y III = alcaloides desconocidos

Datura suaveolens (Oaxaca)

PARTE DE LA PLANTA	ALCALOIDE	Rf.	% RELATIVO
COROLA	C-I	0.27	11.6283
	C-II	0.34	27.254009
	C-III	0.71	23.749888
	C-IV	0.89	37.367803
HOJA	H-I	0.27	11.5278
	H-II	0.34	49.3920
	H-III	0.71	7.5764
	H-IV	0.89	31.5278
FLOR	F-I	0.27	9.521112
	F-II	0.34	30.007
	F-III	0.71	20.664207
	F-IV	0.89	39.807681

II = atropina

IV = escopolamina

I y III = desconocidos

CUADRO No. 4  
Cromatografía en Capa Delgada de los  
Productos Obtenidos

No. del tubo	Eluyente	Cantidad alcaloides en mg	Nombrel del Alcaloide	Fase Estacionaria	Fase Móvil	Rfs de Alcaloides y Estándares
1-10	AcOEt	2	A-IV A-III	Alúmina neu- tra grado III (Casa Merck)	Etanol 2 AeOEt 5	A = 0.40
	CHCl <sub>3</sub>	3				E = 0.91
	Etanol	5				A-II = 0.91 A-III = 0.84 A-II = 0.40 A-I = 0.03
11-45	AcOEt	2	A-IV A-III A-II			A-IV = 0.91
	CHCl <sub>3</sub>	3				A-III = 0.84
	Etanol	5				A = 0.40 E = 0.91
46-64	AcOEt	6	A-IV A-III A-II			A-IV = 0.91
	Etanol	2				A-III = 0.84
	CHCl <sub>3</sub>	1				A-II = 0.40 A = 0.40 E = 0.91
65-95	EtOH	5	A-II			A-II = 0.40
	CHCl <sub>3</sub>	1				A = 0.40
	AcOEt	6				E = 0.91
97-125	AcOEt	6	A-II A-I			A-II = 0.40
	EtOH	4				A = 0.40
	CHCl <sub>3</sub>	0				E = 0.91
130-193	AcOEt	4	A-II A-I			A-II = 0.40
	EtOH	6				A-I = 0.03 A = 0.40 E = 0.91
194-235	AcOEt	2	A-I			A-I = 0.03
	EtOH	8				A = 0.40 E = 0.91

1143.9 mg

Peso introducido en la columna 1340 mg  
Peso obtenido de la columna 1143.9 mg

1340 mg - 100%

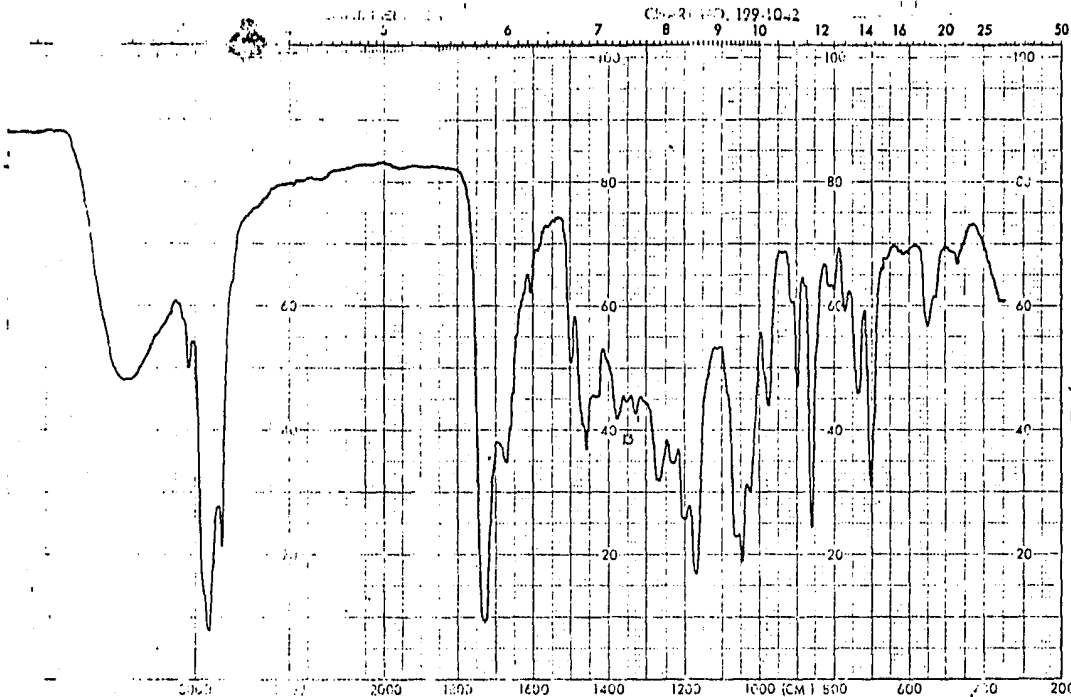
1143.9 mg - X

$$X = 85\%$$

El 85% de los alcaloides se recuperaron de la columna.

A = Atropina

E = Escopolamina



SAMPLE A-12  
 REF. NO. 10195

SCA	ORDINATE	SCAN TIME <u>12</u>	REP. SCAN	SINGL BEAM
EXPANSION	EXPANSION	MULTIPLIER <u>1</u>	TIME DRIVE	
SL	ABS	SLIT PROGRAM <u>W</u>	OPERATOR <u>Cheln</u>	DATE <u>12/1/89</u>
REMARKS <u>IV</u> <u>Espectro Requ.</u>	REMARKS <u>Espectro</u>	SOLVENT	CELL PATH	
ESPECTRO I.R. No 1		CONCENTRATION	REFERENCE <u>asc</u>	

## ESPECTRO I.R. No. 1      Alcaloides A-IV

-Una banda a  $1725 \text{ cm}^{-1}$  correspondiente al

$\text{C} = \text{O}$  del éster.

- Una banda mediana a  $1740 \text{ cm}^{-1}$  y a  $1165 \text{ cm}^{-1}$  una banda fuerte que se debe  $\text{-C-O}$  del epóxido.

- Una banda a  $1060 \text{ cm}^{-1}$  que se debe a  $\text{-OH}$ .

- Una banda ancha a  $3400 \text{ cm}^{-1}$  correspondiente a  $\text{-OH}$  asociado.

- Una banda a  $3010 \text{ cm}^{-1}$  fina de  $\text{C-H}$  insaturado.

- Bandas a  $2850 \text{ cm}^{-1}$  y  $2920 \text{ cm}^{-1}$  de  $\text{-C-H}$  saturado.

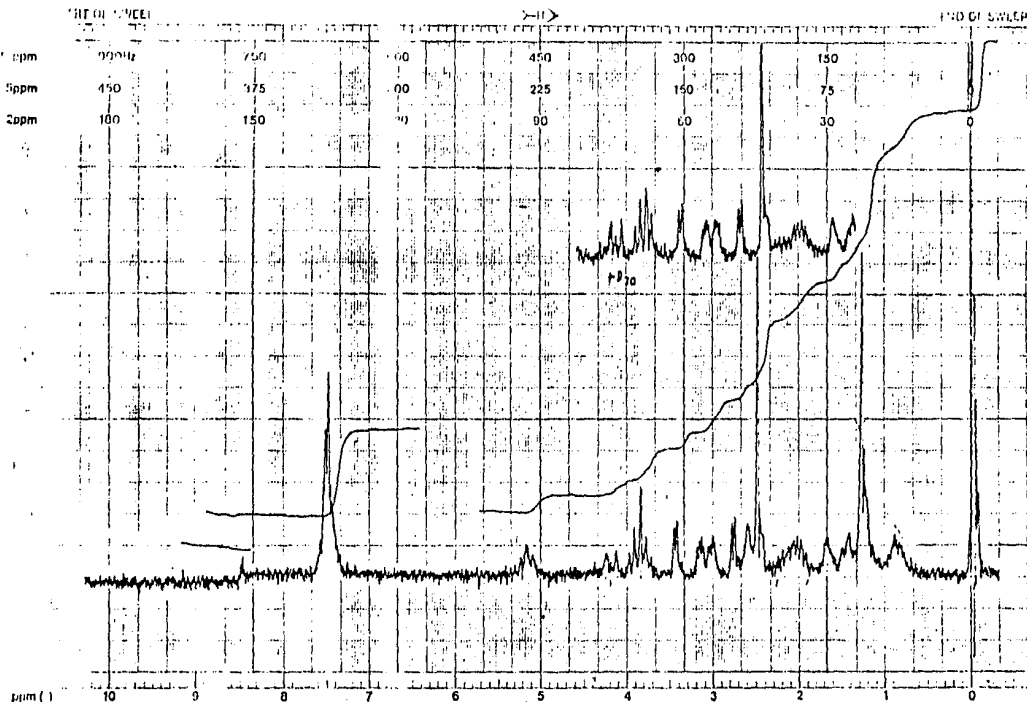


CONTOUR S.A.

JAN. 1959

Instrument division

100-100-100-100



EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

LOCK POS \_\_\_\_\_ ppm SPECTRUM AMPL. 40000 SWEEP TIME 6 min NUCLEUS H SAMPLE: alk OPERATOR: *Alfons*

LOCK POWER \_\_\_\_\_ mG FILTER: 0.0 sec SWEEP WIDTH 10 ppm ZERO REF. TMS ALCALOIDEA IV DATE: 17-02-61

DECOUPL. POS. \_\_\_\_\_ ppm DECOUPL. POWER \_\_\_\_\_ mG IIF POWER 0.1 mG END OF SWEEP 0 ppm SAMPLE TEMP. 0 °C SOLVENT: CDCl<sub>3</sub> SPECTRUM NO. 4140

ESPECTRO R.M.N. No 2.

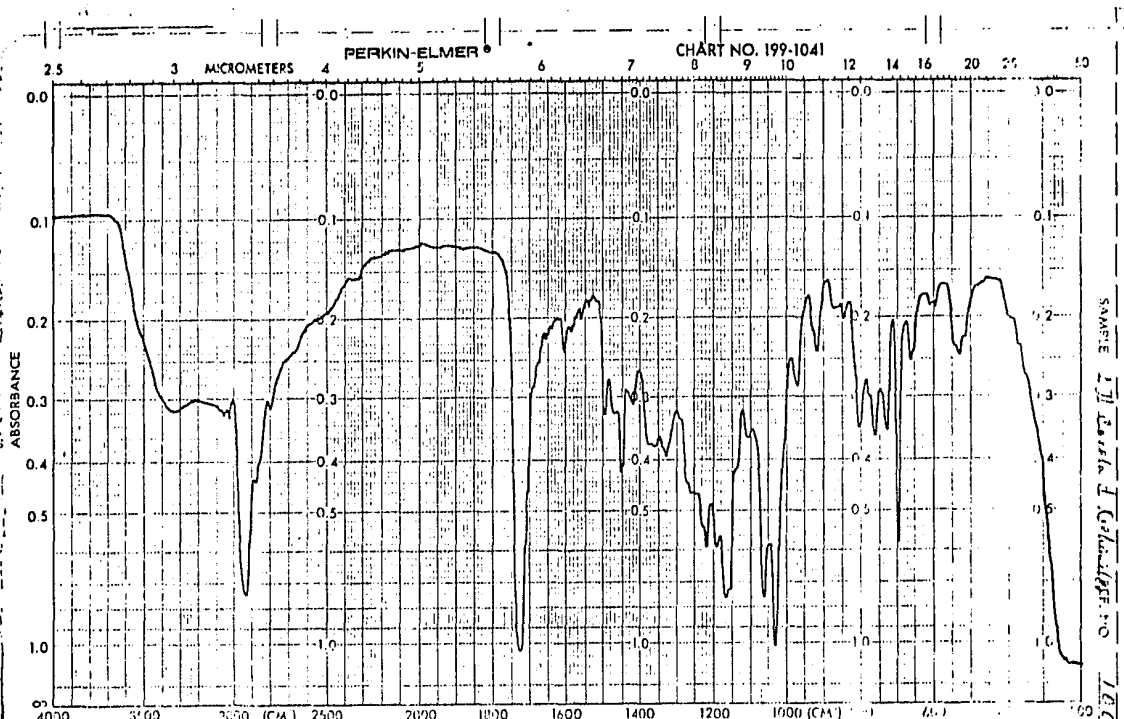
Una señal centrada en 7.5 p.p.m. que corresponde para una señal de protones aromáticos que integra para 5 protones.

Una señal múltiple centrada en 3.9 p.p.m. y que corresponde a  $-\overset{|}{\underset{|}{\text{C}}}-\overset{|}{\underset{\text{N}}{\text{CH}}}-\overset{|}{\underset{|}{\text{C}}}-$ ;  $-\overset{|}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-\overset{|}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\overset{|}{\underset{|}{\text{C}}}-$ ;  $-\text{CH}_2\text{O}-$ ;  $-\text{OH}$  y que integra para 5 protones.

Una señal en 3.1 p.p.m. que corresponde a un protón tipo  $-\overset{|}{\underset{\text{O}}{\text{CH}}}-\overset{|}{\underset{|}{\text{C}}}-$  y que integra para 1 protón.

Una señal comprendida entre 1.2 y 2.3 p.p.m. que corresponde a  $-\text{CH}_2-$  y  $\overset{|}{\underset{\text{O}}{\text{CH}}}-\overset{|}{\underset{|}{\text{C}}}-$  y que integra para 5 protones.

Cuando se hace el intercambio con agua deuterada se observa que la señal que se encuentra localizada en 3.9 p.p.m. cambia de forma y la integración que se obtiene es para 4 protones.



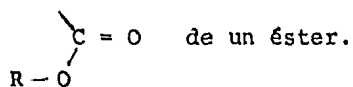
SAMPLE 271 20001 I Col. 11/19/50 10767

EXPANSION	ORIGINATE	SCAN TIME	SINGLE SCAN
<i>10x</i>		<i>12</i>	
APPROX. <i>3000</i>	EXPANSION	MULTIPLIER	LINE SCAN
		<i>N<sup>1</sup></i>	
REMARKS <i>Carbonyl &amp; alcohols</i>	REMARKS <i>p. alcohol</i>	SOLVENT	PREP. BY
			<i>Blair</i>
<i>100% EtOH</i>	ELECTRO I.R. No 3	CONCENTRATION	CELL PATH

ESPECTRO I.R. No. 3

Alcaloide A-II

- 1720  $\text{cm}^{-1}$  banda fuerte que corresponde a

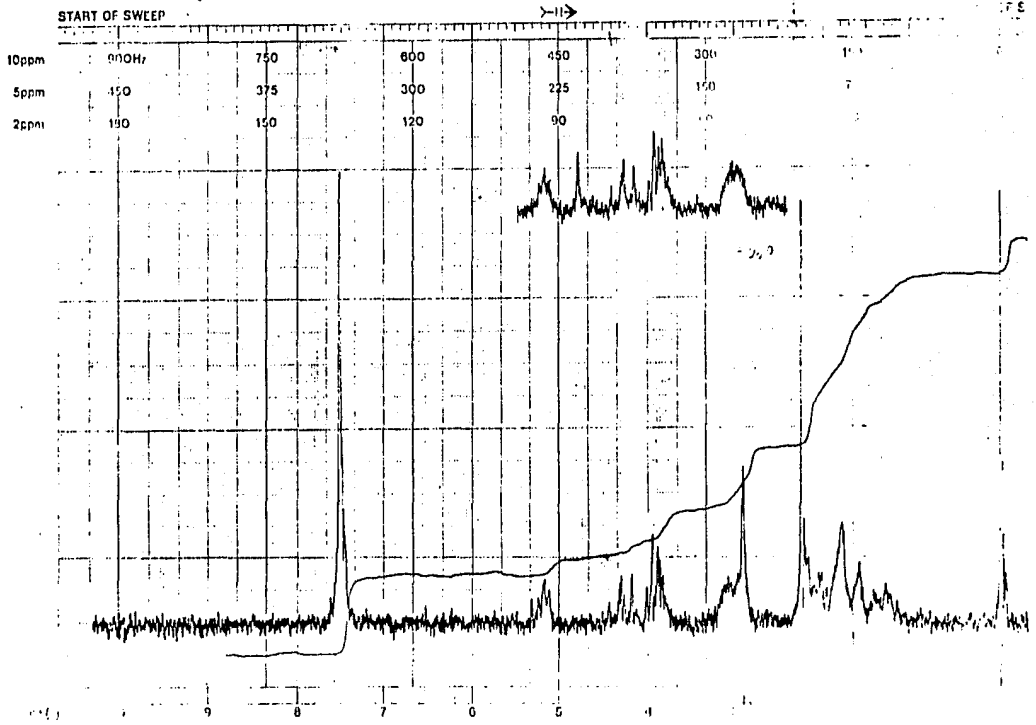


- 1035  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a -C-H de (-CH<sub>2</sub>-)
- 1160  $\text{cm}^{-1}$  banda correspondiente a -C-H saturado (-CH<sub>3</sub>).
- a 3400  $\text{cm}^{-1}$  banda ancha correspondiente a -OH asociado.

Varian Instrument Division

varian instrument division

palo alto, california



SPECTRUM AMPL. 20000  
 FILTER 4.0 sec  
 SWEEP TIME 6 min  
 SWEEP WIDTH 10 ppm  
 TMS

AL ALDIVE A

ESPECTRO R.M.N. No. 4

Alcaloide A-II

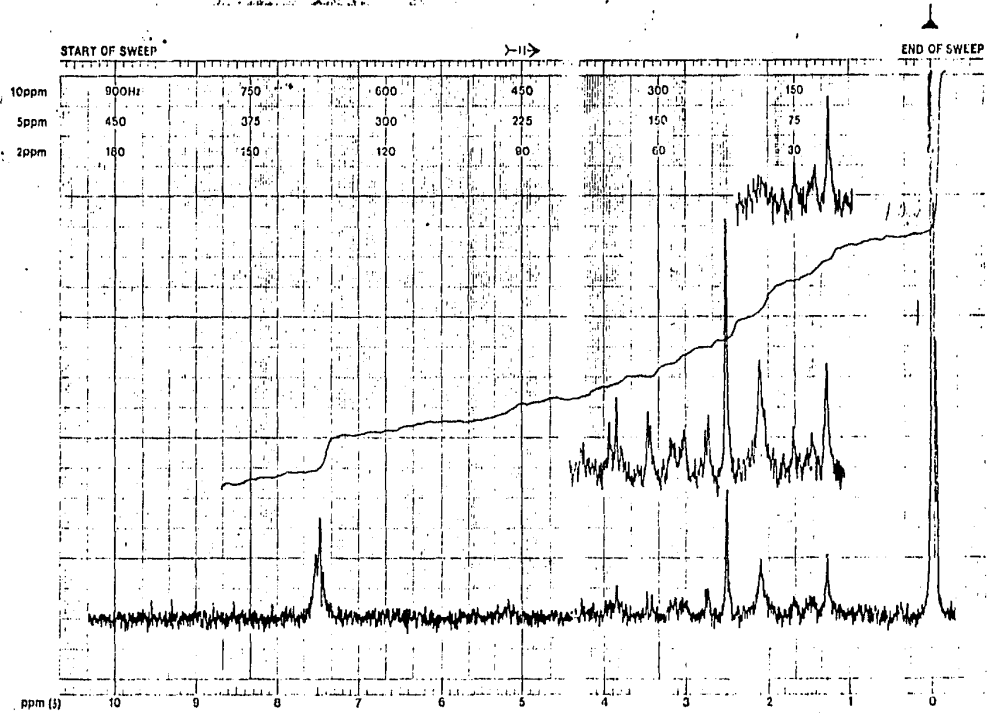
- Un singulete centrado en 7.5 p.p.m. que corresponde a los protones de tipo aromático y que integra para 5 protones.
- Una señal múltiple en 5.2 p.p.m. que corresponde al protón base del éster  $\begin{matrix} \text{C-O-C-R} \\ | \quad || \\ \text{H} \quad \text{O} \end{matrix}$  y que integra para un protón.
- Un multiplete centrado a 4 p.p.m. y que corresponde a  $\begin{matrix} \text{O} \\ | \\ \text{-CH-C-} \\ || \end{matrix}$ ;  $\text{-CH}_2\text{-O-}$ ;  $\text{-OH}$  que integra para 4 protones y cuya señal se simplifica por adición de  $\text{D}_2\text{O}$ .
- Un singulete a 2.95 p.p.m. y que corresponden a protones base de amina  $\begin{matrix} | & | & | \\ \text{-C-N-C-} \\ | & & | \\ \text{H} & & \text{H} \end{matrix}$  y que integra para 2 protones.
- Una señal múltiple centrada en 1.9 p.p.m. que corresponden a  $\text{(-CH}_2\text{-)}$ ;  $\text{(-CH}_3\text{)}$  y que integra para 11 protones.

90

PULLING SWEEP SC

WATSON

varian instrument division



LOCK POS. \_\_\_\_\_ ppm SPECTRUM AMPL. 5 div SWEEP TIME 5 min NUCLEUS <sup>1</sup>H SAMPLE ALCAZOIDE A-II

LOCK POWER \_\_\_\_\_ mG FILTER 5 sec SWEEP WIDTH 10 ppm PRO REF. TMS

DEMOD. POWER \_\_\_\_\_ mG REF. POWER \_\_\_\_\_ mG END OF SWEEP \_\_\_\_\_ ppm

SPECTRO R.H.M. 11-5

EMULSION OF THE NMR SPECTROMETER

ESPECTRO R.M.N. No. 5

Alcaloide A-II

- Un singulet e en 7.5 p.p.m. que corresponde a protones de tipo aromático y que integra para 5 protones.
- Una señal múltiple en 3.9 p.p.m. que corresponde a  $\begin{array}{c} | \\ -\text{C}-\text{CH}-\text{C}- \\ | \quad | \\ \text{N} \quad \text{O} \end{array}$ ,  $-\text{C}-\text{CH}-\text{C}-$ ,  $-\text{CH}_2-\text{O}-$ ,  $\text{OH}$  y que integra para 5 protones.
- Una señal que aparece en 3.1 p.p.m. y que corresponde a un protón de tipo  $\begin{array}{c} \text{CH}-\text{C} \\ \diagdown \quad / \\ \text{O} \end{array}$  que integra para un protón.
- Un singulete en 2.5 p.p.m. que corresponde a un  $\text{N}-\text{CH}_3$  y que integra para 3 protones.
- Una señal comprendida entre 1.28 y 2.1 p.p.m. que corresponde a los  $-\text{CH}_2-$  y al  $\begin{array}{c} \text{CH}-\text{C} \\ \diagdown \quad / \\ \text{O} \end{array}$  y que integra para 5 protones.



CUADRO No. 5

PARTE DE LA PLANTA	CANTIDAD DE MUESTRA PARA SAPONIFICAR	CANTIDAD DE MUESTRA INSAPONIFICABLE	% DE MUESTRA INSAPONIFICABLE	CANTIDAD DE MUESTRA SAPONIFICADA	% DE MUESTRA SAPONIFICABLE	CANTIDAD DE ACIDOS GRASOS LIBRES PARA ESTERIFICAR	CANTIDAD DE MUESTRA ESTERIFICADA	% DE ESTEROS METILICOS
COROLA	8.23	4	49.08	4.19	51.00	4	3.49	83.3
HOJA	8.73	4.5	51.54	4.14	47.48	4	3.41	82.4
ANTERA	6.19	2.8	45.23	3.33	53.77	3	2.72	82.9
FILAMENTO	5.43	2.5	46.04	2.85	52.53	2	2.41	84.7
PISTILO	5.13	2.4	46.78	2.68	52.37	2	2.20	81.86

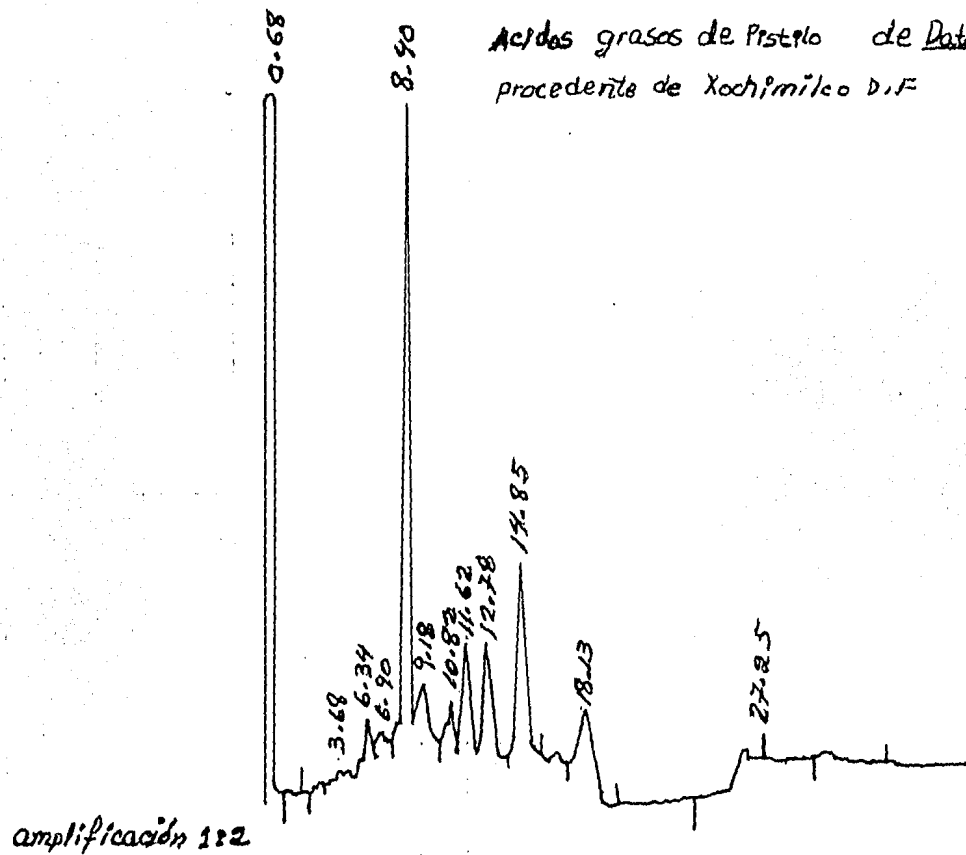
## CUADRO No. 6

ACIDOS GRASOS DE DATURA SUAVEOLENS

a) Acidos grasos de pistilo de Datura suaveolens procedente de Xochimilco

Pico No.	Ester Metílico del ácido graso	No. de carbonos	%
1	No id.	- - -	0.5633802
2	Mirístico	14	7.5742406
3	No id.	- - -	4.7174613
4	Palmítico	16	32.545392
5	No id.	- - -	7.9158323
6	No id.	- - -	7.5139996
7	Estéarico	18	7.8247072
8	Oléico	18:1	9.8564398
9	No id.	- - -	15.128966
10	No id.	- - -	6.3544883

Acidos grasos de Pistilo de Datura suaveolens  
procedente de Xochimilco D.F.

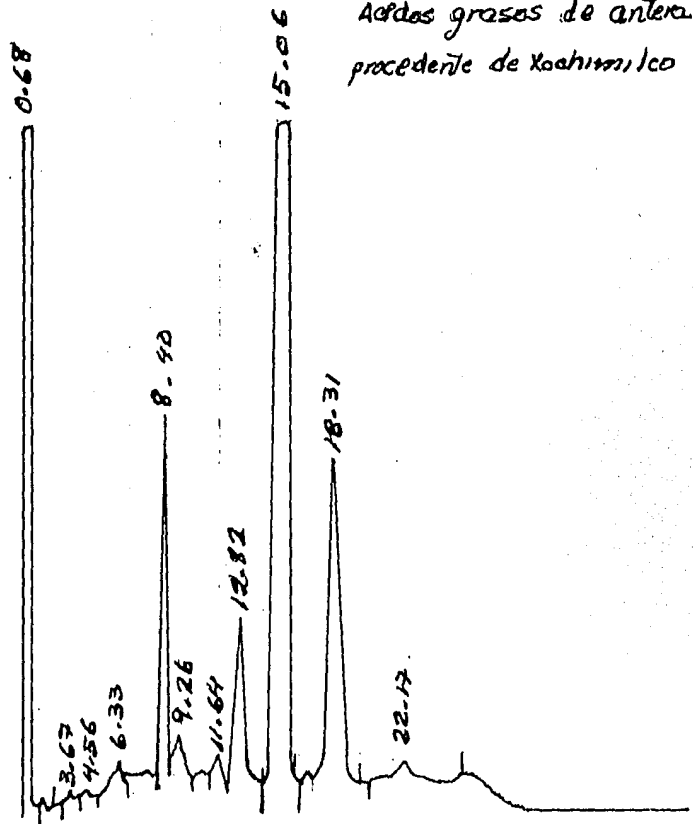


b) Acidos grasos de Anteras de Datura suaveolens procedente de Xochimilco

Pico No.	Ester Metílico del ácido graso	No. de carbonos	%
1	No id.	- - -	0.4933693
2	Laúrico	12	0.8792395
3	Mirístico	14	2.215937
4	Palmítico	16	11.588898
5	No id.	- - -	3.7655204
6	Esteárico	18	1.5968783
7	Oléico	18:1	8.0700621
8	No id.	- - -	56.13496
9	No id.	- - -	19.409693
10	No id.	- - -	1.8382818

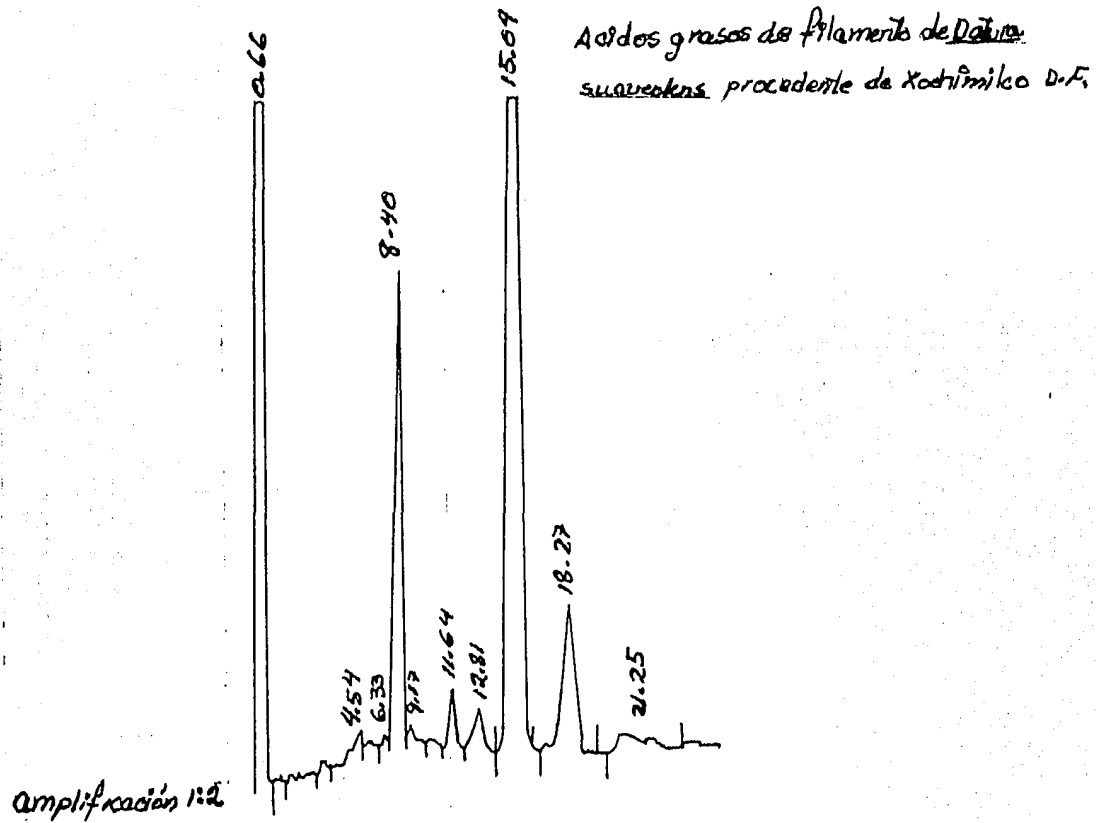
Acidos grasos de antera de Datura suaveolens  
procedente de Xochimilco D.F.

Amplificación 1:2



c) Acidos grasos de filamento de Datura suaveolens procedentes de Xochimilco

Pico No.	Ester Metilico del ácido graso	No. de carbonos	%
1	Laúrico	12	0.5406433
2	Mirístico	14	3.1307782
3	Palmítico	16	18.328628
4	No id.	- - -	3.6453929
5	Estearico	18	3.8308952
6	Oléico	18:1	3.2571712
7	No id.	- - -	49.251023
8	No id.	- - -	12.544797
9	No id.	- - -	5.473136



Acidos grasos de corola de Datura suaveolens procedente de Xochimilco

Pico No.	Ester Metílico	No. de carbonos	%
1	No id.	- - -	50.209627
2	No id.	- - -	3.6429014
3	No id.	- - -	0.7393156
4	No id.	- - -	0.9430069
5	No id.	- - -	2.0698609
6	Laúrico	12	4.3135974
7	No id.	- - -	3.2498756
8	No id.	- - -	3.6073791
9	No id.	- - -	2.09806
10	No id.	- - -	3.7494027
11	No id.	- - -	2.0509167
12	No id.	- - -	4.1745887
13	Palmítico	16	8.0250858
14	Estearico	18	1.4667936
15	No id.	- - -	3.072625
16	No id.	- - -	5.6227442



Acidos grasos de hoja de Datura suaveolens procedente de Xochimilco

Pico No.	Ester Metilico del ácido graso	No. de carbonos	%
1	No id.	- - -	48.997997
2	No id.	- - -	39.736355
3	No id.	- - -	3.8725703
4	No id.	- - -	1.7616
5	No id.	- - -	1.8625512
6	Laúrico	12	0.8881475
7	Mirfístico	14	0.8157127
8	No id.	- - -	1.051997
9	No id.	- - -	1.1959168
10	Palmitico	- - -	0.8816237

## **CAPITULO 6**

### **CONCLUSIONES**

1. En el análisis cuantitativo que se realizó a todas las partes de la planta utilizando para ello la reacción de Dragendorff y Mayer se encontraron positivas, estas reacciones para todas las partes de la planta.

2. En el análisis cuantitativo se encuentra que el mayor porcentaje de alcaloides totales se encuentra en corola de Datura suaveolens proveniente de Xochimilco y el menor porcentaje en tallo de Datura suaveolens proveniente de Oaxaca.

En Datura candida el mayor porcentaje se encuentra en corola proveniente de Oaxaca y el menor porcentaje en tallo proveniente de Morelos.

3. En el análisis cuantitativo por c.c.d. de Datura suaveolens proveniente de Xochimilco se encuentra en mayor porcentaje escopolamina y en menor porcentaje atropina.

En cambio en Datura suaveolens proveniente de Oaxaca se encuentra en mayor porcentaje atropina y en menor porcentaje escopolamina.

4. Se aislo atropina y escopolamina, la identificación se hizo en base a sus espectros de infrarrojo, resonancia magnética nuclear y cromatografía en capa delgada.

5. En el análisis realizado a la grasa de corolas, hojas, filamentos, pistilos y anteras de Datura suaveo-  
lens de Xochimilco, D.F. se encuentran como principales componentes y en una cantidad considerable el ácido pal-  
mítico, ácido oléico, ácido esteárico y ácido laúrico.

En la porción insaponificable "B" de anteras, co-  
rolas, hojas, filamentos y pistilos analizados por cro-  
matografía en capa delgada se encuentran los siguientes  
esteroles:  $\beta$ -sitosterol, estigmasterol, fitosterol,  
sitosterol, colesterol y ergosterol los cuales coinci-  
dían con los estándares tanto en Rf, como en color.

**CAPITULO 7**

**BIBLIOGRAFIA**

## BIBLIOGRAFIA

1. Domínguez Xorge A.: Métodos de investigación fitoquímica. Editorial Limusa, México, (1973).
2. Goodman Louis y Alfred Gilman.: The Pharmacological basis of Therapeutics. Fourth Edition. The MacMillan Company. London-Toronto, (1971).
3. Shultes Richard Evans.: Plantas de los Dioses. Editorial Fondo de Cultura Económica. México, (1982).
4. San Martín Casamada R.: Farmacognosia con Farmacodinamia. Editorial Científico-Médica. New York (1968).
5. Trease George Edward y Evans William Charles.: Pharmacognosy. 10 th. Edition. Editorial Bailliere Tindall. Londres, (1973).
6. The Merck Index Ninth Edition.: Chemical and Drugs Published by Merck & Co. Inc. Rahway, U.S.A., (1976).
7. Pelletier S.W.: Chemistry of the alkaloids. Van Nostrand Reinhold Company. New York, (1970).
8. Fieser L.F. y M. Fieser.: Química Orgánica Superior. Editorial Grijalbo. México, (1966).
9. Clarke E.G.C.: Isolation and identification of drugs, in Pharmaceutical, body fluids and post mortem material The Pharmaceutical Press, London, (1964).

10. Tesis Reguero Reza Ma. Teresa: Estudio químico de Datura sanguinea y Datura discolor. Facultad de Química, U.N.A.M., (1977).
11. Litter Manuel.: Farmacología Experimental y Clínica. Editorial El Ateneo. Argentina, (1979).
12. Xavier Lozoya L.: Estado actual del conocimiento en plantas Medicinales Mexicanas. Instituto Mexicano para el Estudio de Plantas Medicinales, A.C. México, (1976).
13. P. Font Quer.: Plantas Medicinales, El Dioscórides Renovado. Editorial Labor, S.A. España, (1962).
14. Kuschinsky G.: Manual de Farmacología. Editorial Marinsa. Barcelona España, (1969).
15. Diccionario terminológico de Ciencias Médicas. Editorial Salvat. México, (1983).
16. William J. Reeves and Dominick A. Labianca, Scopolamine. J. Chem. Ed. 61, 678, (1984).
17. Youngken W. Heber.: Tratado de Farmacognosia. Editorial Científico-Médica. México, (1956).
18. W.C. Evans and J.F. Lampard. Alkaloids of Datura suaveolens. Phytochemistry, 1972, Vol. 11, pp. 393 to 398.
29. Martínez Maximino.: Plantas Medicinales de México. Editorial Botas. México, D.F., (1959).
20. Helen O'Gorman.: Plantas y flores de México. Dirección General de Publicaciones. U.N.A.M. México, (1963).

21. Strasburger, F. Noll.: Tratato de Botánica. Editorial Manual Marín & Cía. Barcelona, España, (1969).
22. Corbetta Francisco.: Enciclopedia Monográfica de Ciencias Naturales. Editorial Aguilar. Barcelona, España, (1974).
23. Jenkin G.L.: Química Farmacéutica Cuantitativa. Editorial Atlante, S.A. México, D.F., (1951).
24. Stahl Egon.: Thin Layer Chromatography. A Laboratory Handbook. Academic Press Inc., Publishers. New York, (1965).
25. Stahl Egon.: Drug Analysis by Chromatography and Microscopy. A Practical Supplement to Pharmacopeias. Ann Arbor Science, Publishers. Michigan, (1973).
26. Dugenois, P., and M. Foller, Bull Soc. Chem. France 6, 998, (1939).
27. Bernard, J.A.: Métodos Modernos de Análisis Químico. Ediciones Urno. Barcelona, España, (1970).
28. Morrison T.R. y Boyd N.R.: Química Orgánica. Fondo Educativo Interamericano, S.A. Boston, E.U.A., (1976).
29. The Sadtler Standard Spectra. Published by Sadtler research Laboratories. 3316 Spring Garden Street. Philadelphia, Pa. 19104, (1967).
30. García Barriga Hernando.: Flora Medicinal de Colombia. Tomo III.: Instituto de Ciencias Naturales. Colombia, (1975).



31. Sánchez Sánchez Oscar.: La Flora del Valle de México. Quinta Edición. Ed. Herrero. México, (1979).
32. Silverstein Robert M.: Spectromic Identification of Organic Compounds. Editorial John Wiley and Sons., Inc. New York, London, Sidney, Toronto, (1974).
33. Secretaría de Programación y Presupuesto. Coordinación General de los Servicios Nacionales de Estadística, Geografía e Informática.: Anuario Estadístico del Comercio Exterior de los Estados Unidos Mexicanos, (1983).