

DCWE
\$500=

FECHA DE DEVOLUCION

El último sello marca la fecha tope para ser devuelto este libro.

Vencido el plazo, el lector pagará 5,00 peso por cada día que pase.

(11-013)

~~08 SET. 1983~~

26 ABR. 1984

9 MAYO 1984

15 MAYO 1984

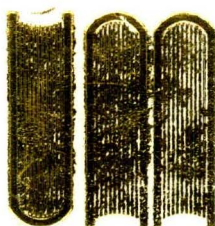
B. Minton

UNIVERSIDAD DE MONTERREY

DIVISION DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS

Clasificación

040.54
G643e
1982
c.1.



UNIVERSIDAD
DE MONTERREY

Folio
801411

Título

ESTUDIO QUIMICO DE

LA PARTE AEREA DE LA Schaefferia cuneifolia

REPORTE DEL PROGRAMA DE EVALUACION FINAL

QUE PRESENTA

Autor

MA. ISABEL GONZALEZ DE LA GARZA

EN OPCION AL TITULO DE

LICENCIADA EN QUIMICA CON ESPECIALIDAD

EN QUIMICA INDUSTRIAL

MONTERREY, N. L.

MAYO DE 1982

BIBLIOTECA

UNIVERSIDAD DE MONTERREY

A DIOS NUESTRO SEÑOR

.... POR SU INFINITA BONDAD....

A MIS PADRES :

SR. LIC. ALBINO GONZALEZ LOZANO
SRA. ANDREA DE LA GARZA DE GONZALEZ

CON TODO EL AGRADECIMIENTO Y RESPETO
QUE SE MERECEN POR SU SACRIFICIO PARA
QUE YO PUDIERA REALIZAR MIS ESTUDIOS.

A MIS HERMANOS Y FAMILIARES

.... CON MUCHO CARIÑO.

A MIS PADRINOS :

SR. FRANCISCO ASUETA AZCUNAGA
SRA. MARIA DE LA GARZA DE ASUETA

A ARMANDO

.... CON AMOR.

A MI ASESOR

LCQ JESUS A. GARZA GUTIERREZ

AL ING. AURELIANO GARCIA FERNANDEZ
Y A TODOS MIS MAESTROS,
ESPECIALMENTE LA SRITA.
LQI MIRIAM MONTANTE LEAL
POR SU APOYO DURANTE MI
CARRERA.

AGRADEZCO

A LA QFB MARICELA RAMIREZ BENAVIDES
A LA QFB MA. DE LOURDES MARTINEZ M.
POR SU COLABORACION EN LA REALIZA-
CION DE ESTE TRABAJO.

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS.....

INDICE

	PAG. No.
INTRODUCCION	1
MATERIALES Y METODOS	16
RESULTADOS	24
DISCUSION Y CONCLUSIONES	47
RESUMEN	50
BIBLIOGRAFIA.....	52

INDICE DE FIGURAS

FIGURA No.		PAG. No.
1	<u>Schaefferia cuneifolia</u>	15
2	Espectro IR del compuesto SCAEEMD-1 (178-180).....	27
3	Espectro IR del compuesto SCAEEMD-2 (166-167).....	28
4	Espectro IR del compuesto SCAEPM-1 (178).....	29
5	Secuencia de la extracción de los metabolitos secundarios de <u>S. c.</u>	30
6	Espectro IR del compuesto SCAEEMD-11.....	45
7	Espectro IR del compuesto SCAEEMD-3 (58-60).....	46

INDICE DE TABLAS

TABLA No.		PAG. No.
1	Grupo de Sesquiterpenalcoholes.....	7
2	Grupo de Sesquiterpenalcaloides.....	9
3	Secuencia de Cromatografía Flash I y II del extracto metanólico directo soluble en CHCl_3	31
4	Cromatografía en capa delgada de los Re- siduos de CF I y II.....	32
5	Secuencia de Cromatografía Flash III del extracto metanólico directo soluble en CHCl_3	36
6	Cromatografía en capa delgada de los Re- siduos de CF III.....	38
7	Cromatografía en capa delgada de algunos Residuos de CF III.....	44

INDICE DE CLAVES Y ABREVIATURAS

<u>S. c.</u>	<u>Schaefferia cuneifolia</u>
CF	Cromatografía Flash
CCD	Cromatografía en Capa Delgada
IR	Infrarrojo
SC	<u>Schaefferia cuneifolia</u>
AE	Aérea
EMD	Extracto metanólico directo
PM	Precipitado metanólico
V/V	Volumen sobre volumen
pf	Punto de fusión
UV	Ultravioleta
nm	Nanómetros
cm	Centímetros
mm	Milímetros
lt	Litros
g	Gramos
ml	Mililitros
mg	Miligramos
pulg	Pulgadas
min	Minutos
hr	Horas

ins.	Insoluble
A. de E.	Acetato de Etilo
H	Hexano
E	Etanol
seg	Segundos
p.	Precipitado
M.	Mancha

INTRODUCCION

Desde la aparición del hombre sobre la faz de la tierra, éste ha estado íntimamente ligado a la vegetación que lo rodea, ya que las -- plantas desempeñan un papel importante en su existencia, tanto por los productos que de ellas obtiene, como por su contribución a la - conservación de la vida. La utilidad de las plantas es muy variada, así tenemos las que proporcionan alimento, las que ofrecen substancias que se emplean en la medicina, aquéllas de las cuales se obtienen materias primas para la industria, las forrajeras para alimentar a los animales que sirven al hombre y por último las ornamentales que embellecen el ambiente en el que se convive. (1).

Por estas razones durante muchos años se han llevado a cabo investigaciones relativas a las plantas, estudiándolas en base a su forma y estructura general y de sus órganos, sus actividades y funciones, la naturaleza y mecánica de la herencia, las características de sus células, las enfermedades que las afectan, sus relaciones con el medio en que viven y su naturaleza química.

Dichas investigaciones se han visto auxiliadas por descubrimientos realizados en el campo de otras ciencias y así tenemos por ejemplo que : la Fitoquímica es la ciencia que estudia los diferentes compuestos que se encuentran en las plantas y ésta se ayuda de la Quimiotaxonomía para clasificarlas de acuerdo a ciertos metabolitos presentes en ellas

Para separar los componentes químicos de las plantas, se utilizan entre otros, métodos cromatográficos, los cuales se basan en procedimientos fisicoquímicos que permiten separar los componentes o sustancias integrantes de una mezcla por adsorción o separación diferencial de estos componentes sobre una superficie estacionaria o inmóvil. (2).

Una variante en las técnicas cromatográficas es la Flash, la cual permite realizar separaciones en un tiempo menor con volúmenes -

reducidos de solvente.

Una vez separados los componentes químicos de la mezcla, estos se purifican mediante la cristalización, posteriormente se procede a la identificación de dichos componentes, por métodos espectroscópicos, físicos y químicos.

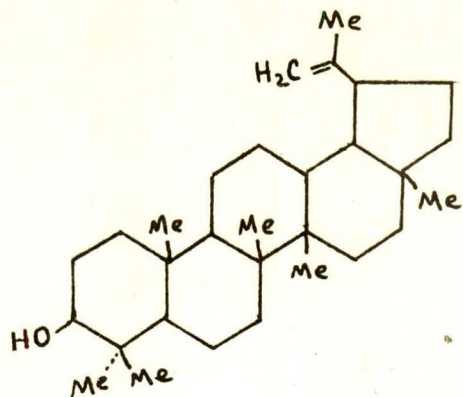
En el Norte de México se encuentran algunas especies de la familia Celastraceae, conocida también como Agri-Dulce. (3). Los --- miembros de este grupo son en su mayoría árboles rectos, arbustos o enredaderas y están distribuidos en 53 géneros y 500 especies. Algunas de estas han llamado la atención de los investigadores pues a través de su estudio se han logrado aislar alcaloides y triterpenquinonas con acción citotóxica. (4), (5), (6). (7).

Algunos de los compuestos químicos que se han encontrado en los distintos géneros son los siguientes : (8), (9). (10).

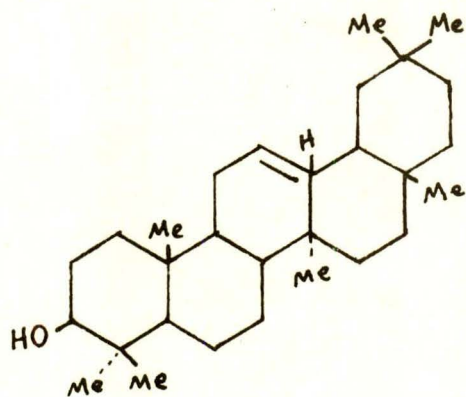
Terpenos y Terpenoides :

Terpenos pentacíclicos en los que podemos encontrar los siguientes grupos :

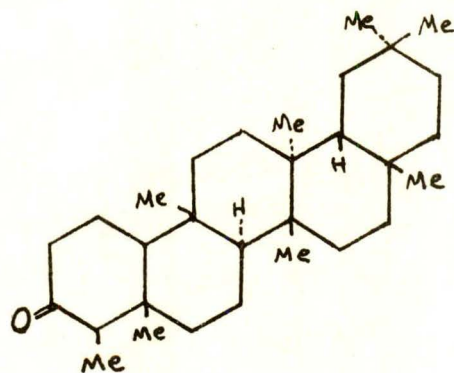
1. - Grupo lupano



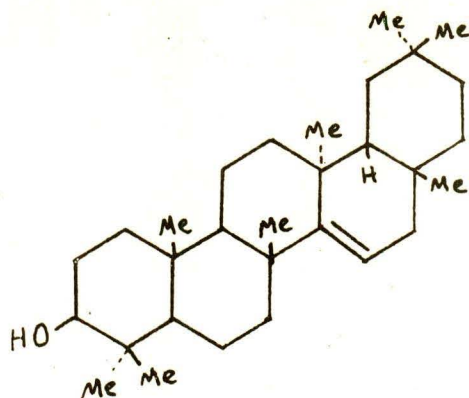
2. - Grupo oleanano



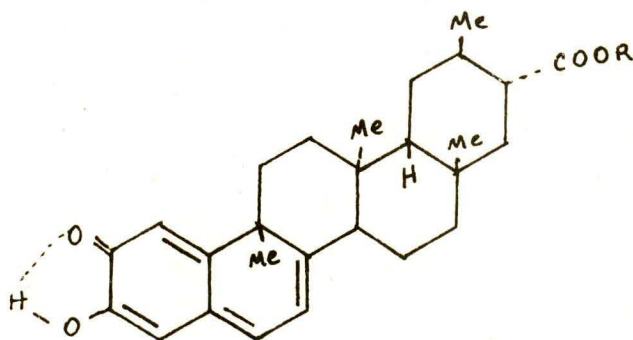
3. - Grupo friedelano



4. - Grupo taraxerano

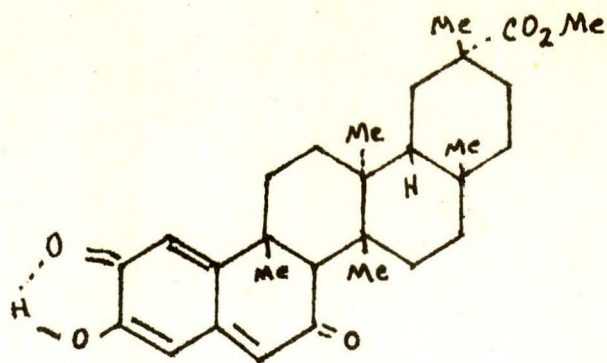


Celastroides

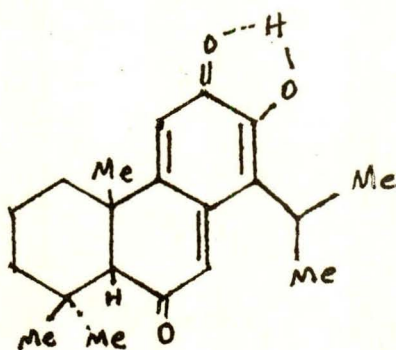


R = H Celastrol pf = 205 °C

R = Me Pristimerina pf = 219-220 °C



Dispermoquinona pf = 225-257 °C



Maytenoquinona pf = 158-160 °C

Sesquiterpenos

1. - Grupo de sesquiterpenalcoholes . TABLA I

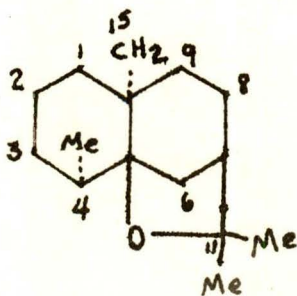


TABLA I. - Grupo de sesquiterpenalcoholes

	C-1	C-2	C-3	C-4	C-6	C-8	C-9	C-15	C-15
Celorbicol pf = 222-223 °C	-OH	2H	2H	H	-OH	H	-OH	H	H
Maytol pf = 229-237 °C	-OH	--OH	-OH	-OH	-OH	2H	-OH	H	-OH
Euonyminol pf = 250 °C	--OH	--OH	-OH	-OH	-OH	--OH	---OH	-OH	-OH
Maytina Amorfo	---OAc	---OAc	2H	-OH	-OAc	2H	-ONic	-OAc	
Maytolina Amorfo	---OAc	---OAc	-OH	-OH	-OAc	2H	-ONic	-OAc	
Maytolidina pf = 128-132 °C	---OAc	---OAc	-OAc	-OH	-OBz	2H	-ONic	-OAc	

Alcaloides

1. - Grupo de sesquiterpenalcaloides . TABLA II

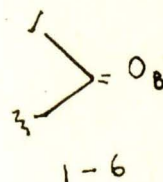
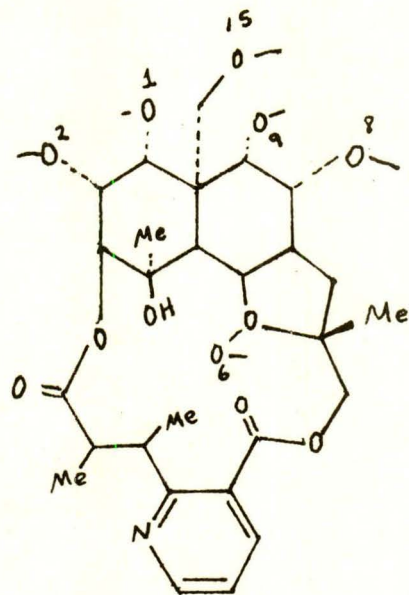
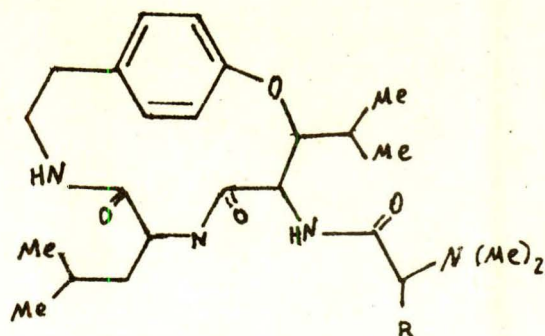


TABLA II. - Grupo de sesquiterpenalcaloides

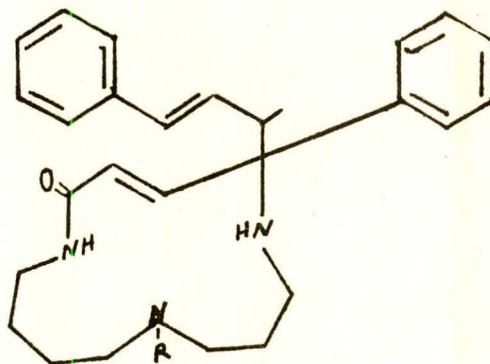
O-1	O-1	O-6	O-9	O-8	O-15	
Ac	Ac	H	H		Ac	Euozin pf = 288-289 °C
Ac	H	H	Ac		Ac	2,6 Bisdesacetileuonin pf = 141 °C
Ac	H	Ac	Ac		Ac	2-Desacetileuonin pf = 135 °C
Ac	Ac	H	Ac		Ac	Neo-Euonin pf = 264-265 °C
Ac	Ac	Ac	Ac		Ac	Euonilin pf = 150-158 °C
Ac	Ac	Ac	Ac		Ac	Euonin pf = 184-190 °C
Ac	Ac	H	Ac	Ac	Ac	Neo-Euonymin pf = 259-262 °C
Ac	Ac	Ac	Ac	Ac	Ac	Euonymin pf = 140-146 °C

2. - Tetrahidro-isoquinolina y Tetrahidro-isoquinolinalcaloides.



R = CH(Me)ET	Frangulamin	pf = 267-279 °C
R = CH ₂ CHMe ₂	Franganin	pf = 240-245 °C
R = CH ₂ ph	Frangufolin	pf = 235-245 °C

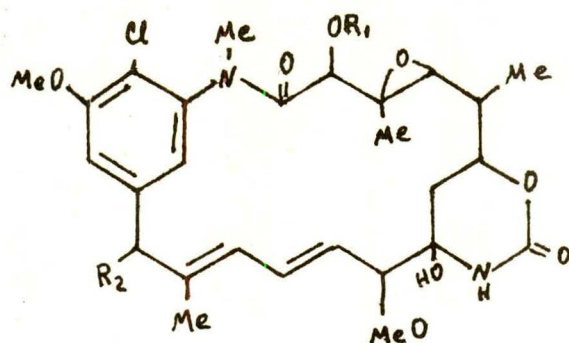
3. - Spermidin alcaloides



R = H Maytenin

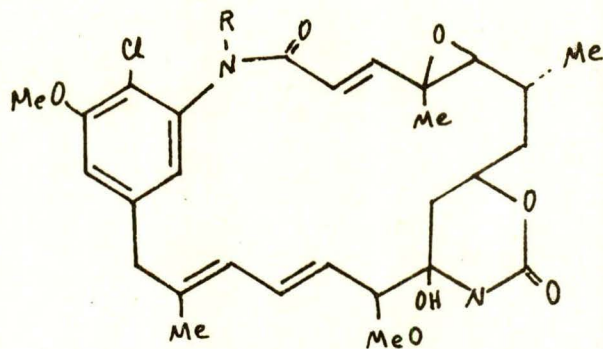
4. - Alcaloides macrocíclicos : Maytansinoide y Maytanside.

Estructura general de Maytansinoide



R_1	R_2		
H	H	Maytansinol	pf = 173-174.5 °C
Ac	H	Maytanacin	pf = 234-237 °C
COOCHNe	H	Maytansin	
MeN Ac			
COCH Me	H	Maytanprin	pf = 169-179 °C
MeNCOEt			
COCH Me	H	Maytanbutin	pf = 170-171 °C
MeNCOCHMe			
Et			
COCH Me	H	Maytannualin	pf = 175-176 °C
MeNCOCH ₂ CH ₂ Me ₂			

R_1	R_2		
COCHMe	OH	Colubrinol	pf = 194-196 °C
MeNCOCHMe ₂			
COCHMe	OCOMe	Acetato de Colubrinol	pf = 179-182 °C
MeN-COCHMe ₂			
COCHMe ₂	OCOMe	Maytanbutancina	pf = 253-255 °C



R = Me	Maysina	pf = 137-141 °C
R = H	Nor-Maysina	pf = 187-188 °C

Una de las especies de esta familia es la Schaefferia cuneifolia cuya clasificación botánica es la siguiente :

Reino : Vegetal

División : Pterophyta

Subdivisión : Angiosperma

Clase : Dicotiledónea

Familia : Celastraceae

Subfamilia : Celastrus

Género : Schaefferia

Especie : S. cuneifolia

Esta planta es un arbusto generalmente de medio metro de alto, -- con ramas rígidas enmarañadas, con ramificaciones estriadas y -- espinosas ; la corteza es de color gris luminoso, las hojas son -- sésiles, alternas y fasciculadas de forma ovoide, con ápice redon- deado de 5-25 mm de largo y 2-15 mm de ancho, lisas coriáceas , de color verde claro.

Las flores son estaminadas, pistiladas y olorosas, se presentan -- solitarias o agrupadas, tienen 4 pétalos sésiles con pediceles de -- 2 mm de largo ; se observan los estambres rectos y más cortos -- que los pétalos ; el ovario es abortivo y su estilo corto sostiene --

dos estigmas oblongo-lineales, largos divergentes, generalmente agrietados y desiguales.

El cáliz es lobulado, recortado-ciliolado, ovulado-redondeado de 6-8 mm de largo con sépalos verdosos oblongos. Su fruto es una drupa globosa con glóbulos ligeramente comprimidos que tienen dos semillas de 3-5 mm de largo, de color anaranjado a rojo -- translúcido y brillante.

Esta planta (Fig. 1), se encuentra fácilmente en los cerros rocosos, en las quebradas y cañones, en los Planos del Río Grande y Valles Trans-Pecos, en el Norte de México y Baja California, -- excepto en regiones con clima frío. Se le conoce por nombres según el lugar en que se localiza : "Capul", "Desert Yaupon", y "Panalero". (3), (11), (12), (13).

Considerando el tipo de compuestos aislados en la familia Celastraceae y en base a un estudio anterior de la planta Schaefferia cuneifolia el objetivo de este trabajo es el aislamiento e identificación de sus metabolitos secundarios localizados en la parte aérea.

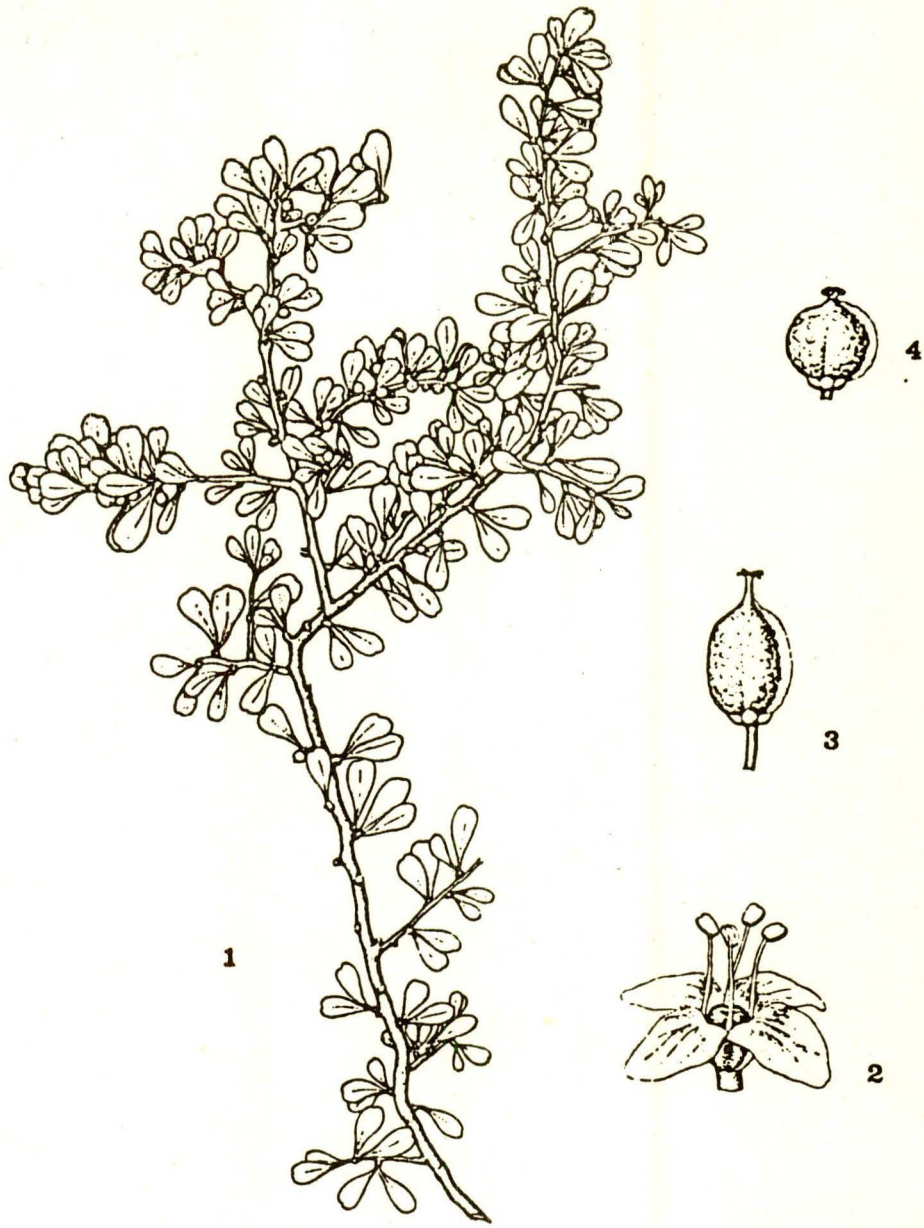


Fig. 1. - Schaefferia cuneifolia ; 1) parte aérea, 2) flor. 3) y 4) drupa.

MATERIALES Y METODOS

Para la realización de este trabajo, el material que se empleó fue la planta Schaefferia cuneifolia, la cual se recolectó en el mes de Septiembre de 1981, sobre el camino a las Grutas de García en el municipio de Garza García en el estado de Nuevo León,

El estudio de la planta se llevó a cabo durante los meses de Marzo a Mayo del año 1982, en el laboratorio de Investigación Fitoquímica de la División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad - de Monterrey.

METODOS :

1) Preparación del Material y Separación de los Principios Activos.

La parte aérea de la planta se secó y molió en un molino tipo - Wiley, el producto seco se extrajo con metanol durante 7 días, en un aparato tipo Soxhlet y se concentró en un rotavapor tipo - Flash, obteniéndose de esta forma el extracto metanólico directo y un residuo.

Esta alternativa de extracción se hizo con el propósito de tratar de acrecentar el rendimiento en el aislamiento de los metabolitos secundarios.

Del extracto obtenido se separaron los principios activos por -- métodos cromatográficos y por cristalización.

1.1 Métodos Cromatográficos :

A) Cromatografía en Capa Delgada (CCD) .

El método que se utilizó para la CCD fue el desarrollo unidimensional ascendente.

a) Se utilizaron placas de vidrio rectangulares de 2 por

10 cm, se cubrieron con Sílica Gel G (Merck) - malla 60, (Reactivo - 1), con un aparato Desaga - Heidelberg, dejándose secar por 1 hora a temperatura ambiente y por 2 horas a 110 °C.

- b) La muestra se aplicó a 10 mm del extremo inferior y se colocaron las placas en cubas de vidrio con fondo plano, recubiertas con papel filtro impregnado con el eluente para asegurar una rápida y adecuada saturación de la cámara con el vapor de éste.
- c) El eluente utilizado fue hexano-etanol en las siguientes proporciones (V/V) : hexano, 9:1, 8:2, 7:3 , 1:1 y etanol.
- d) Como agentes cromógenos se utilizaron :
 - 1) Luz ultravioleta
 - 2) Cloruro de Cobalto (Reactivo - 2).

Este último se roció sobre la placa con un dispersor y se calentó durante 5 min a 100-120 °C.

B) Cromatografía Flash (CF) .

La cromatografía flash es un método que permite la --
separación de componentes con un Rf 0.05 en CCD --
analítica obteniéndose una buena resolución en un tiem-
po máximo de 1 a 3 horas.

- a) Se utilizaron columnas de vidrio de 18 pulg de largo por 1 pulg de diámetro, provista de válvulas controladoras, una situada en la parte inferior para la salida del eluente y otra en la parte superior para controlar la presión ejercida por el gas.
- b) El eluente usado fue hexano-etanol, principiando con hexano puro, variando la polaridad con etanol en relación 9:1, 8:2, 7:3, 1:1 y finalmente etanol puro.
- c) Se introdujo en la parte baja de la columna un trozo pequeño de fibra de vidrio, que cubrió el fondo de la misma por las paredes y el centro.
- d) Enseguida se colocó una capa de 3 mm de núcleos -

de ebullición.

- e) Se empacó la columna de 15 a 20 cm con Sílica Gel G malla 60. Para evitar los espacios vacíos, la columna se golpeó ligeramente.
- f) Una vez preparada la columna se agregó el Hexano y la presión de N_2 se utilizó para desalojar rápidamente todo el aire atrapado en la Sílica Gel.
- g) Se agregó el extracto previamente mezclado con una cantidad suficiente de Sílica Gel hasta la formación de un sólido homogéneo.
- h) Se eluyó la columna con el eluyente.
- i) Las eluciones se llevaron a cabo mediante una presión de nitrógeno a una velocidad de flujo de 2 pulg/min.
- j) Se recolectó en fracciones de 20 ml, y se monitorearon por CCD.

1.2 Método de Cristalización.

Los solventes usados en la cristalización de cada compuesto se determinaron experimentalmente, dependiendo de la polaridad de éstos, los solventes fueron: éter de petróleo, éter diisopropílico, benceno, acetona, etanol, metanol y agua.

2) Purificación de los principios activos .

Para la purificación de los principios activos se utilizó el método de purificación con carbón activado y el método de recristalización.

2.1) Método de Purificación con Carbón Activado.

Los compuestos se disolvieron y se les agregó carbón activado, se calentó por 2-5 min y se filtró. El carbón activado tiene la propiedad de atraer impurezas, clarificando la solución.

2.2) Método de Recristalización.

Se dejaron evaporar lentamente las soluciones, formandose de esta forma cristales de gran tamaño.

3) Identificación de los Principios Activos.

Para la identificación de los principios activos se utilizaron :

- Método Espectroscópico de Rayos Infrarrojo.
- Método físico de Punto de Fusión.

3.1) Aparatos empleados en la identificación.

a) Espectros de Absorción en el IR

Se utilizó un Espectrofotómetro Beckman IR-33.

b) Punto de Fusión.

Se utilizó un aparato Melt-Temp, para determinaciones en capilar cerrado.

3.2) Reacciones de Identificación.

a) Prueba de Salkowski.

A 1-2 mg de muestra en 1 ml de CHCl_3 se le añade 1 ml de H_2SO_4 concentrado. Es positiva la prueba si da colores de rojo a púrpura o café. Es característica de - Quinonas, Esteroles, Saponinas y Sapogeninas. (14).

REACTIVOS

Reactivo - 1) Sílica Gel. para placas para CCD.

Sílica Gel G malla 60 40 g

Agua destilada 80 ml

Reactivo - 2) Solución de Cloruro de Cobalto.

CoCl_2 20 g

Agua destilada 400-500 ml

Se le añaden poco a poco 100 ml de H_2SO_4 concentrado, agitando continuamente ; se termina aforando a 1 lt con agua destilada.

RESULTADOS

En un extractor tipo Soxhlet se reflujo la parte aérea de la planta seca y molida, en metanol (punto de ebullición = 65 °C) durante 7 días.

Durante la extracción se formó un precipitado, el cual se separó de la solución, pesando 19.8 gramos, la solución se concentró en un rotavapor tipo Flash, en baño maría y a presión reducida, obteniéndose 65.5 gramos del extracto metanólico directo, los cuales se refluaron con 200 ml de CHCl_3 por espacio de una hora. Haciendo una extracción con agua se separó la parte soluble en CHCl_3

de la parte acuosa insoluble en CHCl_3 .

Al extracto metanólico directo soluble en CHCl_3 se le corrieron 3 cromatografías Flash, utilizando hexano-etanol como eluente; las dos primeras se corrieron con 4 gramos de extracto y el resultado fue el mismo, este se muestra en la tabla III.

La tercer cromatografía Flash se corrió con 12 gramos de extracto, obteniéndose mayores cantidades de los metabolitos secundarios -- aislados, la secuencia de ésta se muestra en la tabla IV.

El extracto metanólico directo acuoso insoluble en CHCl_3 se dejó reposar *, y se formó un precipitado café, al cual se le denominó SCAEEMD-0, se descompone antes de llegar a su punto de fusión, este se filtró y la solución se reflujo por espacio de una hora con 150 ml de acetato de etilo, fue totalmente insoluble, posteriormente se le añadió metanol y se obtuvieron unos cristales blancos, a los cuales se les denominó SCAEEMD-1.

*Cuando se trata un extracto con agua, tienden a formarse hongos, para evitar esto se agregan unas gotas de tolueno a la solución -- acuosa.

Para purificarlos se disolvieron en agua caliente, se clarificó la -- solución con carbón activado, obteniéndose de esta forma cristales más grandes, los cuales fundieron a 178-180 °C, y cuyo espectro - IR se muestra en la Fig. 2 .

La solución color miel, se concentró y se filtró, obteniéndose 299 mg de cristales blancos denominados SCAEEMD-2, los cuales fundieron a 166-167 °C, su espectro IR se muestra en la Fig. 3 .

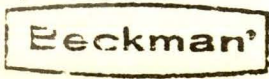
Los 19.8 gramos del precipitado resultante de la extracción se lavaron con alcohol, al precipitado que pesó 5.1212 g se le denominó SCAEPM-1. Se purificó con carbón activado, y fundió a 178 °C, su espectro IR se muestra en la Fig. 4 .

En la Fig. 5 se muestra la secuencia que se siguió en la extracción de éstos compuestos.

SPECTRUM NO. _____
 DATE _____
 SAMPLE _____

 SOURCE _____
 STRUCTURE _____

 PATH _____ mm _____
 SOLVENT _____
 CONCENTRATION _____
 PHASE _____
 COMMENTS _____



INFRARED
 SPECTROPHOTOMETER

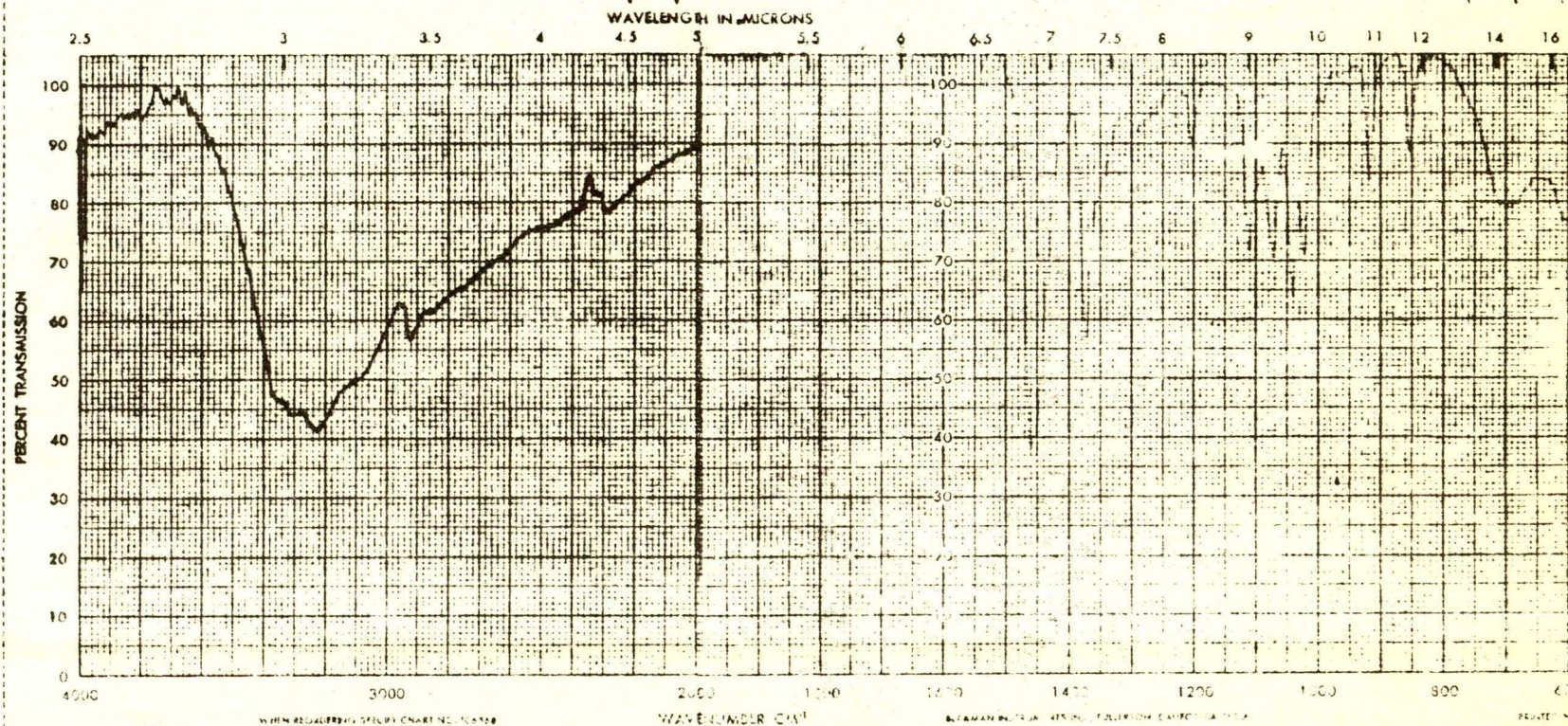


Fig. 2 - Espectro IR del compuesto SCAEEMD-1.

SPECTRUM NO. _____
 DATE _____
 SAMPLE _____

 SOURCE _____
 STRUCTURE _____

 PATH _____
 SOLVENT _____
 CONCENTRATION _____
 PHASE _____
 COMMENTS _____

 ANALYST _____

Beckman
 INFRARED
 SPECTROPHOTOMETER

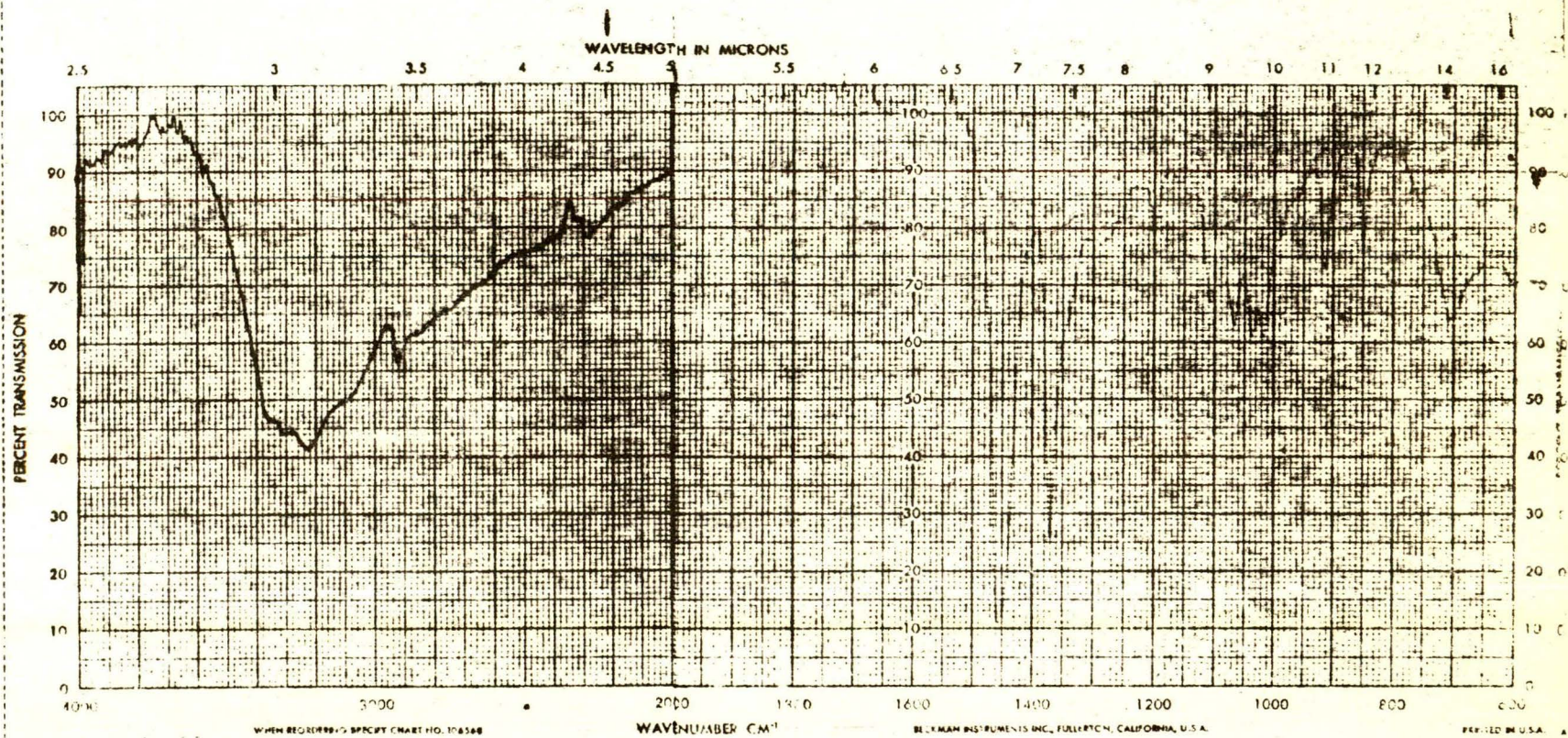


Fig. 3. - Espectro IR del compuesto SCAEEMD-2.

SPECTRUM NO. _____
 DATE _____
 SAMPLE _____

 SOURCE _____
 STRUCTURE _____

 PATH _____ mm _____
 SOLVENT _____
 CONCENTRATION _____
 PHASE _____
 COMMENTS _____

Eckman[®]

INFRARED
 SPECTROPHOTOMETER

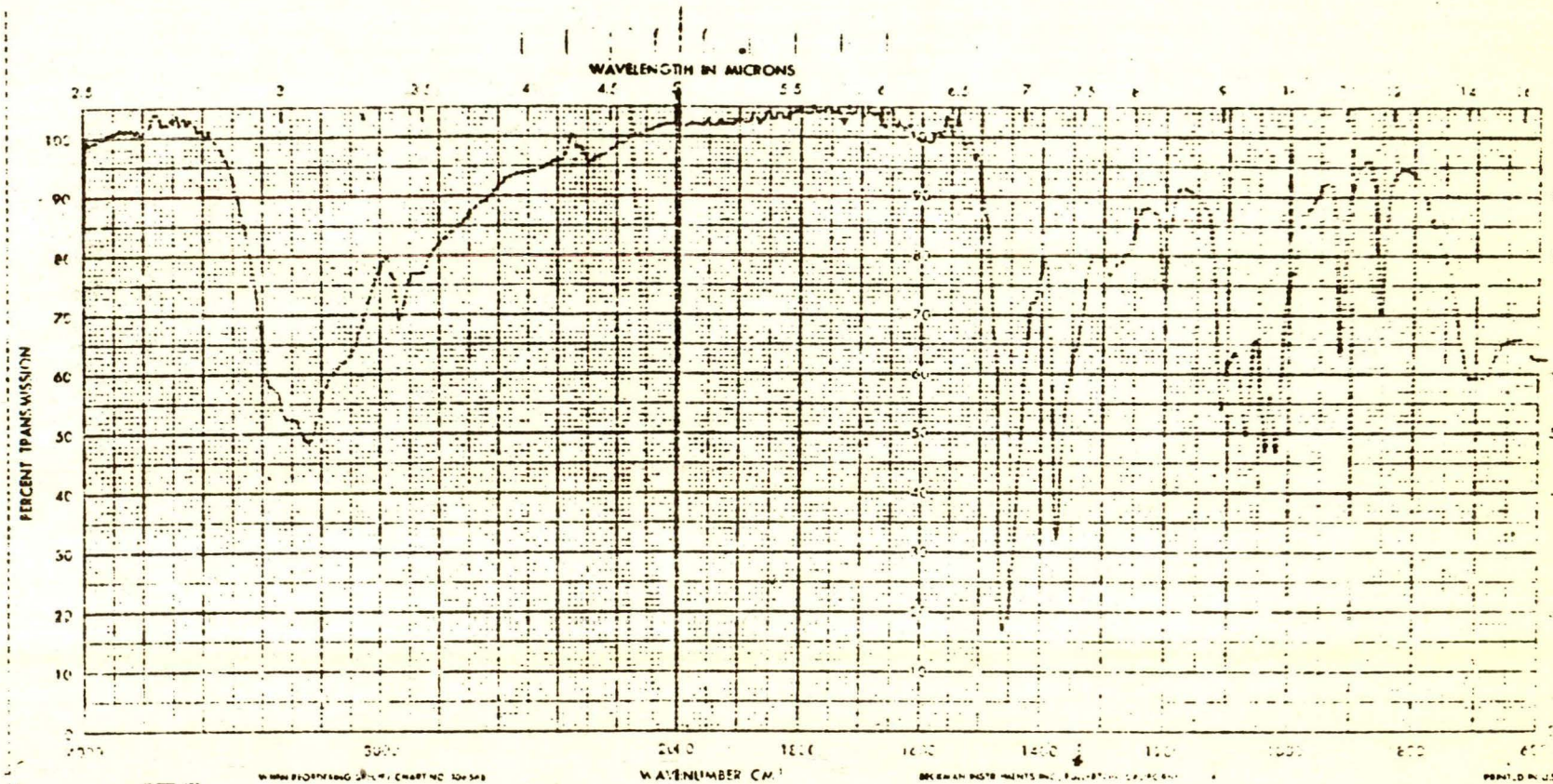


Fig. 4. - Espectro IR del compuesto SCAEPM-1.

Fig. 5. - Secuencia de la extracción de los metabolitos secundarios de Schaefferia cuneifolia.

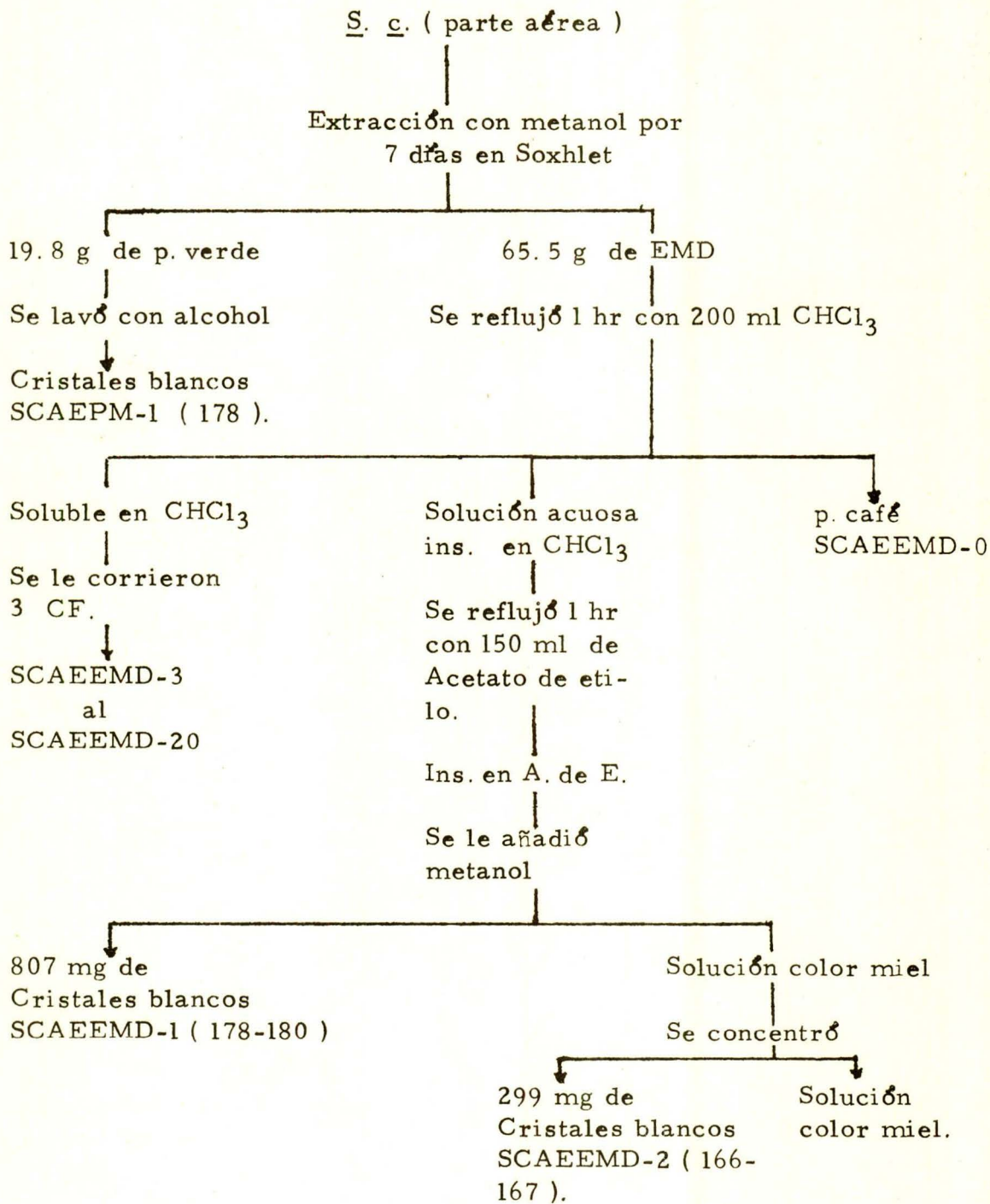


TABLA III. - Secuencia de Cromatografía Flash I y II del extracto metanólico directo soluble en Cloroformo.

RESIDUO	FRACCION	ELUENTE	OBSERVACION
1	1 - 11	Hexano	Líquido incoloro
2	1 - 11	Hexano	Líquido verde
3	12 - 17	H-E (9:1)V/V	Líquido café claro
4	18 - 38	H-E (8:2)V/V	Líquido amarillo
5	39 - 49	H-E (7:3)V/V	Líquido amarillo
6	39 - 49	H-E (7:3)V/V	Líquido amarillo
7	50 - 100	H-E (7:3), (1:1)V/V	Líquido amarillo

TABLA IV. - Cromatografía en capa delgada de los Residuos de
CF I y II .

R	VISIBLE	UV	CoCl ₂	CoCl ₂ -UV	Rf
1	No aparece	No aparece	M. corrida café	M. corrida celeste	*
2	Verde	Roja	Verde	Celeste	. 588
	No aparece	Rosa	Verde	Celeste	. 564
	Anaranjada	Anaranjada	Rosa	Celeste	. 435
3	Café	No aparece	Café	Celeste	. 400
4	No aparece	Crema	Café	Celeste	. 386
5	No aparece	Verde	Café	Blanca	. 456
	No aparece	Anaranjada	Café	Celeste	. 390

TABLA IV. - Continuación.....

R	VISIBLE	UV	CoCl ₂	CoCl ₂ -UV	Rf
6	No aparece	Roja	Café	Celeste	.245
	No aparece	Anaranjada	Café	Celeste	.192
	No aparece	Amarilla	Café	Celeste	.140
	No aparece	Crema	Café	Celeste	.052
7	No aparece	Crema	Café	Celeste	.060

3.1) Purificación de los residuos de Columna I y II.

Residuo 1

Líquido incoloro, se le añadió metanol, y se obtuvo un precipitado blanco el cual se lavó con acetona, se secó y pesó -- 101.2 mg, éste precipitado es soluble en cloroformo, y en hexano, e insoluble en acetona, metanol, etanol y agua. ---- (SCAEEMD-3). Fundió a 58-60 °C.

Residuo 2

Líquido verde, se le añadió metanol, obteniéndose un precipitado verde, el cual se lavó con acetona, se secó y pesó 9.6 mg éste precipitado verde fundió a 62-64 °C, se le denominó -- (SCAEEMD-4). La solución restante se concentró y quedó un precipitado gomoso verde, solamente soluble en cloroformo. y cuya CCD muestra manchas características de clorofila. (SCAEEMD-5).

Residuo 3

Líquido café claro, se le añadió metanol y se obtuvieron 25.3 mg de un precipitado amarillo-verdoso, el cual fundió a 68-70 °C. (SCAEEMD-6). En la prueba de Salkowski da un co-

lor rojo-cafesusco.

Residuo 4

Líquido amarillo, se le añadió metanol y dió 5 mg de precipitado blanco. (SCAEEMD-7).

Residuo 5

Líquido amarillo, se le añadió metanol obteniéndose 18.8 mg de precipitado crema. el cual fundió a 70-72 °C. Dió negativa la prueba de Salkowski. Se le denominó SCAEEMD-8.

Residuo 6

Líquido amarillo, se le añadió metanol dando un precipitado café verdoso que fundió a 63-70°C. Se le denominó SCAEEMD-9.

Residuo 7

Líquido amarillo, se le añadió éter de petróleo y se obtuvieron 89.4 mg de precipitado crema, el cual fundió a 79 °C. Se le denominó SCAEEMD-10.

TABLA V. - Secuencia de Cromatografía Flash III del extracto metanólico directo soluble en Cloroformo.

RESIDUO	FRACCION	ELUENTE	OBSERVACION
1	1 - 5	Hexano	Líquido incoloro
2	6 - 9	Hexano	Líquido amarillo limón
3	10 - 11	Hexano	Líquido anaranjado
4	12 - 16	Hexano	Líquido amarillo
5	17 - 25	Hexano	Líquido crema
6	26 - 34	H-E (9:1)V/V	Líquido amarillo
7	35 - 60	H-E (9:1)V/V	Líquido verde

TABLA V. - Continuación

RESIDUO	FRACCION	ELUENTE	OBSERVACION
8	51 - 131	H-E (8:2), (7:3)V/V	Líquido am. con aceite café
9	132 - 146	H-E (1:1)V/V	Líquido café
10	147 - 156	Etanol	Líquido café

TABLA VI. - Cromatografía en capa delgada de los residuos de CF III
del extracto metanólico directo soluble en CHCl_3 .

R	VISIBLE	UV	CoCl_2	CoCl_2 -UV	Rf
1	No aparece	No aparece	M. corrida café	M. corrida celeste	*
2	No aparece	M. corrida morada	M. corrida café	M. corrida celeste	.5056
3	Amarilla	Amarilla	Negra	Amarilla	.28
4	No aparece	No aparece	Café	Blanca Amarilla	.08 .222
5	No aparece	No aparece	Anaranjada	Amarilla	.173
6	No aparece	No aparece	No aparece	No aparece	*

TABLA VI. - Continuación...

R	VISIBLE	UV	CoCl ₂	CoCl ₂ -UV	Rf
7	Verde	Roja	Verde	Celeste	.588
	Anaranjada	Rosa	Verde	Celeste	.564
	Anaranjada	Anaranjada	Rosa	Celeste	.435
8	Corrida amarilla	Corrida anaranjada	Corrida café	Celeste	*
9	No aparece	No aparece	Corrida café	Celeste	*
10	No aparece	No aparece	Corrida café	Celeste	*

3.2) Purificación de los residuos de Columna III.

Residuo 1

Líquido incoloro, se le añadió metanol y se formó un precipitado blanco, se lavó con acetona se secó y pesó 159.3 mg., -- fundió a 58-60 °C. Se le denominó SCAEEMD-3.

Residuo 2

Líquido amarillo limón, se le añadió metanol, y dió un precipitado amarillo el cual se lavó con acetona, quedando de color blanco, fueron 11.7 mg. (SCAEEMD-3).

La solución anaranjada se concentró dando una solución amarilla y un aceite rojo, al cual se le corrió un espectro IR. -- (Fig. 6), y se le denominó SCAEEMD-11. La solución amarilla se solidificó. (SCAEEMD-12).

El aceite rojo SCAEEMD-11, es inflamable y es volátil.

Residuo 3

Líquido naranja. se le añadió metanol y se obtuvieron 3.1 mg de precipitado blanco, se lavó con acetona. (SCAEEMD-3).

La solución amarilla se solidificó. Se le denominó SCAEE - MD-13.

Residuo 4

Líquido amarillo intenso, se le añadió metanol y dió 150.7 mg de precipitado blanco, el cual se lavó con acetona. (SCAEE-MD-3).

Residuo 5

Líquido crema, se le añadió metanol, se obtuvieron 255.5 mg de precipitado blanco, al cual se le corrió un espectro IR, - (Fig. 7), (SCAEEMD-3)., y una solución amarilla, la cual solidificó, (SCAEEMD-14).

Residuo 6

Líquido amarillo, se le añadió metanol, se obtuvieron 45.2 - mg de precipitado blanco, (SCAEEMD-3), y una solución -- amarillo claro, la cual solidificó, (SCAEEMD-15).

Residuo 7

Líquido verde, se le añadió metanol, y dió un precipitado --

verde. el cual se lavó con acetona, (SCAEEMD-4). la solución resultante se concentró y quedó un precipitado gomoso, (SCAEEMD-5).

Residuo 8

Líquido amarillo con aceite café, se separaron y presentaron la misma CCD.

Se le añadió éter de petróleo y dió un precipitado café, al -- cual se le denominó SCAEEMD-16. La solución se concentró y quedó de aspecto gomoso, se le denominó SCAEEMD-17.

Residuo 9

Líquido café. se le añadió acetato de etilo, obteniéndose 50.5 mg de precipitado café, al cual se le denominó SCAEEMD-18.

Residuo 10

Líquido café, se le añadió éter de petróleo y se obtuvieron - 22.9 mg de un precipitado café oscuro, el cual fundió a 128-134 °C. se le denominó SCAEEMD-19.

La solución se concentró. se le añadió acetato de etilo y dió
18.4 mg de un precipitado café al cual se le denominó SCAE-
EMD-20 .

TABLA VII. - Cromatografía en capa delgada de algunos Residuos
de CF III.

R	OBS.	VISIBLE	UV	CoCl ₂	CoCl ₂ -UV	Rf
1	p. bco.	No aparece	No aparece	No aparece	No aparece	*
2	p. bco.	No aparece	No aparece	No aparece	No aparece	*
3	p. bco.	No aparece	No aparece	No aparece	No aparece	*
2	Solución anaranjada	Amarilla Amarilla	Morada Morada	Café Negra	Anaranjada Celeste	.70 .425
8	p. café	M. corrida café	No aparece	Rosa	Amarilla	.36
9	p. café	No aparece	No aparece	Negra	Amarilla	.36

SPECTRUM NO. _____

DATE _____

SAMPLE _____

SOURCE _____

STRUCTURE _____

PATH _____

SOLVENT CCl₄

CONCENTRATION _____

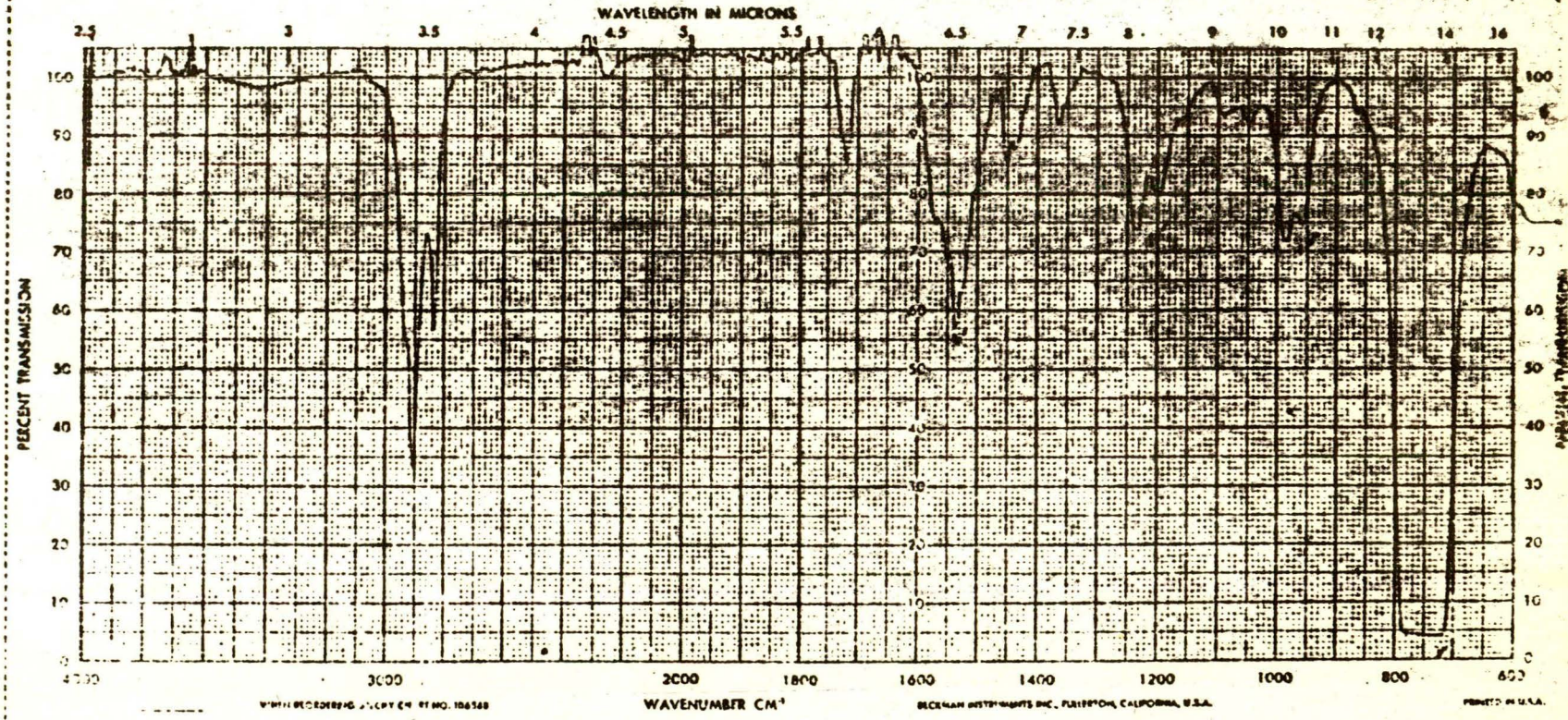
PHASE _____

COMMENTS _____

ANALYST _____

Beckman

INFRARED
SPECTROPHOTOMETER



WITH RECORDING JACKET REF. NO. 106588

WAVENUMBER CM⁻¹

BECKMAN INSTRUMENTS INC., FULLERTON, CALIFORNIA, U.S.A.

PRINTED IN U.S.A.

Fig. 6. - Espectro IR del compuesto SCAEEMD-11.

SPECTRUM NO. _____

DATE _____

SAMPLE _____

SOURCE _____

STRUCTURE _____

PATH _____

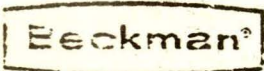
SOLVENT _____

CONCENTRATION _____

PHASE _____

COMMENTS _____

ANALYST _____



INFRARED
SPECTROPHOTOMETER

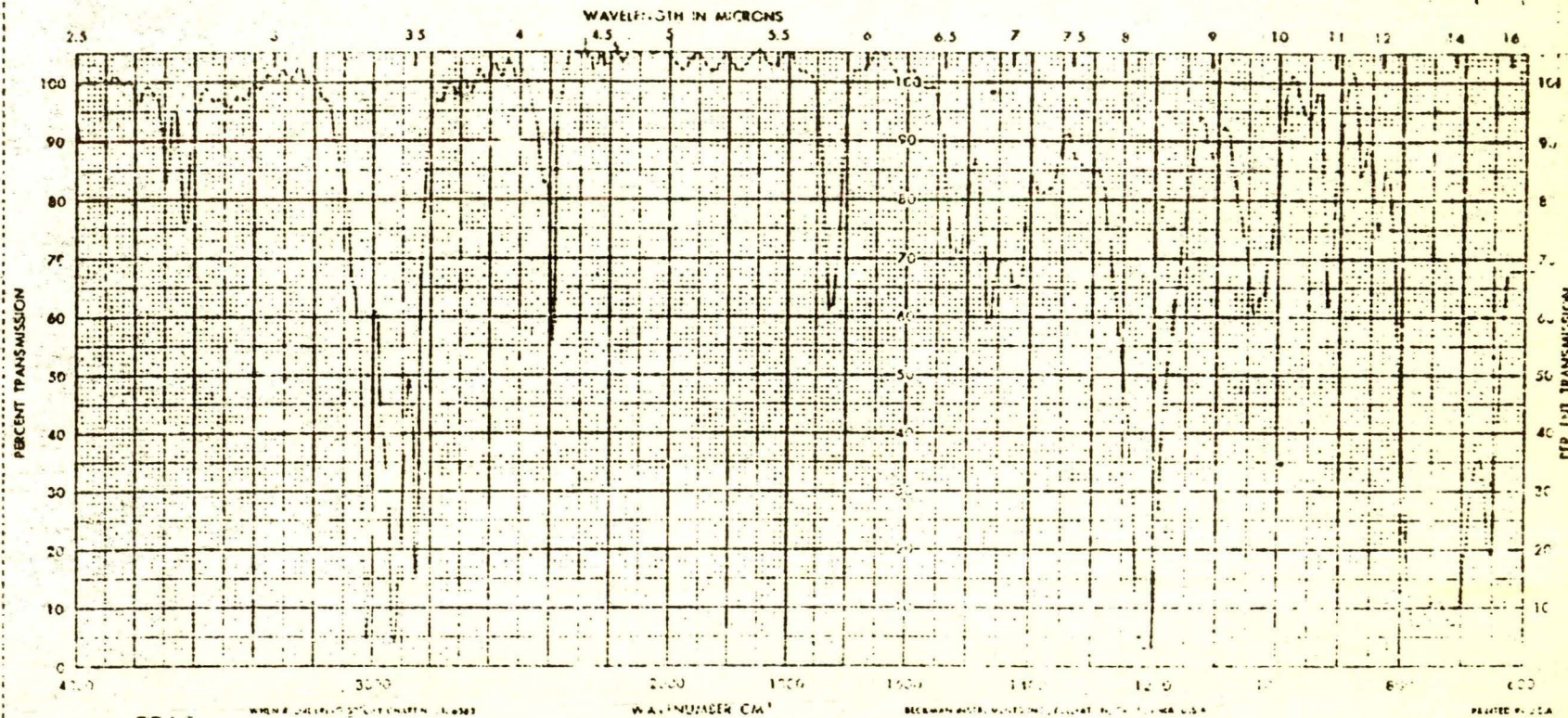


Fig. 7. - Espectro IR del compuesto SCAEEMD-3.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

El presente trabajo concluye con un mejor rendimiento en el aislamiento de algunos materiales en relación a un trabajo anterior (15). De los residuos aislados, en algunos se pudieron determinar pruebas físicas cuya interpretación se expresa a continuación.

1. - SCAEEMD-1 (178-180), SCAEEMD-2 (166-167), SCAEPM-1 (178).

Los espectros IR de estos residuos presentan una banda ancha característica de alcoholes a $3400-3200\text{ cm}^{-1}$, presenta además múltiples bandas a $1110-1020\text{ cm}^{-1}$ región característica para-

alcoholes primarios, y una a 1200 cm^{-1} característica de alcoholes secundarios.

También presentaron bandas a 2920, 1460, 1375, 920, 850, 720 cm^{-1} que son características de grupos metilos y metilenos. (16).

Por los datos anteriores se pensó en un compuesto alifático - lineal, con grupos OH en carbonos primarios y secundarios.

Por la información de los IR se puede suponer que se trate del mismo residuo. Tomando en cuenta que tienen puntos de fusión diferentes, se llegó a la conclusión de que requieren una mejor purificación.

Estos espectros son similares al espectro reportado para el dulcitol (17), aislado en un trabajo anterior (15). Lo que hizo suponer que se tratara del mismo compuesto pero no se pudo asegurar por falta de pruebas físicas y químicas, que a falta de tiempo no se pudieron realizar.

2. - SCAEEMD-3 (58-60).

Su espectro IR muestra 3 bandas a 3020-2860 cm^{-1} , características de metilos y metilenos. Además presenta una a 2400 cm^{-1} , característica del grupo PH.

También presenta bandas a 1460, 920, 775, 715, 650 cm^{-1} , características de metilos y metilenos.

Por la información antes mencionada se pensó en un compuesto alifático lineal.

3. - SCAEEMD-11

Su espectro IR muestra una banda a 2840 cm^{-1} la cual es de alargamiento C-H de alcanos. Además presenta bandas a 2900, 1450, 1375, 720 cm^{-1} características de metilos y metilenos.

Se sugiere un compuesto alifático lineal saturado.

Por falta de información fue muy difícil proponer una estructura para estos residuos. Pruebas físicas y químicas podrán brindar la información para llegar a una conclusión más aceptable, a falta de tiempo estas no pudieron realizarse.

RESUMEN

El presente trabajo tuvo por objetivo la separación y purificación de los principios activos de la parte aérea de la Schaefferia cuneifolia aplicando la Cromatografía en Columna Flash.

Se logró la separación de los precipitados SCAEEMD-4, SCAEEMD-5, SCAEEMD-6, SCAEEMD-7, SCAEEMD-8, SCAEEMD-9, - - SCAEEMD-10, SCAEEMD-12, SCAEEMD-13, SCAEEMD-14, SCAEEMD-15, SCAEEMD-16, SCAEEMD-17, SCAEEMD-18, SCAEEMD-19, SCAEEMD-20, la purificación de SCAEEMD-3, SCAEEMD-11. Cuya total identificación podría realizarse en futuras investigaciones.

Los residuos SCAEEMD-1, SCAEEMD-2, SCAEPM-1, presentan características del dulcitol.

BIBLIOGRAFIA

1. - Enciclopedia de Ciencias Naturales, Editorial Bruguera S.A.,
Vol. IV, España, 1970.

2. - Domínguez S. Xorge Alejandro, Cromatografía en papel y en
capa delgada. Organización de los Estados Americanos,
Washington, D.C., 1975.

3. - Pool, Ed., Flower and Flowering Plants. New York, Mc --
Graw-Hill, 2a. Ed., (1941).

4. - Hegnauer, R., Chemotaxonomie der Pflanzen.
Vol III. pp 395-405.
5. - E. Schwenk, Arzneimittel-Forsch, 12, 1143 (1962).
6. - Marini, G. B. - Bettolo, "Chemistry of the active principles
of Celastraceae"
IT Farmaco, Ed. Sci. 29, 550 (1974).
7. - S. Morris Kupchan and R. M. Smith, J. Org. Chem., 42, 115
(1977)
8. - Brüning, Reimar, Hildebert Wagner, "Übersicht Über die
Celastraceen-Inhaltsstoffe : Chemie, Chematonomie,
Biosynthese, Pharmacologie"
Phytochemistry, 17, 1821 (1978).
9. - Kupchan, S. M., Y. Komoda, W. A. Court, et al, "Maytan-
sine a Novel Antileukemic Ansa Macrolide from Maytenus
ovatus"
J. Am. Chem. Soc. 94, 1353 (1972).
10. - Nakanishi, K., H. Kasikawa, Y. Hirata, "Structure of Pris-

timerin and Celastrol ”.

J. Am. Chem. Soc. , 77, 3169 (1965).

11. - Cornell, D. S., M. C. Johnston, Manual of Vascular Plants of Texas.

The Texas Research Foundation, Renner, Tex., pp 1000,
(1970).

12. - Lundell, Cyrus, Flora of Texas.

Ed. Research Foundation, 2, U. S. A., 339-350 (1969).

13. - Standley, P. S., Carpenter, Trees and Shrubs of Mexico.

676-682 (1962).

14. - Domínguez, X. A., Métodos de Investigación Fitoquímica.

Ed. Limusa, México (1973).

15. - Sierra Benavides, Cristina G., ”Aplicación de la cromatografía Flash al estudio Químico de la Schaefferia cuneifolia ”.

Monterrey N. L., 1981.

16. - Skoog, Douglas A., West Donald M., Análisis Instrumental.

Ed. Interamericana, México, 1975.

17. - Grasselli, J. G., Ritchey, W. M., "Atlas of Spectral Data and Physical constants for Organic Compounds".
CRC PRESS, Inc., Cleveland Ohio, Vol. I-V, 1975.
18. - Vines, R. A., Trees, shrubs and woody vines of the south -- west.
University of Texas Press, Austin, Tex. (1960).
19. - Morrison, George H., Solvent Extraction in Analytical Chemistry. John Wiley and Sons, Inc., New York, 1957.
20. - Shriner, R. R. Fuson, Curtis, Identificación Sistemática - de Compuestos Orgánicos.
Ed. Limusa-Wiley, S. A., México (1966).
21. - Morrison and Boyd, Química Orgánica, Fondo Educativo Interamericano S. A., México 1976.
22. - Silverstein, Robert M., y compañía, Identificación Espectrométrica de Compuestos Orgánicos,
Ed. Diana, México, 1980.
23. - Bouchert, C. J., "The Aldrich Library of Infrared Spectra"

2a. Ed., Milwaukee, Wisconsin, U. S. A., pag. 105-D,
(1978).

801411