

16 JUNIO 82
CON RESPETO Y AGRA-
DECIMIENTO PARA EL R.
BIOL. NICOLÁS VAZQUEZ
POR SU VALIOSA COOPERACION.

BERTHA
Bertha



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI
ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS

Estudio cromatográfico de los alcaloides presentes en
Lobelia sartorii VATKE

TRABAJO RECEPCIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACOBIOLOGO
PRESENTA
Bertha Irene JUAREZ FLORES

SAN LUIS POTOSI, S. L. P.

- 1982 -

Con cariño y gratitud

A mis padres:

Sr. Enrique Juárez Aguilar.

Sra. Zita Flores de Juárez.

A mis abuelitos:

Sr. Pedro Juárez Rivera.

Sra. María Aguilar de Juárez.

A MI FAMILIA

A MIS HERMANOS

A mis compañeros del Laboratorio de Fitoquímica del I.I.Z.D.

Debo una expresión de gratitud al Doctor Aldo -
TORRE FLORENZANO, Jefe del Laboratorio de Fito-
química del I. I. Z. D., Por su valiosa asesoo--
ría para la realización del presente trabajo.

I N D I C E

INTRODUCCION.	1
PRIMERA PARTE.	
Caracteres Morfológicos.	4
Distribución geográfica.	5
Material de estudio.	7
SEGUNDA PARTE.	
Estudio Fitoquímico General.	8
Separación de los alcaloides totales.	28
Identificación del alcaloide presente.	39
Bases amonio cuaternario.	46
DISCUSION Y CONCLUSIONES.	52
BIBLIOGRAFIA.	53

INTRODUCTION

INTRODUCCION

El presente trabajo "Estudio cromatográfico de los alcaloides presentes en Lobelia santorii VATKE", conocida comunmente con el nombre de "moradilla", tiene por objeto contribuir al conocimiento de este grupo químico, mismo que consideramos como causante de la toxicidad que se le atribuye a la planta.

La "moradilla", es una planta ampliamente distribuida en la zona conocida como huasteca, del Estado de San Luis Potosí.

Consideramos que este trabajo es de interés, por las pérdidas económicas que registran los países ganaderos a causa de las plantas tóxicas.

La parte experimental, se efectuó en el Laboratorio de Fitoquímica del Instituto de Investigación de Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, y esperamos que se considere como una contribución para el mejor conocimiento de las plantas tóxicas y que brinde una ayuda informativa a toda aquella persona que se interese en su consulta.

PRIMERA PARTE
CARACTERES MORFOLOGICOS
DISTRIBUCION GEOGRAFICA
MATERIAL DE ESTUDIO

CARACTERES MORFOLÓGICOS

Lobelia sartorii VATKE, es una planta herbácea -- anual, que presenta un tallo erecto, de 28-60 cm. (43 - cm. promedio), algo ramificado, ligeramente pubescente; estípulas de forma alargada de más o menos 3 mm. de lar go; las hojas son delgadas, opuestas, de 1-36 cm. de -- largo (2.3 cm. promedio); limbo cordiforme o lanceolado y ligeramente pubescente, bordes aserrados con ápice -- agudo, su nervadura es pinada. Su caliz adherente al -- ovario está formado por cinco lóbulos. Sus flores son -- hermafroditas, con peciolo de 0.6-3.5 cm., presentan -- una corola que consta de cinco pétalos de color morado. Los estambres isostémonos tienen sus anteras soldadas. El ovario ínfero es bilocular con múltiples óvulos sob -- bre placentas axilares; el estilo es simple y el estig -- ma lobulado. El fruto es capsular, y presenta una dehí -- cencia apical, tiene en su interior semillas de forma -- ovoide de color café claro brillante de un tamaño de -- 500-700 micras.

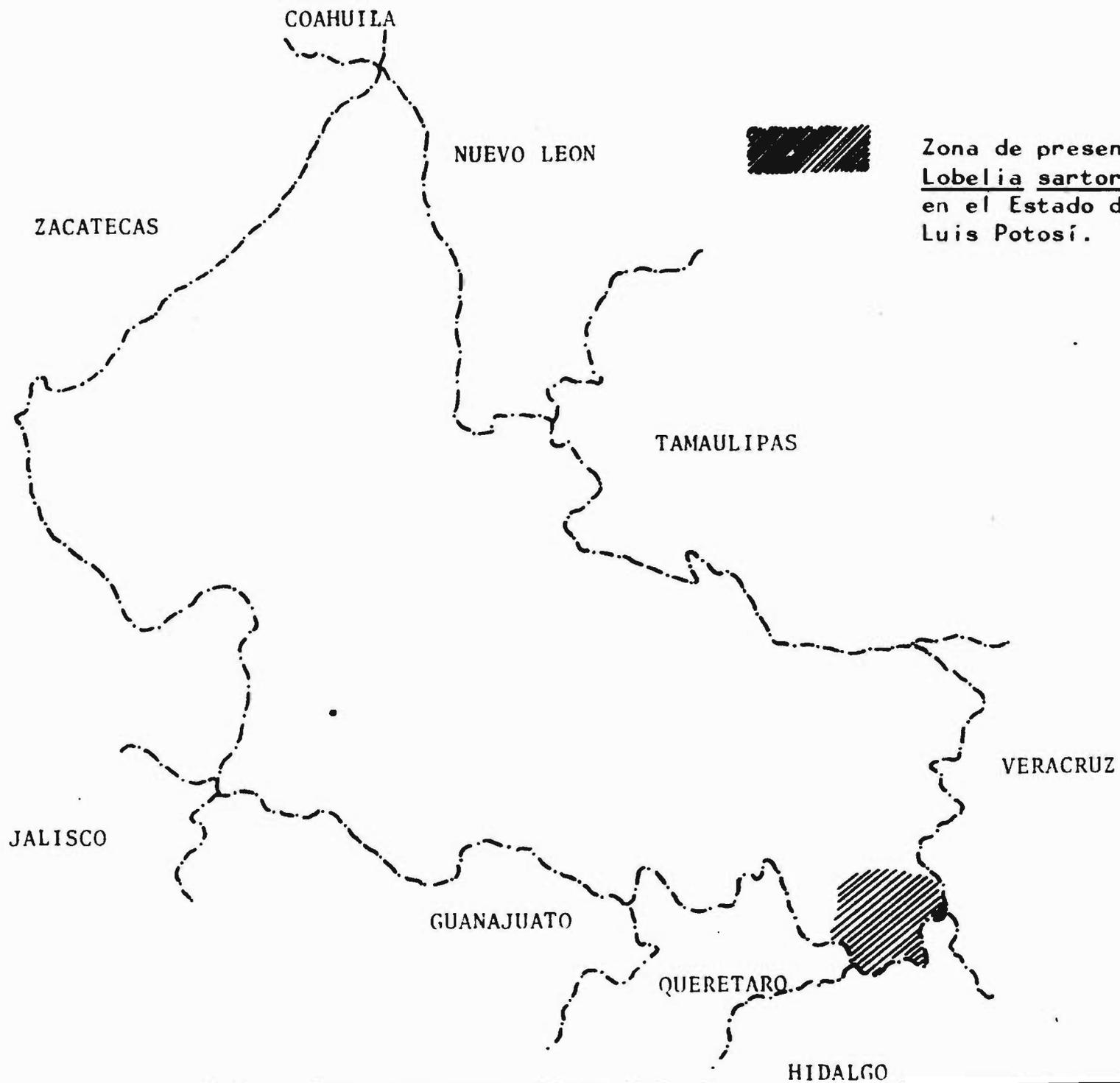
DISTRIBUCION GEOGRAFICA EN EL ESTADO DE SAN LUIS POTOSI

La especie Lobelia sartorii VATKE, se encuentra ampliamente distribuída en la región húmeda de la zona conocida con el nombre de huasteca Potosina.

Se localiza en los municipios de: Tamazunchale, -- San Martín Chalchicuautla, Tampacán, Axtla, Coxcatlán, Huichuhetlán, Xilitla y Tampamolón.

Es en lugares de cultivo de cítricos en donde se localiza con más frecuencia, aunque también se ha encontrado en zonas húmedas de pastizales dedicados a la ganadería.

El mapa siguiente muestra la distribución geográfica de Lobelia sartorii VATKE, en el Estado de San Luis Potosí.



Zona de presencia de
Lobelia sartorii VATKE
en el Estado de San -
Luis Potosí.

MATERIAL DE ESTUDIO

Hemos utilizado la planta entera de Lobelia sarti-
rii VATKE, colectada el 15 de Febrero de 1981, en una
huerta de cítricos localizada en la ribera derecha del
río Axtla (± a 500 m. del chalán ubicado en la cabecera
del Municipio de Axtla, S.L.P.).

Para evitar la actividad enzimática en la planta,
ésta fue estabilizada según el método de CHARAUX, que
consiste en someter el material vegetal algunos minutos
en alcohol hirviendo y luego dejado secar. (CHARAUX C.).

El material una vez seco fue pulverizado con ayuda
de un molino de mano.

La planta fue determinada por la Agr. Sonia SALAS
DE LEÓN, del Herbario del Instituto de Investigación de
Zonas Desérticas, de la Universidad Autónoma de San --
Luis Potosí.

Un ejemplar fue depositado como referencia en la
citada Institución, en donde ha quedado registrado bajo
el número 16447.

SEGUNDA PARTE

ESTUDIO FITOQUIMICO GENERAL

Estudio Fitoquímico General

La planta en estudio, ha sido sometida a la acción del agua y del alcohol de 90°. Hemos preparado una infusión, una decocción y una tintura. El estudio de estas preparaciones ha sido efectuado por cromatografía en capa delgada.

Preparación de una infusión: En un vaso de 250 ml. son llevados a ebullición 50 ml. de agua destilada y 5 g. de droga pulverizada. La ebullición es detenida y el vaso es cubierto. El tiempo de infusión es de 15 mn. La solución es enseguida filtrada sobre algodón y el volumen es llevado a 25 ml. en una probeta; se concentra -- posteriormente a presión reducida hasta obtener 10 ml. Esta solución es conservada bajo tolueno.

Preparación de una decocción: Ha sido preparado de la misma manera, pero la ebullición es mantenida 10 mn. Se filtra en caliente; el marco es prensado y lavado con agua hirviente de manera de tener 25 ml. La solución es concentrada a presión reducida hasta 10 ml. y conservada bajo tolueno.

Preparación de una tintura: 5 g. de planta molida son colocados en un matraz Erlenmeyer de 250 ml. con 50 ml. de alcohol de 60°. Se deja macerar 7 días a la temperatura del Laboratorio, agitando tres veces al día, durante 5 mn.; al término de este tiempo, se filtra; la solución extractiva es agregada de alcohol de 60°, de manera de obtener un volumen total de 50 ml. Se concentra a presión reducida hasta 10 ml. (TORRE FLORENZANO Aldo).

Cromatografía en capa delgada.

Manchas de 40 l. de infusión, decocción y alcoholatura son cromatografiados. Se emplea el método ascendente en los solventes A, B y C.

Hemos utilizado placas de vidrio de 20 x 20 cm. y de 10 x 10 cm. de 250 micras de espesor. El material ha extender ha sido preparado utilizando 30 g. de sílice G "Merck" y 60 ml. de agua. La preparación ha sido efectuada por medio del extensor descrito por STAHL (RANDL-RATH Kurt).

Estas placas fueron secadas al aire, (12 horas -- aproximadamente). Ellas se utilizaron después de activación en la estufa a 105°C. durante 30 mn.

Los solventes empleados han sido:

- Butanol-ácido acético-agua 4-1-5 v/v (Solvente A)
- Acido acético-agua 15-85 v/v (Solvente B)
- Etanol-amoniaco 90-10 v/v (Solvente C)

En las cubas, se les somete a un desarrollo durante 4 horas en el solvente A., 1 hora en el solvente B y de 2 horas en el solvente C.

Después del tiempo de desarrollo de cada cromatograma, éstos son secados al aire y sometidos a los reveladores siguientes:

- U.V.,
- NH_3 ,
- KOH al 5% en alcohol etílico de 96°C,
- AlCl_3 (U.V.) al 2% en alcohol etílico de 96°C,
- FeCl_3 al 2% en agua destilada,
- Reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHULZ,
- Ninhidrina al 0.2% en acetona,

Los cuadros siguientes nos muestran los resultados obtenidos.

INFUSION		REVELADORES				CROMATOGRAFIA: CAPA DELGADA SOLVENTE: A		
R _f	U.V.	NH ₃	KOH	AlCl ₃ (U.V.)	FeCl ₃	DRAGENDORFF	Ninhidrina	Interpretación
0.570	amarillo			amarillo pálido				Flavonoides
0.500		café pálido						Flavonoides
0.450							violeta	Amino Acidos
0.330			amarillo pálido		amarillo pálido			Flavonoides

INFUSION		REVELADORES				CROMATOGRAFIA: CAPA DELGADA SOLVENTE: B		
R _f	U.V.	NH ₃	KOH	AlCl ₃ (U.V.)	FeCl ₃	DRAGENDORFF	Ninhidrina	Interpretación
0.750		café			café		violeta	Amino Acidos Flavonoides
0.500	amarillo		amarillo	amarillo				Flavonoides
0.330						naranja		Alcaloides

INFUSION		REVELADORES				CROMATOGRAFIA: CAPA DELGADA SOLVENTE: C		
R _f	U.V.	NH ₃	KOH	AlCl ₃ (U.V.)	FeCl ₃	DRAGENDORFF	Ninhidrina	Interpretación
0.805	amarillo pálido	café pálido						Flavonoides
0.760				amarillo pálido				Flavonoides
0.640			amarillo pálido		amarillo pálido			Flavonoides
0.490							violeta	Amino Acidos

Infusión:

Utilizando el solvente "A", la revelación por U.V. (ultra violeta) 350m, así como por los reactivos NH_3 , KOH , $\text{AlCl}_3 + \text{U.V.}$ y FeCl_3 , nos han permitido detectar manchas flavólicas de Rf 0.570, 0.500 y 0.330.

Mientras que con la Ninhidrina acetónica, hemos detectado una mancha de gran tamaño de Rf 0.450, correspondiente a amino ácidos.

Al utilizar el solvente "B", encontramos una mancha de Rf 0.750 al revelar con Ninhidrina acetónica. Esta se detecta también al revelar con NH_3 y FeCl_3 .

Se observan otras dos manchas; una de Rf 0.500 y otra de Rf 0.330, la primera al revelar con el reactivo de AlCl_3 (U.V.) y la segunda al revelar con el reactivo de DRAGENDORFF.

En el solvente "C", hemos podido observar cuatro manchas de Rf 0.805, 0.760, 0.640 y 0.490. Las tres primeras fueron detectadas al utilizar los reveladores U.V., NH_3 , $\text{AlCl}_3 + \text{U.V.}$ y FeCl_3 . La última al emplear el reactivo de Ninhidrina.

DECOCCION								
REVELADORES					CROMATOGRAFIA: CAPA DELGADA			
R _f	U.V.	NH ₃	KOH	AlCl ₃ (U.V.)	FeCl ₃	DRAGENDORFF	Ninhidrina	Interpretación
0.960						naranja		Alcaloides
0.547	café pálido	naranja pálido	amarillo pálido					Flavonoides
0.460					gris			Flavonoides
0.350					gris		violeta	Flavonoides Amino Acidos

DECOCCION

REVELADORES

R_f	U.V.	NH_3	KOH	$AlCl_3$ (U.V.)
0.890				
0.820		amarillo pálido		
0.720				
0.496	café pálido	café pálido		amarillo pálido

CROMATOGRAFIA: CAPA DELGADA
 SOLVENTE: B

FeCl ₃	DRAGENDORFF	Ninhidrina	Interpretación
	naranja pálido		Alcaloides Flavonoides
café pálido		violeta	Amino Acidos Flavonoides

DECOCCION		REVELADORES				CROMATOGRAFIA: CAPA DELGADA SOLVENTE: C		
R _f	U.V.	NH ₃	KOH	AlCl ₃ (U.V.)	FeCl ₃	DRAGENDORFF	Ninhidrina	Interpretación
0.760		café		amarillo pálido				Flavonoides
0.690			amarillo pálido					Flavonoides
0.470	amarillo pálido							Flavonoides
0.345					café		violeta	Amino Acidos

Decocción:

Utilizando el solvente "A", encontramos una -- mancha de Rf 0.960 al revelar con el reactivo de DRAGEN DORFF la cual corresponde a alcaloides. Se observaron -- otras tres manchas de Rf 0.547, 0.460 y 0.350 al reve-- lar con U.V. (ultra violeta) 350m μ así como por los -- reactivos NH₃, KOH, AlCl₃ + U.V. y FeCl₃ correspondien-- te a manchas flavónicas.

Mientras que con la Ninhidrina acetónica, he-- mos detectado una mancha de Rf 0.350 correspondiente a amino ácidos.

Al utilizar el solvente "B", detectamos una -- mancha de Rf 0.890 al revelar con el reactivo de DRAGEN DORFF.

Mientras que al revelar con U.V., y los reacti-- vos NH₃, KOH, AlCl₃ + U.V. y FeCl₃ se detectaron man-- chas flavónicas de Rf 0.820 y 0.496.

Con la Ninhidrina acetónica, hemos detectado -- una mancha de Rf 0.720.

Al utilizar el solvente "C", hemos detectado -- tres manchas flavónicas de Rf 0.760, 0.690 y 0.470 al -- revelar con U.V. y con los reactivos NH₃, KOH y AlCl₃ + U.V.

Mientras que con la Ninhidrina acetónica, he-- mos detectado una mancha de Rf 0.345.

TINTURA		REVELADORES				CROMATOGRAFIA: CAPA DELGADA SOLVENTE: A		
R _f	U.V.	NH ₃	KOH	AlCl ₃ (U.V.)	FeCl ₃	DRAGENDORFF	Ninhidrina	Interpretación
0.930	amarillo pálido	amarillo		amarillo pálido	gris	naranja		Alcaloides Flavonoides
0.570	amarillo pálido	amarillo	amarillo pálido	amarillo	gris			Flavonoides
0.240							violeta	Amino Acidos
0.140	amarillo pálido	café pálido						Flavonoides

TINTURA		REVELADORES				CROMATOGRAFIA: CAPA DELGADA SOLVENTE: B		
R _f	U.V.	NH ₃	KOH	AlCl ₃ (U.V.)	FeCl ₃	DRAGENDORFF	Ninhidrina	Interpretación
0.850	café pálido		café pálido	amarillo pálido	café pálido	naranja		Alcaloides Flavonoides
0.745		café pálido					violeta	Amino Acidos

TINTURA		REVELADORES				CROMATOGRAFIA: CAPA DELGADA SOLVENTE: C		
R _f	U.V.	NH ₃	KOH	AlCl ₃ (U.V.)	FeCl ₃	DRAGENDORFF	Ninhidrina	Interpretación
0.855					amarillo pálido			Flavonoides
0.740				amarillo pálido				Flavonoides
0.630							violeta	Amino Acidos
0.460	amarillo pálido	café pálido		amarillo				Flavonoides
0.330			amarillo pálido		gris		violeta	Amino Acidos

Tintura:

Utilizando el solvente "A", la revelación por -- U.V. (ultra violeta) $350m\mu$, así como por los reactivos NH_3 , $AlCl_3 + U.V.$, $FeCl_3$ y KOH , nos han permitido detectar manchas flavónicas de Rf 0.930, 0.570 y 0.140.

Mientras que con el reactivo de DRAGENDORFF, hemos detectado una mancha de Rf 0.930, correspondiente a alcaloides.

Con la Ninhidrina acetónica, hemos encontrado -- una mancha de Rf 0.240 correspondiente a amino ácidos.

Al utilizar el solvente "B", la revelación por -- U.V., así como por los reactivos $AlCl_3 + U.V.$, KOH y -- $FeCl_3$ nos han permitido identificar manchas flavónicas de Rf 0.850. Mientras que con el reactivo de DRAGEN---DORFF observamos una mancha de Rf 0.850.

Con la Ninhidrina acetónica hemos detectado una mancha de Rf 0.745 correspondiente a amino ácidos.

En el solvente "C", hemos podido observar tres -- manchas de Rf 0.855, 0.740 y 0.460. Estas fueron detectadas al utilizar U.V., y los reactivos NH_3 , $AlCl_3 + -- U.V.$ y $FeCl_3$.

Mientras que con la Ninhidrina acetónica hemos -- observado dos manchas de Rf 0.630 y 0.330.

En el análisis fitoquímico preliminar, observamos tanto en la infusión, decocción y alcoholatura una mancha color naranja al revelar con el reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE, la interpretación de la misma nos indica la presencia de alcaloides en la planta.

Hemos efectuado en estudios lo más completo posible de este importante grupo.

Método.

1000 g. de planta finamente pulverizada, fueron alcalinizados con solución de hidróxido de amonio al 25%. Posteriormente se efectuó la extracción de alcaloides - utilizando para ello un aparato tipo Soxhlet y como solvente alcohol etílico de 96°. Esta fase se dió por terminada, después de 35 horas de extracción activa.

La solución extractiva fué concentrada de volumen, con ayuda de un aparato rotavapor-R. BUCHI, hasta obtener un volumen de 100 ml.

Esta solución alcohólica concentrada fué filtrada sobre algodón para eliminar en parte los pigmentos clorofílicos.

Utilizando un embudo de separación, el residuo alcohólico (100 ml.) fué agotado con cloroformo alcalino, para separar los alcaloides de las bases amonio cuaternario, quedando éstos en la solución alcohólica (p.) y los alcaloides en el cloroformo alcalino.

Investigación de alcaloides.

La solución clorofórmica-alcalino fué concentrada en el aparato rotavapor hasta obtener un volumen de 50 ml.

Se efectuaron cromatografías para investigar la presencia de los alcaloides en éste.

Se procedió en igual forma a la citada anteriormente, (p.) utilizando los solventes etanol-amoniaco 90-10 v/v, etanol-amoniaco 95-5 v/v y butanol-ácido acético-agua 4-1-5 v/v.

Los resultados obtenidos fueron:

Muestra: Extracto de alcaloides totales.

Rf.: 0.596

Sistema de solventes: n-Butanol-ácido acético-agua 4-1-5 v/v.

Revelador: Reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE.

Tiempo de emigración: 4 horas.

Temperatura del Laboratorio: $25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

margen correspondiente al sistema de solventes.

punto de partida punto de partida punto de partida

Muestra: Extracto de alcaloides totales.
Rf.: 0.759
Sistema de solventes: Etanol-amoniaco 90-10 v/v.
Revelador: Reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE.
Tiempo de emigración: 2 horas.
Temperatura del Laboratorio: $25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

margen correspondiente al sistema de solventes.

Muestra: Extracto de alcaloides totales.

Rf.: 0.790

Sistema de solventes: Etanol-amoniaco 95-5 v/v.

Revelador: Reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE.

Tiempo de emigración: 2 horas.

Temperatura del Laboratorio: $25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

margen correspondiente al sistema de solventes.

punto de partida punto de partida punto de partida

Interpretación de resultados.

- a).- En el sistema de solventes n-Butanol-ácido acético -agua 4-1-5 v/v, se observó después de revelar con el reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE, una mancha de color naranja de Rf 0.596, el tiempo de emigración empleado fué de 4 horas para una distancia de 15 cm.
- b).- En el sistema de solventes Etanol-amoniaco 90-10 - v/v, se observó después de revelar con el reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE, una mancha de color naranja de Rf 0.759, el tiempo de emigración - empleado fué de 2 horas para una distancia de 15 - cm.
- c).- En el sistema de solventes Etanol-amoniaco 95-5 -- v/v, se observó después de revelar con el reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE, una mancha de color naranja de Rf 0.790, el tiempo de emigración - empleado fué de 2 horas para una distancia de 15 - cm.

Los resultados anteriores, nos revelan la presencia de alcaloides en la solución clorofórmica-alcalina.

SEPARACION DE LOS ALCOHOLICOS TOTALES

SEPARACION DE LOS ALCALOIDES TOTALES

Cromatografía de absorción sobre columna.

Principio.

Los alcaloides son extraídos por los solventes de polaridad creciente: Benceno, Cloroformo y Etanol.

Hemos utilizado una columna con óxido de aluminio "Merck" como absorbente.

El residuo alcohólico fue llevado a sequedad con la ayuda de corriente de aire caliente.

PREPARACION DEL POLVO HOMOGENEO DEL EXTRACTO:

El residuo de alcaloides totales fueron a continuación disueltos en 5 ml. de Benceno, luego se agregó óxido de aluminio hasta obtener una pasta homogénea.

Preparación de la columna.- En una columna de 20 cm. de altura por 3 cm. de diámetro, provista de una llave en la parte inferior, se colocaron 10 ml. de Benceno, un tapón de algodón de 1-1.5 cm. de espesor se introdujo a esta columna, presionándose para eliminar el aire contenido; posteriormente se introdujo arena previamente lavada con ácido clorhídrico hasta obtención de una capa de 1 cm. de espesor, una capa de óxido de aluminio de 5 cm. fue a continuación agregada y posteriormente fueron colocados en forma alternada en el mismo orden, una capa de arena y otra de óxido de aluminio hasta completar 3 capas de cada una. La mezcla de alcaloides y óxido de aluminio fue colocada en la parte superior.

(FERLAN J.) (SOTO YZAGUIRRE Ma. O.).

Una vez preparada la columna, se hizo pasar gota a gota los solventes siguientes: Benceno, Cloroformo y Etanol.

Los solventes fueron recogidos en tubos de ensayo en cantidades de 10 ml. y concentrados a baño maría higiente.

Hemos efectuado una serie de "Tests" para seguir la elución de los alcaloides en los diferentes tubos, del 1 al 45.

Para este efecto, se utilizó papel Wathman No.2 en bandas de 1cm^2 , cada una de ellas fue impregnada de la solución contenida en un tubo.

El revelado se efectuó en campana saturada con vapores de Iodo.

La prueba fue positiva en los tres solventes extractivos.

El cuadro siguiente nos muestra los resultados obtenidos.

Tubo No.	Solvente	Papel revelado por vapores de Iodo
1-10	Benceno	Positivo
16-28	Cloroformo	Positivo
31-41	Etanol	Positivo

Muestra: Fracción soluble en benceno.

Rf.: 0,88

Sistema de solventes: n-Butanol-ácido acético-agua 4-1-5 v/v.

Tiempo de emigración: 2 horas.

Temperatura del Laboratorio: $18^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

margen correspondiente al sistema de solventes.

punto de partida punto de partida punto de partida

Muestra: Fracción soluble en benceno.

Rf.: 0.850

Sistema de solventes: Etanol-amoniaco 90-10 v/v

Revelador: Reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE.

Tiempo de emigración: 2 horas.

Temperatura del Laboratorio: $18^{\circ} \pm 1^{\circ}$.

margen correspondiente al sistema de solventes

punto de partida punto de partida punto de partida

Muestra: Fracción soluble en cloroformo.

Rf.: 0.890

Sistema de solventes: n-Butanol-ácido acético-agua 7-1-5 v/v.

Revelador: Reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE.

Tiempo de emigración: 4 horas.

Temperatura del Laboratorio: $23^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

margen correspondiente al sistema de solventes.

punto de partida punto de partida punto de partida

Muestra: Fracción soluble en cloroformo.

Rf.: 0.359

Sistema de solventes: Etanol-amoniaco 90-10 v/v.

Revelador: Reactivo de DRAGEENDORFF fórmula de SCHUTE.

Temperatura del Laboratorio: $25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

margen correspondiente al sistema de solventes.

punto de partida punto de partida punto de partida

Muestra: Fracción soluble en etanol.

Rf.: 0.870

Sistema de solventes: n-Butanol-ácido acético agua 7-1-5- v/v

Revelador: Reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE.

Tiempo de emigración: 4 horas.

Temperatura del Laboratorio: $22^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

margen correspondiente al sistema de solventes.

punto de partida punto de partida punto de partida

Muestra: Fase soluble en etanol.
Rf.: 0.830
Sistema de solventes: Etanol-amoniaco 90-10 v/v.
Revelador: Reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE.
Tiempo de emigración: 2 horas.
Temperatura del Laboratorio: $25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

margen correspondiente al sistema de solventes.

punto de partida punto de partida punto de partida

Fracción soluble en Benceno.

- a).- Utilizando el sistema de solventes n-Butanol-ácido acético-agua 4-1-5 v/v, se observó después de revelar con el reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE, una mancha de color naranja de Rf 0.880, el tiempo de emigración empleado fue de 4 horas para una distancia de 15 cm.
- b).- En el sistema de solventes Etanol-amoniaco 90-10 - v/v, se observó después de revelar con el reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE, una mancha de color naranja de Rf 0.860, el tiempo de emigración empleado fue de 2 horas para una distancia de 15 cm.

Fracción soluble en Cloroformo.

- a).- En el sistema de solventes n-Butanol-ácido acético agua 4-1-5 v/v, se observó después de revelar con el reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE, una mancha de color naranja de Rf 0.890, el tiempo de emigración empleado fue de 4 horas para una distancia de 15 cm.
- b).- En el sistema de solventes Etanol-amoniaco 90-10 - v/v, se observó después de revelar con el reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE, una mancha de color naranja de Rf 0.830, el tiempo de emigración empleado fue de 2 horas para una distancia de 15 cm.

Fracción soluble en Etanol.

- a).- En el sistema de solventes n-Butanol-ácido acético -agua 4-1-5 v/v, se observó después de revelar con el reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE, una

mancha de color naranja de R_f 0.800, el tiempo de emigración empleado fue de 4 horas para una distancia de 15 cm.

- b).- En el sistema de solventes Etanol-amoniaco 90-10 - v/v, se observó después de revelar con el reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHULTZ, una mancha de color naranja de R_f 0.830, el tiempo de emigración - empleado fue de 2 horas para una distancia de 15 - cm.

IDENTIFICACION DEL ALCALOIDE PRESENTE

Al consultar en la literatura, encontramos que al utilizar placas de Gel de Sílice "G" MERCK y los sistemas de solventes: Cloroformo-acetona-dietilamina 5-4-1 v/v y Cloroformo-dietilamina 9-1 v/v, el alcaloide Lobelina presenta los Rf 0.680 en el primero y 0.900 en el segundo. (DOMINGUEZ X. A.)

Hemos efectuado cromatografía con el alcaloide aislado y purificado, utilizando el mismo tipo de placas y de solventes antes citados.

Los resultados por nosotros obtenidos fueron 0.650 y 0.930 respectivamente.

Resultados obtenidos en el sistema de solventes: Cloroformo-acetona-dietilamina 5-4-1 v/v.

Mancha color naranja	Rf 0.650
Literatura sobre Lobelina	Rf 0.680

(DOMINGUEZ X. A.)

Resultados obtenidos en el sistema de solventes: Cloroformo-dietilamina 9-1 v/v.

Mancha color naranja	Rf 0.930
Literatura sobre Lobelina	Rf 0.900

(DOMINGUEZ X. A.)

Muestra: Alcaloide aislado y purificado.

Rf.: 0.650

Sistema de solventes: Cloroformo-acetona-dietilamina 5-4-1- v/v

Revelador: Reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE.

Tiempo de emigración: 1 hora.

Temperatura del Laboratorio: $31^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

margen correspondiente al sistema de solventes.

punto de partida punto de partida punto de partida

Muestra: Alcaloide aislado y purificado.

Rf.: 0.930

Sistema de solventes: Cloroformo-dietilamina 9-1 v/v.

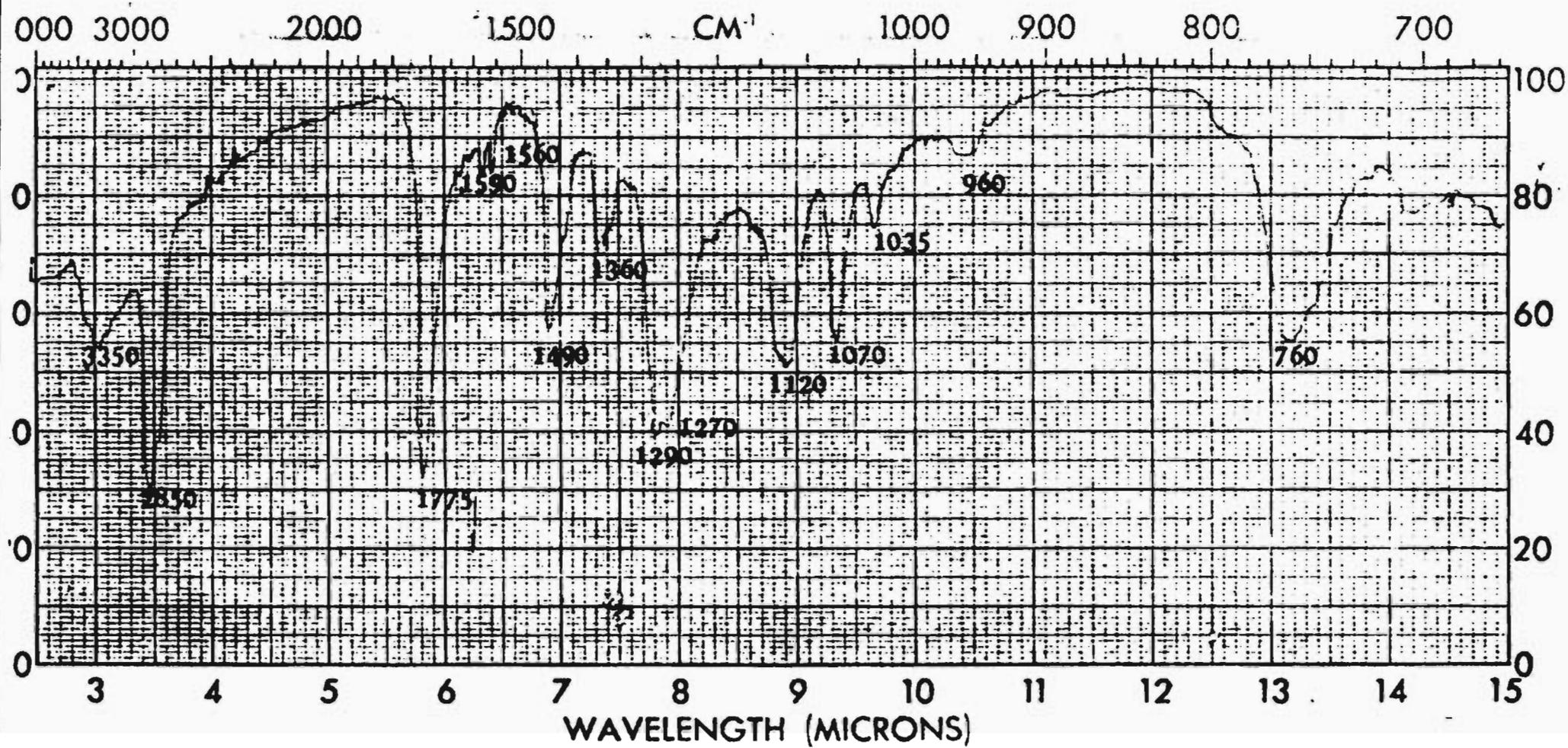
Revelador: Reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHÜTE.

Tiempo de emigración: 1 hora.

Temperatura del Laboratorio: $21^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

margen correspondiente al sistema de solventes.

punto de partida punto de partida punto de partida



SPECTRUM NO. <u>8088</u>	ORIGIN _____	LEGEND _____	REMARKS _____
SAMPLE <u>ALCALOIDE</u>	_____	1. _____	_____
<u>MORADILLA</u>	PURITY _____	2. _____	_____
_____	PHASE <u>SLOW</u>	DATE <u>29 MARZO 82</u>	_____
<u>RNA</u>	THICKNESS _____	OPERATOR <u>EMDS</u>	<u>B. JUAREZ</u>

SPECTRUM NO 8088
SAMPLE ALCALOIDE MORADILLA

INTERPRETACION DEL ESPECTRO

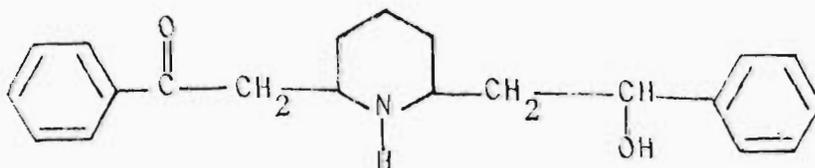
El espectro Infrarrojo determinado con el producto purificado del alcaloide de Rf 0.860 y en pastilla de Bromuro de Potasio, ha producido varias bandas de absorción, mismas que a continuación anotamos:

3.00 (3350 cm. ⁻¹)	unión	C-H
3.45 (2850 cm. ⁻¹)	unión	C-H
5.80 (1775 cm. ⁻¹)	unión	C=O
6.30 (1590 cm. ⁻¹)	unión	C=C
6.40 (1560 cm. ⁻¹)	unión	C-C
6.90 (1490 cm. ⁻¹)	unión	C-C
7.35 (1360 cm. ⁻¹)	unión	N-H
7.80 (1290 cm. ⁻¹)	unión	OH
7.90 (1270 cm. ⁻¹)	unión	OH
8.9 (1120 cm. ⁻¹)	unión	OH
9.35 (1070 cm. ⁻¹)	unión	C-OH

9.65 (1035 cm. ⁻¹)	unión	?
9.60 (1045 cm. ⁻¹)	unión	OH
13.15 (760 cm. ⁻¹)	unión	CH

*

Agradecemos al Dr. Xorge Alexandro DOMINGUEZ del Departamento de Química del Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, la realización del presente espectro.



Lobeina.

BASES ANONIO CUATERNARIO

Al efectuar el estudio cromatografico de los alcaloides, encontramos después de revelar con el reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE, unas manchas de Rf -- muy bajo en los solventes n-Butanol-ácido acético-agua 4-1-5 v/v (PATRIDGE). Y etanol-amoniaco 90-10 v/v, -- 95-5 v/v. esas manchas después de algunos minutos cambian de color naranja al violeta.

Al purificar los alcaloides con ayuda de cloroformo alcalino, las manchas no aparecen en este solvente -- presentandose en la solución alcohólica.

El bajo Rf y la insolubilidad de estas sustancias en el cloroformo alcalino, nos hizo pensar de que se -- trataban de bases amonio cuaternario.

De la solución alcohólica extractiva de los alcaloides, fueron éstos separados por agotamiento con cloroformo alcalino, quedando en la solución alcohólica -- las bases amonio cuaternario.

Identificación:

Hemos utilizado la solución alcohólica concentrada para caracterizar las bases, por cromatografía en capa delgada.

Se empleó la cromatografía ascendente en los sistemas de solventes siguientes: n-Butanol-ácido acético-agua 4-1-5 v/v, etanol-amoniaco 90-10 v/v etanol-amoniaco 95-5 v/v.

El gel de sílice extendido sobre placas de vidrio de 20 x 20 cm. presentaron un espesor de 250 micras. La preparación de las placas ha sido efectuada de la manera descrita en los ensayos preliminares (p. 10).

Los cromatogramas fueron revelados por el reactivo de DRAGENDORFF fórmula de BREGOFF y DELWICHE. El tiempo de desarrollo a una temperatura de $20^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$. en el solvente n-Butanol-ácido acético-agua 4-1-5 v/v fué de 4 horas; en el etanol-amoniaco 90-10 v/v de 2 horas y en el etanol-amoniaco 95-5 v/v de 2 horas.

Muestra: Extracto de bases amonio cuaternarias.

Rf.: 0.010

Sistema de solventes: n-Butanol-ácido acético-agua 4-1-5 v/v

Revelador: Reactivo de DRAGENDORFF fórmula de BREGOFF y DEL-
WICHE.

Tiempo de emigración: 4 horas.

Temperatura del Laboratorio: $22^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

margen correspondiente al sistema de solventes.

punto de partida punto de partida punto de partida

Muestra: Extracto de bases amonio cuaternarias.

CF.: 0.0/8

Sistema de solventes: Etanol-amoniaco 90-10 v/v.

Revelador: Reactivo de DRAGEIDORFF fórmula de BREGOFF y
DEL/ICHE.

Tiempo de emigración: 2 horas.

Temperatura del Laboratorio: $22^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

margen correspondiente al sistema de solventes.

punto de partida punto de partida punto de partida

Muestra: Extracto de bases amonio cationicas.

Peso: 0.036

Sistema de solventes: Etanol-amoniaco 95-5 v/v.

Revelador: Reactivo de DRAGENDORFF fórmula de BREGOFF y -
DELICHE.

Tiempo de emigración: 2 horas.

Temperatura del Laboratorio: $22^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

margen correspondiente al sistema de solventes.

punto de partida punto de partida punto de punto de partida

Resultados obtenidos en el solvente Butanol-ácido acético-agua 4-1-5 v/v.

Mancha color violeta	Rf 0.010
Literatura sobre clorhidrato de colina (TORRE-FLORENZANO A.)	Rf 0.011

Resultados obtenidos en el solvente Etanol-amoniaco 90-10 v/v.

Mancha color violeta	Rf 0.048
Literatura sobre clorhidrato de colina (TORRE-FLORENZANO A.)	Rf 0.047

Resultados obtenidos en el solvente Etanol-amoniaco 95-5 v/v.

Mancha color violeta	Rf 0.036
Literatura sobre clorhidrato de colina (TORRE-FLORENZANO A.)	Rf 0.033

Los resultados obtenidos en las cromatografías -- efectuadas en los solventes n-Butanol-ácido acético -- agua 4-1-5 v/v, Etanol-amoniaco 95-5 v/v, nos permiten afirmar la presencia de la base amonio cuaternaria Coli na.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, - indican la presencia de un alcaloide mismo que fue detectado al utilizar cromatografía en capa delgada.

Al utilizar la cromatografía de absorción sobre columna, nos permitió hacer una separación del alcaloide, mismo que fue estudiado en Infrarrojo.

Podemos considerar que la toxicidad de Lobelia sar-
torii VAIKE, es debida a la presencia de este alcaloi-
de, el cual creemos corresponde a la Lobelina.

Además detectamos y determinamos una base amonio -
cuaternario que por los resultados obtenidos podemos -
afirmar corresponde a la colina.

Deseamos que el presente trabajo sea de utilidad -
para todas aquellas personas que se interesen en el es-
tudio de las plantas tóxicas al ganado y se consideren
como una contribución más al conocimiento de las mis-
mas.

BIBLIOGRAFIA.

BIBLIOGRAFIA

BERLAN Jacques.
Thèse Doct. Pharm.,
Montpellier, 1968, p. 184.

CHARAUX C.
Bull. Soc. Chim. Biol.,
1921, 6, p. 641.

CRONQUIST Arthur.
Introducción a la Botánica,
Cía. Editorial Continental, S.A., México, D.F., 1979, p. 781.

DOMINGUEZ X. A.
Métodos de Investigación Fitoquímica,
Editorial Limusa, S.A., México, D.F., 1973, p. 281.

MERCK A. G.
Révélateurs pour la Chromatographie en couches minces et sur papier,
Merck A. G., Darmstadt, 1968, p. 51.

MIALL Stephen y MACKENZIE MIALL L.
Diccionario de Química,
Editorial Atlante, S.A., México, D.F., 1973, p. 624.

PARIS R. R. et MOYSE H.
Procès de Matière Médicale,
Masson et Cie., Paris, 1964, 1, p. 65.

PECSOK Robert L. y SHIELD Donal L.
Métodos modernos de Análisis Químicos,
Editorial Limusa-Wiley, S.A., México, D.F., 1973, p. 205-220.

RANDERATH Kurt.

Chromatographie sur couches minces,
Gauthier-Villars, Paris, 1964, p. 98.

ROSE Arthur y ROSE Elizabeth.

Diccionario de Química,
Editorial Omega, S.A., Barcelona, 1959, p. 599.

SAVIDAN L.

La Chromatographie,
Dunod, Paris, 1963, p. 35-43.

SHRINER Ralph L., FUSON Reynold C., CURTIN David Y.

Identificación sistemática de compuestos orgánicos,
Editorial Limusa-Wiley, S.A., México, D.F., 1972, p. 197-205.

SOTO YZAGUIRRE Ma. Olivia.

Estudio Cromatográfico de los alcaloides presentes en
Nicotiana glauca GRAHAM,
Tesis profesional, E. C. Q., U. A. S. L. P., 1974, p. 2^a-29.

TORRE-FLORENZANO Aldo.

Thèse Doct. Pharm.,
Montpellier, 1969, p. 17-22, 60-66.

YOUNGKEN H. W.

Tratado de Farmacognosia,
Editorial Atlante, S.A., México, D.F., 1951, p. 51-69, 1113-1116.

