

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI

EX LIBRIS

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



SISTEMA DE
BIBLIOTECAS

U. A. S. L. P.

Estudio de los alcaloides presentes en Asphodelus fistulosus L.

Trabajo recepcional
que para obtener el título de

QUIMICO FARMACOBIOLOGO

Presenta

Celma Méndez Mendoza

- 1985 -

San Luis Potosí, S. L. P.

Gracias SEÑOR por per-
mitirme realizar esta
ilusión

Con cariño y gratitud

A mis Padres:

Sr. José MENDEZ TORRES

Sra. Soledad MENDOZA DE MENDEZ

como recompensa a sus sacrificios.

A mis Hermanos:

Edith

Hortensia

Lolita

Francisco

Con especial agradecimiento al Dr. Aldo TORRE FLORENZANO, Jefe del Laboratorio de Fitoquímica del I.I.Z.D., por su valiosa asesoría para la realización del presente trabajo.

Mi reconocimiento a la Crita.
Q.F.B. Bertha I. JUAREZ FLORES,
por su gran ayuda y orientación
en el desarrollo de esta Tesis.

A mis compañeros del Laboratorio de Fitoquímica y del
Herbario del Instituto de Investigación de Zonas Desér-
ticas.

I N D I C E

	Página
INTRODUCCION	
PRIMERA PARTE	
Caracteres morfológicos	4
Distribución geográfica	5
Material de estudio	7
SEGUNDA PARTE	
Material y métodos	10
DISCUSION Y CONCLUSIONES	28
BIBLIOGRAFIA	30

INTRODUCCION

INTRODUCCION

Asphodelus fistulosus L., planta perteneciente a la Familia Liliáceas, conocida comunmente como "cebollín", ha sido reportada como tóxica para el ganado.

Esta planta se encuentra ampliamente distribuída en el Estado de San Luis Potosí, siendo ésto de interés para hacer un estudio sobre los grupos químicos responsables de su toxicidad.

El presente trabajo, fue efectuado en el Laboratorio de Fitoquímica, del Instituto de Investigación de Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Deseamos que se le considere como una contribución al conocimiento de las plantas tóxicas, causantes éstas de grandes pérdidas en la ganadería.

PRIMERA PARTE

Caracteres morfológicos

Distribución geográfica

Material de estudio

CARACTERES MORFOLOGICOS

Asphodelus fistulosus L.

Descripción:

Planta perenne con aspecto gramiforme, de tallo corto que parece inexistente y que alcanza una altura promedio de 40-50 cm. Sus raíces son fasciculadas, abundantes y carnosas. Las hojas agrupadas en la base, son de forma linear, glabras, de color verde oscuro, fistulosas, que alcanzan a medir de 10-20 cm de longitud y hasta 8 mm de diámetro. Del conjunto de las hojas surgen uno o varios vástagos florales delgados con flores diseminadas en racimos, éstos son de color blanco, con la nervadura central de los pétalos de color rojo claro o rosa, encontrándose también de color púrpura, midiendo de 10-15 mm de longitud.

El pistilo con estilo trifurcado, Estambres con filamentos alargados y curvados en la base de manera de poder recubrir el ovario. El fruto se presenta como una cápsula subglobosa, de 8 mm de largo, con tres cavidades, conteniendo 2 semillas en cada una. (RODET H.I.A. et BAILLET C.) (1872), (LE MAOUT E.) (1871), (LE MAOUT E. et DECAISNE J.) (1876), (VILLARREAL-QUINTANILLA J.A.) (1983).

DISTRIBUCION GEOGRAFICA

Asphodelus fistulosus L., es una planta originaria del viejo mundo, principalmente se le encuentra en la zona mediterránea (Portugal, España, Francia, Italia, Grecia, Turquía, Marruecos, Argelia, Israel, Siria etc.)

Se le ha localizado en Estados Unidos, México, Bolivia, Perú, Sur de Australia y Nueva Zelanda.

En la República Mexicana, aparece principalmente en los Estados de: Durango, Zacatecas, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, San Luis Potosí y Guanajuato. (MARROQUIN DE LA FUENTE J.S.).

En el Estado de San Luis Potosí, se le encuentra distribuida en la mayoría de los Municipios (Matehuala, Cedral, Catorce, Vanegas, Villa de Guadalupe, Villa Hidalgo, Villa de Ramos, Salinas, Venado, Charcas, Ahualulco, Mezquitic, San Luis Potosí, Soledad Diez Gutiérrez, Sta. Ma. del Río, Villa de Reyes, Tierra Nueva, Villa de Zaragoza), (GOMEZ GONZALEZ Antonio).

- 1 D.F.
- 2 Baja California Norte
- 3 Baja California Sur
- 4 Sonora
- 5 Chihuahua
- 6 Coahuila
- 7 Nuevo León
- 8 Tamaulipas
- 9 Sinaloa
- 10 Durango
- 11 Zacatecas
- 12 San Luis Potosí
- 13 Nayarit
- 14 Jalisco
- 15 Aguascalientes
- 16 Guanajuato
- 17 Querétaro
- 18 Hidalgo
- 19 Michoacán
- 20 México
- 21 Tlaxcala
- 22 Puebla
- 23 Morelos
- 24 Colima
- 25 Guerrero
- 26 Oaxaca
- 27 Veracruz
- 28 Chiapas
- 29 Tabasco
- 30 Campeche
- 31 Yucatán
- 32 Quintana Roo



DISTRIBUCION GEOGRAFICA DE Asphodelus fistulosus,
EN LA REPUBLICA MEXICANA

MATERIAL DE ESTUDIO

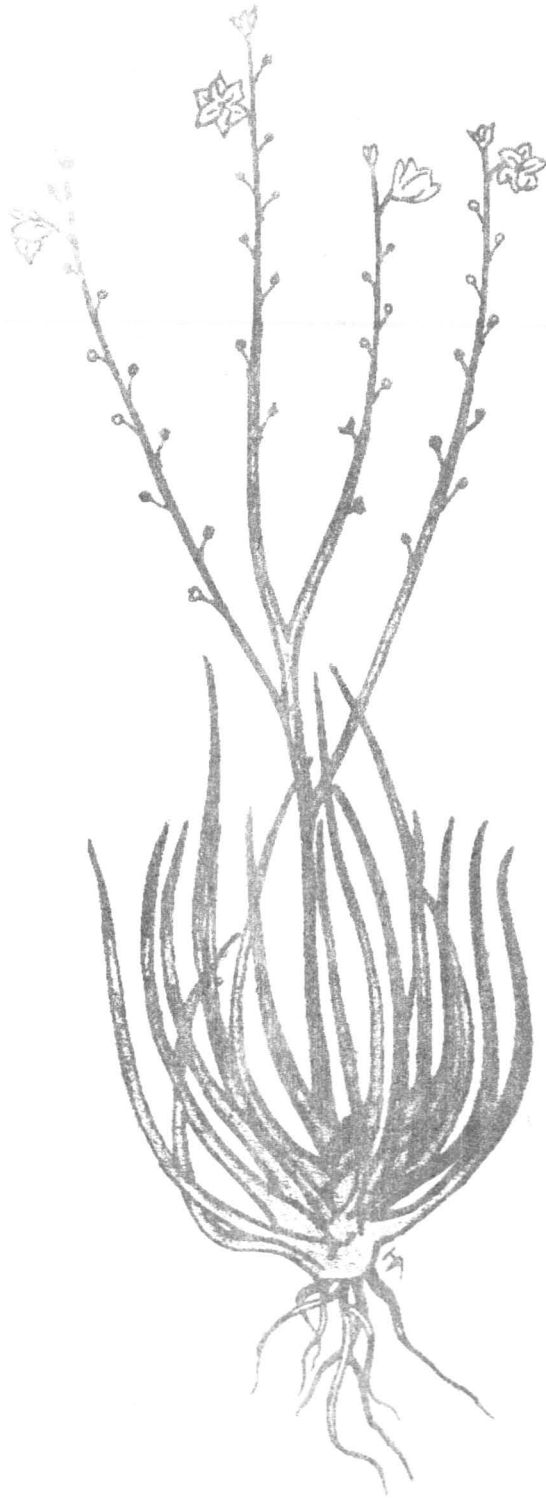
Se utilizaron las partes aéreas de Acphodelus fistulosus L., colectadas el 5 de Marzo de 1984, a orillas de la carretera San Luis Potosí-Tampico, \pm km. 35.

El material fresco, fue fragmentado y estabilizado según el método de CHARAUX, que consiste en someter el material vegetal en alcohol hirviente durante algunos minutos, para evitar la actividad enzimática.

Luego de dejarlo secar, el material se pulverizó -- con ayuda de un molino de mano.

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

Un ejemplar ha sido depositado como referencia en el Herbario de dicho Instituto, donde se le registró con el No. 19350.



Asphodelus fistulosus L.

SEGUNDA PARTE
Material y métodos

MATERIAL Y METODOS

Unos 250 g de planta finamente pulverizada, fueron acidificados con solución de Acido Clorhídrico 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 terminó después de 35 horas de extracción activa.

La solución extractiva fue concentrada de volumen a presión reducida con ayuda de un aparato rotavapor R. BUCHI, hasta obtener un volumen de \pm 100 ml.

Esta solución alcohólica concentrada se filtró sobre algodón, para eliminar en parte los pigmentos clorofílicos.

La solución alcohólica fue alcalinizada hasta obtener un pH de 12, utilizando Hidróxido de Amonio. Usando un embudo de separación, el residuo alcohólico (100 ml), fue agotado 5 veces con porciones de 50 ml de Benceno, quedando en la solución bencénica los alcaloides totales. Esta solución fue concentrada a presión reducida, hasta obtener un volumen de \pm 50 ml.

Con este residuo obtenido, se efectuaron diversas pruebas para la investigación de alcaloides.

Identificación en papel filtro.

Se utilizó papel filtro WATHMAN No. 2, cortado en cuadros de 1 cm^2 , en los que fueron colocados con ayuda de un tubo capilar unas gotas de la solución concentrada obtenida, luego se secaron con ayuda de una corriente de aire caliente y posteriormente estos fragmentos de papel fueron colocados en una campana con vapores de Iodo.

Resultados.

Vapores de Iodo

Mancha color café

Identificación en placa.

En una placa de porcelana con excavaciones, fueron colocadas 15 gotas de la solución concentrada obtenida para cada uno de los siguientes reactivos de identificación de alcaloides: DRAGENDORFF, MAYER y WAGNER.

Resultados.

Reactivo de DRAGENDORFF

Precipitado rojo ladrillo

Reactivo de MAYER

Precipitado blanco cremoso

Reactivo de WAGNER

Precipitado café

Identificación cromatográfica.

Cromatografía ascendente en capa delgada.

La cromatografía empleada fue la ascendente monidimensional en capa delgada de gel de Sílice "60 G" MERCK. Se utilizaron placas de vidrio de 20 x 20 cm cubiertas con una capa de gel de Sílice "60 G" de 250 micras de espesor, preparadas con 30 g de este material, 55 ml de agua y 5 ml de Acetona (RANDERATH Kurth 1964).

Las placas una vez preparadas, se dejaron secar a la temperatura del Laboratorio y antes de ser utilizadas se activaron en la estufa a una temperatura de 110°C durante 15 minutos.

Los sistemas de solventes utilizados para esta prueba fueron los siguientes:

n-Butanol-ácido acético-agua 4-1-5 v/v

Etanol-amoniaco 95-5 v/v

Etanol-amoniaco 90-10 v/v

El revelador empleado fue el reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE.

Muestra: Extracto de alcaloides totales

Rf.: 0.31

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: $23^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$

margen correspondiente al sistema de solventes



•
punto de partida

•
punto de partida

•
punto de partida

Muestra: Extracto de alcaloides totales

Rf.: 0.84

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

Revelador: Reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE

Tiempo de emigración: 2 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: Extracto de alcaloides totales

Rf.: 0.85

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

Revelador: Reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE

Tiempo de emigración: 2 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

Interpretación de resultados.

En el sistema de solventes n-Butanol-ácido acético-agua 4-1-5 v/v, se observó después de haber sido revelado con el reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE, una mancha de color naranja de Rf.: 0.81, el tiempo de emigración - empleado fue de 4 horas para una distancia de 15 cm.

En el sistema de solventes Etanol-amoniaco 95-5 v/v, se observó después de haber sido revelado con el reactivo - de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE, una mancha de color naranja de Rf.: 0.84, el tiempo de emigración empleado fue de 2 horas para una distancia de 15 cm.

En el sistema de solventes Etanol-amoniaco 90-10 v/v, se observó después de haber sido revelado con el reactivo - de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE, una mancha de color naranja de Rf.: 0.86, el tiempo de emigración empleado fue de 2 horas para una distancia de 15 cm.

Los resultados obtenidos nos revelan la presencia de alcaloides.

SEPARACION DE LOS ALCALOIDES TOTALES

Cromatografía de absorción en columna.

Principio:

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

Para ello hemos utilizado una columna con Oxido de Aluminio MERCK como absorbente.

Condiciones experimentales:

Preparación de una mezcla homogénea de alcaloides.

150 mg de alcaloides totales fueron disueltos en 5 ml de Benceno, enseguida se agregó Oxido de Aluminio hasta obtener una mezcla 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 50 ml de Benceno, enseguida un tapón de algodón de 1.5 cm de espesor se introdujo en el fondo de esta columna; el aire contenido en el algodón se elimina efectuando presión sobre éste con ayuda de un agitador de vidrio; luego se agregó arena fina (lavada con Acido Clorhídrico y perfectamente bien enjuagada) hasta obtener el grosor de 1 cm. Una capa de Oxido de Aluminio de 5 cm de espesor se anexó, después una segunda capa de arena de condiciones similares que la primera fue colocada y por último la mezcla homogénea de alcaloides totales en Oxido de Aluminio. (TORRE FLORENZANO Aldo).

En la columna preparada se hacen pasar gota a gota los solventes mencionados.

Los solventes fueron recogidos en tubos de ensaye - numerados del 1 al 54, en cantidades de 10 ml.

Para investigar la presencia de alcaloides en los - diferentes tubos, se utilizó la prueba de identificación en papel filtro. (ver pag. 11).

Los resultados obtenidos se muestran en el cuadro - siguiente:

Tubo No.	Solvente	Papel revelado por vapores de Iodo
1-12	Benceno	Positivo
13	Benceno	Negativo
14-25	Cloroformo	Negativo
26-38	Acetato de Etilo	Negativo
39-54	Etanol	Negativo

El solvente contenido en los tubos 1-12, fue concentrado de volumen con ayuda de aire frio y luego se efectuó cromatografía ascendente en capa delgada de gel de - Sílice "60 G" MERCK, utilizando los siguientes sistemas de solventes.

n-Butanol-ácido acético-agua 4-1-5 v/v

Etanol-amoniaco 95-5 v/v

Etanol-amoniaco 90-10 v/v

Muestra: Fracción soluble en Benceno

Rf.: 0.80

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

Revelador: Reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE

Tiempo de emigración: 2 horas

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

Muestra: Fracción soluble en Benceno

Rf.: 0.80

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

Revelador: Reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE

Tiempo de emigración: 2 horas

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

Muestra: Fracción soluble en Benceno

Rf.: 0.84

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

Revelador: Reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE

Tiempo de emigración: 2 horas

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

Interpretación de resultados.

Fracción soluble en Benceno.

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.: 0.80, el tiempo de emigración empleado fue de 4 horas para una distancia de 15 cm.

Utilizando 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.: 0.80, el tiempo de emigración empleado fue de 2 horas para una distancia de 15 cm.

Utilizando 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.: 0.84, el tiempo de emigración empleado fue de 2 horas para una distancia de 15 cm.

Hemos encontrado en la investigación bibliográfica, que Asphodelus fistulosus L., contiene al alcaloide colchicina, (WILLAMAN J.J. and SCHUBERT B.C.) (1961), citado por GOMEZ GONZALEZ A. (1966).

Al alcaloide por nosotros obtenido, se le efectuó un estudio cromatográfico comparativo, tomando como testigo una solución clorofórmica al 1% de colchicina.

Se empleó cromatografía ascendente en capa delgada - (ver pag. 12).

Solvente: Cloroformo-Acetona-Dietilamina 5-4-1 v/v

	Rf
Literatura (RANDERATH K.) (1964)	0.47
Testigo	0.52
Problema	0.17

Solvente: Cloroformo-Dietilamina 9-1 v/v

	Rf
Literatura (RANDERATH K.) (1964)	0.41
Testigo	0.43
Problema	0.00

Muestra: Solución clorofórmica alcaloide problema x
Solución clorofórmica alcaloide testigo t

Rf.: 0.17

Rf.: 0.52

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: $22^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$

margen correspondiente al sistema de solventes

x

x

t

t

punto de
partida

punto de
partida

punto de
partida

punto de
partida

Muestra: Solución clorofórmica alcaloide problema x
Solución clorofórmica alcaloide testigo t

Rf.: 0.00

Rf.: 0.43

Sistema de solventes: Cloroformo-Dietilamina 9-1 v/v

Revelador: Reactivo de DRAGENDORFF fórmula de SCHUTE

Tiempo de emigración: 1 hora 15 minutos

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



punto de
partida

Interpretación de resultados.

Utilizando el sistema de solventes: Cloroformo-Acetona-Dietilamina 5-4-1 v/v, se observó después de revelar con reactivo de DRAGEENDORFF fórmula de SCHUTE, que el alcaloide -- problema por nosotros encontrado, se presenta como una mancha de color naranja de Rf. \dagger 0.17, mientras que el alcaloide testigo de colchicina, se presenta como una mancha de color naranja de Rf. \dagger 0.52

Utilizando el sistema de solventes: Cloroformo-Dietilamina 9-1 v/v, se observó después de revelar con reactivo de DRA GEIDORFF fórmula de SCHUTE, que el alcaloide problema por nosotros encontrado, se presenta como una mancha de color naranja de Rf.: 0.00, mientras que el alcaloide testigo de colchicina, se presenta como una mancha de color naranja - de Rf.: 0.43

DISCUSION Y
CONCLUSIONES

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Por los resultados obtenidos en el presente estudio, se ha encontrado que el extracto alcohólico de Asphodelus fistulosus L., contiene un alcaloide, el cual ha sido -- identificado en papel filtro, en placa, en cromatografía en capa delgada y aislado con ayuda de la cromatografía -- de absorción en columna.

La presencia del alcaloide en la planta, nos permite suponer que este grupo químico es el responsable de la toxicidad de la misma.

En la bibliografía consultada, hemos encontrado re-- portada la presencia del alcaloide colchicina en una sola cita bibliográfica, mientras que en la casi totalidad de la literatura sobre plantas tóxicas no se hace alusión alguna.

La investigación por nosotros efectuada y los resultados obtenidos, nos permiten afirmar que el alcaloide -- presente en Asphodelus fistulosus L., no corresponde a la colchicina.

Queremos establecer en el presente trabajo que un estudio complementario sobre la identificación químico es-- tructural del alcaloide se prosigue en otro trabajo de investigación.

Deseamos que esta información por nosotros obtenida, sea una contribución al conocimiento de las plantas tóxi-- cas.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

DOMINGUEZ X.A.

Métodos de investigación fitoquímica,
Editorial Limusa, S.A., México, D.F., 1972, p. 218

GOMEZ GONZALEZ Antonio

Plantas tóxicas para el ganado en la zona semiárida de
San Luis Potosí,
Tesis Profesional, E.N.C.B., I.P.N., México, D.F., 1966, p. 25

LE MAOUT Emmanuel

Leçon elementaires de Botanique,
Garnier Freres, Paris, 1971, p. 352

LE MAOUT E. et DECAISNE J.

Traité général de Botanique descriptive et analytique,
Librairie de Fiermin Didot et Cie., Paris, 1876, p. 605

MARROQUIN DE LA FUENTE Jorge Saúl

Nota sobre la distribución geográfica de
Asphodelus fistulosus L. en México,
Cactáceas y Suculentas Mexicanas, Soc. Mex. Cact. A.C.,
México, D.F., VIII, p. 71-73

RAINDERAT Kurt

Chromatographie sur couches minces,
Gauthier-Villars, Paris, 1954, p. 52-83

RODET H.I.A. et BAILLET C.

Botanique agricole et médicale
P. Asselin Editeur, Paris, 1872, p. 806-807

TORRE FLORENZANO Aldo

Contribution a l'étude phytochimique de l'Astragalus wootoni
var. candolleanus H.B.K. espece mexicaine toxique pour le bétail.,
These Doct. Pharm., Montpellier, 1969, p. 73

VILLARREAL QUINTANILLA J.A.

Malezas de Buenavista Coahuila,
U.A.A.A.N., Saltillo, Coah., 1983, p. 52-53

WILLAMAN J.J. and SCHUBERT B.C.

Alkaloid-bearing plant and their contained alkaloid,
U.S.D.A., Tech. Bull. 1961, 1234, p. 287