

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

**CONTRIBUCION AL ESTUDIO FITOQUIMICO DE LA  
CNIDOSCOLUS ACONITIFOLIUS CHAYO O COPAPAYO**

TESIS DOCTORAL

PRESENTADA POR

**Elisa Ordóñez Castro**

COMO ACTO PREVIO DE SU INVESTIDURA  
ACADEMICA PARA OBTENER EL TITULO DE

DOCTOR EN QUIMICA Y FARMACIA



JUNIO DE 1965

F. CC RR  
E. 2.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.

RECTOR:

Dr. Fabio Castillo Figueron

SECRETARIO GENERAL:

Dr. Mario Flores Macall

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

DECANO:

Dr. Víctor Alejandro Berdugo

SECRETARIA:

Dra. Leticia Calles de Romero H.

\_\_\_\_\_

JURADOS EXAMINADORES :

PRIMER EXAMEN GENERAL PRIVADO DE DOCTORAMIENTO

*Dr. Rafael Arauz Rodríguez*

*Dra. Ana Medrano de Soundy*

*Dr. Gin Y. Kwok*

SEGUNDO EXAMEN GENERAL PRIVADO DE DOCTORAMIENTO

*Dr. Julio César Morán Ramírez*

*Dr. Francisco Flores González*

*Dr. Carlos Mata Gavidia*

T E S I S

*Lic. Oscar O. Cuéllar*

*Dr. Gin Y. Kwok*

*Dr. Francisco Flores González.*

---

D E D I C A T O R I A

*A la memoria de mi querido e inolvidable padre:*

*Don J. SALVADOR ORDOÑEZ.*

*A mi madre:*

*Doña OLIVIA C. v. de ORDOÑEZ  
con todo amor y agradecimiento.*

*A mi hermano:*

*Br. LUIS S. SALVIA O.  
Con especial cariño.*

*A mis hermanos:*

*Dr. SALVADOR ORDOÑEZ CASTRO y  
Srta. MARGOTH ORDOÑEZ CASTRO  
Con todo cariño.*

*A todos los demás miembros de mi familia, profesores,  
compañeros y amigos.*

*Al Licenciado OSCAR ORLANDO CUELLAR,  
con mi eterno agradecimiento por guiarme en la  
elaboración de esta Tesis.*

I N D I C E :

	<i>Pag.</i>
I.- <i>INTRODUCCION</i>	1
II.- <i>MATERIALES Y METODOS</i>	6
<i>a) Descripción botánica</i>	
<i>b) Reacciones de Identificación</i>	
<i>c) Métodos en Aislamiento,</i> <i>Purificación e identificación.</i>	
III.- <i>PARTE EXPERIMENTAL</i>	13
IV.- <i>DISCUSION DE RESULTADOS</i>	30
V.- <i>CONCLUSIONES</i>	31
VI.- <i>BIBLIOGRAFIA</i>	33

Aunque el estudio de los componentes de las plantas se ignora, se inició cuando el hombre intentó usar con fines medicinales, alimenticios e industriales los extractos de los vegetales, ya por los años de 1660 y 1700 existía en París la Academia de Ciencias que se dedicó a estudiar plantas en gran escala. Fue Sheele (2) considerado como el creador de la Moderna Fitoquímica el primero que llamó a esta clase de estudios con ese nombre. Se ha tratado de definir la Fitoquímica y entre la más acertada se puede enunciar: "Es el arte de separar de las plantas sus constituyentes químicos, ó sea, el aislamiento de los más importantes componentes químicos de los vegetales, más precisamente, la química de la unidad vital, la célula vegetal, centro de los fenómenos que proceden al desarrollo de las plantas(3).

La flora tropical de Centro América es abundantísimo arsenal de útiles especies vegetales al hombre, en todas las ramas de la actividad humana, principalmente en los aspectos medicinales o industriales.

La enumeración completa y metódica de las plantas útiles de El Salvador no se ha hecho hasta el día (17).

A El Salvador no le cupo en suerte, como a Costa Rica, la exploración científica de su flora. Aunque se han hecho intentos de publicar algo concerniente a la flora de El Salvador como los trabajos que se describen a continuación, ninguna ha proporcionado un catálogo sistemático de la flora. A este respecto se pueden enunciar la *BIOLOGIA CENTRAL-AMERICANA* (17). El botánico inglés Hemsley fue quien preparó una lista de todas las plantas que, entonces, se sabía existir --

en México, América Central y Panamá; pero las colecciones botánicas disponibles en aquel tiempo eran, sin embargo, inadecuadas para tal propósito en lo que correspondía a la América Central. En comparación con las otras repúblicas centroamericanas, El Salvador recibió escasa mención en la Biología, pues fueron registrados quizá, aún menos de 60 especies.

Las plantas de El Salvador enumeradas por Hemsley fueron colectadas por Barclay, Hinds, Skinner, Hages y Bernoulli; pero es posible que todos estos colectores solamente visitaron el país incidentalmente después de la publicación de la *BIOLOGIA* (1879-1888) nada fue añadido al conocimiento de la flora salvadoreña hasta 1892 y 1893 en que M.W.G. Shannon, un ingeniero encargado del trazo del ferrocarril Internacional de Centroamérica, hizo una pequeña colección de plantas que fueron enviadas al capitán John Dow Smith, de Baltimore.

M. Pitter, que es bien conocido por su trabajo científico en la América Central, visitó El Salvador en 1907 e hizo una pequeña colección de plantas, muchas de ellas fueron colectadas en la vecindad de Izalco y están ahora en Washington.

El doctor A. S. Hitchcock del U.S. Department of Agriculture, visitó la América Central en 1911 con el propósito de coleccionar zacates. El colectó en varias localidades de El Salvador y obtuvo una extensa representación de las plantas de este grupo, pero desafortunadamente una gran parte de las especímenes fue perdida en el tránsito.

En años siguientes hubo trabajos concernientes a la flora salvadoreña entre los cuales podemos mencionar: los de Calderón (20); D. J. Guzmán (17); Ing. Félix Choussy (23) y H. Arteaga (21).



En toda parte de América tropical las plantas nativas proporcionan una parte importante de la riqueza del país y su estudio es asunto de gran interés para el bienestar nacional.

Los métodos utilizados en el Análisis Fitoquímico se han desarrollado en muchos países como Alemania, Inglaterra, Estados Unidos y México, utilizando técnicas que difieren entre sí, en las formas de extracción ó en la finalidad del Análisis (4).- Es así como al estudiar se sustancias que producen acción fisiológica, es usual investigar alcaloides, glucósidos, cardiotónicos, saponinas, flavonoides y cianogénicos.

En caso de interesar la aplicación industrial, o los usos alimenticios se investigan, Aceites, grasas, ceras, colorantes, azúcares, etc. En el caso presente en que se estudiara el aspecto fisiológico se procedió a trabajar en él é identificar sustancias que pueden llegar a tener usos medicinales . En los últimos años los estudios fitoquímicos se han incrementado grandemente, en todos aquellos países, que como México, Brasil, Estados Unidos y la India, poseen una extensa y variada flora medicinal, siendo recomendable el inicio en Centro América, que también la posee.

Las técnicas recomendadas para el Análisis fitoquímico (5), comprende la elección adecuada del material que se investigará, su recolección, conservación, clasificación, secado y trituración para posteriormente proceder a su extracción. Para esto existen muchas técnicas, algunas de las cuales han de usarse de acuerdo a lo obtenido en las pruebas preliminares.

En este trabajo se siguió la técnica de extracción con disolventes

de polaridad creciente, por ejemplo, éter de petróleo, etanol al 90% y agua amoniacal.

1.- ETER DE PETROLEO:

*Aceites esenciales*

*Eteres aromáticos*

*Esteroles*

*Grasas y Ceras*

*Carotenoides*

*Clorofila*

2.- ETANOL AL 90 % :

*Heterósidos*

*Acidos Orgánicos*

*Resinas*

*Alcaloides*

*Aminas*

*Saponinas*

*Taninos*

3.- AGUA AMONIACAL

*Proteínas*

*Azúcares*

*Amino Acidos*

*Sales orgánicas y minerales*

*Pectinas*

*Almidón*

*Gomas y mucílagos*

*Hemicelulosas*

*Nucleoproteínas.-*

Las cantidades extraídas oscilan de 100 a 150 gramos de material y pueden llevarse a cabo en un extractor tipo Soxhlet ó por percolación en los que se pueden utilizar mayores cantidades, siempre que hayan --- muestras asequibles para estos trabajos, ya que los períodos de flora--- ción y colección de fruto se pueden hacer difíciles ' en determina--- das épocas del año.

En el presente trabajo se estudió el COPAPAYO, CHAYO ó CHAIDRA, - debiéndose su elección a que según el dominio popular produce una acción lactógena al ser ingeridos sus cocimientos.

Fue clasificado por primera vez por I. M. Johnston (19) con el --- nombre de *JATROPHA ACONITOFOLIA*, pero en 1923 Miller la clasificó con - el nombre de *CNIDOSCOLUS ACONITOFOLIUS* con el cual hoy se conoce.

Por lo que toca a las *Cnidoscopus*, han sido estudiadas solamente el *Cnidoscopus Phyllacanthus* y el *Cnidoscopus Stimulosos* (7), estos gé--- neros existen sobre todo al sur de México, Guatemala, Honduras, Costa - Rica y El Salvador.

Con respecto al *Cnidoscopus Phyllacanthus* se reporta en que sus - semillas fueron analizadas, encontrándose el 50% de aceite y el 35-7% de Proteínas y entre los amino ácidos presentes están: Cysteína, Glici--- na, Acido Glutámico, Citrullina, Theonina, Valina, Alanina, Tirocina, Fe--- nilalanina, Leucina, Arginina, Asparragina, Glutamina.

El *Cnidoscopus Aconitifolius* no ha sido investigado todavía y con la acción fisiológica que se le atribuye se cree de gran provecho el --- propósito del presente trabajo.

II.- MATERIALES Y METODOS.

DESCRIPCION DE LA PLANTA Y LUGARES DE RECOLECCION

El Copapayo (*Cnidoscolus Aconitifolius*) Fig. 1-2, es un arbusto ramificado a poca altura, generalmente de 3 a 5 metros de altura, con un tronco pálido grueso, pecíolos de 10 a 20 cms. de largo y algunas veces más pequeños, comúnmente en forma de globo. En Guatemala las hojas son ásperas y cerdosas, muy variables en forma, la mayoría de 10 a 20 cms. de largo, poca profundas ó profundas de 3 a 7 lóbulos en forma de corazón en la base, algo gruesas y carnosas cuando están frescas, globuladas sin cordones de cerdas, a menudo profundos lóbulos, pero las formas de las hojas en las cultivadas son a menudo de lóbulos bien angulados ó muy irregulares.

Flores con pétalos caudizos, sépalos blancos con estambres globosos, pequeños, pubescentes (cubiertos con vellocidades) blancos o amarillentos, estambres con filamentos estaminados comúnmente de 4 cm. de largo, monodelfos, sépalos libres espatulados de 6 a 9 mm. de largo, pistilo con ovario pubescente, cápsula con superficie brillante con pocas o numerosas cerdas.

Este mediano arbusto (20) es comúnmente plantado en setos y cercas de las casas y se cree que no es nativo de Centro América.

Esta especie se encuentra distribuída en campos y terrenos en los pueblos de Nejapa, Apopa, San Martín, Villa Delgado, Santo Tomás y Santiago Texacuangos.

Las flores, fruto y la planta en general puede ser recolectado, de preferencia en los meses de septiembre a febrero.

La recolección se hizo en los meses de septiembre a enero en los pueblos de Nejapa, Apopa, Villa Delgado y Santo Tomás.

En todos los casos el material seco y molido se extrajo.

Haciéndose la separación de tallo, hojas y fruto. En un aparato tipo Soxhlet, se llevaron a cabo las extracciones con los siguientes disolventes:

Eter de Petróleo (p. de eb. 30-70 C<sup>o</sup>); Etanol de 90 grados y Agua Amoniaca al 20 %.

Los extractos se concentraron casi a sequedad, a temperatura de Baño María, y presión reducida, finalmente el extracto se secó a temperatura baja, dejándolo expuesto al ambiente ó con una corriente de aire caliente.

FOTOS DE LA PLANTA



Fig. # 1



Fig. # 2

Fig. # 3



REACCIONES DE IDENTIFICACION:

Los alcaloides se determinaron por las siguientes reacciones coloridas y de precipitación con los siguientes reactivos (3) (8) (9).

REACTIVO DE WAGNER.- (Solución de yodo-yoduro de potasio)

REACTIVO DE MEYER.- (Mercuriyoduro de potasio), produce un precipitado blanco con soluciones al 1% de la mayoría de los alcaloides.

REACTIVO DE HAGER.- (Solución de ácido pícrico en agua) que forma precipitados amarillos.

REACTIVO DE SONNERSCHEIN.- (Acido Fosfomolibdico), forma precipitados color naranja.

REACTIVO DE DRAGENDORFF.- (Solución de Bismuto yoduro de potasio) forma precipitados de color rojo.

Las pruebas se hicieron a la gota en placas de vidrio o porcelana. Añadiendo a una gota del extracto previamente acidulado con Acido Clorhídrico de dos a tres gotas del reactivo. Conviene hacer todas las pruebas para obtener mayor información.

FLAVONALES. M E T O D O (8) (14)

A 1 ml. de Extracto Alcohólico vegetal, se le añade 0.5 ml. de Acido Clorhídrico al 10%, y luego se le agrega unas limaduras de magnesio amalgamado. El color producido será rojo pálido u obscuro. Añadir un poco de Alcohol Isoamilico y agitar, el color pasa a la capa isoamilico.

T A N I N O S.

REACTIVO DE CLORURO FERRICO. Unas gotas de este reactivo dan coloraciones azules, verdes o negras con extractos conteniendo taninos y fenoles.

## ESTEROLES.

### REACCION DE LIEBERMAN-BURCHARD (11) (12)

Se añade una solución reciente de una gota de ácido sulfúrico en 1 ml. de anhídrido acético helado, y 1 ml. de cloroformo a una solución de 10 mg. del esteroI en 0.5 a un ml. de cloroformo. Se observa el desarrollo del color y tonos a intervalos de 2,5, 20 y 60 minutos.

### REACCION DE SALKOWSKI.- (13)

A una solución de la muestra ( 1 a 5 mg ) en 0,5 ml. de cloroformo se le agrega 0.5 ml. de ácido sulfúrico. Al agitar aparece una coloración roja. Se deja separar las 2 capas, se decanta la del ácido y se vierte la capa clorofórmica en agua, observándose el color formado.

### REACCIONES DE COLORACION DE LAS PROTEINAS.- (15)

REACCION XANTOPROTEICA.- (Xanto del griego - AMARILLO). Es característica de amino ácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina, triptofano).

A 2 cc. de la muestra se le agregan 1 ml. de ácido nítrico conc.- Se observa un precipitado que se torna amarillo al calentar. Agregando amoníaco hasta neutralizar, el precipitado se disuelve y el líquido se torna anaranjado.

REACCION DE BUIRET.- Es característica del enlace peptídico.

A 3 ml. de la solución protéica se le añade 5 gotas de solución de sulfato de cobre y se agita, enseguida agregar 2 ml. de una solución de NaOH y se observa la formación de un color violeta en las proteínas primitivas.

REACCION DE MILLON. R E A C T I V O Disolver Hg. en Acido Nítrico; una parte de Hg y 2 partes de Acido Nítrico en peso. Diluir el resultado con 2 partes de Agua Destilada.



A unos c.c. de la solución proteica se le agrega unas gotas del reactivo; se forma un precipitado que se torna rojizo por el calentamiento.

### DETERMINACION DEL PORCENTAJE DE PROTEINAS.-

#### REACTIVOS.-

Acido Sulfúrico concentrado - Sulfato de Sodio anhidrico - Sulfato de Cobre - Indicador Rojo de Metilo - Sol de NaOH N/10 - Sol de Ac. Sulfúrico N/10 y NaOH al 50 %.

#### PROCEDIMIENTO:

- 1.- Pesar un gramo de la muestra y colocarla en un balón Kjeldahl.
- 2.- Agregar 15-18 gramos de sulfato de sodio anhidrido y 1 gr. de sulfato de cobre.- Verter 25 ml. de ácido sulfúrico concentrado y llevar el balón al aparato digestor.
- 3.- Calentar hasta completa oxidación (aproximadamente 2 horas)
- 4.- Enfriar y agregar 200 ml. de Agua Destilada
- 5.- Agregar con cuidado 50-80 ml. de Sol de NaOH al 50 %
- 6.- Llevarlo al aparato destilador, conectar y mezclar, destilar cuidando de que el extremo del tubo condensador esté sumergido en la Sol. ácida, la cual deberá tener agregado el indicador Rojo de Metilo.
- 7.- Destilar unos 150 ml. y titular este destilado con NaOH N/10.
- 8.-  $\% \text{ NITROGENO} \times 6.25 = \% \text{ PROTEINAS.}$

#### PUNTO DE FUSION.-

Se emplea la técnica del capilar (27) en tubo thiele, usando un baño de Acido Sulfúrico.

#### DETECCION DEL NUMERO DE SUSTANCIAS EN UNA MUESTRA.-

Se utilizaron los métodos de Cromatografía en Papel y en Capa Delgada

que se detallan en la parte experimental.

REACCIONES DE CARBOHIDRATOS. (15)

REACCION DE FELLING.- REACTIVOS.-

SOLUCION A.- Solución Cúprica.- Disuélvase 34.6 gr. de cristales de sulfato cúprico en 500 cc. de Agua Destilada.

SOLUCION B.- Solución Alcalina de Tartrato.- Disuélvanse 173 gr. de tartrato sódico potásico cristalizado y 50 gr. de hidróxido de sodio en 500 cc. de agua destilada.

Estas soluciones se guardan por separado y se unen en partes iguales en el momento de usarse.

REACCION DE REDUCCION.- Una de las más importantes es la de FEHLING, que consiste en: a 2 cc. de reactivo de Fehling (soluciones unidas) --- agregar igual cantidad del líquido a investigar. Se lleva a la ebullición y si hay un cambio rápido del azul al rojo, indica la presencia de Glucosa.

PURIFICACION DE LAS SUSTANCIAS.-

Se utilizó Columna de Cromatografía empacada con Silica-gel añadiéndole solventes de polaridad ascendente.

IDENTIFICACION DE SUSTANCIAS.-

Los amino ácidos por CROMATOGRÁFIA EN PAPEL, comparando sus R<sub>f</sub>. con sustancias patrones. En el caso de los alcaloides por este método y el de cristalización.

III - PARTE EXPERIMENTAL

METODO GENERAL DE EXTRACCIONES

Las extracciones se efectuaron con el material seco, molido, usando sucesivamente los siguientes disolventes:

ETER DE PETROLEO, ETANOL AL 90 %, y AGUA AMONIACAL.

Se procuró en cada caso extraer exhaustivamente. A los precipitados separados en cada extracto por filtración, se les dió la clasificación que aparece en la tabla # 1.

Los filtrados se concentraron y finalmente se secaron. La mayoría de los residuos obtenidos fueron de aspecto resinoso y pastoso, de color negro amarillento.

Los resultados de estas extracciones se resumen en la tabla # 1.

Se separó la planta en tallo y hoja; y fruto, la clasificación de los residuos y concentrados se les antepuso las iniciales de T y S respectivamente para diferenciarlos entre sí.

Tallo y hojas.-

Se pesaron 125 gramos de tallos y hojas perfectamente pulverizados. Los principales productos fueron:

PRECIPITADO T-AB: Fue el único precipitado que se obtuvo, de color amarillo verdoso, dió llama característica de compuesto orgánico y se le tomó el punto de fusión descomponiéndose a 290 grados, pero sin llegar a fundir.

CONCENTRADO T-AC.- Se dividió en 2 partes: una parte se llevó a evaporar todo el solvente y se obtuvo una resina de color negro con olor característico, se le hicieron las pruebas de alcaloides dando negativos

las pruebas. La otra parte se concentró a Baño de María ; dando negativas las pruebas de esteroides y flavonoides. Pero dieron positivas las pruebas de PROTEINAS.

CONCENTRADO T-AG.- Con este concentrado se procedió igual que con el concentrado T-AE, dividiendo en 2 porciones. De la primera se obtuvo una resina de color negro cafésoso, que se le hicieron las pruebas de alcaloides dando negativas; y a la segunda porción se le concentró y se le hicieron pruebas de carbohidratos dando positivas.

F R U T O.-

Dió positivas las pruebas de alcaloides a las que se probó su acción fisiológica.

T A B L A N o 1

## RESULTADOS DE LA EXTRACCION DE LAS HOJAS Y TALLO DE LA ONDOSCOLLUS ACONTIFOLIUS ( COPAPAYO)

PESO INICIAL DE LA MUESTRA	DISOLVENTE	PRECIPITADO EN DISOLVENTE					RESIDUO DESP. DE EVAPORAR DISOLVENTE				
		CLAVE	REND. EN (GR)	REND. EN %	ASPECTO Y COLOR	P.F./ C°	CLAVE	REND. EN (GR)	REND. EN %	ASPECTO Y COLOR.	
125 Gr.	ETER	T-AB	0.1961	0.1569	AMORFO AMARILLO VIEJOSO	29C°	T-AC	1.26	1.01	RESINA NEGRO AMARILLO	
	DE										
	PETROLBO										
90 %	ETANOL									RESINA	
	AL	T-AD			LIQ. VERDE MECHUZCO	-----	T-AE	5.62	4.5	NEGRA	
AGUA										RESINA	
	AHONIA	T-AP			LIQUIDO NEGRO	-----	T-AG	4.37	3.5	NEGRO	
	CAL A B 20 %				CAPIOSO					CAPIOSO	

REACCIONES GENERALES DE PROTEINAS EN EXTRACTO ALCOHOLICO

DE TALLO Y HOJA

REACCIONES DE COLORACION (15)

REACCION DE MILLON.- Solución Alcohólica más gotas de reactivo se formó un precipitado que por calentamiento se vuelve de color rojizo.- POSITIVA.

REACCION FANTOPROTEICA.- Solución Alcohólica más c.c. de ácido nítrico se vuelve de color amarillo al calentar, pero al ponerle amoníaco se vuelve rojizo.- POSITIVA.

REACCION DE MOLISCH.- 2 ml. de Sol Alcohólica más 2 gotas de sol. de anftol, se le añaden a 4 ml. de ácido sulfúrico, no dió ninguna coloración entre las 2 capas.- NEGATIVA.

REACCION DE BIURET.- A unos cc. de la Sol. Alcohólica se le agrega sol. alcalina de cobre muy débil. No hubo ningún cambio de coloración. NEGATIVA.

REACCIONES DE PRECIPITACION

REACCION CON NITRATO DE PLATA.- Solución alcohólica más gotas de sol. de nitrato de plata dió un precipitado.- POSITIVA.

REACCION CON SULFATO DE ZINC.- Solución alcohólica más gotas de sol. de sulfato de Zn dió precipitado.- POSITIVA.

REACCION CON SULFATO DE Mg.- Sol. alcohólica más gotas de sol. de sulfato de Mg dió precipitado.- POSITIVA.

REACCION CON CLORURO DE SODIO.- Sol. alcohólica más gotas de sol. de cloruro de sodio, dió un precipitado muy tenue.- POSITIVA.-

TRATAMIENTO DEL EXTRACTO ALCOHOLICO DE TALLO Y HOJAS.-

1.- En vista de que el extracto dió pruebas bastante positivas de proteínas, se procedió primero a determinar el porcentaje de éstas, averiguar su número y a identificarlas.

2.- El porcentaje de proteínas encontrado fue del 6.25 %

3.- Cromatografía en Papel.- Para esto se cortaron tiras de papel -- Whatman No. 1, de 42 cm. de largo por 19 cm. de ancho, y de acuerdo con la técnica usual se colocó con un sub-capilar una gota de la solución del extracto.

Se colocaron las tiras en una cámara cromatográfica y se desarrollaron por el método ascendente (21) utilizando como fase móvil -- una mezcla de alcohol n-butílico, Acido Acético y agua en proporciones (5:1:4) y revelándose con Solución Reactivo de Ninhidrina al 0.2 % (6), habiendo encontrado que el número de manchas fue 7.

4.- Identificación de Amino Acidos.- Se siguió el mismo método comparando con solución .01 N de amino ácidos conocidos, llegando a -- identificarlos por su Rf.

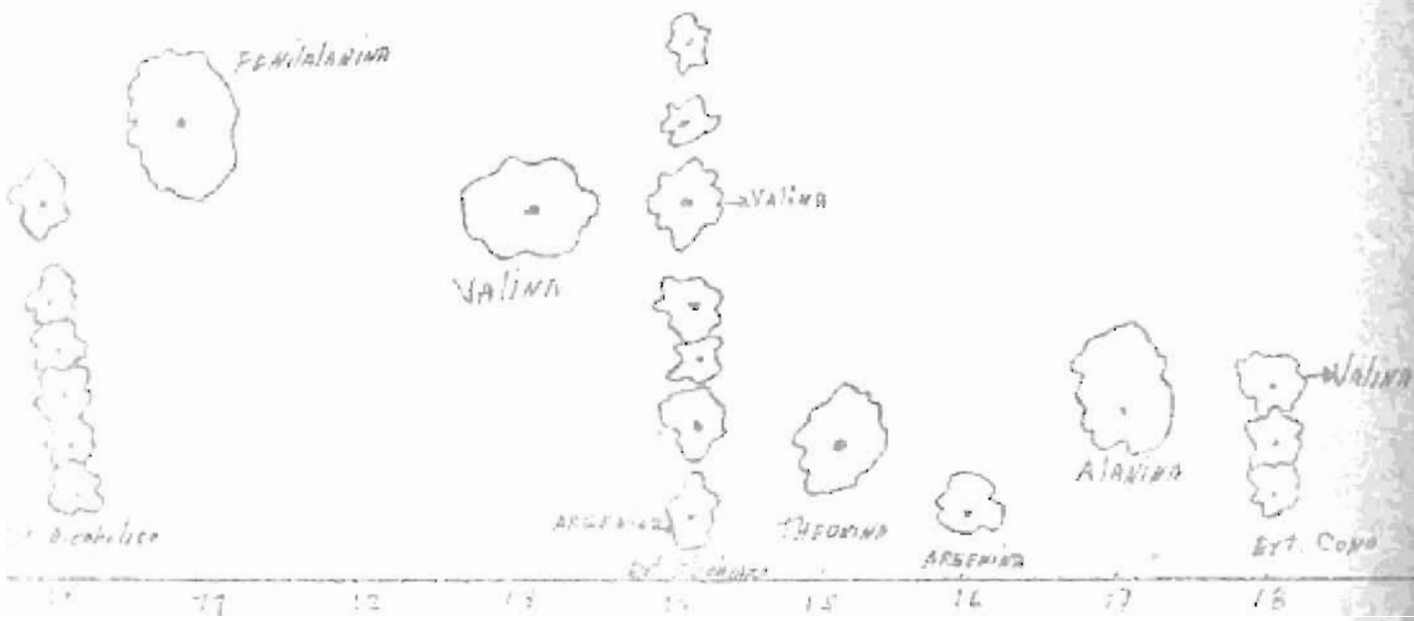
$$Rf. = \frac{\text{Distancia m.m.a que se desplazó el soluto}}{\text{Distancia en m.m. a que se desplazó el solvente}}$$

Los Amino Acidos presentes en el Extracto Alcohólico fueron 7 que son:

<u>N O M B R E S</u>	<u>Rf.-</u>
1.- SERINA .....	0.162
2.- ACIDO GLUTAMICO .....	0.262
3.- CISTEINA .....	0.371
4.- LEUCINA .....	0.813
5.- ARGININA .....	0.101
6.- ALANINA .....	0.263
7.- VALINA .....	0.549







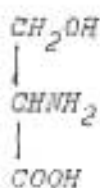
HOJA # 1

- 1.- *EXTRACTO ALCOHOLICO*
- 2.- *GLICINA*
- 3.- *ACIDO GLUTAMICO*
- 4.- *ACIDO ASPARTICO*
- 5.- *EXTRACTO ALCOHOLICO*
- 6.- *CISTEINA*
- 7.- *SERINA*
- 8.- *TIROSINA*
- 9.- *LEUCINA*

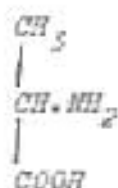
HOJA # 2

- 10.- *EXTRACTO ALCOHOLICO*
- 11.- *FENILALANINA*
- 12.- *CISTINA*
- 13.- *VALINA*
- 14.- *EXTRACTO ALCOHOLICO*
- 15.- *THEONINA*
- 16.- *ARGININA*
- 17.- *ALANINA*
- 18.- *EXTRACTO CONCENTRADO.*

LAS FORMULAS DE LOS AMINO ACIDOS PRESENTES EN EL EXTRACTO ALCOHOLICO (22)



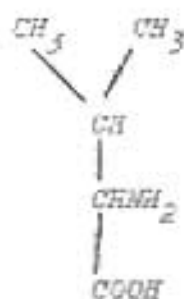
SERINA



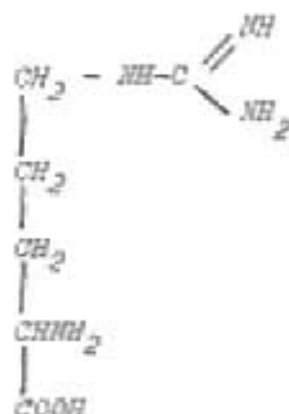
ALANINA



CISTEINA



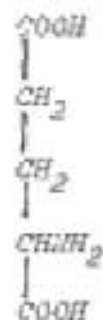
VALINA



ARGININA



LEUCINA



AC. GLUTAMICO



TRATAMIENTO DEL EXTRACTO ACUOSO DE HOJAS.

REACCION DE MOLISH.- A 2 ml. de Sol. acuosa se le agrega 2 gotas de alfa-naftol a la cual se le añade 4 ml. de ácido sulfúrico, formándose un anillo color violeta entre las 2 capas. Esto indica la presencia de Glucoproteínas.- POSITIVA.

REACCION DE FEHLING.- A 2 cc. de reactivo de Fehling (soluciones unidas) se le agrega 2 cc. de la sol. acuosa y se lleva a ebullición, depositándose en el fondo del tubo un precipitado de color rojo ladrillo.- POSITIVA.-

En vista de las pruebas positivas se procedió a identificar, el carbohidrato que se encuentra seguramente en la planta, la glucosa. Para esto se preparó su Ozazona, identificándose por la forma de sus cristales al microscopio.

F R U T O

Se pesaron 100 gramos de fruto, el cual se pulverizó y se le puso en un extractor, al cual se le hizo pasar alcohol de 90 -- grados hasta extraer exhaustivamente.

El extracto se concentró y se le hizo las pruebas de alcaloides, dando el siguiente resultado:

REACTIVO DE H'GER	-----	POSITIVA
REACTIVO DE DRAGENDORFF	-----	OPALESCENTE
REACTIVO DE WAGNER	-----	OPALESCENTE
REACTIVO DE MEYER	-----	OPALESCENTE
REACTIVO DE SONNERSCHEIN	-----	POSITIVA
CON $Cl \frac{Fe}{5}$	-----	Color amari- llo cafeso- so.-

C R O M A T O G R A F I A    E N    C A P A    D E L G A D A

Con el extracto alcohólico ya concentrado se procedió a hacer una cromatografía en capa delgada, para ello utilizamos una mezcla de pequeñas cantidades de Silica Gel y Yeso ( $SO_4Ca \cdot 1 H_2O$ ) en proporciones de 9:1; se pulverizan hasta casi 200 mallas y se coloca en una mufla para calentar a 180 grados durante 48 horas.

P R E P A R A C I O N   D E   L Á M I N A S .

Se deben lavar las láminas con agua y detergente, enjuagando con bastante agua y colocándolas sobre una toalla limpia y seca. La lámina seca debe ser tomada por los dos codos o por los extremos, o con pinzas, sin tocar la superficie de trabajo con los dedos.

Una vez preparadas las láminas se hace una mezcla de 25 gr. de Silica (Silica más yeso) con 66 ml. de cloroformo, más 33 ml. de alcohol metílico, agitando constantemente hasta obtener una mezcla, la cual se aplica de un modo especial sobre la superficie de la lámina, teniendo cuidado que quede una superficie homogénea, se lleva a la estufa para secarlas (1 h.), luego se coloca con sub-capilar una gota del extracto.

La lámina se coloca en una cámara usando como fase móvil benceno, revelándose con vapores de yodo; apareciendo una sola mancha, lo que nos indica que se trata de un solo alcaloide.

CRONITOGRAFIA EN COLUMNA.

Con el extracto alcohólico concentrado del fruto se procedió a hacer una Cronografía en Columna empacada con Sílica-gel, usando como solventes Benceno, Alcohol Metílico y agua, obteniéndose las siguientes sustancias.

Las sustancias que se recogieron en los beakers # 1 y # 2 fueron de color líquido blanco amarillento café oscuro y de olor benzenico a las cuales se les combinal y se les hizo las pruebas de alcoholos, dando el siguiente resultado:

REACTIVO DE H. OBER	-----	POSITIVO
REACTIVO DE DR. SENDROFF	-----	NEGATIVO
REACTIVO DE F. UNER	-----	NEGATIVO
REACTIVO DE MEYER	-----	NEGATIVO
REACTIVO DE SOMMERCHERIN	-----	NEGATIVO
CON $Cl_2$ P.	-----	COLOR AMARILLO LEO. CAFESCO.

Las sustancias que se recogieron en los beakers # 3 y # 4 fueron de aspecto líquido espeso, de color amarillo claro y con olor alcohólico. Se procedió a combinarlas y luego se les filtró al vacío haciéndoles luego las pruebas de alcaloides.

El precipitado obtenido se le disolvió en ácido Clorhídrico, obteniéndose los siguientes resultados:

niéndose los siguientes resultados:

REACTIVO DE HAGER	-----	POSITIVO
REACTIVO DE DRAGENDORFF	-----	NEGATIVA
REACTIVO DE WAGNER	-----	NEGATIVA
REACTIVO DE MEYER	-----	NEGATIVA
REACTIVO DE SONNERSCHEIN	-----	NEGATIVA

El filtrado que se obtuvo fue de color amarillo, haciéndole las siguientes pruebas:

guientes pruebas:

REACTIVO DE HAGER	-----	POSITIVO
REACTIVO DE DRAGENDORFF	-----	OPALESCENTE
REACTIVO DE WAGNER	-----	OPALESCENTE
REACTIVO DE MEYER	-----	OPALESCENTE
REACTIVO DE SONNERSCHEIN	-----	POSITIVO



La sustancia que se recogió en el beaker # 5 fue de aspecto - líquido espeso, de color verde claro, inodoro. Se procedió a hacerle las pruebas de alcaloides.

REACTIVO DE HAGER ----- NEGATIVO

REACTIVO DE DRAGENDORFF ----- NEGATIVO

REACTIVO DE WAGNER ----- NEGATIVO

REACTIVO DE MEYER ----- NEGATIVO

REACTIVO DE SONNERSCHEIN ----- NEGATIVO

De los resultados anteriores se puede deducir que al utilizar como eluente alcohol en el beaker # 4, era el que contenía el alcaloide en una forma bastante concentrada, obteniéndose en las pruebas cantidades grandes de precipitado. No se logró cristalizarlo, pero se trató de identificarlo de la manera siguiente:

Se trata con el reactivo de fcaut y se obtuvieron unos cristales que vistos al microscopio tienen la forma siguiente, ver Fig # 6

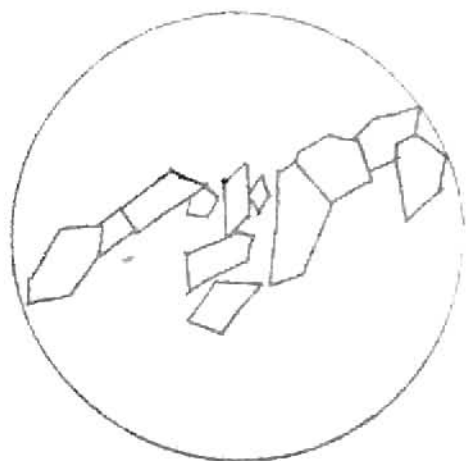


Fig.# 6

Cristales que se obtuvieron con el reactivo de Cloruro Mercurico, ver Fig # 7 .-



Fig.# 7

PRUEBAS FISIOLÓGICAS CON LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS Y ACUOSOS DE  
TALLOS, HOJAS Y FRUTO.-

Para ello se hicieron experimentos en cuyas de edad y peso -  
apropiados para el caso. Poniendo especial atención en los extractos  
de Fruto que dieron positivas las reacciones de alcaloides.

EXTRACTO ACUOSO DE HOJAS.

CUYA # 1A.- Se procedió a dar una pequeña dosis de extracto acuoso  
(1 c.c.) una vez al día, luego se le aumentó la dosis  
a 2 c.c. tres veces al día, sin lograr ningún efecto -  
fisiológico.

EXTRACTO ACUOSO DE FRUTO.

CUYA # 2B.- A esta cuya se le dió una dosis de 2 c.c. de Extracto  
acuoso, 3 veces al día durante 15 días consecutivos, -  
pero sin lograr ningún efecto fisiológico.

EXTRACTO ALCOHÓLICO DE TALLO Y HOJAS.

CUYA # 3C.- A esta tercera cuya se le procedió a dar una dosis de  
Extracto Alcohólico, 2 c.c. durante 15 días, 2 veces  
diarias, pero sin tener ningún efecto fisiológico.

EXTRACTO ALCOHÓLICO DE FRUTO.

CUYA #4D .- Se procedió a darle dosis de 2.5 c.c. de extracto, 3  
veces diarias, pero sin lograr ningún efecto.

IV - DISCUSION DE LOS RESULTADOS.-

El rendimiento de todos los extractos fue poco y solamente con el extracto del Eter de Petróleo nos dió un precipitado.

En el resto de los extractos no hubieron precipitados, sino solamente residuos, el precipitado del Eter de Petróleo se secó y se le tomó el punto de fusión, viendo que a los 290 grados empieza a descomponerse, pero sin lograr fundir, dando llama característica de compuesto orgánico.

Con el extracto alcohólico de las hojas se detectó la presencia de proteínas, aunque la prueba de Biuret fue débilmente positiva; - esto se debe a hidrólisis de éstas.

Se encontraron 7 Amino Acidos, de los cuales 3 son Amino Acidos Esenciales y se identificaron por CROMATOGRAFIA, comparando sus respectivos Rf. Ningún extracto de las hojas dió positivas las pruebas de alcaloides.

El extracto acuoso de tallo y hojas demostró la presencia de -- carbohidratos que se investigó y resultó ser uno de ellos, como es común en las plantas, la Glucosa.

El extracto alcohólico del fruto dió positivas las pruebas de -- alcaloides, que por las pruebas de CROMATOGRAFIA nos indicó que se trataba de uno solo. Por las pruebas de efecto fisiológico en cuyas, se observó que no produce ninguna acción lactogénica, únicamente un hinchamiento de las glándulas con los extractos alcohólicos, pero se cree se deba al efecto del Etanol.

V - C O N C L U S I O N E S . -

Se investigó el Chayo o Copapayo (*Chidoseolus Aconitifolius*) que pertenece a la familia de las Euforbiáceas, con el objeto de probar las acciones fisiológicas que se le atribuyen, así como investigar sus componentes, principalmente lo que podría considerarse principios activos, como serían las Proteínas y Alcaloides, llegando a concluir - lo siguiente:

1- En el extracto alcohólico de tallo y hojas se identificaron 7 Amino Acidos que son: VALINA, LEUCINA, ARGININA (siendo estos AMINO ACIDOS ESENCIALES), Serina, Acido Glutámico, Cisteína y Alanina, que seguramente son producto de hidrólisis de proteínas, aunque algunos pueden encontrarse aislados.

El porcentaje de proteínas que se encontró fue de 6.25 %.

2- El extracto acuoso de las hojas dió positivas las pruebas de carbohidratos, identificándose entre éstos la Glucosa y se puede deducir la presencia de Glucoproteínas.

3- El extracto alcohólico (conc.) del fruto dió positivas las pruebas de alcaloides, tratándose de buscar algún principio activo. Se efectuó CROMATOGRAFIA EN PAPEL y CAPA DELGADA, llegando a comprobar que se trata de uno solo. Y por la CROMATOGRAFIA EN COLUMNA se logró concentrar, pero no aislar cristales de alcaloides. Esto es debido a la pequeña cantidad de fruto con que se contaba y a la poca probabilidad de su recolección, ya que se da en cantidades muy pequeñas y en diferente época del año.

4- Por las pruebas hechas en cuyas, se concluye que la plan  
ta no posee ninguna acción fisiológica directa en las --  
glándulas de secreción láctea; sino más bien, por su con  
tenido protéico y de carbohidratos, al tomar sus infusio  
nes se aumenta la presencia de éstas en la dieta y por -  
consiguiente, aumenta la secreción láctea; ya que el pro  
ducto de secreción es rico en Proteínas y Carbohidratos.

VI - B I B L I O G R A F I A. -

- 1.- ROSENTHALER L. BER. D. *dtsh. pharmazeut. Ges* 14, 289 (1904).
- 2.- ROSENTHALER L. "The Chemical Investigation of Plants" Bell Londres (1930).
- 3.- VATTIEZ H. y F. STERNEN "Elementos de Chimie Vegetale" la Ed. Masson y Cia. Paris (1935).
- 4.- GUERRA F. "Estudio comparativo de algunos métodos utilizados en Análisis Fitoquímico" Tesis I.T.E.S.H. 3 (1961).
- 5.- DOMINGUEZ X.A. "Análisis Fitoquímico" Cienc. (1960).
- 6.- BLOCK D. and ZWEIG "Paper Chromatography and papel Electrophoresis" 2a. Ed. (1958).
- 7.- VENTURA AND I. H. LIMA AMAIS ACAD. BRASIL. CIENC. 31, 191-5 (1959) *citado por Chem. Abstr.* 56, 6371 a (1962)
- 8.- WALL H.E. et. Al. J. Am. Pharm Assoc. 43.1 (1954) *citado por ref.* 5
- 9.- THE MERCY INDEX. 5 a Ed. Rahway N.J. (1940).
- 10.- MERCY. Ag. "Chromatography" 5a. Ed. (1956)
- 11.- LIEBERMANN C. Ber. 18. 1803 (1885) *citado por ref.* 5
- 12.- BUCHARD H. Chem. Zentr. 61, 1 25 (1890) *citado por ref.* 5
- 13.- SALKOWSKI E. Z. Physik. 57 523 (1908) *citado por ref.* 5
- 14.- WILLSTATTER R. BER. 47 2831 (1941) *citado por ref.* 5
- 15.- DOMINGUEZ X.A "Química Orgánica Experimental" pag. 30 2a. Ed. México (1960)
- 16.- DOMINGUEZ X.A "Prácticas de Química" Chem. 26, 16-25 (1961).
- 17.- GUZMAN D.J. "Especies Útiles de la Flora Salvadoreña" Tomo II Pag. 10 Ed. 1a. Edit. I.N.S.S. (1924)
- 18.- McElvain M.S. "La caracterización de Compuestos Orgánicos" Ver. Esp. Ed. Madrid (1953).

- 19.- STANDLEY P. G. and ... J. STEYNEB "Flora of Guatemala" pag. 59  
(p. IV) 2a. Ed. (1941).
- 20.- CALDERON S. P. "Lista Preliminar de las Plantas de El Salvador"  
pag. 133 - 2a. Ed. Edit. I.N.S.S. (1941).
- 21.- CHEROCH N. D. y J. ESTRELLA "Química Qualitativa Orgánica --  
Analítica" Int. esolvente Pub. Inc. New York (1958)
- 22.- FARRER P. "Tratado de Química Orgánica" 2a. Ed. Ed. Nacional -  
(1951).
- 23.- CHOUSSY F. "Herbario de la Flora Salvadoreña" Tomo II. Edit. Mi-  
nisterio de Instrucción Pública - S. S. (1926)
- 24.- ARTEAGA H. P. "50 Plantas Medicinales" 1<sup>a</sup> Ed. Edit. I.N.S.S. --  
(1949).