

UNIVERSIDAD LABASTIDA

INCORPORADA A LA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

ESTUDIO QUIMICO DEL ECHINOCEREUS ENGELMANII

T E S I S

QUE PARA SU EXAMEN PROFESIONAL DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTA

Yolanda Almaguer Esquivel

DIRECTOR DE TESIS

DR. XORGE ALEJANDRO DOMINGUEZ F.

1965



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

*Con amor y gratitud a
mis queridos padres.*

Con cariño a mis hermanos.

11790

*Con gratitud y respeto a todos mis maestros, a
la Universidad Labastida y a mi Director de
Tesis.*

*Mi agradecimiento por la colaboración y guía
que sirvieron prestarme: Dr. Xorge A. Domín-
guez, Srita. Ing. Olga Fresnillo y Q.B. Paulino
Rojas.*

Este trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Fitoquímica del I. T. E. S. M., bajo la dirección del Dr. Xorge A. Domínguez.

**ESTUDIO QUIMICO DEL
ECHINOCEREUS ENGELMANII**

INDICE

| | |
|---|----|
| I. INTRODUCCION | 8 |
| II. MATERIALES Y METODOS | 12 |
| a) Descripción de la planta | 12 |
| b) Identificación de principios activos | 18 |
| III. PARTE EXPERIMENTAL | 23 |
| a) Extracto de éter de petróleo | 24 |
| b) Extracto de acetona | 37 |
| c) Extracto etanólico | 40 |
| IV. DISCUSION | 41 |
| V. CONCLUSIONES | 41 |
| VI. BIBLIOGRAFIA | 44 |

I

INTRODUCCION

El objetivo final del Análisis Fitoquímico, es la identificación de las sustancias que están presentes en un vegetal, aunque en la práctica es imposible lograr un análisis fitoquímico completo, el proceso común a seguir es identificar y cuantear determinados grupos de compuestos o algunas sustancias en particular y esto dependería de la finalidad del análisis, que podría dirigirse a identificar grupos como: lípidos, carotenoides, glucósidos, esteroides, vitaminas, alcaloides, proteínas, etc.

Es sumamente importante investigar la presencia de aquellos grandes grupos de compuestos que se sabe poseen actividad fisiológica como los alcaloides, glucósidos cardiotónicos y cionogenéticos, saponinas, flavonas y taninos y después proceder a la separación e identificación del o de los compuestos activos, empleando para ello técnicas específicas.

En estos últimos años el Análisis Fitoquímico ha adquirido mucha importancia, ya que por medio de él, se estudian ciertas sustancias que existen en los vegetales que son de sumo interés, porque algunas de estas poseen poderes curativos y cualquier aportación que venga a contribuir al aumento de conocimientos sobre estos compuestos es de mucha utilidad, así como también viene a contribuir en el campo industrial (1).

En México el interés sobre plantas medicinales se remonta a las experiencias de los aztecas, sobre dichas plantas, información que fué recogida por Martín Cruz y Juan Badiano en el Siglo XVI, en un manuscrito que se llama Códice Badiano, que contiene una recopilación de las plantas medicinales usadas por los aztecas (2).

Martínez, (3, 4), ha escrito también una recopilación en una serie de publicaciones sobre las plantas medicinales, lo que ha venido a contribuir a su divulgación y a la conservación de nuestras costumbres.

El presente trabajo es una contribución al estudio químico del **Echinocereus engelmannii**, planta sobre la que no se encontró nada en la bibliografía, (5) y en el Chemical Abstracts desde 1915 hasta junio de 1964.

GENERALIDADES SOBRE LAS CACTACEAS

Las cactáceas constituyen una numerosa familia de plantas casi exclusivamente americanas, y México tiene el privilegio de albergar en su territorio la más grande variedad de géneros y de individuos.

Se distinguen fácilmente por su porte característico, son vegetales crasos, con tallo carnoso, simple o más ramificado, globuloso o cilíndrico, columniforme, a veces comprimido y articulado, con las hojas reemplazadas por espinas muy a menudo.

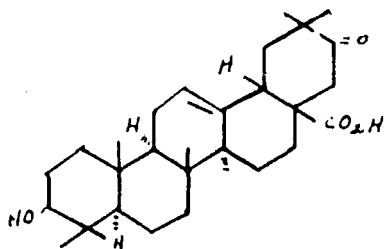
Las flores solitarias generalmente, son grandes y de colores vistosos. Los cactus habitan tanto en los desiertos como en las selvas húmedas de los trópicos, presentándose en gran cantidad de formas, se adaptan a las diferentes regiones geográficas de nuestro país, estas plantas debido a sus múltiples cualidades de adaptación, a su extraordinaria vitalidad, a sus variados medios de propagación, a sus peculiares funciones mediante las cuales pueden tomar de la atmósfera sustancias nutritivas, etc. constituyen uno de los factores más importantes que intervienen en la conquista de los desiertos, puesto que contribuyen al desarrollo de una vegetación normal permanente que poco a poco fertiliza el suelo y que, gracias a la trama que forman sus raíces, impide la denudación de los terrenos.

De tiempos atrás se consideró a las cactáceas como un recurso alimenticio entre las tribus nómadas y sedentarias de Anáhuac, por su abundante fructificación y debido a los recursos económicos que suministraban y a su fácil propagación,

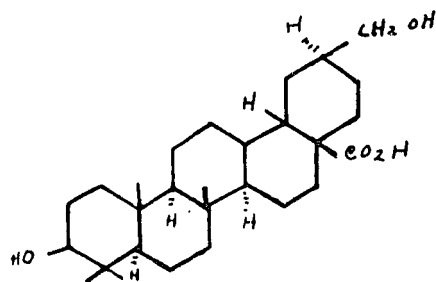
fueron al mismo tiempo que los magueyes, el maíz, el tule, las primeras plantas que al ser cultivadas intervinieron en el desarrollo de centros de población estable así mismo tienen importancia y un valor inestimable en las zonas desérticas del país, como plantas que almacenan agua en sus tejidos (6).

Las cactáceas son plantas xerófitas, producen galaetana y arabana, ácidos orgánicos y sales de los mismos ácidos, sobre todo malato y oxalato; diversos azúcares, glucósidos del ácido cereínico y sobre todo alcaloides como el peyote (**Lephophora williamssi**) que produce embriaguez y que fué una de las primeras cactáceas estudiadas por los químicos; el jugo de sus frutos contiene una cantidad considerable de agua, gran parte de azúcar, sustancias nitrogenadas, y materia colorante (7, 8).

Djerassi y sus colaboradores han llevado a cabo una investigación sistemática de los triterpenos presentes en las cactáceas, habiendo examinado cuarenta especies de la subtribu **Cereanae**, logrando aislar doce nuevos triterpenos, cuyas estructuras han procurado determinar, como ejemplo de ellos son los ácidos machaerico I, (del **Machaerocereus gummosus**), el ácido queretaroico II, (del **Lemaireocereus queretaroensis**), (9).

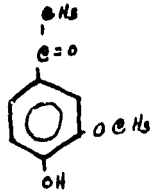


Acido machaerico I



Acido queretaroico II

También se ha logrado aislar de algunas cactáceas ciertos compuestos como de la **Mammillaria runyonii** la apocinina o acetovainillona III (4-oxi-3-metoxiacetofenona).



Acetovanillona III

La apocinina se aisló primero en el fruto del cáñamo indio (*Apocynum androsaemifolium* L.), y en forma de glucósido en los frutos del *Apocynum androsaemifolium* L., en los bulbos de una amarilidácea del Africa del Sur la *Buphane disticha*, y en los rizomas del lirio. (11).

MATERIALES Y METODOS

DESCRIPCION DE LA PLANTA.

El *Echinocereus engelmannii*, es una planta cespitosa que forma grandes grupos de individuos; tallos ascendentes, cilíndricos, de 10 a 30 centímetros de longitud por 5 a 10 centímetros de diámetro, de color verde claro, costillas de 11 a 14, poco prominentes y obtusas, areólas grandes circulares; espinas radiales de 10 a 13, de un centímetro de longitud; espinas centrales de 4 a 6, amarillentas o de color café, gruesas más o menos encurvadas de 5 a 7 centímetros de longitud; flores de 5 a 8 centímetros de longitud de color púrpura; su fruto es de forma ovoidal, espinosa de 3 centímetros de longitud; las semillas negras casi redondas.



Fig. 1
Echinocereus Engelmannii.

Es una planta originaria de México y del sur de los Estados Unidos y se encuentra repartida en los Estados del Norte y Centro del país. Está admirablemente adaptada para vivir

en terrenos secos y estériles o en las anfructuosidades de las rocas, pudiendo soportar sequías muy prolongadas y cambios bruscos de temperatura y de humedad. (6).

RECOLECCION Y PREPARACION.

La recolección se efectuó en Mina Nuevo León, a 5 Km. del municipio, durante los meses de junio y julio de 1963.

El material se cortó en trozos pequeños, se secó al sol, después fué pulverizado en un molino Wiley recogándose un polvo de color café claro.

METODOS DE EXTRACCION.

Se utilizaron dos métodos generales: el de extracción y el de percolación.

Las extracciones se hicieron con el material seco, molido y pesado, en extractores tipo Soxhlet, utilizando sucesivamente los siguientes disolventes: éter de petróleo (p. eb. 30° — 60°), acetona, etanol y agua destilada.

Los precipitados obtenidos fueron separados por filtración y las soluciones resultantes concentradas casi a sequedad en un evaporador tipo "Flash" continuo, a baja temperatura y a presión reducida.

Para la percolación se usó una mezcla de etanol, ácido acético glacial y agua destilada (75:2:15) (1).

La identificación de las sustancias contenidas en los extractos se efectuaron valiéndose de los métodos comunes de análisis cualitativo y cuantitativo orgánico, (1), (12), (17), para su separación por medio de cristalización en disolventes adecuados, por sublimación, por cromatografía en capa delgada cuantitativa y preparativa.

Las extracciones se hicieron de acuerdo a las tablas I y II.

TABLA 1.- METODO GENERAL DE EXTRACCION Y CLAVE GENERAL.

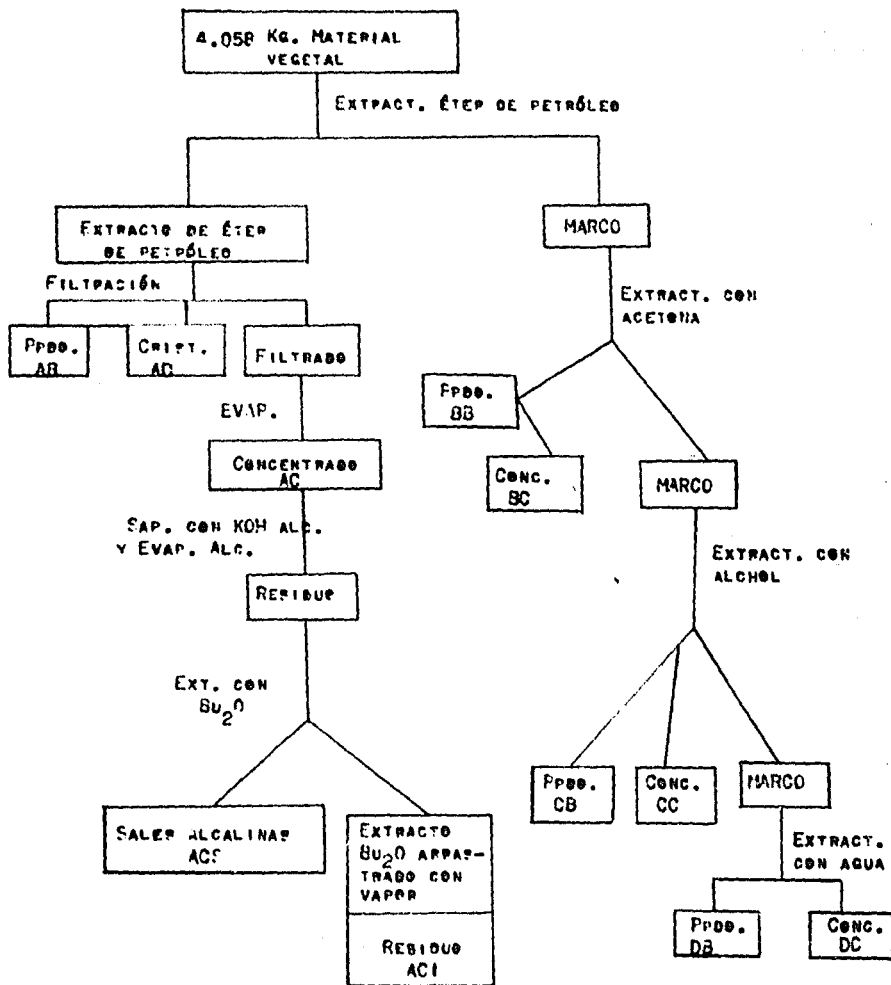
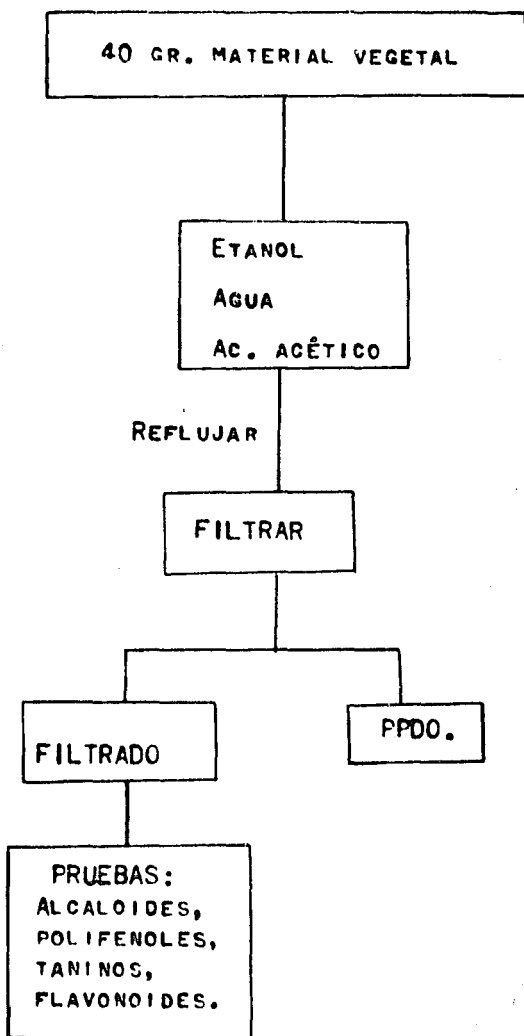


TABLA II.—METODO DE PERCOLACION



METODOS CROMATOGRAFICOS:

CROMATOGRAFIA EN CAPA DELGADA CUANTITATIVA Y PREPARATIVA (12), (13).

Material empleado:

Se usaron frascos de vidrio de boca ancha de 10 cm. de altura y 4.5 cm. de diámetro, tapados en su parte superior por una cubierta movable de vidrio. Placas de vidrio de 3 cm. de ancho, 9.5 cm. de largo y 3 mm. de espesor. Aplicador de pastas Merck y subcapilares.

Pastas:

Se prepararon las pastas mezclando 30 gm. de silicagel Merck con 60 ml. de agua destilada y agitando la mezcla durante varios segundos.

Disolventes empleados:

- a) General: Butanol-acético-agua. (75:10:15).
- b) Para alcaloides: Butanol-acético-agua. (75:10:15).
Butanol-acetato de etilo-metanol.
- c) Para esteroides: Benceno-cloroformo. (1:1).
- d) Para Flavonoides: Acetato de etilo-ácido acético-metanol-agua.

Reveladores empleados:

- a) General: ácido sulfúrico al 85%.
- b) Para esteroides: tricloruro de antimonio en cloroformo al 10%, vapores de yodo.

Procedimiento:

Preparación de las placas: La pasta se extendió sobre las placas de vidrio mediante un dispositivo mecánico, en capas de espesor uniforme, se secaron a temperatura ambiente durante media hora y después en una estufa a 100—110°, por una hora. Luego se pasaron a un desecador con cloruro de

calcio donde se dejaron hasta el momento que se utilizaron.

Aplicación de las muestras: Se disolvieron las muestras en un disolvente apropiado de preferencia volátil y de poca polaridad, y se aplicaron con una micropipeta a 2 cm. del borde inferior de la cromatoplaca.

Desarrollo de los cromatogramas: Los cromatogramas así preparados se colocaron en posición casi vertical dentro de un frasco de vidrio y de boca ancha que contenía el disolvente adecuado, el frasco tenía cubriendo sus paredes interiores una hoja de papel filtro que permitía mantener la saturación del disolvente dentro del frasco. Se cubrió la parte superior del frasco con una tapa de vidrio para evitar la evaporación del disolvente.

Cuando el disolvente hubo subido aproximadamente las tres cuartas partes de la altura de la cromatoplaca, se sacó ésta, se puso a secar en una estufa para revelarla posteriormente.

Revelado de los cromatogramas: Se utilizaron los reveladores antes mencionados, los líquidos se aplicaron a los cromatogramas con un atomizador o colocando éste en un ambiente saturado por vapores del disolvente, de acuerdo al caso.

CROMATOGRAFIA EN COLUMNA.

Preparación de las columnas cromatográficas: Las columnas cromatográficas se prepararon de la siguiente manera: en la base se puso un pequeño tapón de lana de vidrio, se le agregó el éter de petróleo, se dejó caer una pequeña capa de arena lavada, de 0.5 a 1 cm. de espesor, luego se le agregó una cantidad conveniente de alúmina neutra Merck o de ácido silícico, según se requirió, se dejó caer en pequeñas porciones golpeando el exterior de la columna con un agitador que tenía un capuchón de hule, una vez que se terminó de añadir la alúmina se puso otra capa de arena como la primera y un trocito de algodón.

Una vez preparada así la columna, se dejó salir el éter y se agregó por la parte superior de la columna la muestra a es-

tudiar, previamente disuelta en éter o en otro disolvente cuando fué necesario.

Se realiza la elución haciendo pasar los disolventes en porciones de 100 ml.

Las columnas cromatográficas se emplearon en los extractos de éter de petróleo y acetona, fueron empacados con alúmina activada y ácido silíceo y como eluyentes se usaron; éter etílico-acetato de etilo; acetato de etilo; acetato de etilo-acetona; acetona; acetona-etanol; etanol. También se usó: cloroformo; cloroformo-acetato de etilo; acetato de etilo; acetato de etilo-etanol; etanol.

Se recogieron las fracciones, las que se evaporaron y se pesaron, se observaron, se juntaron cuando fueron iguales, y se procedió a un examen posterior.

IDENTIFICACION DE PRINCIPIOS ACTIVOS:

En la identificación de los compuestos aislados se emplearon los métodos y técnicas usuales de: análisis elemental cualitativo y cuantitativo, puntos de fusión, espectro ultravioleta e infrarrojo, grado de ionización, resonancia nuclear magnética, preparación de derivados y cromatografía en capa delgada. (1), (14), (15), (16), (17), (18), (19), (20).

REACCIONES DE IDENTIFICACION:

ACIDOS: (17)

A 5 mg del compuesto disuelto en etanol se le agregó bicarbonato de sodio; si se observa desprendimiento de CO_2 la prueba resulta positiva.

ALCALOIDES:

Los precipitados se producen al agregar la muestra.

a) Reactivo de Dragendorff.—(Solución de bismutiyoduro de potasio que forma precipitados café rojizos). Se disolvieron 8 gr. de subnitrate de bismuto en 20 ml de ácido nítrico

concentrado y se añadió lentamente esta solución a una solución concentrada (en muy poca agua) de 22.7 gr. de yoduro de potasio.

b) Reactivo de Mayer.—Solución de mercuriyoduro de potasio. Produce un precipitado blanco.

Se disolvieron 13.55 gr. de cloruro mercúrico y 50 gr. de yoduro de potasio en agua, aforando a un litro. La mayor parte de los alcaloides dan un precipitado blanco aún cuando están muy diluidos.

c) Reactivo Silicotúngstico.—Forma precipitados blanquecinos.

Se disolvieron 12.0 gr. de ácido silicotúngstico ($\text{SiO}_2 \cdot 12\text{WO}_3 \cdot 26\text{H}_2\text{O}$), en suficiente agua (80-90 ml.), aforándose a 100 ml. Se añadió una solución de alcaloides en Acido clorhídrico al 1%.

ALDEHIDOS: (17)

a) Reactivo de Tollen's.

En un tubo de ensayo se pusieron 30 mg. del compuesto, se le agregaron 2 ml. del reactivo recientemente preparado. Se agitó el tubo y se dejó reposar durante diez minutos, luego se puso en baño de agua a 35° por cinco minutos.

Un precipitado de plata en forma de espejo en la pared del tubo indica prueba positiva.

CARBOHIDRATOS: (17)

a) Reactivo de Fehling.—Se colocaron 2 ml. de la mezcla de la solución A y de la solución B del reactivo en un tubo de ensayo, se le añadieron 20 mg. del compuesto y se calentó en baño maría durante 5 minutos.

CETONAS: (17)

a) En una placa excavada se colocaron 10 mg de la muestra disuelta en etanol y se le agregaron gota a gota una solución de 2, 4-dinitrofenilhidracina en etanol y ácido fosfórico, la formación de un precipitado rojo-anaranjado o amarillo indica que la prueba es positiva.

b) Prueba del Yodoformo:—A la muestra disuelta en dioxano se le agregaron unas gotas de hidróxido de sodio al 10% (en medio alcalino) más unas gotas de lugol una coloración amarilla indica que la prueba es positiva.

ESTEROLES: (1)

Reactivo de Liebermann-Buchard.—Se añadió una gota de una disolución reciente de ácido sulfúrico a 1 ml de anhídrido acético helado y 1 ml. de cloroformo, se observó las coloraciones a varios intervalos de tiempo (2, 5, 10, 20 minutos).

FENOLES: (17)

a) Reactivo de cloruro férrico.—(Disoluciones no acuosas). Se disolvieron 30 mg. del compuesto en 1 o 2 ml. de cloroformo. Se agregó 2 gotas de la siguiente disolución: se disolvieron 1 gr. de cloruro férrico anhidro en 100 ml. de cloroformo, se agregó 8 ml. de piridina y se filtró la mezcla. Se anotó el cambio.

b) Reactivo del cloruro férrico.—A 5 mg de muestra se les agregó gota a gota una solución de cloruro férrico al 10% si se desarrolla una coloración oscura la prueba es positiva.

FLAVONOIDES REDUCIBLES: (1)

A 1 ml. de muestra se le agregó 0.5 ml. de ácido clorhídrico al 10% y 2 limaduras de magnesio. Una coloración roja indica que la prueba es positiva.

GRADO DE IONIZACION: (17)

En un tubo de ensayo se colocaron 50 mg. de material sólido finamente pulverizado se le añadió 1.0 ml. del indicador (que se debe de conservar en frasco obscuro) se agitó la mezcla con una varilla de vidrio. Se comparó el cambio de color con el color de un tubo testigo que contiene la misma cantidad de indicador.

INSATURACIONES: (20)

Se empleó el método de hidrogenación de Brown².

TANINOS: (1)

Reactivo de Cloruro férrico.—1 gr. de cloruro férrico en 100 ml. de agua destilada.

Unas gotas de este reactivo dan coloraciones azules, verdes o negras con extractos conteniendo taninos o fenoles.

APARATOS EMPLEADOS EN DETERMINADAS TECNICAS DE ANALISIS

Espectros de absorción en el infrarrojo: Se usaron un I-R-5 Beckman y un Perkin-Elmer modelo 21.

Espectros de absorción en el ultravioleta: Se determinaron en un aparato Beckman DU, con alta sensibilidad dentro de los límites comprendidos entre 234 a 362 milimicras, la temperatura fué de 25 C y se empleó como disolvente etanol.

Se tomaron valores tanto de absorbancia como de transmitancia a longitud de onda variable y se trazaron las curvas correspondientes.

PUNTOS DE FUSION:

Los puntos de fusión se determinaron usando una platina de calentamiento Koffler.

SUBLIMACION:

Estas se efectuaron en un sublimador conectado a una línea de alto vacío.

DETERMINACION DE CARBONO-HIDROGENO:

Estas determinaciones fueron hechas en un aparato Carbon-Hydrogen Analyser Coleman, modelo No. 33, corroborados posteriormente algunos de ellos en los laboratorios Alfred Bernhard en Alemania.

Se emplearán las iniciales I.T.E.S.M. y A.B. para indicar si los análisis fueron realizados en los laboratorios del Instituto Tecnológico o por los Laboratorios Alfred Bernhard.

DETERMINACION DE RESONANCIA NUCLEAR MAGNETICA:

Una determinación fué hecha en un Varian A-60 por el Dr. José Luis Mateos, a quien se agradece su colaboración, en el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Otra determinación se hizo en un Varian A-60 en el Departamento de Química de la Universidad de Texas.

III

PARTE EXPERIMENTAL

El Análisis preliminar se hizo con el material recién recolectado, seco y molido.

Se trabajó con los extractos de éter de petróleo y acetónico.

A).—Análisis Preliminar. (1)

Se introdujeron cuarenta gramos de material pulverizado y seco en una bolsa hecha de bramante de 10 cm de ancho y 15 cm. de largo, esta se amarró con un trozo de alambre "nichrome", colocándose dentro de un vaso de precipitados de paredes altas en el cual iba el disolvente (200 ml. de etanol, 50 ml. de agua destilada, 6 ml. de ácido acético glacial).

Para favorecer el reflujo se cubrió el vaso con un matraz bola, provisto de entrada y salida de agua, el cual actuó como refrigerante.

El reflujo duró de 30 a 60 minutos al cabo de los cuales se filtró siendo éste de un color café oscuro, de aspecto turbio con un poco de precipitado, dió negativas las pruebas para alcaloides y flavonoides, positiva la de fenoles.

Con una parte de material molido y seco, se hicieron las determinaciones que se resumen en la tabla III.

1.—NITROGENO.—Se empleó el método de Kjeldahl. (16).

2.—EXTRACTO ETereo.—Aparato Goldfish. (16).

3.—FIBRA CRUDA. (18)

4.—CENIZAS. (16).

TABLA III.—Datos experimentales del Análisis preliminar (base seca) del *Echinocereus engelmannii*

| DETERMINACION | PORCENTAJE |
|--------------------|------------------------|
| <i>Humedad</i> | <i>No se determinó</i> |
| Extracto Etereo | 4.25 |
| Fibra Cruda | 20.48 |
| Cenizas | 18.11 |
| Nitrógeno total | 0.96 |
| Nitrógeno protéico | 6.0 |

Las cenizas fueron de aspecto pulverulento, de color gris claro, y más o menos solubles en agua, dando reacción alcalina, y un pH de 8.5, dando positiva la prueba del sodio y potasio a la flama.

B).—EXTRACCION DEL MATERIAL.

En un extractor tipo Soxhlet se extrajeron 4.058 Kg. de material, seco y molido, exhaustiva y sucesivamente con éter de petróleo, acetona, etanol y agua destilada.

Todos los extractos se filtraron, separando así un precipitado en caso de haberlo. Los filtrados se evaporaron en un evaporador rotatorio, a presión reducida y baño maría, luego se secaron a peso constante bajo una lámpara infrarroja. Se pesaron los extractos secos.

EXTRACCION CON ÉTER DE PETRÓLEO:

Se pusieron en el extractor tipo Soxhlet 4.058 Kg. de material, seco y molido, usando dicha cantidad en tres porciones. Se extrajo el material durante siete días, siendo éstas de un

color café obscuro. Por filtración se separaron 4.18 gr. (0.010%) de un precipitado que había depositado en el fondo del matraz durante la extracción, de color verde, soluble en agua caliente de punto de fusión 100°-106°, (Koffler). Se le asignó al precipitado la clave EP-AB (2).

Se separó también 0.420 gr. (0.001%) de unos cristales solubles en cloroformo, dando negativa la prueba para flavonoides, se recrystalizaron en alcohol obteniéndose tres clases de cristales que se les asignó la clave EP-AD (a) EP-AD (b), y EP-AD (c), cuyos p. de f. fueron: 110°, 114°-108°-109°-114°-115°, (Koffler), respectivamente. Se corrió una cromatografía en capa delgada con una mezcla de los tres, en butanol-acetato de etilo-metanol, observándose una mancha Rf. 0.594 al revelarse con H₂SO₄ al 35%.

PRUEBA PARA ESTEROLES INSATURADOS CON EP-AD (a, b, c).

A 2 ml. de anhídrido acético, 2 ml. de cloroformo y 2 o 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado, se agregó una pequeña cantidad de las tres clases de cristales, dando positiva la prueba. No se investigaron más.

TRATAMIENTO DE LAS EXTRACCIONES DE ÉTER DE PETROLEO:

Las extracciones de éter de petróleo se juntaron y se concentraron en un evaporador a presión reducida, quedando un concentrado 67 gr. (1.65%) de aspecto resinoso, de color café obscuro y que se le asignó la clave EP-AC.

Se sacudió el concentrado con 200 ml. de una solución acuosa de bicarbonato de sodio al 5%, se decantó, se separó el residuo de la solución, a ésta se le añadió ácido clorhídrico concentrado para acidular, la formación de un precipitado indicaría probable presencia de ácidos grasos, no obteniéndose precipitado.

Se saponificó el residuo poniendo a reflujar 150 ml. de una solución de hidróxido de potasio al 10% durante 4 horas.

Se enfrió, se evaporó, el residuo se extrajo con tres porciones de 75 ml. de éter n-butílico. Se separaron la solución etérea y el residuo, al residuo se le asignó la clave EP-ACS. La solución etérea se arrastró con vapor de agua para separar el éter n-butílico quedando un precipitado, el éter y el agua. Al precipitado se le asignó la clave EP-ACI, siendo de aspecto sólido 1.94 gr. (2.89%) de color naranja, se hizo una cromatografía en capa delgada usando como disolvente butanol-acético-agua (75:10:15) y como reveladores yodo, y ácido sulfúrico al 85%, no observándose ninguna mancha.

ACETILACION DE EP-ACI

Un gramo de EP-ACI, se reflujo con 2 ml. de anhídrido acético y 1 ml. de piridina durante tres horas, una vez que se terminó de reflujo se dejó reposar toda la noche y se decantó sobre agua caliente formándose un sólido de color café amarillento, de aspecto amorfo, se decantó, se lavó con agua destilada, se le agregó éter n-butílico para disolver, se hizo una cromatografía en capa delgada usando como disolvente butanol-acético-agua (75:10:15), y como reveladores yodo y ácido sulfúrico al 85%, no observándose nada.

RESIDUO EP-ACS

Al residuo de clave EP-ACS, se le agregó ácido clorhídrico para acidular, se formó un precipitado que se separó, se secó éste con sulfato de sodio anhidro, quedando un sólido 2.94 gr. (4.38%), de color verde con p. f. 70° -73° (Koffler), se destiló al vacío para obtener ácidos grasos que hubiese presentes, en caso de haber, al destilado se le hizo la prueba para la identificación de ácidos grasos (carbonato) dando la prueba negativa.

PRECIPITADO EP-AB

El precipitado EP-AB, se sublimó al alto vacío (0.01 mm. de Hg), obteniéndose unas agujas de color blanco 1.698 gr. (40.62%), solubles en etanol con p. f. 111° -113° (Koffler) que se les asignó la clave EP-AB (2).

También se recogió la parte no sublimable 2.34 gr. (48.6%),

siendo un residuo de aspecto ceroso, de color verde oscuro, soluble en agua caliente con p. f. de 73°-75°, (Koffler), se le asignó la clave EP-AB (n-s).

SUBLIMADO EP-AB (2)

El sublimado EP-AB (2), dió positivas las pruebas para cetonas.

El espectro infrarrojo (Fig. 2), mostró máximas a 3500 cm^{-1} (OH), 3000 cm^{-1} ($-\text{CH}_2$), 1670 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$), conjugado, 1590, 1505, 1460 cm^{-1} (correspondientes a fenilo sustituido, 2920 cm^{-1} (CH), 1125 cm^{-1} ($-\text{C}-\text{O}-$).

El espectro ultravioleta, (Fig. 3), disolvente etanol, mostró máximas de absorción a 229 μ , 276 μ y 304 μ .

El espectro N.M.R. mostró dos multipletes a 2.55 t y 3.22 t correspondientes a protones aromáticos multiplete a 4.15 t correspondientes a un protón fenólico, un singulete a 6.05 t , correspondientes a tres protones de metilo unido a un carbolino (Fig. 4).

El análisis carbón hidrógeno de EP-AB (2) dió los siguientes resultados:

| | | |
|------------|----------|-------------------|
| C: 65,001% | H: 6.71% | (Lab. I.T.E.S.M.) |
| C: 65.14% | H: 6.10% | O: 28.77 (A.B.) |

Calculado para: $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$ (P.M. 166.17).

| | | |
|-----------|----------|-----------|
| C: 65.05% | H: 6.07% | O: 28.89% |
|-----------|----------|-----------|

El peso molecular (método de Rast) encontrado (A. B.) fué: 150.

PREPARACION DE LA 2, 4-DINITROFENILHIDRACINA DE EP-AB (2) (17, 19).

Preparación del reactivo 2, 4-dinitrofenilhidracina:

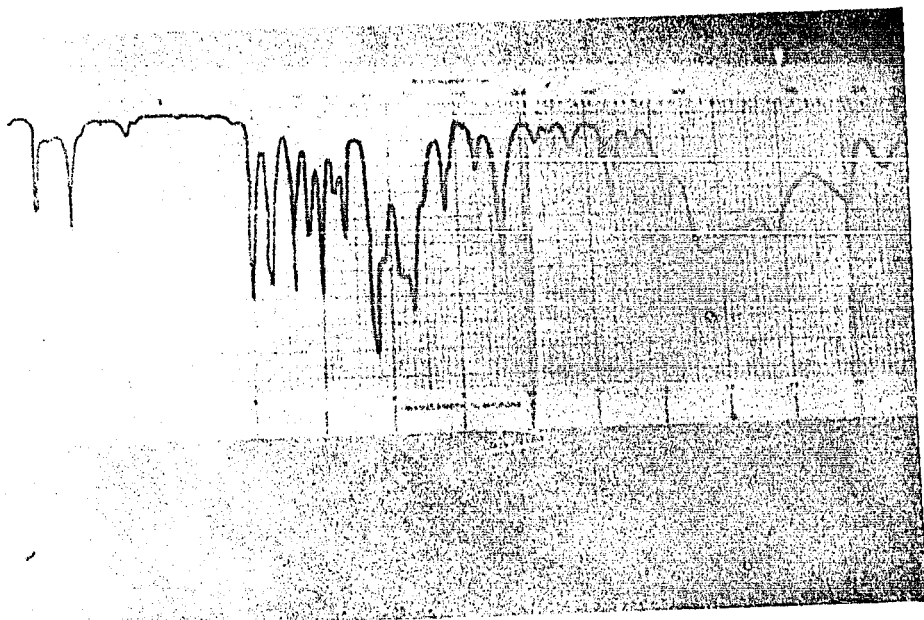


Fig. 2. Espectro Infrarrojo de EP-AB (2)

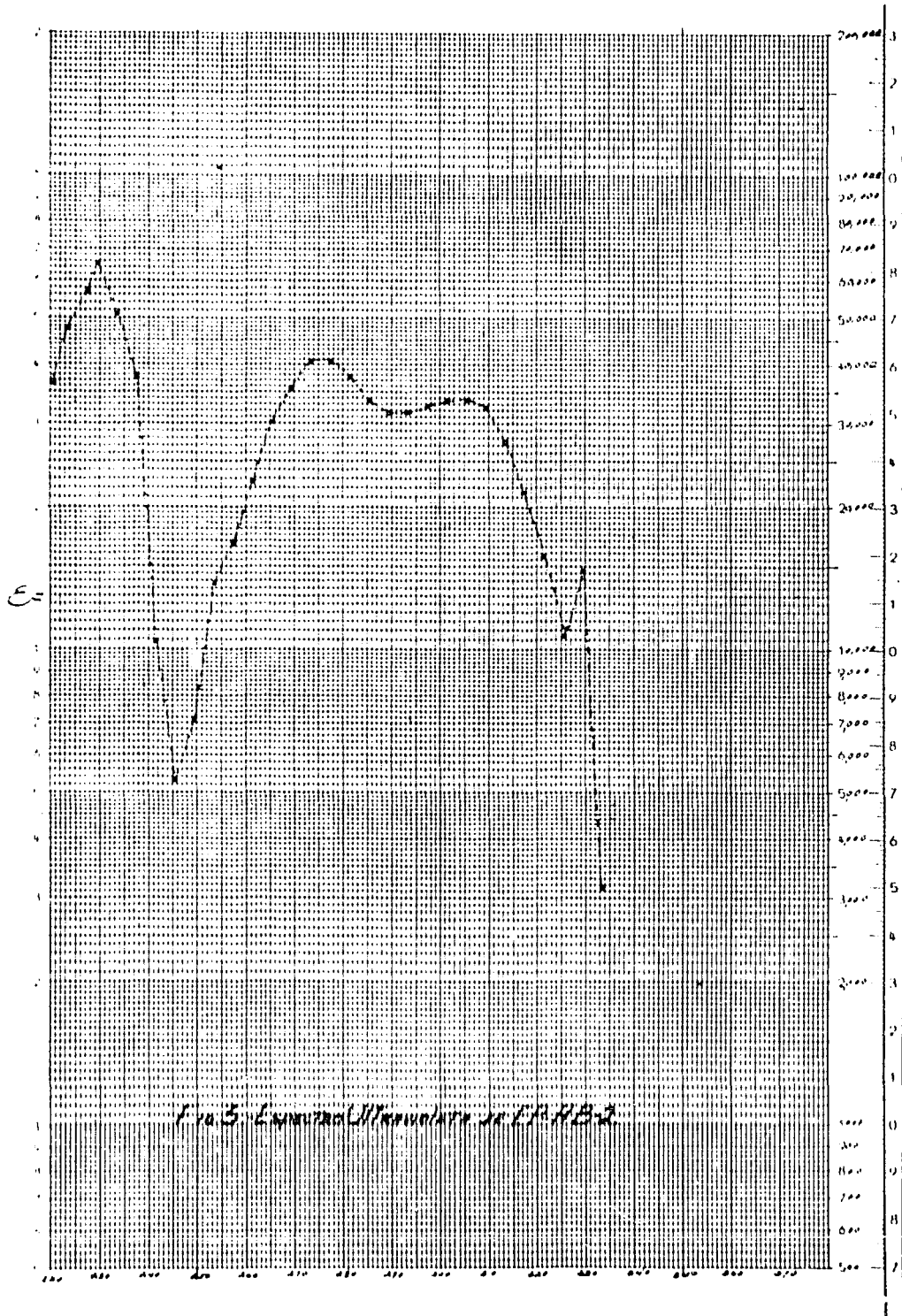


Fig. 5. Estimated Ullmann rate for FARB-2.

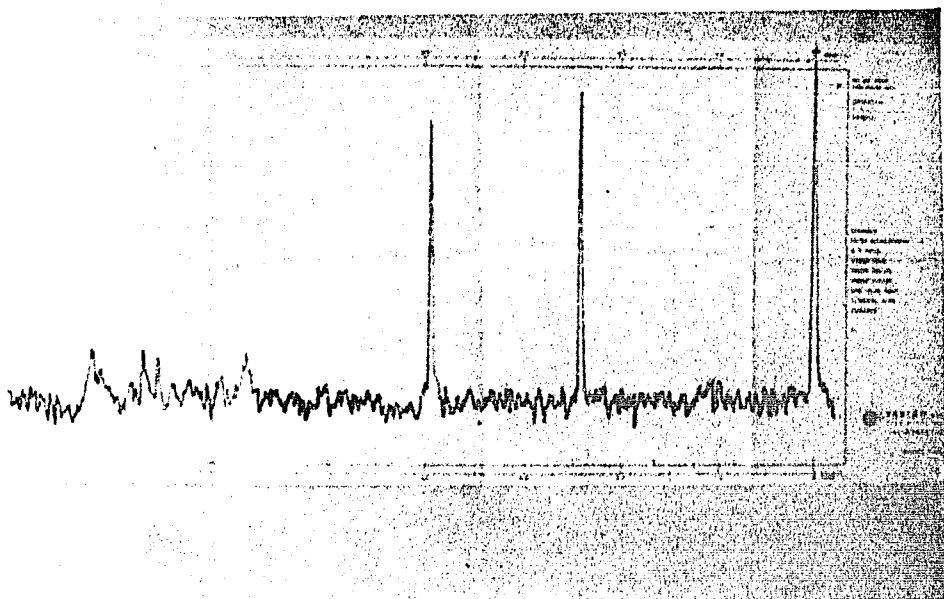


Fig. 4. Espectro (N.M.R.) Resonancia Nuclear Magnética de EP-AB (2).

Se disolvieron 3 gr. de 2, 4-dinitrofenilhidracina en 30 ml. de ácido fosfórico al 85%, se calentó la disolución y se diluyó la mezcla con 19.8 ml. de etanol al 95%. La solución se filtró.

Preparación del derivado:

A aproximadamente 2 o 3 mg. del compuesto se le agregaron 2 gotas del reactivo 2, 4-dinitrofenilhidracina, el precipitado que se formó se recogió por filtración y se recrystalizó en metanol-agua. Los cristales obtenidos fueron de color naranja y al determinar su punto de fusión sufrió una descomposición a 200° (Koffler).

PREPARACION DE LA SEMICARBAZONA DE EP-AB (2)

Cincuenta miligramos de clorhidrato de semicarbazoda y 75 mg. de acetato de sodio, se disolvieron en una mezcla de 1 ml. de agua destilada y 1 ml. de etanol. Se agregaron 10 mg. del compuesto, se calentó la mezcla en baño de agua a 70° C por 10 minutos. Se añadieron 15 ml. de agua destilada y se enfrió en una mezcla de agua-hielo. El precipitado formado se recogió por filtración y se recrystalizó en una mezcla de metanol-agua. Los cristales obtenidos eran de color crema y con punto de fusión de 170 -172° (Koffler).

El análisis carbono-hidrógeno (Lab. I.T.E.S.M.) dió los valores:

C: 52.58% H: 7.27%

Calculado para $C_6H_{12}O_4$ (P.M. 160.17):

C: 52.49% H: 7.55%

OXIDACION DE EP-AB (n-s) CON ACIDO CROMICO

25 mg. de EP-AB (n-s) se mezclaron con 1 ml. de ácido acético glacial y 25 mg. de ácido crómico y 1 gota de agua destilada, se oxidaron a temperatura ambiente durante 5 horas, se agregó 1 ml. de etanol y la mezcla se diluyó con agua obteniéndose un precipitado blanco que se recogió por filtración, se lavó con agua destilada, se recrystalizó en etanol, fundiendo a 138°-141° (Koffler). Dió negativa la prueba de la 2, 4-dinitrofenilhidracina, positiva la de ácidos.

La clasificación por grado de ionización situó al compuesto en el grupo A.

SAPONIFICACION DE EP-AB (n-s)

Se saponificaron 5 gr. de EP-AB (n-s) poniéndose a reflujar con 10 ml. de una solución de KOH (hidróxido de potasio) al 10% durante 4 horas. Se enfrió, se evaporó, el residuo se extrajo con dos porciones de éter butílico, se lavó con agua saturada de cloruro de sodio se secó con 2 gr. de sulfato de sodio anhidro, se filtró, se destiló el éter en baño maría, quedando un residuo 2.06 gr. (41.2%) de color anaranjado, soluble en dioxano, con una alícuota se hizo una cromatografía en capa delgada usando como disolvente benceno-cloroformo (1:1) no obteniéndose ningún resultado. Dió positiva la prueba de Liebermann-Buchard (1) y se observaron los colores: 2 minutos violeta, después azul verde que duró aproximadamente 2 minutos y finalmente verde intenso.

ACETILACION DE EP AB (n-s).

A 1.5 gr. de EP-AB (n-s) se le agregó 3 ml. de anhídrido acético y 1.5 ml. de piridina. Se reflujó durante 3 horas. Se dejó enfriar, se lavó con agua destilada caliente, se decantó, luego se lavó con ácido clorhídrico al 5% y finalmente con agua destilada.

Un gramo del material acetilado se hizo pasar por una columna cromatográfica empacada con 75 gr. de alúmina. Como eluyentes se usaron: Cloroformo; cloroformo-acetato de etilo; acetato de etilo; acetato de etilo-etanol; etanol; en las proporciones 1, 2:3, 1:4.

Las fracciones obtenidas se intentaron cristalizar no pudiendo lograrlo. No se continuó investigando.

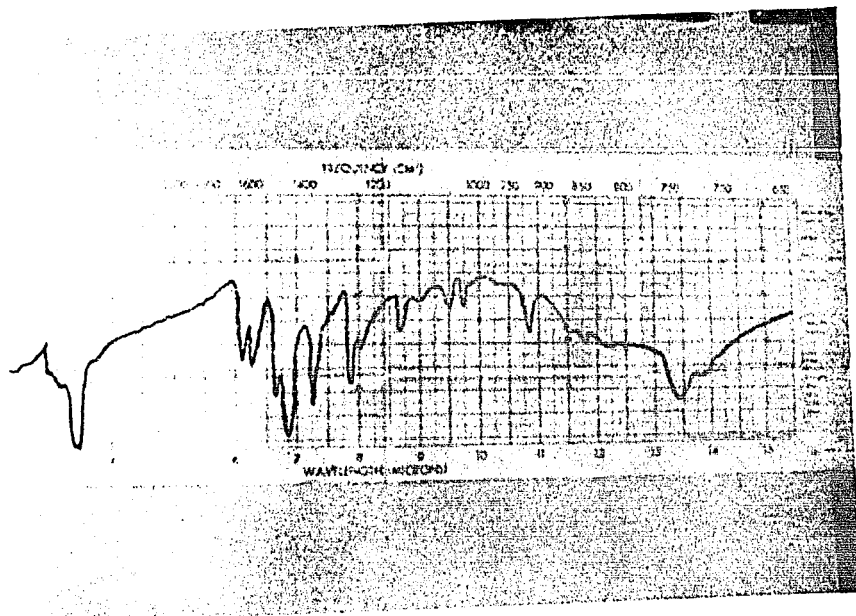
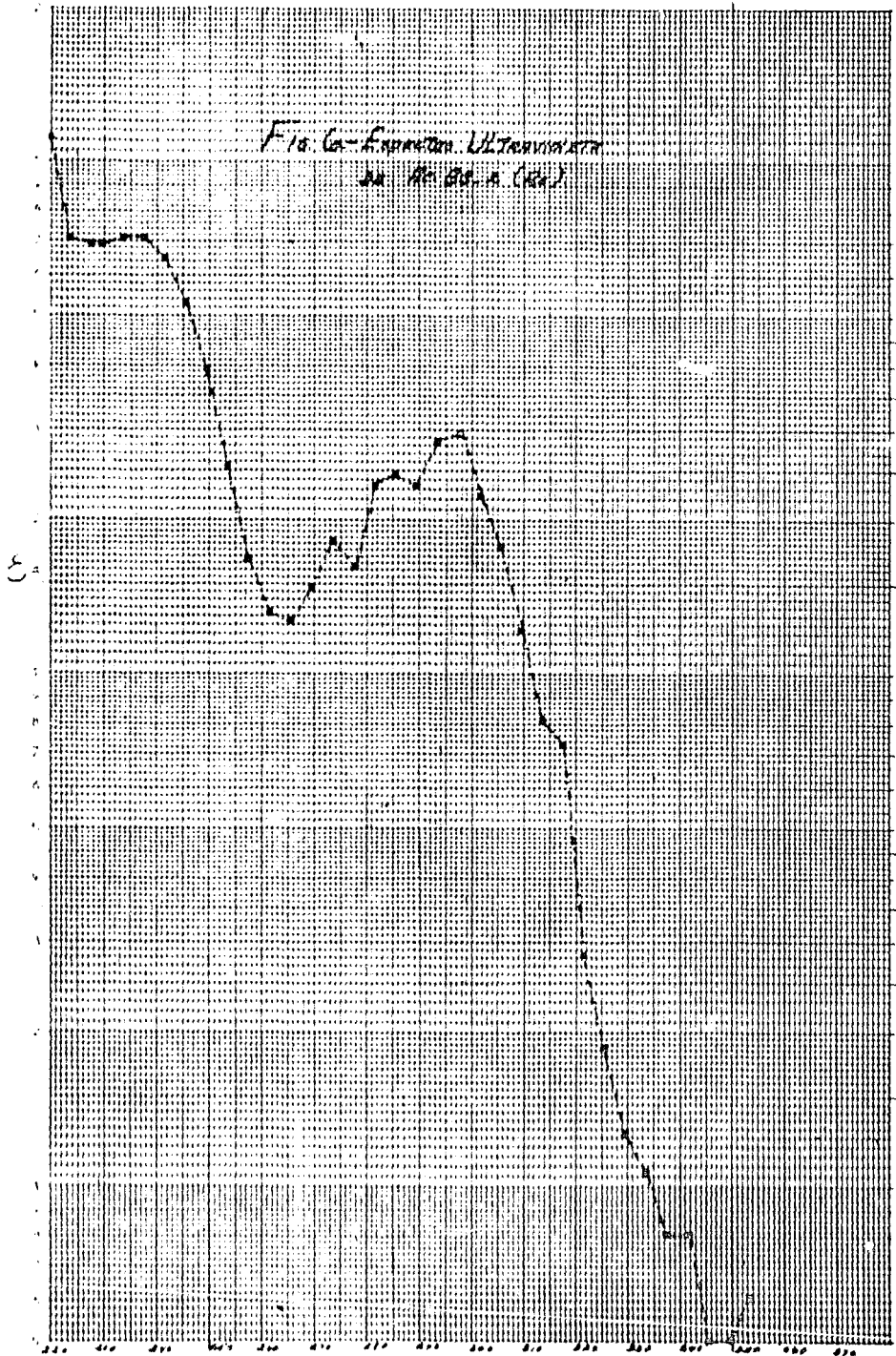


Fig. 5. Espectro Infrarrojo de AC-BC (Resub.)

Fig. 6a. Spectrum ULTRAVIOLET
of An. D. A. (100)



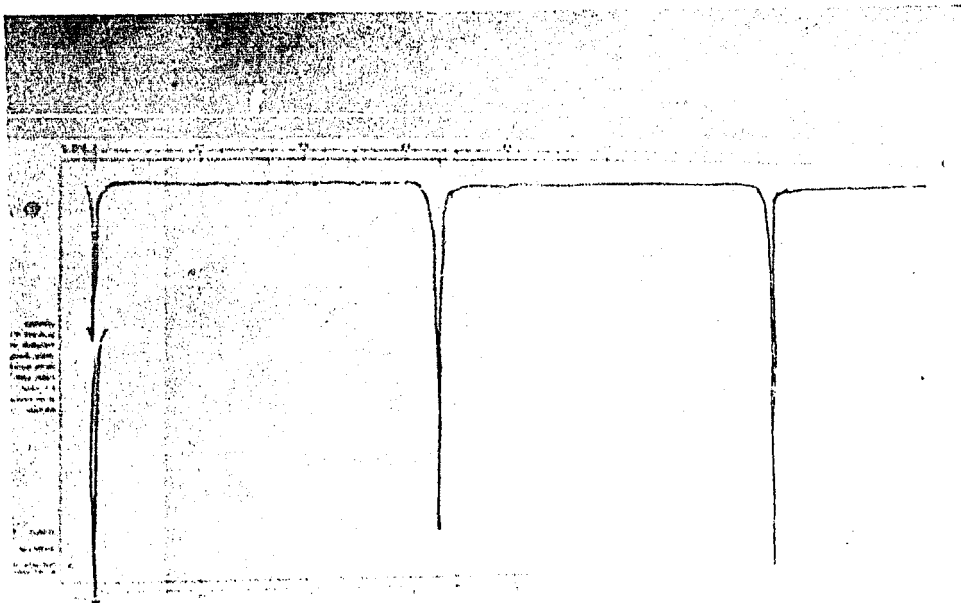
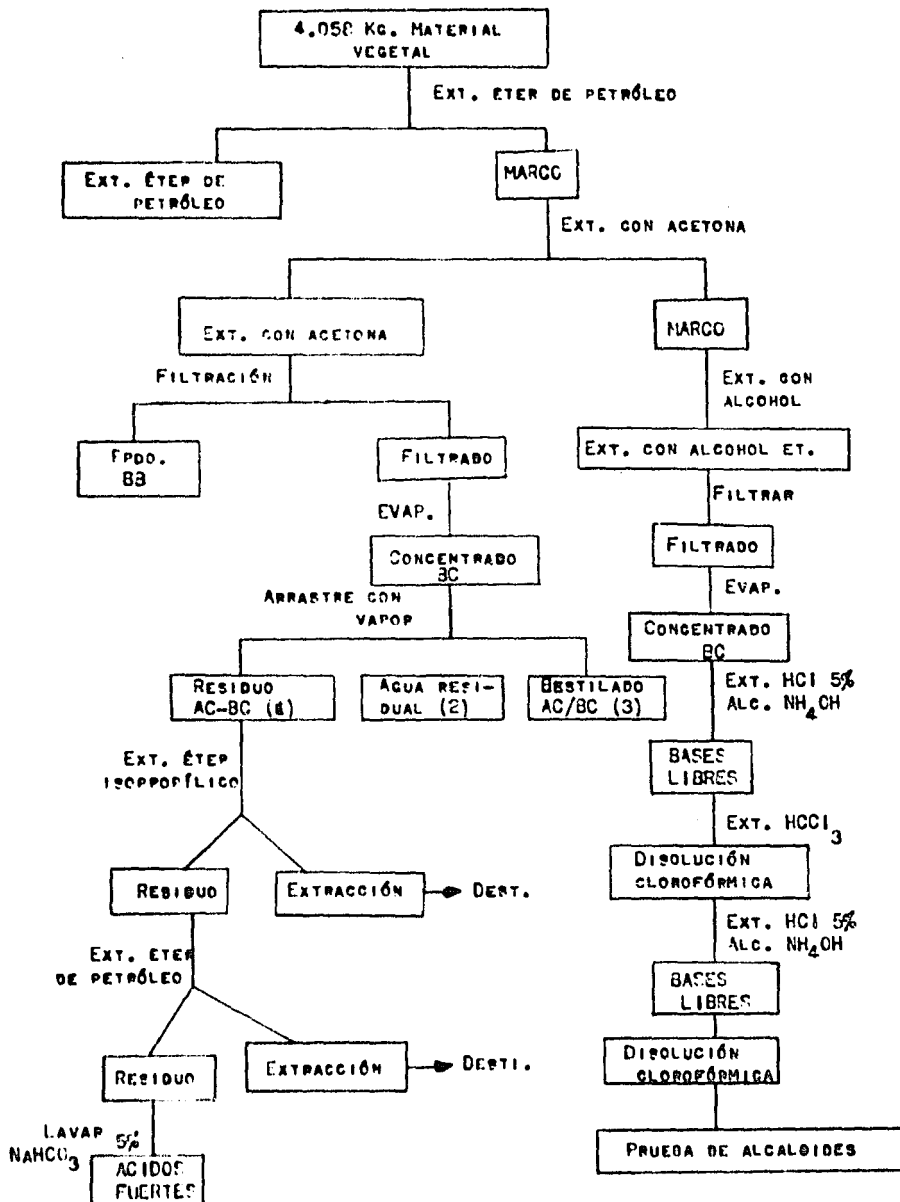


Fig. 7. espectro (N.M.R.) Resonancia Nuclear Magnética de AC-BC (Resub.).

TABLA IV



EXTRACTO ACETONICO

El extracto de acetona tenía una coloración café oscuro, se filtró obteniéndose un residuo 4.1 gr. (0.101%), de aspecto resinoso, soluble en cloroformo de color café oscuro, se le corrió una cromatografía en capa delgada en butanol-acético agua, (75:10:15), no observándose ninguna mancha al revelarse con yodo y ácido sulfúrico al 85%.

El filtrado se evaporó a presión reducida quedando un concentrado, 349.88 gr. (8.62%), de color café oscuro de aspecto resinoso, soluble en dioxano al que se le corrió una cromatografía en capa delgada en butanol-acético-agua, (75:10:15) mostró una mancha Rf. 0.725, al revelarse la cromatoplaca con ácido sulfúrico al 85%. Al concentrado se le asignó la clave AC-BC.

El concentrado AC-BC, se arrastró con vapor separando el residuo, el agua residual y el destilado, que se les asignó las claves: AC-BC (1), AC-BC (2), AC-BC (3), respectivamente, el destilado AC-BC (3), se desechó.

TRATAMIENTO DEL RESIDUO AC-BC (1).

El residuo AC-BC (1), tenía una coloración café oscuro 141 gr. (40.8%), se extrajo con tres porciones de 100 ml. de éter isopropílico, se separaron el residuo y el éter, al residuo se le asignó la clave AC-BC (1-a), el éter se destiló quedando un residuo de color café oscuro 18 gr. (12.7%) que se le asignó la clave AC-BC (1-b).

El residuo AC-BC (1-a), se extrajo con tres porciones de 75 ml. de éter de petróleo, se separó el residuo se le asignó la clave AC-BC (1-c), el éter se destiló quedando un residuo de color café verdoso 9 gr. (6.3%), que se le asignó como clave AC-BC (1-d).

Los residuos AC-BC (1b) y AC-BC (1d), 25 gr. (7.14%), se juntaron y se hicieron pasar por una columna cromatográfica empacada con 100 gr. de alumina neutra como eluyentes

se usaron: éter etílico-acetato de etilo; acetato de etilo; acetato de etilo-acetona; acetona; acetona-etanol; alcohol etílico, en las porciones de: 1:4, 2:3, 4:1.

Las fracciones obtenidas tenían aspecto resinoso al evaporarse, no logrando cristalizarlas.

RESIDUO AC-BC (1-c)

El residuo AC-BC (1-C), se lavó con bicarbonar de sodio al 5% para la separación de ácidos fuertes, se aciduló con ácido clorhídrico, se dejó enfriar, se lavó con agua salada, se dejó secar, quedando 74 gr. del material soluble en dioxano, un gramo de este material se pasó por una columna cromatográfica empacada con 75 gr. de alúmina neutra usando como eluyentes: éter etílico-acetato de etilo; acetato de etilo; acetato de etilo-acetona; acetona; acetona-etanol; etanol, en porciones de: 1:4, 2:3, 4:1.

Las fracciones obtenidas al evaporarse presentaron aspecto resinoso, se intentaron cristalizar, no obteniéndose resultado.

Los 73 gr. restantes se disolvieron en hidróxido de sodio al 5%, se filtró, se aciduló con ácido clorhídrico, se filtró quedando un precipitado amarillo, se secó bajo una lámpara infrarroja, tomando al secarse un color café oscuro 29.21 gr. (39.4%), dando negativa la prueba de fenoles.

TRATAMIENTO DE AC-BC (2).

El agua residual tenía una coloración café oscuro, por lo que se destiló, quedando un residuo 140.7 gr. (40.7%) de color café oscuro, soluble en dioxano. Se sublimaron 5 gr. de este residuo, obteniéndose unos cristales de color amarillo paja, 152 mg. (3.04%), dando negativa la prueba de la 2, 4-dinitrofenilhidracina.

Estos cristales se resublimaron dando unos cristales 0.0785 gr. (51.3%), de color amarillo paja, más intenso el color que el del sublimado, con pf. 102 ---105 (Koffler) dando negativa la prueba de la 2, 4-dinitrofenilhidracina.

Una muestra de AC-BC (2), se hidrogenó por el método de micro-hidrogenación de Brown² (19), consumiendo un equivalente mol de hidrógeno.

Se corrió una cromatografía en capa delgada en butanol-acético-agua (75:10:15), mostrando una mancha de color amarillo Rf. 0.630, al observarse a la luz ultravioleta mostró un color rojo con un contorno violeta y al revelarse con ácido sulfúrico tomó una coloración café, también se observó la mancha con vapores de yodo.

El espectro infrarrojo (Fig. 5) mostró bandas a 3400 cm^{-1} , a 3000 cm^{-1} (C-H alifático), 1630 cm^{-1} , 1595 cm^{-1} (de anillo aromático sustituido).

El espectro ultravioleta (Fig. 6) mostró bandas de absorción a 222 μ , y 294 μ .

El espectro de N.M.R. mostró dos singuletes a 400 c.p.s. (3.33T), el segundo a 296 c.p.s. (6.75T). La integración del área del espectro indicó 13 protones, la primera banda del N. M. R. corresponde a siete protones aromáticos distribuidos simétricamente y la segunda a seis protones de grupo metilo unido a nitrógeno.

El resublimado AC-BC (2) dió negativa la prueba del yodoformo, positiva la del cloruro férrico, formándose un precipitado en forma de agujas de color rojo. Este precipitado se filtró y se recogió 0.002 gr. (2.56%) de agujas, solubles en agua y ácido clorhídrico al 10%, insolubles en hidróxido de sodio al 10%, p.f. 210 —214 (Koff.).

El AC-BC (2), se disolvió en agua y con ácido clorhídrico al 10%, dió una coloración anaranjada, al agregársele alcohol amílico, el alcohol tomó un color amarillento.

Con hidróxido de potasio tomó una coloración amarilla, formándose un precipitado también de color amarillo, con el amoníaco, no dió coloración, con el ácido sulfúrico dió una coloración salmón, disuelto en agua caliente se formó una solución de color amarillo, que se intensificó en doce horas, al

cabo de 72 horas se separaron unas agujas rojas, largas, insolubles en agua, solubles en etanol, dando una disolución amarilla, con p.f. 285°—290° (Koffer), se pusieron amarillas y perdieron su forma sublimándose en cristales amarillos rectangulares que no fundieron ni a 350°, sólo sublimaron a 285°—290°. a las agujas rojas se les asignó la clave AC-BCS ox. cuyo espectro infrarrojo mostró bandas a 2855 cm⁻¹ (C-H) 1685 cm⁻¹, (C=O insaturado) 1655 cm⁻¹ (insaturación), 1615 cm⁻¹, 1050 cm⁻¹ (insaturación) y 998 cm⁻¹.

El espectro ultravioleta mostró máximas a 258 mμ. Por oxidación con aire de AC-BCS también se obtuvo AC-BCS-ox.

EXTRACTO ETANOLICO.

El extracto de etanol tenía una coloración café obscuro. Se evaporó a presión reducida y se le agregó agua (300 ml) a medida que se iba eliminando el alcohol etílico. La porción acuosa se alcalinizó con hidróxido de amonio, las bases libres se extrajeron con cloroformo. El cloroformo se destiló a presión reducida casi a sequedad, el resto se evaporó a temperatura ambiente. El residuo obtenido pesó aproximadamente 2 gramos, de color café obscuro intenso, dando negativa la prueba para alcaloides con el reactivo de Dragendorff (17). No se trabajó más.

IV y V

DISCUSION

y

CONCLUSIONES

El compuesto EP-AB-2 dió positiva la prueba de la 2, 4-dinitrofenilhidracina y negativa la de Tollen's para aldehidos, confirmando así la presencia de un carbonilo tipo cetónico.

La prueba del yodoformo que dió un precipitado amarillo confirmó la presencia de una metilcetona.

La prueba del cloruro férrico en etanol que dió una fuerte coloración azul-verdosa confirmó la presencia de oxhidrilos fenólicos.

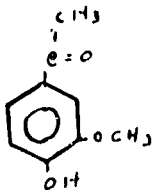
La 2, 4-dinitrofenilhidrazona, que se descompuso a 200° , era de color rojo, característico de cetonas aromáticas. El punto de fusión de la semicarbazona fué de 172° — 173° (reportado 174°).

El espectro infrarrojo (Fig. 2) de los cristales EP-AB-2, obtenidos por sublimación mostró máximas a 3500 cm^{-1} (OH), 3000 cm^{-1} (-C-H), 1670 cm^{-1} (C=O) conjugado, 1590 , 1505 , 1460 cm^{-1} correspondientes a fenilo sustituido, 2920 cm^{-1} (CH₃), 1125 cm^{-1} (-C-O-).

El espectro ultravioleta (Fig. 3) mostró máximas a ETOH max $229\text{ m}\mu$ (E 66800), ETOH max $276\text{ m}\mu$ (E 40900), ETOH max $304\text{ m}\mu$ (E 34180), lo cual confirmó la presencia de un anillo bencenoide sustituido y conjugado con carbonilo.

El N.M.R. (Fig. 4), que mostró dos multipletes a 2.55τ

y 3.22T, correspondientes a protones aromáticos múltiplete a 4.15T correspondiente a tres protones de metilo unido a un carbonilo. Por la banda 3500 cm^{-1} del espectro infrarrojo el cual también muestra las bandas 880 y 810 cm^{-1} , que sugieren una substitución en el esqueleto de acetofenona, eliminando además varios de los diez posibles isómeros estructurales, aunque es posible confirmar la estructura de EP-AB-2, por otros medios físicos y químicos, se buscó en la bibliografía información sobre los isómeros de fórmula $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$. Se encontró que los datos físicos coincidían con los de la Apocinina (acetovainillona) ó 4-oxi-3-metoxi-acetofenona (Fig. 8) quedando demostrada la identidad de EP-A¹ como la acetovainillona, aislándose 1.698 gr. (0.3%) con un punto de fusión de 111 —113 °C, cuya fórmula estructural es:



Acetovainillona



Fig. 8.—Acetovainillona.

EXTRACTO ACETONICO.

Del extracto acetónico se obtuvieron unos cristales amarillos cuyo espectro infrarrojo (Fig. =5) mostró bandas a 3400 cm^{-1} , a 3000 cm^{-1} (C-H aromático), 2950 cm^{-1} (C-H alifático), 1690 cm^{-1} , 1595 cm^{-1} (de anillo sustituido).

El espectro ultravioleta (Fig. =6) mostró bandas de absorción a ETOH max 222 μ ($E = 12400$), ETOH max 294 μ ($E = 2949$).

El espectro de (N.M.R.) resonancia nuclear magnética (Fig. =7), mostró dos singuletes a 400 c.p.s. (3.33) y a 296 c.p.s. (6.75) la integración de las áreas del espectro N.M.R. indicó trece protones. El análisis elemental de AC-BCS, permitió asignarle la fórmula $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_3$ Aislándose 4.277 gr. (1.2%) de p. f. 102 —105 .

El compuesto AC-BCS reaccionó con la solución de cloruro férrico dando unas agujas negro-rojizas AC-BCS-ox, cuyo espectro infrarrojo mostró bandas a 2855 cm^{-1} (C-H), 1685 cm^{-1} (C=O) insaturado, 1655 cm^{-1} (insaturación), 1615 cm^{-1} , 1050 cm^{-1} , (insaturación) y 998 cm^{-1} .

El espectro ultravioleta mostró bandas a ETOH 258 ($E = \text{max}$ 2440). Por oxidación con el aire AC-BCS también se obtuvo AC-BCS-ox. La búsqueda bibliográfica no mostró ningún compuesto con propiedades similares y los datos anteriores sugieren para el compuesto AC-BCS una estructura heterocíclica del tipo de la quinolina con un grupo $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$. La determinación de la estructura total será objeto de otra tesis.

EXTRACTO ETANOLICO.

Del extracto etanólico se hicieron las pruebas para alcaloides, dando negativas dichas pruebas.

V I .

B I B L I O G R A F I A

- 1.—Dominguez X. A. "Análisis Fitoquímico" Ciencia (Méx.) **21**, 125 (1962).
- 2.—Gates W. "The de la Cruz-Badiano Aztec Herbal of 1552".—The Mayo Society Baltimore (1939).
- 3.—Martínez M. "Las plantas medicinales de México" 4a. ed., Ediciones Botas, México (1950).
- 4.—Martínez M. "Plantas útiles de México", 2a. ed., Ediciones Botas, México (1959).
- 5.—Wehner C., "Die Dflanzenstoffé Verlag Gustav Fischer Jena (1935).
- 6.—Bravo H., "Cactáceas de México" U.N.A.M. (1937).
- 7.—Gigi E. y Schurhoff P.N., "Curso de Botánica General y aplicada" 3a. ed., revisada. Ediciones Labor, S. A. Barcelona Madrid (1942).
- 8.—Font Quer P., "Plantas Medicinales" El Dióscorides Renovado. Ed. Labor, S. A. México (1962).
- 9.—Djerassi C., "Cactus triterpenes" Festschrift Artur Stoll. Birkhause, Basilea, pág. 330 (1957).
- 10.—Hinojosa G., "Contribución al estudio químico de la Mammillaria ruyonii" Tesis Universidad Labastida, Monterrey, N. L., México (1964) (No publicado).
- 11.—Naves Y. R., Etudes sur les matieres vegetales volatiles XC. Presence d' apocynine (Aceto.vainillone) dan l'huile essentielle d' iris, Helv. Chim. acta **32**. 1315, (1949).

- 12.—Leyter L. N., "Contribución al estudio de la cromatografía de alcaloides sobre papel y en capa delgada". Tesis I.T.E.S.M., Monterrey, N. L., México, 2a. parte (1963).
- 13.—Leder E. y R. Leder., "Chromatography", Elsevier, N. Y. (1954).
- 14.—Curtman L. J., "Análisis Químico Cualitativo", Ed. Manuel Marín y Cía., Provenza, 273, Barcelona.
- 15.—Dominguez X. A., "Rev. de la Soc. Quím. de México "Lacromatografía en capa delgada" Vol. VII (4) (1963).
- 16.—Anónimo., "Official and Tentative" Methods of the O.A.A.C. 6a. ed., A.O.A.C., Washington, (1955)
- 17.—Cheronis N. D. y Entrinkin J. N., "Semimicro qualitative organic analysis", 2a. ed., Interscience N. Y.
- 18.—Dominguez X. A., "Química Orgánica Experimental". I.T.E.S.M., Monterrey, N. L., (Méx.) (1960).
- 19.—H. C. Brown y C. A. Brown; "A Rapid, Precise Procedure for the Quantitative Determination of Unsaturation in Organic Compounds via Hydrogenation"; J. Am. Chem. Soc. **28**, 214 (1963).