

# UNIVERSIDAD LABASTIDA

INCORPORADA A LA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

INVESTIGACION QUIMICA DE  
MAMILLARIA RUNYONII

**T E S I S**

RECEPCIONAL PARA OPTAR EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTADO POR

MARIA GENOVEVA ~~HINOJOSA BENAVIDES~~

1965

MONTERREY, N. L.

13586



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

# UNIVERSIDAD LABASTIDA

INCORPORADA A LA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

INVESTIGACION QUIMICA DE  
MAMMILLARIA RUNYONII

**T E S I S**

RECEPCIONAL PARA OPTAR EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTADO POR

MARIA GENOVEVA HINOJOSA BENAVIDES

MONTERREY, N. L.

*Con amor y gratitud a mi querida Madre.*

*Con cariño a mi Hermana.*

12560

*Con gratitud a mis Maestros.*

*A la Universidad Labastida.*

*A mi director de Tesis.*

*Mi agradecimiento por la colaboración y guía  
que sirvieron prestarme:*

*Dr. Xorge A. Domínguez*

*Srita. Ing. Olga Fresnillo*

*Q.B. Paulino Rojas*

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

## I N D I C E

	Página
I.- INTRODUCCION .....	7
II.- MATERIALES Y METODOS .....	11
a) Descripción de la planta.....	11
b) Identificación de principios activos.....	17
III.- PARTE EXPERIMENTAL .....	21
a) Extracto con Eter de Petróleo.....	22
b) Extracto con Acetona.....	24
c) Extracto con Etanol.....	27
IV.- DISCUSION Y CONCLUSIONES .....	30
V.- BIBLIOGRAFIA .....	32

## INTRODUCCION

Es de suponerse que entre los primeros descubrimientos del hombre figuraron las propiedades nutritivas, tóxicas e inertes de muchas de las plantas que lo rodeaban. Todas las culturas primitivas han acumulado extensos conocimientos sobre la flora de su lugar de origen. Algunos descubrimientos obligan a meditar sobre la orientación de la búsqueda de plantas medicinales y la coincidencia en descubrir plantas diferentes, en lugares muy alejados entre sí; con propiedades fisiológicas similares y componentes químicos parecidos, como las semillas de cacao entre los nahoas, la yerba mate de los guaraníes, como la nuez de cola de los habitantes de la Costa de Oro, el grano del café de los abisinios, las hojas de té de los hindúes y el guaraná de los indios del Amazonas. En todas estas plantas se ha encontrado que los principios activos son derivados de la dioxipurina (1). Se sabe que las plantas purgantes usadas en la medicina popular, como la corteza de arraclán, la cáscara sagrada, las hojas de sen y el rizoma del ruibarbo deben sus propiedades a la presencia de glicósidos antraquinónicos (2).

A medida que la ciencia fué progresando, el interés por las plantas aumentó, los griegos y después los romanos escribieron mucho sobre ellas, particularmente sobre las medicinales (3). Cuando la alquimia se convirtió en química, se buscaron los principios o sustancias poseedoras de actividad fisiológicas características de las plantas medicinales, así Lavoisier (4) menciona ocho sustancias aisladas de vegetales. Scheele aumentó este número y desarrolló métodos sistemáticos para el aislamiento de principios activos (5).

En el primer cuarto del siglo XIX se desarrollaron técnicas para aislar alcaloides como la morfina (Serteurner), la quinina y estriquina (Pelletier y Caventou); para aislar alcoholes acélicos, como el colesterol (Chevreul), glicósidos, etc.

Los métodos para buscar sustancias en los vegetales han au-

mentado continuamente y los procedimientos para determinar su estructura han mejorado continuamente. Así, mientras que la determinación de la estructura de la quinina tomó 115 años, y la del colesterol 110, la determinación de la estructura de la tetraciclina se hizo en tres años y la estructura y síntesis de la reserpina se lograron en cinco años. El interés en los compuestos de las plantas ha sufrido fluctuaciones, desde 1949 se ha convertido en una de las áreas más importantes de la Química Orgánica (6).

Los resultados de estas investigaciones han permitido encontrar nuevas fuentes de sustancias de uso industrial, nuevos compuestos medicinales, pigmentos y hormonas vegetales, eslabones en procesos biogénicos o sustancias de interés en quimiotaxonomía (7).

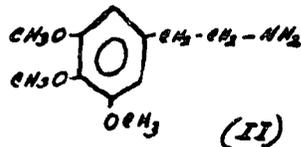
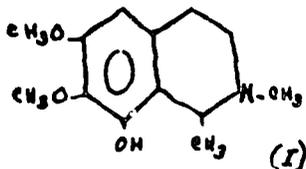
### *GENERALIDADES SOBRE LAS CACTACEAS.*

Aunque la flora mexicana es rica en especies de reportado valor medicinal, ordinariamente se les encuentra en las zonas templadas y tropicales del país; en las zonas semidesérticas lo relativamente abundante son las llamadas plantas suculentas, a las que pertenece la familia de las cactáceas. Del millar y medio de especies que se reconocen en esta familia, más de la mitad son nativas de México, particularmente de las regiones nortenas. (8) (9).

Las cactáceas son plantas carnosas, muy resistentes a la sequía, poseen raíz considerada entre las de tipo xerofítico, porque ha tenido que adaptarse a las particularidades físicas del suelo, tales como falta de humedad, intensa insolación, etc. El tallo de las cactáceas es un órgano muy interesante, asume las funciones de las hojas, además constituye un receptáculo de agua. Por lo regular, no tienen hojas, poseen espinas que se consideran como hojas modificadas. En la mayoría de las cactáceas las flores son grandes, hermosas, exhiben todos los matices del rosa, carmesí, púrpura (3). Las coloraciones se deben a la presencia de xantocianinas y betacianinas (10). Carecen de olor, pero algunas, sobre todo las nocturnas, tienen fragancia delicada y penetrante. (3).

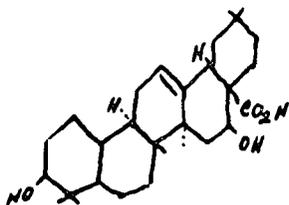
Las sustancias que se encuentran incluidas en las células de los tejidos de estas plantas son: "el almidón, los mucílagos, las gomas, los ácidos orgánicos, los alcaloides". (3) (8).

Son frecuentes, en los tejidos de las cactáceas los alcaloides, los que mejor se han estudiado hasta la fecha son los del "peyote" *Lophophora williamsii*, tales como la "peyotina" (I) y la "mezcalina" (II), los cuales son tóxicos a altas dosis. (8) (3) (11).

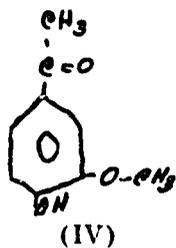


Se han hecho mediciones de la actividad antibiótica de los metil-esteroides (13) (12) como el ácido fusídico y el ácido helvólico y la cefalosporina IT, se ha establecido que la actividad antibiótica de esteroides y de ácidos triterpenoides depende principalmente de un esqueleto rígido policíclico y de la presencia de un grupo carboxilo en una función oxígeno.

Mc. Cleary y Malkington (14) ensayaron los extractos de 95 cactus y encontraron que la mayoría de ellos mostraban actividad antibiótica contra cuatro microorganismos Gram positivos y Gram negativos. Otros investigadores han encontrado 10 ácidos triterpenoides nuevos (15) en un estudio de 40 cactus. Un ejemplo de ellos es el Acido Oleanólico de "*Lemaireocereus longispinus*" (III). (15).



También se ha logrado aislar de ciertas cactáceas como "*Echinocereus engelmannii*", compuestos como la apocinina o acetovainillona (IV) (4-oxi-3 metoxiacetofenona), ésta se aisló primero en el fruto del cáñamo indio (*Apocynum androsoemifolium* L.); y en forma de flucósido en los frutos de una amarilidácea del Africa del Sur, la *Buphane disticha*, y en los rizomas del lirio. (16) (17).



Datos reportados (26) de la acetovainillona: Peso molecular 166.17. Punto de fusión 115°C. Soluble en alcohol, benceno, cloroformo. Insoluble en éter de petróleo.

**MATERIALES Y METODOS****DESCRIPCION DE LA PLANTA.**

La *Mammillaria runyonii*, (6) es una planta sub-globosa, aplanada, de tubérculos angulados con las puntas divergentes, y axilas lanosas cuando jóvenes. Tienen aréolas al principio lanosas, de 6 a 8 espinas radiales, las de afuera más gruesas y a menudo de color café, las demás casi blancas; posee una espina central, erecta, de 10 a 14 mm. de longitud, de color café a negro; flores de color púrpura de 2 cm. de longitud; el fruto es rojo, de 12 a 16 mm. de longitud y sus semillas son de color café.

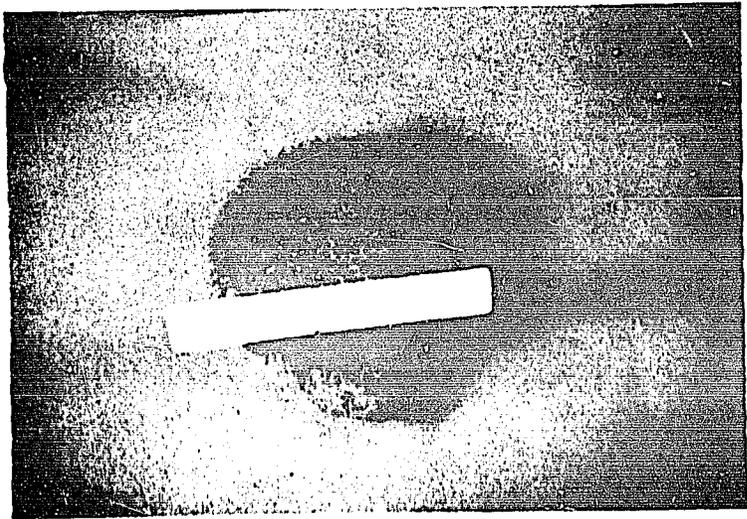


Figura 1  
*Mammillaria runyonii*

## *RECOLECCION Y PREPARACION DE LA PLANTA.*

La recolección se hizo sobre la carretera Monterrey - Monclova, a 5 kilómetros al oeste del pueblo de Mina, Nuevo León, durante los meses de Julio y Agosto de 1963.

Para prepararla se cortó en trozos pequeños, los cuales se pusieron a secar a temperatura ambiente, moliéndose luego en un molino tipo Wiley, obteniéndose un polvo de color café claro, de olor picante.

## *METODOS DE EXTRACCION.*

Para casi todas las extracciones se usaron aparatos tipo Soxhlet, excepto una de ellas que se hizo por percolación. En la extracción continua con los aparatos tipo Soxhlet, se usaron disolventes de polaridad creciente, los cuales fueron: eter de petróleo (p. eb. 30-60°C), acetona, etanol y agua destilada.

La percolación se hizo con una mezcla de etanol-ácido acético-agua.

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

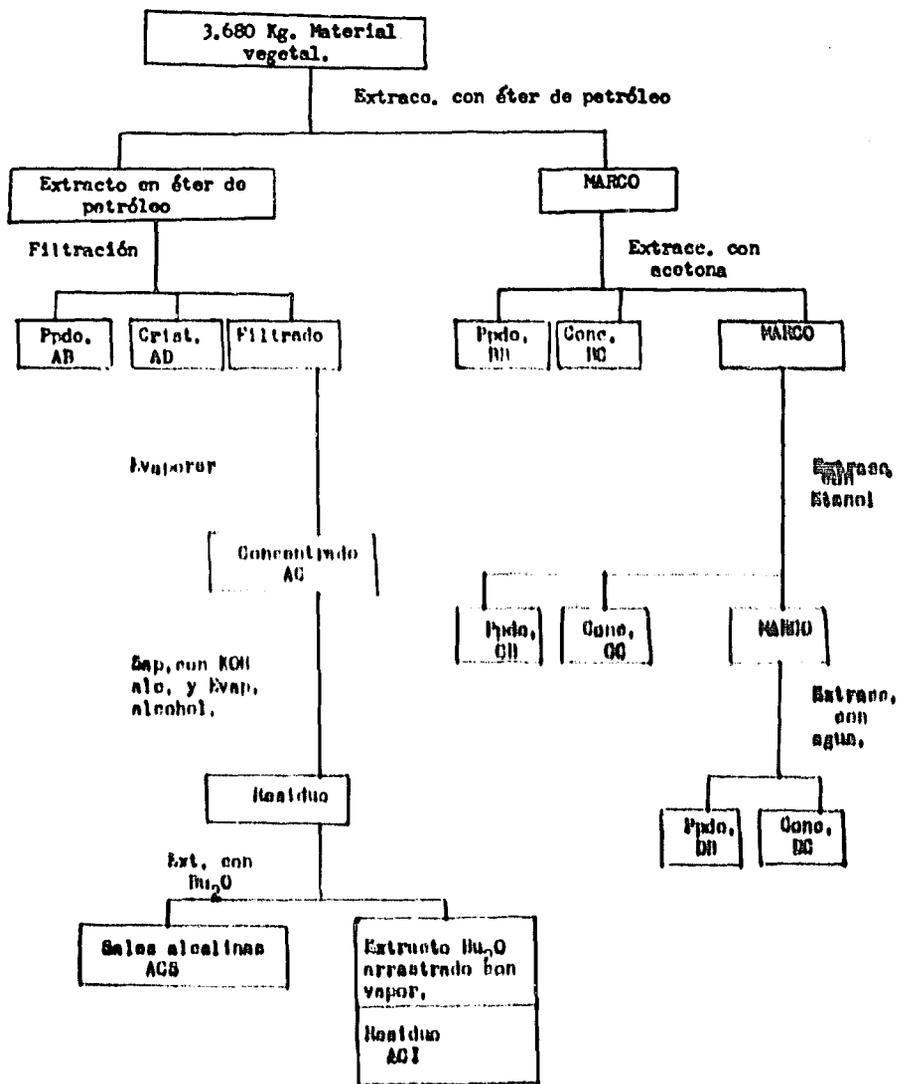
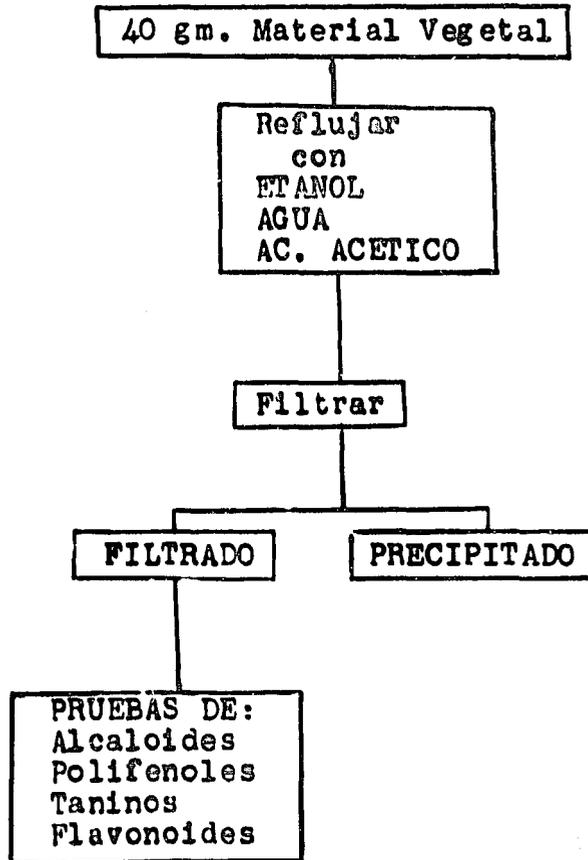


TABLA II  
METODO DE PERCOLACION



## METODOS CROMATOGRAFICOS

### CROMATOGRAFIA EN CAPA DELGADA CUANTITATIVA Y PREPARATIVA (18)

#### *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 de vidrio movable. 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 gel de sílice G Merck con 60 ml. de agua destilada y agitando la mezcla durante varios segundos.

#### *Disolventes empleados:*

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

#### *Reveladores empleados:*

- a) General: Ac. sulfúrico al 85%.
- b) Para esteroides: tricloruro de antimonio en cloroformo al 10%; vapores de yodo.
- c) Para alcaloides: Reactivo de Dragendorff.

#### *Procedimiento:*

Preparación de las cromatoplacas: 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°C, por una hora. Luego se pa-

saron a un desecador con cloruro de calcio donde se dejaron hasta el momento de ser utilizadas.

*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:* Las cromatoplacas así preparadas se colocaron en posición casi vertical dentro de un frasco de vidrio de boca ancha que contenía al disolvente adecuado; el frasco tenía cubriendo sus paredes interiores una hoja de papel filtro que permitía mantener saturado con los vapores del disolvente el interior del frasco. Se cubrió la parte superior del frasco con una tapa de vidrio para evitar la pérdida del disolvente por evaporación.

Cuando el disolvente hubo subido aproximadamente las tres cuartas partes de la altura de la cromatoplaca, se sacó esta y 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 estos en un ambiente saturado por vapores del líquido, de acuerdo con el 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 ó de ácido silícico, según se requirió, que 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 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 estudiar, previamente disuelta en éter o en otro disolvente cuando fué necesario.

Se realiza la elución haciendo pasar los disolventes a través de la columna, en porciones de 100 ml.

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

Se recogieron las fracciones, las que se evaporaron y pesaron; se observaron y 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; determinación de puntos de fusión, espectro ultravioleta e infrarrojo, grado de ionización, espectro de resonancia nuclear magnética, preparación de derivados y cromatografía en capa delgada. (19) (20) (21) (22) (23) (24) (25).

#### *ACIDOS (22)*

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

#### *ALCALOIDES: (22)*

- a) *Reactivo de Dragendorff*:—Solución de bismutiyoduro de potasio que forma precipitados café rojizos. Se disolvieron 8 gr. de subnitrito 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. Cuando hay alcaloides aparece un precipitado.
- b) *Reactivo de Mayer*.—Solución de mercuriyoduro de potasio. Se disolvieron 13.55 gr. de cloruro mercuríco y 50 gr. de yoduro de potasio en agua, aforando a un litro. La mayor parte de los al-

caloides dan un precipitado blanco aún cuando estén muy diluidos.

- c) *Reactivo de Acido 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 ácido clorhídrico al 1%.

#### ALDEHIDOS: (22)

*Reactivo de Tollens.*—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° C por cinco minutos.

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

#### CARBOHIDRATOS: (22)

*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: (22)

- a) En una placa excavada se colocaron 10 mg. de la muestra disuelta en etanol y se le agregó 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% (hasta alcalinizar) más unas gotas de lugol; una coloración amarilla indica que la prueba es positiva.

### **ESTEROLES: (25)**

*Reactivo de Liebermann-Burchard.*—Se añadió una gota de ácido sulfúrico concentrado a 1 ml. de anhídrido acético helado y 1 ml. de cloroformo y se observaron las coloraciones después de intervalos de tiempo (2, 5, 10 y 20 minutos).

### **FENOLES: (22)**

a) *Reactivo de cloruro férrico.*—(Disoluciones no acuosas). Se disolvieron 30 mg. del compuesto en 1 o 2 ml. de cloroformo. Se agregaron 2 gotas de la siguiente disolución: Se disolvió 1 gr. de cloruro férrico anhidro en 100 ml. de cloroformo, se agregó 8 ml. de piridina y se filtró la mezcla. Se anota el cambio. Unas gotas del reactivo darán coloraciones azules, verdes o negras por la presencia de fenoles.

### **FLAVONOIDES REDUCIBLES: (25)**

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.

### **TANINOS: (25)**

*Reactivo de Cloruro férrico.*—1 gr. de cloruro férrico en 100 ml. de agua destilada. Unas gotas de este reactivo dan coloraciones azules o verdes con extractos conteniendo taninos.

### **INSATURACIONES: (22)**

Se empleó el método de hidrogenación de Beown<sup>2</sup>.

### **INSATURACIONES NO TERMINALES. (24)**

A una pequeña cantidad de muestra se agregaron unas gotas de tetranitrometano en cloroformo; una coloración amarilla indica que la prueba es positiva.

## APARATOS EMPLEADOS EN DETERMINADAS TECNICAS DE ANALISIS

*Espectros de absorción en el infrarrojo:* Se usaron un IR-5, Beckman y un Perkin-Elmer 21.

*Espectros de absorción en el ultravioleta:* Se determinaron en un aparato Beckman DU con alta sensibilidad dentro de los límites de 220 - 250 milimicras; la temperatura fué de 25°C y el disolvente etanol. Se tomaron valores tanto de absorbancia como de transmitancia a longitud de onda variable y se trazaron las curvas correspondientes.

*Puntos de fusión:* Los puntos de fusión se determinaron usando una platina de calentamiento Kofler de 0-360°C.

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

*Determinación de Carbono - Hidrógeno:* Estas determinaciones fueron hechas en un aparato Carbon-Hydrogen Analyser Coleman, modelo No. 33 (registrados como Lab. I.T.E.S.M.) corroborados algunos de ellos en los laboratorios de Alfredo Bernhard en Alemania. (registrados como A.B.)

*Determinación de espectros de Resonancia Nuclear Magnética:* Esta determinación fué hecha en un Varian A-60 por el Dr. José Luis Mateos, a quién 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.

**PARTE EXPERIMENTAL**

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

Se trabajó con el extracto de éter de petróleo, con el de acetona y con el etanólico.

A).- *Análisis preliminar.* (25)

En una bolsa hecha de lino se pusieron 40 gr. de la muestra *Mammillaria rinzonii*, la cual se amarró con un alambre delgado, poniéndose luego dentro de un vaso de precipitados de paredes altas en que iba la mezcla de: etanol-ác. acético-agua (200:50:6 V/V).

Para favorecer el reflujo, se cubrió el vaso de precipitados con un matraz de fondo plano redondo, el cual actuó como refrigerante.

Se reflujo durante 45 minutos al cabo de los cuales se filtró. El filtrado de color café amarillento al enfriar se enturbió, separándose un escaso precipitado. El filtrado dió positiva la prueba de Dragendorff para alcaloides y la de cloruro férrico para fenoles y negativa la de ácido clorhídrico y magnesio para flavonoides reducibles.

Con parte del material molido y seco se hicieron las determinaciones generales que se resumen en la tabla No. III.

1. NITROGENO. Se empleó el método de Kjeldahl (21)
2. EXTRACTO ETereo. Aparato de Goldfish (21)
3. FIBRA CRUDA. (23)
4. CENIZAS. (21).

rial sublimable, con un punto de fusión de 104-125°C. (Kofler), asignándose la clave *EP-AB-S*.

El filtrado anterior se llevó a sequedad en el evaporador. El residuo *EP-AC* de 148 gr. (3.64%), material resinoso de color verdusco, se extrajo por decantación con una solución de bicarbonato de sodio al 5%. Esta solución alcalina no dió precipitado al acidularse. El residuo se saponificó con 120 ml. de hidróxido de potasio en solución alcohólica al 10%, reflujiéndose durante 4 horas, al cabo de las cuales se evaporó el alcohol etílico, separando el residuo y se extrajo con 3 porciones de 75 ml. de éter n-butílico. Los extractos se juntaron. A las sales residuales se les dió la clave *EP-ACS*.

La solución de éter n-butílico se arrastró con vapor de agua. Al precipitado residual, de 16 gr. (4.6%), se le dió la clave *EP-ACI*, presentó aspecto resinoso, de color café. En cromatografía en capa delgada (disolvente: butanol-ác. acético-agua) (75:15:10 V/V) no se observaron manchas, ni con la luz ultravioleta ni con vapores de yodo, ni tampoco con el ácido sulfúrico al 85%.

#### *TRATAMIENTO DEL EP-AB-S:*

El residuo *EP-AB-S*, se purificó por sublimación dando un sólido blanco con p. fusión 111-113°C. (Klofler), soluble en etanol. En cromatografía en capa delgada (butanol-ác. acético-agua 75:15:10V/V), con luz ultravioleta dió una mancha Rf 0.71. Fueron positivas las pruebas de Tetranitrometano, la de cloruro férrico en etanol (coloración azul verdosa), y la de yodoforno y la de la 2.4-dinitrofenilhidracina, que dió un precipitado rojo.

El espectro infrarrojo (Fig. 2), mostró máximas a 3500  $\text{cm}^{-1}$  (OH), 3000  $\text{cm}^{-1}$  (-OH.), 1670  $\text{cm}^{-1}$  (C=O conjugada), 1590 1505, 1460  $\text{cm}^{-1}$  (correspondientes a fenil sustituido), 2920  $\text{cm}^{-1}$  (CH<sub>3</sub>) y 1125  $\text{cm}^{-1}$  (-C-O-).

El espectro ultravioleta, disolvente etanol, mostró máximas de absorción a 229 m $\mu$ , 376 m $\mu$  y 304 m $\mu$ .

El espectro de R.N.M. (Fig. 3) mostró dos multipletes a 2.55 $\tau$  y 3.22 $\tau$  correspondientes a protones aromáticos, multiplete a 4.15 $\tau$  correspondiente a un protón fenólico y un singulete a 6.05 $\tau$ , correspondiente a tres protones de metilo unido a un carbonilo (Fig. 4).

El análisis carbón hidrógeno de *EP/AB-S* 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 $C_9H_{10}O_3$ (P.M. 166.17).		
C: 65.05 %	H: 6.07%	O: 28.89%

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

Se determinó un punto de fusión mixto con la acetovainillona, fundiendo la mezcla a la misma temperatura que las sustancias puras.

*ACETILACION DEL EP-ACI.*—5 gr. de éste se refluaron con 10 ml. de anhídrido acético y 5 ml. de piridina. El reflujo duró 3 horas, se dejó reposar 16 y se decantó sobre agua caliente formándose un precipitado de aspecto gelatinoso, de color café. Se decantó el agua y se eliminó el exceso de reactivo lavando el residuo con agua. Después se disolvió en éter n-butílico.

No se observaron manchas cuando un cromatograma en capa delgada, desarrollado con butanol-ác. acético-agua (75:15:10V/V) se reveló con vapores de yodo, ni tampoco con el ácido sulfúrico al 85%.

La solución etérea de *ACI* acetilada, se pasó por una columna usando como disolventes benceno, cloroformo y acetato de etilo en proporciones variables. El material eluido no se pudo cristalizar y no se investigó más.

Una suspensión de *EP-ACS* se aciduló con ácido clorhídrico; la resina formada se extrajo con éter etílico y la solución etérea se secó. Se destiló al vacío y al destilado se le hizo la prueba para ácidos grasos con el bicarbonato de sodio, resultando negativa.

#### *EXTRACTO EN ACETONA.*

El extracto acetónico, de color café oscuro, se evaporó a presión reducida dejando 53.44 gr. (1.87%) de un residuo resinoso *BC* soluble en cloroformo. Por cromatografía en capa delgada usando

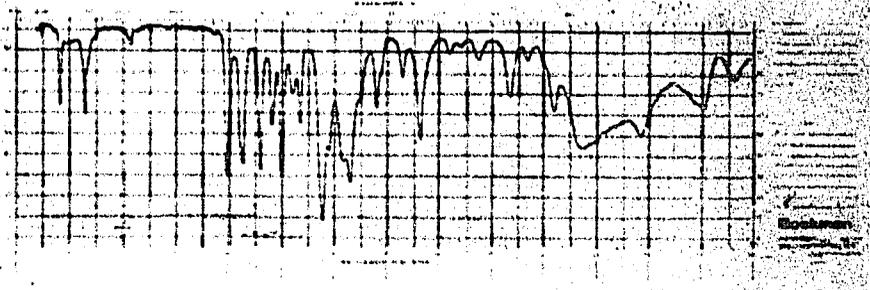


Fig. 2 - Espectro Infrarrojo del EP-AB-S.

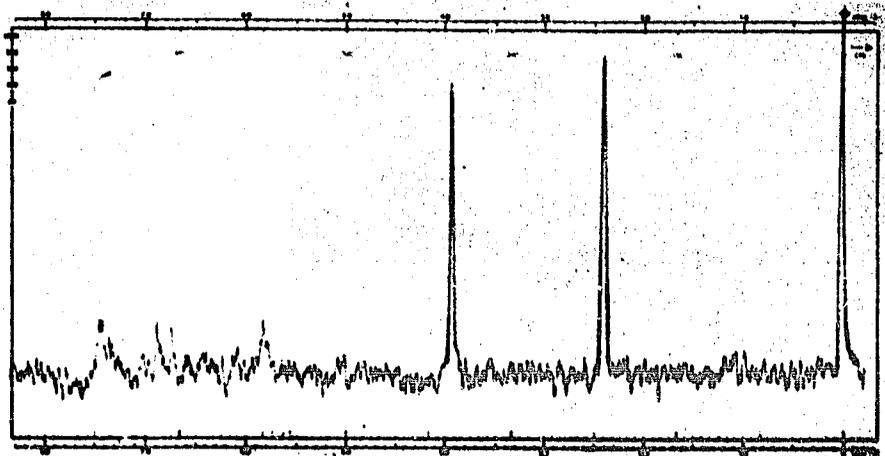
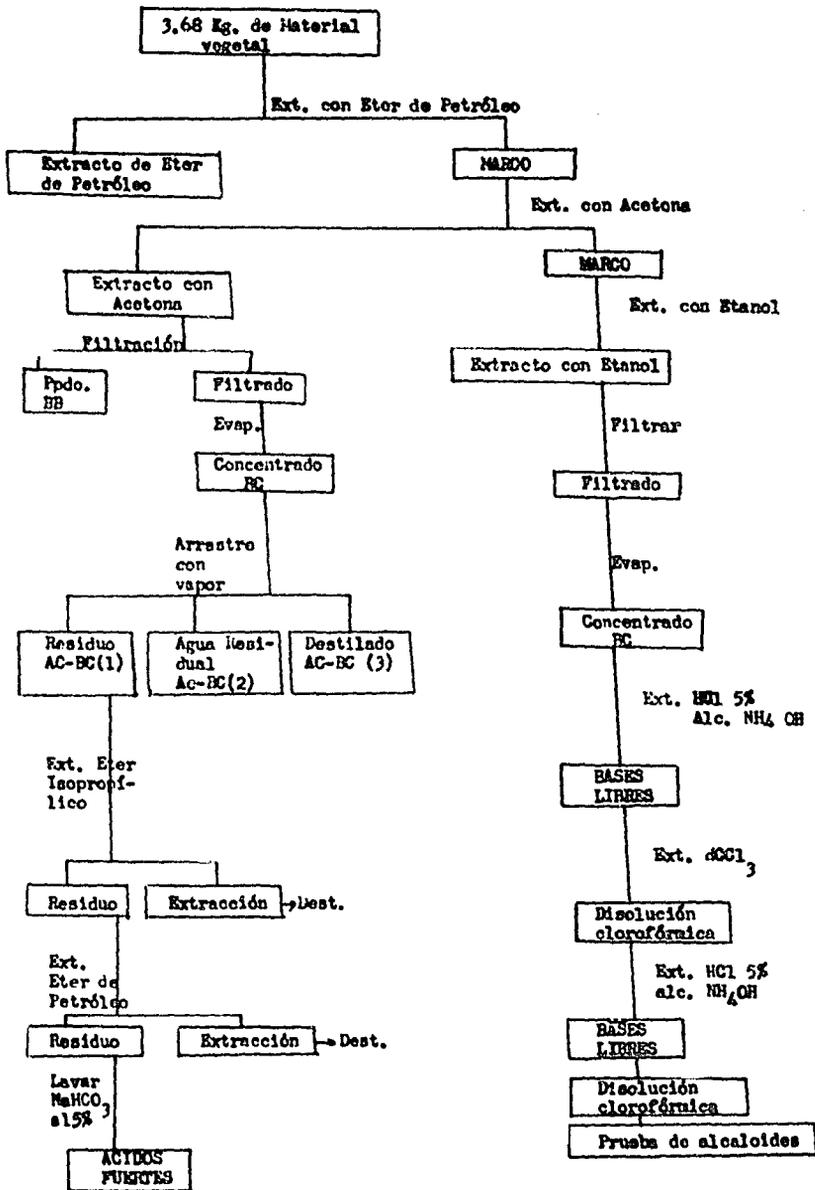


Figura 3

Espectro de Resonancia Nuclear Magnética (N.M.R.) de EP-AB-S.

TABLE IV.- MARCHA GENERAL DE EXTRACCION



como disolvente butanol-ác. acético-agua (75:15:10V/V) y como revelador vapores de yodo dió una mancha anaranjada, Rf 0.6 con luz ultravioleta una mancha azul celeste Rf 0.6 y con el ácido sulfúrico color café, Rf 0.6.

El residuo *BC* se arrastró con vapor de agua, quedando el residuo *BC* (1); el agua residual *BC* (2); y el destilado *BC* (3).

El residuo *BC* (1) de color café oscuro fué soluble en etanol caliente, pesó 31 gr. se extrajo con tres porciones de 120 ml. de éter isopropílico, las que no se trabajaron. El residuo *BC* (1) se volvió a extraer con tres porciones de éter de petróleo (30-60°C p.eb.) este extracto tampoco se trabajó. El residuo se lavó con 100 ml. de bicarbonato de sodio al 5%, al acidular este extracto no se observó precipitado, por lo que se descartó. Al residuo se le hicieron las pruebas de Liebermann Burchard y la de 2.4-dinitrofenilhidracina resultando ambas negativas.

El residuo *BC* (1) con un peso de 21.66 gr. (70%), soluble en benceno, se pasó por una columna cromatográfica con 200 gr. de alúmina activada marca Merck; como eluentes se añadieron sucesivamente cloroformo, benceno, acetato de etilo, acetona y mezclas de ellos en proporciones de 9:1; 7:3; etc. La separación fué pobre por lo que se juntaron las fracciones obtenidas y se evaporaron recogién-dose un 50% (13.72 gr.) del residuo *BC* (1). Se montó una segunda columna con 150 gr. de alúmina activada marca Merck y se percolaron 2 gr. de *BC* (1) disuelto en cloroformo; las fracciones obtenidas se trataron de cristalizar sin éxito.

100 mg. del residuo *BC* (1), se trató de purificar por sublimación al alto vacío (1X10<sup>-3</sup>mm.) no obteniéndose sublimado. Las pruebas con diferentes fracciones fueron negativas con 2.4-dinitrofenilhidracina. No se investigó más.

#### *EXTRACTO CON ETANOL.*

Se evaporó el extracto etanólico a presión reducida, obteniendo un residuo resinoso de 170 gr. (49%), identificándolo con la clave *CC*. Por cromatografía en capa delgada, usando como disolvente cloroformo-metanol (85:15V/V) y observando con luz ultravioleta se apreciaron 4 manchas de color azul celeste con Rf 0.19; 0.30; 0.42;

0.48. Con vapores de yodo 6 manchas de color naranja con Rf 0.10; 0.30; 0.42; 0.75 y 0.85. Con el ác. sulfúrico 3 manchas color café con Rf 0.42; 0.75; 0.85.

Con una muestra en etanol el *CC* dió positiva la prueba de Dragendorff para alcaloides.

Se trató de obtener un espectro infrarrojo, no lográndose por ser la muestra *CC* insoluble en los disolventes apropiados, y no formar pastilla con el bromuro de potasio.

El concentrado *CC* se extrajo con 100 ml. de ácido clorhídrico al 2%, separándose la fracción insoluble de la solución ácida (1); a ésta se le hizo la prueba de Dragendorff para alcaloides, resultando positiva; la solución (1) se alcalinizó con hidróxido de amonio y se extrajo con 100 ml. de cloroformo, separando la fracción clorofórmica (1) se extrajo con ácido clorhídrico al 2%, separándose la capa clorofórmica (II) y la solución ácida (2), la solución ácida dió positiva la prueba de alcaloides con Dragendorff. En cromatografía en capa delgada usando como disolvente cloroformo-metanol (85:15V/V), al ser observada la cromatoplaque con luz ultravioleta mostró 4 manchas con Rf 0.16; 0.27; 0.75; y 0.81 de color azul celeste y dos con Rf 0.71 y 0.88, de color violeta. Con el reactivo de Dragendorff se observaron dos manchas de color naranja con Rf 0.27 y 0.71.

La solución ácida (2) se alcalinizó con hidróxido de amonio formándose un precipitado *ALC (A)* de color café y aspecto resinoso.

La solución alcalina *AL* se alcalinizó hasta pH 12, se añadió luego solución de hidróxido de sodio al 10% y se extrajo con 100 ml. de cloroformo, separándose la solución clorofórmica. Esta se volvió a extraer con 50 ml. de ácido clorhídrico al 2%, se separó el cloroformo (III) y la solución ácida (3) ésta se alcalinizó con hidróxido de sodio al 10% hasta pH 11 formándose un precipitado *ALC (Aa)* con las mismas características que el *ALC (A)* juntándose con éste.

Al precipitado *ALC (Aa)* con un peso de 4.5 gr. de aspecto resinoso y de color café se le hicieron algunas pruebas:

1. Con el ácido sulfúrico hubo desprendimiento de un gas.
2. Con el Reactivo de Marquis para anillos aromáticos fué negativa.

### *INTENTO DE ACETILACION DEL ALC (AAa).*

A 4 gr. del precipitado *ALC (AAa)* se le agregaron 10 ml. de anhídrido acético y 5 ml. de piridina, se reflujo durante 2 horas y se dejó en reposo toda la noche. Se vertió sobre agua destilada caliente no precipitando. Se destiló casi en su totalidad recogiendo de nuevo el precipitado. Se le hizo la prueba de nitrógeno por el método de Lassaigne resultando negativa.

Se trató de cristalizar usando disolventes de polaridad creciente, no habiéndolo logrado.

No se investigó más.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

El compuesto EP-AB-S, dió positiva la prueba de la 2.4-dinitrofenilhidracina y la del tetranitrometano, confirmándose la presencia de un carbonilo tipo cetónico.

La prueba de yodoformo que fué positiva confirmó la presencia del agrupamiento.

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

La 2.4-dinitrofenilhidrazona era de un color rojo, característica de cetonas aromáticas.

El espectro infrarrojo (Fig. 2) de los cristales EP-AB-S, obtenidos por sublimación mostró máximas a  $3500\text{ cm}^{-1}$  (OH),  $3000\text{ cm}^{-1}$  (-C-H),  $1670\text{ cm}^{-1}$  (C-O conjugado), 1590, 1505,  $1460\text{ cm}^{-1}$  (correspondientes a fenilo sustituido),  $2920\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{CH}_2$ ),  $1125\text{ cm}^{-1}$  (-C-O-).

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

El espectro de R. N. M. (Fig. 3) mostró dos multipletes a  $2.55\tau$  y  $3.22\tau$ , correspondientes a protones aromáticos y multiplete a  $4.15\tau$  correspondiente a un protón fenólico y un singulete  $6.05\tau$ , correspondiente a tres protones de metilo unido a un carbonilo.

Por la banda en  $3500\text{ cm}^{-1}$  del espectro infrarrojo, el cual también muestra las bandas  $880$  y  $810\text{ cm}^{-1}$ , que sugieren una sustitución en el esqueleto de acetofenona, eliminando además varios de los

diez posibles isómeros estructurales, aunque es posible confirmar la estructura de EP-AB-S, por otros medios físicos y químicos, se buscó en la bibliografía información sobre los isómeros de fórmula  $C_9H_{10}O_3$ . Se encontró que los datos físicos coincidían con los de la Apocinina (acetovainillona) ó 4. oxi-3-metoxi-acetofenona. Quedando demostrado que el EP-AB-S era acetovainillona con un punto de fusión de 111°-113°C.

#### *EXTRACTO ETANOLICO.*

En este extracto fué positiva la prueba de Dragendorff para alcaloides, no habiéndose logrado purificar éstos por cristalización fraccionada ni por columnas cromatográficas.

diez posibles isómeros estructurales, aunque es posible confirmar la estructura de EP-AB-S, por otros medios físicos y químicos, se buscó en la bibliografía información sobre los isómeros de fórmula  $C_9H_{10}O_3$ . Se encontró que los datos físicos coincidían con los de la Apocinina (acetovainillona) ó 4. oxi-3-metoxi-acetofenona. Quedando demostrado que el EP-AB-S era acetovainillona con un punto de fusión de 111°-113°C.

#### *EXTRACTO ETANOLICO.*

En este extracto fué positiva la prueba de Dragendorff para alcaloides, no habiéndose logrado purificar éstos por cristalización fraccionada ni por columnas cromatográficas.

V

**BIBLIOGRAFIA**

- 1.—Taylor N. "Narcotics, Nature's dangerous gifts" Delta Book, N. Y. (1953).
- 2.—Salas Vélez F. "Plantas Medicinales de Venezuela" Editorial Las Novedades, Caracas. (1959).
- 3.—Quer Font P. "Plantas Medicinales. El dioscórides renovado". Editorial Labor, Barcelona. (1962).
- 4.—Lavoisier. "Tratado Elemental de Química" (1798) (Traducido al castellano) I.T.E.S.M. Monterrey, N. L. Méx. (1960).
- 5.—Rosenthaler L. "The Chemical Investigation of Plants" G. Bell and Sons Ltd., Londres (1930).
- 6.—Kreig B. M. "Green Medicine" (1964).
- 7.—Hegnauer R. "Chematoxonomie der flnzen" Birkhauser, Basilea, 3, 324, (1964).
- 8.—Bravo H. "Las Cactáceas de México". Cap IV Pág. 33-60 (1937).
- 9.—Britton N. L. and Rose J. N. "The Cactaceae". Descriptions and illustrations of plants of the cactus family. Vol. 2, Pág. 81 (1963).
- 10.—Mabry J. T. Taylor A. y Turner B. L. "The betacyanins and their distribution" Phytochemistry 2, 61, (1963).
11. Martínez M. "Plantas Útiles de México" 2da. ed. México. (1959).
12. Fried J. Krakowe G. W. Rosenthal D. and Basch H. "Structures activity relationships in the field of antibacterial steroid acids". J. Medicinal Chem. 8, 279 (1965).

- 13.—Domínguez X. A. "Determinación de la acción antibiótica de noventa y dos plantas mexicanas tóxicas al ganado o utilizadas con propósitos medicinales". *Ciencia* 23, 99 (1964).
- 14.—Mc Cleary J. A. and Walkington L. D. "Antimicrobial activity of the Cactaceae" *Bull. Torrey Botanical Club.* 91, 361 (1964).
- 15.—Djerassi C. "Cactus triterpens" *Feetschrift Arthur Stall, Birkhauser AG, Basel*, p. 330 (1951).
- 16.—Almaguer Y. "Estudio Químico del *Echinocereus Engelmannii*". Tesis U. Labastida. Monterrey, N. L. Méx. (1965).
- 17.—Naves Y. R. "Etudes sur les matieres vegetales volátiles XC. Presence d'apocynine (acetovainillona) dans l'huile essentielle d'iris, *Helv. Chim. acta* 32, 1315, (1949).
- 18.—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. Méx. 2a. parte. (1963).
- 19.—Curtman L. J. "Análisis Químico Cualitativo". 2a. ed. Editora Nacional. México, D. F. (1955).
- 20.—Domínguez X. A. "La Cromatografía en Capa Delgada" *Rev. Soc. Quím. México.* Vol. 7 4 (1963).
- 21.—Anónimo. "Official and Tentative Methods of the A.O.A.C." 6a. ed. A.O.A.C. Washington (1955).
- 22.—Cheronis N. D. y Entrinkin N. J. "Semimicro Qualitative Organic Analysis". 2a. ed. Interscience N.Y. (1958).
- 23.—Domínguez X. A. "Química Orgánica Experimental". I.T.E.S.M. Monterrey, N. L. Méx. (1960).
- 24.—Brown C. H. Brown A. C. "A Rapid, Precise Procedure for the Quantitative Determination of Unsaturation in Organic Compounds via Hydrogenation". *J. Am. Chem. Soc.* 28, 214 (1963).
- 25.—Domínguez X. A. "Análisis Fitoquímico". *Ciencia (Méx.)* 21, 125 (1962).
- 26.—Stecher P. Finkel M. J. Siegmund O. H. Szafranski B. M. "The Merck Index of Chemicals and Drugs". Merck and Co. Inc. 7a. ed. Rahway N. J. (1960).