

302927 ⁵ 2eje.

universidad **femenina** de **mexico**

UNIVERSIDAD FEMENINA DE MEXICO

**"PROPUESTA DE UN MANUAL DE PRACTICAS PARA
LA MATERIA DE FARMACOGNOSIA".**

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
LAURA PATRICIA MORAN CISNEROS

MEXICO, D. F.

1994

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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 está 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
FEMENINA
DE MÉXICO

**"PROPUESTA DE UN MANUAL DE PRÁCTICAS
PARA LA MATERIA DE FARMACOGNOSIA"**

Jurado asignado según el tema

Presidente: M. en C. Verónica Rodríguez López

Vocal: M. en C. Alma Miriam Novelo Torres

Secretario: Q.F.B. Esperanza Hernández Koeling

1er. Suplente: Q.F.B. Raúl Díaz Tagle

2o. Suplente: Q.F.B. Luis Raúl Morales Ponce

Asesor Interno: M. en C. Verónica Rodríguez López

Sustentante: Laura Patricia Morán Cisneros

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Por mi existencia

A MIS PADRES JORGE Y BERTHA

Por brindarme siempre lo mejor e impulsarme a salir adelante, dedico a ustedes esta tesis, esperando se sientan satisfechos y orgullosos como yo lo estoy de ustedes.

A MI HERMANO MIGUEL

Por el apoyo y confianza que depositó en mí durante mi carrera profesional.

A MI HERMANA GABY

En quien siempre encuentre apoyo incondicional; gracias por impulsarme a seguir adelante en los momentos más difíciles.

A ESTHER

Con quien compartí desvelos, angustias y triunfos. Gracias por estar conmigo en todo momento, por los consejos, ayuda y apoyo en los momentos difíciles. Gracias Amiga.

A MIS FAMILIARES Y AMIGOS

Por todos sus consejos

A LA MAESTRA VERONICA RODRIGUEZ

Por toda la ayuda y apoyo que me brindó para la realización de la presente tesis.

A LA UNIVERSIDAD FEMENINA DE MEXICO

Por contribuir a mi formación profesional y el apoyo en la realización de las prácticas de esta tesis.

INDICE

CAPITULOS	PAGINAS
I. INTRODUCCION	
1.1 MEDICINA TRADICIONAL EN MEXICO.....	I
1.2 HERBOLARIA Y MEDICINA	IV
II. INDICACIONES GENERALES	X
III. PRACTICAS	
3.1 PROCEDIMIENTOS PRELIMINARES AL ESTUDIO DE LAS PLANTAS	1
3.2 FACTORES FISICO-QUIMICOS QUE AFECTAN LOS PROCESOS DE EXTRACCION Y LA CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA	14
3.3 ALCALOIDES. PURIFICACION E IDENTIFICACION DE CAFEINA	25
3.4 COMPUESTOS FENOLICOS SIMPLES. PURIFICACION E IDENTIFICACION DE EUGENOL	34
3.5 TERPENOIDES. PURIFICACION E IDENTIFICACION DE ALCANFOR	43
3.6 FLAVONOIDES Y TERPENOIDES	52
3.7 ESTUDIO FITOQUIMICO BIODIRIGIDO	63
3.8 ELABORACION DE UN PROYECTO DE INVESTIGACION ...	70
IV. ANEXOS.	
4.1 ESPECTROS	76
4.2 PREPARACION DE SOLUCIONES DE IDENTIDAD	99
IV. BIBLIOGRAFIA.....	100

I. INTRODUCCION

I.1 MEDICINA TRADICIONAL EN MEXICO.

En la historia del territorio que hoy constituye la nación mexicana podemos distinguir dos grandes áreas geoculturales bien definidas: Aridoamérica y Mesoamérica, con una franja territorial intermedia de transición étnica y cultural. (*Mapa No. 1*).

En Aridoamérica las sociedades nómadas y seminómadas, reunieron sus conocimientos principalmente por medio de la tradición oral y muy pocas representaciones pictográficas.

En el dominio práctico de la herbolaria y otros recursos animales y minerales, permitió a los sabios y curanderos, el conocimiento médico básico para diagnosticar algunas enfermedades y padecimientos comunes, establecer terapias y medicaciones para su curación.

En Mesoamérica la medicina y la brujería sentaron las bases de lo que llegó a ser una de las filosofías más completas en el mundo indígena antiguo.

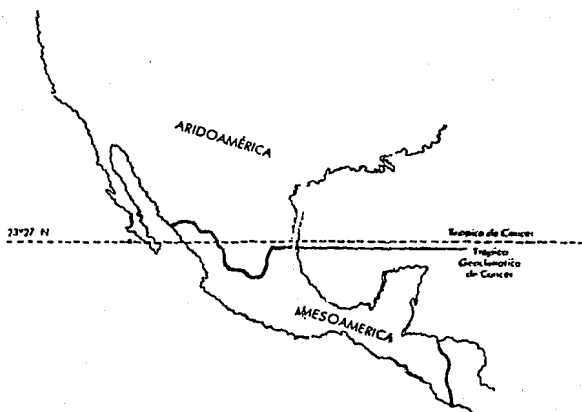
Desde hace dos mil años se advierten ciertos adelantos técnicos y culturales en su vida cotidiana.

Dentro de la cosmovisión de estos pueblos, a la naturaleza no se le veía como enemiga sino por el contrario, se reconoce al hombre como parte del orden cósmico y se aspira a una integración permanente, que sólo se logra mediante una relación armónica con el resto de la naturaleza, y ésta debe lograrse en todos los niveles.

La medicina por ejemplo, abarca a los conocimientos y prácticas que son del dominio general y que se emplean

MAPA No. 1

Aridoamérica y Mesoamérica



domésticamente para el tratamiento de dolencias comunes.

Hay un profundo conocimiento de las propiedades terapéuticas de las hierbas y otros productos.

El médico indígena es un especialista que diagnostica y prescribe a partir de síntomas naturales o corporales.

Así es como podemos explicar por ejemplo, que los pueblos Mesoamericanos en su conjunto llegaron a conocer diversas medicinas con distintos nombres, pero aplicadas a las mismas enfermedades.

Todo este conocimiento al igual que el de otras actividades importantes para el mundo indígena Mesoamericano quedó debidamente documentado. (Fragoso 1993).

Desgraciadamente, durante e inmediatamente después de la conquista los registros y escritos aztecas en los que se acumulaba su saber médico fueron totalmente destruidos. Sin embargo los primeros españoles que llegaron a México enviaron a España, asombrosos informes sobre los jardines botánicos de Moctezuma y sobre la habilidad médica de los aztecas de curar utilizando diversas combinaciones de hierbas medicinales cultivadas. El rey de España y el Papa enviaron emisarios para que aprendieran lo más que pudieran sobre las plantas de México y su uso.

Entre las conclusiones más importantes de esos enviados figuran:

1. El manuscrito Badiano, titulado "Un herbario azteca de 1552". Escrito originalmente en lengua Nahuatl por Martín de la Cruz de

Tlatelolco, y traducido al latín por Juan Badiano, otro maestro indígena del mismo colegio, incluye las diferentes hierbas medicinales y su aplicación farmacológica.

2. Un breve tratado de medicina escrito por Fray Agustín Farfán quien se graduó en 1567 como doctor en Medicina en la Universidad de México y posteriormente se hizo fraile agustino. Abarca los temas de "Anatomía, Medicina, Farmacología y Cirugía", tal como fueron practicados en México por lo aztecas.

3. Historia de las plantas de Nueva España. Este herbario es un tesoro monumental, realizado por el médico español Francisco Hernández, a quien el rey de España, Felipe II, envió a México en 1570. Hernández trabajó con los aztecas educados, pasó cinco años y regresó a España, con dibujos y descripciones de tres mil plantas, la mayoría de las cuales habrían sido usadas por los aztecas con fines medicinales. Sólo se publicaron mil plantas (García, 1992).

12 HERBOLARIA Y MEDICINA

La medicina es una manifestación de la cultura de un pueblo y existen en el mundo tanto medicinas como culturas sepamos reconocer. (Lozoya, 1989).

Desde tiempos remotos, el hombre ha buscado en el mundo vegetal su alimento y cura. En el pasado, las plantas fueron utilizadas "enteras" y sobre la base de un conocimiento empírico. Posteriormente, el estudio de las plantas se caracterizó por la

identificación botánica de las especies consideradas como medicinales. A partir de entonces se ha puesto atención en la identificación, caracterización y análisis de los principios activos que expliquen las propiedades de las plantas.

No se dispone de los datos necesarios para precisar el valor o la difusión del uso de plantas o de principios activos de ellas derivados en los sistemas de salud de los distintos países. Sin embargo, la Organización Mundial de la Salud estima que quizá 80% de los más de 400 millones de habitantes de la Tierra confían en medicinas tradicionales para sus principales necesidades de salud, y se puede que gran parte de las terapias tradicionales entrañan el uso de extractos de plantas o de sus principios activos.

Los fármacos derivados de las plantas pueden tener mucha importancia también en los países desarrollados. En los Estados Unidos de América, por ejemplo, 25% de todas las prescripciones dispensadas por las farmacias desde 1959 hasta 1980 contenían extractos de principios activos de las plantas superiores. Dicha cifra no ha variado en más o menos 1,0% en los 22 años estudiados y, en 1980, los consumidores estadounidenses gastaron más de \$US 8000 millones en prescripciones que contenían principios activos procedentes de plantas. A pesar de ello, las compañías farmacéuticas de los Estados Unidos han mostrado muy poco interés en la investigación de plantas como fuente de nuevos medicamentos. El interés de la explotación industrial de plantas con estos fines se limita casi exclusivamente a China y Japón. En

realidad, hay un camino abierto para que los investigadores de los países desarrollados organicen y realicen programas de investigación interdisciplinarios sobre la utilización de estas fuentes naturales de medicamentos. Dichas fuentes suelen ser abundantes y pueden proporcionar productos galénicos seguros, estables, estandarizados y eficaces para su uso en la atención primaria de salud o conducir al descubrimiento de nuevos principios biológicamente activos derivados de plantas, que a veces son apropiados para la elaboración de medicamentos.

No obstante, antes de considerar cómo deberían organizarse los programas, debemos examinar el pro y el contra de las plantas como punto de partida lógico para el desarrollo de fármacos.

El plan de la UNIDO (*United Nations for Industrial Development Organization*) diseñado para la producción local de drogas a partir de plantas medicinales, considera que no siempre es útil desarrollar una tecnología avanzada para el uso de plantas medicinales en sustitución de las drogas de los países occidentales, si no se hace previamente un estudio inicial cualitativo de los principios activos contenidos en las plantas medicinales.

En otras palabras, no resulta satisfactorio sustituir los actuales medicamentos por simples extractos o tinturas, que aunque hechos de acuerdo a la tecnología moderna carecen de estudios que fundamenten su utilización y respuestas terapéuticas constantes, lo cual está en relación directa con el conocimiento de los principios activos contenidos en las plantas.

Por lo tanto, debemos pugnar por la elaboración de extractos estables y valorados científicamente que aseguren una respuesta terapéutica constante (Lugo, 1992).

Sin embargo, la medicina tradicional, es decir, la medicina en la que se emplean fármacos de origen natural, ofrece tres ventajas principales sobre la medicina alopática (medicina en la que se emplean medicamentos de patente) y éstas son:

- a) Representa un medio para procurar la salud en forma eficaz para el hombre en su propio ambiente sociocultural.
- b) Los recursos de los que hace uso son de fácil disponibilidad, principalmente en aquellas zonas rurales donde el acceso a los servicios médicos hospitalarios es muy difícil.
- c) Ofrece en términos económicos una alternativa para curar enfermedades a un costo menor.

En el caso particular de México, es bien conocido el hecho de que nuestro país posee una gran tradición en el empleo de plantas medicinales y en la actualidad gran parte de su población, principalmente la de bajos recursos económicos que no tiene acceso a servicios médicos adecuados, hace uso de ellas para la cura de un sin número de enfermedades. También, se sabe que nuestro país posee una gran variedad y riqueza de flora medicinal, sin embargo son relativamente pocos los estudios científicos que se han realizado sobre plantas medicinales con el objeto de que la herbolaria medicinal mexicana recobre el lugar que merece en el campo médico (García, 1992).

Por lo anterior, es fundamental preparar recursos humanos de excelencia, preparados para enfrentar este gran reto.

La rama de la ciencia directamente relacionada con la resolución de estos problemas es la Farmacognosia, por lo que es obligación contar con un programa actualizado, así como con un Manual de Prácticas acorde a estas nuevas necesidades que integre no sólo la corroboración de los conocimientos teóricos, sino además, el manejo de técnicas y métodos para que los alumnos desarrollen un criterio químico y se capaciten en la resolución de los problemas nacionales integrando los conocimientos adquiridos a través de su vida académica.

El objetivo del presente trabajo es, proporcionar un Manual de Prácticas de Laboratorio en el Area de Farmacognosia con las siguientes características: que esté actualizado, que responda a las necesidades y problemática nacionales y que capacite a los alumnos no sólo en el manejo de técnicas y métodos, sino además que los adiestre en la integración de conocimientos y elaboración de proyectos de investigación.

II. INDICACIONES GENERALES

II. INDICACIONES GENERALES.

1. EQUIPOS.

En la primera sesión de laboratorio, los alumnos formarán equipos de trabajo de acuerdo a su criterio, los cuales, serán permanentes durante el curso.

2. ASISTENCIA.

No se le permitirá la entrada al alumno al laboratorio ~~después~~ de 10 minutos de iniciada la práctica. Para tener derecho a examen se requiere como mínimo el 80% de asistencia a las prácticas.

3. PRELABORATORIO.

Al inicio de cada sesión de laboratorio se escogerá a un alumno al azar para que explique la técnica y el fundamento de la práctica a realizar, lo cual se considerará como parte de su evaluación, además entregará individualmente el cuestionario de prelaboratorio antes de iniciar la sesión de laboratorio.

4. NORMAS DE LABORATORIO.

- * Por razones de seguridad queda estrictamente prohibido ingerir alimentos, beber cualquier tipo de líquido y fumar.
- * Los alumnos deberán usar bata durante su estancia en el laboratorio, y es indispensable traer un trozo de franela, un marcador indeleble, papel higiénico, escobilla, detergente y

masking-tape.

- * El alumno se hará responsable del material que utilice para la práctica, el cual solicitará al almacén por medio de un vale.
- * Se recomienda que el alumno conserve su lugar ordenado durante la práctica, ya que así disminuirá el riesgo de adicionar reactivos equivocados, derramar soluciones o romper material.
- * Terminada la sesión experimental el alumno entregará el material limpio y en buenas condiciones, deberá dejar la mesa de trabajo limpia.
- * Es particularmente importante cuidar el empleo de escobillones, ya que el soporte metálico de los mismos puede rayar las superficies del material de vidrio (*especialmente matraces volumétricos y buretas*) y con ello alterar las mediciones. No se debe usar material abrasivo para el lavado de dicho material.
- * Durante su limpieza y manejo, de cada tipo de material utilizado, éste deberá ser tratado en forma adecuada, teniendo en cuenta su resistencia a los ácidos, a los álcalis, al calor, etc.

5. PLANEACION.

El alumno deberá leer con anterioridad la práctica que se va a realizar, ya que el planear su trabajo y familiarizarse con el experimento le permitirá emplear las "horas muertas" en alguna otra actividad.

Las prácticas deberán reportarse de la siguiente manera:

- * INTRODUCCION.
- * OBJETIVO.
- * FUNDAMENTO DE LA TECNICA.
- * REGISTRO Y ORGANIZACION DE DATOS.
- * ANALISIS DE RESULTADOS.
- * CONCLUSIONES.
- * BIBLIOGRAFIA.

Con respecto a los puntos citados:

* **Introducción:** No deberá rebasar una cuartilla y deberá contener principalmente datos botánicos, fitoquímicos, etnobotánicos y farmacológicos de la planta en estudio.

* **Fundamento de la técnica:** En este punto deberá de explicar brevemente los métodos y técnicas empleadas en la práctica, por ejemplo, la destilación por arrastre de vapor, la cromatografía en capa fina, etc.

Todos los datos e información referente a las prácticas que se desarrollarán en el curso, están contenidas en este trabajo, por lo que el alumno deberá traerlo a cada sesión de laboratorio a la que asista.

Se realizara un reporte por equipo, el cual se entregará a los 8 días después de haberse terminado la práctica. Al concluir cada bloque de prácticas, se realizará un examen y previo a éste un seminario. En el seminario se escogerán equipos al azar que expongan cada una de las prácticas realizadas, la exposición será evaluada y formará parte de la evaluación total.

Junto con el reporte, los productos obtenidos en la sesión experimental se deberán entregar en frascos de vidrio etiquetados, con la siguiente información:

- * Nombre de la planta:
- * Nombre del compuesto aislado:
- * Fecha:
- * Peso:
- * Punto de fusión:
- * No. de equipo:
- * Grupo:

En base a los conocimientos adquiridos por el alumno, la práctica final consistirá en la realización de un proyecto de investigación.

III. PRACTICAS

PRACTICA No. 1

PROCEDIMIENTOS PRELIMINARES AL ESTUDIO DE LAS PLANTAS.

1. INTRODUCCION.

El estudio científico de la herbolaria comprende varios aspectos: antropológicos, botánicos, químicos, farmacológicos y económicos.

Los aspectos antropológicos y botánicos comprenden los llamados estudios etnobotánicos que consisten en realizar una investigación de campo en las zonas en las cuales se usa la planta medicinal en estudio, con el objeto de clasificarla botánicamente y conocer su aplicación medicinal. (García, 1992).

Al iniciar el estudio de una planta comenzamos por la identificación del material vegetal.

La mayoría de los nombres vulgares de las plantas provienen del lugar donde se encuentran. Sin embargo, da lugar a serias confusiones ya que frecuentemente una misma planta tiene distintas denominaciones. Por lo tanto, el nombre vulgar no basta para identificar una planta en forma segura, por lo que es

necesario identificar a las plantas con el denominado nombre científico. La clasificación que se usa actualmente es la de Linneo desarrollada en Europa (García, 1992).

Al recolectar la planta para muestra de herbario, hay que tomar en cuenta que cada planta requiere de condiciones específicas y es preciso seguir ciertas normas para la óptima realización de este proceso. La falta de cuidado o ignorancia por parte del recolector puede traer como consecuencia que las plantas pierdan sus propiedades medicinales. El recolector debe conocer entonces: a) la especie botánica en cuestión, b) el momento propicio para la cosecha teniendo en cuenta que éste sea justo el momento en que los componentes medicinales de la planta se encuentran en mayor cantidad y c) la geografía, botánica, etc. (García, 1992).

Dependiendo de la textura y del contenido de agua en la planta, lo que primero se recomienda es "inactivar" o estabilizar el tejido vegetal para prevenir la oxidación enzimática o hidrólisis, en el caso de trabajar con material fresco (ejemplo: hojas, tallos y flores), es necesario someter a vapores de alcohol para lograr lo anterior (Lugo, 1990).

Una vez estabilizada nuestra planta, en caso de ser necesario, se procede a secarla. La desecación tiene por objeto privar a las plantas de su agua de vegetación para así conservar la calidad de los metabolitos secundarios que contienen, prevenir el enmohecimiento o la acción de las bacterias (*putrefacción*). El secado facilita también la molienda de la planta, obteniéndose

una forma más conveniente para la futura preparación de medicamentos homeopáticos, caseros o preparados tradicionales (García. 1992).

La molienda consiste en la desintegración de los tejidos de las plantas y tiene por objetivo facilitar la salida de los compuestos medicinales de las células vegetales. Una vez secas y molidas las hierbas, éstas se guardan en frascos de vidrio de preferencia oscuros, de boca ancha y con tapa de rosca, o con una tapa hermética, para evitar la humedad, los insectos o el polvo. Cada frasco debe de ir perfectamente identificado. De esta forma, las plantas pueden conservarse durante meses o años (García, 1992).

2. OBJETIVO.

Conocer y aplicar los procedimientos preliminares para el estudio de una planta medicinal.

3. PRE-LABORATORIO.

- 1) ¿Cuál es la función de una muestra de herbario?
- 2) ¿Cuáles son los pasos a seguir para la elaboración de una muestra de herbario?

- 3) ¿Qué se debe tomar en cuenta para la recolección de una muestra de herbario?
- 4) Explique la clasificación de Linneo.
- 5) Explique los métodos de secado de las plantas que conviene.
- 6) Describa los métodos de estabilización.
- 7) ¿Cuántos y cuáles son los métodos de molienda que conviene?
- 8) Realice una investigación bibliográfica de su planta de estudio que contemple información botánica, etnobotánica, fitoquímica y farmacológica.

4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

4.1 MATERIALES.

MATERIAL BIOLÓGICO.

100 g de planta fresca.

MATERIAL DIVERSO.

Papel periódico 40 x 60 cm. doblado por la mitad.

Cordón para atar la prensa.

Sobres de papel para coleccionar semillas y frutos.

Tijeras.

Hojas de papel corrugado de 30 x 45 cm.

Rejillas de madera (2) de 35 x 50 cm.
Marcador o pluma.
Libreta de campo.
Etiquetas adheribles.
Cartulinas de 28 x 42 cm.
Frascos ámbar de boca ancha y con tapa de rosca.
Estufa para desecado.
Molino de aspas metálicas (licuadora).

4.2 TECNICA.

OBSERVACIONES: Esta práctica se realizará en dos sesiones, divididas de la siguiente manera:

1a. Sesión: En esta sesión se le pedirá al alumno el material biológico y diverso necesario para la realización de la práctica y para hacer la prensa portátil.

2a. Sesión: Entrega de planta seca lista para su montaje y molienda.

1a. Sesión.

DESARROLLO.

1. Cortar los tallos y frutos cuando son muy gruesos.
2. Cuando se trata de un árbol o bejuco, se corta una de sus ramas con flores y frutos.

3. Si es una planta pequeña se extrae toda, incluyendo la raíz. Si es muy larga se dobla en forma de V, N o M.
4. Realizar una prensa portátil la cual consta de hojas de cartón dentro de las cuales se coloca el papel periódico, y alrededor las rejillas de madera utilizando el cordón para mantenerlas fijas. (Ver diagrama 1).

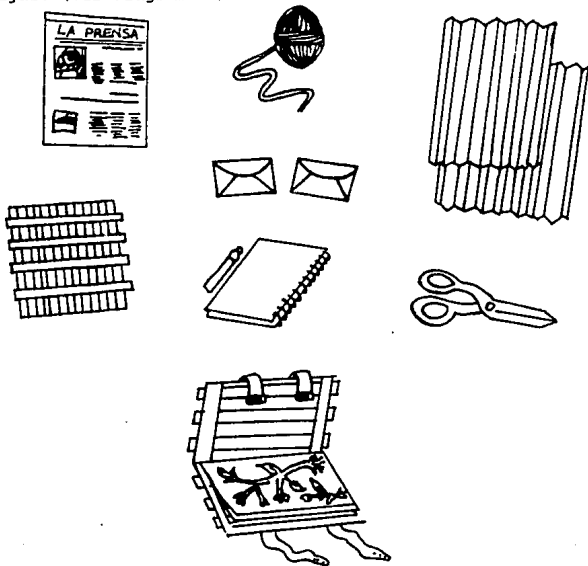


DIAGRAMA No. 1
PRENSA PORTATIL.

5. Colocar las plantas entre los dos cartones, cada una en un papel periodico bien extendidas y sin que salga de los límites del cartón.
6. Se escribe en un extremo del periódico un número igual para todos los ejemplares. La información de cada planta, se escribe en la libreta de campo con su número correspondiente. (Ver resultados).

El resto del material vegetal que no se usó para muestra de herbario se secará en estufa a 100°C hasta una completa desecación.

Entregar la muestra de herbario seca en la siguiente sesión para su montaje y molienda.

2a. Sesión.

DESARROLLO

1. Una vez seca la planta, tomar una parte para la molienda, y otra para el montaje:
2. Las plantas secas, se pegan y se cosen sobre la cartulina que mide 28 x 42 cm. (Ver diagrama 2).
3. Pegar en el borde inferior derecho la etiqueta que la identifica. (Ver resultados).
4. Molienda: cortar en pedazos pequeños y colocarlos en un molino de aspas metálicas. Moler.
5. Pasar la muestra molida a un frasco previamente etiquetado para su entrega posterior. (Ver resultados).

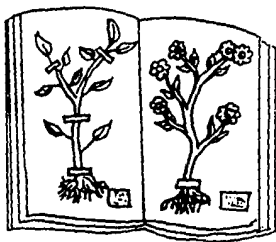


DIAGRAMA No.2

MONTAJE.

5. REGISTRO Y ORGANIZACION DE DATOS.

DATOS DE LA LIBRETA DE CAMPO.

1. Número correspondiente al ejemplar.
2. Nombre popular y nombre científico.
3. Localidad donde se recogió, municipio, distrito, estado, etc.
4. Altitud sobre el nivel del mar.
5. Hábitat, quiere decir, lugar donde vive la planta (*monte, bosque, selva, matorral, cultivo, desierto, etc.*).
6. Forma biológica de la planta.

Hierba: Es una planta sin leño.

Bejuco: Como enredadera o liana.

Arbusto: Planta con leño y ramificaciones desde la base.

Arbol: Planta con leño y ramificaciones a partir de un tronco centrado.

Parásita: Que se alimenta de otra planta.

7. Otras características (*si tiene escamas o saca leche, si es aromática o huele mal, color de la corteza y cómo se desprende, en tiras o escamas*)
8. Usos medicinales populares incluyendo:
Parte de la planta que se usa: raíz, tallo, hojas, etc.
Usos medicinales: para qué sirven.
Forma en que se prepara: molida, cocida, colada, etc.
Dosis: cuánta cantidad se necesita y cuántas veces al día.
Vía de administración: cutánea, vaporizaciones, en baño,

gárgaras, oral.

Efectividad: qué tanto sirve.

Cuidados que hay que tener: con el frío, con el agua, antes o después de los alimentos.

Otros usos de la planta: adorno, forraje.

Reacciones secundarias: sudores, ganas de vomitar, saipullido, etc.

Otras plantas con las que se usa.

9. Fecha y nombre(s) del(os) recolector(es).

ETIQUETA DE MUESTRA DE HERBARIO (FRASCO Y CARTULINA)

FICHA DE HERBARIO

Comité de salud de _____

Ficha No. _____

Fecha _____

Nombre común o popular _____

Nombre científico _____

Partes usadas _____

Propiedades _____

Preparación _____

Cantidades usadas y tiempo de uso (dosis) _____

Precauciones _____

FICHA DE HERBARIO

PLANTA MEDICINAL No. _____

NOMBRES(S) LOCAL(ES) _____

NOMBRE CIENTIFICO _____

ALTITUD SOBRE EL NIVEL DEL MAR _____

HABITAT DE LA PLANTA _____

OTRAS CARACTERISTICAS _____

USOS MEDICINALES _____

PARTE(S) USADA(S) _____

MANERA DE PREPARARSE Y CANTIDAD EMPLEADA _____

FORMA DE ADMINISTRACION Y DOSIS _____

RESULTADOS _____

CUIDADOS AL USARLA _____

CONTRAINDICACIONES _____

CALIDAD DE LA PLANTA _____

OTRAS PLANTAS O PRODUCTOS CON LOS QUE SE USA _____

FECHA DE RECOLECCION _____

NOMBRE DEL RECOLECTOR _____

6. ANALISIS DE RESULTADOS.

1. ¿Cuál es la importancia de conocer el nombre científico de una planta para su estudio posterior?
2. ¿Por qué se estabiliza una planta?
3. ¿Por qué es importante secar las plantas para su estudio?
4. ¿Cuál es la finalidad de la molienda?

7. REPORTE.

- **INTRODUCCION:** Investigar los datos botánicos, etnobotánicos, fitoquímicos y farmacológicos de su planta en estudio.
- **OBJETIVO.**
- **REGISTRO Y ORGANIZACION DE DATOS:** Entregar muestra de herbario con su etiqueta y la muestra de herbario molida en su frasco previamente etiquetado.
- **ANALISIS DE RESULTADOS:** Analice sus resultados y entregue el cuestionario.
- **CONCLUSIONES.**

8. REFERENCIAS.

1. García Barrera, Ma. Concepción. 1992. Manual del Taller de Plantas Medicinales. México, D.F. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro. pp. 12, 14,15, 16, 17, 18, 23, 24, 25.
2. Lugo, E. 1990. Plantas Medicinales de México Introducción a su Estudio. (2a. Ed.). México, D.F. Departamento de Fitotecnia. Unidad de Estudios Etnobotánicos. Universidad Autónoma Chapingo. pp. 456.
3. Domínguez, X.A. 1988. Métodos de Investigación Fitoquímica. México, D.F. Ed. Limusa. pp. 23-38.
4. Herbario Queretano No. 1. México, D.F. Universidad Autónoma de Querétaro. Serie Científica.

PRACTICA No. 2

FACTORES FISICO-QUIMICOS QUE AFECTAN LOS PROCESOS DE EXTRACCION Y LA CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA.

1. INTRODUCCION.

En los métodos de investigación fitoquímica, es de suma importancia la optimización de los métodos de extracción y purificación de las sustancias químicas presentes en el material vegetal de estudio, ya que de esto depende el éxito de un análisis cualitativo y cuantitativo de la especie. Por lo que se deben establecer los factores que afectan significativamente estos procesos y obtener por la combinación de aquéllos la optimización del rendimiento, dichos factores son:

- a). Volumen del disolvente.
- b). Temperatura.
- c). El tamaño de partícula.
- d). La polaridad, etc.

Con estos datos se puede establecer un modelo matemático que nos permita controlar el proceso. Este modelo consistirá en el caso más simple, en un gráfico tridimensional, en donde cada eje

represente cada uno de los factores antes mencionados, de tal manera que con el número adecuado de experimentos, se pueda establecer una superficie de respuesta que nos permita encontrar las mejores condiciones de extracción.

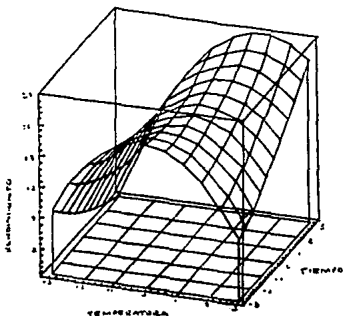


DIAGRAMA No. 1

2. OBJETIVOS.

1. Estudiar el efecto de las factores más significativos en el, proceso de maceración de un vegetal determinado.
2. Estudiar el efecto de la polaridad de los disolventes en la cromatografía en capa fina.

3. PRE-LABORATORIO.

1. Mencione, ¿Cuál es el efecto del tamaño de partícula en la solubilidad?
2. Mencione la regla de solubilidad de compuestos.
3. ¿En qué consiste el proceso de partición?
4. ¿Cuál es el efecto de la polaridad del disolvente en el valor de Rf de un cromatograma?
5. ¿Cuál es el efecto de la temperatura en la solubilidad?
6. Defina el coeficiente de reparto.
7. Investigue las propiedades químicas y físico-químicas de la cafeína.

4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

4.1 MATERIALES.

MATERIAL BIOLÓGICO.

35 g de café verde seco (*sin tostar*).

MATERIAL DE VIDRIO.

1 Probeta de 100 ml.

1 Equipo Quifick.

1 Cápsula de porcelana mediana.

- 2 Vasos de precipitados de 20 ml.
- 1 Termómetro.
- 3 Cámaras cromatográficas.

MATERIAL DIVERSO.

- 2 Soportes universales.
- 2 Pinzas para refrigerante.
- 1 Parrilla.
- 1 Balanza granataria.
- 1 Mortero con pistilo.
- Mangueras.
- Papel filtro.

4.2 REACTIVOS.

- Hidróxido de amonio.
- Cloroformo.
- Metanol.
- Estandar de cafeína.
- Yodo.
- n-Hexano.

4.3 REACTIVIDAD Y TOXICIDAD.

Hidróxido de amonio: Muy tóxico por ingestión. Líquido y vapor extremadamente irritantes, especialmente para los ojos. Trabajar en la campana (Hawley. 1985).

Cloroformo: Muy tóxico por inhalación; narcótico. Su prolongada inhalación o ingestión puede ser fatal (Hawley. 1985).

Metanol: Inflamable, peligroso riesgo de incendio. Altamente tóxico por inhalación o ingestión (Hawley. 1985).

Yodo: Muy tóxico por inhalación o ingestión; fuerte irritante para los ojos y la piel (Hawley. 1985).

n-Hexano: Inflamable, riesgo de incendio, peligroso. Moderadamente tóxico por ingestión o inhalación (Hawley. 1985).

4.4 TECNICA.

OBSERVACIONES: Esta práctica se desarrollará en dos partes. En la primera parte será necesaria la participación de todo el grupo, cada equipo realizará un experimento de los que conforman el modelo experimental. Este modelo se diseñó en función de dos variables, la variable tamaño de partícula con dos niveles y la variable temperatura con tres niveles como se muestra en la tabla 1.

La parte B se hará por equipo y corresponde al cumplimiento del segundo objetivo.

TABLA No. 1

VARIABLE	NIVEL
Tamaño de partícula(x)	Grueso: Semilla completa (x_1) Fino: Semilla molida (x_2)
Temperatura (y)	En hielo o refrigeración (y_1) Temperatura ambiente (y_2) Reflujo (y_3)

PARTE A:

1. De acuerdo al experimento que le corresponda realizar a cada equipo, considerando la tabla 1, se procederá a pesar 35 g de semilla de café molida o no y se transferirá a un matraz de bola.
2. Se le adicionará 10 ml de hidróxido de amonio y 250 ml de cloroformo.
3. De acuerdo a la misma tabla 1, se someterá el matraz a las condiciones adecuadas (*hielo, temperatura ambiente y reflujo*) durante 3 horas.
4. Transcurrido este tiempo, destilar el cloroformo, hasta que queden 10 ml de extracto clorofórmico de color amarillo verdoso.

5. Transferir a una cápsula de porcelana previamente pesada evaporar a sequedad.
6. Pesar la cápsula de porcelana con el residuo.
7. Calcular el rendimiento. Anotar en la tabla de resultados.

PARTE B:

1. Preparar una solución de cafeína estandar en cloroformo con una concentración de 0.1 mg/ml.
2. Aplicar con un capilar en tres placas cromatográficas, 10 mcl de la muestra.
3. Colocar cada placa cromatográfica en los siguientes sistemas de elución:

Sistemas de elución	Preparación de disolventes
1	Metanol
2	Cloroformo-Metanol (9:1)
3	n-Hexano

4. Una vez que se ha desarrollado el cromatograma, revelar en cámara de yodo.
5. Calcular el Rf de la mancha.

5. REGISTRO Y ORGANIZACION DE DATOS.

PARTE A: TABLA No. 2. RENDIMIENTO DE EXTRACTO CRUDO OBTENIDO

No. de experimento	x	y	Rendimiento (%)
1	G	Hielo	
2	G	Temp. Amb.	
3	G	Reflujo	
4	F	Hielo	
5	F	Temp. Amb.	
6	F	Reflujo	

G: Semilla completa

F: Semilla molida

1. Realizar una gráfica de tamaño de partícula vs rendimiento.
2. Realizar una gráfica de temperatura vs rendimiento.
3. Realizar una gráfica tridimensional con las dos variables y el rendimiento.

PARTE B: TABLA No. 3. VALORES DE Rf DE LA CAFEINA

Sistema de elución	Rf de la cafeína
1	
2	
3	

6. ANALISIS DE RESULTADOS.

1. ¿Cómo afecta el tamaño de partícula en un proceso de extracción y por qué?
2. ¿Cómo afecta la temperatura el proceso de extracción y por qué?
3. Si además de cuantificar el tamaño de partícula y la temperatura, cuantificamos otra variable adicional como polaridad del disolvente o la agitación de la muestra. ¿Cuál sería el modelo matemático que usarías?
4. ¿Cuál es la utilidad de conocer cómo afectan estas variables en un proceso de extracción?
5. ¿Cómo afecta el aumento de la polaridad del sistema de eluyente en el valor de R_f de las muestras en una cromatografía en capa fina normal?
6. ¿Qué otros factores afectan al valor de R_f de las muestras en una cromatografía en capa fina?
7. ¿Cuál es el valor óptimo de R_f de una muestra?
8. ¿Cuál de los sistemas de elución que utilizamos es el más polar?, ¿cuál es el menos polar y por qué?
9. ¿Cuál es la función del hidróxido de amonio en la extracción de cafeína?

7. REPORTE.

- * **INTRODUCCION:** Investigue los datos botánicos, etnobotánicos, fitoquímicos y farmacológicos de Coffea arabica (café).
- * **OBJETIVO.**
- * **FUNDAMENTO DE LA TECNICA:** Investigue los fundamentos físico-químicos de los procesos de extracción y cromatografía en capa fina.
- * **RESULTADOS:** Entregar las tablas de toma de datos y gráficas que se realizaron.
- * **ANALISIS DE RESULTADOS:** Analice sus resultados y entregue el cuestionario.
- * **CONCLUSIONES.**
- * **BIBLIOGRAFIA.**

8. REFERENCIAS.

1. Allen's Comercial. 1944. Organic Analysis. The Blakiston Co. Philadelphia.
2. Domínguez, X.A. 1989. Métodos de Investigación Fitoquímica. México, D.F. Ed. Limusa.
3. Mercado de Determinadas Plantas Medicinales y sus Derivados. 1974. Centro de comercio Internacional UNLTAD GATT. Ginebra.
4. Baumann, T.W. et. al. 1978. 7-Metylantosine- an intermediate in caffeine. Phytochemistry. Vol. 17. pp. 1978-2075.

5. Florey, K. 1983. Analytical Profiles of Drugs Sustances. Volume 15. Academic Press, Inc. USA. pp. 71-150.
6. Clarke, E.G.C. 1974. Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceuticals, Body Fluids and Post-mortem Material. The Pharmaceutical Society of Great Britain. The Pharmaceutica. Press. London. pp. 234.
7. Hawley, G. 1985. Diccionario de Química y Productos Químicos. Barcelona. Ediciones Omega. pp. 65,215,454,893.

PRACTICA No. 3

ALCALOIDES:

PURIFICACION E IDENTIFICACION DE CAFEINA.

1. INTRODUCCION.

Los principales grupos de compuestos químicos a los que pertenecen la mayoría de los principios activos aislados de las plantas medicinales corresponden en primer lugar a los alcaloides (Lugo, 1990).

Los alcaloides constituyen un grupo muy heterogéneo de bases vegetales nitrogenadas. La cafeína pertenece al grupo de alcaloides cuya sustancia básica es una purina, denominados xantinas (Domínguez, 1988)

Las tres metilxantinas importantes son: teofilina, teobromina y cafeína.

Las metilxantinas tienen efectos sobre el Sistema Nervioso Central, riñón, músculo cardiaco y esquelético, así como en el músculo liso (Katzung, 1987).

La propiedad química más característica de los alcaloides es

su basicidad, por lo que los métodos para aislarlos, purificarlos e identificarlos por lo general aprovechan su basicidad. Aunque muchos alcaloides pueden aislarse con disolventes neutros (Dominguez, 1988).

La cafeína fue descubierta por Robiquet en el café en 1821, cuando buscaba quinina, la cual creía que estaba presente. En 1827, Oudry encontró un alcaloide en el té y lo llamó teína. En 1838, Jobst y Mulder probaron que ambos principios eran idénticos (Florey, 1983).

2. OBJETIVO.

Obtener cafeína pura a partir de un extracto clorofórmico de Coffea arabica.

3. PRELABORATORIO.

1. Explique cuál es el fundamento de la cristalización.
2. De manera breve, explique la metodología y las condiciones para realizar una cristalización.
3. ¿En qué casos se usan pares de disolventes para realizar una cristalización.
4. ¿Cuántos métodos de purificación de sustancias conoce?
5. Explique qué es una co-cromatografía.
6. Analice paso a paso la técnica.

4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

4.1 MATERIALES.

MATERIAL BIOLÓGICO.

Extracto clorofórmico de Coffea arabica

MATERIAL DE VIDRIO.

- 4 Pipetas graduadas de 10 ml.
- 3 Vasos de precipitados de 100 ml.
- 1 Tubo de Thiele.
- 1 Matraz quitazato de 250 ml.
- 1 Embudo Büchner con alargadera.
- 1 Termómetro.
- 1 Embudo de tallo corto.
- 1 Cámara cromatográfica.
- 1 Cámara de yodo.

MATERIAL DIVERSO.

- 1 Soporte universal.
- 1 Mechero bunsen.
- 1 Parrilla.
- Mangueras.
- 1 Pinza de tres dedos con nuez.
- 1 Balanza granataria.

Papel filtro.
Cromatofolios.
Tubos capilares.
Equipo para vacío.

4.2 REACTIVOS.

Cloroformo.
Metanol.
Benceno.
Eter de petróleo.
Yodo.
Aceite mineral.
Parafina.
Carbón vegetal.
Cafeína estandar.
Subnitrito de bismuto.
Acido acético.
Acido sulfúrico.

4.3 REACTIVIDAD Y TOXICIDAD.

Cloroformo: Muy tóxico por inhalación; narcótico. Su prolongada inhalación o ingestión puede ser fatal (Hawley, 1985).

Metanol: Inflamable, peligroso riesgo de incendio. Altamente tóxico por inhalación o ingestión (Hawley, 1985).

Benceno: Inflamable, peligroso riesgo de incendio. Muy tóxico por ingestión, inhalación y absorción cutánea (Hawley, 1985).

Eter de petróleo: Inflamable, peligro de incendio (Hawley, 1985).

Yodo: Muy tóxico por ingestión e inhalación; fuerte irritante para los ojos y la piel (Hawley, 1985).

Carbón vegetal: Peligro moderado por inhalación del polvo. Inflamable (Hawley, 1985).

Subnitrato de bismuto: Material oxidante, peligro de incendio cuando está cerca de materias orgánicas (Hawley, 1985).

Acido acético: Inflamable, moderado riesgo de incendio. Altamente tóxico por ingestión; poderoso irritante de los tejidos (Hawley, 1985).

Acido sulfúrico: Muy tóxico, fuerte irritante para los tejidos (Hawley, 1985).

4.4 TECNICA.

1. Al extracto clorofórmico agregarle 2 g de parafina y digerir con 30 ml de agua hirviendo.
2. Dejar enfriar y separar la capa de parafina solidificada en la parte superior.
3. Proceder a una segunda digestión con otros 15 ml de agua

- hirviendo y 1 g de parafina.
4. El líquido obtenido se decolora con 1 g de carbón vegetal y filtrar en caliente.
 5. Destilar el agua hasta sequedad agregando 45 ml de acetona.
 6. El residuo obtenido se disuelve en la mínima cantidad posible de benceno caliente.
 7. Añadir éter de petróleo de punto de ebullición alto (60-90°C) hasta que aparezca una ligera turbidez. Enfriar a temperatura ambiente.
 8. Separar los cristales por filtración al vacío en un embudo büchner.
 9. Hacer pasar aire hasta que el producto esté seco.
 10. Determinar el punto de fusión.
 11. Realizar una co-cromatografía usando cloroformo como disolvente; una mezcla cloroformo-metanol (9:1) como eluyente y yodo como revelador.
 12. En tres tubos de ensayo depositar una cantidad de muestra (caféina) y disolver en cloroformo. Realizar las siguientes pruebas de identidad:
 - a) Adicionar a uno de los tubos reactivo modificado de Dragendorff. (Ver Anexo II). Anotar observaciones.
 - b) A un segundo tubo adicionar reactivo de Wagner. (Ver Anexo II). Anotar observaciones.
 - c) A un tercer tubo adicionar reactivo de Acido sílicotúngstico. (Ver Anexo II). Anotar observaciones.

5. REGISTRO Y ORGANIZACION DE DATOS.

TABLA No. 1 VALORES DE Rf DE CAFEINA

Rf Estandar	
Rf Problema	

TABLA No. 2 PUNTO DE FUSION DE CAFEINA

p.f. Teórico	
p.f. Estandar	
p.f. Problema	

TABLA No. 3 PRUEBAS DE IDENTIDAD

REACTIVO	OBSERVACIONES
Dragendorff	
Wagner	
Acido sílicotúngstico	

6. ANALISIS DE RESULTADOS.

1. ¿Existe diferencia de peso entre el extracto crudo y el residuo obtenido después de la purificación?. ¿Por qué?
2. Compare el punto de fusión obtenido, con el punto de fusión reportado en la referencia bibliográfica. Si existe diferencia, ¿A qué se debe?
3. Asigne cada una de las señales de los espectros de UV, IR, RMN¹³C, para la cafeína. (Ver Anexo I).
4. Explique desde el punto de vista físico-químico y químico cada uno de los pasos de la técnica.

7. REPORTE.

- * **INTRODUCCION:** Investigar las propiedades físicas y químicas, así como los métodos de obtención y las propiedades farmacológicas y toxicológicas de la cafeína.
- * **OBJETIVO.**
- * **FUNDAMENTO DE LA TECNICA:** Investigue los métodos de purificación más comunes y profundice en el método de cristalización. Investigue las reacciones químicas para identificar alcaloides.
- * **REGISTRO Y ORGANIZACION DE DATOS:** Entregar las tablas y datos que se solicitan.

- * **ANÁLISIS DE RESULTADOS:** Analice los resultados y conteste el cuestionario.
- * **CONCLUSIONES.**
- * **BIBLIOGRAFIA.**

8. REFERENCIAS.

1. Allen's Comercial. 1944. Organic Analysis. The Blakiston Co. Philadelphia.
2. Domínguez, X.A. 1988. Métodos de Investigación Fitoquímica. México, D.F. Ed. Limusa. pp. 211, 215.
3. Mercados de determinadas plantas medicinales y sus derivados. 1974. Centro de Comercio Internacional UNLTAD GATT.
4. Bauman, T.W. 1978. 7-Metyl xantosine -an intermediate in caffeine. Phytochemistry. Vol. 17. U.S.A. pp. 1978-2075.
5. Florey, K. 1983. Analytical Profiles of Drug Substances. Volume 15. Academic Press, Inc. U.S.A. pp. 71-150.
6. Clarke, E.G.C. 1974. Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceuticals. Body fluids and Post-mortem Material. The Pharmaceutical Press. London. pp. 234.
7. Katzung, B. 1987. Farmacología Básica y Clínica. (3a. Ed.). México, D.F. Editorial el Manual Moderno. pp. 233,234.
8. Hawlwey, G. 1985. Diccionario de Química y Productos Químicos. Barcelona. Ediciones Omega.

PRACTICA No.4

COMPUESTOS FENOLICOS SIMPLES

OBTENCION E IDENTIFICACION DE EUGENOL.

1. INTRODUCCION.

Los fenoles de los aceites volátiles son de dos tipos: los que se encuentran en estado natural, y los que se forman por destilación destructiva de ciertos productos vegetales.

El eugenol, el timol y el carvacrol son los fenoles más importantes que existen en los aceites volátiles. El eugenol se encuentra en la esencia de clavo, la esencia de pimienta inglesa, la esencia de rosas y otras (Varro, 1979).

El eugenol es un líquido aceitoso incoloro o amarillo pálido, móvil, de intenso olor aromático a clavo y sabor picante (Clarke, 1974).

El eugenol es un antiséptico, analgésico local y antipirético (Reynolds, 1989).

2. OBJETIVO.

Obtener e identificar eugenol a partir del clavo de especia (*Eugenia caryophyllata*).

3. PRE-LABORATORIO.

- 1) Escriba el fundamento teórico de la destilación por arrastre de vapor.
- 2) Explique brevemente en qué consiste la formación de puentes de hidrógeno intermoleculares e intramoleculares. ¿Qué influencia tienen éstos en una destilación por arrastre de vapor?
- 3) Escriba las características que debe tener una sustancia para que ésta sea arrastrable con vapor.
- 4) Explique en qué consiste el proceso de partición utilizando las propiedades ácido-base de los compuestos a separar.
- 5) Analice paso a paso la técnica.

4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

4.1 MATERIALES.

MATERIAL BIOLÓGICO.

25 g de semilla de clavo (*especie*).

MATERIAL DE VIDRIO.

1 Matraz Erlenmeyer de 1000 ml.

1 Equipo Quifick.

2 Vasos de precipitado de 250 ml.

1 Embudo de separación.

MATERIAL DIVERSO.

3 Soportes universales.

2 Mecheros.

2 Pinzas para matraz.

2 Pinzas para refrigerante.

1 Parrilla.

Mangueras.

4.2 REACTIVOS.

Agua deionizada.

Cloroformo.

Eter etílico.

Hidróxido de sodio.
Acido sulfúrico.
n-Hexano.
Permanganato de Potasio.
Nitrato de plata.
Acetona.

4.3 REACTIVIDAD Y TOXICIDAD.

Cloroformo: Muy tóxico por inhalación; narcótico. Su prolongada inhalación o ingestión puede ser fatal (Hawley, 1985).

Eter etílico: extremadamente inflamable; serios peligros de explosión e incendio cuando se expone al calor o llama. Forma peróxidos explosivos. Depresivo SNC por inhalación y absorción dérmica (Hawley, 1985).

Hidróxido de sodio: Muy tóxico por ingestión e inhalación; fuerte irritante para el tejido (ojos, piel y membranas mucosas). (Hawley, 1985).

Acido sulfúrico: Muy tóxico; fuerte irritante para los tejidos. Tener gran precaución al mezclarlo con agua debido a la evolución de calor que causa salpicaduras explosivas. Siempre añadir al ácido al agua, nunca al revés (Hawley, 1985).

n-Hexano: Inflamable, riesgo de incendio, peligroso. Moderadamente tóxico por ingestión o inhalación (Hawley, 1985).

Permanganato de Potasio: Muy tóxico por ingestión e inhalación, fuerte irritante de los tejidos. Peligro de incendio en contacto con materias orgánicas. Poderoso agente oxidante (Hawley, 1985).

Nitrato de plata: Su ingestión puede causar gastroenteritis severa, convulsiones, coma, parálisis y depresión respiratoria (Hawley, 1985).

Acetona: Altamente flamable. El uso tópico prolongado puede causar eritema y resequedad. La inhalación puede producir dolor de cabeza, fatiga, irritación bronquial y, en grandes cantidades, dispnea, bradipnea, hipotermia, bradicardia, narcosis (Hawley, 1985).

4.4 TECNICA.

1. 25 g de clavo de especie se trituran en un molino de aspas metálicas (*licuadora*), se pasan a un matraz y se monta el aparato para destilación por arrastre de vapor (Ver diagrama No.1).
2. Se procede a calentar el matraz que contiene el agua destilada, cuando empieza a generarse el vapor, se hace pasar éste por el matraz que contiene la muestra hasta que no salgan más gotas oleosas mezcladas en el agua condensada más o menos

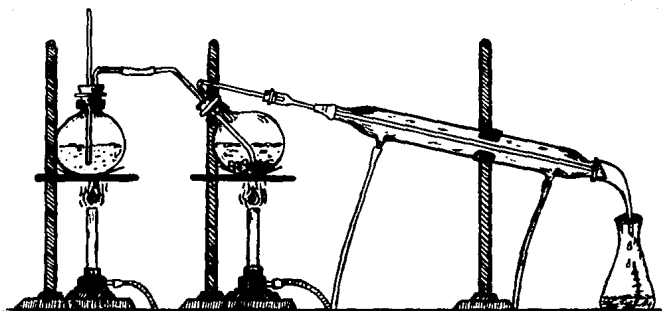


DIAGRAMA No. 1

APARATO DE DESTILACION POR ARRASTRE DE VAPOR

medio litro.

3. El destilado se traslada a un embudo de separación, generalmente la esencia se reúne en el fondo. Extraer con 5 porciones de 50 ml cada una de cloroformo.
4. El cloroformo se destila a presión reducida hasta obtener un pequeño volumen.
5. La esencia cruda se agita con exceso de hidróxido de sodio 2N.
6. La solución alcalina se lava en el mismo embudo de separación con éter, y la capa etérea se desecha.
7. Acidular la capa acuosa con ácido sulfúrico diluido al 10%; el eugenol libre queda en forma de aceite insoluble, que se separa de la capa acuosa y se deposita en la parte inferior del embudo de separación.
8. Realizar una cromatografía, empleando n-hexano - cloroformo (3:2) como fase móvil, y como soluciones reveladoras: permanganato de potasio en ácido sulfúrico (solución saturada) y nitrato de plata en acetona (solución saturada).

5. REGISTRO Y ORGANIZACION DE DATOS.

TABLA No. 1. RENDIMIENTO DE EUGENOL OBTENIDO.

Peso de la muestra	ml de aceite obtenido	Rendimiento en %

TABLA No. 2. PRUEBAS DE IDENTIDAD.

Reactivo	Observaciones
Permanganato de Potasio	
Nitrato de Plata	

6. ANALISIS DE RESULTADOS.

1. ¿En qué consiste una extracción con disolvente activo?
2. Mediante un diagrama de flujo, describa la extracción de eugenol.
3. Explique por qué el vapor que se condensa durante la destilación por arrastre de vapor es generalmente turbio.
4. Explique la técnica paso a paso utilizando reacciones química si es necesario.
5. Asigne cada una de las señales de los espectros IR y RMN¹H, para el eugenol (Ver Anexo I).

7. REPORTE.

- * **INTRODUCCION:** Investigar los datos botánicos, etnobotánicos, fitoquímicos y farmacológicos de la Eugenia caryophyllata. Además investigue las propiedades físico-químicas,

farmacológicas y toxicológicas del eugenol.

- * **OBJETIVO.**
- * **FUNDAMENTO DE LA TECNICA:** Investigue el fundamento de la destilación por arrastre de vapor y extracción con disolvente activo. Investigue las reacciones de identificación de compuestos más comunes.
- * **REGISTRO Y ORGANIZACION DE DATOS:** Entrega de resultados del rendimiento e identificación.
- * **ANALISIS DE RESULTADOS:** Entrega de cuestionario.
- * **CONCLUSIONES.**
- * **BIBLIOGRAFIA.**

8. REFERENCIAS.

1. Domínguez, X.A. 1988. Métodos de Investigación Fitoquímica. México, D.F. Ed. Limusa. pp. 229-239.
2. Harborne, J.B. 1984. Phytochemical Methods a Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. (2a. Ed.) New York, N.Y.
3. Pavia, D.L. 1976. Introduction to Organic Laboratory Technique. Philadelphia. A Contemporary Approach. W.B. Saunders Co. pp. 568-569.
4. Shriner, F.C. Identificación Sistemática de Compuestos Orgánicos. México, D.F. Ed. Limusa. pp. 123-197.
5. Clarke, E.G.C. 1974. Isolation e Identification of Drugs in Pharmaceuticals, Body Fluids and Post-mortem Material. London.

- The Pharmaceutical Press. pp. 343.
6. Hawley, G. 1985. Diccionario de Química y Productos Químicos. Barcelona. Ediciones Omega. pp. 215, 373, 454, 708, 777, 797, 798.
 7. Reynolds, J.E. 1989. Martindale. The Extra Pharmacopoeia (29a. Ed). London. The Pharmaceutical Press. pp. 1062, 1063.
 8. Younken, H.W. 1959. Tratado de Farmacognosia. México, D.F. Ed. Atlante. pp. 790, 791.
 9. Fontquer, P. Medicamenta Guía Teórico-Práctica para Farmacéuticos y Médicos. Madrid, España. Ed. Labor. pp. 435, 437, 627.
 10. Casamada, R.S.M. 1957. Farmacognosia Descriptiva. Barcelona. Ed. Científico-Médica. pp. 177,178.
 11. Trease, et. al. 1977. Farmacognosia. México, D.F. Ed. C.E.C.S.A. pp. 704-710.
 12. Varro, T. et. al. 1979. Farmacognosia. (2a.Ed.). Buenos Aires, Argentina. Ed. El Ateneo. pp. 134.
 13. Rios, J.C. et. al. 1986. Reagents for Screening Medicinal Plants by Thin-layer Chromatography. A Review. Fitoterapia. Volumen LVII. No. 3. Valencia, España. pp. 158.

PRACTICA No. 5

TERPENOIDES.

OBTENCION E IDENTIFICACION DE ALCANFOR.

1. INTRODUCCION.

Los aceites esenciales o esencias vegetales son mezclas de un número variable de sustancias orgánicas olorosas. Por lo general se obtienen por arrastre con vapor. En un aceite esencial pueden encontrarse hidrocarburos alicíclicos y aromáticos, así como sus derivados oxigenados; v. gr., alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, etcétera, sustancias azufradas y nitrogenadas. (Domínguez, X.A. 1988).

Las cetonas de los aceites volátiles pueden dividirse en: a) cetonas terpénicas monocíclicas que incluyen mentona, carvona, etc.; b) cetonas dicíclicas, como la 2-canfenona (alcanfor) y tuyona, y c) cetonas no terpénicas como la irona. (Tyler, V. et. al. 1979).

El alcanfor es una cetona, y es el principal constituyente del aceite de alcanfor, el cual es obtenido de la madera y hojas del árbol de alcanfor, Cinnamomum camphora (Linne) Ness et Ebermarier, familia Lauraceae (Florey. 1984), y purificado por

sublimación o preparado sintéticamente. El producto natural es dextrorrotatorio y el producto sintético es ópticamente inactivo. (Martindale. 1989).

Cristales incoloros transparentes, masas cristalinas, bloques, o masas polvosas, conocidas como "flores de alcanfor" (Clarke, E.G.C. 1964), que aplicado externamente actúa como rubefaciente y analgésico suave. Tomado internamente el alcanfor tiene propiedades irritantes y carminativas y ha sido usado como un espectorante suave y para aliviar gripe. (Martindale. 1989).

2. OBJETIVO.

Obtener e identificar alcanfor por medio de una destilación por arrastre de vapor a partir de Cinnamomum camphora.

3. PRELABORATORIO.

1. Investigue las propiedades físico-químicas del alcanfor.
2. ¿Cuál es el fundamento de la destilación fraccionada?
3. ¿Cuál es el fundamento de la sublimación?
4. Analice paso a paso la técnica.

4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

4.1 MATERIALES.

MATERIAL BIOLÓGICO.

35 g de hojas y/o tronco de Cinnamomum camphora.

MATERIAL DE VIDRIO.

- 1 Equipo Quifick.
- 1 Matraz erlenmeyer de 1000 ml.
- 3 Vasos de precipitado de 250 ml.
- 1 Embudo de tallo corto.
- 1 Vidrio de reloj.
- 1 Pipeta graduada de 5 ml.
- 3 Tubos de ensayo.

MATERIAL DIVERSO.

- 3 Soportes universales.
- 2 Pinzas de tres dedos con nuez.
- 2 Pinzas para matraz.
- 2 Mecheros.
- 1 Parrilla.
- 1 Baño María.
- 1 Pinzas para tubo.
- Mangueras

4.2 REACTIVOS.

Agua destilada.
Vainillina.
Acido clorhídrico.
Etanol.
Acido fosfomolibdico.
Acido sulfúrico.
Furfural.
Hielo.
Fibra de vidrio.

4.3 REACTIVIDAD Y TOXICIDAD.

Acido clorhídrico: Muy tóxico por ingestión e inhalación; fuerte irritante para los ojos y la piel (Hawley, 1985).

Etanol: Inflamable, peligroso riesgo de incendio. Veneno no acumulativo, puede tener efectos tóxicos y narcóticos por ingestión (Hawley, 1985).

Acido fosfomolibdico: En solución puede quemar materiales combustibles (Hawley, 1985).

Acido sulfúrico: Muy tóxico; fuerte irritante para los tejidos. Tener gran precaución al mezclarlo con agua debido a la evolución de calor que causa salpicaduras explosivas. Siempre añadir el ácido al agua nunca al revés (Hawley, 1985).

Furfural: Muy tóxico; se absorbe por la piel. Irritante para los ojos, piel y membranas mucosas (Hawley, 1985).

4.4 TECNICA.

1. Poner en un matraz bola, 100 g de hojas de Cinnamomum camphora. Montar el aparato para destilación por arrastre de vapor. Destilar hasta que no salgan más gotas oleosas en el agua condensada.
2. Se obtiene un aceite semicristalino que se filtra obteniéndose alcanfor crudo y aceite de alcanfor.
3. El aceite de alcanfor se destila por destilación fraccionada. Se obtiene alcanfor crudo y aceite de alcanfor descanforizado. (Ver diagrama No. 1).
4. Reunir el alcanfor crudo obtenido por arrastre de vapor con el alcanfor crudo obtenido por destilación fraccionada. Calcular el rendimiento.
5. Purificar el alcanfor crudo por sublimación, poniéndolo en un vaso de precipitado tapado con un vidrio de reloj previamente pesado, sobre el cual se pone un hielo. El vaso se calienta en baño María hasta su completa sublimación.
6. Los cristales de alcanfor se depositan en el vidrio de reloj, el cual se pesa para sacar el rendimiento.
7. Realizar tres pruebas de identidad, colocando una porción de alcanfor en cada uno de tres tubos de ensayo, de la siguiente manera:

a) Agregar 1 ml de solución al 1% de vainillina en ácido clorhídrico al 25% y calentar en un baño de agua a 75°C-100°C. Se obtiene un color azul pasando por verde.

b) Poner 2 ml de una solución etanólica al 0.5% de alcanfor, adicionar 5 ml de una solución al 5% de ácido fosfomolibdico y 5 ml de ácido sulfúrico. Se obtiene un precipitado amarillo verdoso, el cual rápidamente se torna verde y desaparece agitando.

c) Adicionar furfural y ácido sulfúrico. El alcanfor da un líquido café-rojizo el cual lentamente se torna púrpura.

5. REGISTRO Y ORGANIZACION DE DATOS.

Peso de muestra	Peso alcanfor obtenido	Rendimiento en %	Ident. a	Ident. b	Ident. c

6. ANALISIS DE RESULTADOS.

1. Mediante un diagrama de flujo, describa la extracción del alcanfor.
2. Escriba las reacciones de identificación que se llevan acabo en las pruebas de identidad.

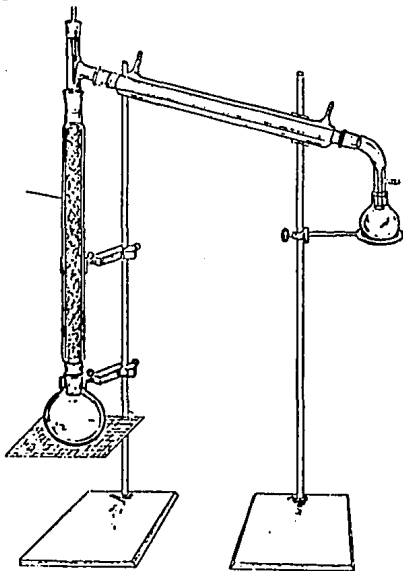


DIAGRAMA No. 1

APARATO DE DESTILACION FRACCIONADA

3. Asigne cada una de las señales de los espectros de UV, IR, RMN¹³C, para el alcanfor.

7. REPORTE.

- * **INTRODUCCION:** Investigar los datos botánicos, etnobotánicos, fitoquímicos y farmacológicos del alcanfor.
- * **OBJETIVO.**
- * **FUNDAMENTO DE LA TECNICA:** Investigue el fundamento físico-químico de la destilación fraccionada.
- * **REGISTRO Y ORGANIZACION DE DATOS:** Entrega de tabla.
- * **ANALISIS DE RESULTADOS:** Analice sus resultados y entregue el cuestionario.
- * **CONCLUSIONES.**
- * **BIBLIOGRAFIA.**

8. REFERENCIAS.

1. Domínguez, X.A. 1988. Métodos de Investigación Fitoquímica. México, D.F. Ed. Limusa. pp. 229.
2. Clarke, E.G.C. 1974. Isolation e Identification of Drugs Pharmaceuticals, Body Fluids and Post-mortem Material. London. The Pharmaceutical Press. pp. 235.

3. Hawley, G. 1985. Diccionario de Química y Productos Químicos. Barcelona. Ediciones Omega. pp. 209, 372, 414, 421, 797, 798.
4. Reynolds, J.E. 1989. Martindale. The Extra Pharmacopoeia (29a. Ed.). London. The Pharmaceutical Press. pp. 1552, 1553.
5. Florey, K. 1983. Analytical Profiles of Drugs Sustances. Volume 13. Academic Press, Inc. USA. 1983. pp. 27-93.
6. Varro, T. et. al. 1979. Farmacognosia. (2a. Ed.) Buenos Aires, Argentina. Ed. El Ateneo. pp. 130.

PRACTICA No. 6

FLAVONOIDES Y TERPENOIDES

1. INTRODUCCION.

Hyptis albida pertenece a la familia Lamiaceae (Epling, 1949), y un primer estudio químico del contenido metabólico de esta especie medicinal se realizó con fines meramente quimiotaxonómicos, el cual permitió el aislamiento de una serie de compuestos flavonoides y triterpenoides (Pereda, 1988).

La Hyptis albida es usada como condimento, carminativo, remedio para el mal de ojo y dolores reumáticos, antihelmíntico y como repelente de insectos (Novelo, 1990).

Los flavonoides son pigmentos vegetales que poseen un esqueleto carbonado $C^6C^3C^6$ (Dominguez, 1988).

Los flavonoides hasta el momento aislados de la especie Hyptis albida son: Ermanina; 4',7-Eter dimetilico de la apigenina; 3,4',7-Eter trimetilico del Kaempferol; Nevadensina A; Eupatorina; Gardenina B.

2. OBJETIVO.

Obtener e identificar ácido ursólico y flavonoides presentes en Hyptis albid.

3. PRE-LABORATORIO.

1. Investigue los datos botánicos, etnobotánicos, fitoquímicos y farmacológicos de Hyptis albid.
2. ¿Cuál es el fundamento de la cromatografía en columna abierta?
3. ¿Cómo se clasifican los métodos cromatográficos de acuerdo a la naturaleza de la fase estacionaria?
4. ¿Qué factores se deben tomar en cuenta en la elección de un adsorbente para una separación cromatográfica determinada?
5. ¿Qué es un eluato?
6. Investigue las características generales de los flavonoides.

4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

4.1 MATERIALES.

MATERIAL BIOLÓGICO.

100 g de hojas secas y molidas de Hyptis albida (orégano, salvia, salvia real o salvia blanca).

MATERIAL DE VIDRIO.

1 Equipo Quifick.

1 Probeta de 500 ml.

3 Embudos tallo corto.

1 Columna cromatográfica.

3 Vasos de precipitado de 250 ml.

20 Tubos de ensayo.

1 Probeta de 100 ml.

Capilares.

Cámara cromatográfica.

1 Vaso de precipitado de 500 ml.

1 Vaso de precipitado de 50 ml.

2 Pipetas graduadas de 10 ml.

1 Embudo de separación.

MATERIAL DIVERSO.

Mangueras.

2 Soportes universales.

2 pinzas de tres dedos con nuez.

1 Parrilla.

1 Balanza granataria.

Papel filtro.

Pinzas de Mohr.

Cromatofolios.

Aspersor.

Baño María.

4.2 REACTIVOS.

Acetona.

Sílica gel para cromatografía en columna.

n-Hexano.

Acetato de etilo.

Sulfato cérico.

Acido sulfúrico.

Hielo.

Piridina.

Anhídrido acético.

Eter etílico.

Cloroformo.

Acido clorhídrico.

Bicarbonato de sodio.
Sulfato de sodio anhidro.

4.3 REACTIVIDAD Y TOXICIDAD.

Acetona: Inflamable, peligroso riesgo de incendio. Moderadamente tóxico (Hawley, 1985).

n-Hexano: Inflamable; riesgo de incendio, peligroso. Moderadamente tóxico por ingestión o inhalación (Hawley, 1985).

Acetato de etilo: Inflamable; riesgo de incendio y explosión, peligroso. Moderadamente tóxico por inhalación y absorción por la piel. Irrita los ojos y la piel (Hawley, 1985).

Sulfato cérico: Riesgo de incendio en contacto con materias orgánicas (Hawley, 1985).

Acido sulfúrico: Muy tóxico; fuerte irritante para los tejidos. Tener gran precaución al mezclarlo con agua debido a la evolución de calor que causa salpicaduras explosivas. Siempre añadir el ácido al agua, nunca al revés (Hawley, 1985).

Piridina: Tóxico por ingestión e inhalación. Inflamable, peligroso riesgo de incendio (Hawley, 1985).

Anhídrido acético: Muy tóxico; irritante y corrosivo; puede

producir quemaduras y dañar los ojos. Inflamable; moderado riesgo de incendio (Hawley, 1985).

Eter etílico: Extremadamente inflamable; serios peligros de explosión e incendio cuando se expone al calor o llama. Forma peróxidos explosivos. Depresivo SNC por inhalación y absorción dérmica (Hawley, 1985).

Cloroformo: Muy tóxico por inhalación; narcótico. Su prolongada ingestión o inhalación puede ser fatal (Hawley, 1985).

Acido clorhídrico: Muy tóxico por ingestión e inhalación; fuerte irritante para los ojos y la piel (Hawley, 1985).

Sulfato de sodio anhidro: (Solución) muy tóxica y fuerte irritante (Hawley, 1985).

4.4 TECNICA.

1. Extraer el material vegetal seco y molido con 500 ml de acetona a reflujo durante 30 minutos.
2. Decantar el disolvente de extracción y filtrar. Concentrar por destilación. Pesar la cantidad de extracto obtenido.
3. Fraccionar el extracto en una columna empacada en húmedo de la siguiente manera:
 - a) Humedecer con el disolvente inicial (*n*-hexano) un copo de algodón y colocar en la parte estrecha de la columna para retener el absorbente dentro del tubo.

- b) En un vaso de precipitado humedecer 50 g de sílica gel con n-hexano hasta formar una "papilla".
- c) Colocar un poco de n-hexano en la columna y luego vertir la "papilla" sobre éste, dejando que el adsorbente se sedimente.
- d) En el extremo inferior de la columna se coloca un trozo de manguera y las pinzas de Mohr, la cual se abre para dejar salir el disolvente lentamente hasta la completa sedimentación del adsorbente (el cual siempre debe estar húmedo para evitar que la columna se fracture). (Ver diagrama No. 1).
- e) A 1 g de extracto obtenido se le agrega un poco de sílica gel hasta formar una "papilla", la cual se coloca en la parte superior de la columna.
4. Eluir la columna utilizando como primer disolvente n-hexano y continuar de la siguiente manera:

Sistema de elución n-hexano/acetato de etilo	No. de eluatos
9:1	1-10
8:2	11-20
8:2	21-30
8:2	41-50
7:3	51-60

5. El volumen de los eluatos es de 20 ml y concentrar a 3 ml aproximadamente.
6. Detectar ácido ursólico en las fracciones mediante cromatografía en capa fina usando como referencia una muestra auténtica. Emplear como sistema de elución n-hexano-acetato de etilo (3:2) y como agente revelador reactivo de sulfato cérico (Ver Anexo II). Se desarrolla un color rojo.

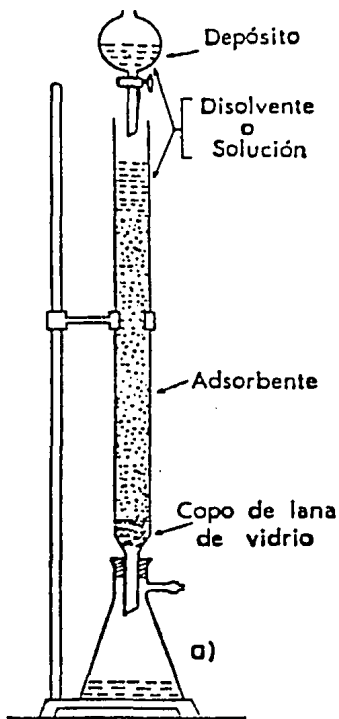


DIAGRAMA No. 1

APARATO PARA CROMATOGRAFIA EN COLUMNA ABIERTA

7. Unir las fracciones en donde se encontró ácido ursólico y detectar un constituyente flavonoide minoritario de semejanza polaridad al ácido ursólico mediante una acetilación:
 - a) Depositar en un vaso de precipitado de 50 ml, 1 g de muestra, disolver en 10 ml de piridina; seguidamente adicionar 10 ml de anhídrido acético. Calentar en baño María durante 3 horas.
 - b) Adicionar hielo picado.
 - c) En caso de formación de cristales, filtrar y lavar con éter etílico.
 - d) Por último, la mezcla de reacción se extrae con cloroformo, la fase orgánica se lava con ácido clorhídrico al 10% y después con solución saturada de bicarbonato de sodio y enseguida con agua.
 - e) La misma fase orgánica se seca con sulfato de sodio anhidro, se filtra y se evapora el disolvente.
8. Realizar una cromatografía en capa fina empleando el mismo sistema y revelador que para el ácido ursólico, usando como referencia el derivado acetilado del 3,4',7-éter trimetílico del kaempferol.
9. Realizar una cromatografía bidimensional con los eluatos 51-60 en un cromatofolio de 20 x 20. Eluir en un sistema de n-butanol-ácido acético-agua (4:1:5). Dejar secar.
10. Girar la placa hacia la izquierda y eluir en una solución acuosa de ácido acético al 5%.
11. Revelar en una solución de hidróxido de sodio al 10% y marcar

las manchas. Identificar a qué grupo de flavonoide pertenecen, de acuerdo al color obtenido.

5. REGISTRO Y ORGANIZACION DE DATOS.

TABLA No. 1 REGISTRO DE PRODUCTOS OBTENIDOS

Sistema de elución n-hexano/AcOEt	No. de eluatos	Fracción obtenida
9:1	1-10	
8:2	11-20	
8:2	21-30	
8:2	41-50	
7:3	51-60	

TABLA No. 2 IDENTIFICACION DE FLAVONOIDES

Color de la mancha	Tipo de flavonoide	Resultado
Amarillo	Flavonas y Flavonoles	
Rojo	Flavonas e isoflavonas	
Púrpura rojizo	Chalconas	
Café-anaranjado	Flavonoles	
Azul	Antocianinas	

6. ANALISIS DE RESULTADOS.

1. ¿En qué fracción se obtuvo el ácido ursólico?
2. Mencione la importancia de la cromatografía en columna en los procedimientos de separación de mezclas de compuestos.
3. Escriba la reacción de acetilación.
4. Escriba las reacciones de identidad de los flavonoides con hidróxido de sodio y explique por qué dan compuestos coloridos.
5. Explique la utilidad de formación de derivados químicos en la investigación fitoquímica.
6. Analice cada paso de la técnica.
7. Asigne señales a los espectros IR, RMN¹H de los flavonoides presentes en Hyptis albida (Ver anexo I).

7. REPORTE.

- * **INTRODUCCION:** Investigue los datos botánicos, etnobotánicos, fitoquímicos y farmacológicos de Hyptis albida.
- * **OBJETIVO.**
- * **FUNDAMENTO DE LA TECNICA:** Investigue el fundamento físico-químico de la cromatografía en columna. Tipos de adsorbentes y eluyentes.
- * **REGISTRO Y ORGANIZACION DE DATOS:** Entrega de tablas.
- * **ANALISIS DE RESULTADOS:** Analice sus resultados y entregue el

cuestionario.

* CONCLUSIONES.

* BIBLIOGRAFIA.

8. REFERENCIAS.

1. Domínguez, X.A. 1988. Métodos de Investigación Fitoquímica. México, D.F. Ed. Limusa. pp. 81,84.
2. Epling, C. 1949. Rev. del Museo de la Plata, Secc. Botánica. Argentina. pp.153.
3. Pereda, R. 1988. Evaluación Estructural y Estereoquímica de Nuevos Metabolitos Secundarios Aislados de Laviatae (Salvia e Hyptis). Tesis de Maestría. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. México, D.F.
4. Tomás-Barberán, F.A. et. al. 1988. *Phytochemistry*, 27. 2631.
5. Harborne, J.B. 1984. Phytochemical Methods. A. Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. (2a. Ed.). New York, N.Y. Published in USA by Chapman and Hall. pp. 56-61.
6. Novelo Torres Alma Miriam. 1990. 5,7-dihidroxi 4'metoxiflavanona, la isosakuranetina, Constituyente Bioactivo de la Salvia blanca (Hyptis albida). Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. U.N.A.M. México, D.F.

PRACTICA No. 7

ESTUDIO FITOQUIMICO BIODIRIGIDO.

1. INTRODUCCION.

En la actualidad las estrategias básicas para la investigación de plantas usadas en la medicina tradicional, incluyen: Métodos biodirigidos (*Fitoquímica biodirigida*) y Métodos convencionales (*Fitoquímica convencional*). (Powell y Smith, 1980).

En el caso de los primeros se emplea un bioensayo conveniente para guiar el aislamiento de los constituyentes bioactivos, sin importar sus propiedades químicas o sus concentraciones relativas en los extractos.

Estos estudios garantizan la obtención de compuestos bioactivos, muchos de los cuales resultan ser estructuralmente novedosos contribuyendo no solamente al campo de la Química Farmacéutica, sino también, a otras áreas más específicas del conocimiento de los productos naturales. En contraste, los métodos tradicionales implican el aislamiento del mayor número posible de metabolitos secundarios para posteriormente investigar su actividad biológica. En cambio, estudios

biodirigidos garantizan la obtención de compuestos bioactivos.

Uno de los bioensayos que se han utilizado y que han demostrado tener excelente correlación con otras actividades más específicas como citotoxicidad, es la determinación de la toxicidad para el crustáceo Artemia salina Leach. (Meyer, et.al., 1983).

El ensayo se basa en la premisa de que los compuestos bioactivos son tóxicos a altas dosis y letales en un organismo simple utilizado como medio para monitorear su actividad directamente.

2. OBJETIVO.

Utilizar el método fitoquímico biodirigido para determinar la toxicidad contra el crustáceo Artemia salina Leach como bioensayo preliminar en tres extractos clorofórmicos de plantas mexicanas utilizadas en la Medicina Tradicional.

3. PRELABORATORIO.

1. ¿En qué consisten los estudios fitoquímicos convencionales?
2. ¿En que consisten los estudios fitoquímicos biodirigidos?
3. Defina las características de un bioensayo preliminar.

4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

4.1 MATERIALES.

MATERIAL BIOLÓGICO.

Extracto clorofómico de Chenopodium graveolens.

Extracto clorofómico de Psidium guajava.

Extracto clorofómico de Quercus sp.

Huevecillos de Artemia salina Leach.

MATERIAL DE VIDRIO.

3 Vasos de precipitados de 10 ml.

27 Frascos viales.

3 Micropipetas.

1 Pipeta graduada de 5 ml.

1 Vaso de precipitados de 250 ml.

MATERIAL DIVERSO.

1 Recipiente metálico.

1 Foco.

1 Gradilla.

1 Pinzas.

1 Lámpara.

4.2 REACTIVOS.

Sal marina Ocean Pacific.

Agua destilada.

Cloroformo.

4.3 REACTIVIDAD Y TOXICIDAD.

Cloroformo: Muy tóxico por inhalación; narcótico. Su prolongada inhalación o ingestión puede ser fatal (Hawley, 1985).

4.4 TECNICA.

PREPARACION DE LAS MUESTRAS.

1. Disolver 20 mg de los extractos vegetales en 2 ml de cloroformo (*Solución Original*).
2. Transferir a tres frascos viales en forma independiente y por triplicado 500, 50 y 5 mcl de la solución original.
3. Finalmente se deja evaporar el disolvente de cada una de las soluciones al vacío, hasta sequedad total.

BIOENSAYO.

1. Depositar en un recipiente que contenga solución salina, huevecillos de Artemia salina. Mantener a 25 °C en un baño de agua y colocar un foco sobre el recipiente. Incubar 48

horas.

2. Después de haber desarrollado durante 48 hrs, los huevecillos de A. salina, transferir 10 especímenes a cada uno de los frascos viales conteniendo la muestra evaluar.
3. Aforar a 5 ml con medio salino, para que corresponda a 1000, 100 y 10 ppm de muestra.
4. 24 horas más tarde se registran el número de organismos sobrevivientes. Los resultados finales se expresan en porcentaje de mortalidad de los crustáceos y calculando la concentración letal media, (CL_{50}).

5. REGISTRO Y ORGANIZACION DE DATOS.

Nombre científico: _____

Extracto: _____

Concentración	No. de sobrevivientes			% de mortalidad
1000 ppm				
100 ppm				
10 ppm				

Observaciones: _____

6. ANALISIS DE RESULTADOS.

1. Indicar en que extracto vegetal se comprobó la actividad tóxica para el crustáceo A. salina Leach.
2. Explique las ventajas y desventajas al utilizar un método fitoquímico biodirigido en comparación con el convencional.
3. Investtigue 2 bioensayos preliminares que se utilicen para este tipo de estudios.
4. Investigue un bicensayo que se utilice para comprobar alguna actividad farmacológica de su interés.

7. REPORTE.

- * **INTRODUCCION:** Investigue los datos botánicos, etnobotánicos, fitoquímicos y farmacológicos de las tres especies estudiadas.
- * **OBJETIVO.**
- * **FUNDAMENTO DE LA TECNICA:** Describa en que consiste un estudio fitiquímico biodirigido.
- * **REGISTRO Y ORGANIZACION DE RESULTADOS:** Entrega de tablas.
- * **ANALISIS DE RESULTADOS:** Analice sus resultados y entregue el cuestionario.
- * **CONCLUSIONES.**

* BIBLIOGRAFIA.

8. REFERENCIAS.

1. Powell, P.G; Smith, C.R. 1980. Recent Advances in Phytochemistry. 14. Plenum, N.Y. U.S.A. pp. 23.
2. Mayer. B.F. et. al. 1983. Planta Médica. pp. 31, 45.
3. Lugo, E. 1990. Plantas Medicinales de México. Introducción a su Estudio. (2a. Ed.) México, D.F. Departamento de Fitotecnia. Unidad de Estudios Etnobotánicos. Universidad Autónoma Chapingo. pp. 407-427.
4. Hawley, G. 1985. Diccionario de Química y Productos Químicos. Barcelona. Ediciones Omega. pp. 215.

PRACTICA No. 8

ELABORACION DE UN PROYECTO DE INVESTIGACION.

1. INTRODUCCION.

El progreso de la fitoquímica, en sus múltiples aspectos, tiene que fundamentarse en la observación y la experimentación. Estas en sus modalidades actuales y evolucionistas, han de basarse en el método científico tanto para el diseño de experimentos como para el muestreo de datos y su interpretación.

La investigación es un proceso complejo que requiere una cuidadosa consideración de sus objetivos, con base en el marco de referencia, y de su diseño, de acuerdo con los recursos de que se dispone (Ramírez, I. et. al. 1990).

Esta práctica pretende únicamente ser una guía de los aspectos básicos más usados en la investigación.

2. OBJETIVO.

Conocer los lineamientos de un proyecto de investigación, para que junto con las técnicas, métodos y criterio adquirido durante el curso, diseñe y desarrolle un proyecto de investigación en el área de recursos naturales.

3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

3.1 MATERIALES.

MATERIAL BIOLÓGICO.

Lo proporciona el alumno de acuerdo a su proyecto.

MATERIAL DE VIDRIO Y MATERIAL DIVERSO.

Dependerá del proyecto de investigación y éste se sujetará a aquellos con los que cuente el almacén de la Universidad.

3.2 REACTIVOS.

Dependerán del proyecto de investigación y serán aquellos con los que cuente el almacén.

3.3 TECNICA (ELABORACION DEL PROTOCOLO).

El protocolo de investigación deberá contener los siguientes puntos:

1. TITULO.

Deberá indicar en forma precisa cuál es el objeto de estudio.

2. ANTECEDENTES.

Constituyen el marco de referencia que permite ubicar el estudio en el área de conocimiento en que se inscribe el tema tratado. Los antecedentes tienen que incluir una buena revisión actualizada de la bibliografía existente sobre el problema de investigación planteado (datos botánicos, etnobotánicos, fitoquímicos, farmacológicos, etc.).

3. OBJETIVOS.

Constituyen la meta hacia la cual está orientada la investigación.

4. DEFINICION DE LA MUESTRA.

4.1 CARACTERISTICAS GENERALES.

Defina las características generales de su muestra (*hojas, rafces, flores, frutos o extractos comerciales*).

4.2 UBICACION ESPACIO TEMPORAL.

En caso de recolectar el material vegetal, se debe especificar el lugar de recolección, fecha, hora, recolector, etc.

5. DISEÑO ESTADISTICO.

Este se emplea en los casos en los cuales se trabaje con grupos y se deba comparar o sea necesario determinar algún

parámetro estadístico, media, desviación estándar, DL⁵⁰, CL⁵⁰.

6. ESPECIFICACION DE VARIABLES Y ESCALAS DE MEDICION.

Las variables son las características medibles en las unidades de estudio; deben seleccionarse en relación con los objetivos planteados y será necesario definir en qué escala se hará la medición.

7. PROCESO DE CAPTACION DE LA INFORMACION.

Describe el procedimiento que se seguirá para obtener los resultados finales (técnicas).

8. RECURSOS.

En cualquier proyecto de investigación es necesario desglosar los recursos físicos, materiales y financieros para llevar a buen término el estudio en proyecto.

8.1 RECURSOS HUMANOS.

Personas que realizan alguna actividad en el estudio.

8.2 RECURSOS MATERIALES.

En este inciso deberán describirse las instalaciones, equipo, material y reactivos con que cuenta el sitio donde se piensa realizar el estudio.

9. LOGISTICA.

Si procede, indique cuáles son las actividades principales de su estudio, la secuencia en que se deben llevar a cabo y una estimación de los tiempos para realizar cada una de ellas.

10. ETICA DEL ESTUDIO Y PROCEDIMIENTOS PELIGROSOS.

En este apartado, se mencionan los reactivos tóxicos y la manera de manipularlos para prevenir accidentes. La ética

para el trato humano a los animales de prueba.

11. ANALISIS E INTERPRETACION DE LA INFORMACION.

Una vez obtenida la información es necesario ordenar, clasificar y agrupar los resultados de cada medición conforme a criterios pertinentes al objeto de investigación.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

Detalle las citas bibliográficas completas.

4. REGISTRO Y ORGANIZACION DE RESULTADOS.

Una vez aceptado el protocolo de investigación, se desarrollará el trabajo experimental en la siguiente sesión.

El informe final deberá contener los siguientes puntos:

1. TITULO

2. INTRODUCCION

3. OBJETIVO

4. FUNDAMENTO DE LA TECNICA

5. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

5.1 MATERIALES

* MATERIAL BIOLOGICO

* MATERIAL DE VIDRIO

* MATERIAL DIVERSO

5.2 REACTIVOS

5.3 REACTIVIDAD Y TOXICIDAD

5.4 TECNICA

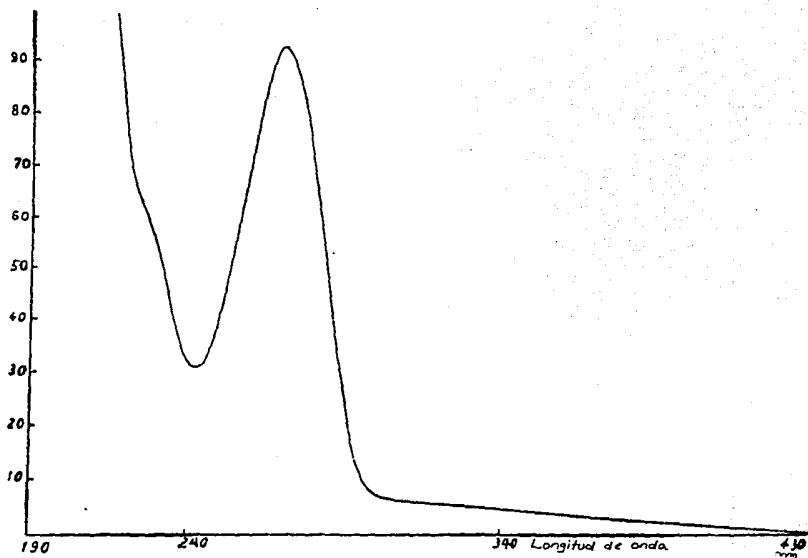
6. REGISTRO Y ORGANIZACION DE DATOS
7. ANALISIS DE RESULTADOS
8. CONCLUSIONES
9. BIBLIOGRAFIA

5. REFERENCIAS.

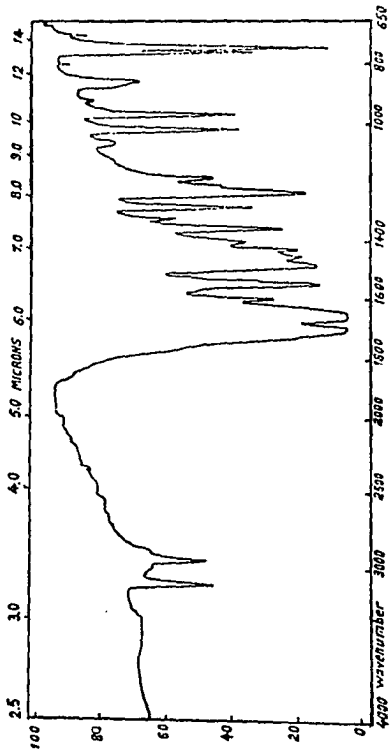
1. Méndez, I. et. al. 1990. El Protocolo de Investigación Lineamentos para su Elaboración y Análisis. (2a. Ed.) México, D.F. Ed. Trillas. pp. 5,29,30,70,71,106,107,108.
2. Gutiérrez, C. 1992. Introducción a la Metodología Experimental. México, D.F. Ed. Trillas.
3. Tamayo, M. 1988. El Proceso de la Investigación Científica. (2a. Ed.). México, D.F. Ed. Limusa.

IV. ANEXOS

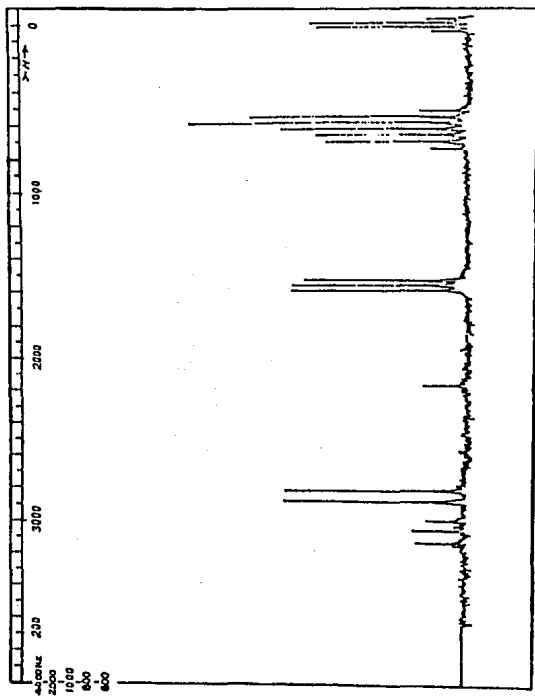
ANEXO I.
ESPECTROS.



ESPECTRO UV DE LA CAFEINA EN METANOL.



ESPECTRO IR DE LA CAFEINA.



ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR ^{13}C DE LA CAFEINA.

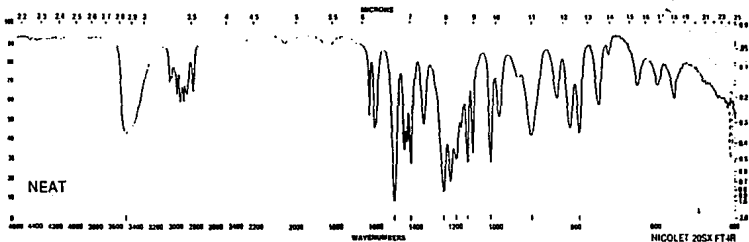
E5179-1 CAS [97-53-0]
Eugenol, 99%

FW 164.20
mp 10°C
bp 254°C

d 1.066
Fp > 235°F
n_D 1.5408

IR III, 658B
NMR II, 1,896D
Merck 10,384G

3514.3 1267.9 1034.8
1513.9 1207.0 914.4
1432.0 1149.3 795.0



ESPECTRO IR DEL EUGENOL.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

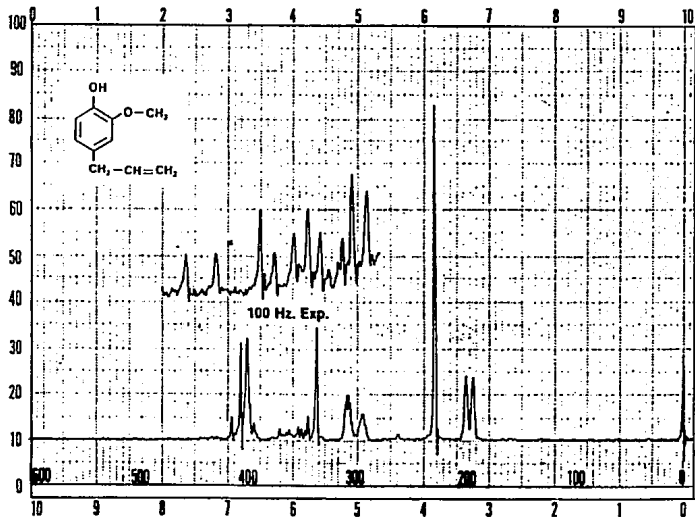
E5,179-1

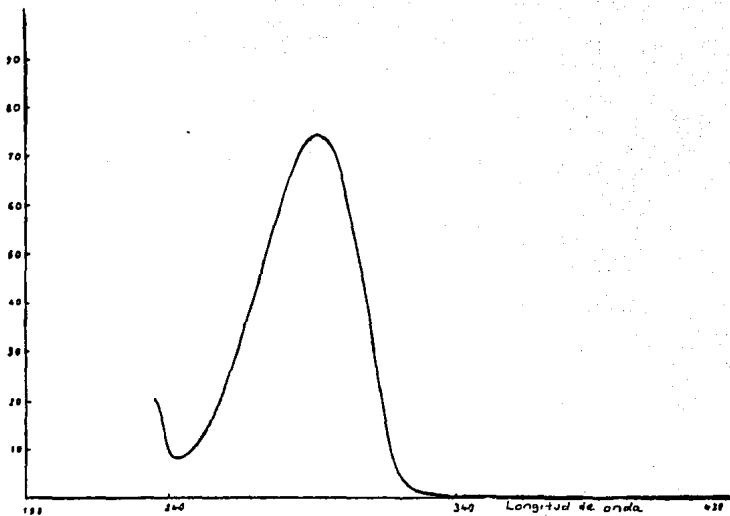
Eugenol, 99% (4-allyl-2-methoxyphenol)

4-(H₂C=CHCH₂)C₆H₃-2-(OCH₃)OH

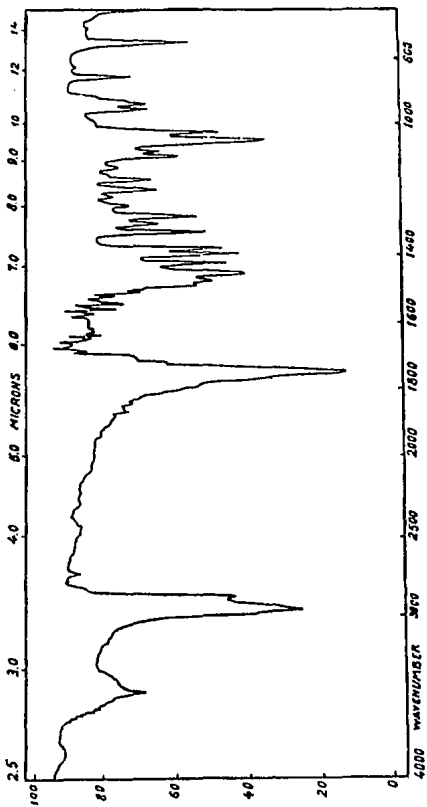
M.W. 164.2 m.p. -12 to -10° b.p. 254°

n_D 1.5408 d 1.066 Beil. 6,961 IR 496B

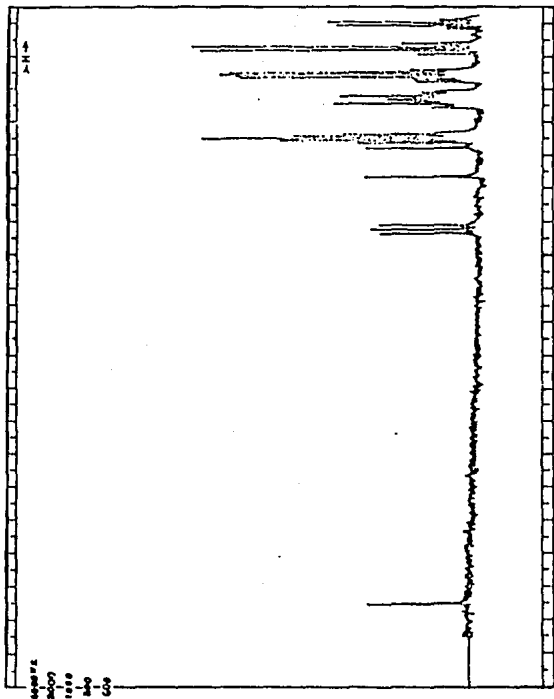




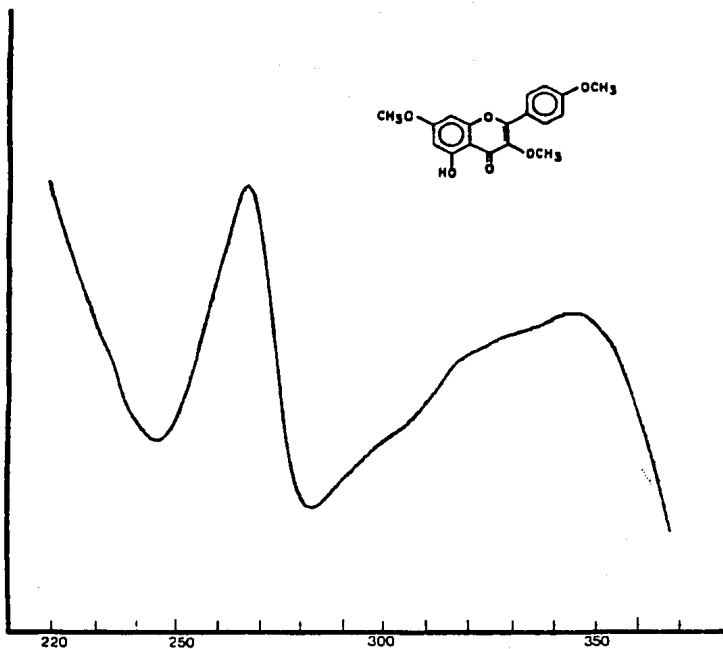
ESPECTRO UV DEL ALCANFOR EN CLOROFORMO.



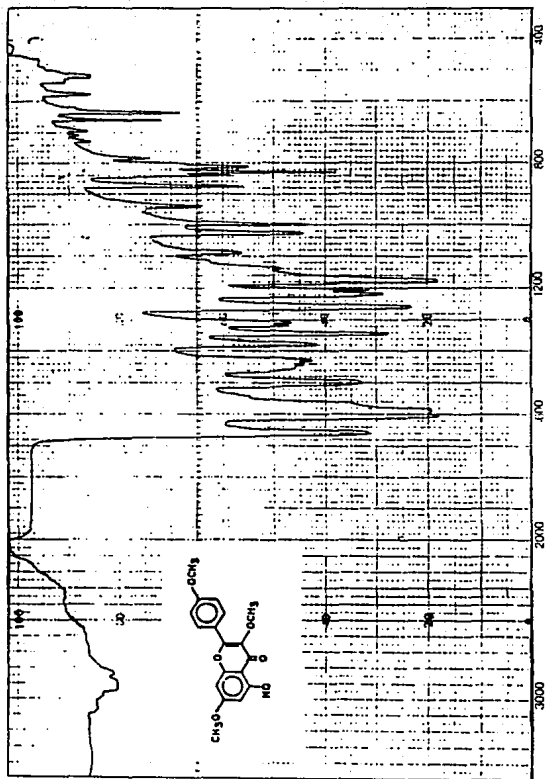
ESPECTRO IR DEL ALCANFOR.



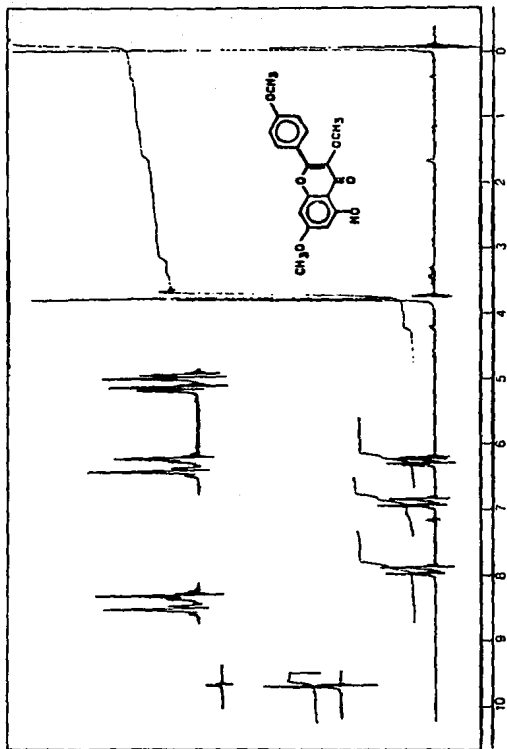
ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR ^{13}C DEL ALCANFOR.



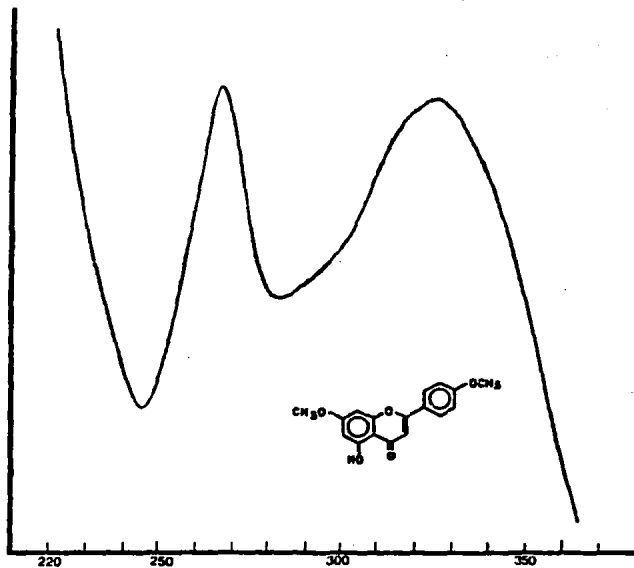
ESPECTRO UV DE LA 5-HIDROXI-3,4',7-TRIMETOXIFLAVONA.



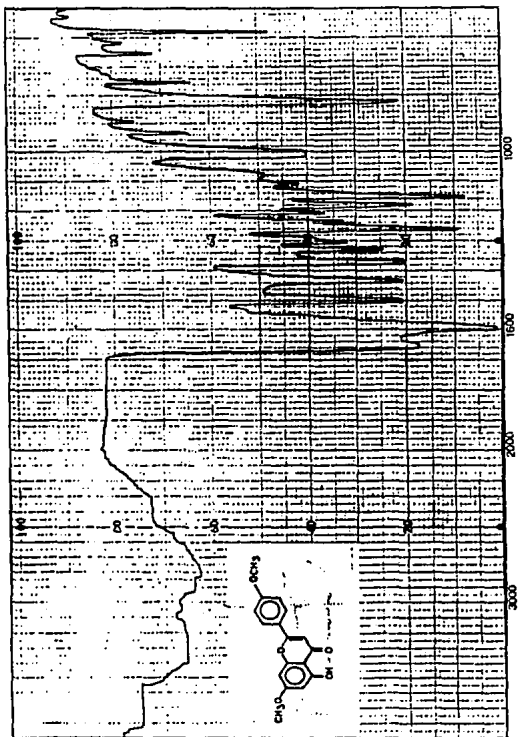
ESPECTRO IR DE LA 5-HIDROXI-3,4',7-TRIMETOXIFLAVONA.



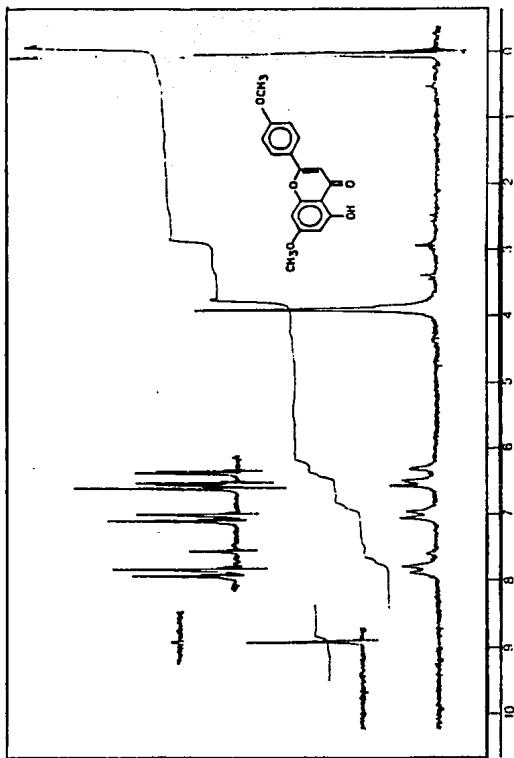
ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR ^{13}C DE LA 5-HIDROXI-
3,4',7-TRIMETOXIFLAVONA.



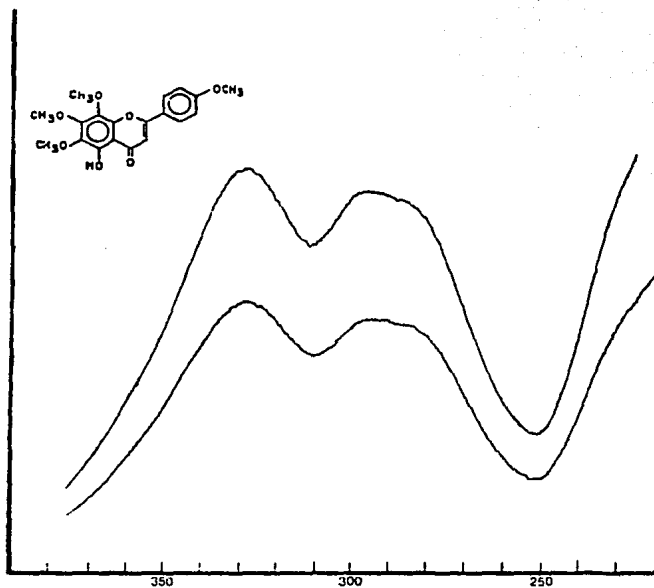
ESPECTRO UV DE LA 5-HIDROXI-4',7-DIMETOXIFLAVONA.



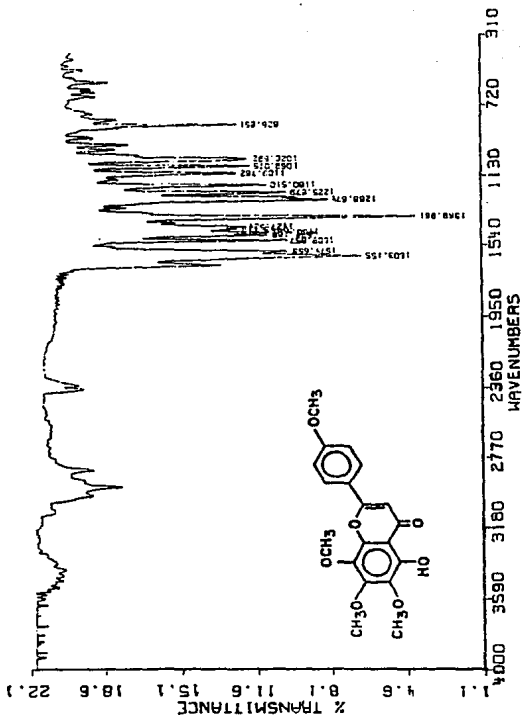
ESPECTRO IR DE LA 5-HIDROXI-4',7-DIMETOXIPLAVONA.



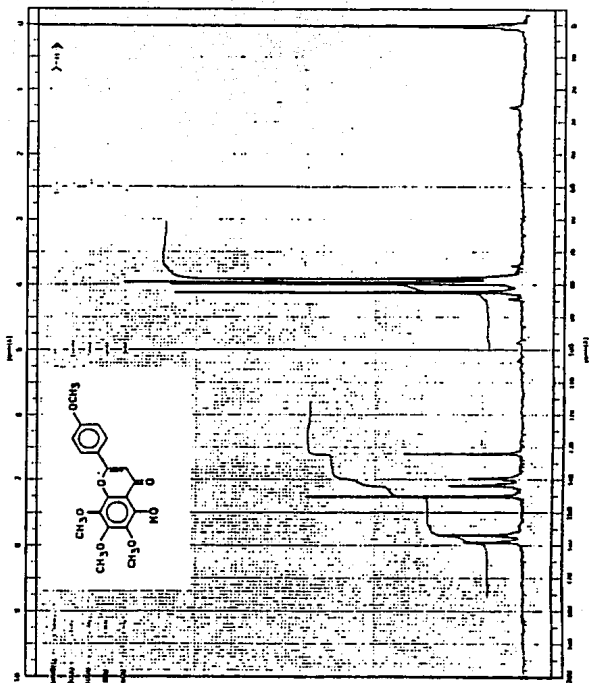
ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR ^{13}C DE LA 5-HIDROXI-
4',7-DIMETOXIFLAVONA.



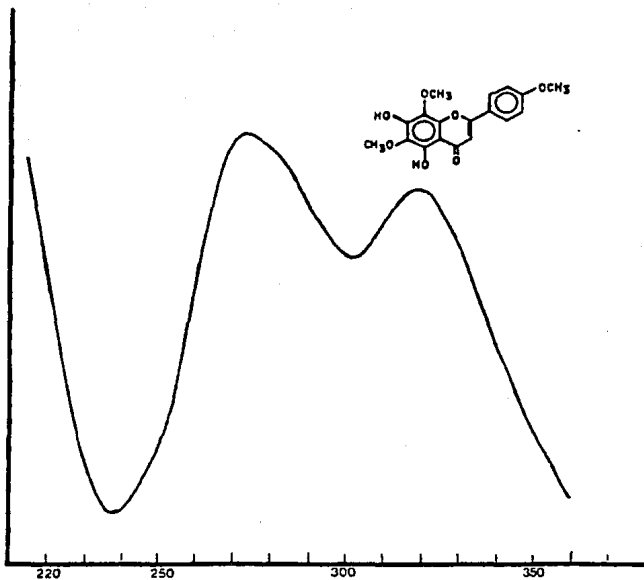
ESPECTRO UV DE LA 5-HIDROXI-4',6,7,8-TETRAMETOXIPLAVONA.



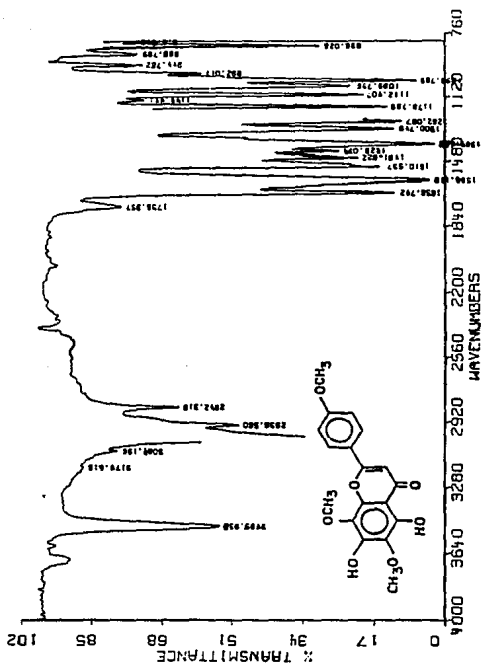
ESPECTRO IR DE LA 5-HIDROXI-4',6,7,8-TETRAMETOXIFLAVONA.



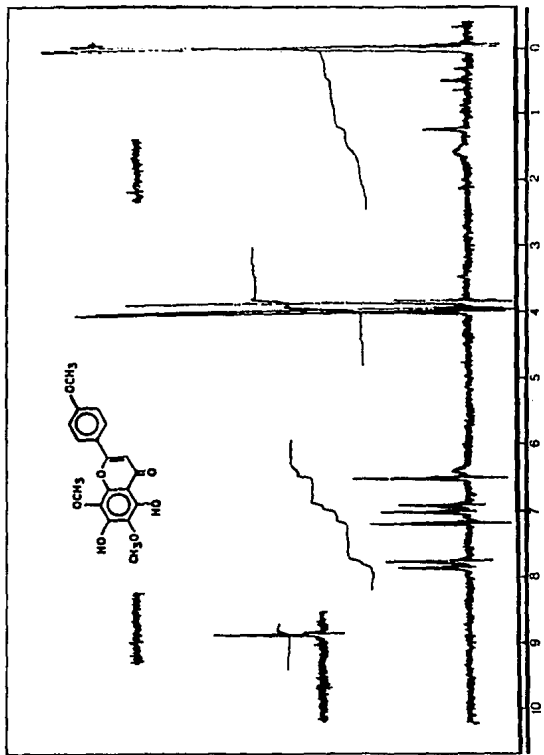
ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR ^{13}C DE LA 5-HIDROXI-
4',6,7,8-TETRAMETOXIFLAVONA.



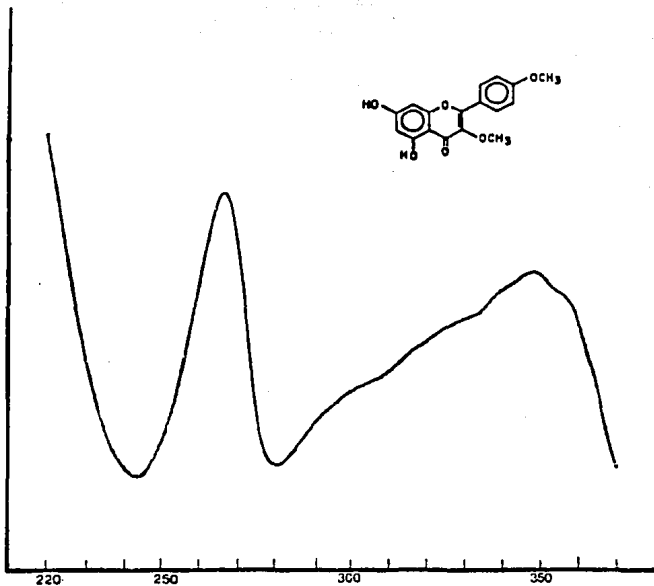
ESPECTRO UV DE LA 5,7-DIHIDROXI-4',6,8-TRIMETOXIFLAVONA.



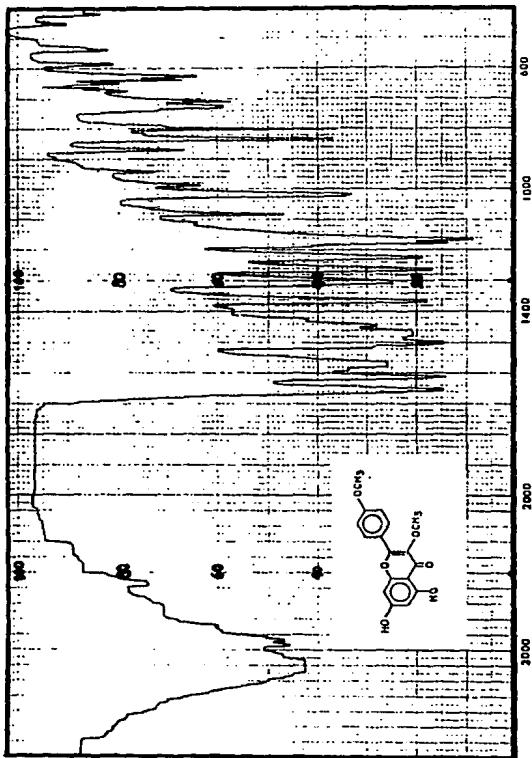
ESPECTRO IR DE LA 5,7-DIHIIDROXI-4',6,8-TRIMETOXIPLAVONA.



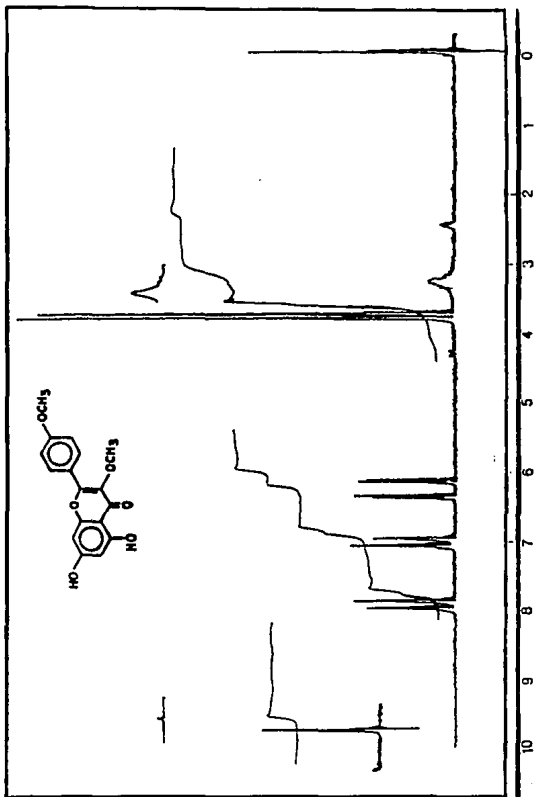
ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR ^{13}C DE LA 5,7-DIHIDROXI-4',6,8-TRIMETOXIFLAVONA.



ESPECTRO UV DE LA 5,7-DIHIDROXI-3,4'-DIMETOXIFLAVONA.



ESPECTRO IR DE LA 5,7-DIHIIDROXI-3,4'-DIMETOXIFLAVONA.



ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR ^{13}C DE LA 5,7-DIHIDROXI-3,4'-DIMETOXIPLAVONA

ANEXO II.

PREPARACION DE SOLUCIONES DE IDENTIDAD.

REACTIVO MODIFICADO DE DRAGENDORFF.

SOLUCION A: 0.85 g de subnitrate de bismuto disueltos en una mezcla 10 ml de ácido acético y 40 ml de agua.

SOLUCION B: 8 g de yoduro de potasio disueltos en 20 ml de agua.

Antes de usarse se mezclan 5 ml de solución a con 5 ml de solución b y se les añaden 20 ml de ácido acético y luego agua hasta ajustar 100 ml. (Domínguez, 1988).

REACTIVO DE WAGNER.

Se disuelven 1.27 g de yodo y 2 g de yoduro de potasio en 20 ml de agua; la solución se afora con 100 ml de agua destilada. (Domínguez, 1988).

REACTIVO DE ACIDO SILICOTUNGSTICO.

Se disuelven 5 g de ácido silicotúngstico en el ácido sulfúrico 6N necesario para formar 100 ml de la solución. (Domínguez, 1988).

REACTIVO DE SULFATO CERICO.

12 g de sulfato cérico y 22 ml de ácido sulfúrico en 350 g de hielo.

BIBLIOGRAPHY

V. BIBLIOGRAFIA.

1. Allen's Comercial. 1944. Organic Analysis. Philadelphia. The Blakiston Co.
2. Baumann, T.W. 1978. 7-Methylxantosine- an intermediate in caffeine. Phytochemistry. Vol. 17. U.S.A.
3. Casamada, R.S.M. 1957. Farmacognosia Descriptiva. Barcelona. Ed. Científico-Médica.
4. Clarke, E.G.C. 1974. Isolation e Identification of Drugs in PharmaceuTicals, Body Fluids and Post-mortem Material. London. The Pharmaceutical Press.
5. Domínguez, X.A. 1988. Métodos de Investigación Fitoquímica. México, D.F. Ed. Limusa.
6. Epling, C. 1949. Rev. del Museo de la Plata, Secc. Botánica. Argentina. pp. 153.
7. Florey, K. 1983. Analytical Profiles of Drugs Sustances. Volume 13. Academic Press, Inc. U.S.A.
8. Florey, K. 1983. Analytical Profiles of Drugs Sustances. Volume 15. Academic Press, Inc. U.S.A.
9. Fragoso, G. Orígenes de la Cultura Médica en Aridoamérica y Mesoamérica. Ce-Acatl. Revista de la Cultura de Anahuac. Número 38/39. Diciembre 1992-enero 1993. México, D.F. pp. 7-11.
10. Fontquer, P. Medicamenta Guía Teórico-Práctica para Farmacéuticos y Médicos. Madrid España. Ed. Labor.
11. García Barrera, Ma. Concepción. 1992. Manual del Taller de Plantas Medicinales. México, D.F. Facultad de Química.

Universidad Autónoma de Querétaro.

12. Gutiérrez, C. 1992. Introducción a la Metodología Experimental. México, D.F. Ed. Trillas.
13. Harborne, J.B. 1967. Comparative Biochemistry of the Flavonoids. London. Academic Press.
14. Harborne, J.B. et. al. 1975. The Flavonoids. Part 1. New Yor. San Francisco. Academic Press.
15. Harborne, J.B. 1984. Phytochemical Methods a Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. (2a. Ed.) New York. N.Y.
16. Harborne, J.B. 1988. The Flavonoids Advances in Research Since 1980. New York. Chapman and Hall.
17. Hawley, G. 1985. Diccionario de Química y Productos Químicos. Barcelona. Ediciones Omega.
18. Herbario Queretano No. 1. México, D.F. Universidad Autónoma de Querétaro. Serie Científica.
19. Katzung, B. 1987. Farmacología Básica y Clínica. (3a. Ed.). México, D.F. Ed. El Manual Moderno.
20. Lozoya, X. La Medicina Tradicional en la Realidad Político Social de México. Ciencias. Revista de Difusión. No. 14. Enero-marzo 1989. Facultad de Ciencias. U.N.A.M. México, D.F. pp. 27-33.
21. Lugo, E. 1990. Plantas Medicinales de México Introducción a su Estudio. (2a. Ed.). México, D.F. Departamento de Fitotecnia. Unidad de Estudios Etnobotánicos. Universidad Autónoma Chapingo.
22. Lugo, E. 1992. Plantas Medicinales de México Introducción a

- su Estudio (4a. Ed.). Universidad Autónoma Chapingo. México, D.F.
23. Mayer, B.F. et. al. 1983. Planta Médica. 45,31.
24. Méndez, I. et. al. 1990. El Protocolo de Investigación Lineamientos para su Elaboración y Análisis. (2a. Ed.). México, D.F. Ed. Trillas.
25. Mercados de Determinadas Plantas Medicinales y sus Derivados. 1974. Centro de Comercio Internacional. UNLTAD GATT.
26. Novelo Torres Alma Miriam. 1990. 5,7-dihidroxi-4'-metoxiflavanona, la isosakuranetina, Constituyente Bioactivo de Salvia blanca (Hyptis albida). Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. U.N.A.M. México, D.F.
27. Pavia, D.L. 1976. Introduction to Organic Laboratory Technique. Philadelphia. A Contemporary Approach. W. B. Saunders Co.
28. Péreda, R. 1988. Elucidación Estructural y Estereoquímica de Nuevos Metabolitos Secundarios Aislados de Laviatae (Salvia e Hyptis). Tesis de Maestría. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. México, D.F.
29. Powell, P.G.; Smith, C.R. 1980. Recent Advances in Phytochemistry. 14. Plenum. New York. U.S.A.
30. Reynolds, J.E. 1989. Martindale. The Extra Pharmacopoeia. (29a. Ed.). London. The Pharmaceutical Press.
31. Rios, J.L. et. al. 1986. Reagents for Screening Medicinal Plants by Thin-Layer Chromatography. A Review. Fitoterapia. Volume LVII, No. 3. Valencia España.

32. Shriner, F.C. Identificación Sistemática de Compuestos Orgánicos. México, D.F. Ed. Limusa.
33. Tamayo, M. 1988. El Proceso de la Investigación científica. (2a. Ed.). México, D.F. Ed. Limusa.
34. Tomás-Barberán, F.A. et. al. 1988. Phytochemistry. 27. 2631.
35. Trease, et. al. 1977. Farmacognosia. México, D.F. Ed. C. E. C. S. A.
36. Varro, T. et. al. 1979. Farmacognosia. (2a. Ed.). Buenos Aires, Argentina. Ed. El Ateneo.
37. Younken, H.W. 1959. Tratado de Farmacognosia. México, D.F. Ed. Atlante.