

ESTUDIO FITOQUIMICO DE AMBROSIA AMBROSIOIDES

INVESTIGACIÓN TECNOLÓGICA



BIBLIOTECA
C. I. C. T. U. S.

Que para obtener el Título de

REGISTRO NUMERO

102 A

QUIMICO

Presenta

María Luisa García Muela

CENTRO DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS Y TECNOLOGICAS

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

INDICE

	Pag.
LISTA DE TABLAS.	V
LISTA DE ILUSTRACIONES	VI
OBJETIVO	VIII
RESUMEN	IX
INTRODUCCION	1
MATERIALES Y METODOS	5
Recolección	5
Separación de Principios Activos	5
Secado y Molienda	5
Extracción.	5
Separación de Compuestos.	5
Métodos Cromatográficos.	6
Agentes Cromogénicos	7
Pruebas Químicas.	7
Aparatos Utilizados.	16
Claves Utilizadas.	17
PARTE EXPERIMENTAL.	18
Análisis Preliminar.	18
EXTRACTO ETereo.	21
Cromatografía en Columna del Extracto Etéreo.....	23
Compuesto AARE1.	31
Arrastre por Vapor de la Raíz.	32
Saponificación del Extracto Etéreo.	38
Compuesto AARE2.	38
Acetilación del Compuesto AARE2	39
EXTRACTO CLOROFORMICO.	43
EXTRACTO METANOLICO.	46
EXTRACTO ACUOSO.	50

DISCUSION Y CONCLUSIONES. 5

Compuesto AARE1 5

Compuesto AARE2. 5

Compuesto AARM 1. 5

GEOGRAFIA... 5

LISTA DE TABLAS

Características de los extractos obtenidos a partir de la raíz de <u>Ambrosia ambrosioides</u>
Pruebas químicas preliminares practicadas a los correspondientes extractos de raíz de <u>Ambrosia ambrosioides</u>
Grupo de fracciones obtenidas a partir del extracto etéreo por cromatografía en columna

LISTA DE ILUSTRACIONES

Figura		Pag.
1.	Diagrama del estudio fitoquímico de la raíz de <u>Am- brosia ambrosioides</u>	22
2.	CCD del extracto etéreo de la raíz de <u>A. ambrosioides</u>	21
3.	CCD de los grupos obtenidos del extracto etéreo por cromatografía en columna líquida.	25
4.	CCD del insoluble en acetona del Grupo A.	26
5.	CCD del insoluble en acetona del grupo E.	30
6.	Diagrama mostrando la purificación de alcaloides de la fracción E.	29
7.	CCD de la fracción II.	30
8.	CCD del compuesto AARE1.	34
9.	Espectro U.V. correspondiente al compuesto AARE1.	35
10.	Espectro I.R. Correspondiente al compuesto AARE1.. . . .	36
11.	CCD de los cristales blancos de R.f. 0.84.	37
12.	CCD del compuesto AARE2.	40
13.	CCD comparativa del compuesto AARE2 y su corres- pondiente acetato.	40
14.	Espectro I.R. correspondiente al compuesto AARE2.	41
15.	Espectro I.R. correspondiente al acetato AARE2.	42

• Diagrama del estudio fitoquímico del extracto clorofórmico.	44
• CCD del extracto clorofórmico.	45
• Diagrama del estudio fitoquímico del extracto metanólico.	48
• Espectro I.R. del compuesto AARM1.	49

OBJETIVO

El Desierto Sonorense es una región árida y semi-árida del Noroeste de México, donde se da una gran variedad de especies vegetativas, cuya utilidad potencial puede percibirse por la infinidad de usos que a través de los años les ha conferido la gente autóctona de esta región.

El objetivo del presente trabajo es contribuir al estudio fitoquímico de la flora del Desierto Sonorense, mediante el estudio de Ambrosia ambrosioides, a través de las siguientes acciones: recolección, secado, molienda, extracción, separación de principios activos, purificación y clasificación de los mismos.

RESUMEN

Con el propósito de contribuir al estudio de la flora del Desierto Sonorense, se llevó a cabo el estudio fitoquímico de la raíz de Ambrosia ambrosioides el cual, fue realizado mediante una cuidadosa recolección, secado y molien da de ésta, para posteriormente extraerlas en forma constante y exhaustiva con diversos sistemas de solventes de polaridad creciente para obtener así los extractos correspondientes.

Los diferentes extractos así obtenidos (etéreo, clo rofórmico, metanólico y acuoso), fueron analizados para la separación de sus componentes haciendo uso de diferentes méto dos de purificación tales como cristalización directa y cromatográficos hasta obtener los compuestos en forma pura.

Los compuestos puros obtenidos, fueron caracteriza - dos químicamente mediante reacciones químicas específicas y formación de derivados; fueron también caracterizados física mente mediante la determinación de punto de fusión así como sus espectros de infrarrojo y ultravioleta.

INTRODUCCION

Ambrosia ambrosioides (cav) Payne comunmente conocida como chicura, tincl (seri) de la familia de las compuestas fue originalmente descrita por Cavanillas como Franseria ambrosioides puntualizando su "estatus" intermedio entre el género Ambrosia y Xanthium, lo cual fue posteriormente reenfa_tizado por Shinners quien aseguró la imposibilidad de establecer diferencias entre los géneros Ambrosia y Franseria.

Después en 1964 Payne estableció la unicidad de am - bos géneros bajo el de Ambrosia y aunque su trabajo no es precisamente una revisión monográfica, su peso ha sido tal que en la actualidad prevalece su criterio. Payne reconoce cuatro complejos subgenéricos, diferenciando en uno de ellos, a las especies comunmente encontradas en las regiones desérti_cas del Sur-Oeste de Estados Unidos y Norte de México, que se caracterizan por poseer hojas no divididas (simples), indumen_to sumamente glanduloso e involucro en el fruto.

Descripción

Es una hierba perenne subarborescente de 1-2 m de alto, con ramas grises-hirsutas y glándular puberulentas; sus hojas son simples, pecioladas, con pecíolos de 1-3 cm de largo, hirsutas; láminas lanceoladas o lanceo-ovadas de 4-18 cm

de largo por 1-4 cm de ancho, truncadas, subcordadas o cuneadas en la base, acuminadas en el ápice, conspicuamente irregulares y dentadas, algo gruesas, fuertemente reticulado venosas en el envés, más o menos grises hirsutulosas; cabezas en racimos algo ramificados en la parte terminal de las ramas y en las axilas de las hojas superiores; cabezas estaminadas numerosas por encima de las pistiladas en pedúnculos recurvados de 4-6 mm de largo; paleas de cabezas estaminadas, filiformes, más cortas que la corola tubular membranosa - puberulenta; involucreo pistilado sustentado por unas pocas hojas semejantes a brácteas; al fruto de 1-3 cm de largo armado con espinas, subuladas, glandular puberulentas de 3 a 4 mm de largo y recurvadas en la punta.

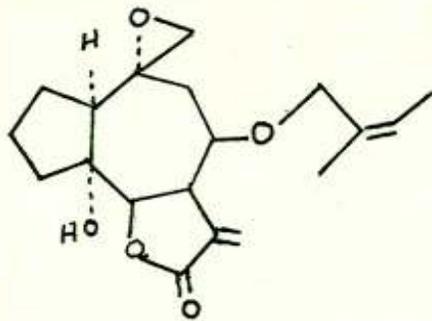
Según datos etnobotánicos la raíz de esta planta es utilizada entre la gente autóctona para trastornos menstruales y como auxiliar en el parto encontrándose quizá en ella algún o algunos metabolitos secundarios responsables de esta acción fisiológica.

Previamente en la bibliografía (2, 6, 4, 5) se han reportado en especies del género Ambrosia y en la mayoría de las compuestas, la presencia de compuestos derivados del isopentenil pirofosfato tales como mono, di, sesquiterpenos y triterpenos.

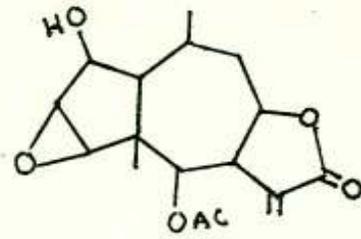
Algunos de estos compuestos tienen una función bien establecida dentro del vegetal como los mono y diterpeno responsables del olor y sabor típico; la actividad reguladora del crecimiento de la planta que ejercen algunos sesquiterpenos tales como el ácido abscísico y xantina (antagonista de auxina), o el papel hormonal que juegan algunos triterpenos en algunas especies. Sin embargo, el papel de muchos de estos metabolitos secundarios no está aún bien definido dentro del vegetal, poseyendo por el contrario, alguna actividad fisiológica para otros organismos superiores como la actividad citotóxica que ejercen algunos sesquiterpenos del tipo pseudo-guaianolido.

Tales como el acetato de euparotina (I) y gaillardina (II) y amibicida como la santonina (III), o bien analgésicos amatalina (IV), compuestos que aún son de farmacología poco estudiada pero provenientes de plantas reportadas como medicinales; aún más se ha atribuido la actividad fisiológica al grupo exometilen butenólido presente en casi todos estos compuestos.

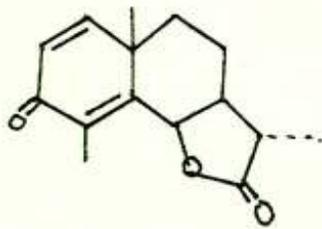
Específicamente en A. ambrosioides se han aislado 2 pseudoguaianolidos: damsiña (V) y franserina (VI) los cuales también están presentes en otras especies del mismo género.



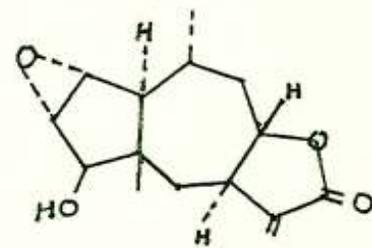
(I) acetato de euparotina



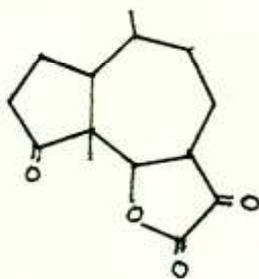
(II) gaillardina



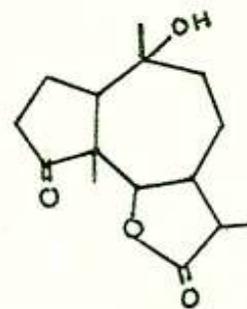
(III) santonina



(IV) amatalina



(V) damsina



(VI) franserina

MATERIALES Y METODOS

Recolección

Se recolectaron raíces de Ambrosia ambrosioides, aproximadamente a 8 km de Hermosillo, en las orillas de la carretera Hermosillo- El Novillo, en diferentes fechas de 1979.

Separación de Principios Activos

Secado y Molienda.

La planta se secó al sol sobre camas de ixtle, determinándosele cada día su contenido de humedad hasta que esta fue de 9%. La planta seca se molió en un molino tipo Wiley, para reducir su tamaño en astillas de 1 a 3 cm.

Extracción.

La planta se extrajo exhaustivamente con éter de petróleo, metanol y agua, en extractores soxhlet con capacidad de sifón de 2200 ml, obteniéndose los correspondientes extractos, éstos fueron concentrados a presión reducida en un rotavapor R Büchi- Brinkmann Instruments.

Separación de Compuestos.

Se utilizaron métodos cromatográficos; cromatografía en columna seca, cromatografía en capa delgada,

cromatografía en capa delgada preparativa, además de métodos de cristalización usando en cada caso los solventes adecuados.

Métodos Cromatográficos.

a) Cromatografía en columna seca. Se utilizaron columnas de distintas dimensiones dependiendo de la cantidad a separar de material, se empacaron con sílica gel 60 (70-230 mallas) usándose una relación de muestra/adsorbente, que va - rió de 1: 15 a 1:20.

b) Cromatografía en capa delgada. Se usaron placas de vidrio de 10 x 10 cm, 10 x 5 cm, sobre las cuales se aplicó una pasta de espesor uniforme de 0.25 mm, utilizando un aparato embadurnador de placas ajustable para espesor va - riable SMI.

La pasta se preparó mezclando 30 g de sílica gel 60G de la casa Merck A.C. con 65 ml de agua destilada, se agita la mezcla y se aplica enseguida, se dejan reposar las placas por 20 minutos, enseguida se activan por calentamiento en un horno a 100-110°C durante una hora.

c) Cromatografía en capa delgada preparativa. Se utilizaron placas de vidrio de 20 x 20 cm sobre las cuales se aplicó una capa de pasta de 1 mm, en forma similar a la utili - zada para CCD.

Para el desarrollo de la CCD y CCDP se utilizaron camaras cilíndricas de 13 cm de diámetro por 17.5 cm de altura y cámaras para cromatografías ascendente tamaño estandar tapa - das con placas de vidrio.

Agentes Cromogénicos.

Se usaron como reveladores generales luz ultravioleta, solución de cloruro de cobalto al 2% en una solución acuosa de ácido sulfúrico al 19% y vapores de yodo.

Pruebas Químicas

a) Prueba de Liebermann- Burchard. Se mezclan 1 ml de anhídrido acético y 1 ml de cloroformo, se enfrían a 0°C y se les añade una gota de ácido sulfúrico concentrado. Una porción de éste reactivo se pone en contacto con la sustancia o su solución clorofórmica, la prueba es positiva para esteroides cuando hay formación de colores azul, verde, rojo, naranja, etc. (2).

b) Prueba de Salkowski. Una solución clorofórmica conteniendo de 1 a 2 mg de la muestra se ponen en contacto con 1 ml de ácido sulfúrico. Si hay esteroides se observan colores amarillo o rojo. (2).

c) Reacción con cloruro de cobalto. Se tratan 0.2 mg de la muestra con cloruro de cobalto al 2% con una solución acuosa de ácido sulfúrico concentrado al 10%. La prueba es característica para esteroides y triterpenos y es positiva cuando da una coloración azul o violeta. (2).

d) Prueba de permanganato de potasio. 0.1 g o 0.2 ml del compuesto se disuelven en 2 ml de agua o etanol, se añade una solución de permanganato de potasio al 2% gota a gota con agitación, hasta que persista el color púrpura del permangana

tienen enlaces etilénicos, acetilénicos, con decoloración de la solución de permanganato. (1)].

e) Prueba de bromo. Se disuelven 0.2 mg de muestra en 1 ml de tetracloruro de carbono, y se agrega gota a gota una solución de bromo en tetracloruro al 2% durante un minuto. La prueba es positiva si se decolora la solución de bromo añada, para dobles ligaduras. (2).

f) Prueba de hemólisis. Sangre estandarizada, se suspenden de 10 a 20 ml de sangre humana entera en 100 ml de cloruro de sodio 0.85%. La suspensión es centrifugada el líquido sobrenadante se descarta. El procedimiento se repite dos veces. Los corpúsculos de sangre se vuelven a suspender en 400 ml de solución de cloruro de sodio al 0.85% mezclándose 10 ml de esta suspensión con 1 ml de solución de digitonina (10 mg de digitonina pura aforados a 100 ml con una solución acuosa de etanol al 80%). Se deja reposar la mezcla por 5 min, y se compara visualmente con un tubo que contiene suspensión de sangre sin digitonina; si ha ocurrido la hemólisis completa el tubo que contiene digitonina estará completamente claro. Si no ocurre hemólisis completa la suspensión stock de sangre se diluye progresivamente con cloruro de sodio 0.85% hasta que 10 ml de la suspensión de sangre sean completamente hemolizados ha temperatura ambiente en 5 min.

Detección de saponina. Agregar 1 ml del extracto a 10 ml de suspensión sanguínea estandarizada y después de 5 min. observar si hay hemólisis lo cual nos indicará la presencia de saponinas. (12).

g) Prueba de espuma. Colocar 1 ml de muestra en un tubo de ensaye, se agrega agua caliente y se agita vigorosamente si hay formación de espuma abundante y estable es prueba positiva para saponinas. (2).

h) Prueba de Shinoda. Esta prueba indica un núcleo de benzopirona. Se trata 1 mg de la muestra con 0.5 ml de ácido clorhídrico al 10% agregándose luego una limadura de magnesio, produciéndose una reacción exotérmica desarrollándose un color que va del rojo pálido al oscuro. (2).

i) Prueba de gelatina-sal para taninos. Se remojan 25 g de gelatina durante una hora en una solución saturada de cloruro de sodio; se calienta hasta disolución completa y se afora a 1 lt. Una porción de este reactivo se agrega a unos mgs. de la muestra; la formación de un precipitado indica la presencia de taninos. (2).

j) Prueba de cloruro férrico. Unas gotas de cloruro férrico al 20% se ponen en contacto con unos mgs. de la muestra; un precipitado azul verdoso aparece si hay taninos. (2).

k) Prueba de Mayer para alcaloides. Se prepara el reactivo disolviendo 1.36 g de cloruro de mercurio en 60 ml

de agua y 5g de yoduro de potasio en 10 ml de agua. Se mezclan las 2 soluciones aforándose a 100 ml. Se añaden unas gotas de reactivo a una solución de la muestra previamente acidulada con ácido clorhídrico ó ácido sulfúrico diluido obteniéndose un precipitado cuando la reacción es positiva éste se disuelve en un exceso del reactivo, alcohol etílico o ácido acético. (2).

1) Prueba de Dragendorff. Se prepara el reactivo disolviendo 8 g de nitrato de bismuto en 20 ml de ácido nítrico y 27.2 g de yoduro de potasio en 50 ml de agua. Se añade el reactivo sobre una solución acidulada de muestra y se observa la formación de un precipitado anaranjado marrón como prueba positiva, para alcaloides (2).

m) Prueba de formaldehído. Acido sulfúrico. Preparar una solución de aproximadamente 30 mg del comuesto a probar en 1 ml de un solvente no aromático (hexano, ciclohexano o tetracloruro de carbono). Adicionar 1 o 2 gotas de esta solución a 1 ml del reactivo, el cual se prepara al momento de usarse, adicionando una gota de formalina (formaldehído al 37-40%) a 1 ml de ácido sulfúrico concentrado y agitando ligeramente la solución, observe el color en la capa superficial del reactivo después de adicionar la solución problema , y el color del reactivo después de que el tubo se ha agitado. Una coloración rosa, roja, naranja, azul, verde, púrpura, las cuales con el tiempo pueden cambiar a café o negro, son indicativos de prueba positiva para aromáticos. (1).

n) Prueba de legal. Tomar 1 o 2 mgs. de muestra y disolver en 2 ó 3 gotas de piridina, añadiéndose una gota de una solución reciente de nitroprusiato de sodio al 0.5% y después se adicionan poco a poco 4 gotas de hidróxido de potasio 2N. Las lactonas dan una coloración rosa y las metil cetonas también dan coloración. (2).

o) Determinación de carbono. Tomar unos pocos de miligramos de la muestra a analizar en un tubo de ensaye y adicionar trióxido de molibdeno finamente pulverizado hasta subir el nivel de 6-8 mm en el tubo, calentando primero la parte superior de la mezcla antes de calentar el fondo del tubo. Continuar calentando la mezcla por 1 o 2 minutos. La presencia de una zona azul entre la muestra y el óxido amarillo, indica la presencia de carbón en la muestra. (1).

p) Fusión con sodio. Colocar una gota pequeña o unos pocos miligramos, si es un sólido, de la muestra que se va a analizar, en un tubo limpio y seco. Tomar una pieza de sodio (un cubo de 1/8 de pulg.) del frasco reactivo y presiónelo entre dos hojas de papel filtro para quitar el líquido adherido y colócarlo en el tubo de ensaye. Calentar el fondo del tubo ligeramente y deje reposar la mezcla de 2 a 3 minutos. Colocar el tubo en posición vertical con una pinza y aplicar gradualmente calor al fondo del tubo, hasta que el sodio sea fundido. Teniendo cuidado de no tocar las paredes del tubo caliente, añada unos cuantos miligramos de la substancia que se está analizando en el sodio fundido. Calentar el fondo

del tubo hasta que el vidrio esté al rojo vivo, y continuar calentándolo por dos minutos, dejar enfriar el tubo a temperatura ambiente y adicionar 5 gotas de metanol. Si el residuo es una masa globular romper con un agitador de vidrio limpio para permitir el contacto entre el alcohol y algún exceso de sodio metálico. Si se producen burbujas de gas esperar a que la reacción sea completa. Adicionar 2 ml de agua destilada Hervir la mezcla por unos segundos y filtrarla. En lugar de filtrar la mezcla puede ser centrifugada y el sobrenadante decantando o removido con una pipeta. Diluir el filtrado a 4 ml con agua destilada. Si en este punto la solución es oscura, tanto que pueda oscurecer las futuras pruebas, es probable que la cantidad de muestra usada fuera mucha, o que la mezcla de fusión no fue calentada a temperaturas suficientemente altas. El procedimiento de fusión deberá ser repetido. (1).

q) Determinación de azufre. Colocar 0.2 ml del filtrado de la fusión con sodio en un tubo de ensaye, y adicionar una gota de nitroprusiato de sodio al 0.1%. Un color rojo intenso indica la presencia de iones sulfuro.

r) Determinación de halógenos. Colocar 0.5 ml del filtrado de la fusión con sodio en un tubo. Adicificar la solución agregando gota a gota ácido nítrico diluido. Si no fueron encontrados nitrógeno ni azufre, proceder directamente adicionando una gota de solución de nitrato de plata al 5%. un precipitado o suspensión de color blanco a amarillo indica la

presencia de iones cloruros, bromuros o yoduros.

s) Reactivo de Benedict. A una solución o suspensión de 0.2g del compuesto en 5 ml de agua se le añaden 5 ml de la solución de Benedict. Observar si se produce un precipitado amarillo o amarillo verdoso; entonces caliente la mezcla hasta ebullición y observar si se formó un precipitado y si lo hubiera, observar su color. El reactivo se prepara disolviendo las siguientes sales en agua destilada.

173 g de citrato de sodio y 100 g de carbonato de sodio anhidro se disuelven con calentamiento en 800 ml de agua destilada. Se adiciona más agua hasta ajustar el volumen de la solución a 850 ml. Se disuelven por separado 17.3 g de sulfato de cobre hidratado en 100 ml de agua y la solución resultante se vierte lentamente, agitando, en la solución de citrato y carbonato. La solución final se afora a 1 lt añadiéndole agua. La prueba es positiva para azúcares reductores. (11).

t) Reactivo de Barfoed. Disolver 16.6 g de acetato cúprico en 245 ml de agua, adicionar 2.4 ml de ácido acético glacial.

Tomar 2 ml del reactivo de Barfoed y colocarlos en un tubo de ensaye y adicionar de 10 a 20 mg de la muestra, o un ml de una solución diluida en agua. Calentar el tubo en un baño de agua hirviendo por 3 minutos. La formación de un precipitado amarillo-naranja, o rojo naranja es prueba positiva para monosacáridos. (11).

u) Reactivo de Seliwanoff. Disolver 0.30 g de resorcinol en 100 ml de ácido clorhídrico 12.5%.

En un tubo de ensaye colocar 1 ml de la muestra en agua, 1 ml de reactivo y calentar a ebullición en baño de agua. La aparición en 2 minutos de un color rojo indica la presencia de cetosas. (1).

v) Prueba de Tollens. En un tubo de ensaye disolver de 5 a 10 mg de glicósidos en 5 a 8 gotas de piridina y añadir de 4 a 6 gotas de reactivo de Tollens muy reciente (se mezclan 0.5 ml de nitrato de plata al 10% y 0.5 ml de hidróxido de sodio al 10%); después se añade gota a gota de hidróxido de amonio hasta redisolución del precipitado. Si hay reductores precipita o forma un espejo sobre el tubo. (11).

w) Reacción con antrona. Disolver 0.3 g de antrona en 10 ml de ácido acético glacial y adicionar a la solución 20 ml de etanol al 96%, 3 ml de ácido fosfórico concentrado y 1 ml de agua, se aplica sobre cromatografía en papel. Después de rociar, calentar el cromatograma de 5 a 6 minutos a una temperatura de 110°C. Cetosas y oligosacáridos que contengan cetosas se revelan como manchas amarillas. (13).

x) Reacción con anilina ácido ftálico. Mezclar 0.93 g de anilina y 1.66 g de ácido ftálico en 100 ml de n-butanol saturado con agua. Rociar el cromatograma y calentar a 105-130°C por 5 minutos. Detecta aldosas. (13).

y) Reacción con nitrato de plata amoniacal. El reactivo se prepara con las siguientes soluciones.

Solución a). Solución saturada de nitrato de plata en agua, hacer una solución 1:20 en acetona de la solución anterior.

Solución b). 0.5 g de hidróxido de sodio en 100 ml de etanol al 80%.

Solución c). Hidróxido de amonio 2N.

Rociar el cromatograma con la solución a, dejar evaporar la acetona y rociar con la solución b, después de 10 minutos si queda muy oscuro rociar con la solución c. Revela azúcares y glicóalcoholes. (13).

z) Determinación de nitrógeno. En presencia de sodio y carbón, el nitrógeno es convertido a ión cianuro y es así como este ión es detectado. Tomar 0.8 ml del filtrado de la fusión con sodio en un tubo de ensaye y adicionar una gota de hidróxido de sodio al 10%, una gota de fluoruro de potasio al 30%, y 15-20 mg de sulfato ferroso cristalino, calentar la mezcla suavemente por un minuto.

Adicionar una gota de solución de cloruro férrico al 1% y calentar la mezcla. Adicionar ácido sulfúrico 6N gota a gota hasta que el óxido de fierro ha sido disuelto. Reposar el tubo por 2-3 minutos un color azul o un precipitado azul es prueba positiva para nitrógeno. La solución debe ser filtrada, si aparece un color azul en el papel filtro, indica la presencia de nitrógeno. (1).

Método de acetilación. Añadir dos gramos del compuesto polihidroxiado a 20 ml de piridina anhidra. Añadir 8 gramos de anhídrido acético, con agitación y después que ha cesado la reacción inicial, la solución se hierve a reflujo durante 3 a 5 minutos. Enfriar la mezcla y vertir en 50 a 75 ml de agua helada. El derivado acetilado se filtra, se lava con ácido clorhídrico al 2%, frío y después se lava con agua. Se purifica por cristalización con alcohol. (1).

Aparatos Utilizados

Punto de fusión. Se utilizó un aparato Melting-Point Electrothermal para determinar los puntos de fusión los cuales se indican en °C.

Espectrofotómetro Infrarrojo. Los espectros de absorción a infrarrojo, se obtuvieron en un espectrofotómetro IR Perkin-Elmer 267 utilizando la técnica de pastilla de KBr para muestras sólidas y por formación de una película sobre celdas de cloruro de sodio, en el caso de líquidos aceitosos.

Espectrofotómetro UV-visible. Los espectros UV-visible se obtuvieron utilizando un espectrofotómetro UV-visible Beckman-25.

AAR	Raíz de <u>Ambrosia ambrosioides</u>
AARE	Extracto etéreo de raíz de <u>A. ambrosioides</u>
AARC	Extracto clorofórmico de raíz de <u>A. ambrosioides</u>
AARM	Extracto metanólico de raíz de <u>A. ambrosioides</u>
UV	Espectro ultravioleta
IR	Espectro infrarrojo
p.f.	Punto de fusión
CCD	Cromatografía en capa delgada
CCDP	Cromatografía en capa delgada preparativa
CC	Cromatografía en columna
LB	Liebermann-Burchard
B	Benceno
C	Cloroformo
A	Acetona
M	Metanol
EP	Eter de petróleo

PARTE EXPERIMENTAL

Se recolectó raíz de Ambrosia ambrosioides, se secó y se molió. Se montaron un total de 1616 gr en extractores Soxhlet para extraerse sucesivamente con éter de petróleo, metanol y agua por 7 días con cada solvente, obteniéndose después de concentrar a presión reducida 13 g de extracto etéreo, 20.7g de extracto metanólico y 24.1703g de extracto acuoso. Las características físicas así como el rendimiento de de estos extractos se pueden observar en la Tabla No.1.

Tabla No.1. Características de los extractos obtenidos a partir de la raíz de Ambrosia ambrosioides.

Extracto	Clave	Color	Aspecto	Peso(g)	Rendi *- miento %
Etéreo	AARE	Café-amari- lento	líquido- viscoso	13	0.804
Metanólico	AARM	Café oscuro	chicloso	95.57	5.92
Acuoso	AARA	Café oscuro	sólido	111.59	6.90

*El rendimiento se calculó en base a planta seca.

Análisis Preliminar.

Se practicó a la raíz así como a sus correspondientes extractos un análisis químico preliminar con el fin de detectar

cada uno de ellos la presencia de algunos compuestos quími-
de interés encontrados en vegetales, tales como, saponinas,
erolés, flavonoides, glicosidos cardiotónicos, taninos y
aloides; pudiéndose observar los resultados en la Tabla

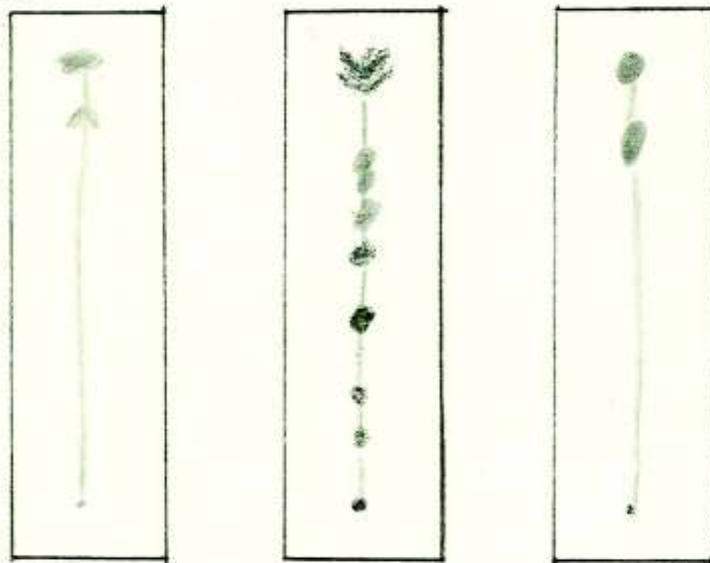
.

No.2. Pruebas Químicas Preliminares practicadas a los correspondientes extractos de raíz de Ambrosia ambrosioides.

ra	ESTEROLES L.B. Salkowski	TANINOS Gelatina FeCl 3	GLICOSIDOS TONICOS	CARDIO-	ALCALOIDES Dragendorff Mayer	SAPONINAS Espuma Hemólisis	FLAV HCl
cto etc raíz	+	-	-	-	+	-	-
cto me- ico,	-	-	-	+	+	-	-
cto o,	-	-	+	-	-	-	-

EXTRACTO ETÉREO
(Fig. No.1 - Diagrama)

Al extracto etéreo se le hicieron pruebas de solubilidad con distintos solventes resultando ser soluble en éter de petróleo, benceno y cloroformo e insoluble en metanol y acetona. Se corrió una cromatografía en capa delgada (CCD) resultando ser benceno-acetona 9:1 (B-A 9:1) el solvente de desarrollo más adecuado, observándose una gran cantidad de manchas al ser revelada con luz ultravioleta, cloruro de cobalto y dragendorff. (Fig.2).



Muestra:

Agente Revelador: U.V.

Sistema Solventes

Extracto Etéreo

CoCl₂ . Dragendorff

B-A(9:1)

Fig. No.2. CCD del extracto etéreo de la raíz de Ambrosia
Ambrosioides.

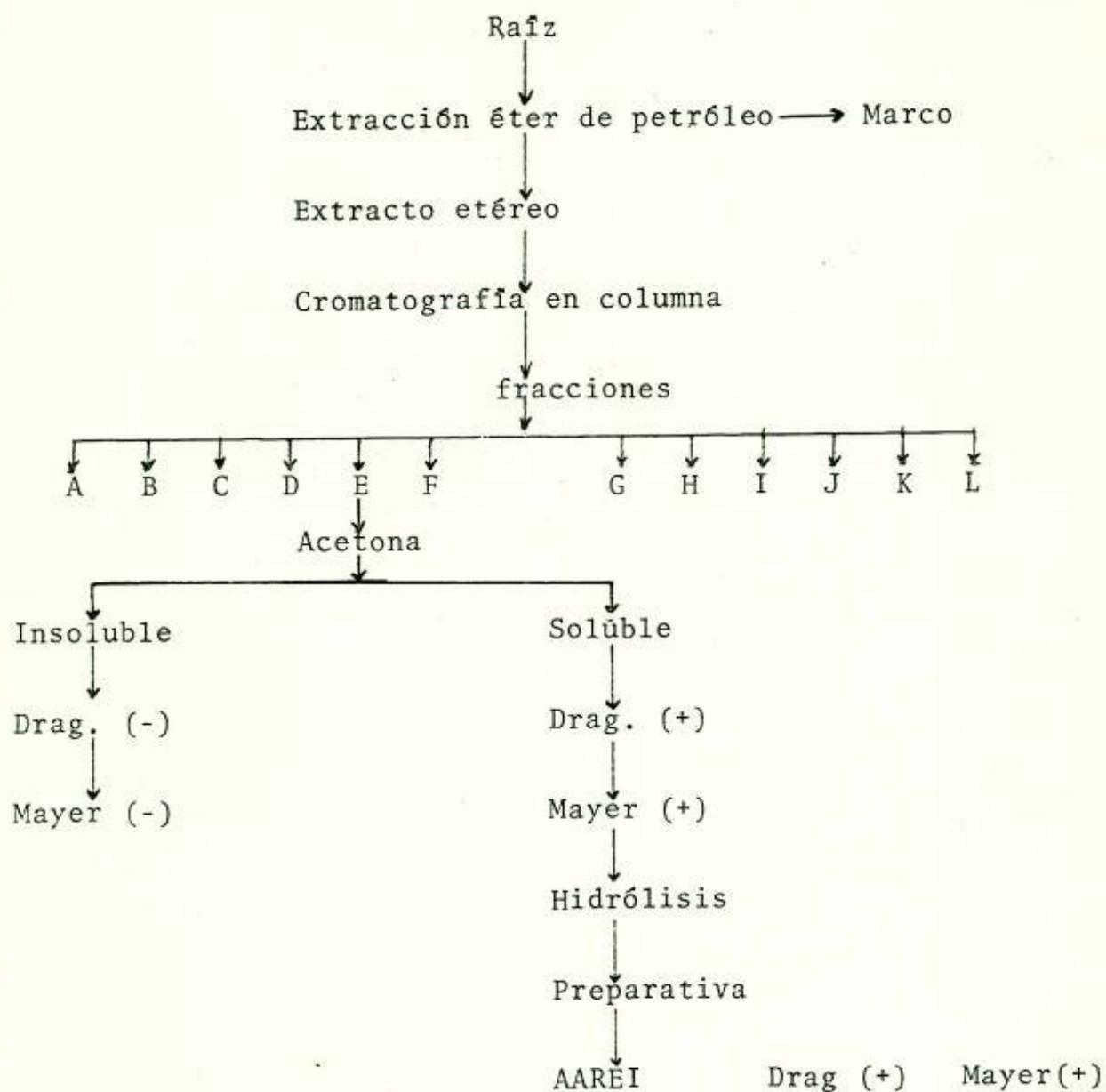


Fig. No.1.

Diagrama del estudio fitoquímico de la raíz de Ambrosioides.

De acuerdo al comportamiento de solubilidad de este extracto, se intentó la separación directa de compuestos por cristalización con resultados negativos, procediéndose a su separación por cromatografía en columna.

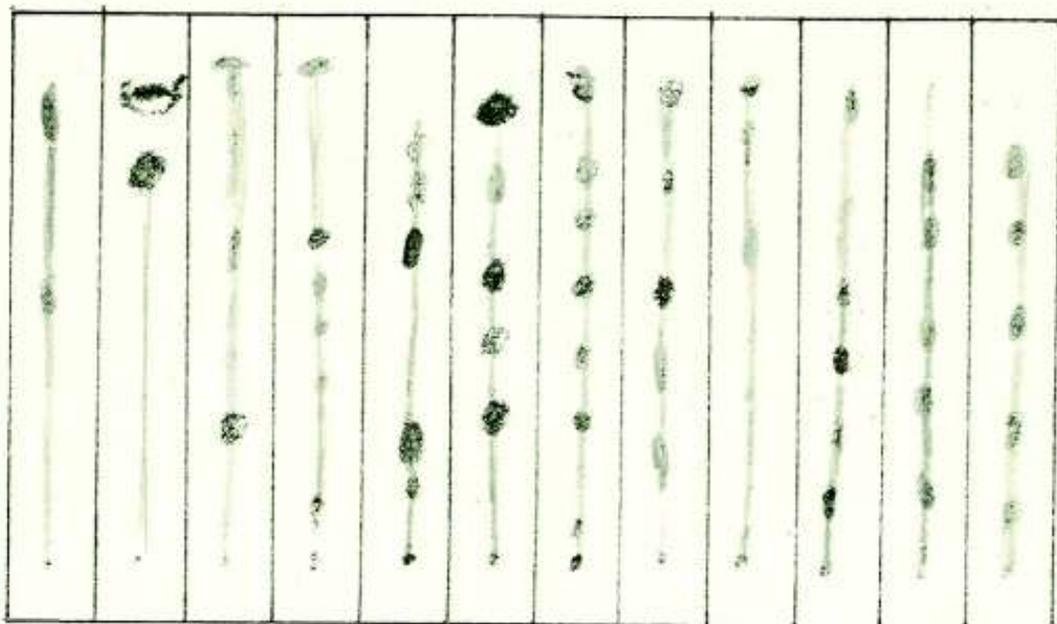
Cromatografía en Columna del Extracto Etéreo.

Se empacó una columna de vidrio de 500 x 25 mm. con 130 g de sílica gel (60-80 mallas) y se montaron 5 g de extracto etéreo previamente solubilizados en cloroformo e impregnados en sílica gel. Se eluyó la columna con solventes estableciendo un gradiente de polaridad desde éter de petróleo hasta metanol, recogiendo un total de 247 fracciones de 100 ml cada una, las cuales fueron evaporadas a presión reducida, llevándose un cuidadoso registro de ellas por CCD.

Las fracciones que resultaron idénticas al ser comparadas por CCD se juntaron en grupos, determinándose su rendimiento (Tabla No.3) para ser tratadas posteriormente con el fin de separar sus componentes. Sus correspondientes CCD se aprecian en la Fig.3.

Tabla No.3. Grupo de fracciones obtenidas a partir del extracto etéreo por cromatografía en columna.

Grupo	Fracciones	Eluyente	Peso (g)
A	1	EP	1.0075
B	2-3	EP	0.465
C	4-8	EP	0.139
D	9-25	EP-B(7:3)	0.5264
E	26-97	EP-B(7:3)	2.098
F	98-106	EP-B(1:9)	0.2573
G	107-133	B-C (4:6)	0.3084
H	134-178	B-C (4:6) a B-C (1:9)	1.2112
I	179-190	CHCl ₃	0.5379
J	191-210	CHCl ₃ a C:A (8:2)	0.5889
K	211-220	C-A (7:3) a	0.2982
L	221-247	C:A (6:4) C-A (1:1) a A:M (6:4)	0.1694



Agente Revelador: CoCl_2

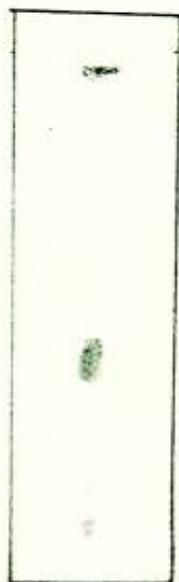
Sistema de solventes:

Grupo	Solventes
A, B, C, D	EP-B (8:2)
E, F	EP-B (1:1)
G	CHCl_3
H, I, J, L	C-A (9:1)
K	C-A (7:3)

Fig. No.3. CCD de los grupos obtenidos del extracto etéreo por cromatografía en columna líquida.

La mayoría de las fracciones obtenidas a partir de la columna fueron de bajo rendimiento presentando aún varias manchas no bien resueltas por lo que se procedió a tratar aquellas fracciones de mayor rendimiento.

La primera fracción (fracción A), de aspecto aceitoso y de color amarillo-verdoso se trató directamente con cloroformo y acetona separándose a partir de él, un insoluble ceroso el cual no fue posible purificar persistiendo en él impurezas como se observa en su CCD. (Fig.4). Este insoluble sin embargo, dió positivas las pruebas de Liebermann-Burchard y Salkowski. Se pudo observar a través de los tratamientos dados a esta fracción la pérdida de muestra por volatibilidad.



Muestra: Insoluble en Acetona
Agente Revelador: CoCl_2
Sistema de Solventes: EP-B (9:1)

Fig. No.4. CCD del insoluble en acetona del grupo A.

El grupo E de fracciones (26-97) de aspecto amarillo ceroso soluble en benceno y cloroformo pero insoluble en metanol mostró en su CCD una mancha intensa de color marrón al ser revelado con el reactivo de Dragendorff, haciendo pensar en la presencia en esta fracción de un posible alcaloide detectado con anterioridad en el análisis preliminar.

En un intento por aislar el compuesto Dragendorff (+), se trató esta fracción con acetona obteniéndose un insoluble blanco ceroso cuya CCD (Fig.5) no se reveló con Dragendorff, no así el soluble donde persistió la mancha color marrón observada anteriormente. Los resultados fueron comprobados mediante la prueba de Mayer para alcaloides dando positiva como en la prueba anterior, sólo en la fracción soluble. En base a los resultados anteriores se trató de separar, por cristalización el compuesto Dragendorff (+) a partir del soluble en acetona, sin tener éxito. Enseguida se procedió a su purificación (Fig. No.6) mediante un tratamiento para separar bases nitrogenadas secundarias y terciarias de pigmentos y otros compuestos que a menudo dan pruebas falsas-positivas con éste reactivo; para lograr ésto, se formaron las correspondientes sales de las bases nitrogenadas presentes en la fracción, mediante la adición de HCl al 3.5% lográndose de esta forma su solubilización y extracción en fase acuosa, de la cual fueron posteriormente recuperadas como bases libres con cloroformo previa adición de hidróxido de amonio al 28%.

De esta forma, quedaron en la fase clorofórmica en la que estaba disuelta la fracción original, las posibles bases cuaternarias y pigmentos separándose, las primeras por disolución y extracción con agua previo reflujo en HCl. Sin embargo, en esta fracción las bases cuaternarias pueden ir acompañadas aún de bases secundarias y terciarias arrastradas de la fracción original debido a una extracción incompleta. Los resultados de este tratamiento fueron evaluados por CCD de las correspondientes fracciones obtenidas (Fracciones I y II) donde se observó una mejor resolución debido a la eliminación de algunos interferentes y a la utilización del reactivo de Murnier-Macheboeuf (modificación al Dragendorff) como agente revelador. Fig. No.7.

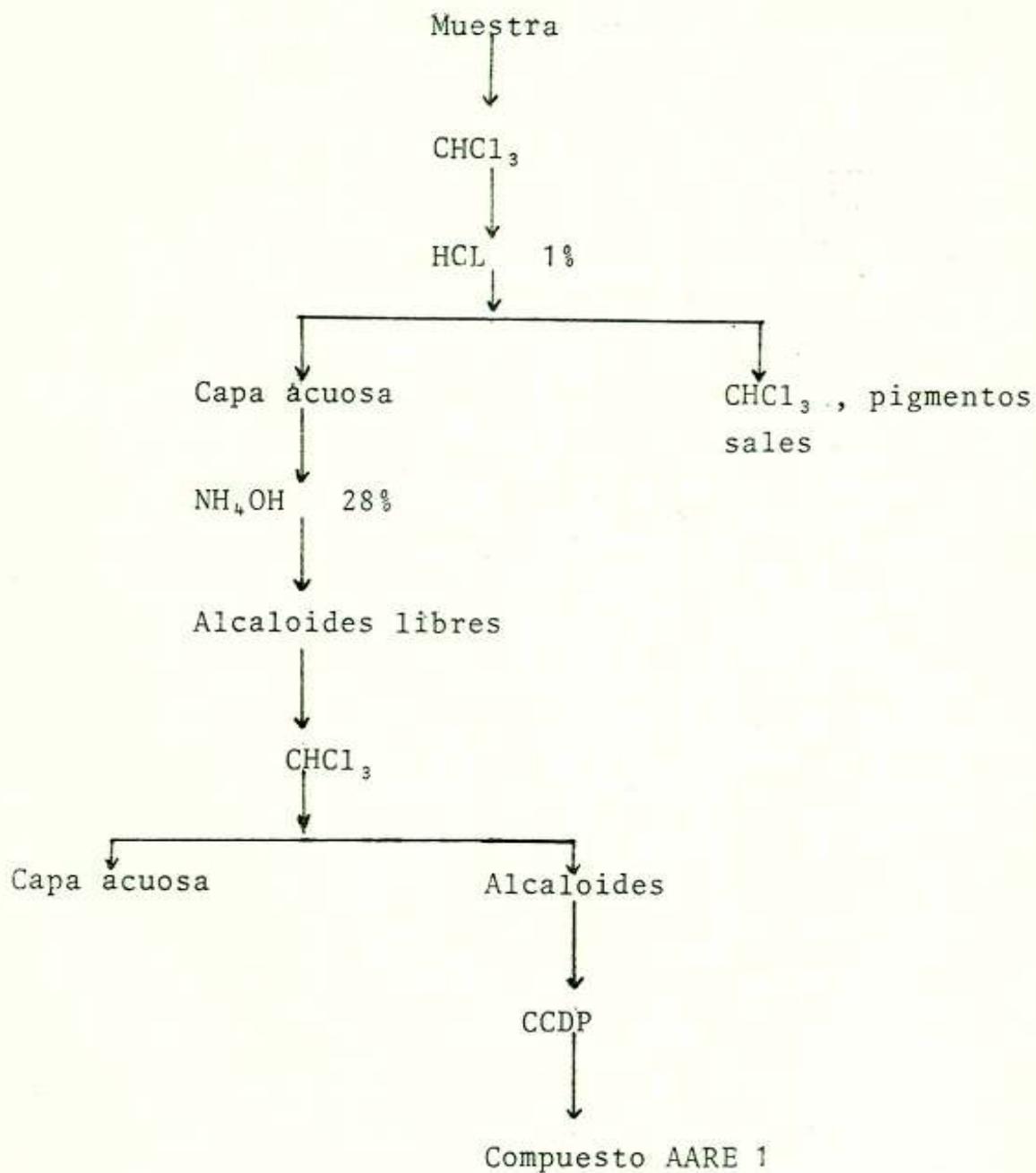


Fig. No. 6 Diagrama mostrando la purificación de alcaloides de la fracción E.



Muestra: Insoluble en acetona
Agente Revelador: CoCl_2
Sistema de solventes: Cloroformo

Fig. No. 5. CCD del insoluble en acetona del grupo E.



Muestra: Fracción II
Agente Revelador: CoCl_2 Murnier
Sistema de solventes: Cloroformo

Fig. No.7 CCD de la fracción II.

Se practicó una CCD preparativa a la fracción I para purificar el compuesto Munier-Macheboeuf positivo, desarrollándose en cloroformo y levantándose de la placa la mancha de interés, la cual se reextrajo con cloroformo mostrando trazas de impurezas (Fig. No.8). Este compuesto se clasificó como AAREI.

En esta misma preparativa se detectaron otras manchas que se revelaron como esteroides y dieron positivas las pruebas de Liebermann-Burchard y Salkowski, no pudiéndose aislar en forma pura dada la pequeña cantidad de muestra de que se disponía.

Compuesto AAREI

Se recuperaron 44.5 mg (0.0125% en base a planta seca) de un sólido oloroso amarillo claro de aspecto ceroso con punto de fusión 54-59°C el cual fue soluble en cloroformo, con un Rf de 0.84 al desarrollar su CCD en cloroformo (Figura No.8).

Este compuesto dió positivas las pruebas de Liebermann-Burchard con una coloración verde-amarilla así como la de Salkowski; además reaccionó positivamente con 2-4, dinitrofenil hidrazina y con el reactivo de legal.

Se le practicó fusión con Na para determinar posteriormente nitrógeno y azufre con resultados negativos. La prueba de aromatización mediante el reactivo de formalina-ácido sulfúrico fue dudosa.

Su espectro UV (Fig. No.9) muestra un máximo de absorción a 205 nm.

Su espectro IR (Fig. No.10) muestra las siguientes bandas características: 3080 cm^{-1} (m), $3000-2840\text{ cm}^{-1}$ (f), 1704 cm^{-1} (f), 1650 cm^{-1} (f) y 890 cm^{-1} (f).

Arrastre por Vapor de la Raíz

En el tratamiento dado al extracto etéreo de la raíz se observó pérdida de muestra por volatibilidad de parte de la misma, procediéndose a obtener un arrastre por vapor de la raíz fresca con el fin de mejorar la recuperación del compuesto AAREI que fue aislado anteriormente en el extracto etéreo.(8).

Se sometieron a un arrastre con vapor 3428 g de raíz fresca previamente reducida a astillas recuperándose sobre el vapor condensado una capa de apariencia aceitosa la cual fue extraída con éter de petróleo. Concentrándose posteriormente a presión reducida. El extracto etéreo concentrado se secó a través de una columna de sulfato de sodio anhidro. La CCD de este extracto fue comparablemente semejante a la CCD de la fracción E (26-97) eluída a partir del extracto etéreo de la raíz con éter de petróleo-benceno (7:3), conteniendo el compuesto Dragendorff positivo. Una vez seco este extracto, fue eluído a través de una columna empacada con sílica gel (70-230), eluyéndose a partir de ella el compuesto Dragendorff positivo con éter de petróleo benceno (3:7).

Se recogieron un total de 120 fracciones las cuales se concentraron a presión reducida llevándose un registro de

ellas por CCD. En las fracciones 21-23 se detectó la presencia de una mancha verde cromatográficamente semejante a la del compuesto AAREI aislado anteriormente. De la fracción No.22 la cual mostró una sola mancha, se recuperaron 414 mg de unos cristales blancos en forma de agujas los cuales mostraron una sola mancha de R_f 0.84 al desarrollar su CCD en cloroformo (Fig.No.11) teniendo un punto de fusión de 66-68°C y presentando el olor característico detectado en el compuesto previamente aislado a partir del extracto etéreo de la raíz seca. Este compuesto resultó ser cromatográficamente igual al compuesto AARE1 difiriendo solo en su punto de fusión lo que se esperaba dado que el primero fue aislado con cierta cantidad de impurezas.

La fracción No.23 se purificó a través de una columna de sílica gel recuperándose 372.5 mg de unos cristales que resultaron ser idénticos a los del compuesto AARE1.

En las siguientes fracciones (34-46) de aspecto aceitoso se observaron de nuevo las manchas características de esteroides anteriormente detectados durante el aislamiento del compuesto AARE1 intentándose su separación por cromatografía en una columna de alúmina sin obtener resultados satisfactorios.

BECKMAN INSTRUMENTS, INC. FULLERTON, CALIF. RECORDER BECKMAN PART NO. 502216 512
PRINTED IN U.S.A.

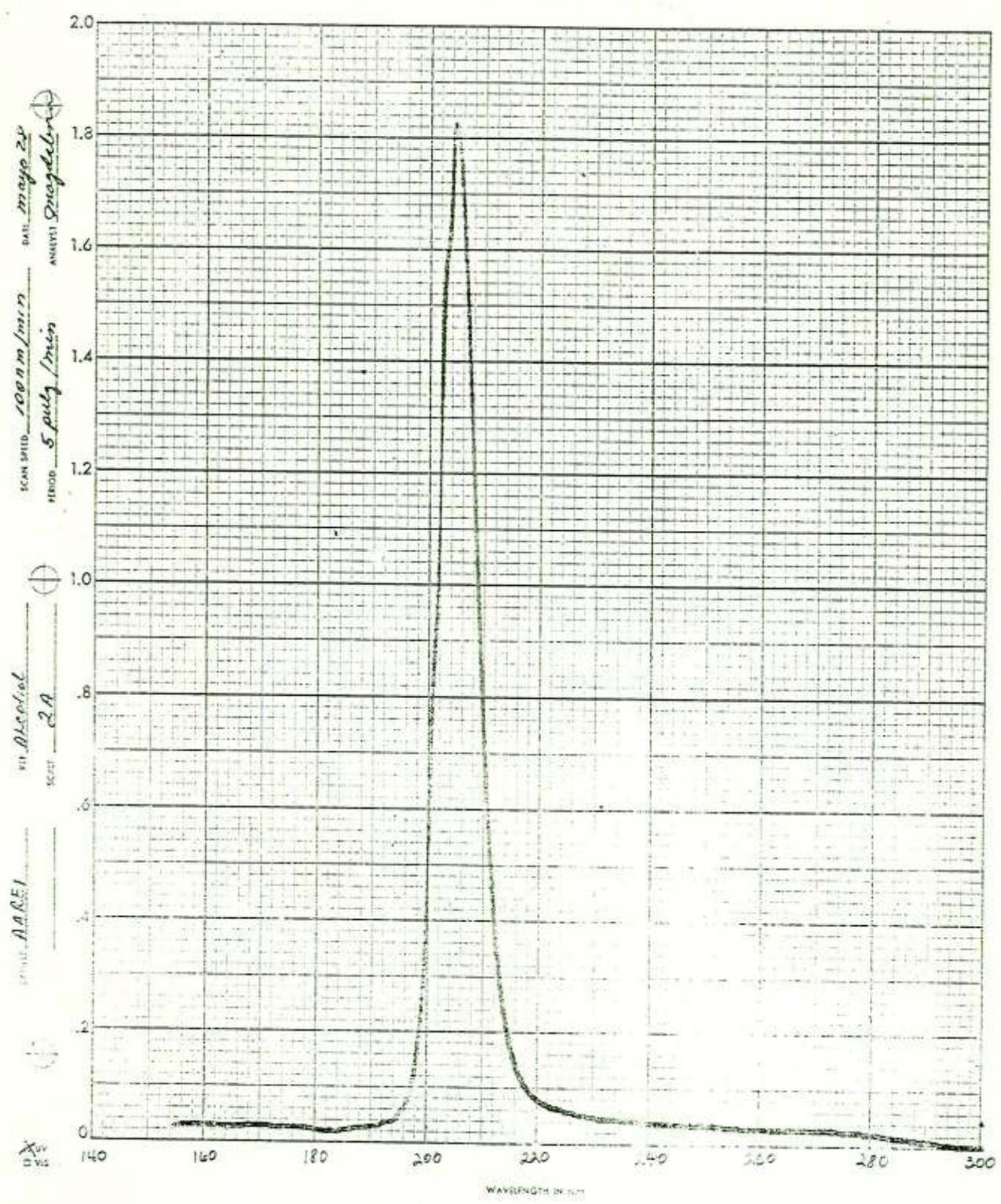
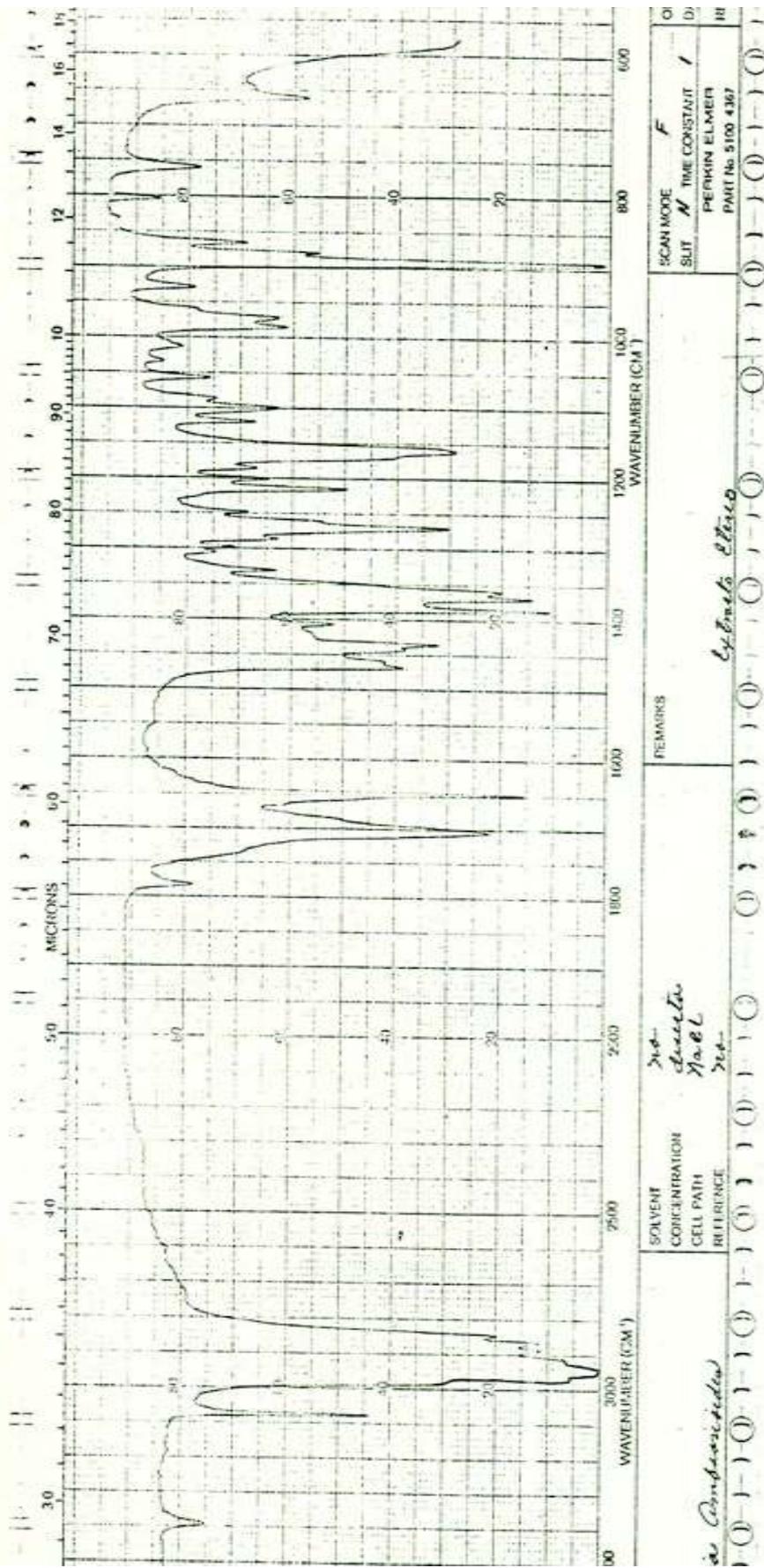
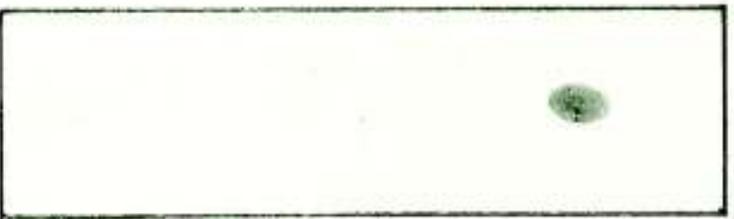


Fig. No. 9. Espectro U.V. Correspondiente al compuesto AAREI.



Espectro I.R. correspondiente al compuesto AAREI.



Muestra:

Cristales blancos

Agente revelador:

CoCl_2

Sistema de solventes:

Cloroformo

Fig. No.11. CCD de los cristales blancos de Rf 0.84.

Saponificación del Extracto Etéreo

En base a la detección de esteroides en las fracciones aceitosas del extracto etéreo y del arrastre por vapor anteriormente citados. Se procedió a saponificar 5 g de extracto etéreo con 3g de hidróxido de potasio y 30 ml de metanol reflujiéndose la mezcla durante 8 hr. La mezcla saponificada se diluyó con agua y se extrajo con varias porciones de éter etílico en un embudo de separación. La parte etérea se concentró en un rotavapor y se secó a través de una columna con sulfato de sodio anhidro para obtener 2.41 g de extracto insaponificable.

El insaponificable de color café se disolvió en cloroformo precipitándose un sólido blanco ceroso al añadirse metanol. Este sólido se purificó pasándose a través de una columna de sílica gel (70-230) eluyéndose las impurezas cereales con éter de petróleo y recuperándose a partir de las fracciones eluidas con cloroformo un compuesto blanco el cual se clasificó como AARE2.

Compuesto AARE2.

A partir del extracto etéreo se obtuvieron 163,6 mg de un compuesto blanco con un punto de fusión de 141-142°C mostrando un R_f de 0.4 al desarrollar su CCD en cloroformo-acetona (9:1). (Fig. No.12).

Este compuesto dió positivas la prueba de Liebermann-Burchard dando las coloraciones violeta → azul → verde; así

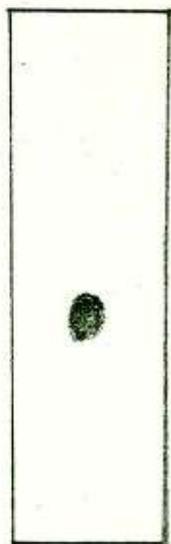
como la prueba de Salkowski (amarillo→rojo). En su espectro IR se observan las siguientes bandas características (Fig. No.14). Una banda ancha a 3470 cm^{-1} (m), $2980-2780\text{ cm}^{-1}$ (f), 1640 cm^{-1} (d), 1465 cm^{-1} (m), 1380 y 1370 cm^{-1} (m), 1060 cm^{-1} (m), duplete a 960 y 975 cm^{-1} (d).

Acetilación del Compuesto AARE2.

Se disolvieron 50 mg del compuesto AARE2 en 0.5 ml de piridina y 1 ml de anhídrido acético; se sometieron a reflujo en baño maría a 70°C durante 2 hr, dejándose reposar durante 24 hr. El producto de la acetilación se decantó sobre agua con hielo precipitando un sólido blanco, el cual se recuperó por filtración lavándose enseguida con ácido clorhídrico al 5% y agua carbonatada sucesivamente; se secó y se solubilizó en cloroformo del cual se precipitó el acetato con metanol.

De esta forma se obtuvieron 42 mg (84% de recuperación) de un sólido blanco de punto de fusión de $126-128^{\circ}\text{C}$ el cual mostró una sola mancha de R_f de 0.67 al desarrollar su CCD en benceno: cloroformo: acetona (16:3:1). (Fig. No.13).

Su espectro IR muestra las siguientes bandas características: $2980-2870\text{ cm}^{-1}$ (f), 1730 cm^{-1} (f), 1470 cm^{-1} (m), 1370 cm^{-1} (m), 1765 cm^{-1} (f), 1060 cm^{-1} (m), como se aprecian en la Fig.No.15.



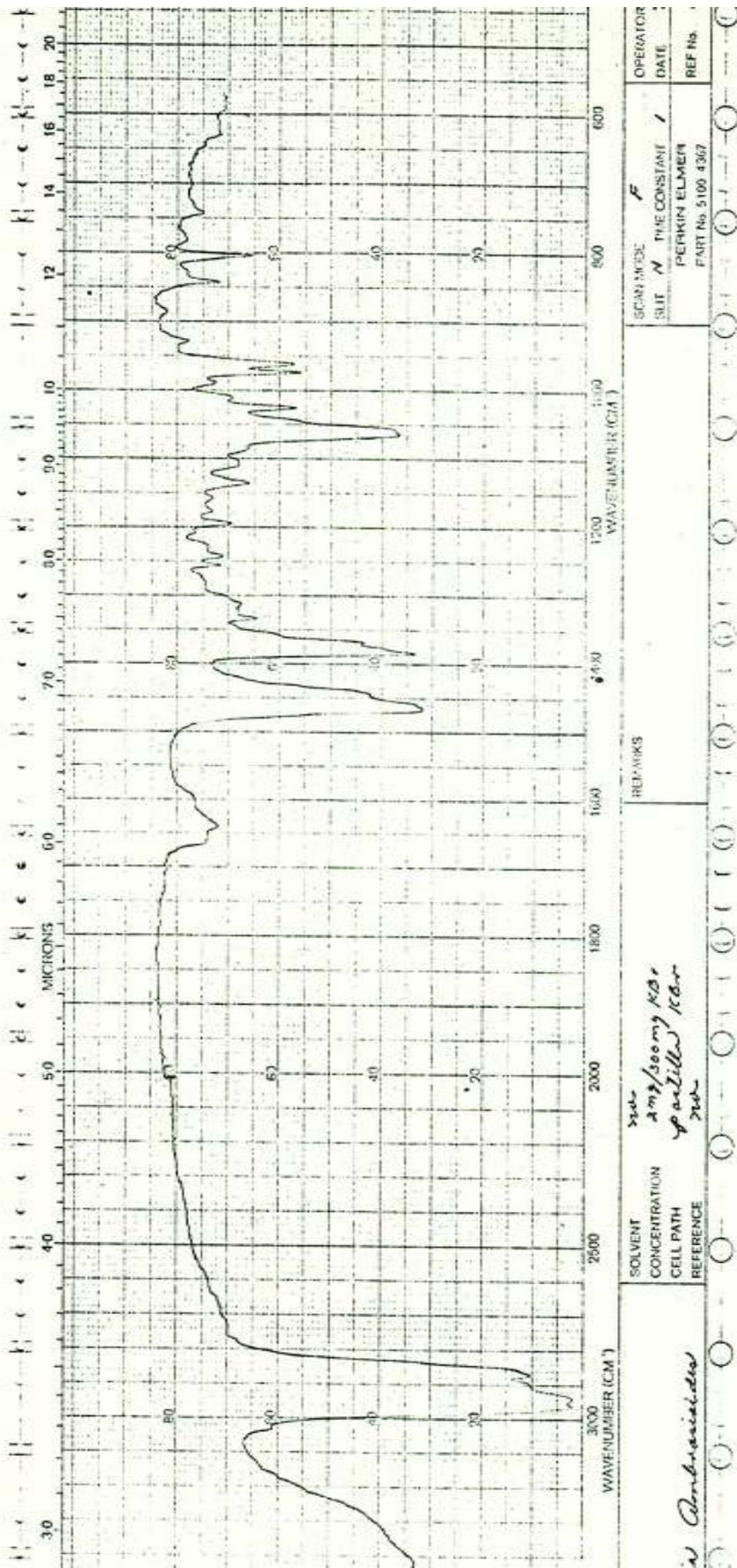
Muestra: AARE2
Revelador: CoCl_2
Solventes: C - A (9:1)

Fig. No.12. CCD del compuesto AARE2

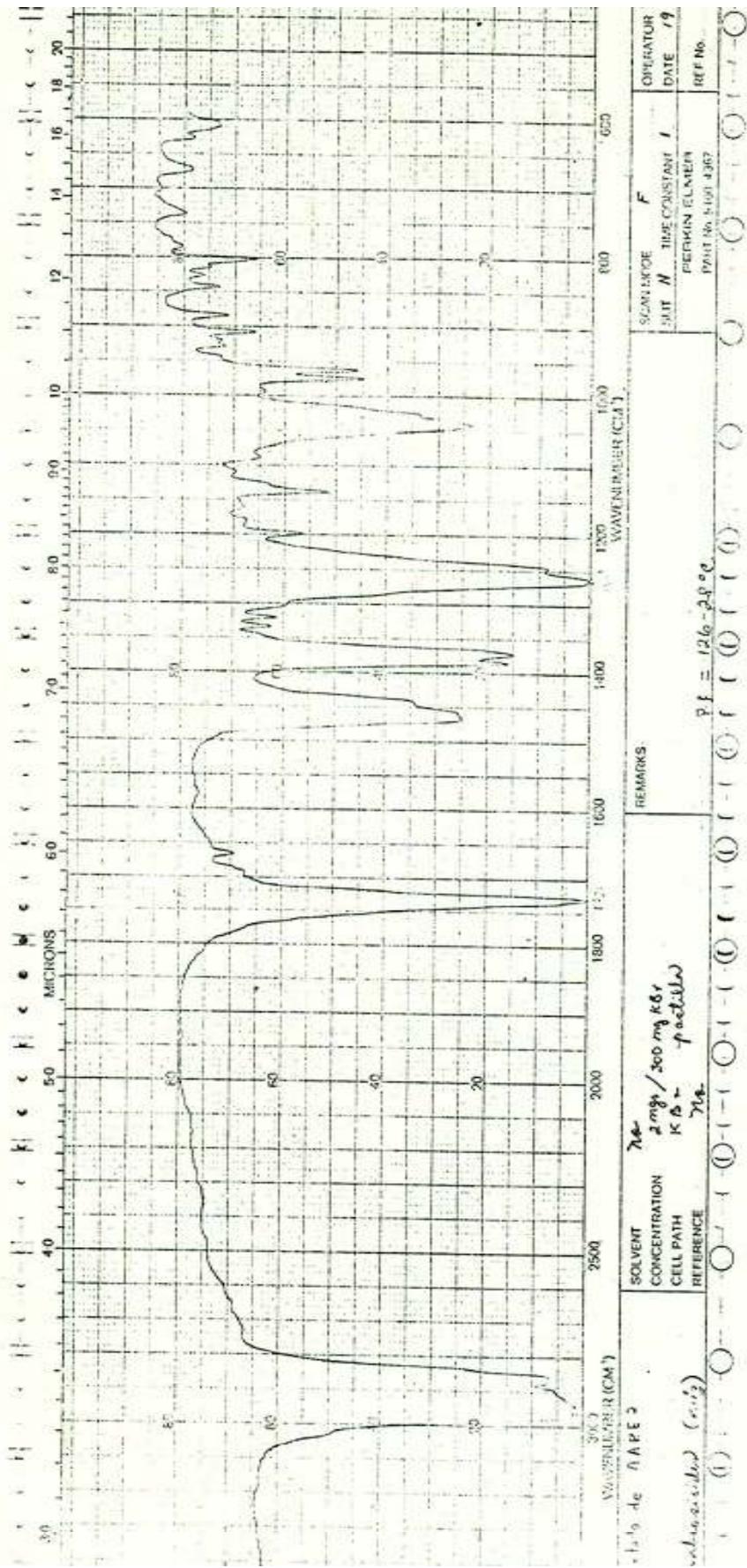


Muestra: AARE2 Acetato
Revelador: CoCl_2
Solventes: C-A (9:1)

Fig. No.13. CCD comparativa del compuesto AARE2 y su correspondiente acetato.



Espectro IR correspondiente al compuesto AARE2



SOLVENT <i>Ne</i>		SCAN RATE UNIT <i>N</i> TIME CONSTANT <i>F</i>		OPERATOR DATE <i>19</i>	
CONCENTRATION <i>2 mg / 100 mg KBr</i>		PERKIN ELMER PART NO. 5101-4367		REF No.	
CELL PATH <i>7.6</i>		REMARKS <i>Pf = 126-200</i>			

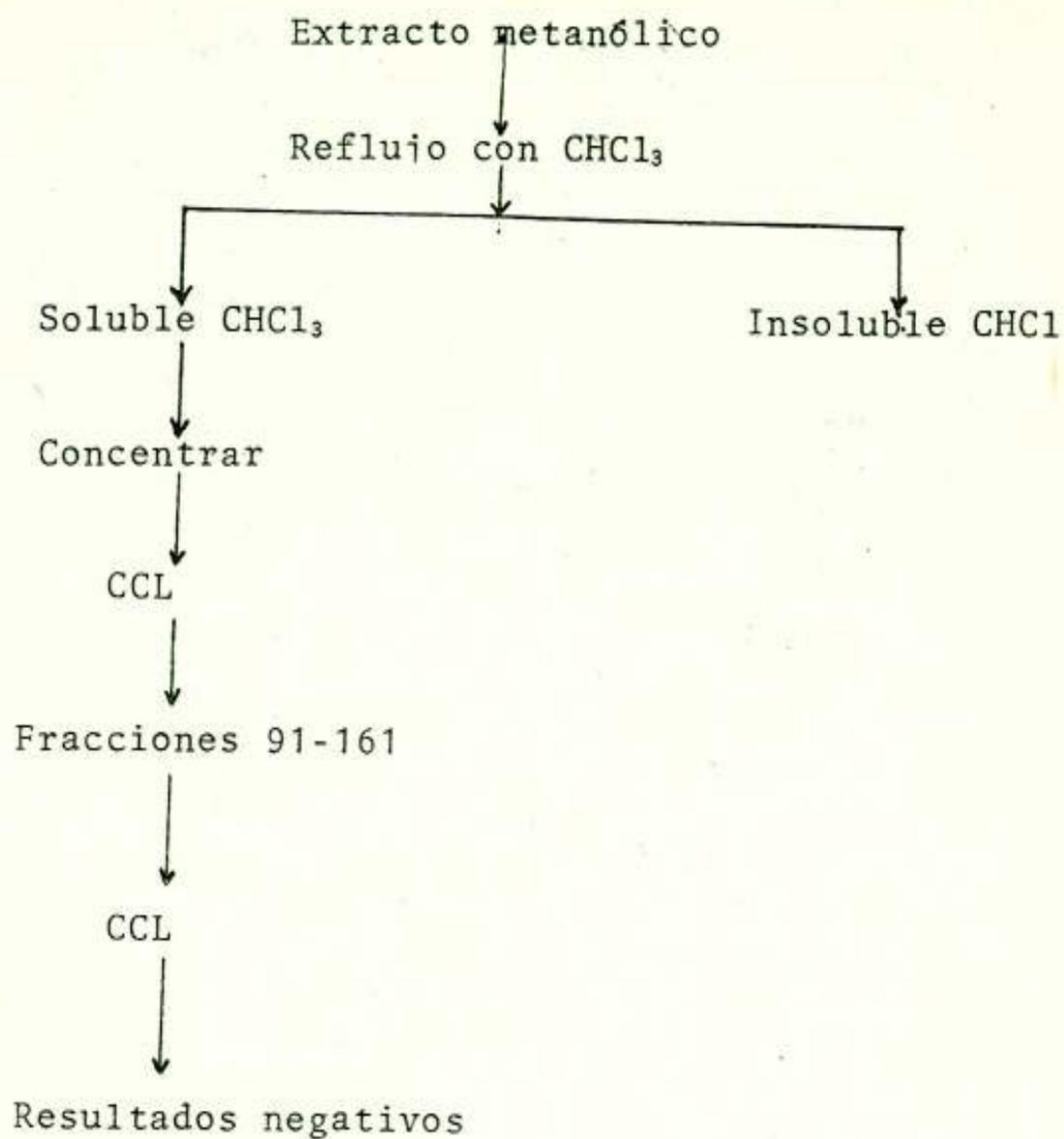
Espectro IR correspondiente al acetato de AAREZ.

EXTRACTO CLOROFORMICO
(Fig. 16. Diagrama)

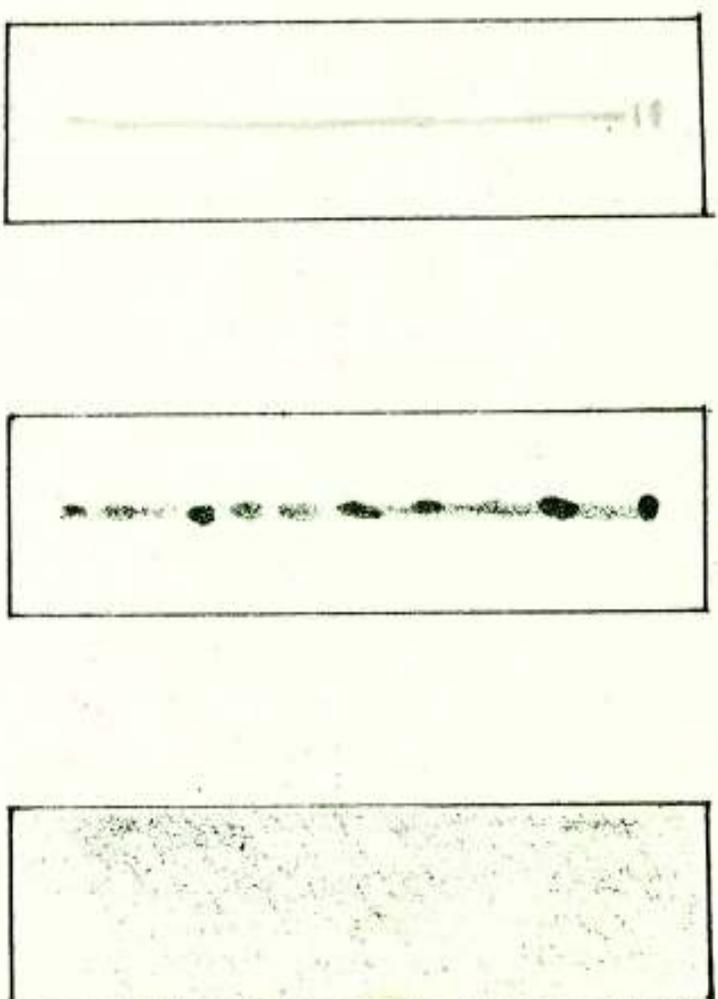
El extracto metanólico de la raíz seca se sometió a un reflujo con cloroformo durante 6 horas, a fin de lograr una partición de compuestos de polaridad intermedia, separándose de esta forma, un soluble en cloroformo caracterizado como extracto clorofórmico y un insoluble en cloroformo que se siguió considerando como extracto metanólico.

El extracto clorofórmico se concentró y se trató directamente con distintos solventes sin poder aislar ningún compuesto puro dada la gran cantidad de ellos presentes en el extracto como se aprecia en la diversidad de manchas observadas en su CCD (Fig.17). Enseguida se intentó un fraccionamiento por cromatografía en columna de alúmina, eluyéndose ésta con solventes con un gradiente de polaridad; se recuperaron 200 fracciones de 150 ml c/u llevándose un registro de las mismas por CCD.

Se intentó separar algún compuesto puro de las fracciones 91-161 que fue la de mejor rendimiento eluyéndolas a través de una columna de sílica gel húmeda sin resultados satisfactorios.



g. No.16 Diagrama del estudio fitoquímico del extracto clorofórmico



Muestra:

Extracto cloroformico

Agente Revelador: U.V.

CoCl_2

Dragendorff

Sistema de Solventes: C-A (9:1)

Fig. No. 17. CCD del Extracto Cloroformico.

EXTRACTO METANOLICO
(Fig. 18 Diagrama)

El insoluble en cloroformo (extracto metanólico) se solubilizó en metanol y se dejó reposar por varios días, depositándose en el fondo del matríz un sólido soluble en agua, de color café claro, el cual se separó por filtración oscureciéndose con el aire. A este sólido (3.2 g), de olor dulce y color café, se le practicaron algunas pruebas características para carbohidratos obteniéndose los siguientes resultados:

Prueba de Tollens	(+)
" " Benedict	(+)
" " Barfoed	(+)
" " Seliwanoff	(+)

a) Con el reactivo de Benedict se formó un precipitado de color rojo ladrillo a los 3 minutos por lo que se consideró la existencia de azúcares reductores.

b) Con el reactivo de Barfoed se formó un precipitado amarillo verdoso a los 2 minutos, indicando prueba positiva para monosacáridos; se filtró el precipitado y el sobrenadante se sometió de nuevo a ebullición, no obteniéndose ningún otro precipitado lo que indica que el extracto no contiene disacáridos.

c) Con el reactivo de Seliwanoff se obtuvieron

resultados negativos considerando así, que no existen cetosas en el extracto y que los carbohidratos presentes son aldosas.

Para confirmar aún más la presencia de carbohidratos se llevó a cabo una CP, específica para carbohidratos, la cual fue desarrollada en acetonitrilo-acetato de amonio 7:3 a pH 7, y revelada con agentes específicos y generales para carbohidratos como son: solución de antrona, nitrato de plata amoniacal, anilina-ácido ftálico, detectándose la presencia de carbohidratos.

El extracto metanólico remanente, se dejó reposar por más tiempo depositándose en el fondo del matraz, cristales blanquiscos los cuales fueron separados por filtración siendo solubles en agua. Estos cristales, se disolvieron en agua y se precipitaron con metanol obteniéndose unos cristales blancos en forma de agujas (500 mg) con punto de fusión de 337°C, su CCD, no reveló ninguna mancha con cloruro de cobalto, vapores de iodo y Dragendorff; su espectro IR se muestra en la fig. No. 19.

En un intento de clasificarlo, se le practicaron pruebas químicas con el propósito de detectar la presencia de carbón en la muestra por reducción del trióxido de molibdeno el cual resultó ser negativo, también se le practicó una fusión con sodio para determinar la posible presencia de azufre y halógenos, obteniéndose resultados negativos.

Del resto del extracto metanólico no se pudo obtener ningún compuesto.

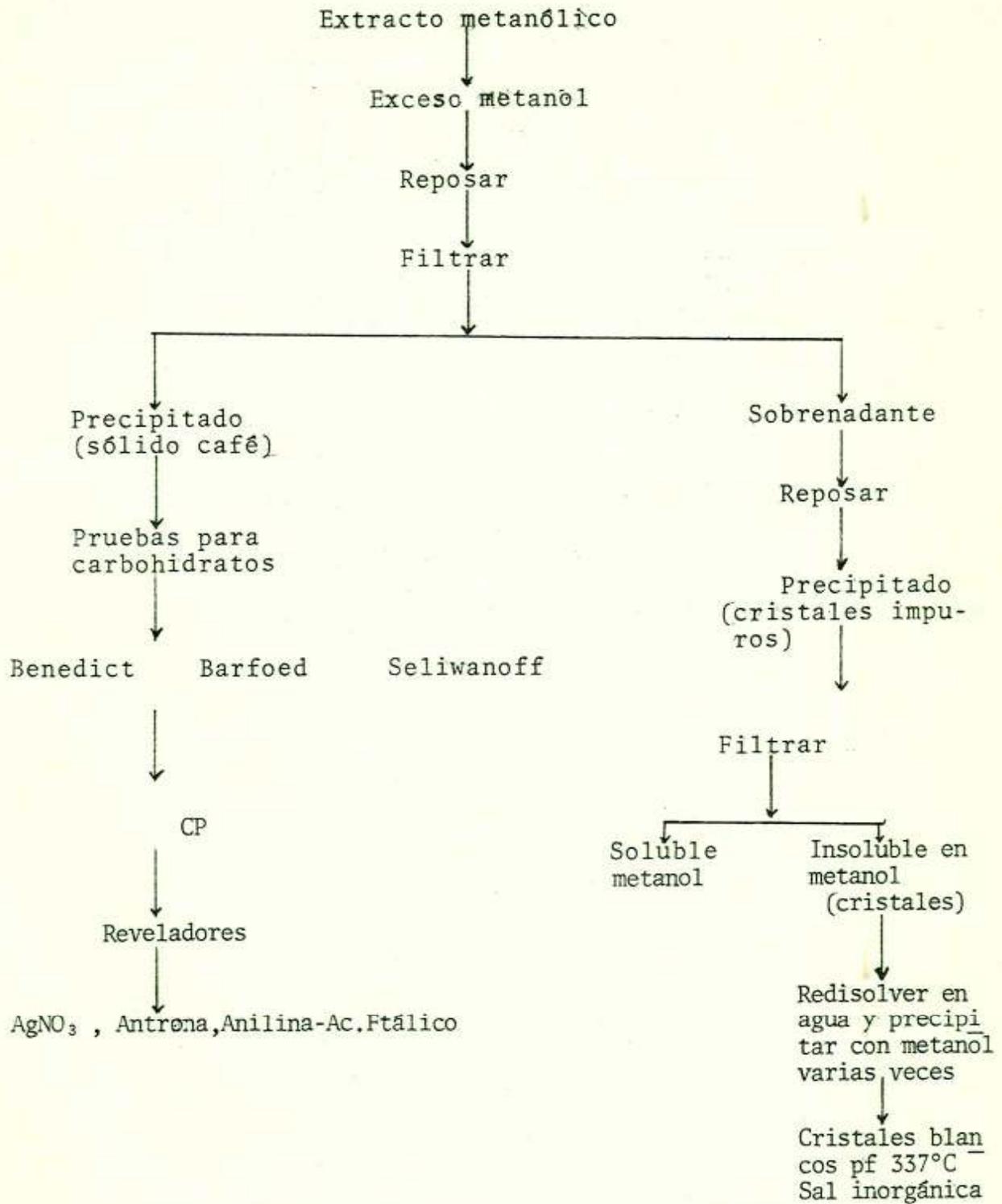
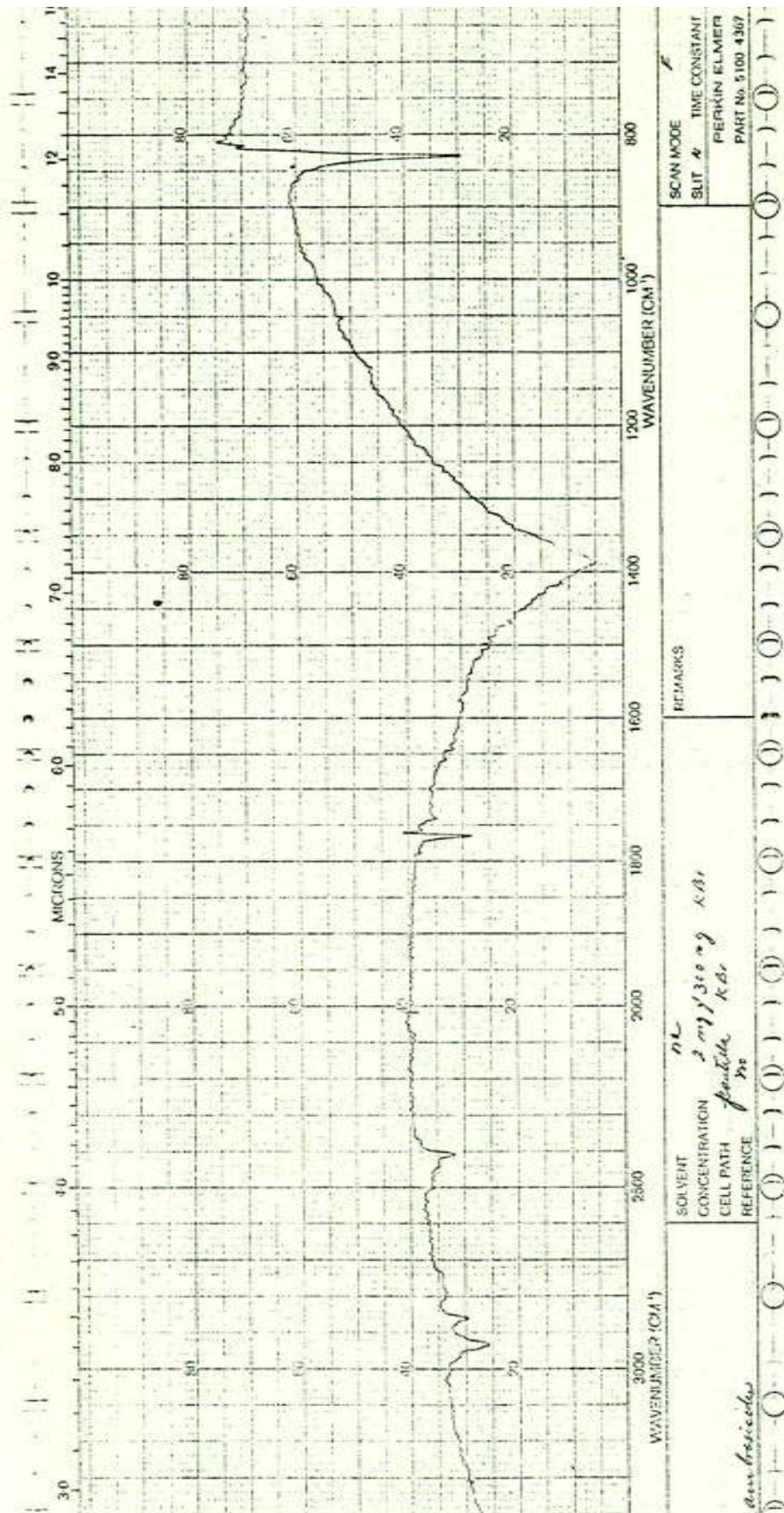


Fig. No.18 Diagrama del estudio fitoquímico del extracto metanólico.



Espectro IR del compuesto **AARM1**

EXTRACTO ACUOSO

A este extracto, de las pruebas químicas preliminares que se le practicaron, no se logró detectar ningún grupo de compuestos de interés. Debido a esto, se le practicó un análisis cromatográfico en papel, utilizando papel Whatman 1, y como fase móvil dos sistemas de solventes diferentes como butanol-acético-agua (4:1:15) y acetonitrilo-acetato de amonio (7:3) a pH 7. Los correspondientes cromatogramas fueron revelados tanto con agentes cromogénicos generales como específicos para carbohidratos de los cuales los utilizados fueron nitrato de plata amoniacal, antrona y anilina - ácido ftálico. Así mismo el cromatograma fue revelado a la luz ultravioleta, detectándose manchas características de glicósidos, por lo que se trataron de aislar sometiendo el extracto a una hidrólisis ácida con resultados negativos.

En un intento por caracterizar los carbohidratos presentes en el extracto se realizaron las siguientes pruebas químicas:

a) Prueba de Benedict. Se formó un ligero precipitado a los 5 minutos y aumentó con el tiempo por lo que se considera que en el extracto se encuentran presentes tanto azúcares reductores como no reductores.

b) Prueba de Barfoed. A los 2 minutos se formó un precipitado amarillo, indicando la presencia de monosacáridos se ltra y el sobrenadante se vuelve a someter a ebullición rmándose un nuevo precipitado siendo prueba positiva para sacáridos.

c) Prueba de Seliwanoff. Se formó un color rojo ce-za indicando la presencia de cetosas.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

En el análisis químico preliminar (Tabla No.2) se detectaron en el extracto etéreo de la raíz la presencia de alcaloides, al reaccionar éste con los reactivos de Dragendorff y Mayer así como la presencia de esteroides al reaccionar con los reactivos de Liebermann-Burchard y Salkowsky.

Compuesto AARE1

Este compuesto de p.f. 66-68°C se detectó y manifestó como un posible alcaloide en el estudio preliminar de la planta, durante su aislamiento y como compuesto puro.

Su aislamiento y purificación presentaron dificultades mostrando pérdidas por volatilidad y teniendo que recurrir a un tratamiento de hidrólisis adecuado para la purificación de alcaloides seguido de CCD preparativa lográndose de esta forma recuperar el compuesto en forma casi pura pero con bajo rendimiento. Mediante un tratamiento de arrastre por vapor de la raíz fresca (dadas las pérdidas por volatilidad), seguido de una purificación en columna cromatográfica se lograron recuperar en forma pura 786.5 mg del compuesto en forma de cristales aciculares blancos con el olor característico percibido originalmente en el extracto crudo, observándose un mayor rendimiento en la recuperación del compuesto

(0.055% en base seca) aislado por arrastre con vapor respecto al mismo compuesto aislado a partir del extracto etéreo de la raíz.

El análisis elemental reportó para una fórmula de $C_{19} H_{31} O_2$ indicando la presencia de insaturaciones en la molécula. Esta con los resultados de espectrometría de masas (aún sin determinar) dará la fórmula molecular. Como se puede apreciar no se reportó la presencia de nitrógeno descartándose la posibilidad de un alcaloide aún cuando siempre reaccionó con reactivos como Dragendorff, Murnier y Mayer.

Después de una fusión con sodio de este compuesto no se detectó la presencia del ion cianuro y por lo tanto de nitrógeno. De igual forma redujo el permanganato de potasio indicando insaturación en el compuesto y dió solo ligeramente positivo la prueba de formalina para estructura aromática. Por otro lado dió positiva la reacción con 2,4, dinitrofenilhidrazina lo cual junto con una prueba de legal positiva nos indican la presencia del grupo carbónilo, probablemente en un sistema de lactona α, β insaturado. Entre otras pruebas, el compuesto reaccionó con el reactivo de Liebermann-Burchard dando una coloración amarillo-verdoso.

El espectro UV nos muestra un máximo de absorción a 205 nm debido a una insaturación en un anillo.

El espectro IR nos muestra una banda de mediana intensidad 3080 cm^{-1} característica de estiramiento C-H

perteneciendo a un doble enlace terminal ($C = CH_2$) la cual es completamente diferenciable de las bandas correspondientes a estiramientos C-H de grupos metilos ($-CH_3$) y metilenos ($-CH_2$) las cuales aparecen en el mismo espectro pero a menor frecuencia ($3000-2840\text{ cm}^{-1}$).

Se observa una banda fuerte en 1650 cm^{-1} característica de estiramiento del doble enlace terminal ($R_3R_4C = CH_2$) la cual para su intensidad y posición excluyen la posibilidad de que esta insaturación se encuentre incluida en la cadena sugiriendo además el que corresponda a un grupo metilénico exocíclico. Además una fuerte banda a 890 cm^{-1} (con el correspondiente sobre tono en 1760 cm^{-1}) debido a deformaciones fuera del plano de los hidrógenos unidos al carbono que sustenta el doble enlace asimétrico ($R_3R_4C = CH_2$) comprueban la existencia y posición de la insaturación terminal.

La presencia del grupo $C=O$ se manifiesta por una banda fuerte en 1704 cm^{-1} la cual podría corresponder a un ciclo heptanona ya que aparece a una frecuencia menor que las correspondientes cetonas alifáticas. La naturaleza cetónica del carbonilo queda establecida por la posición de esta banda y la ausencia de bandas característica de estiramientos C-H del carbonilo aldehídico ($H-C=O$) en la región de $2720-2820\text{ cm}^{-1}$.

Otras bandas que aparecen en el espectro son las características de deformaciones C-H de los grupos $-CH_3$ y $-CH_2-$.

Los resultados anteriores parecen indicar que el compuesto AARE1 tiene la estructura de una lactona insaturada aún cuando faltan otras evidencias como su espectro RMN y el de masas.

Compuesto AARE2

Este compuesto fue detectado durante el análisis preliminar y en el primer tratamiento del extracto etéreo siendo aislado sólo después de una saponificación del extracto etéreo como un sólido blanco de p.f. 141-142°C.

Este compuesto dió positivas las pruebas de Liebermann-Burchard con coloración violeta → azul → verde; así como el Salkowsky (color amarillo → rojo), y un color violeta al ser revelado con cloruro de cobalto reacciones típicas de esteroides.

El espectro UV muestra una banda con un máximo de absorción de 199 nm correspondiente a un doble enlace aislado como es frecuente en esteroides. El espectro IR muestra la banda típica de estiramiento O-H de hidróxilo a 3470 cm^{-1} y la correspondiente banda de estiramiento C-O en la región de 1065 cm^{-1} ; las bandas características de estiramiento C-H en la región de $2970\text{-}2865\text{ cm}^{-1}$ y sus correspondientes bandas de flexión de grupos $\text{-CH}_2\text{-}$ en 1465 cm^{-1} y una banda (duplete) en 1385 y 1370 característica de un gem-dimetilo. Se observa solo una débil y ancha banda de estiramientos C-C. Todas estas bandas son las que comunmente encontramos en los esteroides.

Este espectro IR fue idéntico al espectro IR del β sitosterol reportado en el compendio de espectros IR editado por la Aldrich Library y coincidiendo su punto de fusión con el reportado en la literatura para β sitosterol se consideró como tal.

Se obtuvo el correspondiente acetato del compuesto AARE2 y se determinó su punto de fusión el cual fue similar al reportado para el acetato de β sitosterol y en el espectro IR de este acetato desapareció la banda correspondiente a estiramiento O-H localizado en 3470 cm^{-1} y apareció una fuerte banda de estiramiento C-O del acetato en 1265 cm^{-1} . Lo anterior nos llevaron a considerar a este compuesto como β sitosterol aún cuando quedan por hacerse comparaciones con un estandar.

Compuesto AARM1

Este compuesto de punto de fusión 337°C con apariencia de sal fue obtenida del extracto metanólico siendo soluble únicamente en agua.

Su espectro IR carece de bandas de absorción de los compuestos orgánicos (estiramientos C-H) lo cual aunado a una prueba química negativa para carbono hecha con trióxido de molibdeno nos indujo a pensar en una sal inorgánica.

Aún cuando los espectros de iones inorgánicos son difíciles de obtener con buenos resultados en IR (ya que se obtienen por espectroscopía Raman) se pueden apreciar 2 bandas

de absorción: la primer banda ancha y fuerte en 1380 cm^{-1} y la otra angosta y de mediana intensidad quizá pertenecientes a un nitrato.

Por espectroscopía de absorción atómica se determinó el catión el cual fue potasio con ligeras impurezas de sodio quedando por confirmarse la identidad del anión.

Esto aunado con el punto de fusión reportado en la literatura para KNO_3 nos hacen pensar en la posibilidad de que este compuesto sea KNO_3 .

BIBLIOGRAFIA

1. Cheronis and Entrinkin. 1963. Identification of Organic compound. Intercience Publishers.
2. Dominguez, X.A. 1973. Métodos de Investigación Fitoquímica. 1° Edición. Editorial Limusa.
3. Farnsworth, N.R. 1966. J. Pharm. Sci. 55,225.
4. Geissmann, T.A. and Matsueda, S. 1968. Sesquiterpene Lactones Constituents of Diploid and Polyploid *Ambrosia dumosa* Gray. Phytochemistry Sci. 7, 1613.
5. Harborne, J.B. 1973. Phytochemical Methods. A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. 1° Edition Chapman and Hall Ltd. London.
6. Joseph - Nathan, P. and Romo, J. 1966. Isolation Structure of Peruvín. Tetrahidron. 22, 1723.
7. Lange's Handbook of Chemistry. 11th Edition. Edited by John A. Dean. McGraw Book Company.
8. Moore and Dalrymple. 1976. Experimental Methods in Organic Chemistry. 2th Edition. W.B. Saunders Co.
9. Pouchert, C.J. 1975. The Aldrich Library of Infrared Spectra. 2th Edition. Aldrich. Chemical Company Inc.
10. Romo del Vivar, A. Velez, A. and Urbina, E. 1968. Franserina y Confortina. New Pseudoguaianolides isolated from Franseria and *Ambrosia* species. Canad. J. Chemical. 46:1535.
11. Shriner. Fuson y Curtin. 1977. Identificación Sistemática de Compuestos Orgánicos. 3° reimpresión. Editorial Limusa. México.
12. Wall, M.E. 1954. J.Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed. 43.