

## MATERIALES Y METODOS

-11-

### Descripción de la Planta:

Encelia farinosa pertenece a la familia de las Compositáceas, siendo una planta perenne, de forma redondeada y muy ramificada que mide aproximadamente de 1 a 1.5 m. de alto a partir de una base leñosa; en su juventud tiene troncos y ramas farináceos (cubiertos de un polvillo blanco) que después son lisos y exudan una resina aromática de color café claro. Las hojas son lanceoladas u ovaladas, farináceas y pecioladas; inflorescencias paniculadas; involucros de 1 a 1.5 cm. de diámetro, brácteas superpuestas en 3 o 4 series; el disco de las corolas mide aproximadamente de 3.5 a 4.5 mm. de diámetro y es de color amarillo.

Fué recolectada también la variedad phenicodonta, que difiere de la especie tipo únicamente en el color del disco de las corolas, que en este caso es púrpura (11).

### Distribución Geográfica:

En México se encuentra en los estados de Baja California, Sonora y Sinaloa; en Estados Unidos, en Arizona y California (11).

Recolección y Preparación:

La recolección se efectuó 114 Km. al sur de -  
Sonoita, Son. en el mes de marzo de 1966.

El material se cortó en trozos pequeños, se de-  
jó secar y después se pulverizó en un molino Wiley, reco-  
giéndose un polvo de color café-amarillento.

Métodos de Extracción:

Las extracciones se hicieron con el material -  
seco, molido y pesado, en un extractor tipo Soxhlet, extra-  
yéndose primero con éter de petróleo y después con acetona.

Los precipitados obtenidos en los extractos -  
fueron separados por filtración a presión reducida y las -  
soluciones resultantes, concentradas en un evaporador tipo  
"Flash", continuo.

MÉTODOS CROMATOGRAFICOS EMPLEADOS.

1) Cromatografía en capa delgada (12), (13).

Material Empleado:

Cámara cromatográfica; placas de vidrio de 14  
cm. de largo por 6.5 cm. de ancho; tubos capilares.

Pastas:

Se preparan las pastas mezclando 10 gr. de -  
sílica-gel, 2 gr. de yeso y 30 ml. de agua.

Disolvente Empleado:

Cloroformo-benceno 2:1

Revelador Empleado:

Reactivo de Liebermann-Burchard ( 10 ml. de -  
anhidrido acético, 10 ml. de cloroformo y 10 gotas de -  
ácido sulfúrico concentrado ) (4).

Cloruro Férrico al 1% en agua.

Procedimiento:

Preparación de las Placas:

La pasta se extiende sobre las placas de vi-  
drio en capas de espesor uniforme, se secan a temperatu-  
ra ambiente durante media hora y después en una estufa -  
a 100-110°C por una hora.

Aplicación de las Muestras:

Se disuelven las muestras en un disolvente -  
apropiado, de preferencia volátil y se aplican con un ca



pilar a 2 cm. del borde inferior de la cromatoplaca.

**Desarrollo de los Cromatogramas:**

Las cromatoplasas así preparadas se colocan - en posición casi vertical dentro de una cámara de vidrio que contiene el disolvente apropiado, además de una hoja de papel filtro cubriendo sus paredes interiores, lo que permite mantener la saturación uniforme del disolvente - dentro de la cámara. Cuando el disolvente haya subido -- aproximadamente las tres cuartas partes de la altura de - la cromatoplaca, se saca ésta y se pone a secar a tempera tura ambiente para revelarla posteriormente.

**Revelado de los Cromatogramas:**

El revelador se aplica por medio de un atomiza dor a las cromatoplasas.

**2) Cromatografía en Papel (14).**

**Material Empleado:**

Cámara cromatográfica SHANDON unikit; papel - filtro Whatman No. 1 (hojas de 25 por 25 cm.); tubos capi lares.

**Disolvente Empleado:**

Isopropanol-Piridina-Agua-Acido Acético - - -  
(8:8:4:1).

**Revelador Empleado:**

Fosfato de Anilina-Difenilamina.

**Procedimiento:**

Se coloca la cámara en una mesa fija y se le -  
añade el disolvente, dejándose una a dos horas cerrada, -  
con el fin de saturarla con los vapores del mismo.

**Aplicación de las Muestras:**

Las muestras se aplican con un capilar en el -  
centro de una línea dibujada con lápiz a 3 cm. del borde -  
del papel.

**Desarrollo de los Cromatogramas:**

Se colocan las piezas de papel dentro de la cá -  
mara lo mas rápidamente posible para evitar que escapen -  
los vapores, dejándose desarrollar el cromatograma hasta -  
que el disolvente haya recorrido por lo menos el 75% de la  
longitud del papel, enseguida se saca éste y se deja secar  
a temperatura ambiente.

#### Revelado de los Cromatogramas:

Esta operación se hace por inmersión en el agente cromogénico, llevándose después el cromatograma a una estufa con una temperatura constante de 80°C. La identificación de las manchas se hace por la determinación de los valores de Rf.

#### 3) Cromatografía en Columna (13).

Las columnas cromatográficas se preparan de la siguiente manera: en la base se pone un pequeño tapón de algodón y una capa de arena lavada de aproximadamente 0.5 cm. de espesor. A continuación se agrega alúmina, haciéndola caer en pequeñas porciones dentro de la columna previamente llena con éter de petróleo y golpeando el exterior con una varilla de madera con un capuchón de hule. De esa manera se consigue una distribución regular de la alúmina dentro de la columna. Después se pone otra capa de arena y un trocito de algodón. Una vez preparada así la columna, se deja salir el éter y se agrega por la parte superior la muestra a estudiar, previamente disuelta en éter o en otro disolvente. Posteriormente se realiza una elución, haciendo pasar disolventes de polaridad creciente. Las fracciones obtenidas se evaporan y se pesan.



IDENTIFICACION DE PRINCIPIOS ACTIVOS.

Reacciones de Identificación :

Esteroides: (4)

Reactivo de Liebermann-Burchard:

Se añade una solución reciente de una gota de ácido sulfúrico en 1 ml. de anhídrido acético helado, a una solución de 1 a 10 mg. de la muestra en cloroformo. Se observa el desarrollo de color a los 2, 5, 20 y 60 minutos después de mezclar.

Aldehidos y Cetonas: (15)

Reactivo de 2-4 Dinitrofenilhidracina:

A 10 mg. de la muestra se agrega una solución de 2-4 dinitrofenilhidracina en etanol y se hierve por un minuto; se agrega una gota de ácido clorhídrico y se hierve durante tres minutos. La formación de un precipitado in dica que la prueba es positiva.

Aldehidos: (16)

Reactivo de Tollens:

En un tubo de ensaye se colocan 30 mg. del com puesto y se agregan 2 ml. del reactivo recientemente prepa

rado (0.5 ml. de hidróxido de sodio al 10% se agregan a - 1 ml. de solución al 5% de nitrato de plata en hidróxido de amonio diluido). Se agita el tubo y se introduce en un baño de agua caliente durante 10 minutos. Un depósito de plata en forma de espejo en la pared del tubo indica que la prueba es positiva.

Alcoholes\* : (17)

Complejo Vanadio-Oxina:

Preparación del Reactivo.- Se disuelven 12.5 gr. de vanadato de amonio en 5 litros de agua, añadiendo sobre la solución 250 ml. de ácido acético concentrado. Aparte se disuelven 37.5 gr. de 8-hidroxi-quinolina en 2.5 litros de agua y 125 ml. de ácido acético concentrado. Se mezclan - ambas soluciones, calentando suavemente al principio y llegando a hervir durante dos minutos. El precipitado, inicialmente verde claro, se vá oscureciendo hasta volverse negro, a la vez que pasa de amorfo a cristalino. Se filtra y se lava con agua acética, secándose en una estufa a 100-110°C.

Forma de Empleo.- En un portaobjetos se coloca un miligramo del alcohol, agregándole 0.5 mg. del reactivo y calentando en la flama de un micromechero hasta fusión. El desarrollo de una coloración roja indica que la prueba es positiva.



Carbohidratos: (15), (16)

Reactivo de Molisch:

A 1 ml. de muestra se agregan dos gotas de una solución de 0.1 gr. de  $\alpha$  naftol en 10 ml. de metanol. Inclinando el tubo, se dejan resbalar por las paredes 2 ml. de ácido sulfúrico concentrado. La aparición de un anillo de color violáceo en la interfase, indica que la prueba es positiva.

Reactivo de Resorcinol:

Se agregan 20 mg. del compuesto a una solución al 0.1% de resorcinol en agua y se estratifica la mezcla sobre 2 ml. de ácido sulfúrico concentrado. Una zona anaranjada en la interfase es una reacción positiva.

Reactivo de Fehling:

Se mezcla 1 ml. de solución A de Fehling (34.64 gr. de sulfato de cobre disueltos en agua y aforados a 500 ml.) y 1 ml. de solución B de Fehling (60 gr. de hidróxido de sodio y 173 gr. de tartrato de sodio y potasio disueltos en agua y aforados a 500 ml.) con 0.5 ml. de la solución a ensayar y se calienta en Baño María por 10 minutos. La aparición de un precipitado rojo de óxido cuproso, constituye un ensayo positivo.

Taninos: (4)

Reactivo de Cloruro Férrico:

Se disuelve 1 gr. de cloruro férrico en 100 ml. de agua. Unas gotas del reactivo dan coloraciones azules, verdes o negras con extractos conteniendo taninos.

Reactivo de Gelatina-Cloruro de Sodio:

En 1 litro de agua se disuelven 10 gr. de gelatina y 100 gr. de cloruro de sodio. Unas gotas del reactivo dan precipitados con extractos conteniendo taninos.

Insaturaciones: (15)

Reactivo de Baeyer:

Se disuelven 0.2 gr. o 0.2 ml. de la sustancia en agua o en acetona y se añade una solución de permanganato de potasio al 2% en agua o en acetona. La prueba es negativa si no se decoloran más de 3 gotas del reactivo.

Reactivo de Bromo:

Se disuelven 0.2 gr. o 0.2 ml. de la sustancia en 2 ml. de tetracloruro de carbono y se agrega una solución al 2% de bromo en tetracloruro de carbono gota a gota, hasta que la coloración persista por un minuto.

APARATOS EMPLEADOS EN DETERMINADAS TECNICAS DE ANALISIS.

Puntos de Fusión:

Se determinaron en un aparato Unimelt de --  
A.H. Thomas y en un microscopio Koffler.

Espectro de absorción en el Infrarrojo:

Se usó un IR-8 Beckman.

Determinaciones de Peso Molecular y Carbon-Hidrógeno:

Fueron hechas en los laboratorios Alfred --  
Bernhard de Mülheim, Alemania.

\* Estas determinaciones fueron realizadas en el I.T.E.S.M.,  
en la ciudad de Monterrey, N.L., agradeciéndose esta valios  
sa ayuda al Dr. X.A. Domínguez.