

**ESTUDIO FITOQUIMICO DE EVOLVULUS SERICEUS
VARIEDAD HOLOSERICEUS**

Resumen del trabajo de tesis presentado por: LUZ
CONSUELO FONSECA y GLORIA ALEJANDRA SALIVE, para
optar al título de Químico Farmacéutico.

Presidente de Tesis: doctor EDUARDO CALDERÓN
GÓMEZ.

INTRODUCCION

Al tener conocimiento del amplio uso dado en medicina popular (como analgésico y diurético principalmente), en las regiones del Cauca, Huila y en especial en el Departamento del Tolima, a la planta "Evolvulus sericeus variedad holosericeus", comúnmente denominada Vira-vira, se decidió efectuar su estudio, como una contribución más a la investigación fitoquímica.

PARTE EXPERIMENTAL

A. RECOLECCION DEL MATERIAL.

Los primeros ejemplares para el estudio fueron recogidos en la Hacienda "El Cerrito", municipio del Guamo (Tolima). Otros ejemplares se recolectaron en la Hacienda "Arizona" y otros sitios del municipio de Alvarado (Tolima).

Este material se llevó al Herbario Nacional Colombiano, donde fue clasificado con el N^o 115578, por el doctor Hernando García Barriga.

B. DESECACION DEL MATERIAL.

Se sometió a desecación durante 24 horas, en estufa a 40° C. Previamente estuvo en proceso de desecación entre hojas de papel periódico por espacio de un mes. Una vez seco, se separaron tallos y raíces de las hojas y se pulverizaron unos y otras.

C. CARACTERISTICAS DEL POLVO.

Presentó color verde grisáceo, de aspecto lanoso, olor característico e insaboro. El polvo de las hojas tiene más acentuados la caracterización lanosa y el color verde.

D. EXAMEN MICROSCOPICO DEL POLVO.

Se hicieron preparaciones en hidrato de cloral al 10% y se observó al microscopio, obteniendo los resultados siguientes:

1. *Tallo y raíz:*

Se encontraron haces vasculares, pelos unicelulares, gran cantidad de almidón, tejido suberificado, cristales de oxalato de calcio principalmente en forma de drusas, cloroplastos y células secretoras.

2. *Hoja:*

Se hallaron gran cantidad de pelos unicelulares, estomas, almidón (con mayor incidencia que en el tallo y raíz), haces vasculares, parénquima en empalizada y cloroplastos, así como células secretoras.

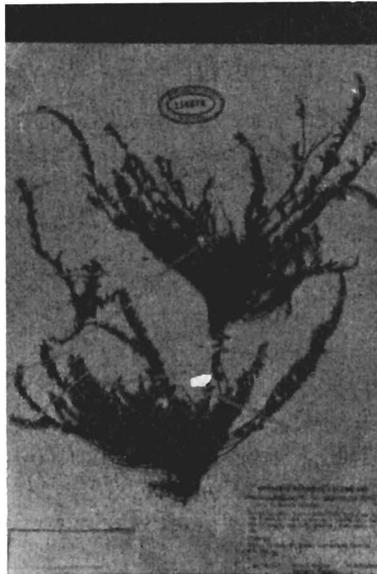


FIGURA 1

Evolvulus Sericeus var. *holosericeus*.

E. REACCIONES MICROQUIMICAS (1) (2) (3).

1. *Polvo del tallo y raíz:*

a) Heterósidos:

Se colocó el polvo sobre un portaobjetos y se adicionó una gota de ácido sulfúrico concentrado. Al observar al microscopio, se presentó coloración rojo sangre en la casi totalidad del material.

Heterósidos Antraquinónicos:

Se trató el polvo con ácido nítrico concentrado y solución diluída de KOH. Se observó al microscopio y se obtuvo coloración roja intensa.

Heterósidos Cianogénéticos:

Se inactivó el polvo por acción del calor, se sumergió en solución diluída de KOH durante media hora, se llevó luego a una solución ferroso-férrica y se sometió a ebullición durante algunos minutos. Se adicionó luego solución diluída de HCl y se observó al microscopio; no se presentó la formación del azul de Prusia, característica de estos heterósidos.

Heterósidos Cardiotónicos:

Se adicionó al polvo, solución de sulfato férrico al 5% y ácido acético glacial, luego sulfato férrico en ácido sulfúrico concentrado; no apareció coloración verde azulosa, la cual es indicio de reacción positiva.

b) Alcaloides:

Se agitó el polvo durante media hora, con solución diluída de ácido tartárico, se filtró y en el filtrado se investigó la presencia de alcaloides, con los reactivos y resultados que aparecen en el cuadro I.

CUADRO I

REACTIVO	RESULTADOS
Mayer	Cristales naranja rojizos
Bouchardat	Cristales pardos
Dragendorff	Cristales naranja rojizos
Marmé	Cristales incoloros
Wagner	Cristales incoloros

c) Celulosa :

Sobre un portaobjetos se colocó el polvo y se adicionó una gota de cloruro cálcico yodado ; se observó coloración parda negruzca intensa.

Se efectuó otra prueba, sometiendo el polvo a decoloración, tratándolo con agua de Javelle ; se adicionó luego reactivo de Carmín Aluminado: apareció coloración roja violeta intensa.

d) Lignina :

Se siguió el mismo procedimiento que en el caso anterior tratando con agua de Javelle ; se agregó floroglucina clorhídrica y se obtuvo coloración roja pálida, lo que indicó la presencia de trazas de lignina.

e) Taninos :

Se trató el polvo con solución de cloruro férrico al 5% y se observó color verde aceituna.

f) Principios volátiles :

Se sometió el polvo a calentamiento en un vidrio de reloj cubierto con un portaobjeto. Al examinar al microscopio, no se observó sublimado alguno.

g) Sustancias reductoras :

Se colocó en un portaobjetos un poco de polvo y se adicionó reactivo de Benedict ; se calentó, enfrió y examinó al microscopio. Se observó la presencia de un precipitado rojo de óxido cuproso.

h) Sustancias grasas :

Una pequeña cantidad de polvo, presentó fijación roja con el reactivo Sudán III.

2. *Polvo de hoja:*

a) Heterósidos :

Se trató el polvo de la hoja en la misma forma que el polvo del tallo y raíz y se obtuvieron los mismos resultados.

b) Alcaloides :

Se efectuó el mismo procedimiento que en tallo y raíz, obteniendo los resultados anotados en el cuadro II.

CUADRO II

REACTIVO	RESULTADOS
Mayer	Cristales naranja rojizos
Bouchardat	Cristales pardos
Dragendorff	Cristales naranja rojizos
Marmé	Cristales incoloros
Wagner	Cristales incoloros

c) Celulosa :

El resultado obtenido fue el mismo que el del polvo del tallo y raíz, habiendo seguido el mismo procedimiento.

d) Lignina :

Se obtuvo resultado similar al obtenido con polvo de tallo y raíz.

e) Taninos :

Resultado positivo, como en el polvo de tallo y raíz.

f) Principios volátiles :

Así como en el polvo de tallo y raíz, no se observó sublimado, al someter al tratamiento descrito.

g) Sustancias reductoras :

Se observó la presencia de un precipitado rojo, de la misma forma que en el caso del polvo de tallo y raíz.

h) Sustancias grasas :

Se presentó fijación del color rojo, en gran parte del material.

ANÁLISIS PRELIMINAR

A. ENSAYOS PRELIMINARES (4).

20 g. de polvo de tallo y raíz y 20 g. de polvo de hoja, se sometieron separadamente a ebullición durante 15 minutos, con 50 ml. de agua destilada, neutralizada. Se dejó enfriar, se filtró y se practicaron los siguientes ensayos: (Como los resultados obtenidos fueron los mismos en ambos casos, se reporta un solo resultado).

1. *Reacción a los indicadores:*

Con papel indicador universal, se obtuvo para la solución un pH entre 6 y 7. Esto indicó la posible presencia de ácidos orgánicos o sustancias fenólicas.

2. *Reacción con cloruro férrico:*

A unos mililitros del extracto, se agregaron unas gotas de cloruro férrico; se obtuvo coloración verde aceituna, acompañada de escaso precipitado. Esto indica la posible presencia de taninos o fenoles.

3. *Acción del acetato de plomo:*

A unos 20 ml. de solución, se adicionó acetato de plomo gota a gota, se formó precipitado abundante. Se marcó así la posibilidad de que existiesen ácidos orgánicos, tanoides, proteínas y mucinas.

4. *Acción del subacetato de plomo:*

Al filtrado del ensayo anterior, se adicionó gota a gota solución de subacetato de plomo; se observó formación de precipitado, lo que indicó que pudiesen encontrarse gomas, mucílagos y heterósidos.

5. *Acción del Reactivo de Fehling:*

A 5 ml. del filtrado procedente del ensayo anterior, se adicionó solución de oxalato de sodio al 10%, gota a gota, hasta el cese de formación de precipitado; se filtró, neutralizó y se agregaron 5 ml. de Reactivo de Fehling recientemente preparado, se presentó reacción inmediata con cambio de color azul a verde. Por calentamiento posterior apareció el precipitado de óxido cuproso; se dedujo así la presencia de azúcares reductores. Este mismo ensayo se hizo hidrolizando con ácido clorhídrico y neutralizando con KOH, antes de adicionar el reactivo de Fehling; la reducción fue inmediata, con aparición de mayor cantidad de precipitado de óxido cuproso. Esto indicó la presencia tanto de azúcares reductores, como de compuestos que por hidrólisis, pueden producir sustancias reductoras, por ejemplo heterósidos.

6. *Acción del Reactivo de Tollens:*

Se hizo el ensayo al igual que con el reactivo de Fehling y se obtuvo reducción, indicio de los mismos resultados que en el caso anterior.

7. *Investigación de nitrógeno:*

Se efectuó una fusión con sodio y al filtrado se agregaron, en orden, solución de FeSO_4 al 10%, HCl concentrado, y solución de cloruro férrico. Se produjo coloración característica de azul de Prusia, lo cual indicó reacción positiva.

8. *Presencia de gomas, mucilagos y pectinas:*

A 5 ml. del extracto se agregaron 15 ml. de alcohol de 95 % con 2% de ácido clorhídrico; se observó la formación de un precipitado, que indicó la existencia de estas sustancias.

9. *Alcaloides:*

Con los reactivos de Bouchardat, Mayer, Wagner, Valser, Dragendorff y Mandelin, se obtuvieron resultados positivos, que indicaron la presencia de alcaloides.

B. EXTRACCION CON AGUA ACIDULADA.

20 g. de polvo se sometieron a extracción, con 100 ml. de agua acidulada con 1 ml. de ácido clorhídrico; se obtuvo una solución pardo amarillenta, se filtró y se ensayó con los reactivos usados en el caso anterior para alcaloides y con otros reactivos que figuran en el cuadro III.

CUADRO III

REACTIVO	RESULTADOS
Mayer	Precipitado verde aceituna con halo azul.
Wagner	Precipitado verde aceituna con halo azul.
Hager	Precipitado amarillo.
Valser	Precipitado grisáceo.
Mandelin	Solución rosada clara.
Bouchardat	Precipitado azul negro.
Dragendorff	Precipitado pardo con halo azul.
KOH al 10%	Precipitado pardo, solución amarilla.
H ₂ SO ₄ concentrado	Solución parda amarillenta.
HNO ₃ concentrado	Solución y precipitado naranja rojizo.
Acido fosfomolibdico en etanol de 95%	Precipitado floculento verde pardusco.



FIGURA 2 — Cristales obtenidos con Reactivo de Mayer.

MARCHA FITOQUIMICA SEGUN
FLORIANI (5)

Para el estudio fitoquímico de la Vira-vira, se dividió la planta en 2 partes:

- A. Hoja.
- B. Tallo y raíz.

Con cada una de estas partes se realizó una marcha fitoquímica para averiguar los respectivos componentes. Los resultados obtenidos están consignados en el cuadro IV.

CUADRO IV
RESULTADOS GENERALES DE LA MARCHA
FITOQUIMICA DE FLORIANI

	Hoja	Tallo y raíz
Alcaloides	+++	+++
Fenoles	++	—
Taninos	++	+
Saponinas	—	—
Azúcares	+++	+++
Gomas y mucílagos	++	++
Resinas	—	—
Pigmentos flavónicos	+	—
Acidos grasos	++	—
Acidos orgánicos	—	—
Heterósidos	++	++
Heterósidos Antraquinónicos	+++	+++
Heterósidos Cardiotónicos	—	—
Heterósidos Cianogenéticos	—	—

DETERMINACION CUALITATIVA
DE LOS ALCALOIDES

A. EXTRACCION (6).

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en la marcha fitoquímica, se llegó a la conclusión de que la extracción acetónica, fue la mejor, puesto que permitió obtener la totalidad de los alcaloides, lo cual no sucedió con el empleo de los demás solventes. Con dicho solvente se efectuó la extracción, tanto de 20 g. de polvo de hoja, como de 20 g. de polvo de tallo y raíz, alcalinizando previamente con solución de amoníaco y sometiendo a agotamiento en Soxhlet durante 20 horas.

Se evaporó el solvente de la mezcla resultante, a baja temperatura, y el residuo se trató con una solución diluída de ácido clorhídrico; en seguida se alcalinizó la solución ácida, utilizando para ello amoníaco y se extrajeron los alcaloides en forma de bases, adicionando cloroformo; la solución clorofórmica se trató de nuevo con agua acidulada y se repitió el proceso antes descrito, con el fin de obtener más puros los alcaloides.

B. SEPARACION.

La separación de los alcaloides se llevó a cabo mediante el empleo de métodos cromatográficos; se efectuó en primer lugar, cromatografía en papel, con el fin de obtener un dato aproximado del número de ellos y del R^f correspondiente.

Se elaboró luego, cromatografía en capa delgada, para obtener datos más exactos.

1. *Cromatografía sobre papel* (7) (8).

Material utilizado:

Para esta cromatografía se empleó papel Schleicher & Schüll 2043 a, cortado en tiras de 4cm. de ancho por 20 cm. de largo.

Como cámaras de desarrollo cromatográfico, se utilizaron frascos de vidrio de aproximadamente 1 lt. de capacidad, con tapa esmerilada, los cuales se saturaron durante 2 horas con 100 ml. de cada uno de los diferentes solventes, aconsejados en la bibliografía consultada. (Estos se anotan luego en la cromatografía en capa delgada).

La temperatura a la cual se trabajó, fue la del laboratorio, que osciló entre 20° y 23° C, siendo el recorrido de unas 3 horas aproximadamente.

Resultados:

Después del segundo recorrido, se dejaron secar de nuevo las tiras, se revelaron, pero sólo apareció una mancha alargada en el frente del solvente, lo que denotó que no hubo separación de los alcaloides.

Este resultado se obtuvo con todos los solventes empleados.

2. *Cromatografía sobre capa delgada* (9) (10) (11) (12) (13).

Material utilizado:

Para esta cromatografía se emplearon placas de vidrio de 10 X 20 cm., cubiertas con Sílica gel G. Merck, extendidas por medio del equipo Desaga, para cromatografía en capa delgada.

Como cámaras se usaron recipientes de vidrio, tanto cilíndricos como rectangulares, con tapa esmerilada, asegurando su hermeticidad por medio de silicona; la capacidad de dichas cámaras fue de 4 a 5 placas.

Selección del solvente: (14) (15) (16).

Para la cromatografía en capa delgada, se ensayaron los mismos solventes que para la cromatografía en papel, los cuales figuran a continuación:

Solvente N° 1	ml.
n-Butanol	20.8
Acido acético	8.4
Agua	20.8

Solvente N° 2	ml.
n-Butanol	20.0
Acido acético	5.0
Agua	25.0

Solvente N° 3	ml.
n-Butanol	20.0
Acido acético	5.0
Agua	20.0

Se agitó vigorosamente, se dejó en reposo y se empleó únicamente la fase orgánica.

Solvente N° 4	ml.
n-Butanol	20.0
Acido fórmico	5.0
Agua	25.0

Solvente N° 5	ml.
n-Butanol	20.0
Acido clorhídrico	5.0
Agua	25.0

Solvente N° 6	ml.
Etanol	25.0
Piridina	10.0
Dioxano	12.5
Agua	2.5

Solvente N° 7	ml.
Etanol	25.0
Acido acético	15.0
Agua	5.0
Solvente N° 8	
n-Butanol	33.5
Amoniaco	0.3
Etanol	7.5
Agua	8.7
Solvente N° 9	
Etanol	16.0
Dioxano	8.0
Acido acético	6.0
Agua	10.0
Solvente N° 10	
Etanol	24.0
Acido acético	4.0
Agua	12.0
Solvente N° 11	
n-Butanol	20.0
Piridina	9.5
Amoniaco	0.5
Agua	20.0
Solvente N° 12	
n-Butanol	15.0
Piridina	20.0
Agua	15.0
Solvente N° 13	
Etanol	28.0
Acido acético	4.0
Agua	8.0
Solvente N° 14	
Etanol	26.0
Acido acético	2.0
Agua	12.0
Solvente N° 15	
Cloroformo	90.0
Metanol	10.0
Dietilamina	5.0
Solvente N° 16	
Cloroformo	50.0
Acetona	40.0
Dietilamina	10.0

Solvente N° 17	ml.
Isobutanol	20.0
Amoniaco	1.0
Agua	79.0
Solvente N° 18	
n-Butanol	50.0
Acetona	30.0
Agua	20.0

Para revelar los cromatogramas desarrollados con los solventes anteriores, se usaron como reveladores:

Dragendorff modificado por Munier y yodo en cloroformo al 1%.

Las proporciones de algunos de los solventes aconsejados por la bibliografía, fueron sometidas a variaciones, con el fin de encontrar el solvente adecuado.

Los mejores resultados se obtuvieron con el solvente N° 8, con el que se logró la completa separación de los alcaloides, los cuales fueron detectados al pulverizar los cromatogramas con los reveladores anotados.

El revelado obtenido con la solución de yodo en cloroformo fue óptimo, pues las manchas desarrolladas en los diferentes sitios del cromatograma en que se encuentran los alcaloides, fueron muy nítidas aunque algo efímeras, dada la naturaleza del revelador.

Resultados:

Se estableció la presencia de 3 manchas bien demarcadas, y por ende la de 3 alcaloides, tanto en las placas en que se había colocado extracto clorofórmico alcaloidal de tallo y raíz, como en aquellas en que se colocó extracto clorofórmico alcaloidal de hoja.

Se determinaron los valores de R_f correspondientes a cada uno de los alcaloides y se concluyó que los alcaloides presentes en ambos casos, son los mismos.

Para verificar la presencia de tales alcaloides, se observaron algunos cromatogramas sin revelar, a la luz ultravioleta a 365 $m\mu$. La fluorescencia presentada fue:

Alcaloide N° 1: Fluorescencia violeta.

Alcaloide N° 2: Fluorescencia azul violácea.

Alcaloide N° 3: Fluorescencia azul violácea.

Nota: La numeración de los alcaloides, se hizo en orden descendente de R_f .

Después de promediar los valores de R_f obtenidos en 10 cromatogramas, se llegó a los resultados siguientes:

CUADRO V

Alcaloides	R_f
Nº 1	0.84
Nº 2	0.66
Nº 3	0.14

C. AISLAMIENTO DE LOS ALCALOIDES (17) (18).

Con el fin de obtener los alcaloides puros, se corrieron 50 cromatografías en capa delgada, en las condiciones ya anotadas. Luego se observaron a la luz ultravioleta, se delimitaron las zonas que contenían los alcaloides y se rasparon las mismas. La sílica que contenía los alcaloides, se trató con acetona, se centrifugó y filtró; el filtrado así obtenido contenía los alcaloides casi puros, los que sometidos posteriormente a recristalizaciones sucesivas, empleando como solvente agua-acetona, alcanzaron mayor grado de pureza.

D. CONSTANTES FISICAS.

1. *Alcaloide Nº 1:*

a) Caracteres organolépticos:

Olor	Inodoro.
Sabor	Amargo.
Color	Amarillo pardusco.

b) Solubilidad:

Agua	Insoluble.
Cloroformo	Soluble.
Eter etílico	Muy poco soluble.
Acetona	Muy soluble.
Etanol	Poco soluble.
Benceno	Poco soluble.
Bisulfuro de carbono	Soluble.

c) Punto de fusión: 114°C

2. *Alcaloide Nº 2:*

a) Caracteres organolépticos:

Olor	Inodoro.
Sabor	Amargo desagradable.
Color	Amarillo pardusco.

b) Solubilidad:

Agua	Insoluble.
Cloroformo	Soluble.
Eter etílico	Muy poco soluble.
Acetona	Muy soluble.
Etanol	Poco soluble.
Benceno	Poco soluble.
Bisulfuro de carbono	Soluble.

c) Punto de fusión: 113° C

3. *Alcaloide N° 3:*

a) Caracteres organolépticos:

Olor	Inodoro.
Sabor	Amargo.
Color	Pardo claro.

b) Solubilidad:

Agua	Insoluble.
Cloroformo	Soluble.
Eter etílico	Muy poco soluble.
Acetona	Muy soluble.
Etanol	Poco soluble.
Benceno	Poco soluble.
Bisulfuro de carbono	Poco soluble.

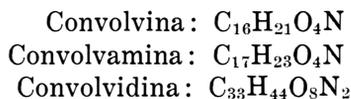
c) Punto de fusión: 190° C

E. ESPECTROFOTOMETRIA INFRARROJA (19) (20).

Con el fin de identificar los alcaloides obtenidos, se procedió a determinar su espectro infrarrojo, utilizando para ello el espectrofotómetro Perkin Elmer Modelo 137. Se tomaron dichos espectros en fase sólida, empleando el método de la pastilla de bromuro de potasio. (Figuras 3, 4 y 5).

F. IDENTIFICACION DE LOS ALCALOIDES (21) (22).

Al hacer análisis detallado de los espectros I.R., obtenidos para cada uno de los alcaloides, teniendo en cuenta los valores de las constantes físicas halladas, se llegó a la conclusión de que los siguientes son los alcaloides presentes en la *Evolvulus sericeus*, pertenecientes al grupo del tropano:



DETERMINACION CUANTITATIVA

A. DETERMINACION CUANTITATIVA DE ALCALOIDES TOTALES (23) (24).

70 g. de polvo de planta, previamente alcalinizados con amoníaco se sometieron a extracción con 200 ml. de acetona; se evaporó el solvente y el residuo resultante se lavó 2 veces con pequeñas porciones de éter, haciendo prueba de alcaloides, la que resultó negativa; se retiraron así las impurezas presentes. Se trató luego con agua acidulada. Se adicionó cloroformo y se alcalinizó con amoníaco. La solución clorofórmica obtenida se trató con agua acidulada y nuevamente se siguió el procedimiento descrito, durante 4 veces sucesivas.

El extracto clorofórmico finalmente obtenido, se evaporó en un cristizador previamente tarado, determinando la cantidad de alcaloides, por la diferencia de peso presentada.

Contenido de alcaloides = 2.57 g. %.

B. DETERMINACION CUANTITATIVA DE CADA UNO DE LOS ALCALOIDES (25) (26).

La determinación cuantitativa individual, se efectuó, sometiendo 20 g. de polvo de planta a extracción en Soxhlet, con acetona durante 36 horas.

Se evaporó el solvente, se efectuaron las extracciones citadas anteriormente y la solución clorofórmica resultante, se completó a 50 ml. con el mismo solvente.

De esta solución se tomaron 2 ml. y se repartieron en 10 placas; una vez corridos los cromatogramas en las condiciones ya establecidas, se observaron a la luz ultravioleta y se demarcó la zona que contenía cada uno de los alcaloides. En seguida se raspó cada zona por separado en la totalidad de las placas, al igual que una porción de sílica en la que no había alcaloide, con el fin de elaborar un blanco.

Para la valoración propiamente dicha, se trataron con alcohol, por separado, tanto la sílica que contenía cada uno de los alcaloides aislados, como igual cantidad de sílica sin ellos; luego se agregó rojo de metilo como indicador y se valoró con HCl 0.01 N.

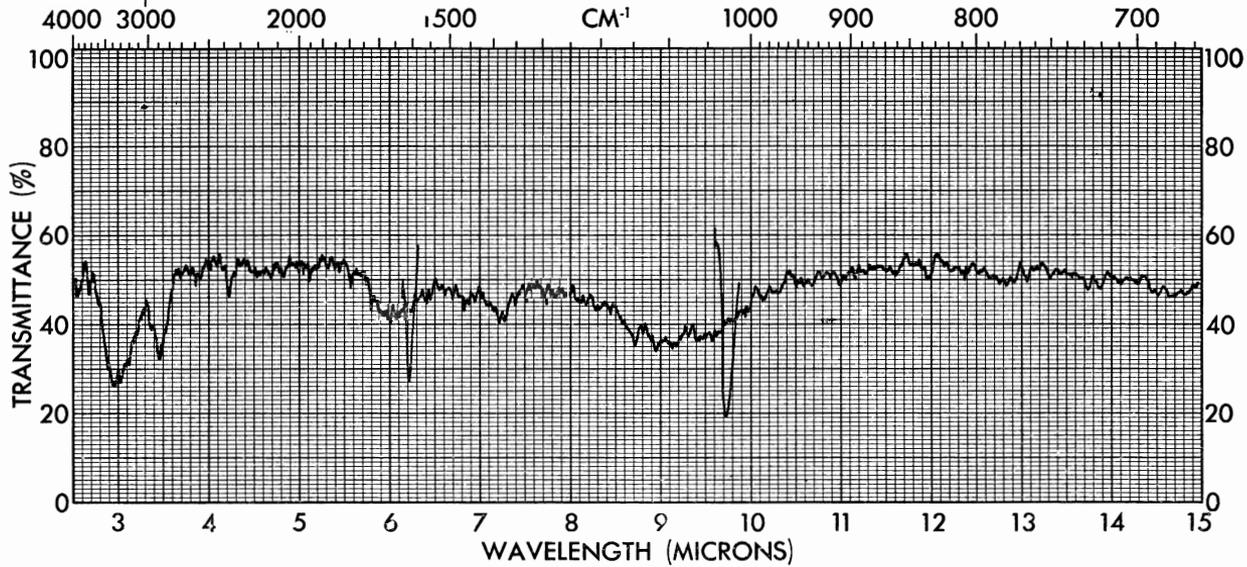
RESULTADOS:

Alcaloide N^o 1 (Convolvina) = 725 mg./100 g.

Alcaloide N^o 2 (Convolvamina) = 1337.5 mg./100 g.

Alcaloide N^o 3 (Convolvídina) = 500 mg./100 g.

FIGURA No. 5



SPECTRUM NO. <u>3</u>	ORIGIN _____	LEGEND _____	REMARKS _____
SAMPLE <u>nicotina #3</u>	<u>vegetal</u>	1. _____	_____
_____	PURITY _____	2. _____	<u>velocidad: rápida</u>
_____	PHASE <u>sólida</u>	DATE <u>VII - 30/70</u>	Picos Ref Poliestireno: _____
_____	THICKNESS <u>2 mm.</u>	OPERATOR <u>G.S.R.-L.C.F.I.</u>	<u>6.24 y 9.72 micrones</u>

SPECTRUM NO. _____
SAMPLE _____

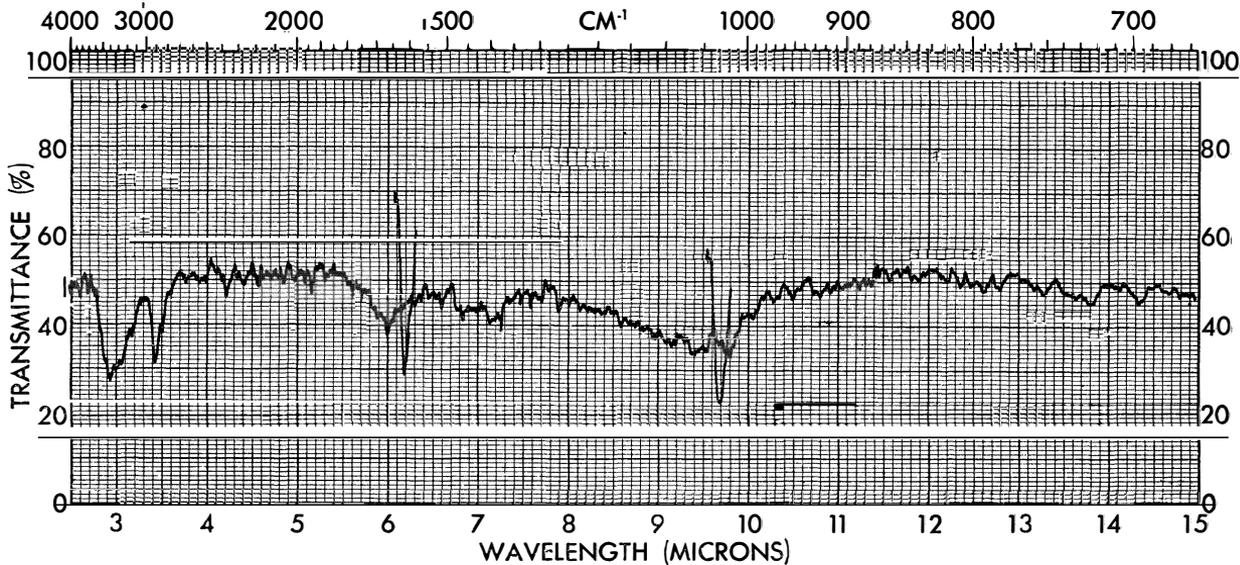


FIGURA No. 3

— 45 —

SPECTRUM NO. <u>1</u>	ORIGIN _____	LEGEND _____	REMARKS _____
SAMPLE <u>alcaloide #1</u>	<u>vegetal</u>	1. _____	
	PURITY _____	2. _____	<u>velocidad: rápida</u>
	PHASE <u>sólida</u>	DATE <u>VII-30/70</u>	PROS REF. POLIESTIRENO:
	THICKNESS <u>1.9 mm.</u>	OPERATOR <u>G.S.R.-J.C.F.F.</u>	<u>6.24 y 9.72 micrones</u>

SPECTRUM NO. _____
SAMPLE _____

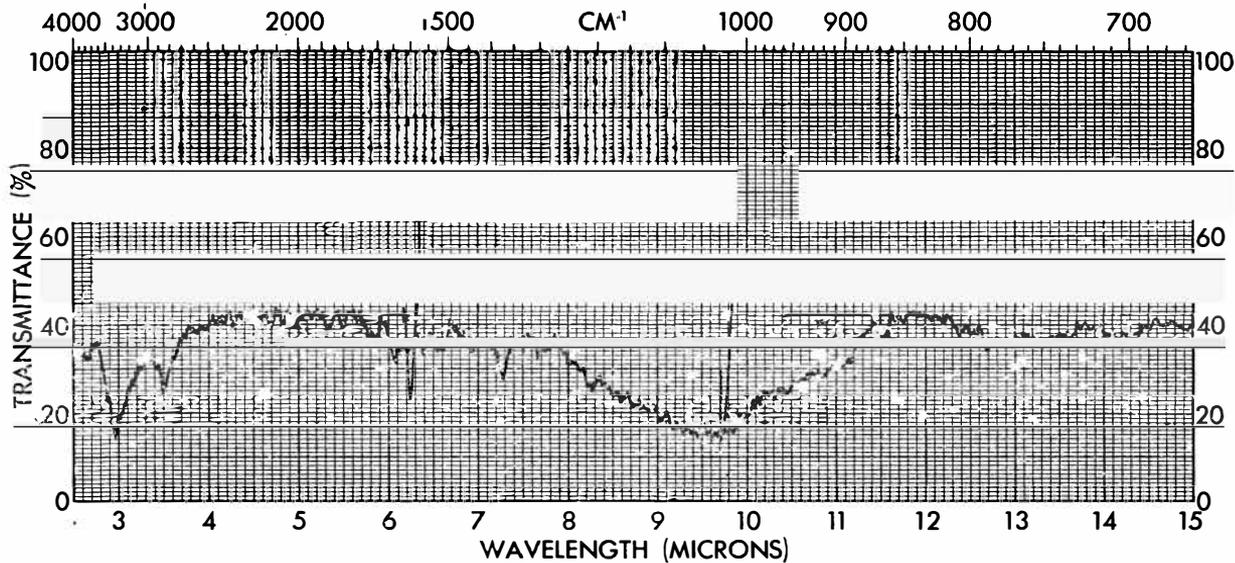


FIGURA No. 4

— 46 —

SPECTRUM NO. <u>2</u>	ORIGIN	LEGEND	REMARKS
SAMPLE <u>alcaloide #2</u>	<u>vegetal</u>	1. _____	
	PURITY	2. _____	<u>velocidad : rápido</u>
	PHASE <u>sólida</u>	DATE <u>VII - 30/70</u>	<u>Picos REF Poliestireno:</u>
	THICKNESS <u>2.1 mm.</u>	OPERATOR <u>GER - J.C.F.T</u>	<u>6.24 y 9.32 microns</u>

SAMPLE SPECTRUM NO. _____

H E T E R O S I D O S

En base a los resultados obtenidos en la marcha fitoquímica de Floriani y dada la importancia de la presencia de heterósidos antraquinónicos, se procedió a afectar su estudio.

A. DETERMINACION CUALITATIVA (27).

1. *Extracción de los heterósidos:*

Una porción de planta pulverizada se trató con alcohol caliente, se sometió a reflujo durante 8 horas, después de haber neutralizado con carbonato de calcio; se filtró y la solución resultante se evaporó a Baño María hasta sequedad.

El residuo se lavó varias veces con éter seco, con el fin de eliminar impurezas, luego se adicionó alcohol; se obtuvo así una solución que por evaporación dejó libre el heterósido, el cual se purificó por recristalizaciones sucesivas.

2. *Reacciones específicas:* (28).

Con los heterósidos obtenidos, se efectuaron ensayos para caracterizar heterósidos antraquinónicos, con los resultados que aparecen en el cuadro VI.

CUADRO VI

REACTIVO	RESULTADOS
H ₂ SO ₄ concentrado	Coloración roja.
HNO ₃ concentrado	No reaccionó.
KOH	Coloración roja intensa.
Fröhde	No reaccionó.
ZnCl ₂	No reaccionó.
Heterósidos + HCl	Coloración rojo cereza.
+ H ₂ SO ₄	
Borntraeger	Coloración roja.

Para mayor seguridad en la reacción de Borntraeger, ya que se obtienen diferentes tonalidades de rojo, se tomó como patrón la coloración obtenida al efectuar esta reacción con un extracto de hojas de sen, las cuales contienen gran cantidad de heterósidos antraquinónicos; se obtuvo la misma coloración para el patrón y para los heterósidos analizados.

Las reacciones negativas obtenidas con algunos reactivos, son indicio de la naturaleza antraquinónica de los heterósidos.

B. DETERMINACION CUANTITATIVA DE HETEROSIDOS TOTALES (29).

26 g. de polvo de planta, se trataron con alcohol caliente, se sometieron a reflujo durante 8 horas, se filtró y el filtrado se evaporó a Baño María hasta sequedad.

El residuo se lavó con éter, luego se disolvió en alcohol caliente, se filtró, recogiendo el filtrado en un cristizador previamente tarado, colocado en un baño de hielo y se purificó por recristalizaciones sucesivas. El contenido de heterósido fue de 3.85 g. %.

CONCLUSIONES

1. El principal objetivo del trabajo realizado, se logró alcanzar de manera satisfactoria, ya que mediante el empleo de la cromatografía en capa delgada, se logró la completa separación y la posterior identificación de los 3 alcaloides presentes en la planta analizada.
2. Puesto que no fue posible la consecución de los patrones de alcaloides de convolvuláceas, se hizo uso de las constantes físicas y de los escasos datos bibliográficos hallados sobre alcaloides presentes en algunas plantas de esta familia, ya que la denominada Vira-vira, no había sido sometida a estudio alguno.
3. Se estableció así la presencia de los alcaloides:
Convolvina.
Convolvamina.
Convolvidina.
4. El porcentaje de alcaloides presentes es bastante alto, lo que se comprueba al efectuar la valoración volumétrica de cada uno de ellos.
5. Se hizo determinación cualitativa de los heterósidos y se estableció su naturaleza.
6. Se valoraron los heterósidos totales por gravimetría hallándose una proporción de 3.85%.

RESUMEN

El estudio de la planta *Evolvulus Sericeus* variedad holosericeus, comprende principalmente la identificación, aislamiento y valoración de tres alcaloides mediante el uso de cromatografía en capa fina, constantes físicas y espectrofotometría al infrarrojo. Parte del trabajo también se dedicó al estudio de los heterósidos antraquinónicos presentes en la planta.

SUMMARY

This work on *Evolvulus Sericeus* var. *holoceriseus* includes the isolation, identification and quantitative determination of three alkaloids by means of thin layer chromatography (TLC), physical constants and infrared spectrophotometry. The nature of the anthraquinone glycosides present in the plant is also discussed.

RÉSUMÉ

L'étude de la plante *Evolvulus Sericeus* variété *holosericeus*, comprend principalement l'identification, l'isolément et la valoration de trois alcaloïdes au moyen de la chromatographie en couche mince, les constantes physiques et l'espectrophotométrie à l'infrarouge. Aussi on trouve dans le travail quelques études des hétérosides anthraquinoniques présentes dans la plante.

BIBLIOGRAFIA

1. JAMMES, L. "Memorandum de Micrografía y Zoología", 35-42, Bailly-Billiere, Madrid.
2. MOELLER, J., ASTRADA, I. "Guía para ensayos microfarmacognósticos", 296, Editorial Labor, S. A., Barcelona-Buenos Aires, 1927.
3. FLORIANI, L. "Análisis Químicos de los vegetales", 39-54, Editorial Vásquez, Buenos Aires, 1938.
4. CALDERÓN, E. "Guía para Análisis de Plantas y Notas Prácticas sobre Fitoquímica", 8-12, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1963.
5. FLORIANI, L. op. cit., 59-61, 1938.
6. CALDERÓN, E. op. cit., 74, 1963.
7. CRAMER, F. "Cromatografía sobre papel", 40, Editorial Beta, Buenos Aires, 1958.
8. LEDERER, M., LEDEFER, E. "Cromatografía, revisión de sus principios y aplicaciones", 145-152, Editorial El Ateneo, Buenos Aires, 1960.
9. ABBOT, D. "Introducción a la Cromatografía", Editorial Alhambra, S. A., Madrid, 1966.
10. CALDERÓN, E. "Curso de Análisis Químico Instrumental", 201, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1956.
11. STAHL, E. "Thin layer Chromatography", 287, Academic Press, Inc. Publishers, New York, 1965.
12. MERCK, "Información sobre Cromatografía en Capa Fina. I. Descripción general del procedimiento y de los materiales", E. Merck, A. G. Darmstadt, Berlín.
13. RANDEKATH, K. "Thin layer Chromatography", 71-73, Academic Press, New York, 1963.
14. DOBRECKY y COL. Safybi, 7, 22, 165 (1967).
15. MC. GIVERAY, J. Annales Pharmaceutiques Françaises, Vol. 23, 272 (1965).

16. ISRAILOV, I., YUNUSOV, S., ABDUAZIMOV, A. *Chemical Abstracts*, 63, 7346 e (1965).
17. PAECH, K., TRACEY, M. "Moderne Methoden der Pflanzenanalyse", tomo IV, 369, Editorial Springh, Berlín, 1955.
18. CALDERÓN, E. op. cit., 77-80, 1963.
19. CALDERÓN, E. "Curso de Química Orgánica Avanzada", Capítulo III, 68-71, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1967.
20. *Journal del AOAC*, Vol. 45, Nº 4, 820, 890, 1962.
21. MANSKE, R. H. F. "The Alkaloids, Chemistry and Physiology", Vol. I., 272, 287, 313, Academic Press Publishers, New York, 1950.
22. HENRY, T. A. "The Plant Alkaloids", 95, 3ª edición, J. & A. Churchill Ltda., Londres, 1939.
23. PAECH, K., TRACEY, M. op. cit., 372, 1955.
24. CALDERÓN, E. op. cit., 81, 1963.
25. LEDERER, M. op. cit., 254-237, 1960.
26. PAECH, K., TRACEY, M. op. cit., 503, 1955.
27. CALDERÓN, E. op. cit., 103, 112, 1963.
28. LANGE, N. A. "Handbook of Chemistry", 740, IX Edición, Handbook Publishers, Inc., Ohio, 1959.
29. CALDERÓN, E. op. cit., 112, 1963.