

24/49



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

“AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE COMPUESTOS DEL EXTRACTO DE CLORURO DE METILENO EN Simsia amplexicaulis (COMPOSITAE)”.

T E S I S

Que para obtener el Título de:

BIÓLOGO

Presenta:
MA. DEL CARMEN CORONA CORONA

FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

MEXICO, D. F.

FALLA DE ORIGEN

1989.



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

I.	INTRODUCCION	1
	OBJETIVOS	4
II.	ANTECEDENTES	
	1. Posición taxonómica.	5
	2. Descripción morfológica.	6
	3. Químicos.	7
III.	MATERIAL Y METODOS	14
	1. Colecta.	14
	2. Preparación del material biológico.	14
	3. Monitoreo de Metabolitos Secundarios.	14
	a) Extracciones en aparato Soxhlet.	14
	b) Pruebas de caracterización de grupos de - Metabolitos Secundarios.	15
	i. Alcaloides.	15
	ii. Fenoles.	16
	iii. Flavonoides.	16
	iv. Terpenos y esteroides.	16
	v. Glicósidos.	17
	vi. Saponinas.	17
	c) Cromatografía en capa fina.	17
	d) Extracción en frío en cloruro de metileno.	18
	e) Prueba bacteriológica de los extractos <u>cru</u> dos secos de cloruro de metileno.	19
	4. Análisis químico de los compuestos obtenidos de los extractos de cloruro de metileno.	21

a) Separación por cromatografía en columna.	21
b) Caracterización de los compuestos.	23

IV. RESULTADOS Y DISCUSION **25**

a) Rendimiento de los extractos hexánicos, de acetato de etilo y metanólicos.	25
b) Pruebas de caracterización de grupos de Metabolitos Secundarios.	26
i. Alcaloides.	27
ii. Fenoles.	27
iii. Flavonoides.	27
iv. Terpenos y esteroides.	28
v. Glicósidos.	28
vi. Saponinas.	28
c) Número aproximado de componentes de los extractos, determinado por cromatografía en <u>ca</u> pa fina.	30
i. Cromatoplada de los extractos hexánicos.	30
ii. Cromatoplaca de los extractos de acetato de etilo.	31
iii. Cromatoplaca de los extractos metanólicos.	31
d) Rendimientos de los extractos de cloruro de metileno.	32
e) Prueba bacteriológica de los extractos crudos de cloruro de metileno.	32
4. Análisis químico de los compuestos obtenidos - de los extractos de cloruro de metileno.	34
a) Fracciones separadas por cromatografía en - columna.	34
b) Caracterización de los compuestos.	
i. Inflorescencia.	36

	ii. Parte aérea.	54
	iii. Balz.	60
V.	CONCLUSIONES	68
VI.	BIBLIOGRAFIA	69
VII.	APENDICE DE TABLAS	72
VIII.	APENDICE DE GRAFICAS	
IX.	APENDICE DE FIGURAS	

INTRODUCCION

Los vegetales son verdaderos laboratorios vivientes - en donde se elaboran millones de diferentes compuestos que el hombre, desde siempre, ha aprovechado como alimento para su subsistencia, fibras textiles para vestirse y material para construir casas; le deleitan por su aroma y colorido, le curran o intoxican, según sus propiedades, y regeneran el aire que respira (1).

El variado carácter de los productos naturales, y --- ciertamente su misma existencia, plantean muchas cuestiones - fundamentales a los botánicos y microbiólogos; su explotación industrial es hoy en día de considerable importancia, su química parece ofrecer posibilidades sin fin. Todos los aspectos del estudio de dichos productos evocan la cuestión de los orígenes de estas sustancias fascinadoras.

La distinción entre productos metabólicos primarios y secundarios fue descrita primeramente por los fisiólogos vegetales y los botánicos, quienes caracterizaron así, por una -- parte, las sustancias que podían detectarse prácticamente en todas las plantas y que son constituyentes funcionales, tales como la clorofila y los lípidos, y por otra parte, una variedad de sustancias, cada una de las cuales podía obtenerse solamente de especies vegetales particulares y que, en conse--- cuencia, no se les podía asignar una función general (2). Es tos compuestos se hicieron acreedores del nombre que hasta -- hoy conservan: Metabolitos Secundarios [Rosenthal y Janzen, 1979, citado en: (3)].

Estos Metabolitos Secundarios tienen una distribución universal en el mundo vivo: no solamente se encuentran en -- las angiospermas - el grupo de plantas más diverso sobre el -- planeta - sino en todo el reino vegetal (3).

INTRODUCCION

Los vegetales son verdaderos laboratorios vivientes - en donde se elaboran millones de diferentes compuestos que el hombre, desde siempre, ha aprovechado como alimento para su subsistencia, fibras textiles para vestirse y material para construir casas; le deleitan por su aroma y colorido, le curan o intoxican, según sus propiedades, y regeneran el aire - que respira (1).

El variado carácter de los productos naturales, y --- ciertamente su misma existencia, plantean muchas cuestiones - fundamentales a los botánicos y microbiólogos; su explotación industrial es hoy en día de considerable importancia, su química parece ofrecer posibilidades sin fin. Todos los aspectos del estudio de dichos productos evocan la cuestión de los orígenes de estas sustancias fascinadoras.

La distinción entre productos metabólicos primarios y secundarios fue descrita primeramente por los fisiólogos vegetales y los botánicos, quienes caracterizaron así, por una -- parte, las sustancias que podían detectarse prácticamente en todas las plantas y que son constituyentes funcionales, tales como la clorofila y los lípidos, y por otra parte, una variedad de sustancias, cada una de las cuales podía obtenerse solamente de especies vegetales particulares y que, en conse--- cuencia, no se les podía asignar una función general (2). Estos compuestos se hicieron acreedores del nombre que hasta -- hoy conservan: Metabolitos Secundarios [Rosenthal y Janzen, 1979, citado en: (3)].

Estos Metabolitos Secundarios tienen una distribución universal en el mundo vivo: no solamente se encuentran en -- las angiospermas - el grupo de plantas más diverso sobre el -- planeta - sino en todo el reino vegetal (3).

Históricamente los Metabolitos Secundarios han sido estudiados desde diversas perspectivas: los farmacólogos se han interesado en aislar los principios medicinales de las plantas; los químicos orgánicos han determinado muchas de sus estructuras y estudiado los mecanismos de reacción por los cuales se producen; los biólogos, interesados en la posible utilización de algunos de estos compuestos en la Taxonomía Vegetal, han intentado averiguar como se lleva a cabo su síntesis; siguiendo ésta última línea de investigación, los bioquímicos y fisiólogos se han interesado en la regulación del proceso de síntesis de los Metabolitos Secundarios (4).

Se sugiere que algunas de estas sustancias están involucradas en diversas actividades del metabolismo vegetal que incluyen, por ejemplo, la protección contra las radiaciones ultravioleta o la desecación, o la de ser productos de detoxificación de venenos ambientales [Rhoades, 1979, citado en: (3)]; también se considera que pueden ser responsables de muchas de las propiedades organolépticas, alucinógenas, astringentes y tóxicas, como, en algunas plantas, la de causar dermatitis por contacto con la piel y a la luz solar, pero no en la oscuridad (5). A este fenómeno se le dió el nombre de fototoxicidad (6) e indujo a los investigadores a buscar los Metabolitos Secundarios que en los vegetales pudieran provocar una reacción de tal naturaleza.

Se sabe que los productos responsables de la fototoxicidad en las plantas pertenecen a varios grupos como son las furocumarinas, los tiofenos y los poliacetilenos. Las furocumarinas fueron los primeros productos que se caracterizaron por sus propiedades fototóxicas, se encuentran en diversas familias, como Rutaceae, Leguminosae, Apiaceae, Papilionaceae, Moraceae y Umbelliferae (7).

En la familia Compositae no se han encontrado furocu-

marinas, pero sí poliacetilenos y tiofenos; de *Bidens pilosa* se aisló el tridecapentaineno $[\text{CH}_3 - (\text{C}=\text{C})_5 - \text{CH}=\text{CH}_2]$ que tiene acción bacteriostática y fungistática contra algunos microorganismos, incluyendo *Candida albicans*. Los nativos de las islas Hawaii usaban la especie *Bidens camphylothea*, en forma de té, - como tóxico o purificador sanguíneo y en el tratamiento de -- las aftas que aparecían en la boca de los lactantes causada - por *Candida* sp (7).

OBJETIVOS:

El presente trabajo forma parte del proyecto "Análisis químico sistemático de especies de la familia Compositae", que se lleva a cabo en el Laboratorio de Química del Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias de la UNAM, y tuvo como objetivos:

1. Comparar los grupos de metabolitos secundarios existentes en extractos de *Simsia amplexicaulis* de dos localidades diferentes mediante:
 - La obtención de extractos con 3 disolventes de diferente polaridad, para efectuar:
 - El análisis de grupos de metabolitos secundarios mediante reacciones específicas usuales, y
 - La determinación de sus perfiles cromatográficos.
2. Preparar extractos con cloruro de metileno para investigar la presencia de compuestos fototóxicos mediante una prueba bacteriológica.
3. En caso de que los extractos presentaran actividad fototóxica, aislar algunos de sus compuestos y caracterizarlos mediante análisis espectroscópicos.

II. ANTECEDENTES

1. Posición taxonómica de *Simsia amplexicaulis* Cav. (8)

REINO	VEGETAL
DIVISION	MAGNOLIOPHYTA
SUBDIVISION	ANGIOSPERMAE
CLASE	MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	ASTERIDAE
SUPERORDEN	ASTERANAЕ
ORDEN	ASTERALES
FAMILIA	COMPOSITAE O ASTERACEAE
TRIBU	HELIANTHEAE
GENERO	<i>Simsia</i>
ESPECIE	<i>Simsia amplexicaulis</i> Cav.

SINONIMIA: *Encelia mexicana* Gray (9)

NOMBRE COMUN: ACAHUAL (10)

2. Descripción morfológica

Simsia amplexicaulis (Cav.) Pers. (*Encelia mexicana* Gray). --
 Planta anual, erecta, hasta de 2.5 m. de alto; los tallos generalmente ramificados, glanduloso-pubescentes o hispídos con pelos hasta de 3 mm. de largo; hojas inferiores opuestas, las superiores alternas, sumamente variables en tamaño y forma, - aún sobre el mismo individuo, sésiles o con pelos hasta de 6 cm. de largo, que pueden ser angostos o bien alados y a menudo dilatados en la base, limbo ovado, lanceolado o deltoideo, hasta de 15 cm. de largo y 12 cm. de ancho, con frecuencia -- trilobado, agudo en el ápice, crenado a aserrado en el mar--- gen, cuneado a cordado en la base, la pubescencia aplicada, - con pelos tuberculados en la base; cabezuelas generalmente en paniculas bracteadas, sobre pedúnculos hasta de 12 cm. de largo, con pubescencia análoga a la del tallo; involucreo campanu lado, de 8 a 10 mm. de alto, sus brácteas 20 a 40, biseria--- das, de tamaño subigual, lineal-lanceoladas o oblongas, acumi nadas en el ápice, hispídas y glanduloso-pubescentes; páleas de 8 a 9 mm. de largo; flores liguladas 8 a 12, amarillas a - anaranjadas, sus láminas de 9 a 20 mm. de largo, elípticas a abovadas; flores del disco 30 a 60, sus corolas amarillas, de 5 a 6 mm. de largo, pubérulas al menos en el tubo; aquenio -- abovados de 3 a 5 mm. de largo, negros a abigarrados, cubier tos de pubescencia aplicada, vilano de 2 aristas de 2 a 5 mm. de largo.

Ampliamente distribuida y muy abundante en las partes ba-
 jas y de mediana altitud en el Valle de México. Alt. 2250---
 3000 m. Principalmente como maleza arvense y ruderal. De --
 Chihuahua y Coahuila hasta Guatemala (11).

3. Químicos

Una de las familias más interesantes y numerosas es la de las Compositae o Asteraceae. Debido a la gran cantidad de géneros y especies que comprende esta familia, es natural encontrar en ella un cúmulo de diversos compuestos de interés biológico, médico y químico.

Dentro de la familia Compositae la especie *Simsia amplexicaulis*, originalmente asignada como *Encelia mexicana*, ha sido redefinida y excluida de este género (12).

De acuerdo a la revisión bibliográfica realizada, no se tienen reportes de estudios químicos, en los últimos cuarenta y un años, razón por la cual nos referiremos brevemente al conocimiento de los Metabolitos Secundarios de las especies cofamiliares de *S. amplexicaulis* (Sin. *E. mexicana*).

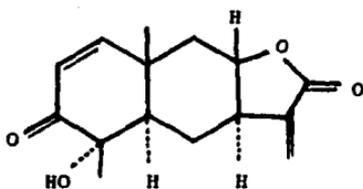
Dentro de las Compuestas la característica química -- más notable es la presencia de lactonas sesquiterpénicas, de las que, 1500 se han aislado y caracterizado hasta nuestros días (13). Las lactonas son compuestos incoloros, de sabor amargo, relativamente estables, lipofílicas y se derivan biogénicamente del trans - trans farnesilpirofosfato. Los tipos de lactonas se clasifican de acuerdo a su ciclización con base en el esqueleto hidrocarbonado y se tienen: germacranólidas, guayanólidas, pseudoguayanólidas, eudesmanólidas, eremofilanólidas y xantanólidas.

Las lactonas sesquiterpénicas presentan actividad ci-

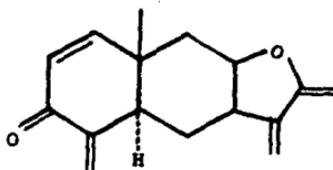
totóxica, como las que tienen incorporadas una ciclopentanona o una α -metileno-lactona. Otras presentan actividades antitumorales, antibióticas, que pueden ser antibacterianas, antifúngicas y antihelmínticas.

En algunas especies de la familia Compositae, la presencia de estos compuestos causan dermatitis en el hombre, -- por la presencia de α -metileno exocíclico y la γ -lactona; también se han reportado como venenos para el ganado y -- con actividad reguladora del crecimiento vegetal (14).

Las lactonas sesquiterpénicas se han encontrado en -- miembros de la subtribu Helianthinae (15), tal es el caso de la especie *Encelia farinosa*, de la que se aislaron dos compuestos de este tipo, la farinosina, que es el principal constituyente en hojas, y la encelina que se presenta en tallos (16).

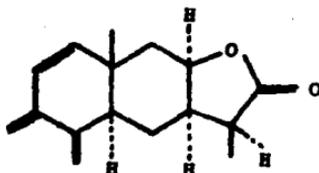


FARINOSINA

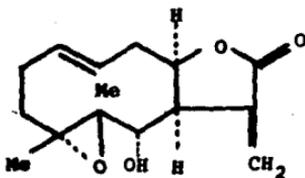


ENCELINA

Una especie afín, *Excelsia virginensis*, presenta en las -
hojas otra lactona sesquiterpénica, la virginina (17).

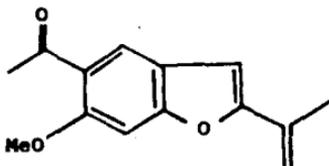


De las partes aéreas de *Simsia dombeyana* se aisló un --
germacrólido denominado simsiólido (18).

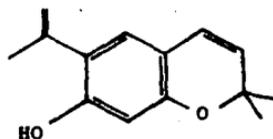


La distribución de estos Metabolitos Secundarios es -
bastante restringida en el reino vegetal, por lo que se les -
considera de gran valor quimiotaxonómico [Herout y Sorm 1969;
Herout 1971, citados en (19)].

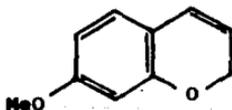
Los cromenos y benzofuranos son constituyentes químicos comunes en ciertos miembros de las tribus de las Astera--
ceae (20). Algunos de estos productos se aislaron de *Encelia laciniata*, *E. palmeri* y *E. ventorum*, como el benzofurano 6-metoxieu--
parina I, dos cromenos, enecalina II y III y la 7-dimetilen--
cecalina IV, los cuales son fototóxicos a microorganismos, --
irradiando con luz UV de onda larga, como por ejemplo bacte--
rias Gram + (*Bacillus subtilis* y *Staphylococcus albus*) y Gram - (*Pseu--*
domona fluorescens y *Escherichia coli*), así como también a levadu--
ras (*Saccharomyces cerevisiae* y *Candida albicans*), siendo éste el --
primer reporte de la capacidad fotosensibilizadora de los cro--
menos y benzofuranos naturales (21).



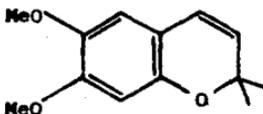
I



IV

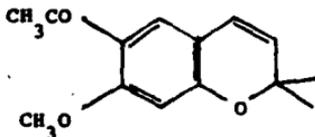


II

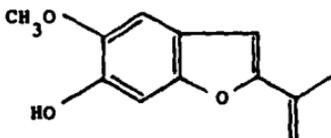


III

La encecalina es uno de los cromenos encontrados en varias especies de *Encelia* (22) y se ha reportado como insecticida para larvas de la especie *Oncopeltus fasciatus* (19), así como también para la oruga noctuidea del maíz *Heliothis zea* (20).



En la especie *E. californica* se encuentra euparina (23).

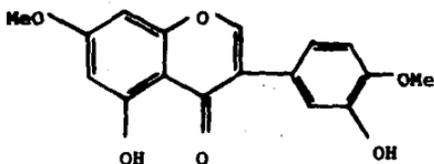


De *E. canescens* se han aislado, además de varios compuestos ya conocidos, dos nuevos derivados diméricos de la *p*-hidroxiacetofenona, dos dímeros epiméricos del cromeno y dos dímeros epiméricos mixtos de euparina y encecalina. La parte aérea tiene α - β -farneseno, germacreno D, cariofileno, α - y β -bergamoteno, γ - y α -curcumeno, sesquifelandreno, bisatoleno y su endoperóxido, el tridecapentaíeno, el acetato de taraxasterilo y derivados del toxol (24).

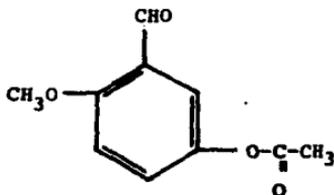
En *Encelia actoni* y *E. virginensis* se encontró un derivado del benzofurano, el 2-acetil-5-(1-hidroxi-2-propil)-6-metoxibenzofurano (25).

Los cromenos y benzofuranos se mantienen estables y - se utilizan como marcadores para delimitar afinidades dentro de la tribu Heliantheae (12).

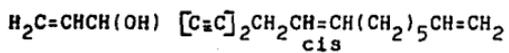
De *Simia foetida* se aisló una isoflavona la 7,4'-dime-- til-3'-hidroxigenisteína (15).



Los extractos acuosos de hojas de *Encelia farinosa*, --- aplicados a plantas de tomate, provocan inhibición en su crecimiento. De éstos se logró aislar un compuesto tóxico, el - 3-acetil-6-metoxibenzaldehído (26).



En *Simsia dombeyana* se ha reportado la presencia de un poliacetileno (18).



III. MATERIAL Y METODOS

1. Colecta

Se hicieron dos colectas de *Simsia amplexicaulis*, una se realizó en la Delegación de Tláhuac en el barrio de Tlaltenco y la otra en Chalco, Edo. de México, Las colectas se efectuaron en el mes de octubre de 1985. La determinación taxonómica del material se realizó en el Herbario del Instituto de -- Biología de la UNAM (MEXU), en donde se depositó el ejemplar del herbario.

2. Preparación del material biológico

El material de las dos colectas se secó a temperatura ambiente y posteriormente se hizo la separación de las partes de la planta para formar tres grupos:

- Inflorescencia
- Parte aérea (tallo y hojas)
- Raíz

Cada grupo se molió dos veces en un molino manual y - una vez procesado el material, se pesó (Tabla I).

3. Monitoreo de Metabolitos Secundarios

- a) Extracciones en aparato de Soxhlet.

Se tomó una fracción de cada una de las seis muestras, (Tabla II), sometiéndolas a una extracción continua a reflujo,

en aparato de Soxhlet, principiando con hexano y aumentando la polaridad del disolvente en forma progresiva, usando sucesivamente acetato de etilo y metanol. El tiempo de extracción fué de 8 horas para cada extracción y el proceso se repitió 2 veces más.

Los extractos así obtenidos, se llevaron a sequedad eliminando el disolvente a presión reducida, se pesaron y se calculó el rendimiento para cada una de las muestras. (Tabla II, III y IV).

b) Pruebas de caracterización de grupos de Metabolitos Secundarios.

En los extractos hexánicos se determinó presencia de terpenos y esteroides, mientras que los extractos de acetato de etilo y metanólicos se sometieron a las pruebas de determinación de alcaloides, fenoles, flavonoides, terpenos y esteroides, glicósidos y saponinas.

Para realizar estas pruebas se colocaron 5 mg de cada uno de los 6 extractos hexánicos en tubos de ensayo, donde se disolvieron en 1 ml. de cloroformo. Para los extractos de acetato de etilo y metanólicos se colocaron 50 mg. de cada uno de los extractos en tubos de ensayo y se disolvieron en 10 ml. de metanol. De estas soluciones patrón se tomó 1 ml., el cual se llevó a sequedad y se redisolvió en el disolvente adecuado, a fin de realizar las siguientes pruebas:

i. Alcaloides

Para determinar la presencia de alcaloides se emplearon los reactivos de Dragendorff y de ácido silicotúngstico. Se tomó 1 ml. de las soluciones patrón preparadas con anterioridad, se agregó 1 ml. de ácido clorhídrico al 10% y por último 2 gotas del reactivo correspondiente. Si se forma -- precipitado anaranjado-marrón con el reactivo de Dragendorff o amarillo pardo con el ácido silicotúngstico, la prueba es positiva.

ii. Fenoles

Para determinar fenoles se agregaron dos gotas de -- cloruro férrico (solución acuosa al 10%) a 1 ml. de las soluciones patrón de los extractos de acetato de etilo y metanólicos. Si el color de la solución vira a verde la prueba es positiva.

iii. Flavonoides

La presencia de flavonoides se determinó con la prueba de Shinoda, que consiste en agregar un trocito de limadura de magnesio a cada una de las soluciones patrón (1 ml.) - de los extractos de acetato de etilo y metanólicos, y dos gotas de ácido clorhídrico concentrado. Si la solución vira a verde o naranja la prueba es positiva.

iv. Terpenos y esteroides

El reactivo de Lieberman-Buchard permite determinar la presencia de terpenos y esteroides. A 1 ml. de las soluciones patrón de los extractos de acetato de etilo y metanólicos, llevandos a sequedad y redisueltos en cloroformo, y a

las soluciones de los extractos hexánicos, se les agregó 1 - ml. del reactivo. La prueba es positiva si la solución vira de verde a azul o de rojo a naranja.

v. Glicósidos

La presencia de glicósidos fué determinada con la -- prueba de Möllisch, que consistió en agregar dos gotas de una solución etanólica de α -Naftol al 5% a 1 ml. de cada una de las soluciones patrón de los extractos de acetato de etilo y metanólicos y añadir 1 ml. de ácido sulfúrico concentrado, - dejándolo resbalar por las paredes del tubo de ensaye, poco a poco, para evitar que se mezcle con la solución alcohóli-- ca. Si hay presencia de glicósidos, se formará un anillo -- violeta en la interfase de los dos líquidos.

vi. Saponinas

La presencia de saponinas se determinó mediante la - prueba de la espuma. 1 ml de las soluciones patrón de los extractos de acetato de etilo y metanólicos, llevados a se-- quedad y redissueltos en 1 ml de agua, se agitó fuertemente durante 30 segundos. Si se produce espuma y permanece más - de 5 minutos, se considera la prueba como positiva.

Los resultados de las pruebas de caracterización de grupos de Metabolitos Secundarios se encuentran en las Ta-- blas V, VI y VII.

c) Cromatografía en cada fina

Se corrieron placas cromatográficas en gel de sílice,

con 4 cm de frente del eluyente con los siguientes sistemas:

EXTRACTO	ELUYENTE
Hexánico	Hexano: Acetato de etilo 8:2
De acetato de etilo	Cloroformo: Metanol 9:1
Metanólico	Metanol: Acetato de etilo 7:3

Las placas se observaron con luz UV de onda larga y se revelaron con sulfato cérico (Figura I).

d) Extracción en frío con cloruro de metileno

El material restante de las seis muestras (el peso de cada una de las muestras se indica en la Tabla VIII) se colocó en frascos de vidrio ámbar con cloruro de metileno en cantidad suficiente para cubrir el material. Los frascos se taparon y se colocaron al abrigo de la luz durante 15 días - agitando ocasionalmente.

Terminada la extracción, se filtró el extracto y los filtrados se guardaron en frascos ámbar. Nuevamente el material sólido de la primera extracción se le agregó cloruro de metileno, dejando transcurrir 15 días para concluir la segunda extracción.

Los filtrados de las dos extracciones se reunieron y se evaporó el disolvente a presión reducida, trabajando siem

pre al abrigo de la luz. Los rendimientos de los extractos crudos secos, se encuentran en la Tabla VIII.

Con los extractos crudos secos se realizó una prueba bacteriológica para medir fototoxicidad y un análisis químico (separación de compuestos y su caracterización).

- e) Prueba bacteriológica de los extractos crudos secos de cloruro de metileno

Para esta prueba se utilizaron dos tipos de bacterias, *Escherichia coli* (Gram - ; cepa pBR327 RR1 procedente del Departamento de Microbiología del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM) y *Bacillus subtilis* (Gram + ; cepa - ATCC 6651 procedente del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la UNAM).

Con objeto de tener, en el momento del experimento - una población en pleno crecimiento, estos microorganismos se sembraron en caldo nutritivo básico, dejándose incubar 18 horas a 40° C. Por otro lado, se preparó medio de cultivo Müller/Hinton (Bioxon). El medio de cultivo y todo el material que se utilizó se esterilizó en autoclave a 120° C y 15 lbs. de presión, durante 15 minutos. Toda la manipulación - posterior del material se llevó a cabo dentro de una campana estéril.

Una vez frío el medio de cultivo se vertió en 24 cajas Petri de vidrio, (aproximadamente 20 ml. por caja) esterilizadas, de 9 cm. de diámetro. Se colocaron en la campana

bajo luz UV 15 minutos para eliminar posibles contaminaciones durante el llenado y se dejaron ahí 12 horas (prueba de esterilidad del medio), ya solidificado el medio se procedió a sembrar las bacterias con isopos, que se introdujeron en el caldo de cultivo y se aplicaron al gel formando líneas horizontales y verticales muy cercanas entre sí, sin romper la superficie, para obtener un crecimiento uniforme y compacto. En 16 cajas se sembró *Bacillus subtilis* y en 8, *Escherichia coli* debido a la resistencia que presenta esta bacteria por ser Gram-.

En el centro de las cajas destinadas a la prueba con los extractos, se agregaron, con ayuda de una pipeta Pasteur adelgazada de la punta, tres gotas de los extractos crudos - de inflorescencia, parte aérea y raíz, disueltos en hexano - y a una concentración de 2 mg/ml. En las cajas para control únicamente se agregaron tres gotas de hexano.

La determinación de la fototoxicidad de los extractos se hizo con dos series de cajas, una protegida de la radiación UV con papel aluminio y la otra sin protección; la distribución de las series de cajas se indica a continuación:

EXTRACTO DE	<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Escherichia coli</i>	
	cajas sin irradiar	cajas irradiadas	cajas sin irradiar	cajas irradiadas
INFLORESCENCIA	2	2	1	1
PARTE AEREA	2	2	1	1
RAIZ	2	2	1	1
CONTROL	2	2	1	1

Todas las cajas se colocaron en una campana bajo ra-

diación con una lámpara de luz UV de onda larga, Philips --- 57413p40TUV30W, durante 24 horas. Transcurrido el tiempo de exposición se suspendió la radiación y se hizo la observación del crecimiento bacteriano. Se dejaron las cajas 24 horas sin radiación y se volvió a hacer la observación.

Este procedimiento, que se aplicó a los extractos de la localidad 1 se siguió también para los extractos crudos - secos de las muestras colectadas en Chalco, Edo. de México, localidad 2.

4. Análisis químico de los compuestos obtenidos de los extractos de cloruro de metileno.

a) Separación por cromatografía en columna

En esta parte de la metodología sólo se utilizaron - los extractos crudos secos correspondientes a la muestra colectada en Tláhuac-Tlaltenco, localidad 1 (ver Cap. IV).

Para las cromatografías en columna se utilizó gel de sílice Merck, con un tamaño de partícula de 0.63 - 0.200 mm., en la que la relación gel-extracto fué de 80:1, utilizando - las siguientes cantidades de extracto:

Inflorescencia:	3.0 g.
Parte aérea:	3.6 g.
Raíz:	1.3 g.

Se corrieron tres columnas, las cuales se forraron con papel aluminio para evitar el contacto con luz, así como también los matraces Erlenmeyer donde se colocaron las fracciones de 50 ml ; se empleó como indicador de la presencia de los compuestos buscados luz UV de onda larga, haciendo la observación directamente sobre las fracciones colectadas con una lámpara Blak Ray U.V.L. 56.

Para la columna con el extracto de inflorescencia se utilizó primeramente, cloruro de metileno como eluyente y -- posteriormente se aumentó la polaridad con acetato de etilo en proporción 95:5 colectándose 131 fracciones, de las cuales las primeras 6 y de la 10 a la 112 presentaron fluorescencia a la luz UV; el resto de las fracciones no la tuvieron.

Para la columna del extracto de la parte aérea se -- utilizó cloruro de metileno como eluyente; se colectaron 109 fracciones, de las cuales las primeras 80 presentaron fluorescencia y el resto no la presentó.

Para la columna del extracto de raíz se utilizó como eluyente cloruro de metileno; se colectaron 32 fracciones, de las cuales, las 24 primeras presentaron fluorescencia a la luz UV y el resto no la tuvo.

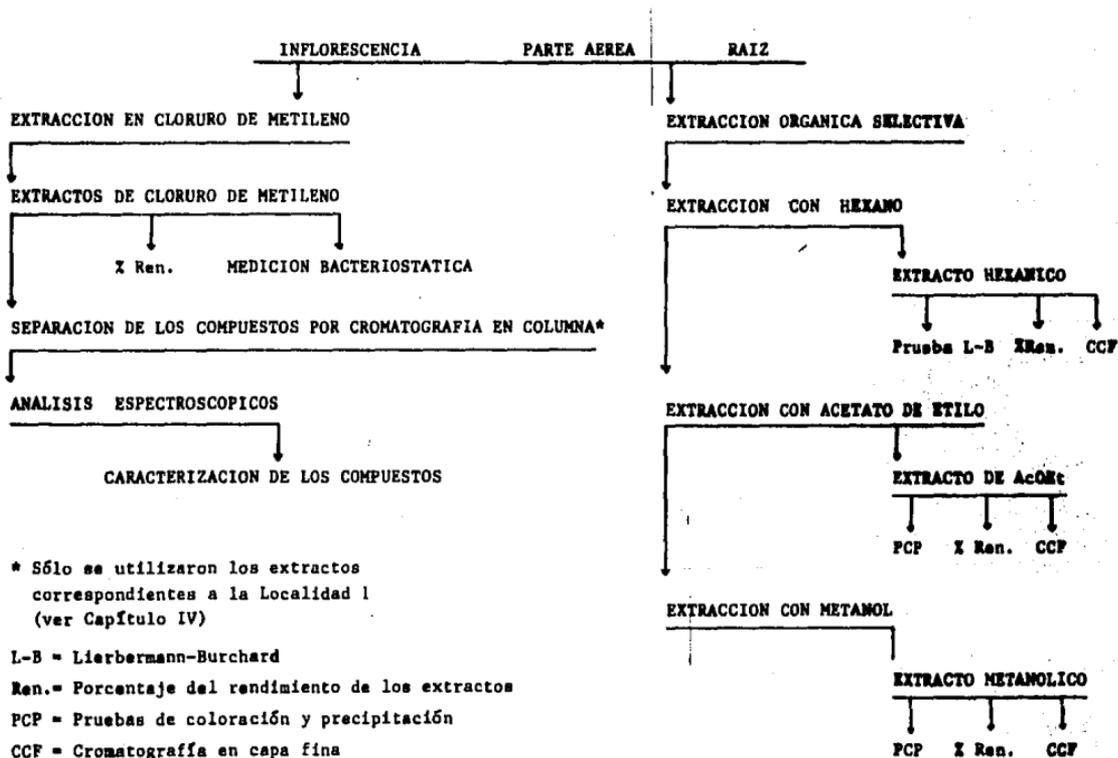
Las fracciones fluorescentes se reunieron en un matraz balón, uno para cada extracto, protegido con papel aluminio, y se evaporaron a presión reducida para eliminar el disolvente. Los rendimientos de estas cromatografías se indican en la Tabla IX.

Todas las fracciones fueron sometidas a una cromatografía líquido-líquido de alta resolución, en un aparato Varian 8 500, con una columna Si-10 de 50 cm. X 8 mm. Los cromatogramas obtenidos se presentan en las Figuras VI, XI, XV, XXVIII, XLI.

b) Caracterización de los compuestos

Para caracterizar los compuestos de cada una de las fracciones de los extractos de inflorescencia, parte aérea y raíz, se empleó espectroscopia en el ultravioleta (UV), infrarrojo (IR), de resonancia magnética nuclear (RMN) y de masas (EM). Los espectros obtenidos se presentan en las Figuras correspondientes.

DIAGRAMA GENERAL DEL PROCESAMIENTO DE CADA UNA DE LAS SEIS MUESTRAS DE *Simsia amplexicaulis*.



* Sólo se utilizaron los extractos correspondientes a la Localidad I (ver Capítulo IV)

L-B = Liebermann-Burchard

Ren. = Porcentaje del rendimiento de los extractos

PCP = Pruebas de coloración y precipitación

CCF = Cromatografía en capa fina

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

El trabajo se dividió en dos partes: un estudio químico comparativo de *Simsia amplexicaulis* de dos localidades diferentes, Tláhuac-Tlaltenco (localidad 1) y Chalco, Edo. de México (localidad 2), que comprendió la detección de grupos de Metabolitos Secundarios y la determinación de perfiles -- cromatográficos con objeto de establecer semejanzas o diferencia en las plantas de ambas localidades, y un análisis -- bacteriológico de los extractos de cloruro de metileno para determinar presencia o ausencia de compuestos fototóxicos.

- a) Rendimiento de los extractos hexánicos, de acetato - de etilo y metanólicos

Al comparar los rendimientos de los extractos hexánicos (Tabla II), los de inflorescencia de la localidad 2 guardan una proporción aproximada de 2:1 respecto a los de inflorescencia de la localidad 1; los de la parte aérea de ambas localidades se obtuvieron casi en la misma proporción, así -- como también los de raíz.

Los rendimientos de los extractos de acetato de etilo (Tabla III) muestran que, los de inflorescencia de la localidad 1 se encuentran en proporción de 3:2 respecto a los de inflorescencia de la localidad 2; los de la parte aérea -- y de raíz, de ambas localidades, tienen rendimientos casi -- iguales.

Los rendimientos de los extractos metanólicos de inflorescencia de la localidad 1 están en proporción de 3:2 --

respecto a los extractos de inflorescencia de la localidad 2; los de la parte aérea y de raíz guardan casi la misma proporción (Tabla IV).

Los rendimientos se calcularon referidos al peso seco de la parte correspondiente de la planta y los resultados muestran que los extractos hexánicos, de acetato de etilo y metanólicos, de la parte aérea y de la raíz, de las 2 localidades, se obtuvieron en cantidades similares.

El extracto hexánico de inflorescencia de la localidad 2 se obtuvo en mayor proporción que el de inflorescencia de la localidad 1; en cambio, los rendimientos de los extractos de acetato de etilo y metanólicos de la localidad 1 son mayores que los de la 2 (Gráfica I).

Los rendimientos de los extractos metanólicos de ambas localidades son mayores que los de los extractos hexánicos y de acetato de etilo, lo que indica que las sustancias polares predominan en la planta.

b) Pruebas de caracterización de grupos de Metabolitos Secundarios

En estas pruebas se utilizaron reacciones de coloración y precipitación, cuya intensidad se indicó con cruces, para determinar presencia de alcaloides, flavonoides, terpenos y esteroides, glicósidos y saponinas.

i. Alcaloides

En las pruebas realizadas para detectar alcaloides - se utilizaron los reactivos de Dragendorff y de ácido silico túngstico. Como se puede observar en los resultados (Tablas VI y VII), se encontraron alcaloides en los extractos de acetato de etilo de las 3 partes de la planta de ambas localidades. En los extractos metanólicos se detectaron en inflorescencia y parte aérea, de ambas localidades, pero no en raíz.

ii. Fenoles

Para la caracterización de oxhidrilos fenólicos se utilizó la prueba de cloruro férrico. Esta prueba fué negativa para los extractos de acetato de etilo de las 3 partes de la planta de ambas localidades. En los extractos metanólicos, la determinación resultó positiva en inflorescencia - de las dos localidades, pero no en la parte aérea ni en la raíz (Tabla VI y VII).

iii. Flavonoides

Para detectar la presencia de flavonoides, se usó la prueba de Shinoda, cuyos resultados (Tabla VI y VII) muestran la ausencia de estos compuestos en los extractos de acetato de etilo de las 3 partes de la planta de ambas localidades y en los extractos metanólicos sólo se detectaron en inflorescencia de ambas localidades.

iv. Terpenos y esteroides

Se utilizó la prueba de Lieberman-Burchard para detectar la presencia de terpenos y esteroides y los resultados se muestran en la Tabla V, VI y VII. Se encontró presencia de terpenos y esteroides en los extractos hexánicos y de acetato de etilo de las 3 partes de la planta, de ambas localidades, pero la prueba resultó negativa para los extractos metanólicos.

v. Glicósidos

En la determinación de glicósidos se utilizó la prueba de Möllisch (Tabla VI y VII), que resultó positiva en los extractos de acetato de etilo y metanólicos de las 3 partes de la planta de ambas localidades. La reacción más intensa se obtuvo en raíz de la localidad 1.

vi. Saponinas

La presencia de saponinas se determinó con la prueba de espuma, en soluciones acuosas, y resultó negativa para todos los extractos de acetato de etilo y metanólicos (Tablas VI y VII).

La relación de los resultados de estas pruebas (Gráficas III, IV y V), indica que:

- No hay diferencia fundamental entre las plantas de las dos localidades, en ambas se presentan los mismos grupos de compuestos, mostrando sólo diferencia en la intensidad de algunas de las reacciones.

	ALCALOIDES	FLAVONOIDES	TERPENOS- ESTEROIDES	GLICOSIDOS	SAPONINAS
INFLORESCENCIA	X	X	X	X	-
PARTE AEREA	X	-	X	X	-
RAIZ	X	-	X	X	-

X = Compuestos presentes en las 2 localidades.

En la prueba de terpenos y esteroides de los extractos hexánicos, el de la parte aérea de la localidad 1 dió -- una reacción más intensa (++) que el de la localidad 2 (+).

En los extractos de acetato de etilo no se encontraron flavonoides ni saponinas. En los extractos de raíz, la reacción para glicósidos fué más intensa en el de la localidad 2 (++).

En los extractos metanólicos tampoco se detectaron saponinas, terpenos y esteroides, ni alcaloides en raíz, y flavonoides se presentaron sólo en inflorescencia.

Los alcaloides dieron una reacción más intensa en inflorescencia de la localidad 2 (++) al igual que los flavonoides (++) y los glicósidos (++) , mientras que en el parte aérea y la raíz fueron los extractos de la localidad 1 los -

que presentaron una reacción más intensa (+++ y +++, respectivamente) para glicósidos.

- c) Número aproximado de componentes de los extractos, - determinado por cromatografía en capa fina.

El número aproximado de compuestos de cada uno de -- los extractos se conoció, utilizando la técnica de cromatografía en capa fina.

Se realizaron varios ensayos con las muestras para - determinar el sistema de eluyentes que permitiera una mejor separación en cada extracto, eligiéndose los siguientes sistemas:

EXTRACTO	ELUYENTE	
Hexánico	Hexano: Acetato de etilo	8:2
De acetato de etilo	Cloroformo: Metanol	9:1
Metanol	Metanol: Acetato de etilo	7:3

Las cromatoplasmas se muestran en la Figura I.

i. Cromatoplasma de los extractos hexánicos.

En la cromatoplasma de la Figura I se observa que las muestras de inflorescencia de ambas localidades presentan 5 manchas y un perfil igual. Las de la parte aérea presentan

4 manchas y también un perfil igual, pero en las correspondientes a raíz el perfil ya no es igual, el de la localidad 2 tiene 6 manchas que el de la localidad 1, sólo 4, faltando una de las manchas de menor polaridad y otra de mediana polaridad.

ii. Cromatoplaça de los extractos de acetato de etilo.

La cromatoplaça correspondiente a los extractos de acetato de etilo, de ambas localidades (Figura I), muestra que los perfiles de inflorescencia y raíz son diferentes, en tanto que los de la parte aérea son iguales.

El perfil de inflorescencia de la localidad 1 tiene 4 manchas y el de la localidad 2, 3 manchas, faltando la menos polar.

En los perfiles de raíz, el de la localidad 2 tiene 4 manchas y el de la 1, 2 manchas, faltando la menos polar y una de las de polaridad media.

iii. Cromatoplaça de los extractos metanólicos.

En la cromatoplaça correspondiente a los extractos metanólicos (Figura I) se observa que las muestras de inflorescencia de ambas localidades presentan 5 manchas y sus perfiles son iguales. Los perfiles de la parte aérea y de la raíz no son iguales. El de la parte aérea de la localidad 2 tiene 5 manchas y el de la localidad 1, 3 manchas, faltando

la mancha de mayor polaridad y una de polaridad media. El perfil de raíz de la localidat 2 presenta 5 manchas y el de la localidat 1, 4 manchas; falta en éste una de las manchas de menor polaridad.

Un esquema de las manchas que se presentan en las - cromatoplasmas de cada uno de los extractos se encuentra en la Tabla X. Se puede notar que no existe una diferencia -- marcada entre los perfiles de inflorescencia, parte aérea y raíz de las dos localidades analizadas. La falta de algunas manchas podría deberse a diferencias en concentración - de algunos compuestos y no necesariamente a su ausencia.

d) Rendimientos de los extractos de cloruro de metileno

Los rendimientos de los extractos de cloruro de metileno de las 2 localidades estudiadas tuvieron la misma -- tendencia que la de los extractos analizados anteriormente.

El de inflorescencia de la localidat 2 dió un rendi miento mayor que el de la localidat 1, en una proporción de 3:2. Los rendimientos de la parte aérea y de la raíz de -- las dos localidades se obtuvieron casi en la misma propor-- ción (Tabla VIII, Gráfica II).

e) Prueba bacteriológica de los extractos crudos de -- cloruro de metileno

En la familia Compositae o Asteraceae se han estu--

diado aproximadamente 80 especies para comprobar la actividad fototóxica de compuestos aislados (27). Dado que *Simsia amplexicaulis* se encuentra en esta gran familia, fué de interés probar si estos compuestos fototóxicos se encontraban presentes en esta especie, ya que no existen investigaciones reportadas al respecto hasta la fecha.

Los resultados obtenidos de la prueba bacteriológica (Tabla XI) muestran que los extractos fotoactivados de *Simsia amplexicaulis* de las dos localidades tienen mediana actividad frente a *Bacillus subtilis* (Gram +) y casi no presentan actividad frente a *Escherichia coli* (Gram -).

La actividad antibacteriana de los extractos se midió después de 24 horas de irradiación con luz UV de onda larga, considerando el tamaño del halo de inhibición del crecimiento bacteriano, formado en el centro de la caja donde se agregó el extracto.

Después de las primeras 24 horas, las cajas de Petri del experimento se dejaron otras 24 horas sin irradiar. Transcurrido este tiempo se pudo observar que en los halos de inhibición de crecimiento no se habían desarrollado colonias de bacterias, por lo que la acción de los extractos se consideró bactericida.

Los extractos de inflorescencia y parte aérea de las dos localidades, irradiadas con luz UV, tuvieron igual actividad (++ y +, respectivamente) frente a *B. subtilis*, en tanto que el de raíz de la localidad 1 fué más activo (+++) que el de la 2 (+). En los extractos no irradiados no hubo inhibición del crecimiento bacteriano, excepto en este últi

mo extracto donde se observó una actividad similar a la de las cajas irradiadas, para la localidad 1.

Frente a *Escherichia coli*, todos los extractos de la localidad tuvieron ligera actividad antibacteriana (+), mientras que de los de la localidad 1, sólo el de raíz tuvo ligera actividad (+), los otros dos no la presentaron.

Se ve pues, que *E. coli* (Gram -) tiene una menor sensibilidad a la acción de los extractos que *Bacillus subtilis* - (Gram +), lo cual esta de acuerdo con lo reportado en la literatura Towers (1977) donde menciona que los compuestos fotosensibles son activos frente a bacterias Gram + pero frente a las Gram - casi no presentan actividad.

Comprobada la actividad antibacteriana de los extractos de las diversas partes de la planta: inflorescencia, parte aérea y raíz, de las dos localidades, se procedió a separar sus componentes y caracterizarlos. Para este fin se trabajó sólo con los extractos de la localidad 1, puesto que no hubo diferencias marcadas en composición respecto a los extractos de la localidad 2.

4. Análisis de los compuestos obtenidos de los extractos de cloruro de metileno.

a) Fracciones separadas por cromatografía en columna.

La primera separación de compuestos se hizo por cro

matografía, en columna. De ésta se aislaron las fracciones fluorescentes, en las que había probabilidad de encontrar -- compuestos fototóxicos. Estas fracciones se obtuvieron con los siguientes rendimientos: inflorescencia, 35.72%, parte aérea, 37.1% y raíz, 44%. El porcentaje se calculó a partir de la cantidad del extracto crudo cromatografiado (Tabla IX).

La separación de compuestos de estas fracciones --- fluorescentes se hizo por cromatografía líquido-líquido de - alta resolución y el análisis espectrométrico de éstos, dieron los siguientes resultados:

b) Caracterización de los compuestos

1. Inflorescencia

Del extracto crudo de esta parte de la planta se se pararon por cromatografía en columna tres fracciones fluorescentes: IA (f: 1 - 6), IB (f: 10 - 96) e IC (f: 97 - - 112) (Tabla IX), que se sometieron a cromatografía de alta resolución.

Fracción IA

De la fracción IA se obtuvo un solo producto puro, de consistencia cerosa, cuyo análisis espectroscópico se in dica a continuación:

ESPECTRO U.V.		ESPECTRO IR	
λ máx. 196.5 nm	$h=230$ nm	C-H	2920 y 2850 cm^{-1}
(dobles enlaces aislados)		C=O	1730
		C=C	1605, 1640
			1650 y 1660
		-CH ₂ -	1460
		CH ₃ -	1360, 1376
		C-O	1180, 1200 y
			1230

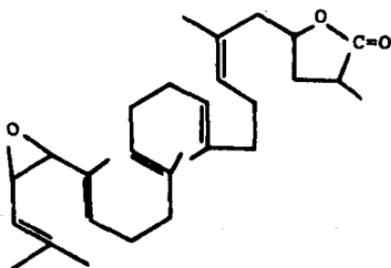
ESPECTRO R.M.N.

0.9	(ppm)	CH ₃ -	(señales para 6 grupos centrados a 0.9)
1.38		-CH ₂ -	
1.58		CH ₃ -	vecino a carbonilo
2.25		H ⁺	vecino a carbonilo
2.7		-CH ₂ -	del anillo lactónico
4.0		H ⁺	base de epóxido
4.6			base de una lactona
5.1 y 5.3			protones vinílicos

ESPECTRO DE MASAS (E.M.)

M⁺ = 436 m/e(PM = M⁺-18)

El análisis de estos espectros (Figuras II, III, IV y V) indican que se trata de un derivado del escualeno y se propone la siguiente fórmula tentativa:

C₃₀H₄₆O₃

PM = 454

Fracción IB

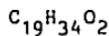
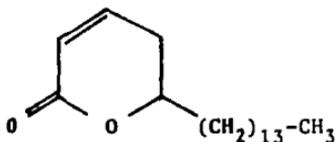
De la fracción IB se obtuvieron 8 productos (Cromatoplaça de la Figura IV), cuyos espectros se analizan a continuación:

Producto IB-1

U.V.		IR		
λ máx.	193 nm	C-H	vinílico	3022.869 cm^{-1}
	194.5			2928.245
	225	C-H		2855.794
		C=O		1736.152
		-CH ₂ -		1463.230
		CH ₃ -		1377.759
		-O-		1168.800
R.M.N.				
0.8 (ppm)	CH ₃ -	3H ⁺	(triplete)	
1.2	-CH ₂ -			
2.25	2 H ⁺	-CH ₂ -	del ciclo (triplete)	
4.02	1 H ⁺		cierre de la lactona (triplete)	
5.25	2 H ⁺		vinílicos (multiplete)	
E.M.				
M ⁺ = 294				

El análisis de estos espectros (Figuras VII, VIII, IX y X) indican que se trata de una lactona con cadena alifática y se propone tentativamente la siguiente fórmula:

Lactona α - β -insaturada



PM = 294

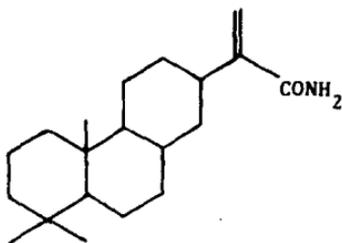
Producto IB-2

U.V.		IR	
λ 202 nm	amida	3506	cm^{-1}
	C-H	3022, 2932 y 2855	
	C=O (amida)	1692	
	C=C	1655	
	$-\text{CH}_2-$	1465	
	CH_3- gem	1367, 1325	
	$\text{CH}_2=$	879	

E.M.

$M^+ = 303$

Analizando los espectros correspondientes y relacionando IB-2 con IB-3 se deduce que se trata de una amida diterpénica y se propone la siguiente fórmula:



$$C_{20}OH_3ON$$

$$PM = 303$$

Producto IB-3

U.V.

λ 204 nm

OH

C-H

C=O

-CH₂-

CH₃-

C=C

IR

3500

3016, 2932

y 2860

1692

1467, 1449

1367

879

cm⁻¹

R.M.N.

0.85, 1.10, 1.17

(ppm)

4.06

CH₃- (singlete)

C=C

E.M.

 $M^+ = 304$

El análisis de estos espectros (Figuras XI, XII, -- XIII y XIV) indican que se trata del ácido correspondiente a la amida diterpénica IB-4.

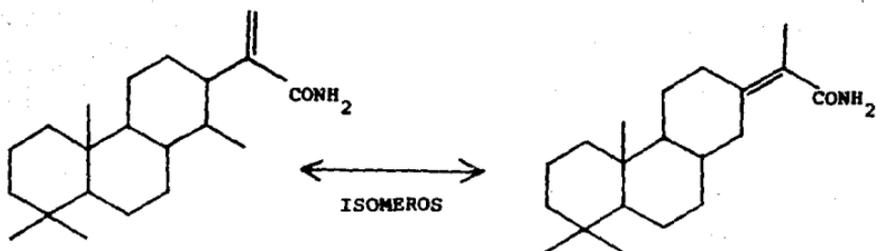
Producto IB-4

U.V.		IR	
λ 202 nm	amida	3506	cm ⁻¹
	CH vinílico	3016	
	C-H	2931.220, 2855.598	
	C=O (amida)	1693.176	
	C=C	1657	
	-CH ₂ -	1465.770	
	CH ₃ -	1367.739 y 1325.900	
	C=C	879	

E.M.

 $M^+ = 303$

El análisis de los espectros indica que el compuesto es una amida diterpénica, isómero de IB-2, y se propone el siguiente mecanismo de interconversión:

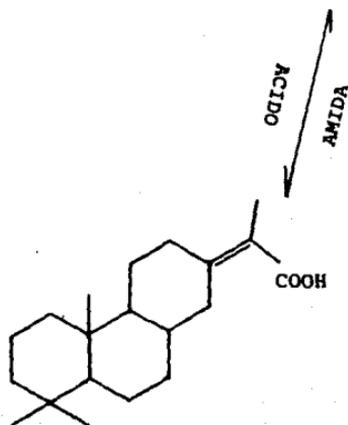


IB-2

$$\begin{matrix} C & H & O & N \\ 20 & 33 & & \end{matrix}$$

PM = 303

IB-4



IB-3

$$\begin{matrix} C & H & O \\ 20 & 32 & 2 \end{matrix}$$

PM = 304

Producto IB-5

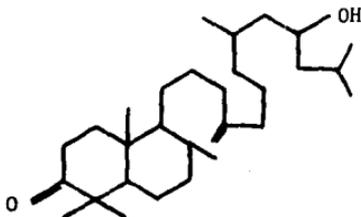
Sólido de consistencia cerosa, cuyo análisis espectroscópico se indica a continuación:

U.V.		IR	
λ 202 nm	OH	3509	cm ⁻¹
	C-H	3024, 2932 y 2856	
	C=O	1728 y 1692	
	C=C	1656	
	-CH ₂ -	1465	
	CH ₃ - gem	1368 y 1325	
	C-O	1021	
	C=C	920 y 878	

E.M.

M⁺ = 446

El análisis de los espectros, y su comparación con los del producto IA, indican que se trata de una cetona tri-terpénica, derivada, probablemente de IA.

C₃₀H₅₄O₂

PM = 446

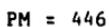
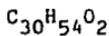
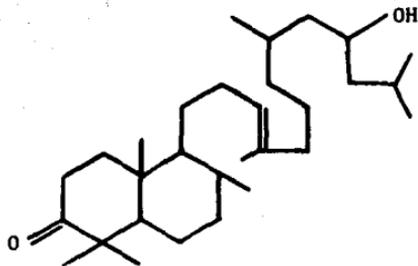
Producto IB-6

U.V.		IR	
λ 206 nm	OH	3501	cm ⁻¹
	C-H	3024, 2932 y 2855	
	C=O	1726, 1692	
	C=C	1656	
	-CH ₂ -	1464	
	CH ₃ - gem	1368 y 1325	
	C-O	1020	
	C=C	921 y 879	

E.M.

 $M^+ = 446$

Los espectros, comparados con los de IB-5, indican que se trata de un isómero de la cetona triterpénica anterior. Los espectros en el IR de ambos productos son casi iguales difieren en la región entre 1000 y 800 cm⁻¹ (dobles enlaces), por lo que se deduce que son isómeros de posición de un doble enlace. La fórmula que se propone tentativamente se indica a continuación:



Producto IB-7

U.V.

λ 202 nm

IR

C-H

3020, 2929 cm^{-1}
y 2856

C=O

1737

-CH₂-

1464

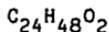
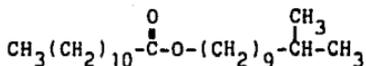
CH₃- gem

1376 y 1354

E.M.

M^+ = 368

El producto analizado corresponde a una cera, cuyo E.M. indica una fragmentación típica de una cadena alifática. Una fórmula probable es la siguiente:



$$\text{PM} = 368$$

El producto IB-8, no se pudo analizar por haberse -
obtenido en muy poca cantidad.

De la fracción fluorescente IC se obtuvieron 5 frac-
ciones, las dos primeras con una pequeña impureza y las 3 -
restantes puras (Cromatoplaca de la Figura XV). Sus espec-
tros se analizan a continuación:

Producto IC-1

Líquido denso, de color verde pálido.

U.V.		IR
λ 198 nm	C-H	2980, 2930 y cm^{-1}
225		2860
257	-CH ₂ -	1460
324	CH ₃ -	1375

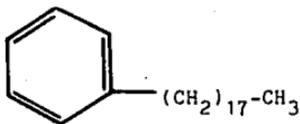
R.M.N.

0.86	(ppm)	CH ₃ -	(señal triple)
1.25		-CH ₂ -	
2.25		-CH ₂ -	vecino a anillo aromático
7.0			protones aromáticos (señal múltiple)

E.M.

M⁺ = 330

Del análisis de estos espectros (Figuras XVI, XVII, XVIII y XIX) se deduce la siguiente fórmula:

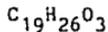
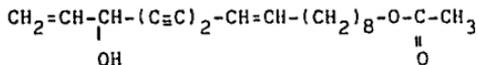
C₂₄H₄₂

PM = 330

Producto IC-2

U.V.		IR	
λ 192 nm	C-H	2960, 2930	cm ⁻¹
194		y 2860	
235	C-O (de éster)	1735	
251	C=C	1600	
275	-CH ₂ -	1455	
302	CH ₃ -	1375	
324	C-O	1160	

Se propone la siguiente fórmula tentativa, después de haber analizado los espectros correspondientes y haberlos comparado con los del producto RA-3:



$$\text{PM} = 302$$

tratándose del éster de un diacetileno con un doble enlace conjugado y otro no, compuesto similar al encontrado por -- Bohlmann (18) en *Simsia dombeyana*.

Producto IC-3

Sólido blanco, cristalino.

U.V.	IR		
λ 197 nm	OH	3510	cm ⁻¹
	C-H	3050, 2930 y 2860	
	C=O conjugado con	1690	
	C=C		
	C=C	1660	
	-CH ₂ -	1460 y 1440	
	CH ₃ -	1730 y 1320	
	C-O	1260	
	CH ₂ =C- exo	880	

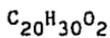
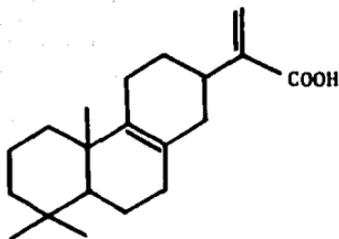
R.M.N.

0.95, 1.20 y 1.25 (ppm)	CH ₃ -
1.52, 1.75, 1.85 y 2.05	-CH ₂ -
2.20 y 2.60	-CH ₂ - vecinos a C=C
4.70	=CH ₂

E.M.

M⁺ = 302

Los datos de los espectros (Figuras XX, XXI, XXII y XXIII) concuerdan para un diterpeno de fórmula:



PM= 302

Producto IC-4

Cristales blancos, laminares.

U.V.		IR	
λ 196 nm	OH	3600	cm ⁻¹
	C-H	2950 y 2870	
	C=C	1600	
	-CH ₂ -	1460	
	CH ₃ -	1380	
	C-O	1045	

R.M.N.

0.67, 0.80, 0.87, (ppm)

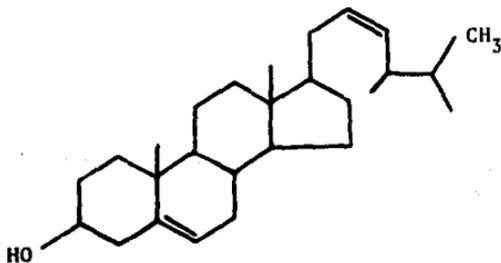
CH₃-

1.00 y 1.20	(ppm)	CH ₃ -
2.30		-CH ₂ -
3.5		H ⁺ base de OH
5.10		H ⁺ vinílico (multiplete)
5.30		H ⁺ vinílico (doblete)

E.M.

M⁺ = 414399 m/e = M⁺-15396 = M⁺-18412 = M⁺- 2

Basado en el análisis espectroscópico, (Figuras --- XXIV, XXV, XXVI y XXVII) se propone que el producto IC-4 -- sea un derivado del ergosterol, ya que sus espectros son si milares a los de este producto.

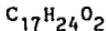
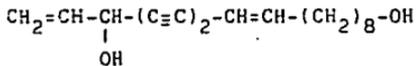
C₂₈H₄₆O₂

PM = 414

Producto IC-5

U.V.		IR	
λ 191 nm	OH	3560	cm ⁻¹
194	C-H	3000	
224	=	2320	
239			
286			
295			
320			
334			

Del análisis espectroscópico y de la comparación -- con los espectros de los productos RA-3 e IC-2, se deduce -- que se trata del alcohol diacetilénico que está formando el acetato IC-2.



Resumiendo, de la fracción fluorescente del extracto de cloruro de metileno de inflorescencia se aislaron 14 productos, entre los que se encuentran:

- Tres triterpenos

- a) Un derivado del escualeno con una función epoxi y una lactona (IA).
- b) Un triterpeno bicíclico, con un grupo cetónico, un oxhidrilo y un metileno terminal, que se lo puede considerar como derivado de IA (IB-5).
- c) Un segundo triterpeno bicíclico, isómero del anterior en el doble enlace del metileno terminal (IB-6).

- Cuatro diterpenos, con el mismo esqueleto fundamental.

- a) Un ácido con carboxilo en 17 y doble enlace en 13-14 (IB-3).
- b) La amida correspondiente a este ácido (IB-4).
- c) Una amida, isómero de la anterior, con el doble enlace en 15-16 (IB-2).
- d) Un ácido, también con carboxilo en 17, pero con 2 enlaces dobles, uno en 15-16 y el otro en 8-9 (IC-3).

- Un esteroide, derivado del ergosterol, con función -OH en uno de los metilos gem. de la cadena (IC-4).

- Dos diacetilenos

- a) Uno es el alcohol de 17 carbonos (IC-5) y el otro,
- b) El acetato correspondiente a IC-5 (IC-2).

ii. Parte aérea

Del extracto crudo de esta parte de la planta se se pararon, por cromatografía en columna, dos fracciones fluorescentes: PA (f: 1 - 34) y PB (f: 35 - 80) (Tabla IX), -- que posteriormente se sometieron a cromatografía de alta re solución.

De PA se obtuvieron tres fracciones no homogéneas - (Cromatoplaqa de la Figura XXVIII), de las cuales la tercera es la más impura.

Producto PA-1

Sólido de consistencia cerosa.

El análisis de este producto arrojó los siguientes resultados:

U.V.		IR	
λ 197 nm	OH	3340	cm ⁻¹
199	C-H	2930, 2920 y 2860	
	-CH ₂ -	1460	
	CH ₃ -	1375	
	C-O de OH	1115 y 1070	

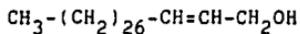
R.M.N.

0.85	(ppm)	CH ₃ -
1.25		-CH ₂ -
1.55		H ⁺ de OH
2.05		-CH ₂ - vecino a =
2.45		-CH ₂ - del OH

E.M.

M⁺ = 436

El análisis espectroscópico del producto concuerda para la siguientes fórmula:



PM = 436

Los espectros correspondientes se muestran en las -
figuras XXIX, XXX, XXXI y XXXII.

Productos PA-2 y PA-3

U.V.		IR	
λ 196 nm	C-H	vinilico 3330	cm ⁻¹
226	C-H	2940, 2920 y 2840	
	C=O	1715	
	-CH ₂ -	1450	
	CH ₃ -	1370	
	-O-	1160	

Estos productos no se lograron aislar puros, son -- una mezcla de la lactona, α - β no saturada, con ceras, como lo muestran sus espectros en el IR, que tienen las bandas de absorción en las mismas posiciones, pero con diferente intensidad. La fracción PA-2 está constituida casi exclusivamente por la lactona, en tanto que la PA-3 tiene una mayor cantidad de ceras (Cromatoplaqa de la Figura XXVIII).

De la segunda fracción fluorescente obtenida de la parte aérea, PB, se obtuvieron 2 productos de la cromatografía de alta resolución (Cromatoplaqa de la Figura XXVIII), cuyos espectros se analizan a continuación.

Producto PB-1. Sólido cristalino.

U.V.		IR	
λ 195 nm = aislado	OH	3610	cm ⁻¹
	CH vinilico	3017	
	CH	2959, 2937 y 2870	

-CH ₂ -	1463	cm ⁻¹
CH ₃ -	1380	
C-H de OH	1045 y 1100	
C-H vinílico	975 y 958	

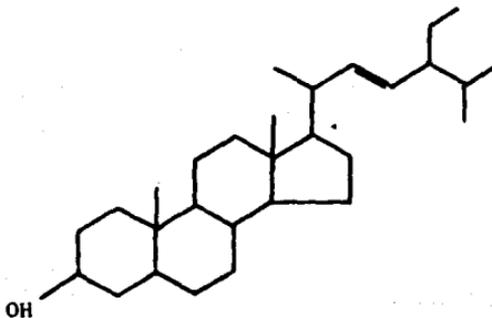
R.M.N.

0.65 a 1.25 (ppm)	CH ₃ -	(6 señales)
1.5	H ⁺	de OH
3.52	H ⁺	base de OH
5.2 y 5.3	H ⁺ s	olefinicos

E.M.

M⁺ = 414

El análisis de estos espectros (Figuras XXXIII, --- XXXIV, XXXV y XXXVI) indica que se trata del estigmastenol, ya que son similares a los del estigmasterol.

C₂₉H₅₀O

PM = 414

Producto PB-2. Sólido cristalino.

U.V.		IR	
λ 200 nm	OH	3640	cm ⁻¹
	C-H vinílico	3040	
	C-H	2952, 2929 y 2858	
	-CH ₂ -	1426	
	CH ₃ -	1380 y 1370	
	C-O de OH	1025	
	C=C	993	

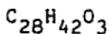
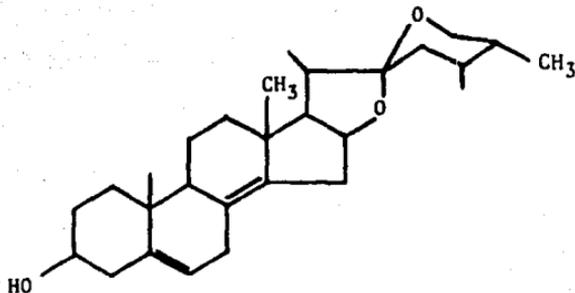
R.M.N.

0.75 a 1.0 (ppm)	CH ₃ -	(5 señales)
1.25	-CH ₂ -	
3.02	H ⁺	base de grupo oxigenado
3.55, 4.0 y 4.7	-CH ₂ -	
5.2	H ⁺	vinílico

E.M.

M⁺ = 426

El análisis espectroscópico (Figuras XXXVII, XXXVIII, XXXIX y XL), indica que se trata de un derivado del ergoste_{rol}, de fórmula tentativa:



PM = 426

Resumiendo, de la fracción fluorescente del extracto de la parte aérea se aislaron 4 productos:

- Un alcohol graso, con 30 átomos de carbono, con un doble enlace (PA-1) /
- Una lactona α, β no saturada impurificada con ceras --- (PA-2) y
- Dos esteroides:
 - a) estigmastenol (PB-1) y
 - b) un derivado del ergosterol (PB-2)

iii. Raíz

Del extracto crudo de esta parte de la planta se se paró una sola fracción fluorescente: RA (f: 1 - 24) (Tabla IX).

De la fracción RA se obtuvieron cinco productos por cromatografía de alta resolución (Cromatoplaça de la Figura XLI), cuyos espectros se analizan a continuación:

Producto RA-1

U.V.		IR	
λ 200 nm		OH	3600 cm^{-1}
260		C-H	3023, 2922 y 2855
		C=O (éster)	1721
		-CH ₂ -	1462
		CH ₃ -	1378
		C-O	1248, 1205 y 1046
		C=C	900 y 877

R.M.N.

0.86 (ppm)	CH ₃ -
1.25	-CH ₂ -

1.52	(ppm)	-CH ₂ -	vecino a =
2.00 y 2.25		-CH ₂ -	vecino a C=O (señal múltiple)
4.00		H ⁺	base de OH

R.M.N.

5.1, 5.3 y	(ppm)	H ⁺ s	protones vinílicos
5.35		-CH ₂ -	vecino a éster

E.M.

M⁺ = 318 m/e

El análisis espectroscópico del producto RA-1 (Figuras XLII, XLIII, XLIV y XLV), indica que se trata de una ce-
ra de fórmula C₂₀H₃₂O₄ (PM = 336), con 4 dobles enlaces y 2
oxhidrilos en su molécula.

Producto RA-2

U.V.

λ 200, 224 y 258 nm C=C conjugados

IR

OH 3623 cm⁻¹
C-H 3032, 2928 y 2856

C=O	(éster)	1726	cm ⁻¹
-CH ₂ -		1463	
CH ₃ -		1380	
C-O	(éster)	1254 y 1250	
C-O	(alcohol)	1124 y 1046	
C=C		972, 920, 877 y 849	

E.M.

M⁺ = 306 m/ePM = M⁺ - 18

El análisis espectroscópico de este producto corresponde al de una cera de fórmula C₂₀H₃₆O₃ (PM = 324), con dos dobles enlaces conjugados y un oxhidrilo en su molécula.

Producto RA-3. Sólido amarillo de consistencia cerosa.

U.V.		IR	
λ 203 nm		OH	3623 cm ⁻¹
215		C-H	2929 y
270			2855
275		C=O	1725 y
287			1700
306		C=C	1680 y
322			1650
352		-CH ₂ -	1459
374		CH ₃ -	1387
		C-O (de éster)	1240

C-O (de alcohol)	1125 y 1046	cm ⁻¹
C=C	986, 920 877 y 852	

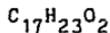
E.M.

M⁺ = 302 m/e

Fragmentos de hidrólisis



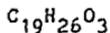
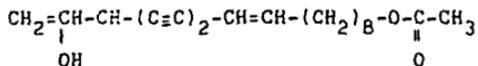
(ácido)

M⁺ = 43

(alcohol)

M⁺ = 259

El análisis espectroscópico del producto RA-3 (Figuras XLVI, XLVII y XLVIII) indica que se trata del éster de un diacetileno, igual al producto IC-2, de fórmula:



PM = 302

Producto RA-4. Sólido de consistencia cerosa.

U.V.		IR	
λ 203 nm			cm^{-1}
	OH	3622	
	C-H vinílico	3040	
	C-H alifático	2974, 2933 y 2860	
	C=O	1731 y 1693	
	-CH ₂ -	1467 y 1450	
	CH ₃ -	1390, 1350 y 1320	
	C-O	1125 y 1046	
	C=C	877	

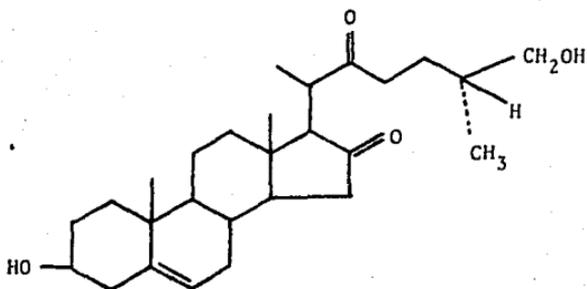
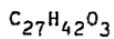
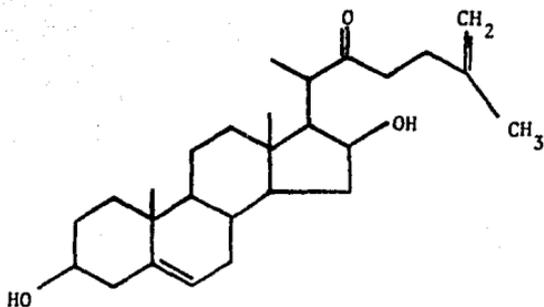
R.M.N.

0.85, 0.93, 1.1 y 1.23	(ppm)	CH ₃ -	
2.05		-CH ₂ -	(vecino a carbonilo)
2.6		¹ -CH ₂ -	
		O	
4.75			vinílico

E.M.

M⁺ = 414

El análisis espectroscópico del producto RA-4 (Figuras XLIX, L, LI y LII) indica que se trata de un derivado de la criptogenina:



CRIPTOGENINA

Los espectros de este producto son similares a los de RA-4.

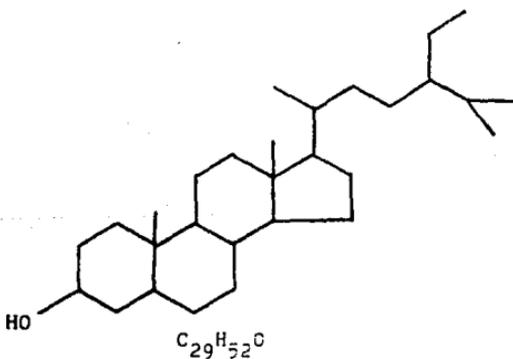
Producto RA-5. Sólido blanco, ceroso.

U.V.		IR	
λ 202 nm	OH	3619	cm^{-1}
	C-H	2662, 2937	
		y 2869	
	-CH ₂ -	1460	
	CH ₃ -	1384, 1242	
		y 1186	
	C=O (oxhidrilo)	1046	

E.M.

 $M^+ = 416$

Los espectros de este producto son similares a los del compuesto PB-2, excepto que en el IR no muestra insaturaciones, por lo que se deduce que se trata del estigmastanol:



PM = 416

De la fracción fluorescente del extracto de raíz se aislaron 5 productos:

- Dos ceras, con 30 átomos de carbono:
 - a) Una con 4 dobles enlaces y 2 oxhidrilos (RA-1), y
 - b) Una con dos dobles enlaces y un oxhidrilo (RA-2)

- Un éster diacetilénico (RA-3) igual al aislado del extracto de inflorescencia (IC-2).

- Dos esteroides:
 - a) Un derivado de la criptogenina (RA-4) y
 - b) Estigmastanol (RA-5), el derivado saturado del estigmastanol (PB-1).

En vista de que los productos aislados se obtuvieron en muy poca cantidad, sólo se pudo hacer su análisis espectroscópico, inclusive no completo en algunos casos, por lo que las fórmulas que se proponen son fórmulas de trabajo o tentativas.

V. CONCLUSIONES :

- De la comparación de *Simsia amplexicaulis* de las dos localidades se deduce que no hay diferencias significativas en cuanto a la presencia de grupos de compuestos químicos.
- En la prueba bacteriológica, los extractos irradiados de las 3 partes de la planta, mostraron actividad bactericida. De los extractos no irradiados, sólo el de raíz tuvo actividad.
- De los productos aislados del extracto de cloruro de metileno se encontraron:
 - a) Esteroides en las 3 partes de la planta.
 - b) Compuestos diacetilénicos en inflorescencia y --raíz, que son los responsables de la actividad bactericida fotoantibiótica de los extractos.
 - c) Diterpenos en inflorescencia.
 - d) Triterpenos en inflorescencia.
- De la prueba bacteriológica se deduce que en la planta existen otros compuestos, también con actividad antibacteriana a nivel de raíz, además de los fototóxicos.

BIBLIOGRAFIA

1. Domínguez, X.A. (1985). *Métodos de investigación Fitoquímica* - (pp. 281) México: Limusa.
2. Bu'lock, J.D. (1969). *Biosíntesis de productos naturales (Introducción al metabolismo secundario)* (pp. 184). Bilbao: Urmo.
3. Dirzo, R. (1985). Metabolitos Secundarios en las Plantas. Ciencia (36), 137-145.
4. Rosenthal, G.A. & Janzen, D.H. (Eds.). (1979). *Herbivores: Their interaction with secondary plant metabolites* (pp. 1-60). New York: Academic Press.
5. Pathak, M.A. & Krämer, D.M. (1969). Photosensitization of Skin *in vivo* by furocoumarins (psoralens). Biochimica et Biophysica Acta 193, 197-206.
6. Daniels, F. (1965). A simple microbiological method for demonstrating phototoxic compounds. The Journal of Investigative Dermatology, 44 (4), 259-263.
7. Towers, G.H.N., Wat, C.K., Graham, E.A. & Bandoni, R.J. (1977). Ultraviolet-mediated antibiotic activity of species of Compositae caused by polyacetylenic compounds -- Lloydia, 40 (s), 487-498.
8. Cronquist, A. (1981). *An integrated system of classification of flowering plants*. New York: Columbia University Press.
9. Díaz, J.L. (1976). *Índice y sinonimia de las plantas medicinales de México*. Monografías Científicas I. IMEPLAM.

10. Martínez, M. (1979). *Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas* México: Fondo de Cultura Económica.
11. Rzedowski, J. & Rzedowski, G.C. (1985). *Flora fanerogámica del Valle de México. Volumen II. Dicotyledoneae* (pp. 561). - México: ENCB-IPN e Instituto de Ecología.
12. Priksch, P. & Clark, C. (1987). Systematic implications of chromenes and benzofurans from *Encelia* (Asteraceae). - Phytochemistry, 26 (1), 171-174.
13. Romo de Vivar, A. (1985). *Productos naturales de la flora mexicana* (pp. 220). México: Limusa.
14. Rodríguez, E., Towers, G.H.N. & Mitchell, J.C. (1976). Biological activities of sesquiterpene lactones. Phytochemistry 15, 1573-1580.
15. Romo de Vivar, A. (1982). The structure of 7,4'-Dime--thyl-3'-hydroxigenistein, an isoflavone from *Simsia foetida*. Rev. Latinoamer. Quím. 13, 18-19.
16. Geisman, T.A. & Mukherjee, R. (1966). Sesquiterpene -- lactones of *Encelia farinosa* Gray. Journal of Organic Chemistry, 33 (2), 656-660.
17. Sims, J.J. & Berryman, K.A. (1972). Virginin. A sesqui-- terpene lactone from *Encelia virginensis*. Phytochemistry - 11, 444-445.
18. Bohlmann, F. & Ldero, C. (1977). Ein neues germacrolid aus *Simsia dombeyana*. Phytochemistry, 16 (6), 776-778.
19. Cicció, J.F. et al. (1978). Estudio fitoquímico prelimi-- nar de plantas de la familia Compositae de Costa Rica. - I. lactonas sesquiterpénicas. Rev. Biol. Trop., 26 (1), 159-165.

20. Proksch, P. et al. (1986). Benzofurans and methylated - flavonoids of *Geraea* (Asteraceae). Phytochemistry, 25 -- (10), 2367-2369.
21. Proksch, P. & Proksch, M. (1983). Phototoxic and insecticidal activities of chromenes and benzofurans from *Encelia*. Journal of Natural Products, 46 (3), 331-334.
22. Isman, M.B. & Proksch, P. (1985). Deterrent and insecticidal chromenes and benzofurans from *Encelia* (Asteraceae). Phytochemistry, 24 (9), 1949-1951.
23. Bjeldanes, L.F. & Geissman, T.A. (1969). Euparinoid -- constituents of *Encelia californica*. Phytochemistry 8, --- 1293-1296.
24. Bohlmann, F. et al. (1983). Dimeric chromenes and mixed dimers of a chromene with euparin from *Encelia canescens*. - Phytochemistry, 22 (2), 557-560.
25. Proksch, P., Brever, M. & Budzikiewicz, H. (1985). Benzofuran derivatives from two *Encelia* species. Phytochemistry, 24 (2), 3069-3071.
26. Gray, R. & Bonner, J. (1948). Structure determination - and synthesis of a plant growth inhibitor, 3-acetyl-6-methowibenzaldehyde, found in the leaves of *Encelia farinosa*. Am. Chem. Soc. 70, 1249-1253.
27. Camm, E.L., Towers, G.H.N. & Mitchell, J.C. (1975). UV-Mediated antibiotic activity of some compositae species. Phytochemistry 14, 2007-2011.

TABLA I

PESO DE LAS PARTES MOLIDAS DE *Simsia amplexicaulis*

LOCALIDAD	PARTE DE LA PLANTA	PESO (g)
1	INFLORESCENCIA	296
	PARTE AEREA	1931
	RAIZ	155
2	INFLORESCENCIA	110
	PARTE AEREA	826
	RAIZ	104

LOCALIDAD

- 1 Tláhuac - Tlaltenco
 2 Chalco Edo. de México

TABLA II

PORCENTAJE DE RENDIMIENTOS DE LAS EXTRACCIONES HEXANICAS

LOCALIDAD	PARTE DE LA PLANTA	CANTIDAD DE LA MUESTRA (g)	CANTIDAD DE EXTRACTO (g)	RENDIMIENTO (%)
1	INFLORESCENCIA	19.6	0.8864	4.5
	PARTE AEREA	42.7	0.8931	2.9
	RAIZ	34.7	0.2667	0.76
2	INFLORESCENCIA	41.1	3.2898	8.0
	PARTE AEREA	44.2	1.0799	2.44
	RAIZ	59.1	0.3526	0.60

TABLA III

PORCENTAJE DE RENDIMIENTOS DE LAS MUESTRAS CON ACETATO DE ETILO

LOCALIDAD	PARTE DE LA PLANTA	CANTIDAD DE LA MUESTRA (g)	CANTIDAD DE EXTRACTO (g)	RENDIMIENTO (%)
1	INFLORESCENCIA	19.6	0.5808	2.96
	PARTE AEREA	42.7	0.4792	1.12
	RAIZ	34.7	0.2100	0.60
2	INFLORESCENCIA	41.1	0.7609	1.85
	PARTE AEREA	44.2	0.5154	1.16
	RAIZ	59.1	0.3383	0.57

TABLA IV
 PORCENTAJE DE RENDIMIENTOS DE LAS EXTRACCIONES METANOLICAS

LOCALIDAD	PARTE DE LA PLANTA	CANTIDAD DE LA MUESTRA(g)	CANTIDAD DE EXTRACTO(g)	RENDIMIENTO(%)
1	INFLORESCENCIA	19.6	2.9766	15.18
	PARTE AEREA	42.7	2.4461	5.73
	RAIZ	34.7	1.6621	4.79
2	INFLORESCENCIA	41.1	4.2545	10.35
	PARTE AEREA	44.2	2.6886	6.08
	RAIZ	59.1	1.8175	3.07

TABLA V

REACCION DE LIEBERMAN-BURCHARD PARA LOS EXTRACTOS HEXANICOS

LOCALIDAD	PARTE DE LA PLANTA	PRESENCIA DE TERPENOS Y ESTEROIDES
1	INFLORESCENCIA	+
	PARTE DE LA PLANTA	++
	RAIZ	+
2	INFLORESCENCIA	+
	PARTE AEREA	+
	RAIZ	+

ANOTACIONES:

- * No se realizó la reacción (insoluble)
- Negativa
- + Débil
- ++ Positiva
- +++ Intensa
- ++++ Muy intensa

TABLA VI

REACCIONES COLORIDAS Y DE PRECIPITACION EN EXTRACTOS DE ACETATO DE ETILO

LOCALIDAD	PARTE DE LA PLANTA	ALCALOIDES		FENOLES	FLAVONOIDES	T-E	GLIC.	SAP.
		Dragendorff	Silicotúngstico	Cloruro férrico	Shinoda	L-B	MSlich	Espuma

	INFLORESCENCIA	+	+	-	-	+	+	-
1	PARTE AEREA	++	++	-	-	+	+	-
	RAIZ	-	+	-	-	+	+	-
	INFLORESCENCIA	-	+	-	-	+	+	-
2	PARTE AEREA	++	++	-	-	+	+	-
	RAIZ	-	+	-	-	+	++	-

L-B Liebermann-Burchard
 T-E Terpenos y esteroides
 GLIC. Glicósidos
 SAP. Saponinas

TABLA VII

REACCIONES COLORIDAS Y DE PRECIPITACION EN EXTRACTOS METANOLICOS

LOCALIDAD	PARTE DE LA PLANTA	ALCALOIDES		FENOLAS	FLAVONOIDES	T-E	GLIC.	SAP.
		Dragendorff	Silicotúngstico	Cloruro férrico	Shinoda	L-B	Mölich	Espuma
1	INFLORESCENCIA	-	+	+	+	-	+	-
	PARTE AEREA	-	+	-	-	-	+++	-
	RAIZ	-	-	-	-	-	++++	-
2	INFLORESCENCIA	-	++	++	++	-	++	-
	PARTE AEREA	-	+	-	-	-	++	-
	RAIZ	-	-	-	-	-	++	-

L-B Liebermann-Burchard
T-E Terpenos y esteroides
GLIC. Glicósidos
SAP. Saponinas

TABLA VIII

RENDIMIENTO DE LAS EXTRACCIONES CON CLORURO DE METILENO

LOCALIDAD	PARTE DE LA PLANTA	CANTIDAD DE LA MUESTRA (g)	CANTIDAD DE EXTRACTO (g)	RENDIMIENTO (%)
1	INFLORESCENCIA	218.1	10.86	4.97
	PARTE AEREA	1000.0	17.65	1.76
	RAIZ	108.8	1.30	1.19
2	INFLORESCENCIA	168.9	12.88	7.63
	PARTE AEREA	782.0	8.56	1.09
	RAIZ	45.1	0.2770	0.61

TABLA IX

FRACCIONES FLUORESCENTE DE LA CROMATOGRAFIA EN COLUMNA PARA INFLORESCENCIA, PARTE AEREA Y RAIZ

PARTE DE LA PLANTA	FRACCION FLUORESCENTE	FRACCIONES DE LA COLUMNA	ELUYENTE	PESO (g)	RENDIMIENTO (%)
INFLORESCENCIA	I	1 - 6	Cloruro de metileno	0.466	15.53
	II	10 - 96	Cloruro de metileno	0.5061	16.87
	III	97 - 112	Cloruro de metileno:Acetato de etilo 95:5	0.0995	<u>3.32</u>
					TOTAL = 35.72
PARTE AEREA	I	1 - 34	Cloruro de metileno	0.2080	5.7
	II	35 - 80	Cloruro de metileno	1.1306	<u>31.4</u>
					TOTAL = 37.1
RAIZ	I	1 - 24	Cloruro de metileno	0.5720	44.0

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

T A B L A X

RESUMEN DE LAS MANCHAS DE LAS PLACAS DE LOS EXTRACTOS HEXANICOS, ACETATO DE
ETILO Y METANOLICOS

METANOLICOS	*	*	*	*	*	*
	*	*	*	*	*	*
	*	*	*	*	*	*
	*	*	*	*	*	*
	*	*	*	*	*	*
<hr/>						
ACETATO DE ETILO	*	*	*	*	*	*
	*	*	*	*	*	*
	*	*	*	*	*	*
	*	*	*	*	*	*
<hr/>						
HEXANICOS	*	*	*	*	*	*
	*	*	*	*	*	*
	*	*	*	*	*	*
	*	*	*	*	*	*
	*	*	*	*	*	*
<hr/>						
	I	II	I	II	I	II
	INFLORESCENCIA		PARTE AEREA		RAIZ	

I : Localidad 1 TLAHUAC - TLALTENCO
 II: Localidad 2 CHALCO, EDO. DE MEXICO

TABLA XI

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS CRUDOS SECOS DE CLORURO DE METILENO

Bacillus subtilis

LOCALIDAD	CONCENTRACION	INFLORESCENCIA		PARTE AEREA		RAIZ		CONTROL	
		con UV	sin UV	con UV	sin UV	con UV	sin UV	con UV	sin UV
1	2 mg/ml	++	0	+	0	+++	+++	0	0
2	2 mg/ml	++	0	+	0	+	0	0	0

Escherichia coli

LOCALIDAD	CONCENTRACION	INFLORESCENCIA		PARTE AEREA		RAIZ		CONTROL	
		con UV	sin UV	con UV	sin UV	con UV	sin UV	con UV	sin UV
1	2 mg/ml	0	0	0	0	+	0	0	0
2	2 mg/ml	+	0	+	0	+	0	0	0

+++ : actividad intensa

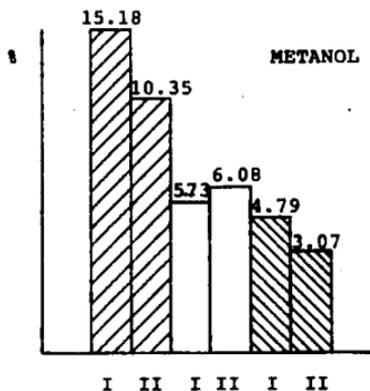
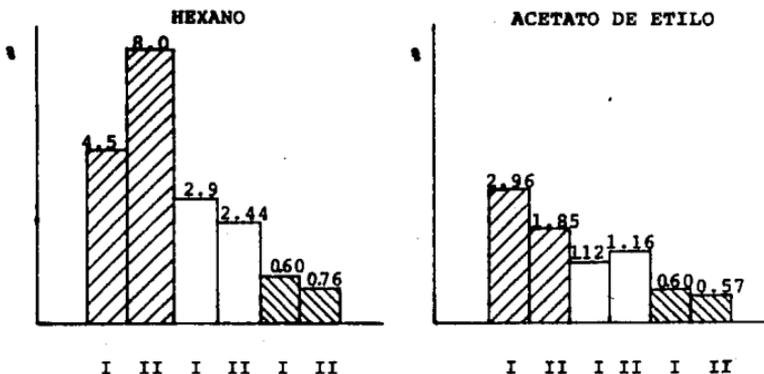
++ : actividad medianamente intensa

+ : actividad ligeramente intensa

0 : actividad nula

GRAFICA I

RENDIMIENTO DE LAS SEIS MUESTRAS EXTRAIDAS CON HEXANO, ACETATO DE ETILO Y METANOLICAS



INFLORESCENCIA

PARTE AEREA

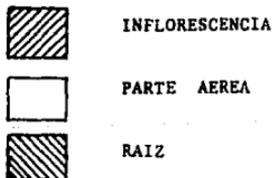
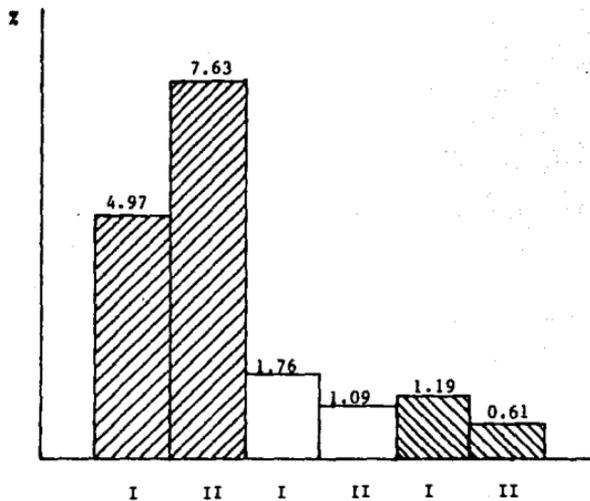
RAIZ

I = Localidad 1

II = Localidad 2

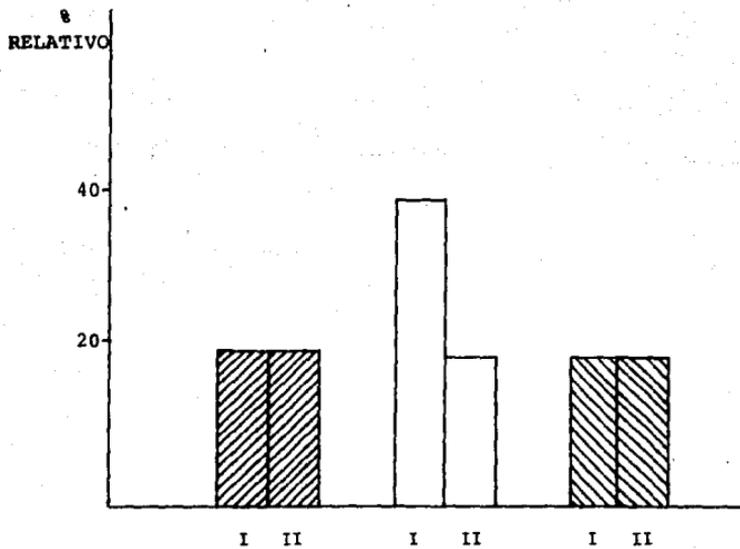
GRAFICA II

RENDIMIENTO DE LAS SEIS EXTRACCIONES CON CLORURO DE METILENO



GRAFICA III

CONTENIDO RELATIVO DE TERPENOS Y ESTEROIDES EN EXTRACTOS HEXANICOS



INFLORESCENCIA



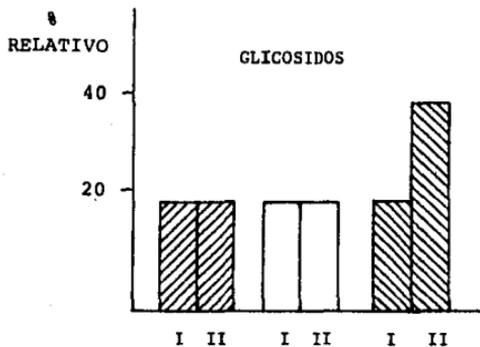
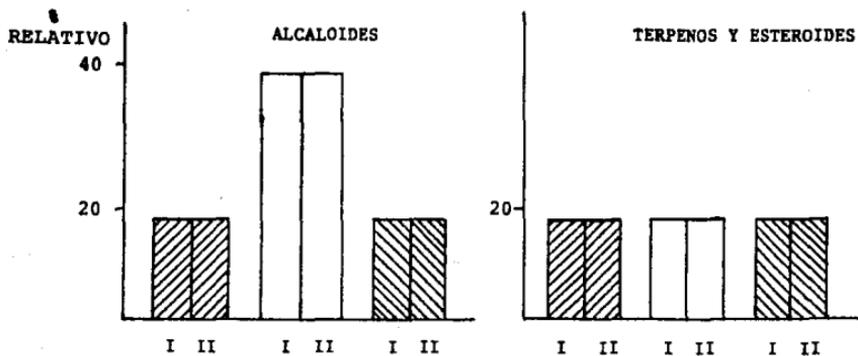
PARTE AEREA



RAIZ

GRAFICA IV

CONTENIDO RELATIVO DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN LOS EXTRACTOS DE
ACETATO DE ETILO



INFLORESCENCIA



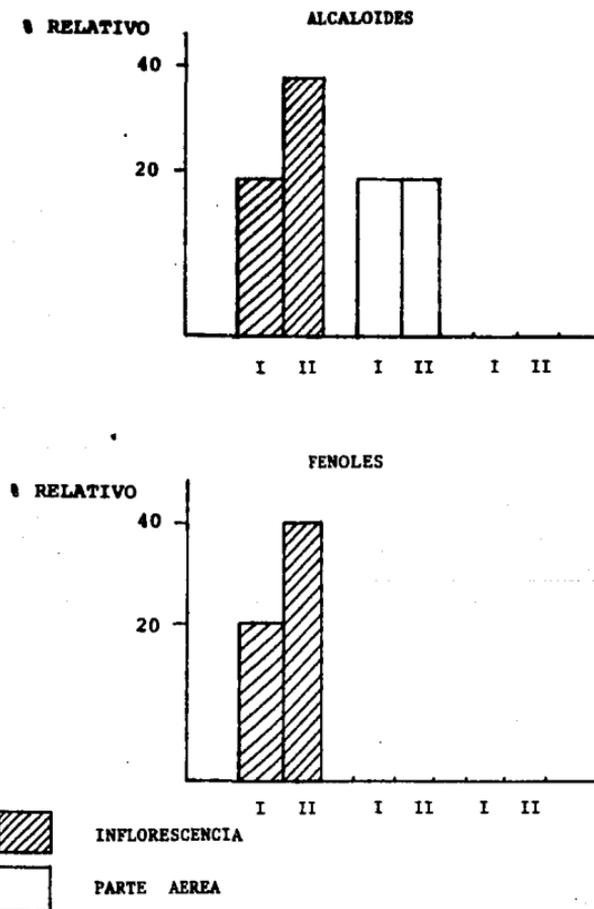
PARTE AEREA



RAIZ

GRAFICA V

CONTENIDO RELATIVO DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN LOS
EXTRACTOS METANOLICOS



GRAFICA VI

CONTENIDO RELATIVO DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN LOS
EXTRACTOS METABOLICOS

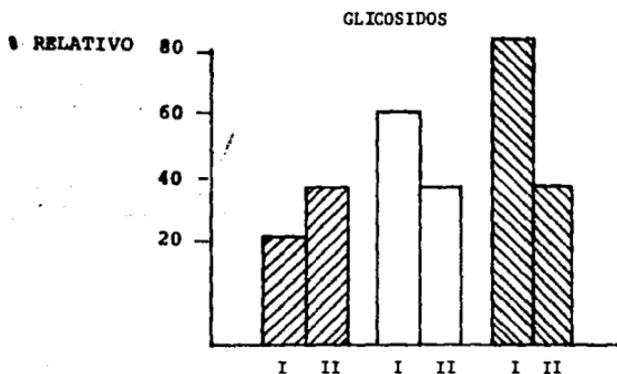
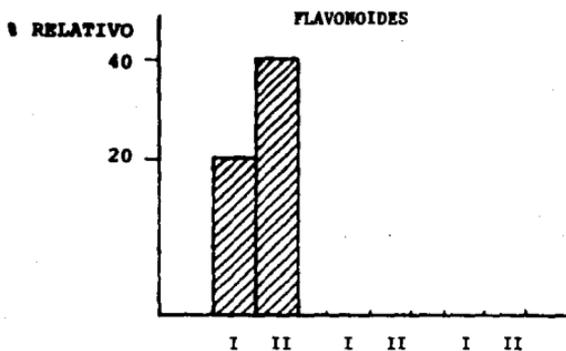
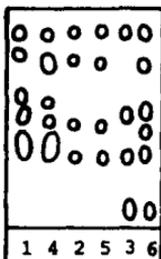
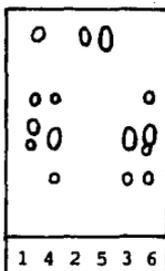


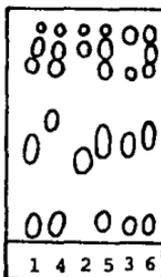
FIGURA I



EXTRACTO Hexánico
 ELUYENTE Hexano:AcOEt 8:2
 ADSORBENTE Sílica gel
 REVELADOR Sulfato cérico



EXTRACTO Acetato de etilo
 ELUYENTE Cloroformo:Metanol 9:1
 ADSORBENTE Sílica gel
 REVELADOR Sulfato cérico



EXTRACTO Metanólico
 ELUYENTE Metanol:AcOEt 7:3
 ADSORBENTE Sílica gel
 REVELADOR Sulfato cérico

MUESTRAS DE LA LOCALIDAD 1 Y 2

INFLORESCENCIA 1 Y 4
 PARTE AEREA 2 Y 5
 RAIZ 3 Y 6

FIGURA II

ESPECTRO EN EL U.V. DEL PRODUCTO IA

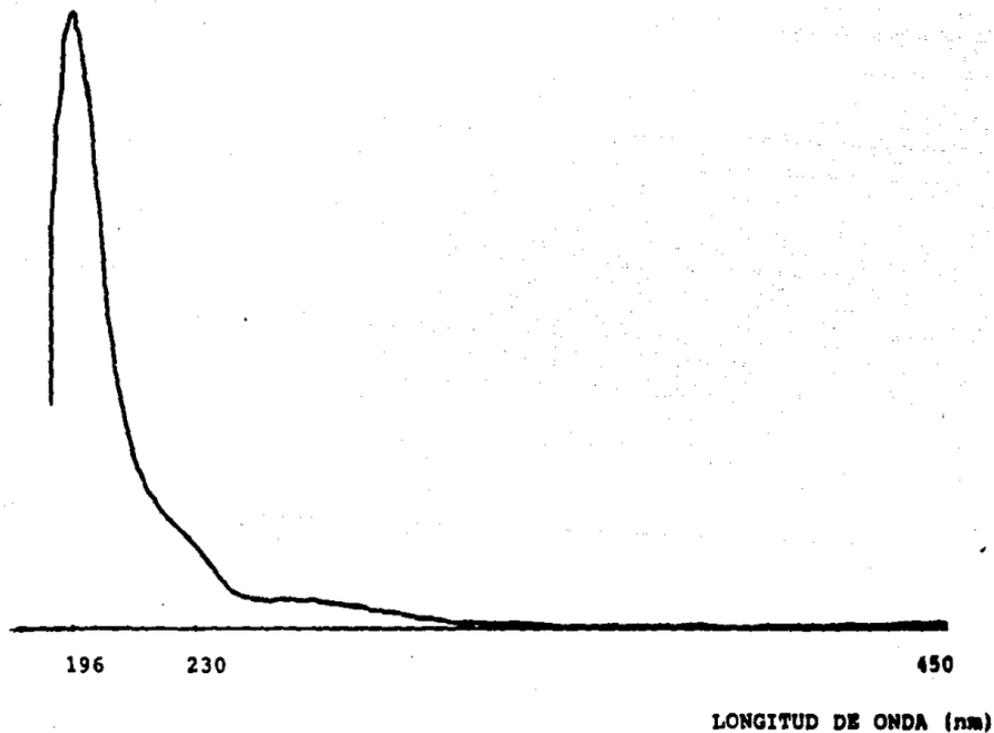


FIGURA III

ESPECTRO EN EL I.R. DEL PRODUCTO IA

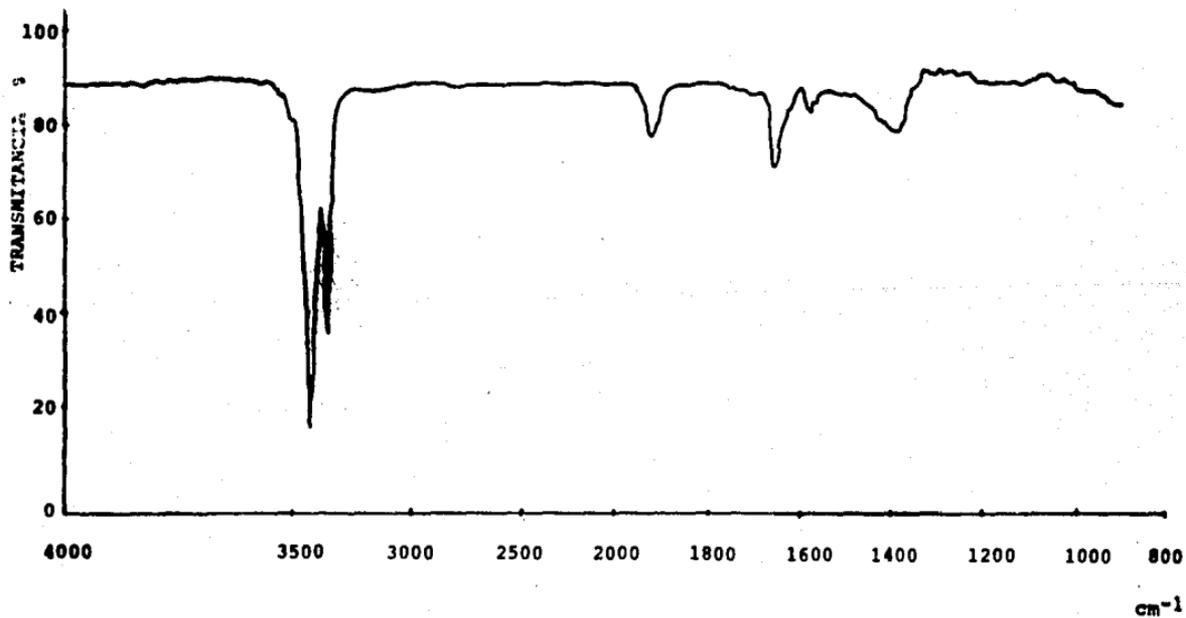


FIGURA IV

ESPECTRO DE R.M.N. DEL PRODUCTO IA

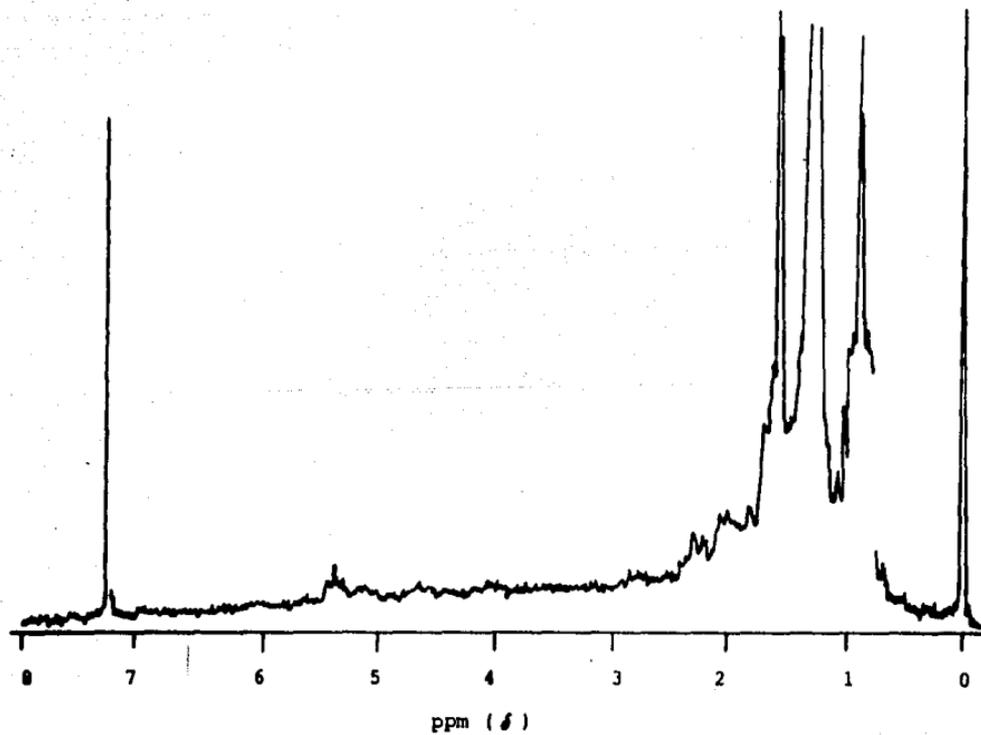


FIGURA V

ESPECTRO DE MASAS DEL PRODUCTO IA

FRN 5031	SPECTRUM 20		RETENTION TIME	
LARGEST 4:	57.2, 100.0	43.1, 83.1	71.2, 55.7	95.3, 50.5
LAST 4:	323.3, .6	365.3, .6	408.5, .8	436.5, .9
				PAGE 1 Y = 8.00

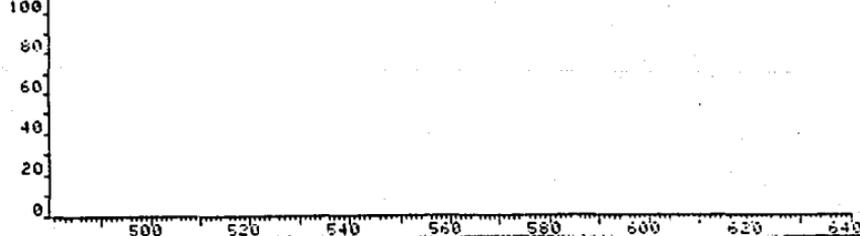
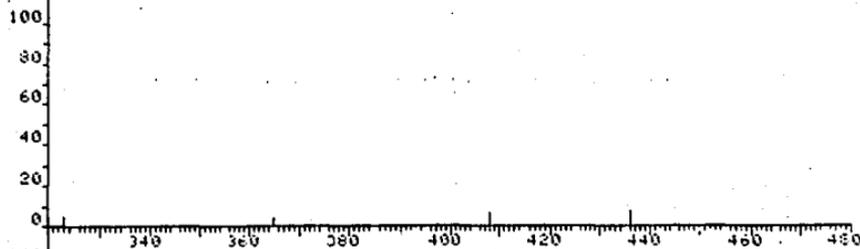
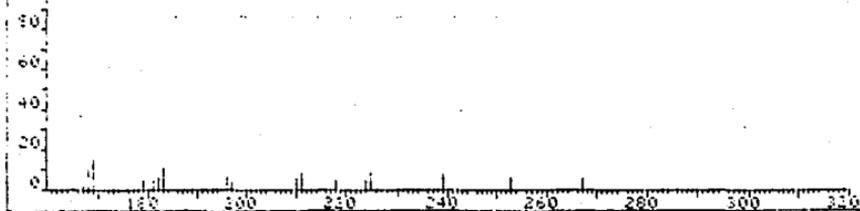
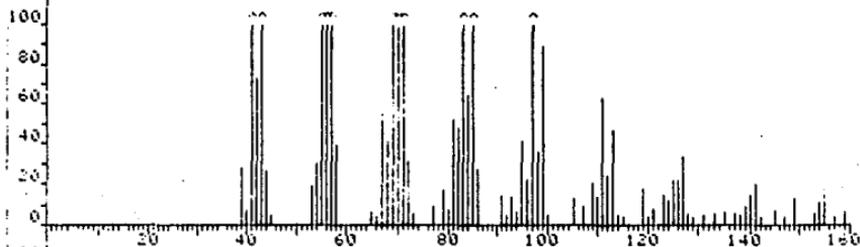
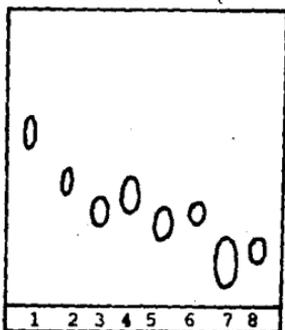


FIGURA VI

SEPARACION DE COMPUESTOS POR CROMATOGRAFIA DE ALTA RESOLUCION



IB

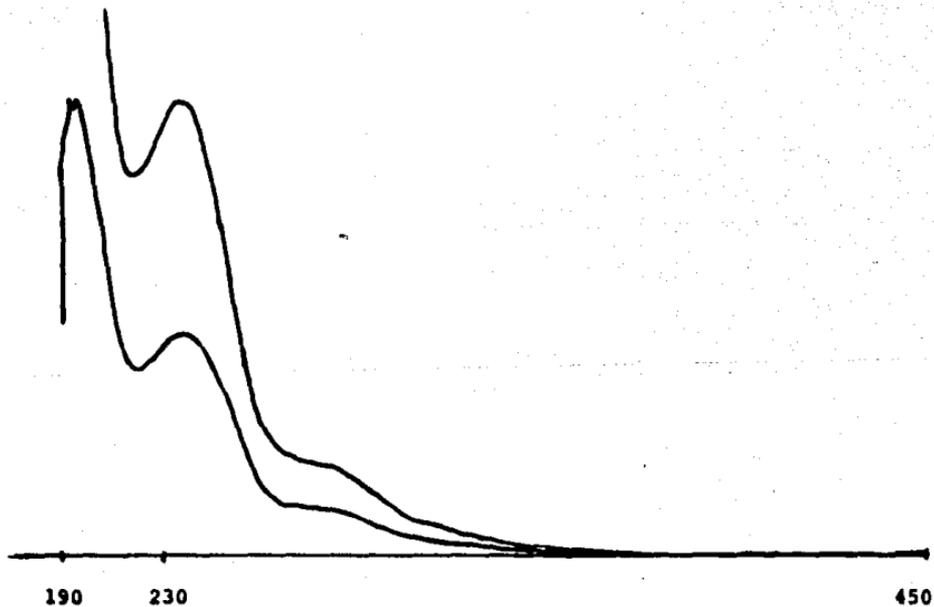
INFLORESCENCIA

FRACCION 10 - 96

ELUYENTE: HEXANO:AcOEt 95:5

FIGURA VII

ESPECTRO EN EL U.V. DEL PRODUCTO IB-1



LONGITUD DE ONDA (nm)

FIGURA VIII

ESPECTRO EN EL I.R. DEL PRODUCTO IB-1

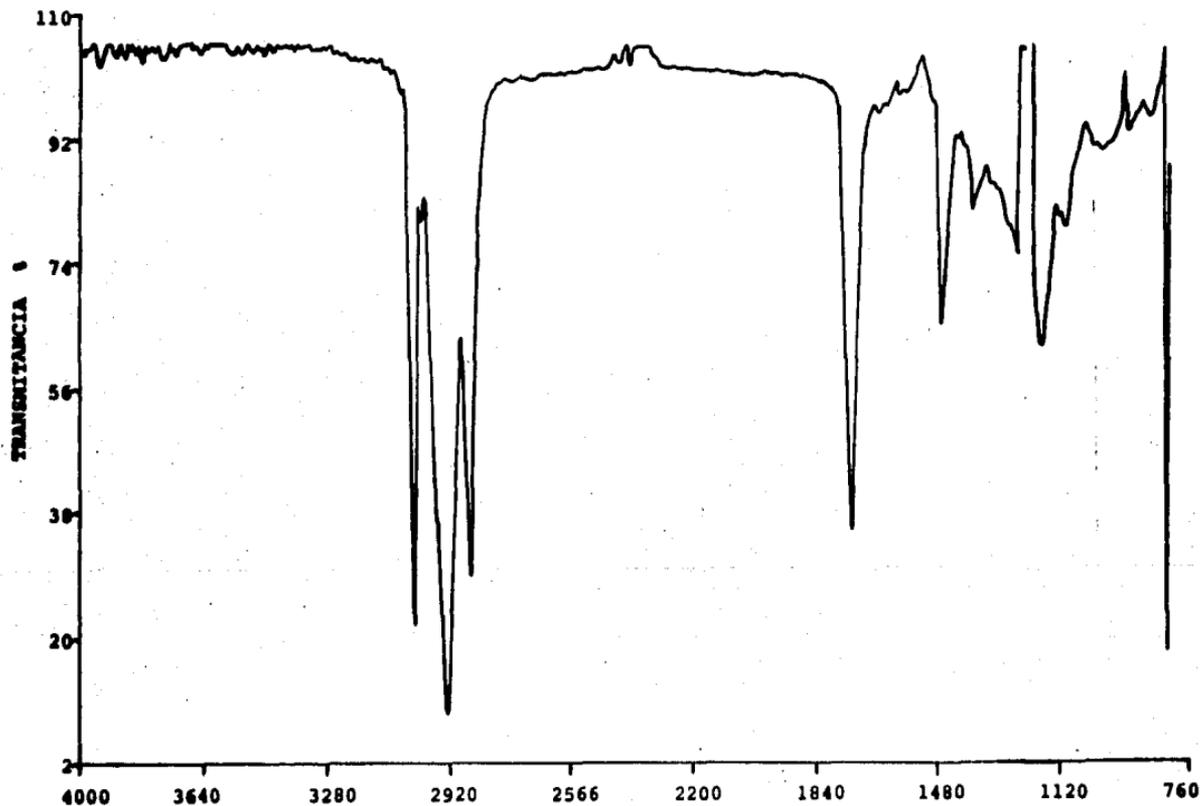


FIGURA IX

ESPECTRO DE R.M.N. DEL PRODUCTO IB-1

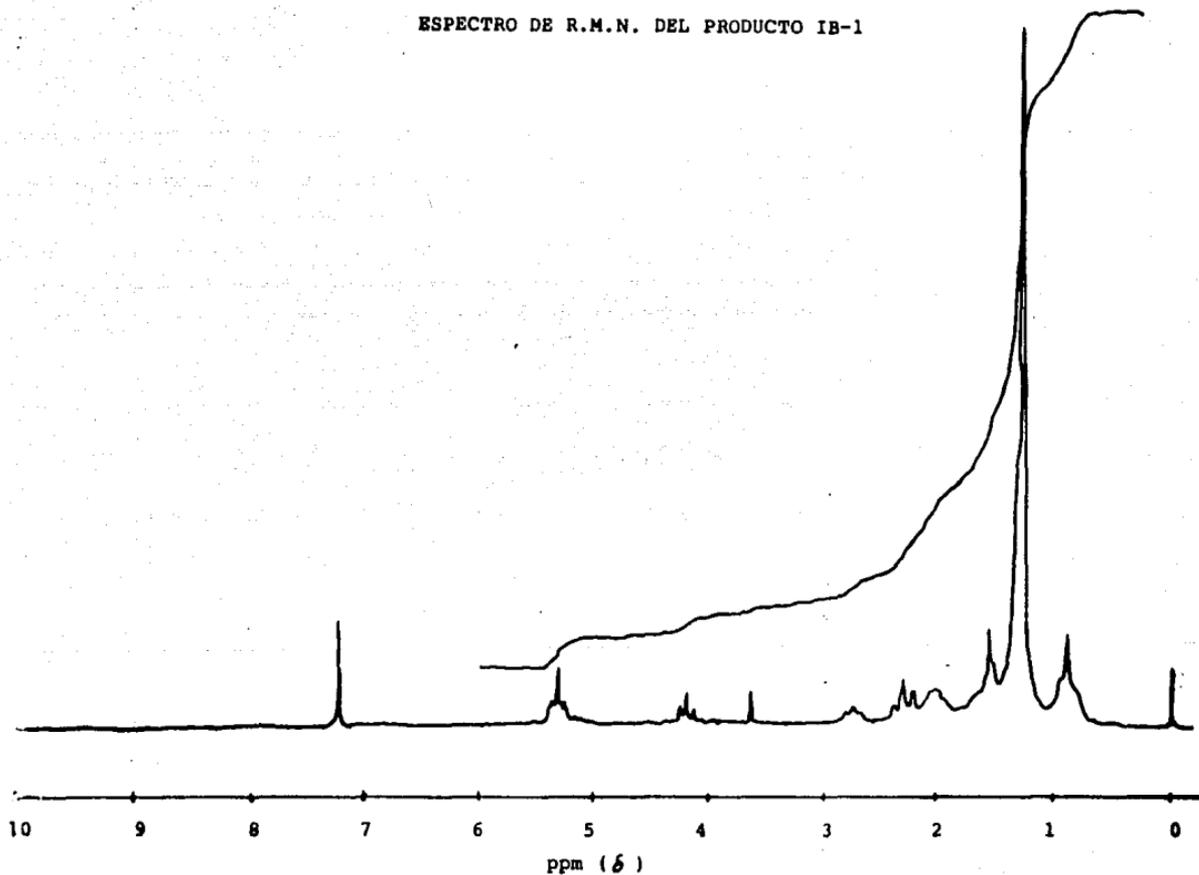


FIGURA X

ESPECTRO DE MASAS DEL PRODUCTO IB-1

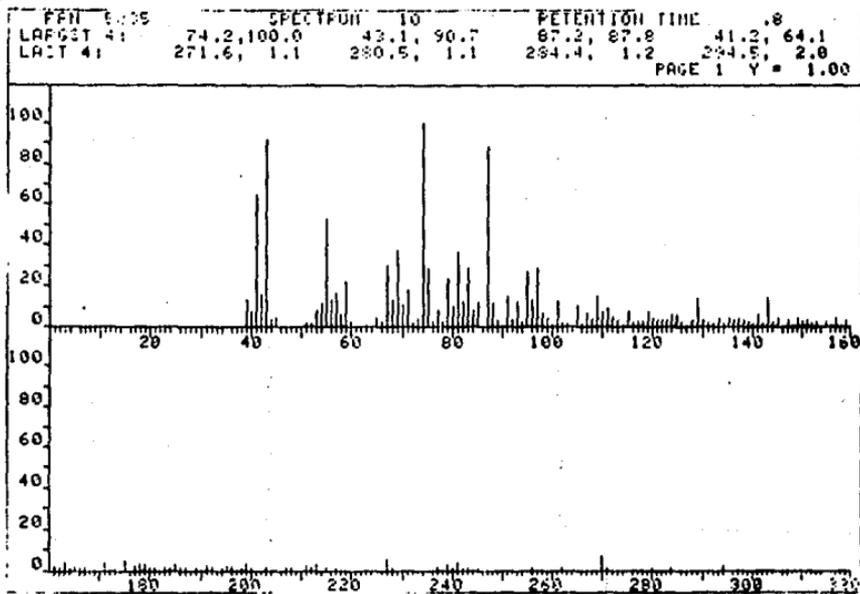


FIGURA XI

ESPECTRO EN EL U.V. DEL PRODUCTO IB-3

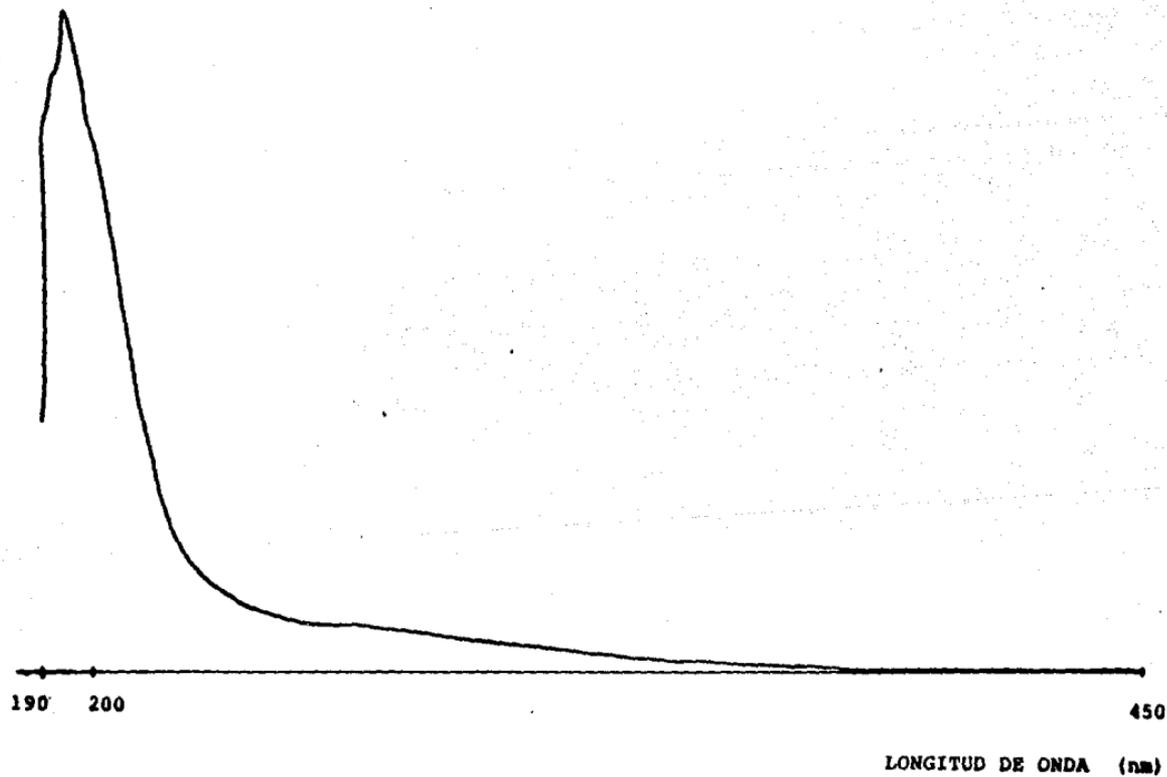


FIGURA XII

ESPECTRO EN EL I.R. DEL PRODUCTO IB-3

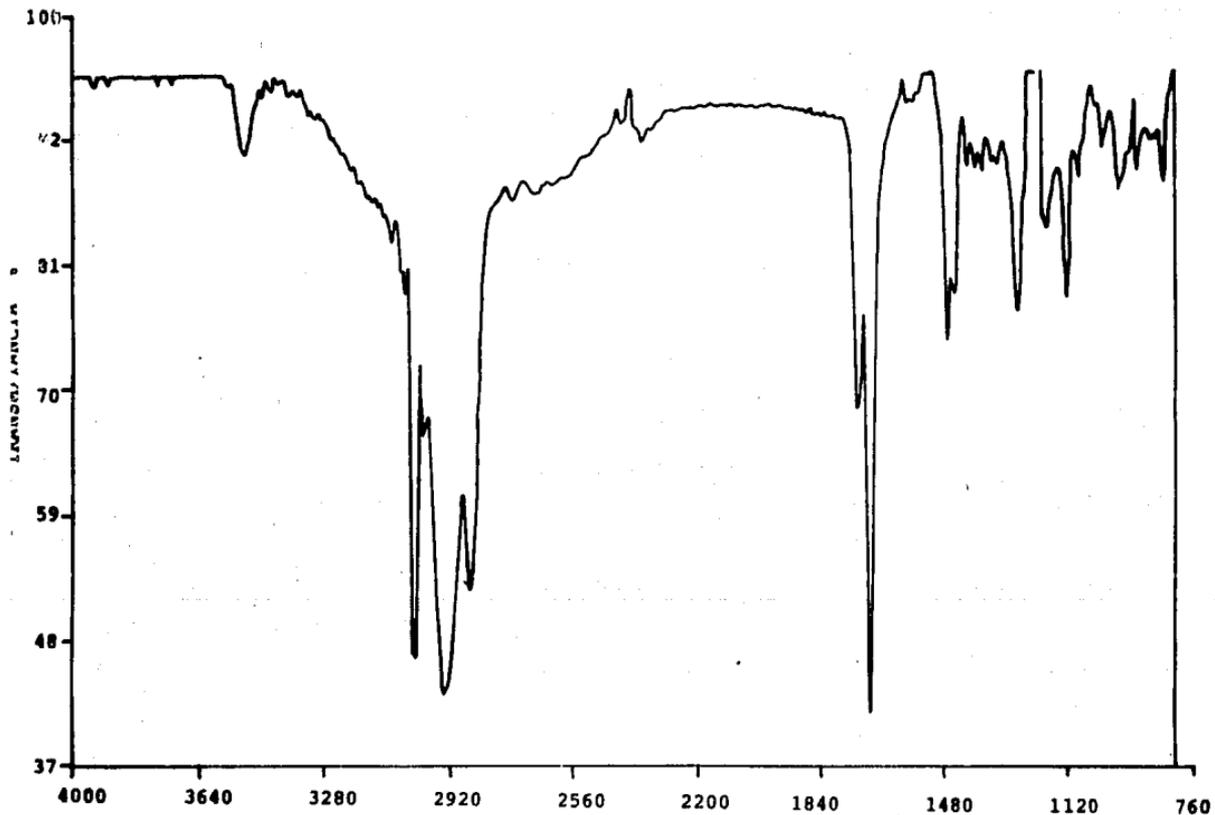


FIGURA XIII

ESPECTRO DE R.M.N. DEL PRODUCTO IB-3

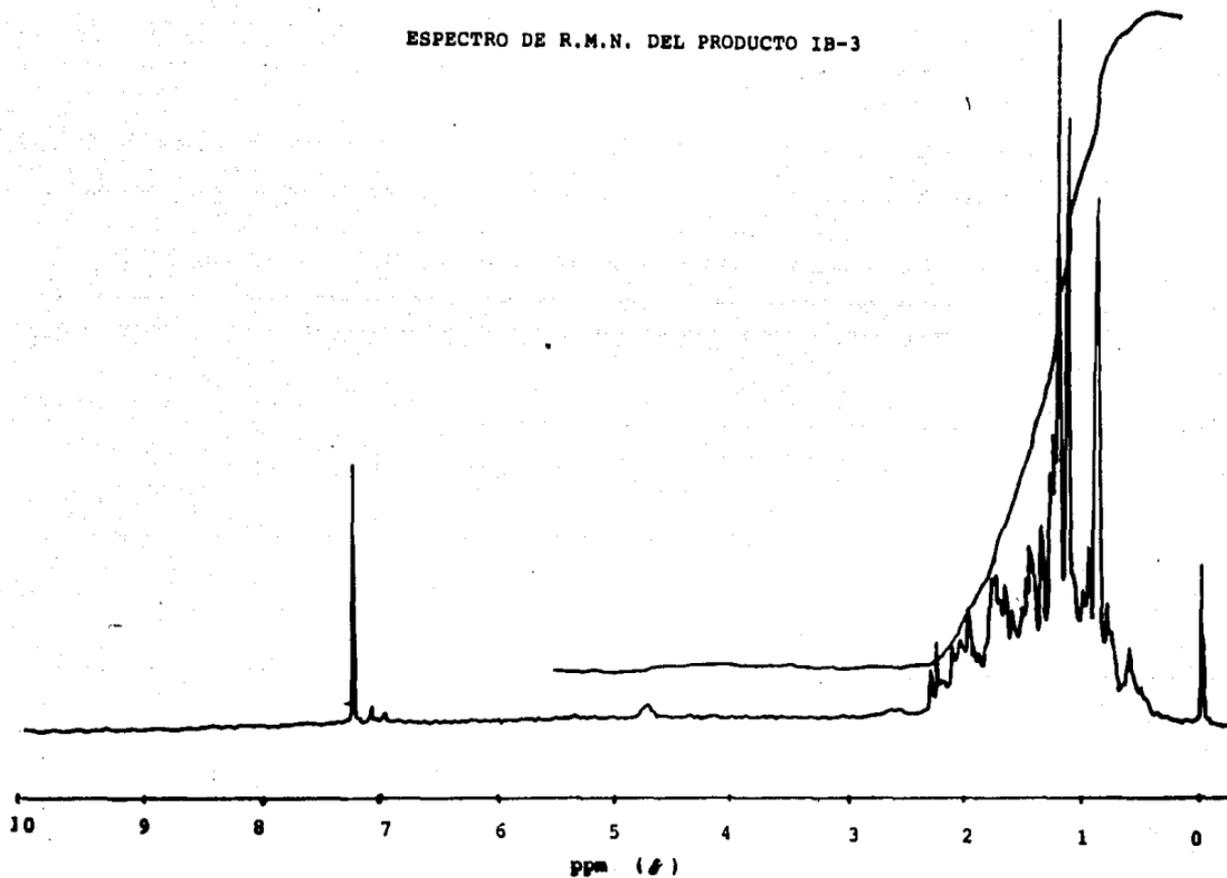


FIGURA XIV

ESPECTRO DE MASAS DEL PRODUCTO IB-3

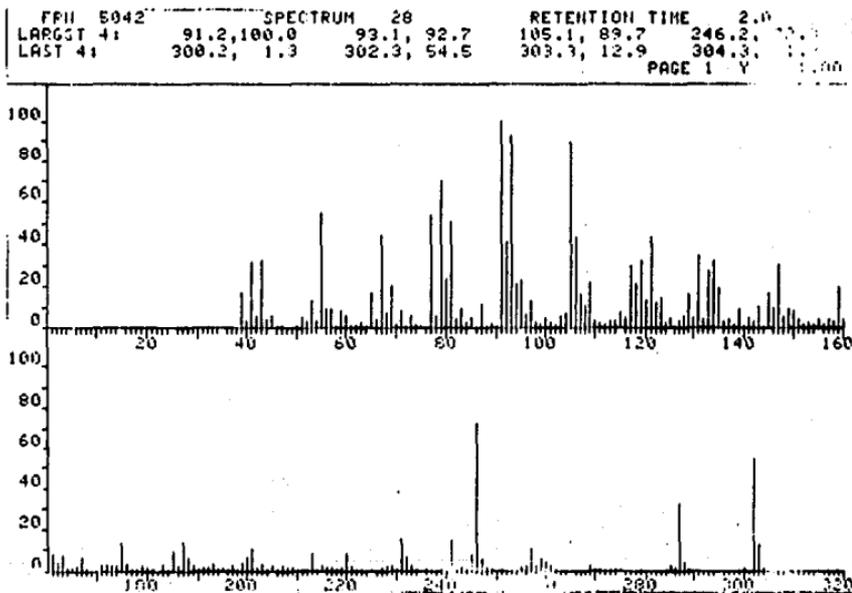
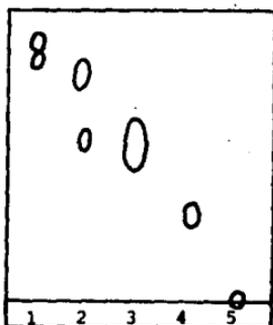


FIGURA XV

SEPARACION DE COMPUESTOS POR CROMATOGRAFIA DE ALTA RESOLUCION



IC

INFLORESCENCIA

FRACCION 97 - 112

ELUYENTE: HEXANO:AcOEt 85:15

FIGURA XVI

ESPECTRO EN EL U.V. DEL PRODUCTO IC-1

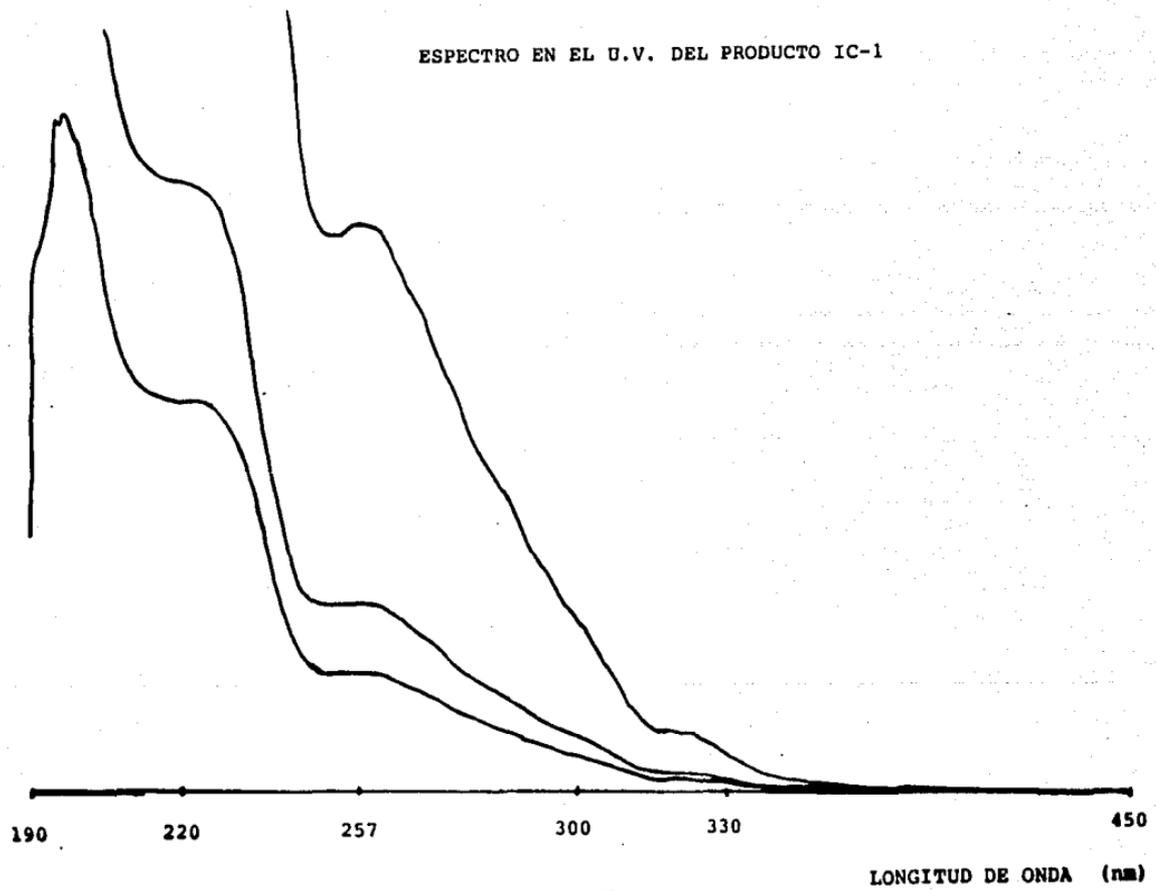


FIGURA XVII

ESPECTRO EN EL I.R. DEL PRODUCTO IC-1

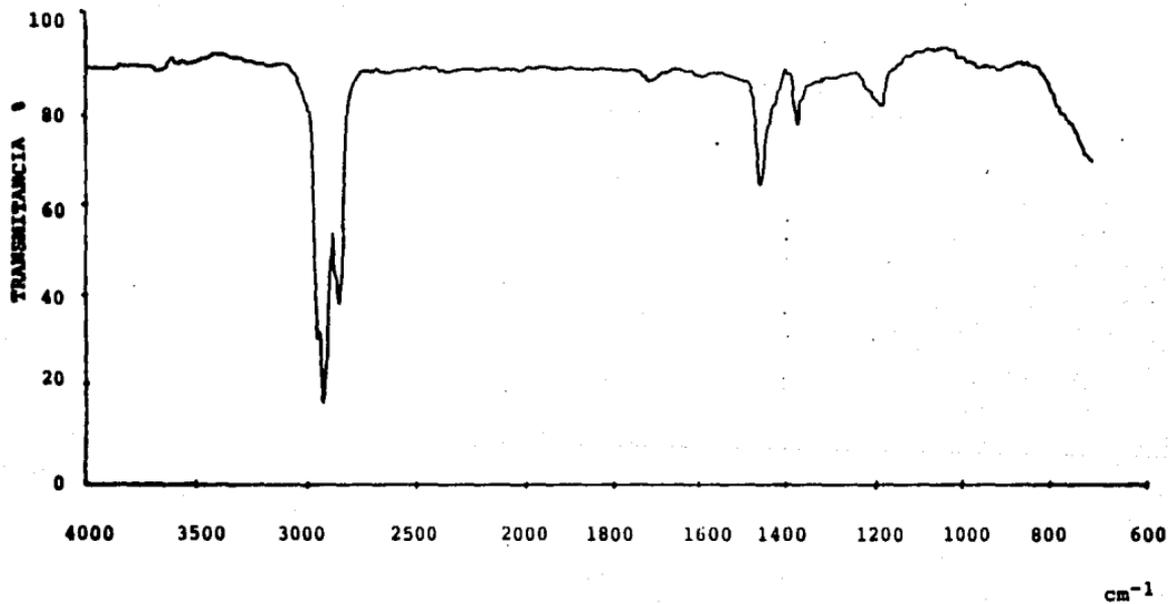


FIGURA XVIII

ESPECTRO DE R.M.N. DEL PRODUCTO IC-1

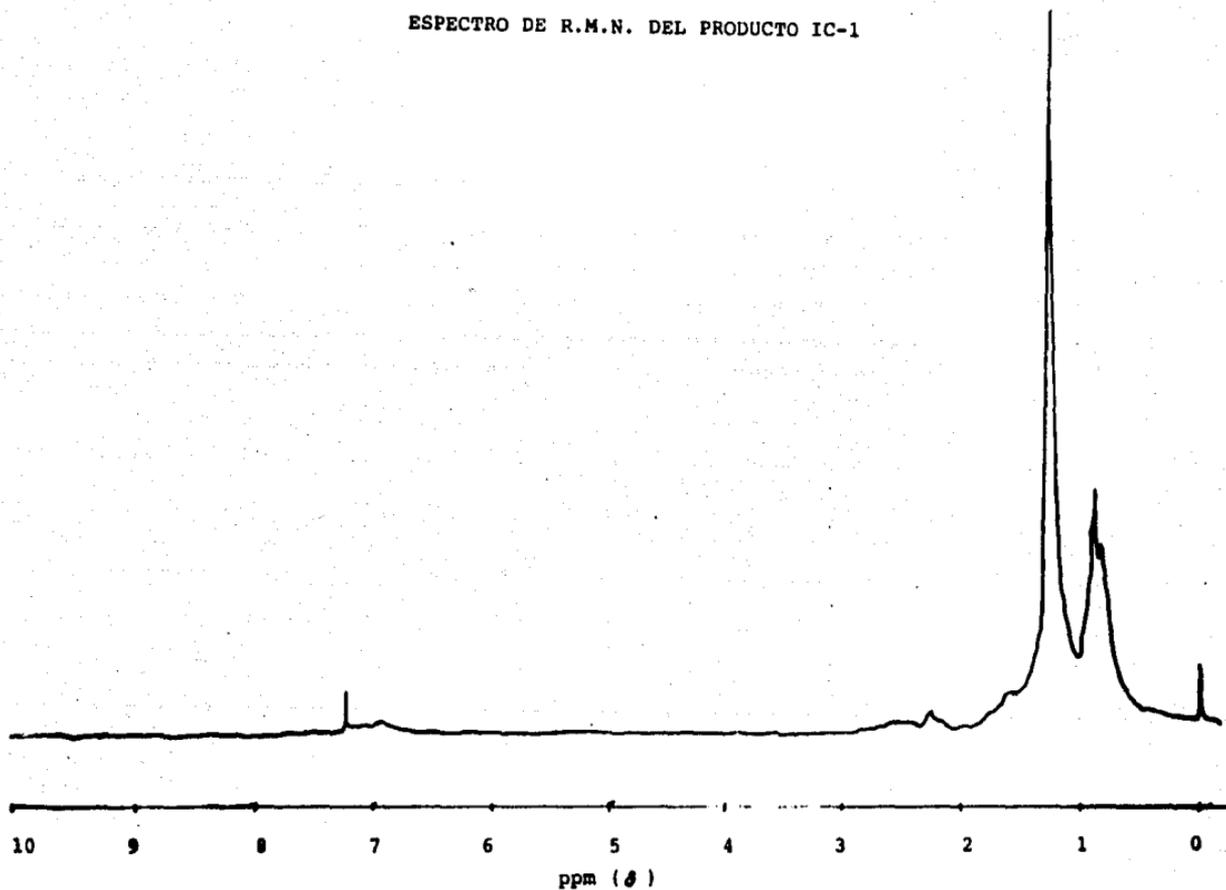


FIGURA XIX

ESPECTRO DE MASAS DEL PRODUCTO IC-1

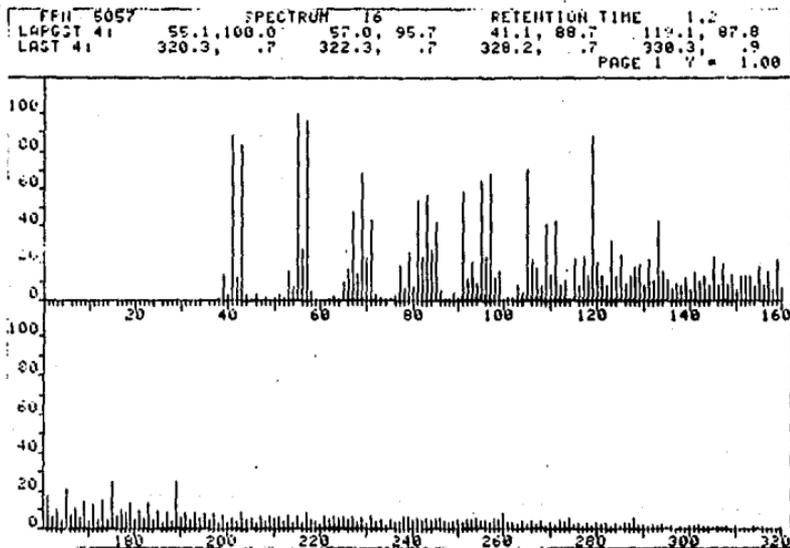


FIGURA XX

ESPECTRO EN EL U.V. DEL PRODUCTO IC-3

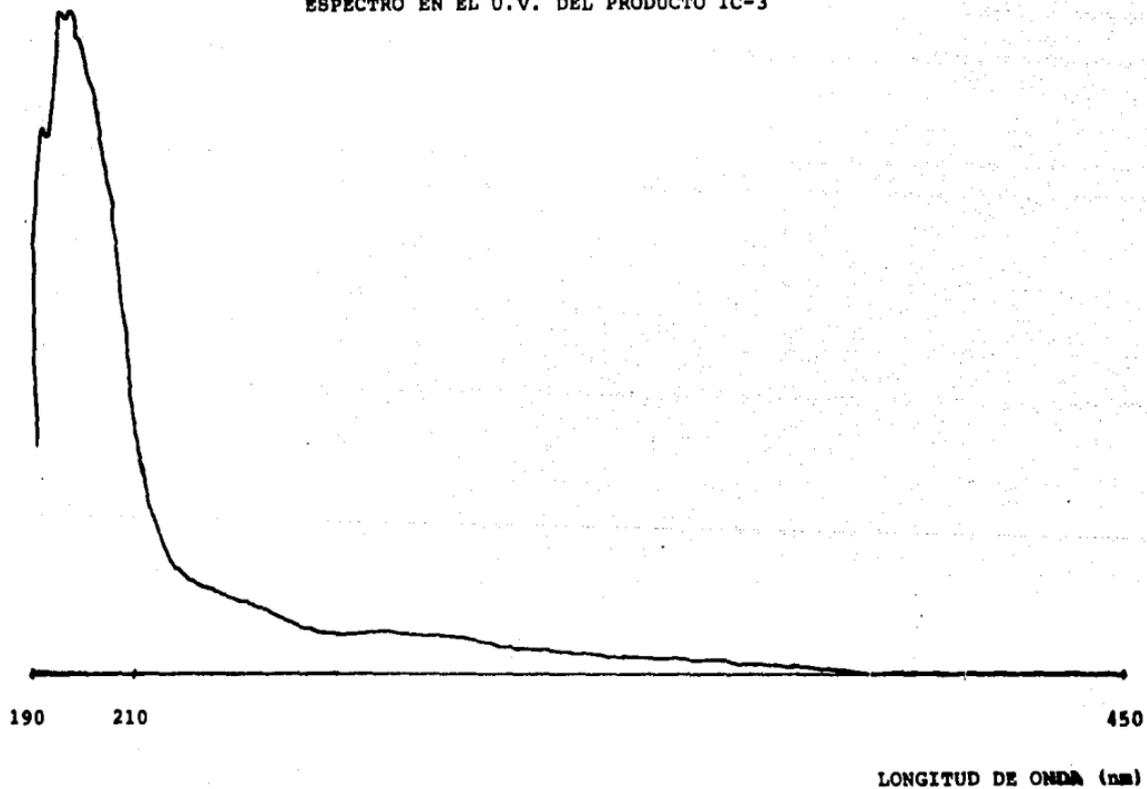


FIGURA XXI

ESPECTRO EN EL I.R. DEL PRODUCTO IC-3

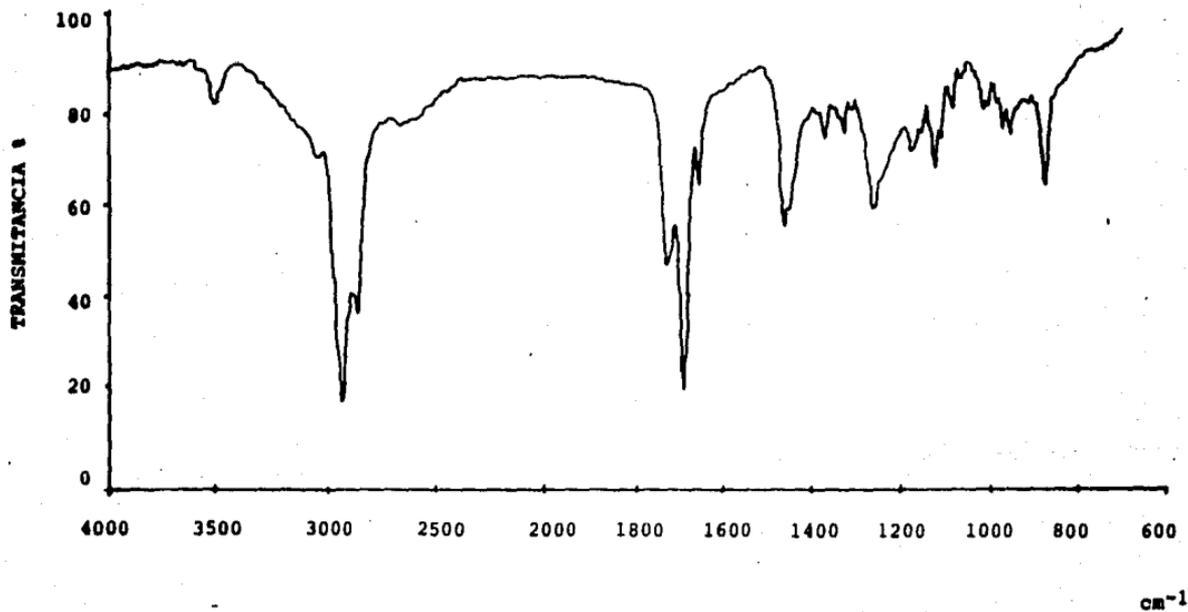


FIGURA XXII

ESPECTRO DE R.M.N. DEL PRODUCTO IC-3

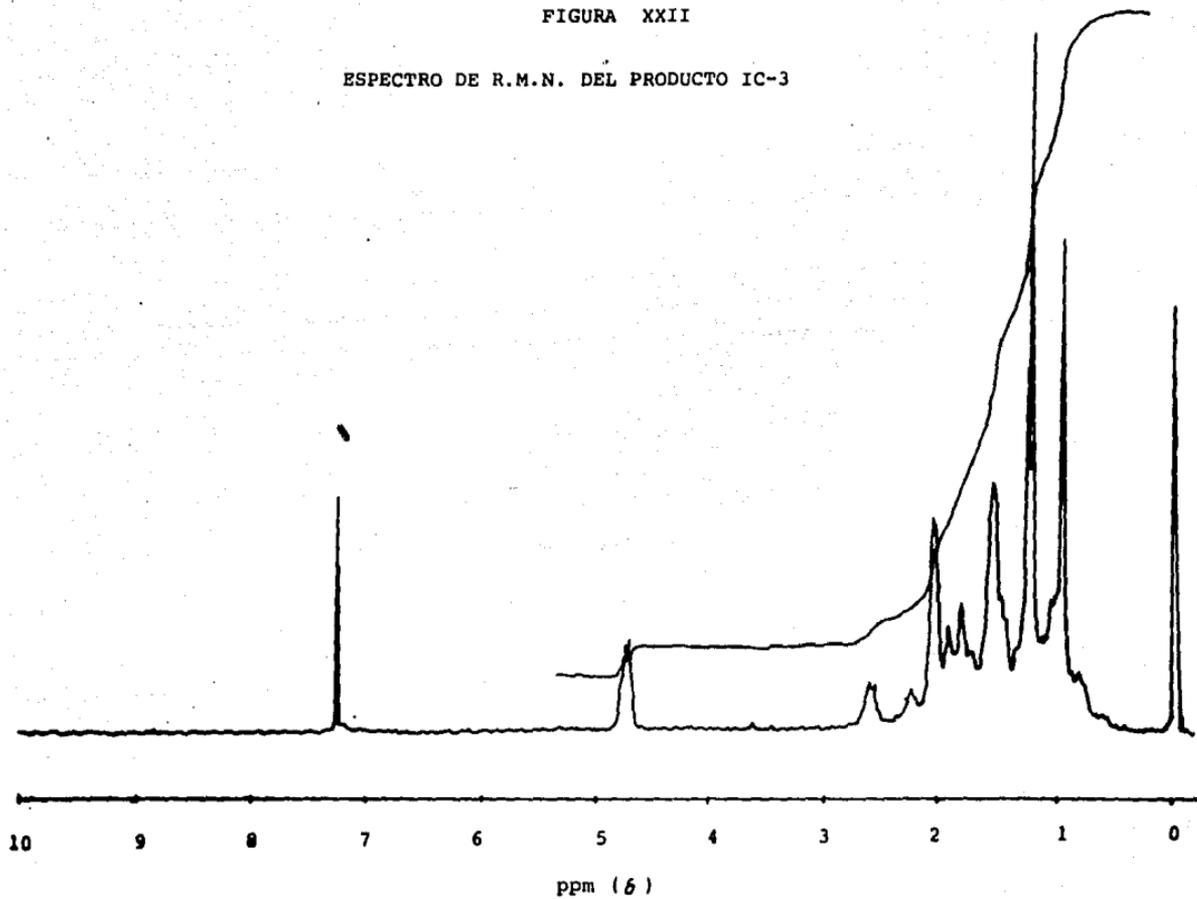


FIGURA XXIII

ESPECTRO DE MASAS DEL PRODUCTO IC-3

FRI: 163	SPECTRUM 46		RETENTION TIME 3.2	
LARGES: 100.0	91.1, 100.0	79.1, 62.1	131.1, 61.4	105.1, 59.2
LAST 4:	302.2, 41.1	303.1, 8.9	304.2, 1.2	305.1, .3
			PAGE 1	Y = 1.00

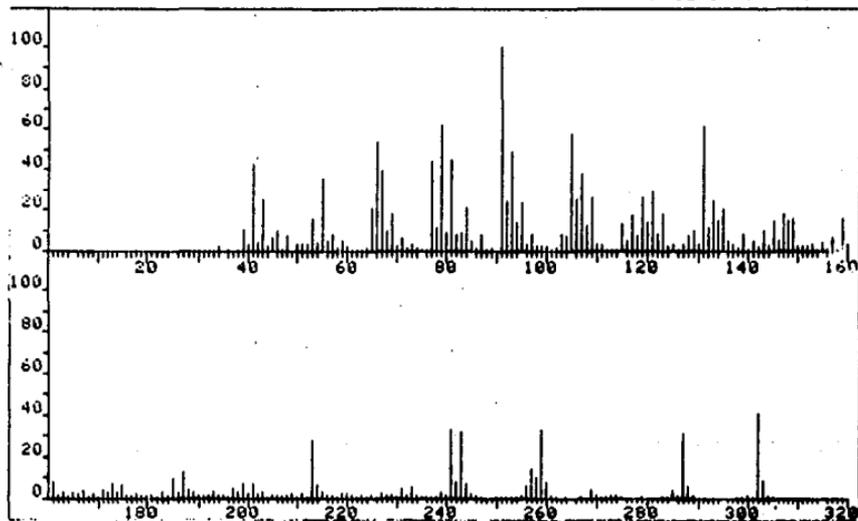


FIGURA XXIV

ESPECTRO EN EL U.V. DEL PRODUCTO IC-4

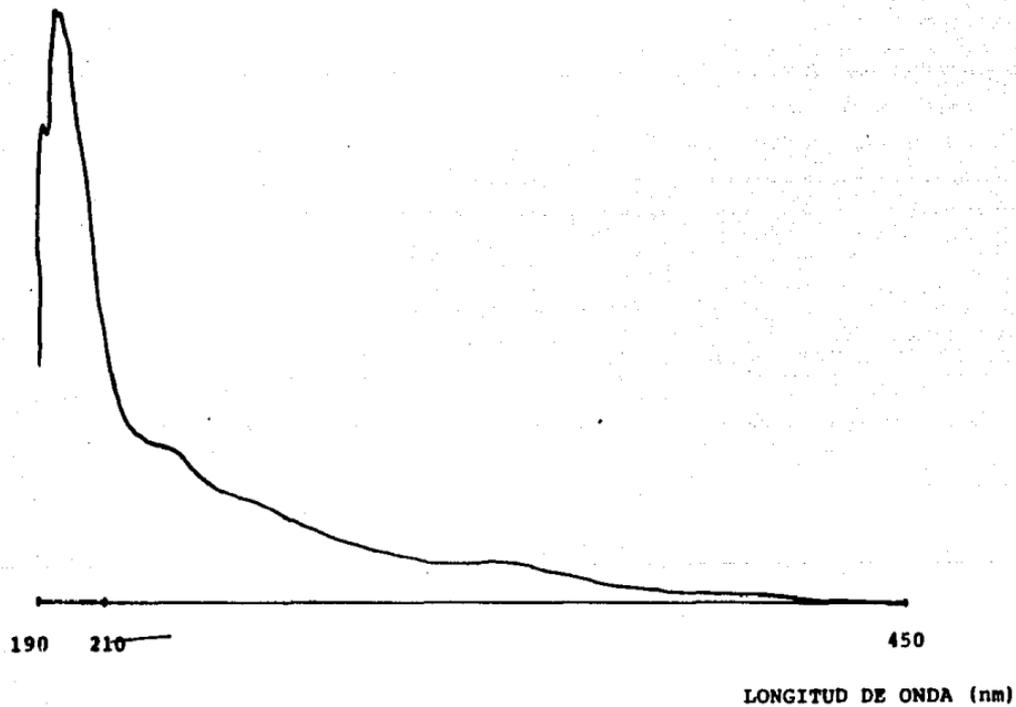


FIGURA XXV

ESPECTRO EN EL I.R. DEL PRODUCTO IC-4

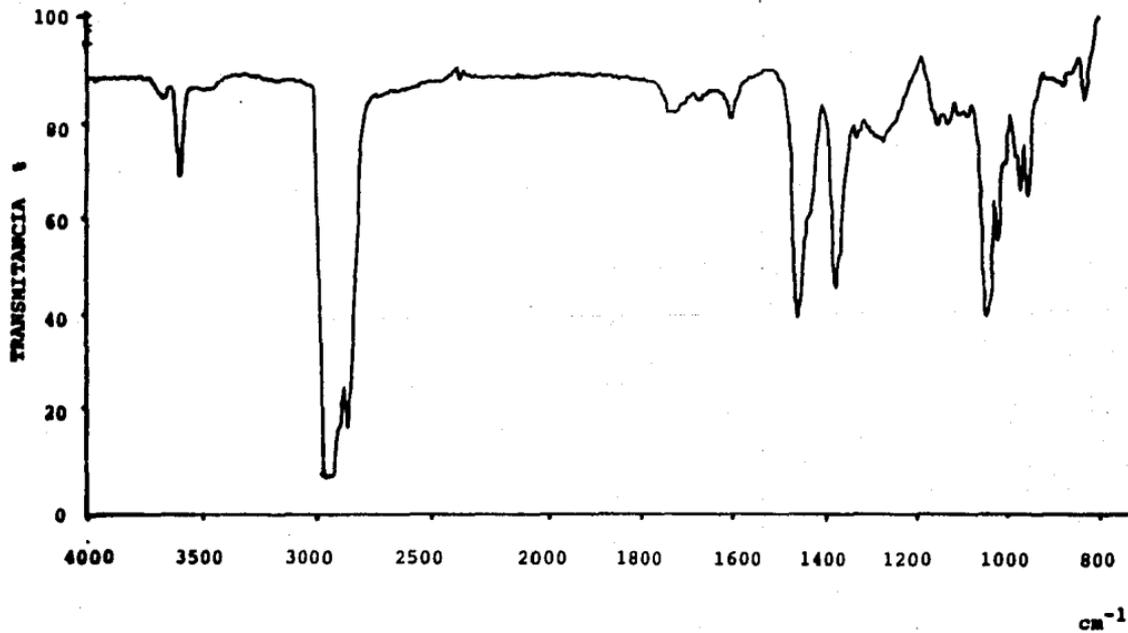


FIGURA XXVI

ESPECTRO DE R.M.N. DEL PRODUCTO IC-4

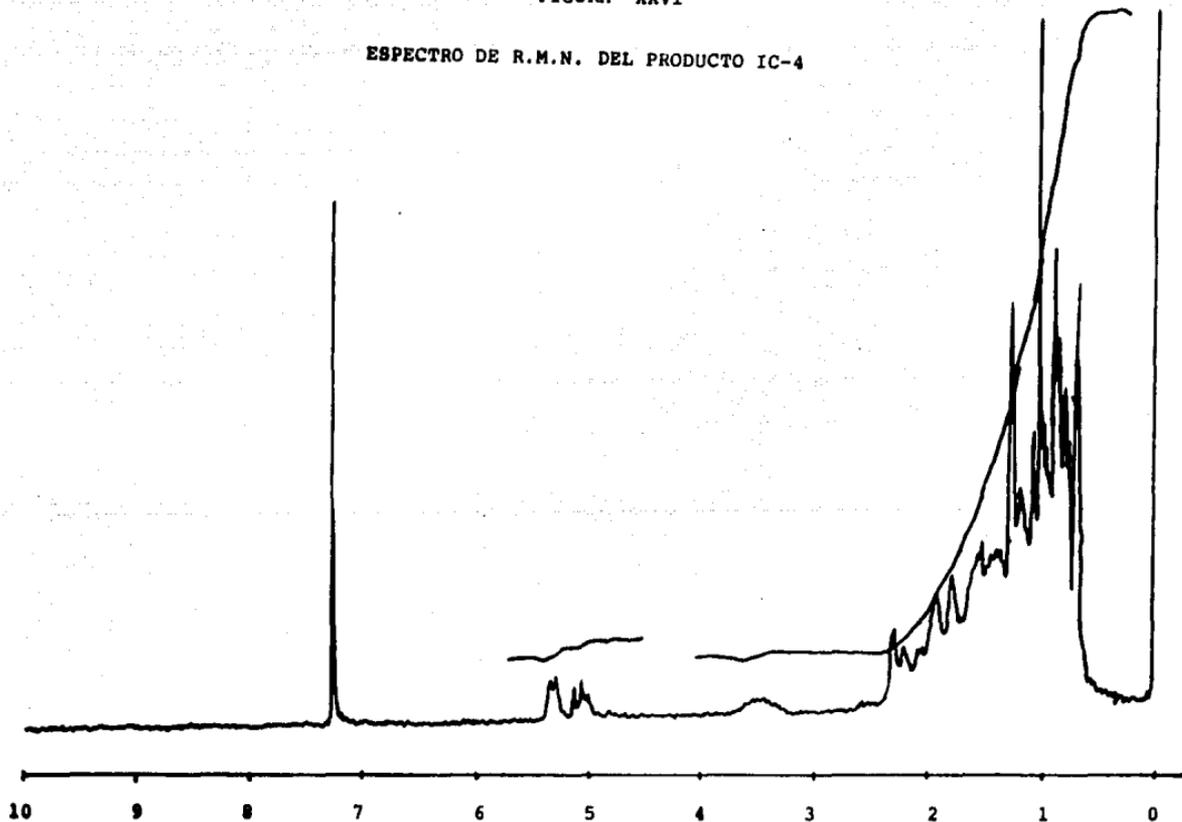
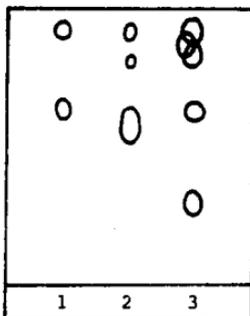


FIGURA XXVIII

SEPARACION DE COMPUESTOS POR CROMATOGRAFIA DE ALTA RESOLUCION

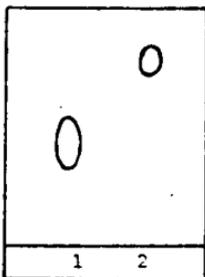


PA

PARTE AEREA

FRACCION 1 - 34

ELUYENTE: HEXANO:AcOEt 9:1



PB

PARTE AEREA

FRACCION 35 - 80

ELUYENTE: HEXANO:AcOEt 6:4

FIGURA XXIX

ESPECTRO EN EL U.V. DEL PRODUCTO PA-1

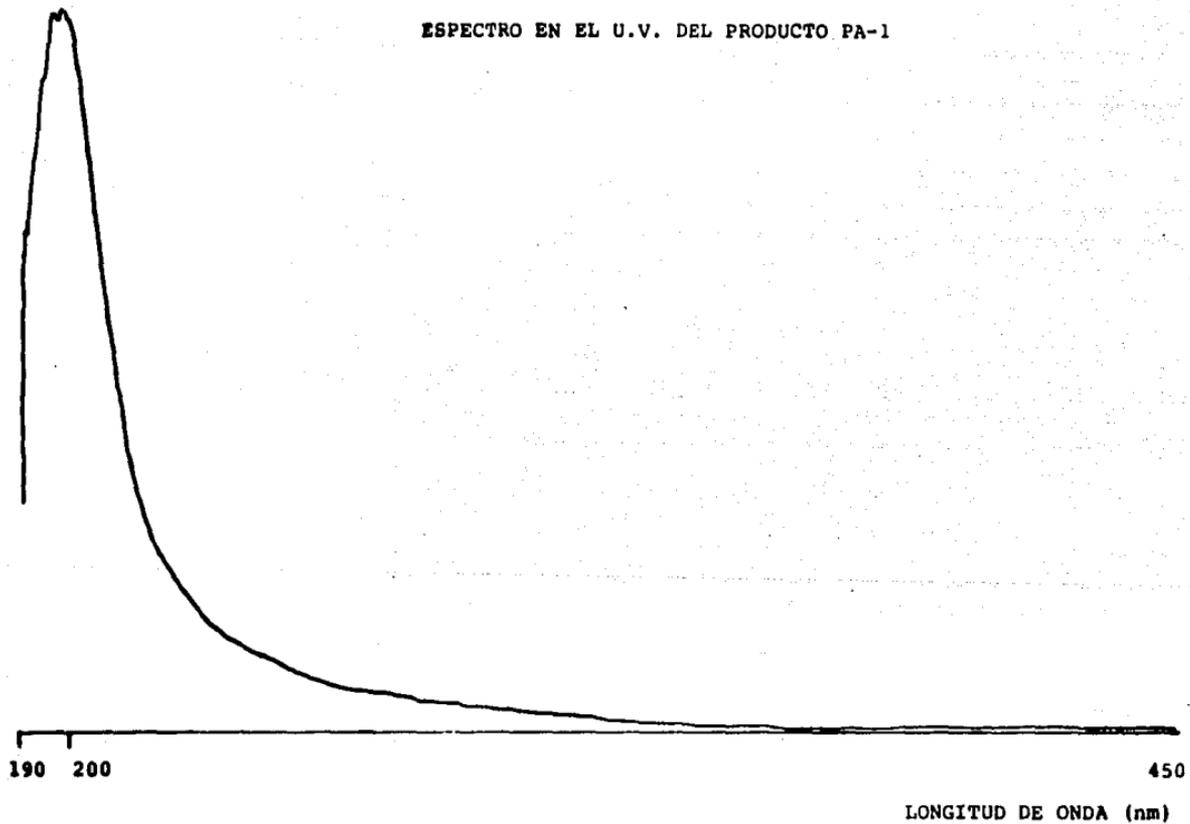


FIGURA XXX

ESPECTRO EN EL I.R. DEL PRODUCTO PA-1

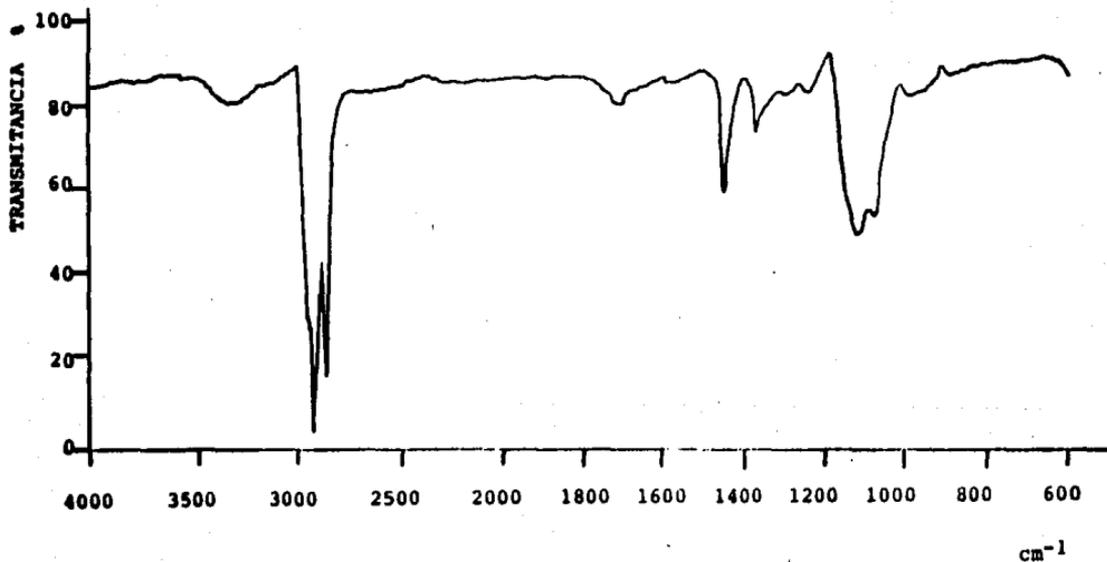


FIGURA XXXI

ESPECTRO DE R.M.N. DEL PRODUCTO PA-1

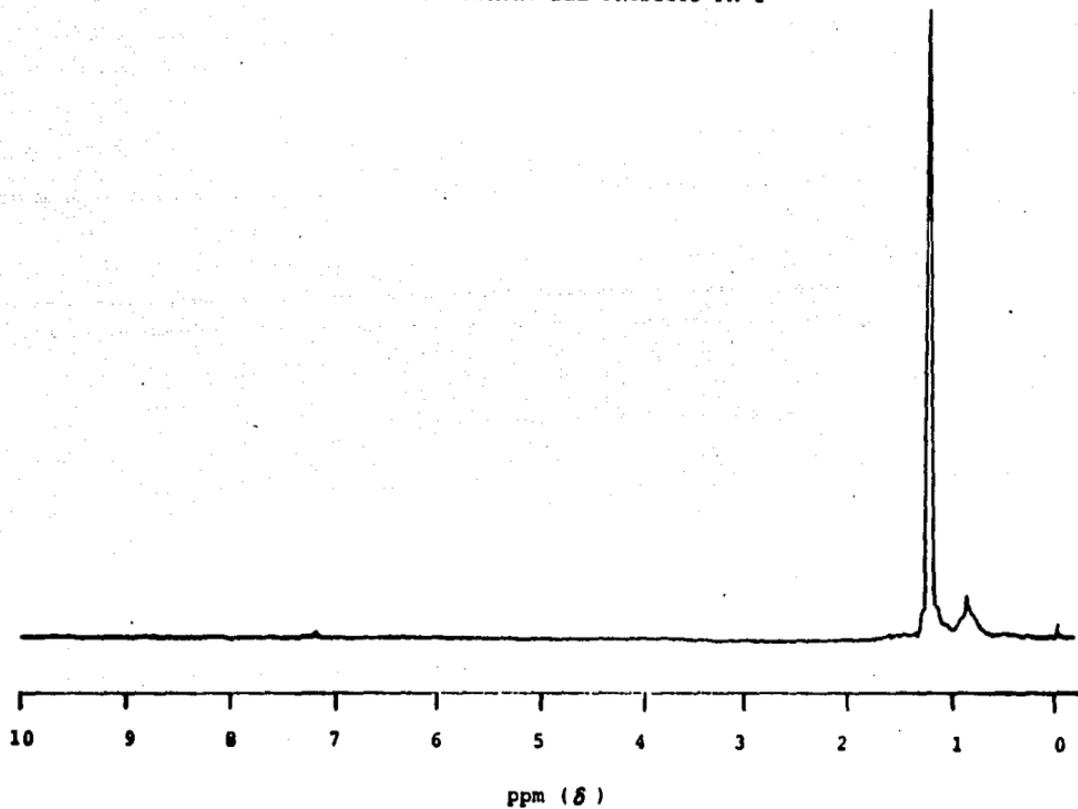


FIGURA XXXII

ESPECTRO DE MASAS DEL PRODUCTO PA-1

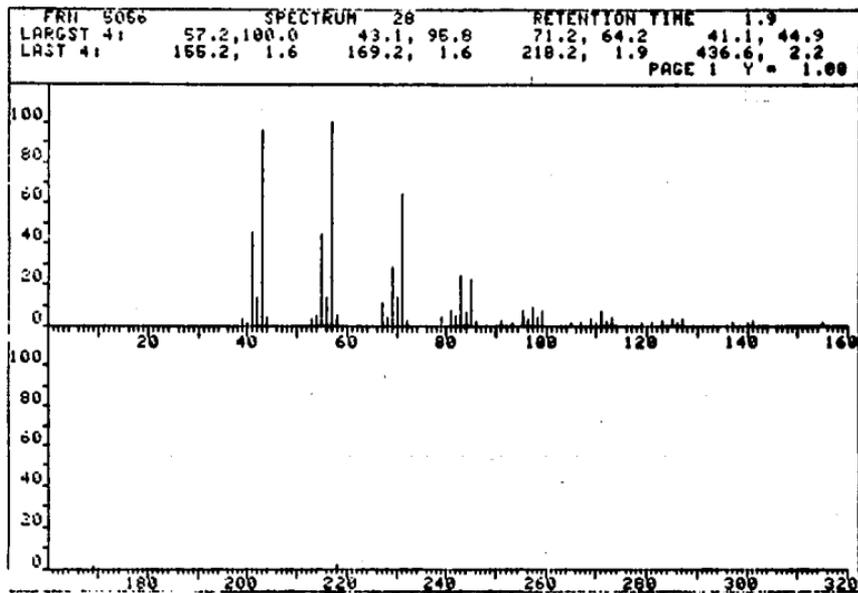


FIGURA XXXIII

ESPECTRO EN EL U.V. DEL PRODUCTO PB-1

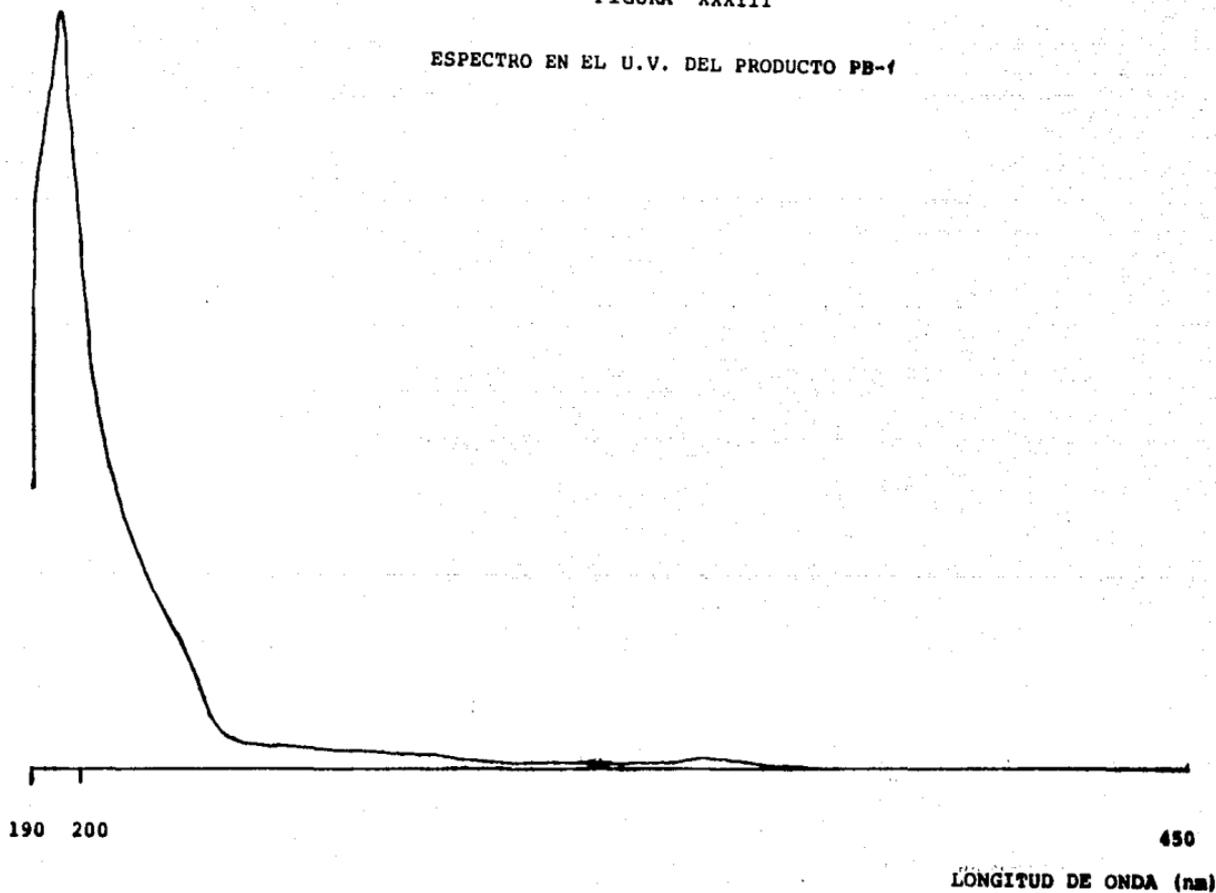


FIGURA XXXIV .

ESPECTRO EN EL I.R. DEL PRODUCTO PB-1

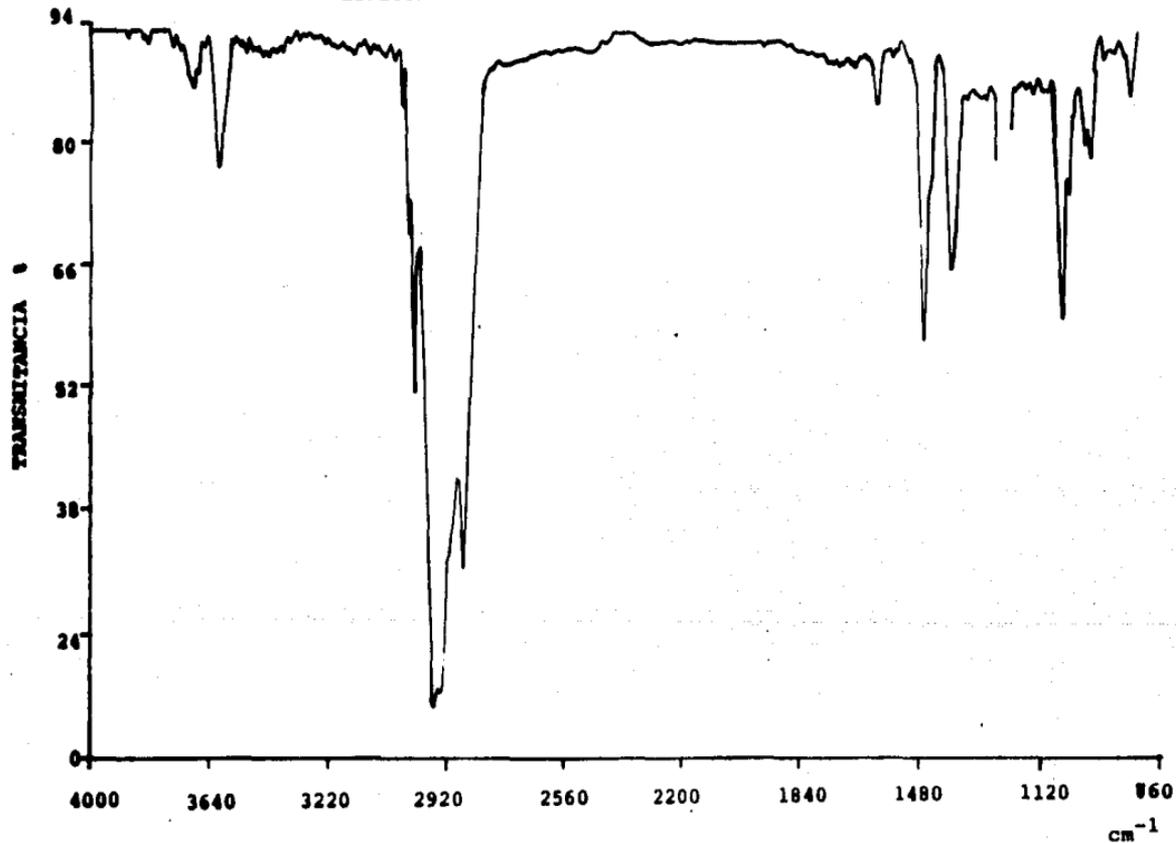


FIGURA XXXV

ESPECTRO DE R.M.N. DEL PRODUCTO PB-1

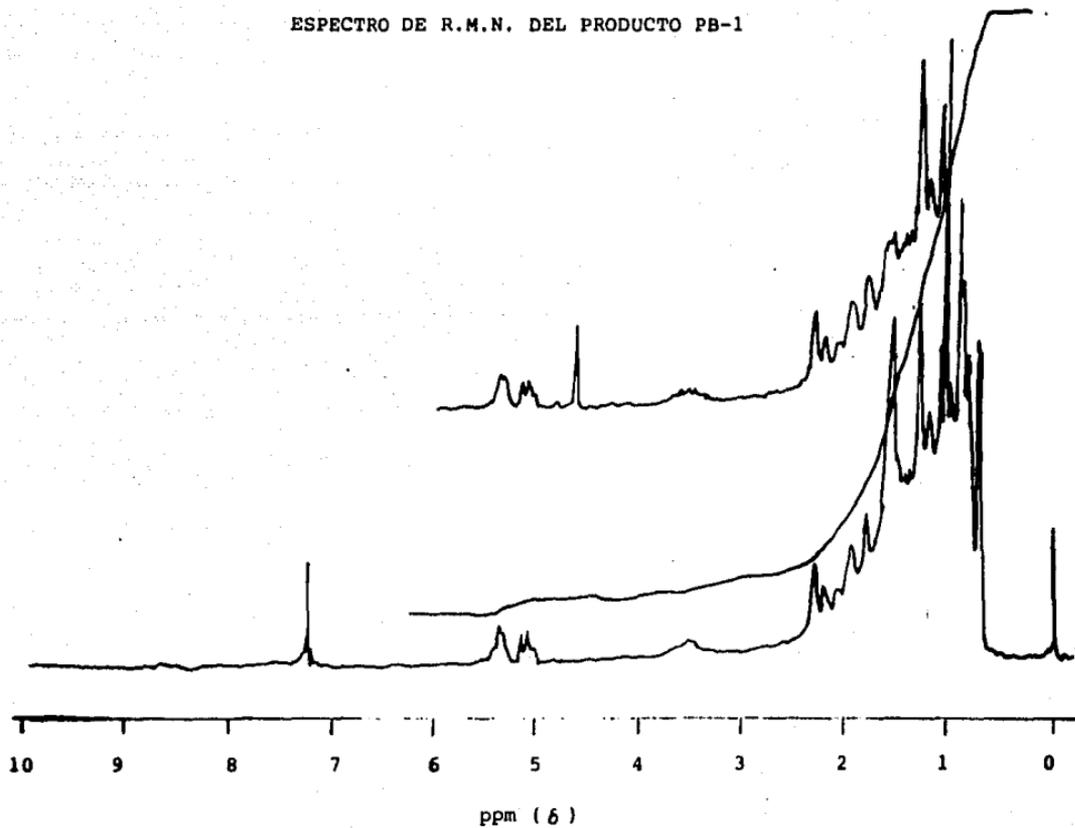


FIGURA XXXVI

ESPECTRO DE MASAS DEL PRODUCTO PB-1

REF: 5061	SPECTRUM 22	RETENTION TIME 1.6
LOST 4: 55.1, 100.0	61.2, 65.5	91.2, 64.1
LOST 4: 414.5, 21.0	415.4, 7.2	416.4, 1.6
		43.1, 63.5
		417.4, .E
		PAGE 1 N = 1.00

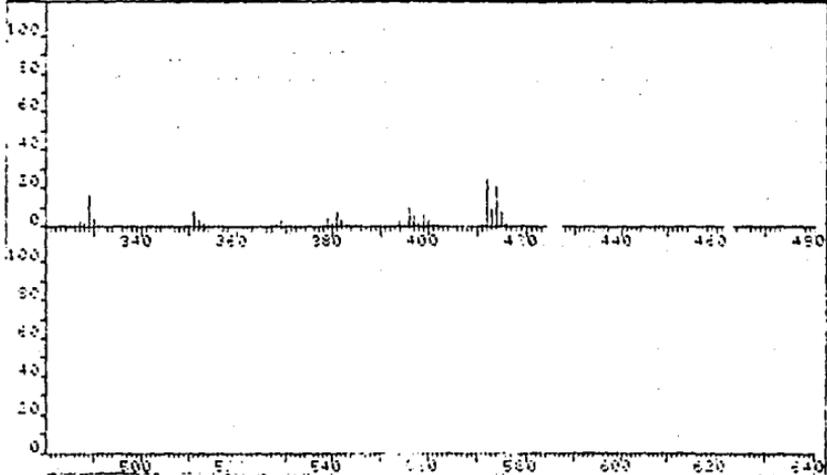
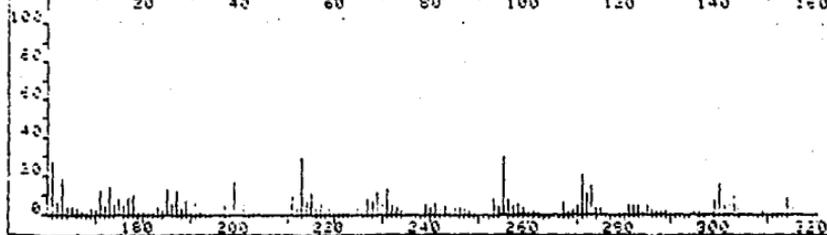
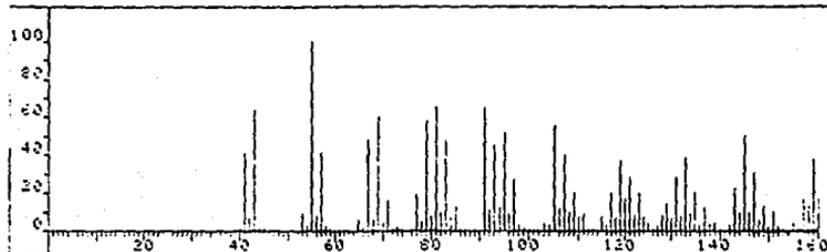
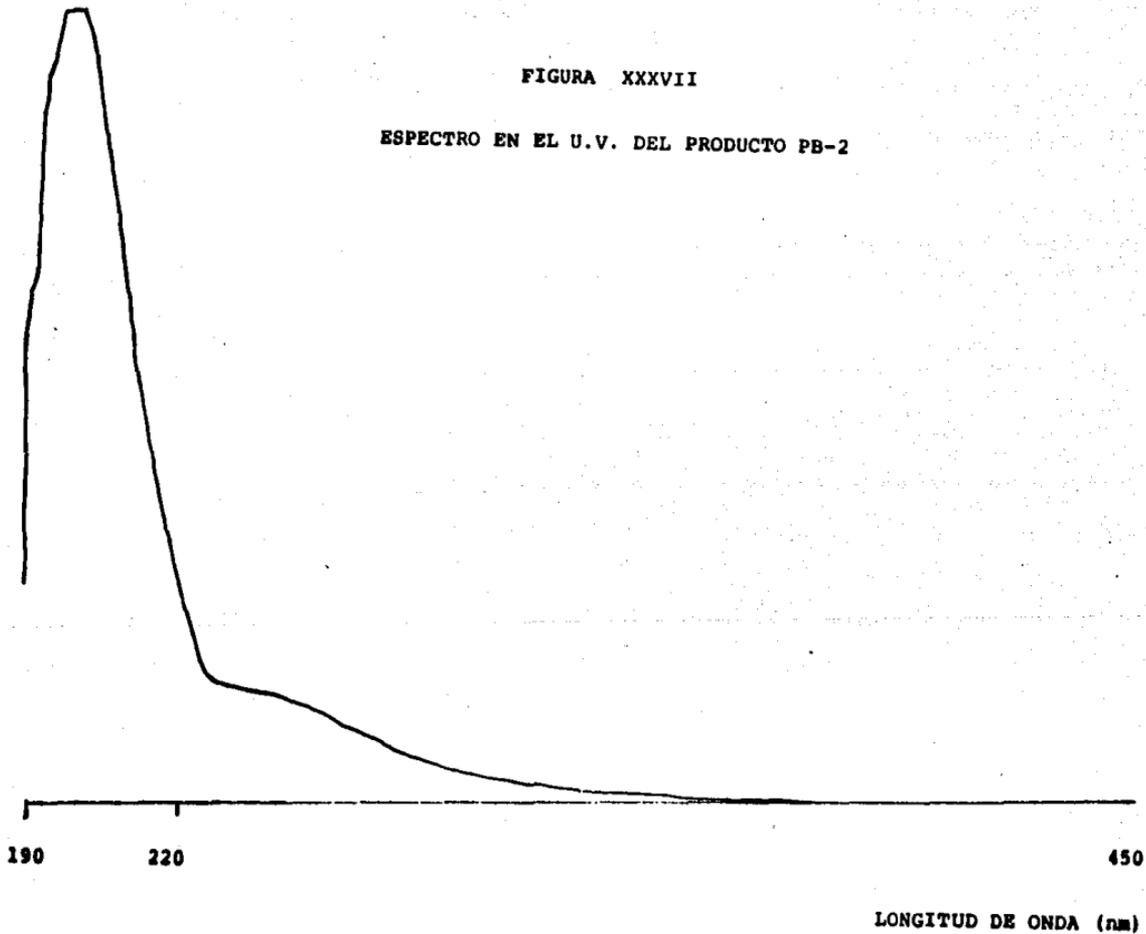


FIGURA XXXVII

ESPECTRO EN EL U.V. DEL PRODUCTO PB-2



ESPECTRO EN EL I.R. DEL PRODUCTO PB-2

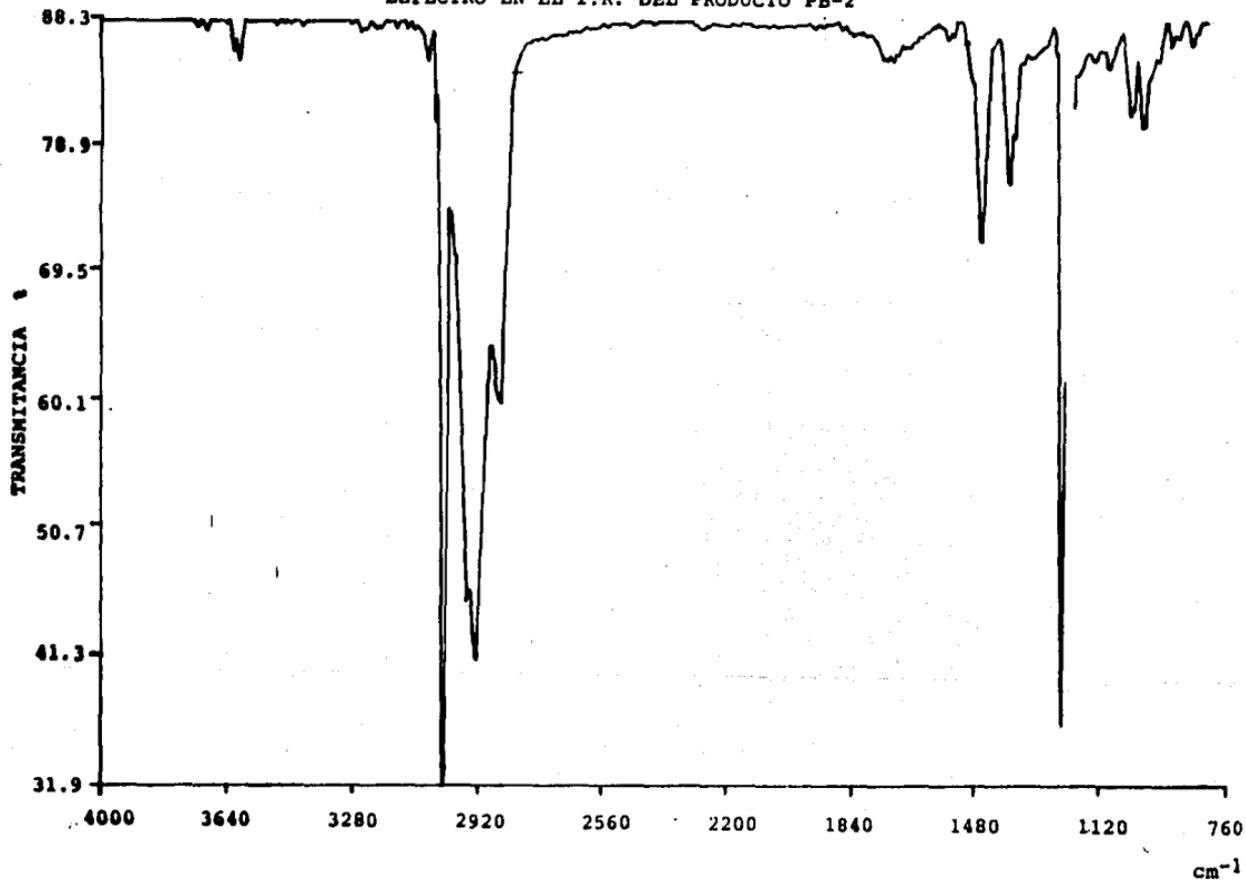


FIGURA XXXIX

ESPECTRO DE R.M.N. DEL PRODUCTO PB-2

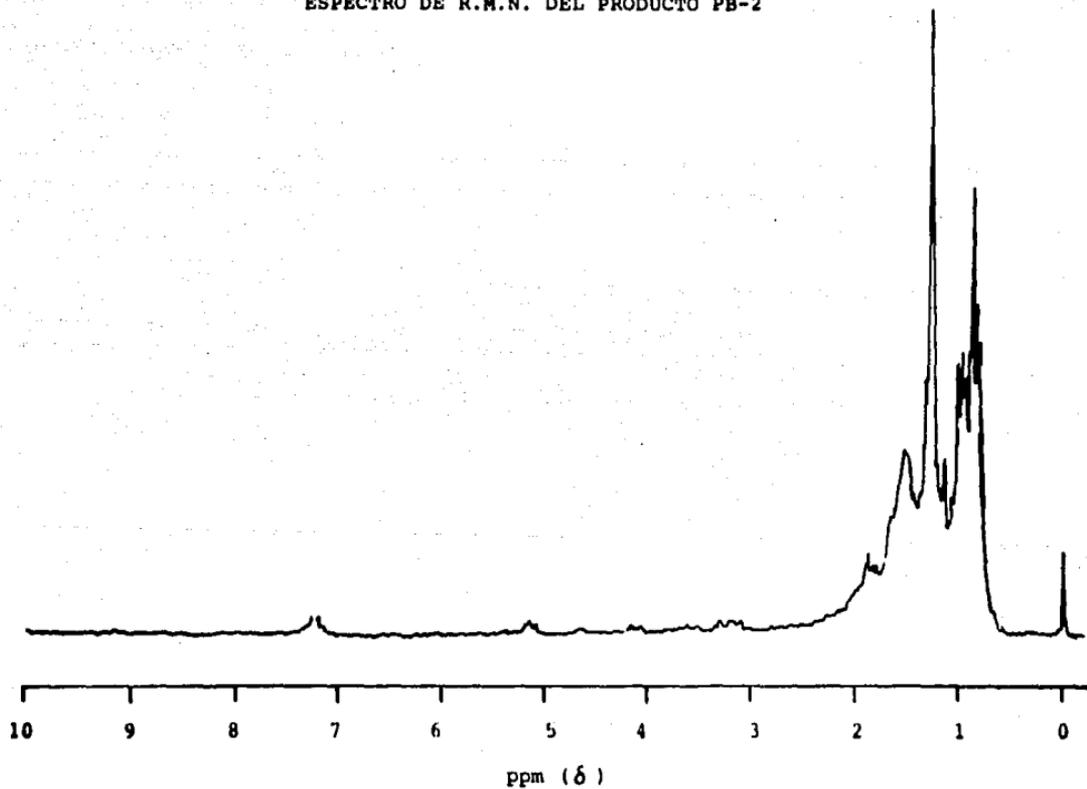
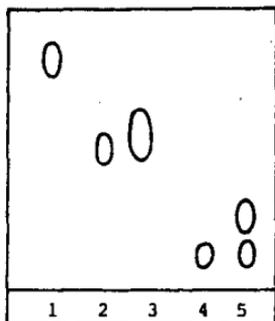


FIGURA XLI

SEPARACION DE COMPUESTOS POR CROMATOGRAFIA DE ALTA RESOLUCION



RA

RAIZ

FRACCION 1 - 24

ELUYENTE: HEXANO:AcOEt 95:5

FIGURA XLII

ESPECTRO EN EL U.V. DEL PRODUCTO RA-1

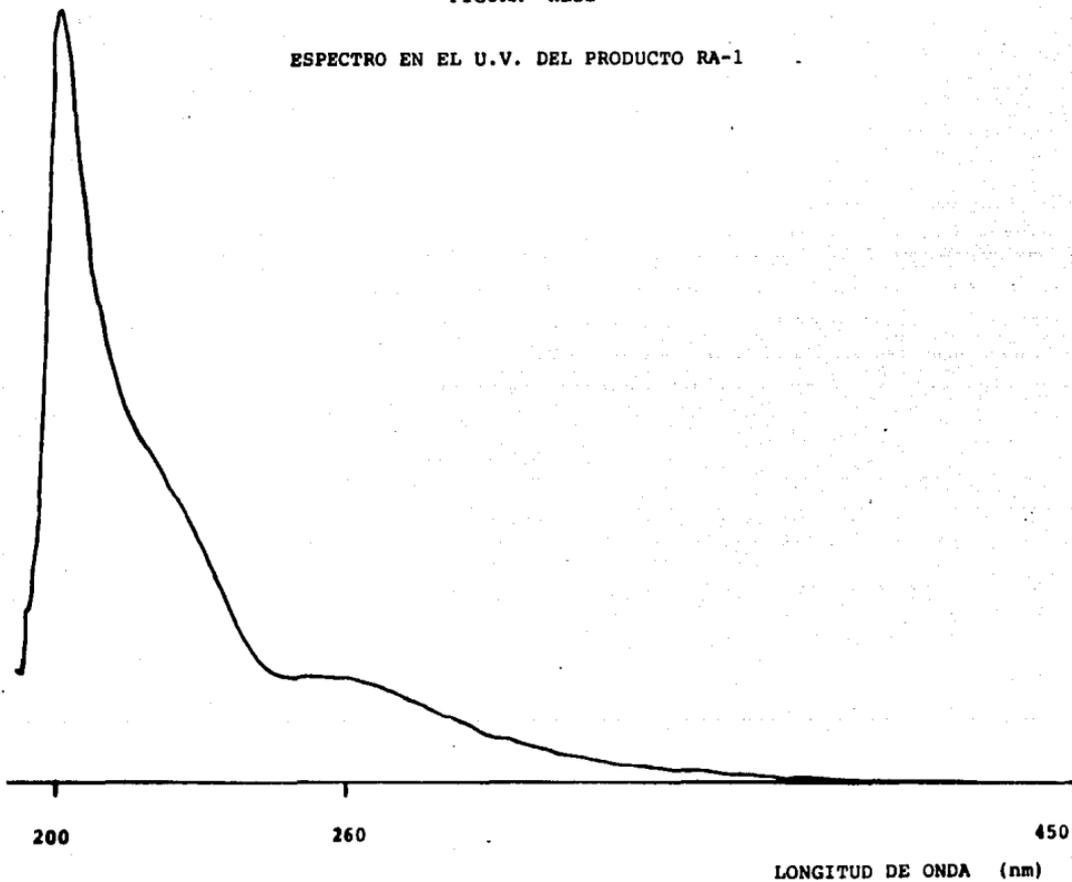


FIGURA XLIII

ESPECTRO EN EL I. R. DEL PRODUCTO RA-1

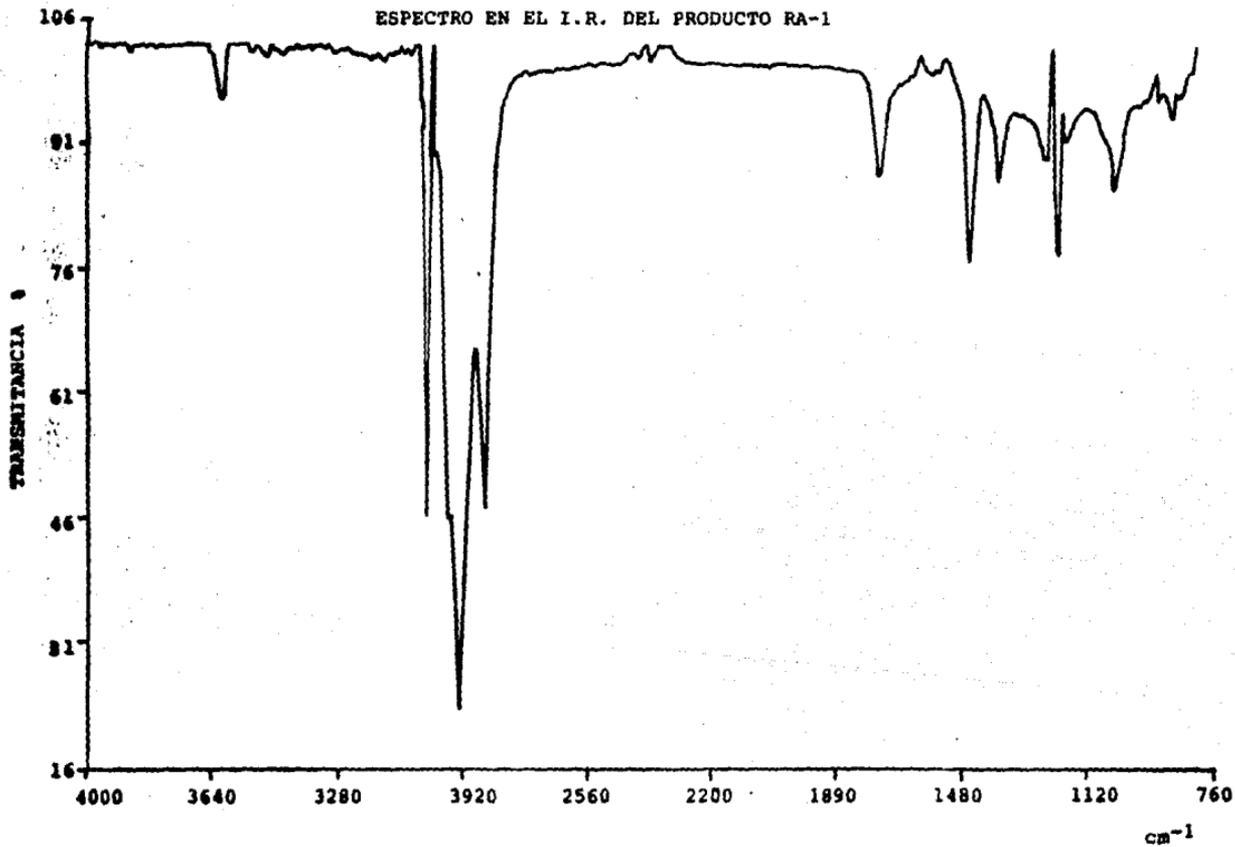


FIGURA XLIV

ESPECTRO DE R.M.N. DEL PRODUCTO RA-1

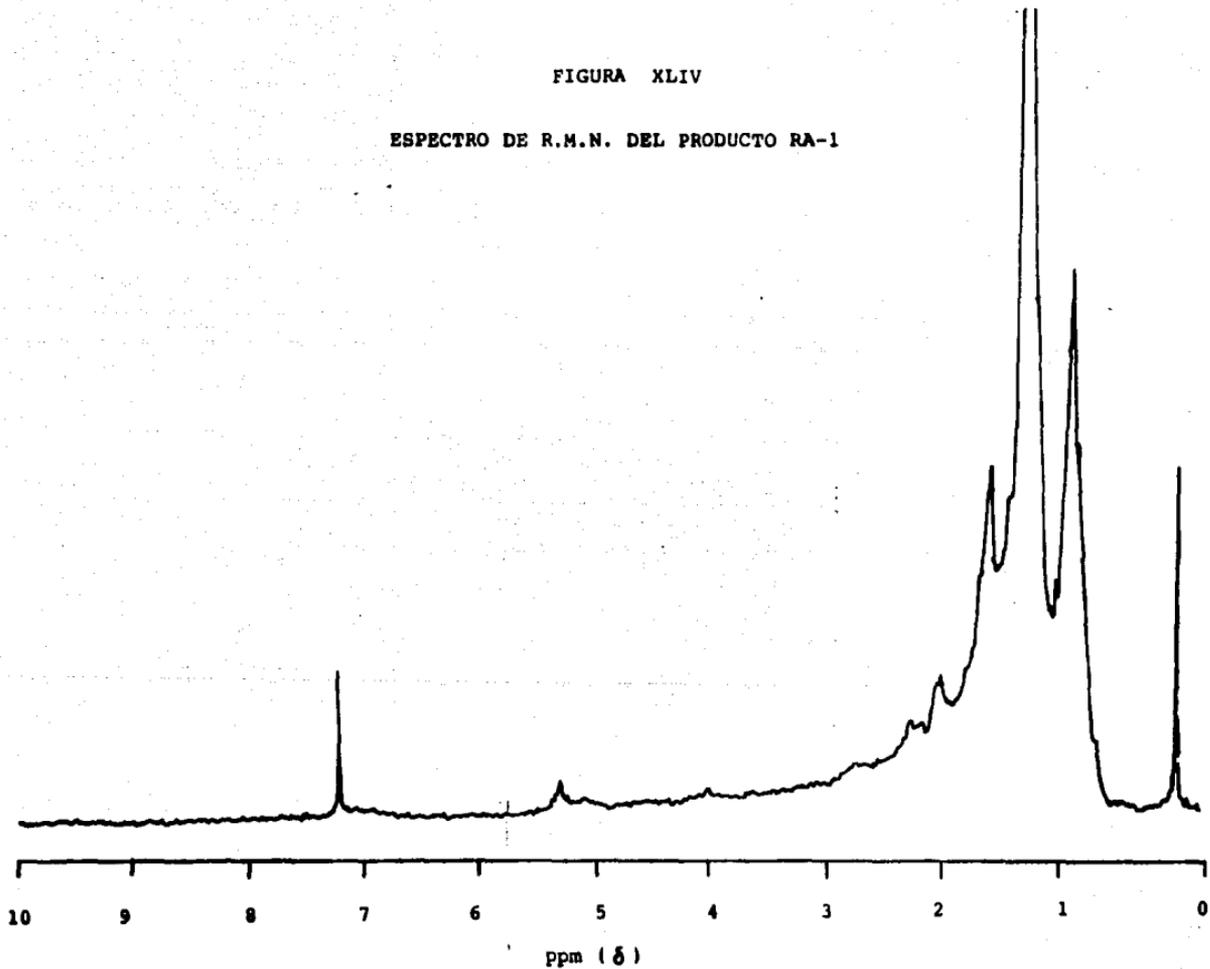


FIGURA XLV

ESPECTRO DE MASAS DEL PRODUCTO RA-1

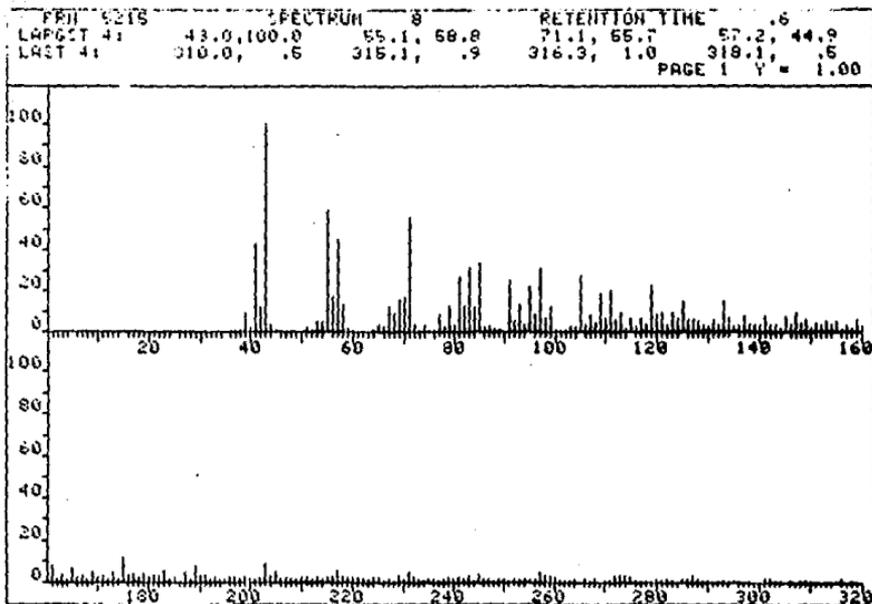


FIGURA XLVI

ESPECTRO EN EL U.V. DEL PRODUCTO RA-3

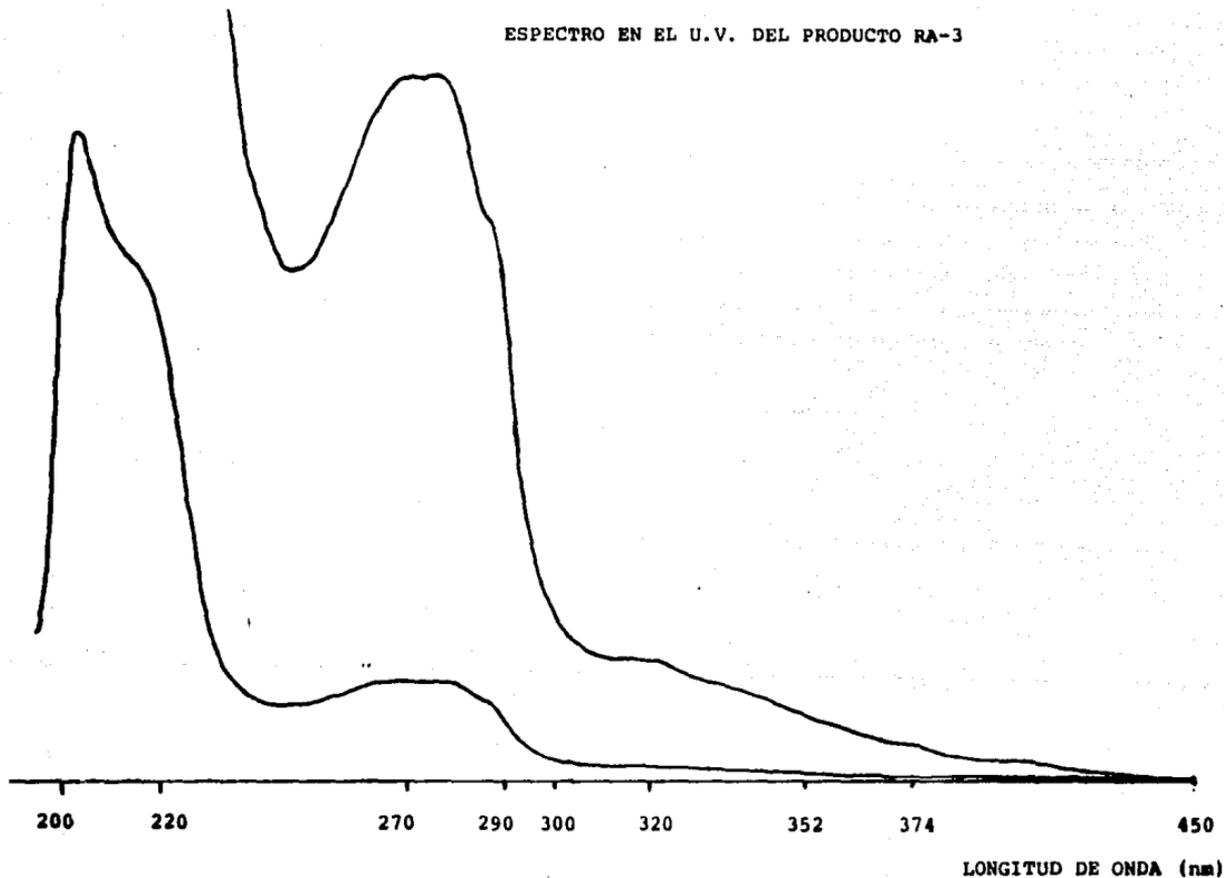


FIGURA XLVII

ESPECTRO EN EL I.R. DEL PRODUCTO RA-3

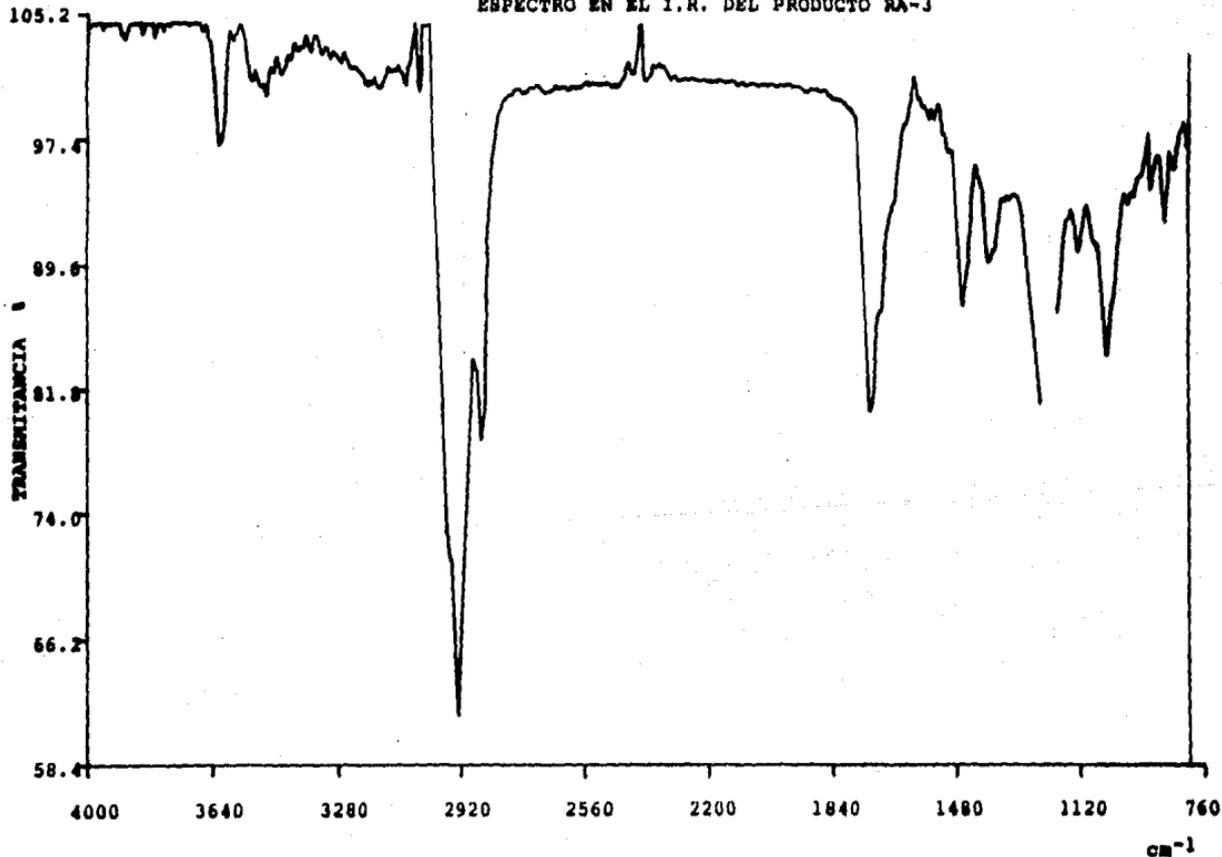


FIGURA XLVIII

ESPECTRO DE MASAS DEL PRODUCTO RA-3

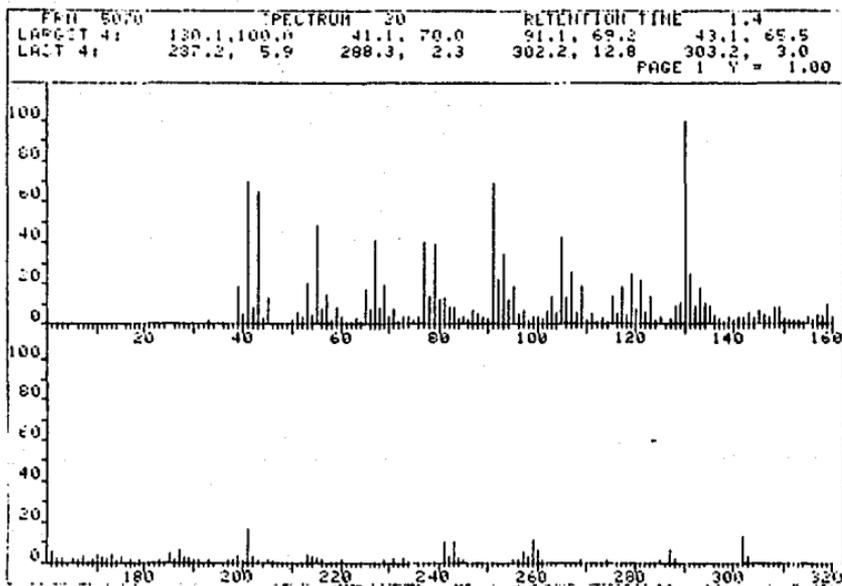


FIGURA XLIX

ESPECTRO EN EL U.V. DEL PRODUCTO RA-4

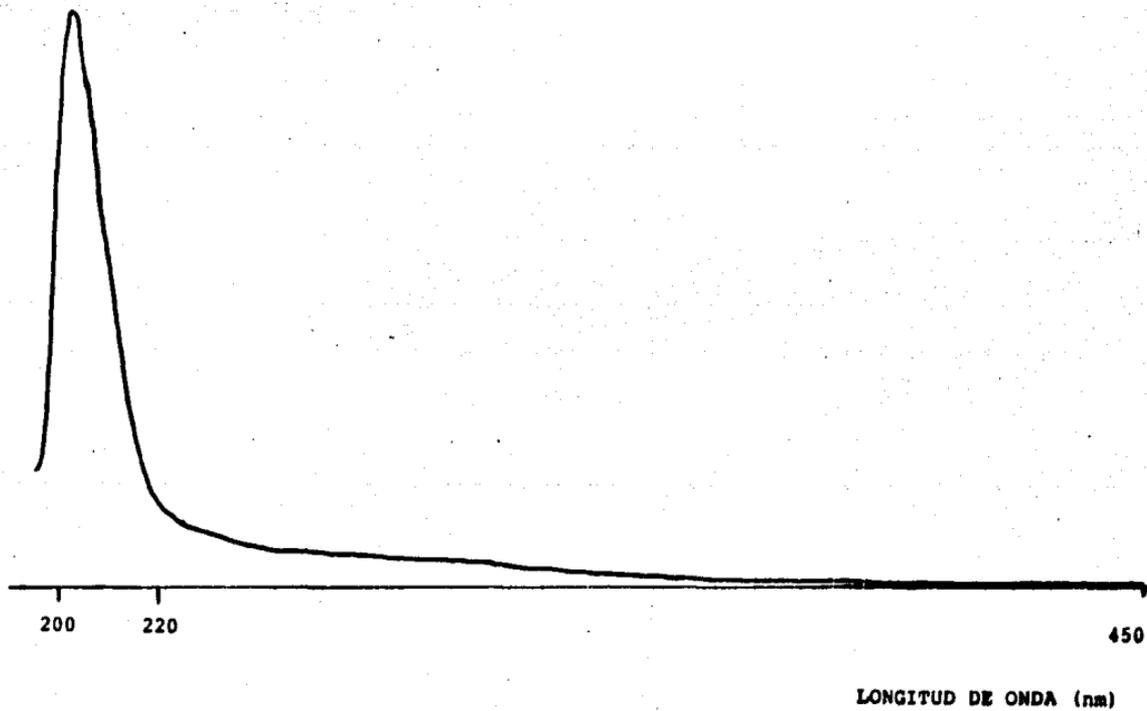


FIGURA L

ESPECTRO EN EL I.R. DEL PRODUCTO RA-4

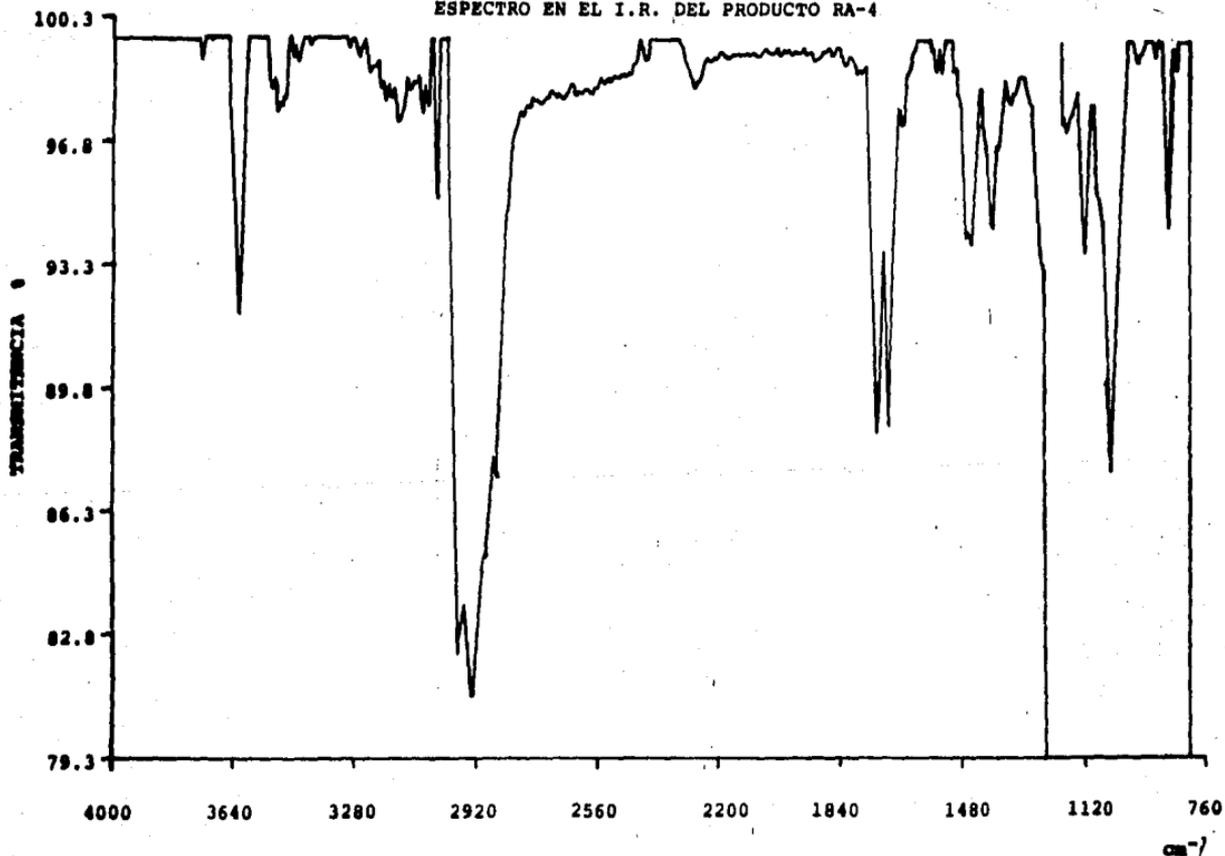


FIGURA LI

ESPECTRO DE R.M.N. DEL PRODUCTO RA-4

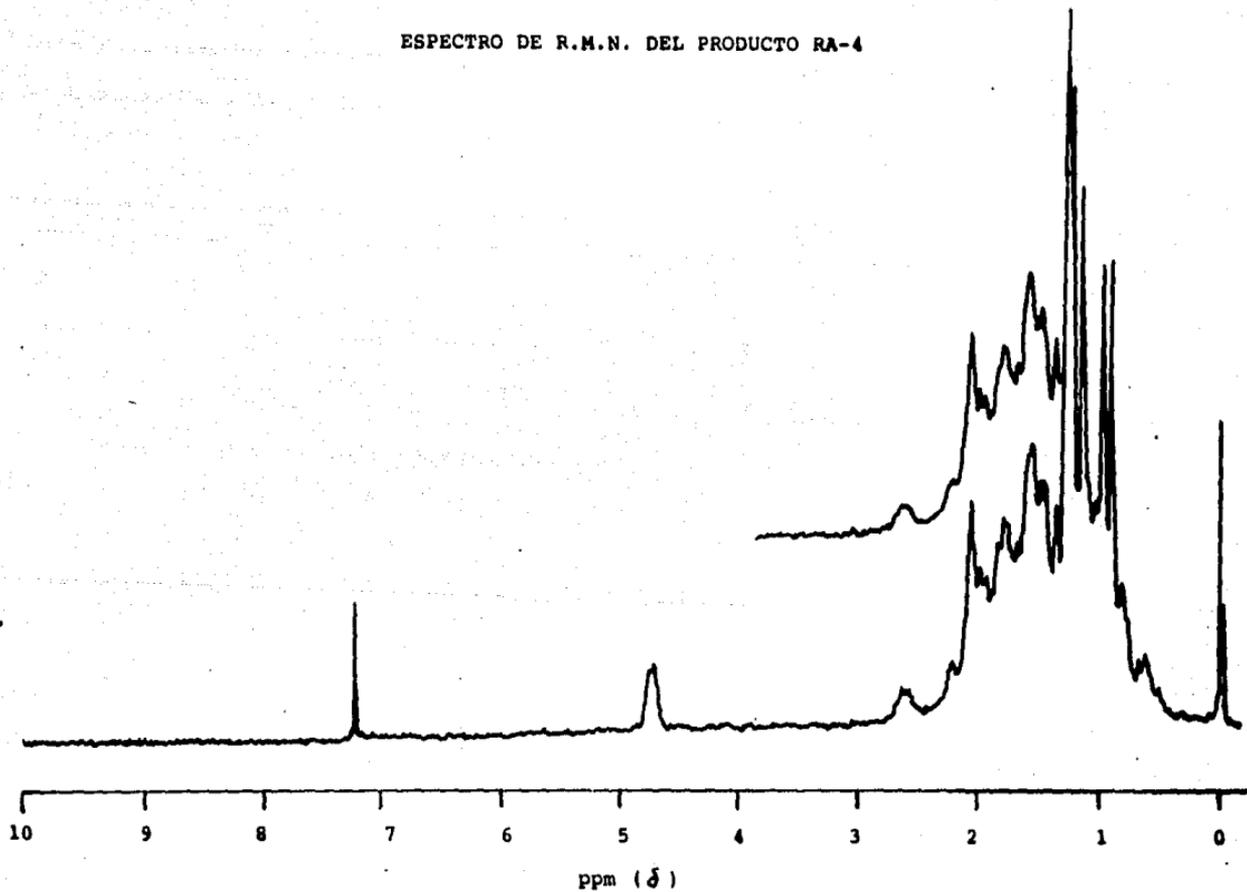


FIGURA LII

ESPECTRO DE MASAS DEL PRODUCTO RA-4

