

20



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

## FACULTAD DE CIENCIAS

*Análisis químico de los extractos de Tagetes lucida  
(COMPOSITAE). Distribución en la planta de  
compuestos fototóxicos.*

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
B I O L O G A  
P R E S E N T A:

PALMIRA CONCEPCION ARNAZ DURAN

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. MA. CRISTINA PEREZ-AMADOR BARRON



FACULTAD DE CIENCIAS  
UNAM

2002

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**M. EN C. ELENA DE OTEYZA DE OTEYZA**  
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Ciencias  
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis: Análisis químico de los extractos de Tagetes lucida (COMPOSITAE). Distribución en la planta de compuestos fototóxicos.

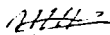
realizado por Palmira Concepción Arnaz Durán

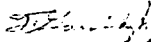
con número de cuenta 8253944-9 , pasante de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente


Director de Tesis

Propietario Dra. Ma. Cristina Pérez-Amador Barrón 

Propietario Dr. Federico García Jiménez 

Propietario Biol. José Luis Contreras Jiménez 

Suplente Dra. Patricia Guevara Fefer 

Suplente M. en C. Josefina Herrera Santoyo 

FACULTAD DE CIENCIAS  
U.N.A.M.

Consejo Departamental de Biología



DRA. PATRICIA RAMOS MORALES  
DEPARTAMENTO  
DE BIOLOGIA

## AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Cristina Pérez-Amador, por su dirección en el desarrollo de esta tesis, pero sobre todo, por su afecto, paciencia, comprensión y apoyo, que me brindó en todo momento.

Al Dr. Federico García Jiménez, por su colaboración como sinodal y en el análisis espectrométrico de los extractos.

A Sofia Perusquía Jasso, Aída García Argáez, Marisa Osuna y Diego Amor Pratts, por su valiosa colaboración en la dirección técnica, diseño de pruebas biológicas y recolección del material biológico, así como por sus comentarios y consejos.

A mis amigas de siempre, Patricia Guevara Fefer, Josefina Herrera Santoyo, Cristina Adriano Morán y mi amigo José Luis Contreras, por su apoyo incondicional e invaluable amistad les agradezco con todo mi cariño.

A José Manuel Medina Fong por su ayuda en las transcripciones, correcciones y desveladas. Gracias Flaco.

A Verónica Manzano por su amistad, cariño y apoyo logístico.

ESTA TESIS LA DEDICO A

MI FLACO, COMPAÑERO DE VIDA, DE TRABAJO Y DE SUEÑOS.

A SANTIAGO Y NURIA,

QUE SON LA LUZ DE MI VIDA Y EL IMPULSO QUE SIEMPRE ME  
LLEVARÁ A MAYORES LOGROS.

**ANÁLISIS QUIMICO DE LOS EXTRACTOS DE  
*Tagetes lucida* (COMPOSITAE). DISTRIBUCIÓN EN LA  
PLANTA DE COMPUESTOS FOTOTÓXICOS.**

## **INDICE**

- 1 INTRODUCCION**
  - 1.1 Objetivos**
  
- 2 ANTECEDENTES**
  - 2.1 Poliacetilenos y derivados tiofénicos**
  - 2.2 Propiedades**
  
- 3 UBICACIÓN TAXONÓMICA Y DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DE *Tagetes lucida*.**
  - 3.1 Ubicación Taxonómica**
  - 3.2 Descripción Morfológica**
  
- 4 MATERIAL Y METODOS**
  - 4.1 Material**
  - 4.2 Extractos hexánicos en frío**
  - 4.3 Extractos en caliente**
  - 4.4 Pruebas de grupos de compuestos químicos**
  - 4.5 Separación por cromatografía en columna de compuestos fotosensibles**
  - 4.6 Aislamiento de compuestos y su análisis espectrométrico.**
  - 4.7 Pruebas Biológicas**
  
- 5 RESULTADOS Y DISCUSION**
  
- 7 CONCLUSIONES**
  
- 8 BIBLIOGRAFÍA**

## 1. INTRODUCCION

Desde el inicio de la humanidad las plantas han acompañado al hombre en su desarrollo, constituyendo su alimento, vestido y casa, proporcionándole además elementos de defensa y ataque y alivio en sus enfermedades. El hombre se interesó por conocerlas ampliamente, primero de una manera empírica y más adelante reservándoles un campo dentro del conocimiento científico de los seres vivos.

Una preocupación muy antigua ha sido la de ordenar a los organismos, incluyendo a los vegetales. La Taxonomía Vegetal se ocupa de esta especialidad y para ello se sirve de herramientas que le permiten clasificar a las plantas no sólo por sus características morfológicas, sino atendiendo a otros criterios, tales como la reproducción, la fisiología y la composición química entre otras, lo que permite el establecimiento de relaciones de carácter evolutivo entre los grupos.

El estudio de los metabolitos secundarios de las plantas proporciona información útil en la Taxonomía Vegetal puesto que algunas sustancias químicas pueden ser consideradas como "marcadores" cuando se encuentran exclusivamente en algún grupo de plantas.

Por otro lado, la utilización de las plantas por sus propiedades curativas se remonta a miles de años. Dentro de éstas, la familia Compositae cuenta con un número muy grande de especies que se emplean con estos fines. Es por ello que se ha investigado ampliamente la composición química de muchas especies, con lo que se ha podido identificar a una serie de grupos de compuestos como característicos de la familia, entre ellos los poliacetilenos y los compuestos tiofénicos.

Dentro de los metabolitos secundarios existen los que se conocen como compuestos fotosensibles, que se caracterizan por ser sustancias que se activan en presencia de radiación, causando una reacción en otro compuesto (Towers, 1980). Dentro de este tipo de compuestos se incluyen a las furanocumarinas, las hipericinas, los poliacetilenos y sus derivados tiofénicos. Los dos últimos tienen un patrón de distribución interesante en las familias de plantas superiores, apareciendo solamente en cinco de ellas: Campanullaceae,



Compositae, Umbelliferae, Araliaceae y Pittosporaceae. Dentro de la familia de las Compuestas se han realizado diversos estudios en los que se encontró que ciertos poliacetilenos y tiofenos tenían actividad larvicida, antimicrobiana y antihelmíntica, lo que ha llevado a pensar en una función general como toxinas en interacciones planta-planta o planta animal, sin embargo, hasta ahora se desconoce el papel que juegan en la fisiología de la planta. Lo que sí se conoce con certeza es que el tipo de compuesto varía en las diferentes partes de la planta (raíz, tallo, hojas, inflorescencias) y puede depender también de las variaciones a lo largo de las estaciones del año.

Los tiofenos se encuentran casi exclusivamente en la familia Asteraceae, en asociación con los poliacetilenos. El primero en descubrirse fue el alfa-tertienilo en *Tagetes* y desde entonces se ha analizado la composición química de los géneros de la familia, en particular las especies de este género.

El presente trabajo surge como parte de los estudios que se realizan en el Laboratorio de Química de la Facultad de Ciencias dentro del proyecto "Compuestos fototóxicos en Asteraceae".

## 1.1 OBJETIVOS

### General

Contribuir al análisis químico del género *Tagetes*, con énfasis en los compuestos fototóxicos, mediante los siguientes

### Objetivos particulares :

- Preparación de extractos hexánicos en frío para la obtención de los compuestos fototóxicos, determinando su presencia por radiación ultravioleta.
- Aislamiento y caracterización de dichos compuestos.
- Pruebas de actividad biológica
- Preparación de extractos en caliente para la determinación de grupos de metabolitos secundarios.
- Perfiles cromatográficos de las diferentes partes de la planta para analizar la distribución de los compuestos.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Poliacetilenos y derivados tiofénicos

Los compuestos acetilénicos conforman un grupo poco común de hidrocarburos naturales que tienen uno o más grupos acetilénicos en su estructura. A pesar de que el acetileno  $\text{CH}\equiv\text{CH}$  es un gas altamente reactivo, los hidrocarburos derivados de cadena larga son lo suficientemente estables como para ser aislados y caracterizados por métodos fitoquímicos estándar. Se conocen más de 650 poliacetilenos producidos por plantas, pero sólo unos pocos son derivados simples, la mayoría tienen grupos funcionales adicionales que pueden ser alcoholes, cetonas, ácidos, ésteres, aromáticos o furanos, en cadenas de 14 a 18 carbonos. Pueden encontrarse tanto en las raíces como en los tallos, hojas e inflorescencias de la mayoría de las especies de la familia de las Asteraceas. El fenilheptatrieno aislado de *Bidens pilosa* inhibe el crecimiento de bacterias Gram-positivas, levaduras y hongos filamentosos; mientras que los poliacetilenos de las raíces de *Chrysanthemum leucanthemum* resultaron fototóxicos para *Candida albicans* (Arnason *et al.*, 1980, Towers, 1977, Camm *et al.*, 1974).

Los derivados tiofénicos son compuestos poliacetilénicos que contienen azufre y también tienen importancia como marcadores taxonómicos. Se encuentran en las raíces de diversas especies, entre ellas *Tagetes erecta*, *T. glandulifera*, *T. indica*, *T. minuta*, *T. tenuifolia* y *T. patula*. (Bohlmann *et al.* 1973: 376-378). El alfa tertienilo es un compuesto de este tipo, que presenta una florescencia azul intenso y se comprobó que provoca dermatitis en la piel humana en presencia de luz solar (Atkinson, 1965).

En otros estudios realizados en la familia Asteraceae se aislaron 33 tiofenos con actividad fototóxica. De ellos, el alfa-tertienilo, el 5 (buten-1-inil)-2,2'-bitienilo y un monotiofeno acetilénico, extraídos de diferentes especies del género *Tagetes*, mostraron una actividad antibiótica sobre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Saccharomyces cerevisiae*, así como actividad nematocida sobre *Aphelenchus avenae*.

Hasta el año de 1975, se habían estudiado algunas especies del género, encontrándose la presencia de compuestos fotosensibles, poliacetilenos y tiofenos, mismos que se demostró eran fototóxicos, provocando dermatitis y pigmentación en piel de humanos; hemólisis en eritrocitos humanos, así como actividad antibacteriana, antihelmíntica, antifúngica y larvicida. Asimismo, se encontraron otros grupos de compuestos: flavonoides, glicósidos, monoterpenoides, terpenos y diversos aceites esenciales (Champagne, 1963, Mac Rae, 1979, Downums, 1983).

En 1983 Baute reporta en *T. tenuifolia* la presencia de alfa-tertienilo y tres compuestos tiofénicos más, así como tres poliacetilenos. En 1987, Ramos encuentra en *T. filifolia* compuestos fotosensibles, que caracteriza como poliacetilenos y tiofenos, define su distribución en la planta y confirma su actividad microbiana.

Por su parte, González Alvarado (1992), realizó estudios en *T. foetidissima* y *T. coronopifolia* en los que determinó la presencia de poliacetilenos, tiofenos y aceites esenciales, confirmando la actividad antimicrobiana de los dos primeros.

## 2.2.- Propiedades

En algunos casos, *Tagetes lucida* se emplea como planta medicinal, en otros, se cultiva con fines ornamentales.

En la medicina tradicional se reporta su uso en forma de infusión para malestares estomacales, cólicos y úlceras en la boca. También se recomienda quemada para aliviar los malestares de las parturientas y para ahuyentar insectos. Se conoce con los nombres de pericón o hierbanís, periquillo, flor de Santa María, anisillo y curucumín. En náhuatl sus nombres son cuahyiautli, yiahtli (Linares, *et al* 1987).

### 3. UBICACIÓN TAXONÓMICA Y DESCRICIÓN MORFOLÓGICA DE *Tagetes lucida*

#### 3.1 UBICACIÓN TAXONÓMICA

|           |                            |
|-----------|----------------------------|
| División: | Magnoliophyta              |
| Clase:    | Magnoliopsida              |
| Subclase: | Asteridae                  |
| Orden:    | Asterales                  |
| Familia:  | Compositae                 |
| Tribu:    | Heleniae                   |
| Género:   | <u>Tagetes</u>             |
| Especie:  | <u>Tagetes lucida</u> Cav. |

#### 3.2 DESCRIPCION MORFOLOGICA

Planta herbácea perenne, erecta, hasta de 80 cm de alto, con olor a anís al estrujarse; tallos generalmente varios o muchos partiendo de la base, más o menos ramificados, glabros; hojas simples, sésiles, lineares a oblongas, elípticas u oblanceoladas, de 2 a 10 cm de largo, de 0.5 a 2 cm de ancho, agudas a redondeadas en el ápice, márgenes aserrados; cabezuelas en corimbos, sobre pedúnculos bracteados hasta de 1 cm de largo; involucre cilíndrico de 4 a 12 mm de alto, sus brácteas de 5 a 7, con los ápices subulados; flores liguladas 3 ó 4, amarillas, sus láminas flabeladas o suborbiculares, de 3 a 6 mm de largo; flores del disco 5 a 8, sus corolas amarillas, de 4 a 6 mm de largo; aquenios linear-claviformes, de 5 a 8 mm de largo y 4 ó 5 escamas romas de 1 a 2mm de largo. Ampliamente distribuida en el Valle de México, en zonas cerriles y montañosas, menos frecuente en la parte norte. Alt. 2250-2900 m. Pastizales y bosques de *Quercus* y de coníferas, preferentemente en condiciones de disturbio. Conocida en Sonora, Chihuahua y de Nuevo León a Guatemala.

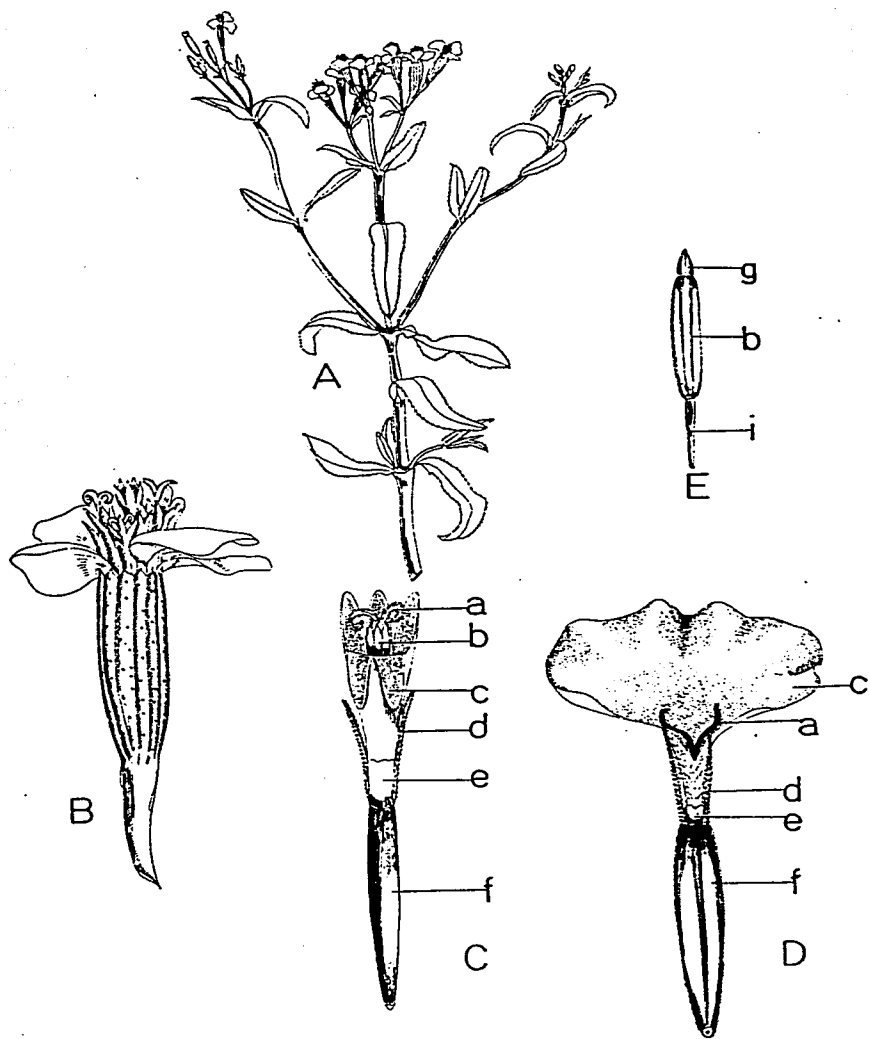


Fig. 125. *Tagetes lucida* Cav.: A. rama con inflorescencias x 0.4; B. capítulo x 4; C. flor del disco x 7, a. estigma, b. antera, c. corola, d. arista del vilano, e. escama del vilano, f. aquenio; D. flor ligulada x 7; E. estambre x 12, g. apéndice, i. filamento.

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.1 Material

Se trabajó con material proveniente del Estado de Michoacán, colectado en el mes de septiembre de 1988.

La planta se separó en tres partes: Inflorescencias, Parte Aérea (tallo y hojas) y Raíz. Se secó y molió, obteniéndose los pesos indicados en la Tabla 1. Se separó un ejemplar para determinación en el Herbario de la Facultad de Ciencias.

### 4.2 Extractos hexánicos en frío

Cada uno de los molidos correspondientes a las tres partes de la planta, se colocó en matraces de bola de 5 litros de capacidad. Se agregó 3.5 l de hexano, se agitó una primera vez y se mantuvieron en reposo y obscuridad durante quince días, agitándose ocasionalmente. Transcurrido ese tiempo se filtró el disolvente, colocándose en recipientes color ámbar para protegerlo de la luz. El procedimiento se repitió una vez.

El disolvente se evaporó a presión reducida para obtener los extractos crudos secos. Los rendimientos se indican en la Tabla 2. Con estos extractos se corrieron los perfiles cromatográficos en placa de gel de sílice y empleando como eluyente hexano-AcOEt 9:1. (fig. 1)

### 4.3 Extractos en caliente

Los extractos crudos en caliente de las tres partes de la planta, obtenidos con hexano, AcOEt y MetOH por el método de Soxhlet, se sometieron a las pruebas de grupos de compuestos químicos

#### 4.4 Pruebas de grupos de compuestos químicos

Con el propósito de conocer los grupos de compuestos químicos presentes, se efectuaron pruebas para alcaloides, flavonoides, terpenos y esteroides, glucósidos y saponinas con los extractos crudos obtenidos tanto en caliente como en frío. Los resultados se observan en la Tabla 3.

#### 4.5 Separación por cromatografía en columna de los compuestos fotosensibles.

Con cada uno de los extractos hexánicos en frío se efectuó una cromatografía en columna, empleándose gel de sílice (Merck, tamaño de partícula 0.063-0.200 mm.) como adsorbente, en las siguientes proporciones:

| PARTE DE LA PLANTA | CANTIDAD DE EXTRACTO | GEL DE SÍLICE | PROPORCIÓN |
|--------------------|----------------------|---------------|------------|
| INFLORESCENCIAS    | 3 g                  | 240 g         | 1:80       |
| PARTE AÉREA        | 3 g                  | 240 g         | 1:80       |
| RAÍZ               | 1 g                  | 100 g         | 1:100      |

Los eluyentes utilizados fueron:

Hexano y mezclas proporcionales de Hexano-AcOEt para las columnas de las tres partes de la planta.

Se colectaron fracciones de 50 ml. para la columna de inflorescencias y fracciones de 100 ml. para parte aérea y raíz, obteniéndose un total de 200 fracciones para la primera, 214 fracciones para la segunda y 119 fracciones par la tercera (Tablas A, B y C).

Para reconocer las fracciones fotosensibles se utilizó luz ultravioleta de onda larga, para lo que se aplicó la lámpara directamente a la columna cromatográfica y a las fracciones colectadas, en donde se pudo apreciar los compuestos gracias a la fluorescencia que



presentan. Las fracciones se agruparon según el color de la fluorescencia observada y se desecharon aquellas no fluorescentes.

#### 4.6 Aislamiento de compuestos y su análisis espectrométrico.

Una vez reunidas las fracciones, se evaporó el disolvente a presión reducida y los residuos se sometieron a una cromatografía líquido-líquido de alta resolución para aislar los componentes y analizarlos por espectrometría de luz ultravioleta, infrarrojo, de masas y de resonancia magnética protónica.

#### 4.7 Pruebas Biológicas

Se obtuvo una muestra de la cepa 294 de *Bacillus subtilis* en el Departamento de Microbiología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. Esta muestra de la cepa se encontraba liofilizada, por lo que fue necesario rehidratarla y sembrarla en medio líquido, para posteriormente hacer una resiembra tanto en medio sólido como en caldo nutritivo y de esta manera conservar un reservorio de la cepa madre.

Todo el material de cristalería se esterilizó en autoclave durante 15 min. a 15 lb. de presión. Posteriormente, la manipulación de las muestras y la siembra se efectuó en un área estéril dentro de una campana de flujo laminar.

Se prepararon 100 ml. de caldo nutritivo para microbiología de Merck, disolviendo 0.8 g de medio en 100 ml. de agua destilada. Se vaciaron 10 ml. en 10 tubos de ensaye con tapón de rosca. Se sembró la muestra de la cepa hidratada (1 ml) en el medio líquido y se incubó a 37°C durante 18 horas.

Por otro lado, se prepararon 500 ml. de agar de Müeller-Hinton de Bioxon, utilizando 15.4 g en 500 ml. de agua destilada. Mientras se encontraba aún caliente, se vació el medio en 25 cajas Petri y se dejó para que solidificara. Una vez solidificado se procedió a sembrar, utilizando el inóculo de uno de los tubos. Se frotó la superficie, procurando que quedara lo

más uniforme posible, utilizando un hisopo. Se sembraron 3 cajas, mismas que servirían como reserva. Se dejó crecer la bacteria durante 24 horas a temperatura ambiente. A partir de estas colonias, se resembró en las 22 cajas restantes.

La determinación de la actividad biológica de los extractos se hizo con dos series de cajas, una expuesta a luz ultravioleta y otra protegida de ésta, cubriendo las cajas con papel aluminio. En cada caja se colocó un círculo de papel filtro Whatmann del Número 2, de 2.5 cm de diámetro, impregnado con las soluciones de los extractos crudos, dejando secar perfectamente el disco antes de colocarlo. El testigo se realizó colocando papel filtro seco y limpio. Se incubó durante 24 horas. La prueba se repitió 2 veces.

#### APLICACIÓN DE EXTRACTOS EN CAJAS EXPUESTAS A LUZ U.V. Y OBSCURIDAD

| Concentración | Inflorescencias |       | Parte Aérea |       | Raíz |       |
|---------------|-----------------|-------|-------------|-------|------|-------|
|               | U.V.            | OBSC. | U.V.        | OBSC. | U.V. | OBSC. |
| 0.10 mg.      | 2               | 2     | 2           | 2     | 2    | 2     |
| 0.25 mg.      | 2               | 2     | 2           | 2     | 2    | 2     |
| 0.50 mg.      | 2               | 2     | 2           | 2     | 2    | 2     |
| Testigo       | 2               | 2     | 2           | 2     | 2    | 2     |

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

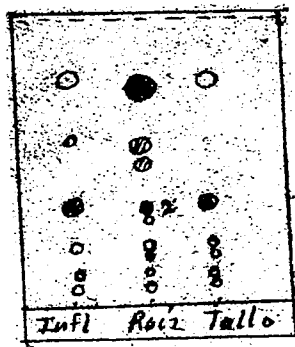
TABLA 1  
RENDIMIENTO DE LOS MOLIDOS

| Parte de la Planta | Peso (g) |
|--------------------|----------|
| Inflorescencias    | 229.3    |
| Parte Aérea        | 502.6    |
| Raíz               | 109.1    |

TABLA 2  
RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS CRUDOS EN FRÍO

| Parte de la Planta | Peso (g) | Rendimiento (%) |
|--------------------|----------|-----------------|
| Inflorescencias    | 7.9770   | 3.4788          |
| Parte Aérea        | 8.4816   | 1.6875          |
| Raíz               | 1.0394   | 0.9527          |

FIGURA 1  
PERFILES CROMATOGRÁFICOS EN PLACA FINA DE LOS EXTRACTOS  
HEXÁNICOS EN FRÍO



Eluyente: Hexano- AcOEt 9:1

**PRUEBAS DE GRUPOS DE COMPUESTOS QUÍMICOS (Tabla 3)**

El extracto de raíz mostró reacción positiva para los siguientes grupos:  
terpenos, glucósidos, esteroides y ligeramente positivo para alcaloides.

El extracto de Parte Aérea mostró reacción positiva para:  
terpenos, esteroides, flavonoides y ligeramente positivo para alcaloides.

El extracto de Inflorescencias mostró reacción positiva para:  
terpenos, glucósidos y flavonoides.

**TABLA 3**

Pruebas de Grupos de metabolitos secundarios

| EXTRACTO          | Terpenos y esteroides      | Flavonoides      | Glucósidos | Saponinas | Alcaloides (Dragendorff) | Alcaloides (Ac. SilTun) |
|-------------------|----------------------------|------------------|------------|-----------|--------------------------|-------------------------|
| RAÍZ<br>Hexánico  | +++<br>verde               | —                | +          | —         | —                        | —                       |
| TALLO<br>Hexánico | ++<br>verde                | —                | —          | —         | —                        | —                       |
| FLOR<br>Hexánico  | +<br>ligero amarillo       | —                | —          | —         | —                        | —                       |
| RAÍZ<br>AcOEt     | +                          | —                | —          | —         | —                        | —                       |
| TALLO<br>AcOEt    | —                          | +<br>rosa pálido | —          | —         | —                        | —                       |
| FLOR<br>AcOEt     | +                          | —                | +          | —         | —                        | —                       |
| RAÍZ<br>MetOH     | ++<br>café                 | —                | +++        | —         | +                        | —                       |
| TALLO<br>MetOH    | ++<br>amarillo-<br>naranja | +<br>rosa        | ++         | —         | +                        | —                       |
| FLOR<br>MetOH     | +                          | +<br>rosa        | ++         | —         | —                        | —                       |

### Compuestos Fotosensibles

Los perfiles de los extractos crudos de las tres partes de la planta muestran diferencias en la distribución de sus componentes (fig. 1).

#### a) Inflorescencias

De la cromatografía en columna de las inflorescencias (Tabla A), se obtuvieron tres fracciones fluorescentes que se denominaron A, B y C (fig. 2), mismas que se sometieron a una análisis espectrométrico, identificándose de la siguiente manera:

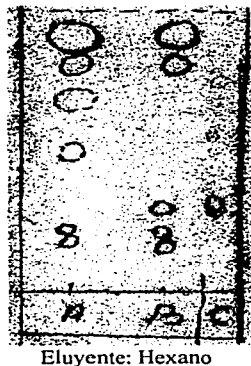
Fraciones A y B: constituídas por ceras.

Fración C: compuesto de naturaleza tiofénica, éster láurico de un bitienilo y su isómero, igual al encontrado en raíz ( III y IV del diagrama).

TABLA A  
FRACCIONES FLUORESCENTES DE LA COLUMNA DE INFLORESCENCIAS

| Fracción<br>Fluorescente | Fraciones de la<br>columna | Eluyente                             | Peso (mg) | Rendimiento<br>(%) |
|--------------------------|----------------------------|--------------------------------------|-----------|--------------------|
| A                        | 17-42                      | Hexano                               | 366.5     | 12.21              |
| B                        | 43-82                      | Hexano/AcOet 9:1                     | 102.0     | 3.40               |
| C                        | 83-95                      | Hexano/AcOEt 8:2<br>Hexano/AcOEt 7:3 | 224.0     | 7.62               |

FIGURA 2  
CROMATOGRAMA DEL EXTRACTO DE INFLORESCENCIAS



**b) Parte Aérea**

Se obtuvieron 5 fracciones fluorescentes de la cromatografía en columna (Tabla B), que se denominaron A, B, C, D y E y cuyo perfil se muestra en la figura 4.

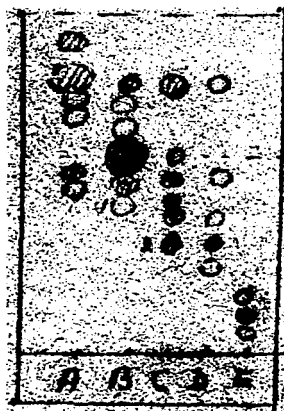
Las fracciones A, B y C tienen cinco compuestos con  $R_f$  similar por lo que se eligió la fracción B, con mayor concentración de sus componentes, para separarlos por HPLC. En esta separación se obtuvieron dos compuestos de naturaleza tiofénica, que fueron iguales al compuesto III y su isómero IV de raíz. La fracción D tiene un compuesto principal que cristalizó y con un punto de fusión de 90-92 °C. Este compuesto es igual a la Fracción Raíz III-IV.

La fracción E tiene el mismo compuesto que la Fracción Raíz III-II-4, también un bitienilo, pero el éster acético.

**TABLA B**  
**FRACCIONES FLUORESCENTES DE LA COLUMNA CROMATOGRÁFICA DE**  
**PARTE AÉREA**

| Fracción Fluorescente | Fracciones de la Columna | Eluyente             | Peso (mg) | Rendimiento (%) |
|-----------------------|--------------------------|----------------------|-----------|-----------------|
| A                     | 33-89                    | Hexano               | 200.3     | 6.6             |
| B                     | 90-136                   | Hexano/AcOEt<br>98:2 | 313.3     | 10.4            |
| C                     | 137-169                  | Hexano/AcOEt<br>95:5 | 121.3     | 4.              |
| D                     | 170-175                  | Hexano/AcOEt<br>95:5 | 80.2      | 2.7             |
| E                     | 212-219                  | Hexano/AcOEt<br>95:5 | 55.1      | 1.8             |

**FIGURA 3**  
**FRACCIONES DE LA CROMATOGRAFIA DEL EXTRACTO DE TALLO**



Eluyente: Hexano/AcOEt 98:2



### C) Raíz

De la cromatografía en columna de la raíz (Tabla C), se obtuvieron seis fracciones fluorescentes que se denominaron I, II, III, IV, V y VI (Fig. 4). La fracción III, por tener el mayor número de componentes se cromatografió por HPLC, con el esquema de separación que se muestra:

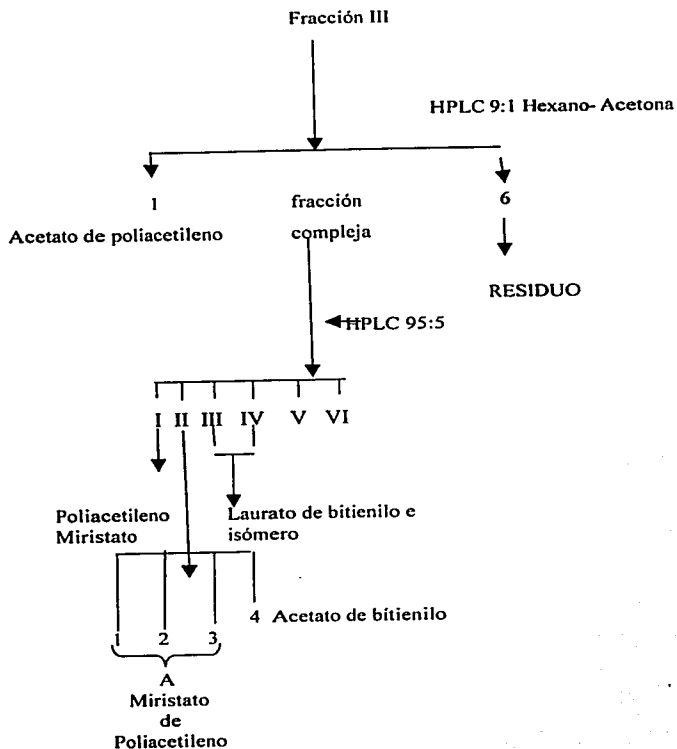
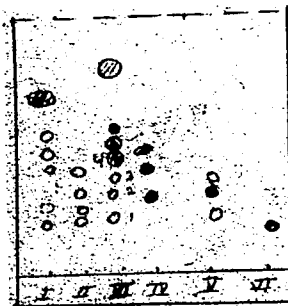


TABLA C  
FRACCIONES FLUORESCENTES DE LA COLUMNA  
CROMATOGRÁFICA DE RAÍZ

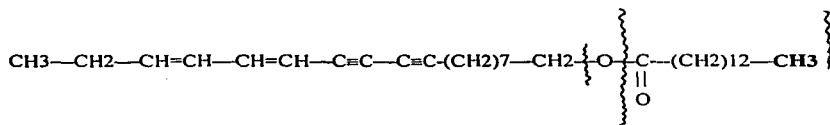
| Fracción<br>Fluorescente | Fracciones de la<br>Columna | Eluyente             | Peso (mg) | Rendimiento<br>(%) |
|--------------------------|-----------------------------|----------------------|-----------|--------------------|
| I                        | 12-18                       | Hexano               | 134.0     | 13.4               |
| II                       | 19-51                       | Hexano               | 89.1      | 8.9                |
| III                      | 52-61                       | Hexano/AcOEt<br>98:2 | 73.3      | 7.3                |
| IV                       | 62-72                       | Hexano/AcOEt<br>98:2 | 81.5      | 8.1                |
| V                        | 73-100                      | Hexano/AcOEt<br>98:2 | 100.6     | 10.0               |
| VI                       | 101-119                     | Hexano/AcOEt<br>95:5 | 89.8      | 8.9                |

FIGURA 4  
FRACCIONES DE LA CROMATOGRAFIA DEL EXTRACTO DE RAÍZ



Eluyente: Hexano/AcOEt 98:2

Para el compuesto de Rafz III-II-A, deca octa-9, 11, diin-13, 15-dien-1 ol, se propone la siguiente fórmula:



Con un peso molecular de 466 y el patrón de fragmentación que se muestra en la fórmula.

En el de ultravioleta se observa absorción en los 202, 204 y 320 nm.

En el análisis de infrarrojo se puede inferir la presencia de cadenas largas en 2930 y 2860  $\text{cm}^{-1}$

Presencia de enlaces dobles en 1638;

Presencia de grupo metilo en 1372;

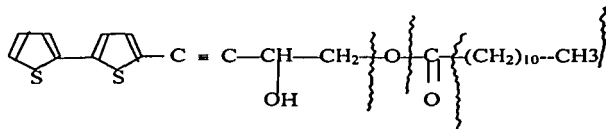
Presencia de grupos  $\text{CH}_2$  en 1463;

Presencia de insaturaciones en 973 y 892;

Presencia de alquinos en 3524;

Presencia de carbonilo en 1721  $\text{cm}^{-1}$

Para el compuesto Raíz III-III, 4, bitien-4(2 hidroxi but 3 in 1 ol), de se propone la siguiente fórmula:



Con un peso molecular de 432 y con un patrón de fragmentación que se muestra en la fórmula.

El análisis en el ultravioleta muestra  $\lambda_{\text{max}}$  en 328 y 322; 232, 227 y 222 nm.

En el infrarrojo, se puede observar lo siguiente:

Presencia de olefinas en 997 y 975;

Presencia de doble enlace carbono-oxígeno en 1723;

Presencia de grupo éster en 1260;

Presencia de grupo  $-\text{CH}_2-$  en 1461;

Presencia de grupo metilo en  $1378 \text{ cm}^{-1}$

R-III-III  
Laurito  
de bitenilo

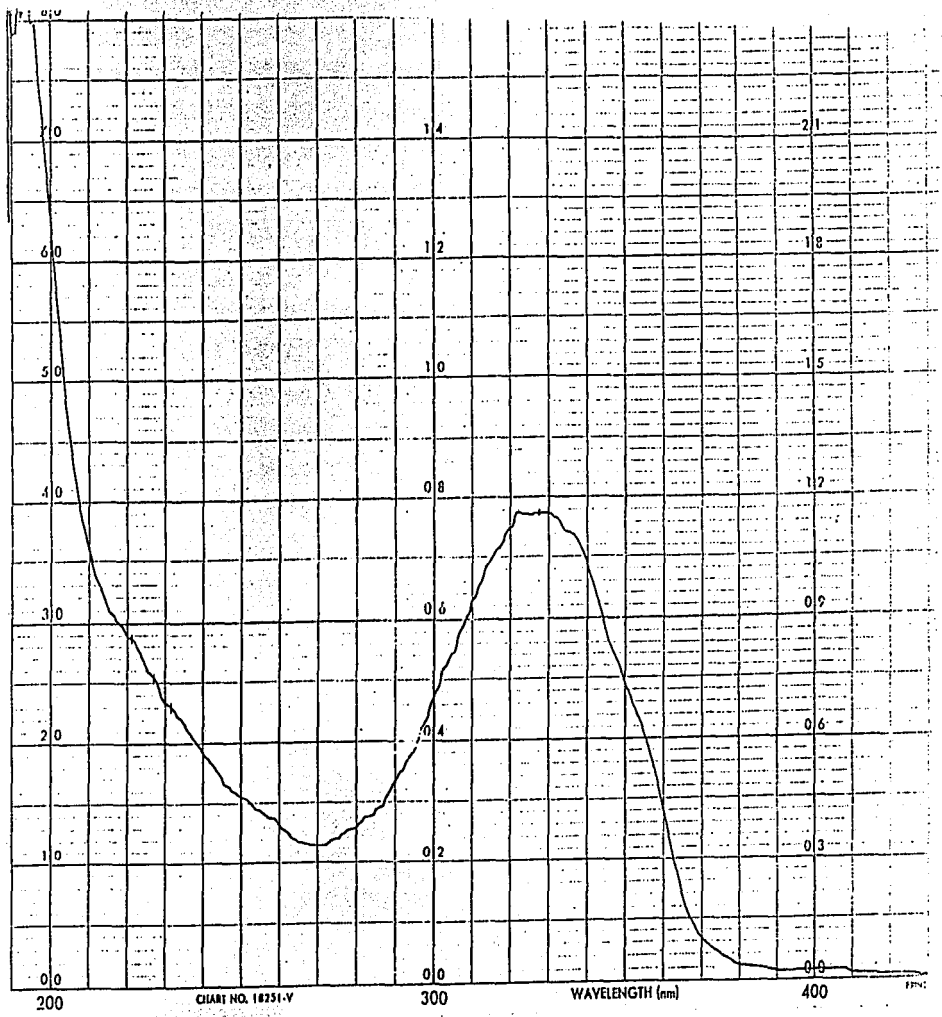
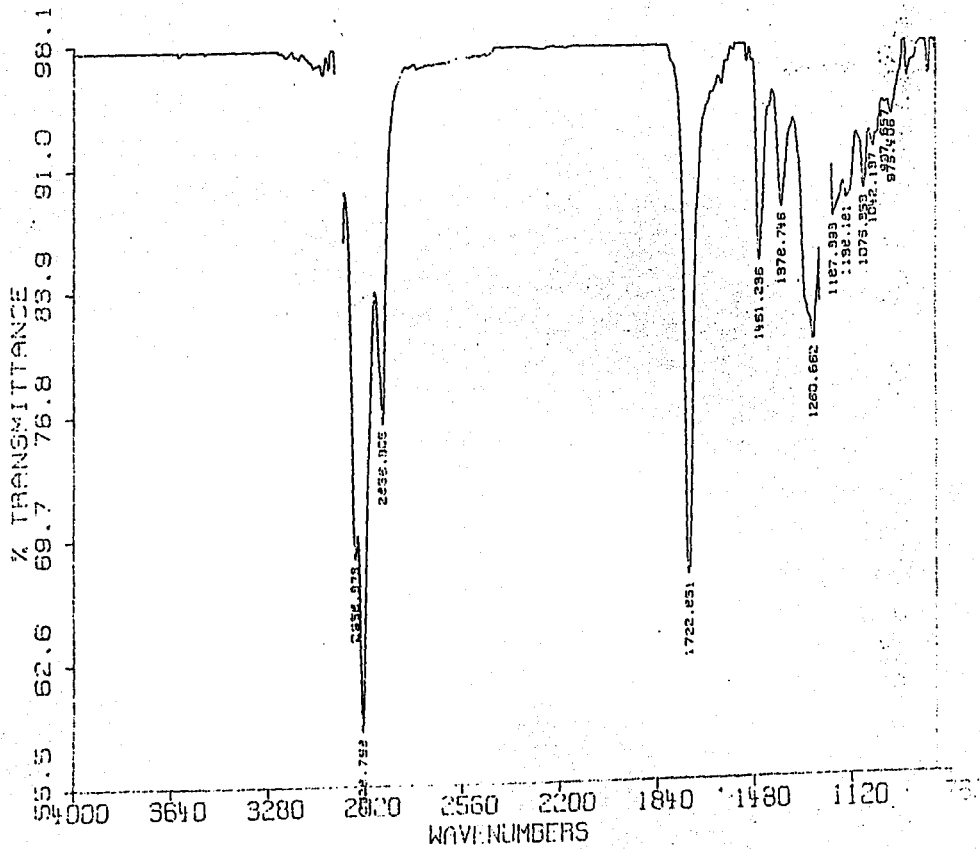


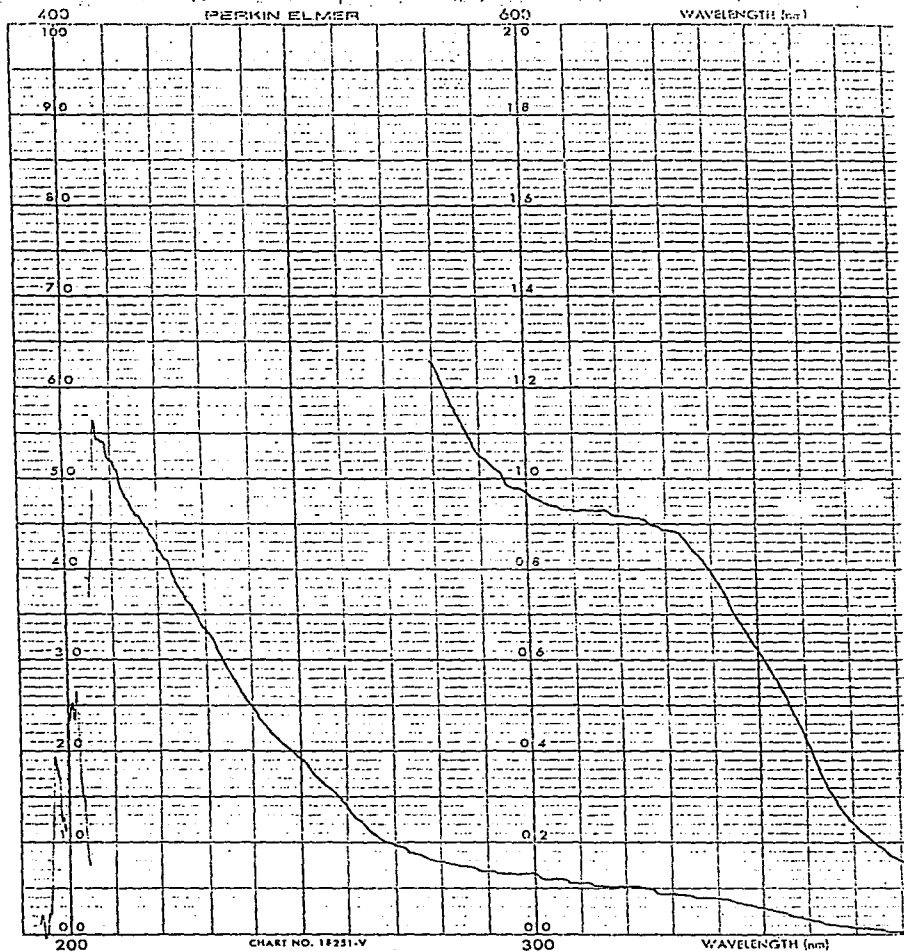
CHART NO. 18251-V

FPV

DR.F.GARCIA T.LUCIDA RUIZ III-III SOL/CHCL3. 14/11/88.  
RPM.  
*Laurato de sodio*



*Hydrolyta polioestherina*



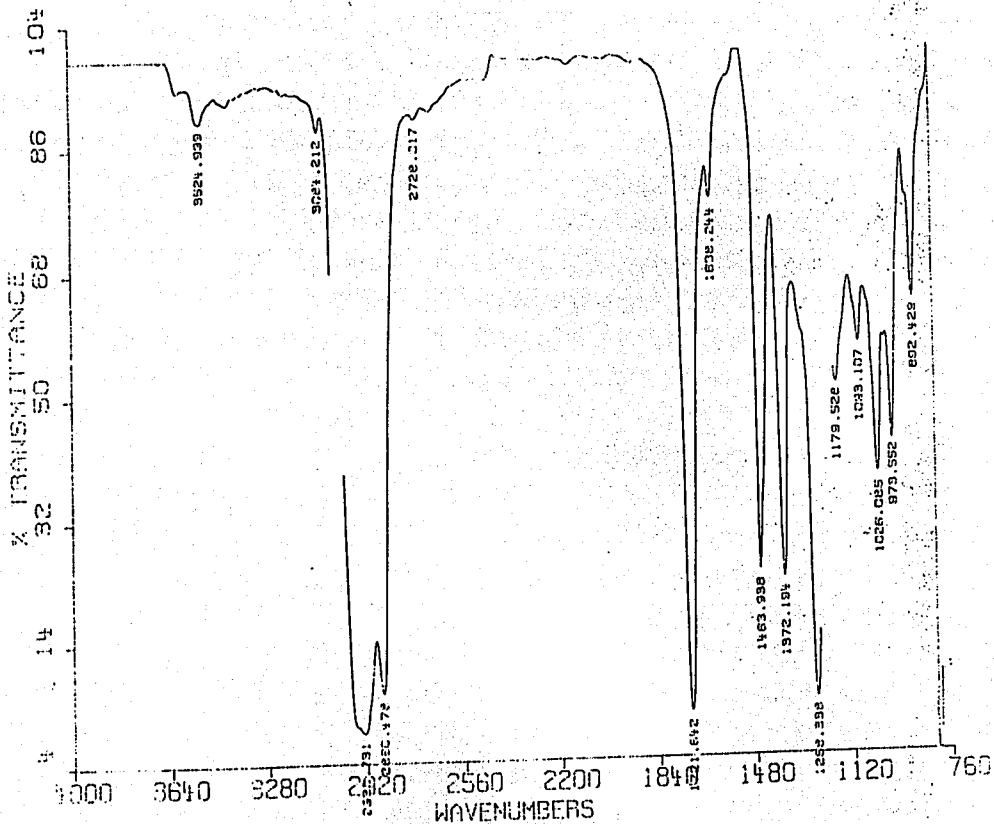


*Mirisato poliacetilénico*

IIA

DR.F.GARCIA T.LUCIDA RAIZ III-A SOL/CHCL3

14/11/90  
APM



## Pruebas Biológicas

Al revisar los resultados de la prueba biológica se observa actividad bacteriostática tanto en los cultivos sometidos a radiación ultravioleta como en los que se protegieron de ésta. Se formaron halos de inhibición claramente diferenciables alrededor de los círculos de papel filtro impregnados con los extractos. Para los extractos de las tres partes de la planta, es mayor el halo de inhibición cuando se trata de las cajas irradiadas con luz ultravioleta y menor en las que se mantuvieron en obscuridad. Asimismo, existe una correlación entre la concentración del extracto con el diámetro del halo de inhibición. Por último, parece evidente que el extracto de Parte Aérea es el que muestra mayor potencia lo que evidenciaría una mayor actividad fototóxica de los compuestos tiofénicos, que son los que se encuentran en mayor proporción en el tallo y hojas de la planta. En segundo lugar, el extracto de inflorescencias y por último el de raíz.

Tabla 4  
PRUEBAS BIOLÓGICAS. HALOS DE INHIBICIÓN

| Parte de la Planta | Concentración mg/ml | Diámetro ultravioleta | Diámetro Obscuridad |
|--------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|
| Inflorescencias    | 0.10                | 12 mm.                | 8 mm.               |
|                    | 0.25                | 14 mm.                | 10 mm.              |
|                    | 0.50                | 18 mm.                | 12 mm.              |
|                    | Testigo             | 0 mm                  | 0 mm                |
| Parte Aérea        | 0.10                | 14 mm.                | 10 mm.              |
|                    | 0.25                | 16 mm.                | 12 mm.              |
|                    | 0.50                | 20 mm.                | 16 mm.              |
|                    | Testigo             | 0 mm                  | 0 mm                |
| Raíz               | 0.10                | 13 mm.                | 10 mm.              |
|                    | 0.25                | 15 mm.                | 12 mm.              |
|                    | 0.50                | 18 mm.                | 15 mm               |
|                    | Testigo             | 0 mm                  | 0 mm                |

## 6. CONCLUSIONES

1. Se encontró la presencia de compuestos fotosensibles en las tres partes de la planta: Inflorescencias, Parte Aérea y Raíz.
2. Su distribución en la planta muestra que:
  - a) En las Inflorescencias se encuentra presente un compuesto tiofénico (éster láurico de bitienilo) y un isómero de éste.
  - b) En la Parte Aérea se identificaron los mismos compuestos, además de su acetato.
  - c) La raíz presenta los ésteres mirístico y acético de un poliacetileno de 18 carbonos y el laurato y miristato de bitienilo
3. Se confirma la actividad fototóxica de los extractos de las tres partes de la planta, mediante la prueba con *Bacillus subtilis*.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Harborne, J.B. 1984. *Phytochemical Methods*. Chapman and Hall. London. 288 pp.

Baute Romero, Y. 1983. Estudio químico-biológico de los extractos hexánicos de *Tagetes tenuifolia*. Tesis profesional. Facultad de Ciencias. U.N.A.M. 28 pp.

Ramos Calzada, I. 1987. Compuestos fotosensibles de *Tagetes filifolia* y su actividad sobre bacterias. Tesis profesional. Facultad de Ciencias, U.N.A.M. 41 pp.

Ríos, T., Flores R, M. 1976. Estudio Químico de los *Tagetes*. I. *Rev. Latinoamer. Quím.* 7, 33-36 pp.

Rodríguez, E., Mabry, T.J. 19—*Tageteae* - Chemical Review. In : Bohlman

Strother, J.L. *Tageteae* .- Sistematic review. In : Bohlman.

Bye, R.A. 1986. Medicinal Plants of the Sierra Madre : Comparative Study of Tarahumara an Mexican market plants. *Economic Botany.* 40 (1). 103-104 pp.

Chan, G.F.Q., G.H.N. Towers, J.C. Mitchell. 1975. Ultraviolet- Mediated antibiotic activity of Thiophene compounds of *Tagetes*. *Phytochemistry.* 14 2295-2296 pp.

Mitscher, L.A., R. Lev, M.S. Bathala, W. Wu, J.L. Beal. 1972. Antimicrobial agents from higher plants. I. *Lloydia* 35 (2) 157-166 pp.

Mitscher, L.A., S. Drake, S. R. Gollapudi, S.K. Okwute. 1987. A modern look at folkloric use of anti-infective agents. *J. Nat. Prod.* 50 (6) 1025-1040 pp.

Linares, E., R. A. Bye. 1987. A study of four medicinal complexes of Mexico and adjacent United States. *J. Of Ethnopharmacology*. 19 . 53-183. Pp.

Yamamoto, E., W.d. Mac Rae, F.J. Garcia, G.H.N. Towers. 1985 ? Photodynamic haemolysis caused by a-terthienyl.

Camm, E.L., G.H.N. Towers, J.C. Mitchell. 1975. U.V.- Mediated antibiotic activity of some compositae species. *Phytochemistry* 14 2007-2014.pp.

Wat, C., R.R. Biswas, E.A. Graham, L. Bohm, G.N.H. Towers. ——— U.V. - Mediated cytotoxic activity of Phenyl heptatriyne from *Bidens pilosa*. *J Nat. Prod.* 42 (1) 103- 111 pp.

Harborne, J.B., B.L. Turner. 1984. *Plant Chemosystematics*. Academic Press. London. 148-204 pp.

Stumpf, P. K. , E.E. Conn. 1981. *The biochemistry of plants*. Vol. 7 . Academic Press, London