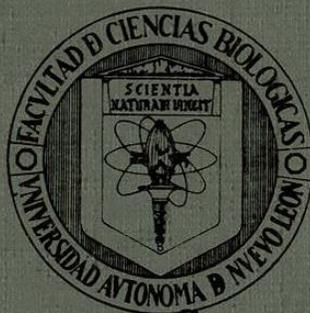


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO FITOQUÍMICO Y
DETERMINACIÓN DE LA ACCIÓN ANTIMICROBIANA
DE *Senecio candidissimus*

TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO
DE MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
QUÍMICA DE PRODUCTOS NATURALES

PRESENTA

M.V.Z. EDER RENÉ HUACUJA GONZÁLEZ

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N.L.

MARZO 1995

FM

25 3 20

FEB

1995

18

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



**CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO FITOQUÍMICO Y
DETERMINACIÓN DE LA ACCIÓN ANTIMICROBIANA
DE *Senecio candidissimus***

T E S I S

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO
DE MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
QUÍMICA DE PRODUCTOS NATURALES**

PRESENTA

M.V.Z. EDER RENÉ HUACUJA GONZÁLEZ

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N.L.

MARZO 1995



1020091518

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO FITOQUÍMICO Y
DETERMINACIÓN DE LA ACCIÓN ANTIMICROBIANA
DE *Senecio candidissimus*

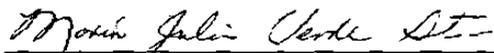
TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO
DE MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
QUÍMICA DE PRODUCTOS NATURALES

PRESENTA

M.V.Z. EDER RENÉ HUACUJA GONZÁLEZ

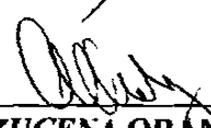
COMISIÓN DE TESIS



DRA. MARÍA JULIA VERDE STAR
PRESIDENTE

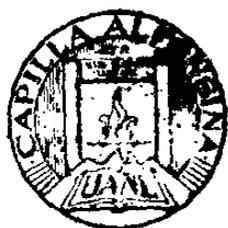


M.C. CATALINA RIVAS MORALES
SECRETARIO



M.C. AZUCENA ORANDAY CÁRDENAS
VOCAL

TM
25320
FCB
1995
H8



FONDO TESIS

167082

ÍNDICE

Introducción.....	1
Materiales y Métodos.....	8
Parte Experimental.....	17
Discusión y Resultados..	45
Conclusiones.....	48
Bibliografía.....	49

Abreviaturas

ac.	ácido
CCD	cromatografía en capa delgada
CCI	cromatografía en columna invertida
CCL	cromatografía en columna líquida
cm	centímetros
DNFH	dinitrofenilhidrazina
Ext	extracto
Ext Hex	extracto hexánico
Ext Ac Et	extracto acetato de etilo
ExtEt	extracto etanólico
ExtMe	extracto metanólico
F	fracción
C	centígrados
g	gramos
Hex	hexano
IR	espectro infrarojo
LB	Liebermann-Burchard
Me	metanol
mg	miligramos
mL	mililitros
Pas	alcaloides pirrolizidínicos
Pf	punto de fusión
Rf	razón de la velocidad de flujo de muestra con respecto al eluyente
Sol	soluble
UV	ultravioleta

1. INTRODUCCION

1.1.Generalidades .

El principal objetivo en el estudio de las plantas medicinales es evaluar la eficacia de su uso como remedios caseros tradicionales haciendo una contribución a su validez científica y legislativo de ellas.

La amplia difusión que se ha hecho de la medicina natural, la herbolaria y el uso de plantas medicinales através de publicaciones y otros medios de información ha ampliado y fomentado su uso en una población cada vez creciente. (30).

Existe un gran número de plantas de uso terapéutico, pero para evaluar su eficiencia y garantizar su inocuidad se necesitan programas de identificación, preparación de extractos, pruebas microbiológicas, bioensayos y conservación de ellas. Para estudiar las plantas medicinales se aíslan y separan sus principios activos de los extractos, cuando una planta contiene uno o como máximo dos principios químicos definidos es más fácil aislarlos e identificarlos, y cuyas propiedades farmacológicas están demostradas como ocurre con las plantas que contienen alcaloides de alta toxicidad) y por el contrario hay muchas plantas no tóxicas que contienen una infinidad de principios y solo algunos de ellos han podido identificarse aislándolos, pero ninguno explica las propiedades farmacológicas de los extractos de las plantas completas. (10, 20, 29).

La actividad biológica que presenta una planta, puede no ser debida a un principio activo en particular, sino a la acción sinérgica de todos sus compuestos aún cuando por sí solos no presentan efectos terapéuticos.

La planta objeto de este estudio es *Senecio candidissimus* que se usa tradicionalmente con fines terapéuticos para la colitis, gastritis, hemorroides y cualquier inflamación del tubo digestivo, la planta completa se deshidrata a la sombra y se prepara como una tisana en agua por cinco minutos; se toma una taza en ayunas o en las comidas, por lo general, a la semana desaparecen las molestias.(13)

Senecio (Packera) es un género cuyas especies están ampliamente distribuidos en todo el mundo. Debido a su extraordinaria adaptabilidad ecológica de latitud y variación morfológica; el *Senecio* es un objeto fértil para investigación sistemática, esto ha sido especialmente atractivo en años recientes para aquellos que intentan una investigación más minuciosa. Existen un poco más de 100 especies de *Senecio* en Norteamérica y el Norte

de México, aproximadamente la mitad de los cuales se dividen en tres grupos de especies: *Aurei*, *Tomentosi* y *Lobati*.(13) Es de especial interés que las especies mexicanas no hayan sido estudiadas fitoquímicamente existiendo solo datos sobre ellas, ya que las principales características se basan en estudios morfológicos, citológicos, distribucionales (diversidad) y ecológicos.

1.2 Objetivo.

Contribuir al estudio químico de los principios activos de *Senecio candidissimus* y determinar su acción inhibitoria sobre microorganismos patógenos.

1.3. Hipótesis.

Ho: No existe evidencias de la eficacia terapéutica del uso de *Senecio candidissimus* como remedio para enfermedades gastrointestinales.

1.4. Antecedentes .

El género *Senecio* establecido originalmente por Linneo con 25 especies , ahora se conocen más de 3,000, toma su nombre del verbo latino *senecere*, volverse viejo.(29).

El uso medicinal del género *Senecio* es muy antiguo, en un reporte de la región de Iraq (Slamidar) se encontró polen que data de la época del hombre de Neanderthal (60 mil años A.C.) (21).

El género *Senecio* es una fuente importante de alcaloides pirrolizidínicos o alcaloides hepatotóxicos como la fucsina y rutina (*S. nemorensis*) (12), una gran cantidad de estos alcaloides manifiestan propiedades parecidas a la atropina siendo empleados en medicina con el mismo fin; otros autores clasifican los alcaloides pirrolizidínicos como delirantes y neurotóxicos. También se han aislado furanoeremofilanos y sesquiterpenos con esqueleto de eremofilanos (4). Bohlman y Zdero aislaron y caracterizaron 19 furanoeremofilanos de *Senecio*, también encontraron eremofilanos no furánicos (2,3,5,6).

El contenido de ácido tánico explica el efecto adyuvante como hemostático y como astringente en tratamientos de heridas en la medicina india (16,20).

1.4.1. Metabolitos Secundarios del Género *Senecio*.

El *Packera* (*Senecio*) *candidissimus* pertenece a la familia de las compuestas (asteráceas) De este género se han estudiado otras especies tales como *S. jacobea*, *S. retrosus*, *S. isatedeus*, *S longibolus*, *S rosmarinifolium*, *S. scleratus*, *S alpinus*, *S incanus*, *S. platyphyllus*, *S. sparitioides*, *S integerrimus*, *S stenacephalus*, *S subalpinus*, *S aureus*, *S ilicifolius*, *S peseudoarnica*, *S squalidis*, *S viscosus*, *S. vulgaris*, *S. kikii*, etc.

Los estudios realizados en estas plantas se han concentrado principalmente en el aislamiento de los alcaloides pirrolizidínicos entre los cuales estan la jacolina, jacozina, retrosina , longibolina, rosmarinina, scleratina, seneciphyllina ó jacodina, senecionina, senkirkina y jaconina.(8).

Dentro del género *Senecio* se han encontrado diversas sustancias entre las cuales se pueden citar una variedad de alcaloides, flavonoides, diterpenlactonas, sesquiterpenlactonas, quinonas, cumarinas y carbohidratos. (14,15,16,18,22)

Se efectuó una revisión bibliográfica a nivel del género *Senecio*, a través de Chemical Abstracts, que abarca desde 1907 hasta 1993. Los compuestos que enseguida aparecen están agrupados alfabéticamente en la tabla 1.

Metabolitos secundarios reportados del género *Senecio* (2,5,12,15,16,17,18,23,28,32,35,36,37).

METABOLITO	COMPUESTO
<i>Senecio acanthifolius</i>	Pas (acantifolina)
<i>Senecio anonimus</i>	Pas
<i>Senecio adonidifolius</i>	Pas
<i>Senecio amplexicaulis</i>	Acetofenona monoterpénica
<i>Senecio andricurxii</i>	Furanoeremofilanos
<i>Senecio anonimus</i>	Pas
<i>Senecio aquaticus</i>	Pas
<i>Senecio argunensis</i>	Pas
<i>Senecio arnicoides</i>	Furanoeremofilano
<i>Senecio articulatus</i>	Pas
<i>Senecio asperulus</i>	Furanoeremofilano
<i>Senecio bicolor cineraria</i>	Aminoácidos y minerales
<i>Senecio bonariensis</i>	Sitosterol, glucopiranosidos y Esteroles glicósidos (raíz).

<i>Senecio brasiliensis</i>	Pas
<i>Senecio cachinalensis</i>	Furanoeremofilanos
<i>Senecio campestris</i>	Ácidos grasos y terpenoides
<i>Senecio cacaliaster</i>	Pas
<i>Senecio castagneanus</i>	Eremofilanos (hojas)
<i>Senecio chilensis</i>	Oxofuranoeremofilanos
<i>Senecio chrysantemoides</i>	Eudesmanolidos (hojas)
<i>Senecio chrysocoma</i>	Pas
<i>Senecio cilicius</i>	Pas
<i>Senecio cordatus</i>	Pas
<i>Senecio crassiflorus</i>	Sesquiterpenoides e isodaucano
<i>Senecio cruentus</i>	Pigmentos y antociaminas
<i>Senecio darwinii</i>	Furanosesquiterpeno (hojas)
<i>Senecio deferens</i>	Pas
<i>Senecio desfontainei</i>	Dehidrofukinona, euparina
<i>Senecio dimorphophilus</i>	Pas
<i>Senecio doria</i>	Furanoeremofilano
<i>Senecio doronicum</i>	Furanoeremofilanos y Pas
<i>Senecio dunedin</i>	Pas (dietanolamina)
<i>Senecio erraticus</i>	Sesquiterpenlactona
<i>Senecio erucifolius</i>	Pas
<i>Senecio faberi</i>	Pas (platifilina, squalidina)
<i>Senecio fistulosus</i>	Pas
<i>Senecio fuchsii</i>	Pas
<i>Senecio gallicus</i>	Pas, Acetonas, y terpenos
<i>Senecio glabellus</i>	Pas (integerrimina)
<i>Senecio glutinosus</i>	Furoeremofilanos , eremofilanos
<i>Senecio graveolens</i>	Monoterpénico y acetofenona
<i>Senecio grisebachii</i>	Pas
<i>Senecio hadiensis</i>	Pas
<i>Senecio hibridus</i>	Pas
<i>Senecio hydrophilus</i>	Pas
<i>Senecio incanus</i>	Glicósidos flavonoides
<i>Senecio integrifolius fauriri</i>	Pas (putrescina)
<i>Senecio isatideas</i>	Pas (ectocarpeno y retorsina)
<i>Senecio jacobaea</i>	Pas
<i>Senecio johnstonii</i>	Hidroxiacetonas
<i>Senecio kleina</i>	Ácido cirassulaceano
<i>Senecio leptolobus</i>	EremofilanosPas(neosenkirkina)

<i>Senecio leucantemifolius</i>	Pas
<i>Senecio linifolius</i>	Sesquiterpenos,
<i>Senecio lividus</i>	Sesquiterpenos
<i>Senecio longilobus</i>	Pas (intergerrimina)
<i>Senecio macrofilla</i>	Eremofilanos,ác. grasos,
<i>Senecio macrospermus</i>	Sesquiterpenos
<i>Senecio magnificus</i>	Pas
<i>Senecio mandraliscae</i>	Ácido crassulaceano
<i>Senecio maddley-woodii</i>	Ácido crassulaceano
<i>Senecio mexicanus</i>	Oplopano y oplopenona
<i>Senecio mikanoides</i>	Pas
<i>Senecio murorum</i>	Pas (usaramina)
<i>Senecio nebrodenisis</i>	Flavonas, sesquiterpenos
<i>Senecio nemorensis</i>	Pas
<i>Senecio nemorensis fuchsii</i>	Pas
<i>Senecio nemorensis nemorensis</i>	Pas
<i>Senecio oerstedianus</i>	Furanoeremofilanos
<i>Senecio othonae</i>	Pas
<i>Senecio othonnaeflorus</i>	Pas
<i>Senecio pachifillos</i>	Furanoeremofilano
<i>Senecio patagonicus</i>	Furanoeremofilanos
<i>Senecio pellucidus</i>	Pas
<i>Senecio picardae</i>	Pas
<i>Senecio philippicus</i>	Sesquiterpenos
<i>Senecio pleistocephalus</i>	Pas (rosmarinicina)
<i>Senecio pseudorientalis</i>	Pas
<i>Senecio psendotites</i>	Chalconas
<i>Senecio pirenaicus caespitosus</i>	Furoeremofilanos
<i>Senecio racemosus</i>	Pas
<i>Senecio renardi</i>	Pas
<i>Senecio retrosus</i>	Pas
<i>Senecio riddelli</i>	Pas (ridelina, ornitina)
<i>Senecio rodriguezii</i>	Pas
<i>Senecio rosmarinus</i>	Eremofilanos
<i>Senecio salignus</i>	Pas
<i>Senecio sanguisorbae</i>	Glicósidos, flovonoides
<i>Senecio scandens</i>	Pas
<i>Senecio serra</i>	Pas
<i>Senecio squalidus</i>	Pas

<i>Senecio siringifolius</i>	Pas
<i>Senecio sylvaticus</i>	Pas
<i>Senecio thomsonii</i>	Liganólidos
<i>Senecio toluccanus medestus</i>	Eremofilanos
<i>Senecio triangularis</i>	Pas (senecionina)
<i>Senecio usgorensis</i>	Pas
<i>Senecio vernalis</i>	Pas
<i>Senecio vira-vira</i>	Pas
<i>Senecio vulgaris</i>	Pas(senecionina)
<i>Senecio yegua</i>	Furolabdano y oplopanos
<i>Senecio zoellneri</i>	Furoeremofilanos

De 102 Senecios reportados, existen por orden de importancia los siguientes metabolitos secundarios:

Alcaloides pirrolizidínicos: 57 (56 %),

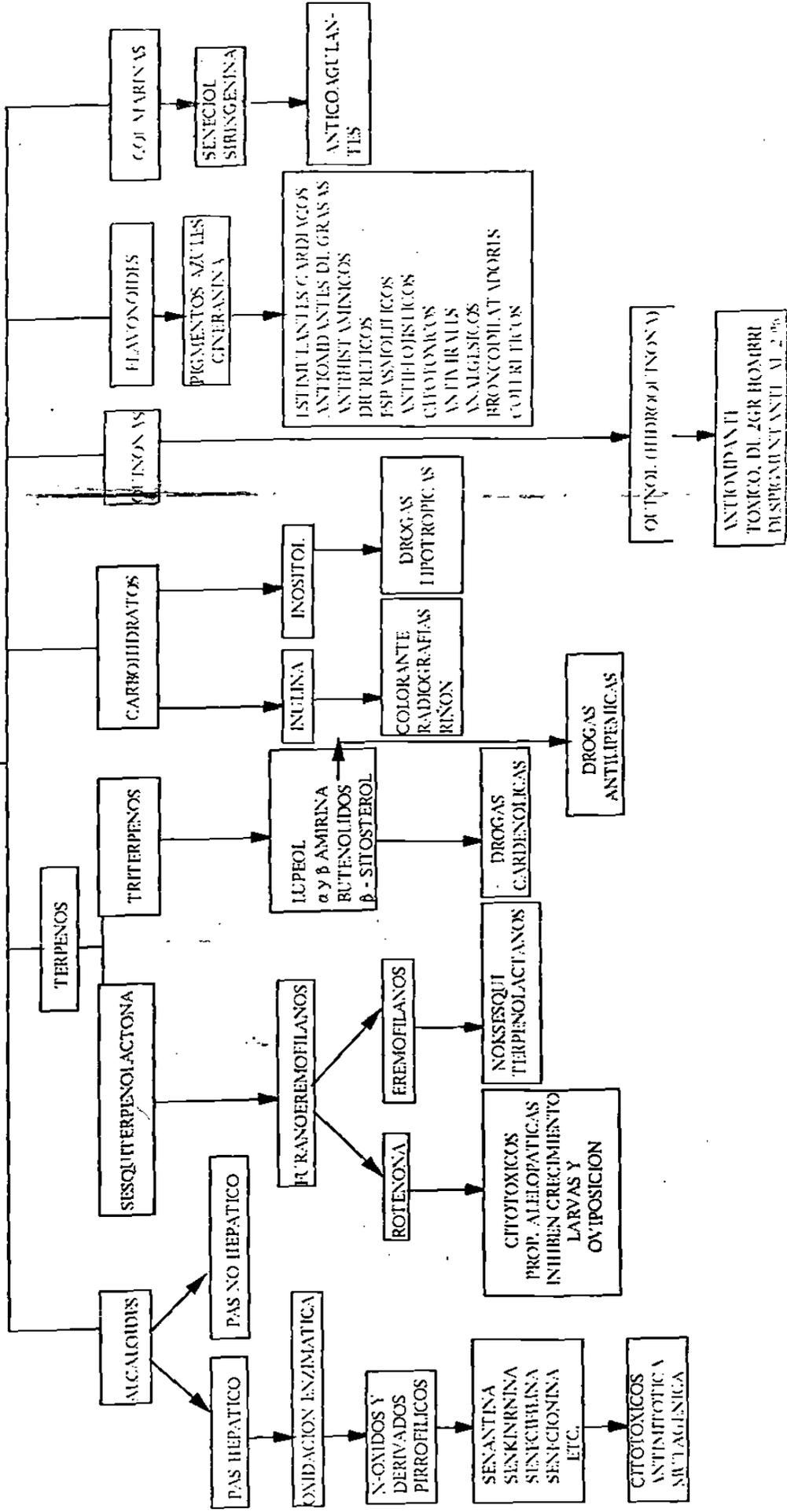
Compuestos terpenoides (sesquiterpenos, monoterpenos,etc.): 35 (34%),

Ácidos grasos 5 (5%),

Flavonoides 2 (2%).

En la siguiente página se muestra lo anterior.

METABOLITOS SECUNDARIOS DEL GENERO Parkera (Senecio)



2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material vegetal

2.1.1. Senecios Mexicanos.

En base a su morfología (13).

AUREI:

Senecio rosei
Senecio quebradensis
Senecio paratridenticulatus
Senecio hintoniosum

TOMENTOSI:

Senecio moranii
Senecio candidissimus
Senecio neomexicanus
Senecio bellidifolius
Senecio canus

LOBATI:

Senecio tampicanus
Senecio scalaris
Senecio sanguisurbae
Senecio coahuilensis
Senecio zimapanicus
Senecio montereyanus
Senecio millelobatu

2.1.2. Clasificación y descripción botánica de *Senecio candidissimus*.

Clasificación botánica

Reino : *Plantae*,

Subreino: *Embryobionta*,

Division: *Magnoliophyta o Angiospermae*,

Clase : *Dicotyledoneae*,

Orden: *Asteraceae*,

Familia: *Compositae*,

Tribu: *Senecioneae o Packerae*,

Genero: *Senecio o Packera*,

Especie: *candidissimus*

Descripción botánica:

Origen: Estado de Chihuahua, Municipio de Guachochic, en la Sierra Madre Occidental a una altitud de 2,000 a 3,000 mts. sobre el nivel del mar, crece en áreas boscosas de pinos, con épocas largas de sequías, en suelos delgados e ígneos .

P. candidissimus es un miembro de las especies *Tomentosi* que crece y aparece más estrechamente aliado a *P. bellidifolius* , comunmente en la Sierra Volcánica Transversal de México y al *P. canus* al oeste de los Estados Unidos y Canada . *P. candidissimus* se caracteriza en muchos aspectos morfológicos con estas dos especies, *P. bellidifolius* y *P. canus* , pero puede ser distinguido por las siguientes características:

A).- La superficie basal superior de las hojas tiende a ser lanosa por el tiempo de floración, la superficie basal inferior de las hojas se aprecia permanentemente tomentosas. Las hojas basales son abundantes pero raramente forman una roseta densa. La inflorescencia generalmente con 6 o menos cabezas. Por lo general es más abundante en la Sierra Volcánica Transversal y en las Tierras Altas de Oaxaca de la Sierra Madre del Sur (*P. bellidifolius*).(13)

B).- Superficie basal superior e inferior de las hojas normalmente permanece densamente tomentoso a lanado con aspecto de cabellos lanados. Las hojas basales normalmente muy densas y juntas en formación de roseta. La inflorescencia generalmente con 6 o más cabezas. Hojas basales redondas a obtusas y ocasionalmente agudas en el apex, su habitats al norte de la Sierra Madre Occidental en Chihuahua (*P. candidissimus*).

El *Packera candidissimus* tiene tallo herbáceo, perenne, densamente tomentoso a lanado y ocasionalmente con la edad presenta pelusa. El aspecto es grisáceo suave con tallos (de 1 a 9) provenientes del tronco. Hojas basales densamente amontonadas y formando distintas rosetas basales, el tallo gradualmente va disminuyendo hasta el peciolo. Las hojas por lo general tienen dimensiones de 1.5 a 8.5 cm de largo y 0.5 a 1.5 cm de ancho. *Packera candidissimus* forma densas colonias, es muy común al este de Chihuahua, en las cercanías de Creel y además es frecuente encontrarlas en áreas desforestadas abiertas especialmente en claros de bosques de pino-robles, pastizales, áreas de cultivo abandonadas o en las áreas laterales de las carreteras .(13)

Estudios etnobotánicos desarrollados por la Universidad de Colorado sobre los indios Tarahumaras han encontrado que usan éstas plantas con fines medicinales, en forma de té, para el tratamiento de enfermedades venéreas, también para cerrar llagas abiertas, otros usos de los *Packeras* (o *Senecios*)

descritos es para tratar heridas del riñón y vejiga. En forma fresca machacada en aceite de oliva para hacer emplastos para tumores, quemaduras y otras infecciones superficiales. Otros nombres son Chucaca, lechuguilla, té milagro.(11,19,24,28)

2.2 Extracción del material vegetal.

El material vegetal recolectado se secó a la sombra y posteriormente se picó; el material seco y molido se extrajo por dos técnicas, maceración a temperatura ambiente y extracción continua en Soxhlet .

2.3 Aislamiento e identificación de metabolitos secundarios.

El aislamiento de metabolitos secundarios fué realizado por cromatografía en columna líquida, invertida y de fase estacionaria tanto el solvente como la sílica gel, cromatografía preparativa y cristalizaciones posteriores . La identificación se logró usando métodos físicos y químicos como son: puntos de fusión, métodos cromatográficos, reacciones para determinar grupos funcionales y métodos espectroscópicos (IR).

2.3.1 Métodos cromatográficos

2.3.1.1 Cromatografía en capa líquida.

Se utilizaron columnas cilíndricas de vidrio (pyrex), equipadas con llave de teflón. En el presente estudio químico la gel de sílice utilizada fueron las siguientes: Sílica gel 60 mallas (Merck), Sílica gel 100-200 mallas (grado 923) ASTM (casa Rocas), y (Universal Adsorbents Inc, USA). Silicar TLC-7G (Mallinckrodt). Las columnas fueron empacadas utilizando la técnica de montaje en suspensión; la cual consiste en suspender la cantidad de gel de sílice a utilizar en el solvente con el que se va iniciar la elución de la columna, agitar y dejar reposar por espacio de 5- 10 minutos. Después se agrega a la columna , con la llave de paso cerrada, aproximadamente 20-25 mL del eluyente utilizado, se empieza a verter la sílice por medio de un embudo de boca ancha y se abre la llave de paso, cerrándose ésta cuando quedan 5 mm de eluyente por encima del gel de sílice ya sedimentada.

La aplicación de la muestra se realizó por adsorción previa la cual consiste en mezclar una solución concentrada del extracto vegetal con un peso de gel de sílice igual al del extracto seco; dejar evaporar el solvente y moler el sólido resultante hasta lograr el aspecto nato de la gel de sílice. El polvo resultante se vierte sobre la columna ya empacada previamente y encima se le coloca un trozo de algodón para evitar golpear la sílice con los eluentes a utilizar.

2.3.1.2 Cromatografía en capa delgada.

Este método es usado para identificación y purificación de compuestos. Las placas cromatográficas fueron preparadas en el laboratorio de fitoquímica de la Facultad de Biología de la U.A.N.L., utilizando gel de sílice 60G (Merck) y Silicar TLC 7-G (Mallinkrodt, USA) mezclada en agua, aplicándola sobre las placas con una pipeta pasteur, secándose después por espacio de una hora en la estufa a 100 C. Se usaron placas cromatográficas de las siguientes dimensiones:

Base	altura	espesor
5 cm	10 cm	1 mm
20 cm	20 cm	4 mm

En la placa ya seca se coloca la muestra por medio de una micropipeta a 1 cm de la base y ésta se introduce a una cámara de vidrio de boca ancha y tapa móvil provista en su interior con papel filtro para así mantener saturados los vapores del eluyente. La polaridad del eluyente varía en relación al compuesto. Para calcular el Rf se midió la distancia del punto de aplicación de la muestra hasta la mitad de la mancha estudiada y se dividió este valor entre la distancia del punto de aplicación a el frente del eluyente. (26, 27, 39)

2.3.1.3. Agentes cromogénicos.

Revelador	Se observa.....	Se interpreta.....
1.- Con CoCl_2	varias manchas que no absorben al UV	que no se puede considerar como un solo compuesto
2.- Vapores de Yodo	varias manchas que no absorben al UV	no se puede considerar un solo compuesto
3.- Placa normal corrida en CHCl_3	$R_f = 0.58$	detecta glicéridos neutros
4.- Placa impregnada con AgNO_3 al 5%	ion plata+ orbitales Pi de dobles enlaces de las cadenas de ac. grasos dan una separación de los glicéridos de acuerdo a sus grados de insaturación, los insaturados más cerca del origen y los saturados más alejados de él.	
5.- Cromatograma NaOH(saturado)	Detección al UV y reactivos cromogénicos: Yodo, CoCl_2 , Ehrlich, coloración café, rojo, naranja	alcaloides
6.- H_2SO_4 al 25% se rocía la placa, calor 230 C muy sensible detecta cantidades de 1 μg .	manchas rojo-púrpura manchas rojo-café	esteroles otros lípidos

7.-Reactivo de Ehrlich	manchas azules, magenta	n-óxidos(Pas)
Reactivo de Wagner	manchas naranja	alcaloides
Reactivo de Dragendorff	manchas naranja,roja	alcaloides
<hr/>		
8.-Revelador de KMnO ₄ al 5%	mancha oscura	sesquiterpenlactona
<hr/>		

(7,10,11).

2.3.2. Cristalización.

La cristalización se usó para purificar compuestos sólidos a temperatura ambiente; un compuesto se cristaliza formando una solución saturada de él, a temperatura elevada y en un disolvente apropiado, el cual al enfriarse se separa el compuesto en forma cristalina. (10,11).

2.3.3. Métodos físicos de identificación.

2.3.3.1. Constantes físicas.

Los puntos de fusión se determinaron en un instrumento Electrothermal (cat no. 1A6304) usando un termómetro de 400 C y no están corregidos. Todos los puntos de fusión están reportados en grados centígrados.

2.3.4. Métodos químicos de identificación.

2.3.4.1. Pruebas para grupos funcionales.

Prueba de la Flama: Esta prueba se utiliza para diferenciar un compuesto orgánico de un inorgánico. Se coloca una pequeña cantidad de mezcla en una asa de platino y se lleva a la flama. Si quedan cenizas el compuesto es inorgánico (10,11).

Prueba de Liebermann-Burchard: La prueba es para triterpenos y compuestos esteroidales. Se disuelven 1.5 mg de muestra en cloroformo y luego se le añaden unas gotas del reactivo, observándose cambios de coloración; el reactivo se prepara agregando una gota de ácido sulfúrico a una mezcla de 1 mL de anhídrido acético y 1 mL de cloroformo (11).

Prueba de Salkowski: Similar a la de Liebermann-Burachard, la muestra(1-2 mg) en 1 mL de cloroformo se pone en contacto con 1 mL de ácido sulfúrico, desarrolla colores amarillo o rojo, para esteroides y metilesteroides.(10,11)

Prueba de Shinoda: La prueba es para compuestos de tipo flavonoide; a 1 mg de muestra disuelta en etanol y con unas limaduras de magnesio se le aplica calor (60 C) y después una gotas de HCl por las paredes. Se considera positiva con la aparición de coloraciones naranja, rojo, rosa, azul y violeta (10,11).

Prueba de Ácido Sulfúrico: Para flavonoides; una pequeña cantidad de muestra se disuelve en ácido sulfúrico concentrado y se observan coloraciones amarillo para flavonas y flavonoles; naranja-guinda para flavonas; rojo-azuloso. para chalconas. También detecta quinonas con coloración roja-púrpura (10,11).

Prueba de Legal: Para sesquiterpenlactonas; una pequeña cantidad (2 mg) de muestra se disuelven en 2-3 gotas de piridina; en seguida se añade 1 gota de una solución reciente de nitroprusiato de sodio al 0.5% y después se añaden gota a gota, 4 gotas de hidróxido de potasio 2 N , observandose coloraciones rojo, azul, rosa y violeta (10,11).

Prueba de Baljet: Para sesquiterpenlactonas; se utilizan dos soluciones que se mezclan en iguales volúmenes antes de usarse, Solución A, 1g de ácido pícrico en 100 mL de etanol; solución B, 10 g de hidróxido de sodio en 100 mL de agua. Para la prueba se ponen 2-3 mg de compuesto y unas 3-4 gotas de reactivo, siendo positiva si se forma una coloración naranja o roja oscura. (10,11).

Prueba de Ehrlich: Determina presencia de grupo furano, la muestra se disuelve en etanol y se agrega una solución al 5% de p-dimetilaminobenzaldehído en etanol y después cloruro de hidrógeno gaseoso, formandose una coloración naranja (10,11).

Prueba para Coumarinas: Como las coumarinas son lactonas, se pueden disolver en soluciones alcalinas acuosas o alcohólicas con aparición de una coloración amarilla, la cual desaparece al acidular (10,11).

Prueba de Bornträger: Para naftaquinonas y antraquinonas, en ella se hierve, por 10 minutos, un poco del material con hidróxido de potasio al 2-5% , se enfría la solución, se acidula y se extrae con benceno. La capa de benceno se separa y se sacude con un poco de la solución de hidróxido de potasio. Si la fase de benceno se decolora y la alcalina se torna roja, hay quinonas (10,11).

Prueba de Wagner: Para alcaloides, se disuelven 1.27 g de yodo (resublimado) y 2 g de yoduro de potasio en 20 mL de agua; la solución se afora a 100 mL con agua destilada. La mayoría de las soluciones aciduladas de alcaloides forman precipitados floculentos color marrón (10,11).

Prueba de Dragendorff: Modificación de Munier y Machelobuf. Para alcaloides.

Solución A: Se disuelven 0.85 g de nitrato de bismuto, en una mezcla de 10 mL de ácido acético glacial y 40 mL de agua.

Solución B: Se disuelven 8 g de yoduro de potasio en 20 mL de agua.

El reactivo se prepara mezclando 5 mL de A, 4 mL de B y 100 mL de agua, el reactivo es estable por un año, la prueba es positiva para alcaloides al dar la placa coloraciones rojas o naranjas, persistentes por 24 hrs.(10,11).

Prueba de Fehling: Se coloca en un tubo de ensaye una solución A (8.66 g de sulfato de cobre pentahidratado disuelto en agua y aforado a 125 mL) y 3 mL de una solución B (15 g de NaOH y 43.25 g de tartrato de sodio- potasio disueltos en agua y aforado a 125 mL) Se agrega el compuesto, se calienta 10 minutos y si precipita primero el cobre el compuesto es reductor (10,11).

Prueba de bromo en tetracloruro de carbono: Para insaturaciones, a 2 mg de muestra contenida en un tubo de ensaye se le agrega una solución de bromo al 2% en tetracloruro de carbono; si la coloración de la solución desaparecen en un principio la prueba se considera positiva (10,11).

Prueba de Permanganato de Potasio: Para dobles enlaces , se prepara una solución de permanganato de potasio al 2% en agua, se disuelve 0.2 mg de muestra en agua, acetona o metanol y se toma en capilar agregándole la solución de permanganato de potasio. La prueba es positiva si hay decoloración del reactivo (10,11).

Prueba de Cloruro Férrico: Se disuelve una pequeña cantidad de muestra en etanol y se añade una gota de solución de cloruro férrico en agua (2.5%). La aparición de una coloración o precipitado rojo, azul, violeta o verde se considera positiva. En algunos casos es necesario utilizar una solución no acuosa de cloruro férrico a la que se le añade una base débil, por ejemplo cloroformo-piridina, para hacer más sensible la determinación (10,11).

Prueba de 2,4-Dinitrofenilhidracina: Para grupo carbonilo. En un tubo de ensaye se disuelve 50 mg de 2,4-dinitrofenilhidracina en 1 mL de etanol caliente. Se agregan 50 mg del compuesto carbonílico y se calienta a baño María por 10 a 15 minutos. Se deja en reposo y luego se enfría en baño de hielo, la aparición de un precipitado indica la presencia de un grupo carbonilo (10, 11).

Prueba de Molisch: Para azúcares. En un tubo de ensaye colocar la muestra, añadir el reactivo de Molisch ,3 gotas, y agitar .Luego, inclinar el tubo y depositar por la pared 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Es positivo cuando se forma un anillo coloreado en la interfase. El reactivo se prepara disolviendo 1 g de *a*- naftol en 100 mL de etanol al 95 %. (10,11).

2.4 Pruebas de inhibición bacteriana:

Los métodos empleados para el ensayo microbiológico fueron realizados en el departamento de Microbiología e Inmunología a cargo del Dr. José Santos García Alvarado, de la Facultad de Biología de la U.A.N.L.

2.4.1 Bacterias seleccionadas

Para el presente estudio se eligieron las siguientes bacterias: *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Yersinia pestis*, *Proteus vulgaris*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, y *Bacillus cereus* .

2.4.2. Preparación de medios enriquecidos.

2.4.2.1 Para activar bacterias.

Se uso el medio de Brain Heart Infusion (BHI), Detroit, Michigan, USA; dosis: 3.7 g de BHI en 100 mL de agua destilada. Se utilizaron 9 tubos de ensaye a los que se agregó 5 mL de BHI a cada uno, se esterilizan, se siembran del cepario con una asa cada tubo e identificándolos, se toman medidas asépticas, como encender mechero, evitar corrientes de aire, etc. Se incuban de 12 a 18 horas a 37 C.

2.4.2.2 Para cultivar bacterias.

Se usó medio enriquecido Müller Hinton II Agar (Becton & Dickinson, USA) en la proporción de 38 g en 1000 mL de agua destilada, se esteriliza el medio y con una pipeta estéril se colocan 20 mL a cada caja, se dejan enfriar y se conservan en refrigeración.

1020091518

2.4.3 Pruebas in vitro.

El método de difusión en placa se eligió por que no precipita el extracto con el medio de cultivo. Este método consiste en colocar el extracto (50 microlitros) sobre un orificio hecho en una placa sólida de agar nutritivo (Müller Hinton II , Becton & Dickinson ,USA), previamente inoculada con bacterias entéricas (100 microlitros) en la superficie. Después se incuba la placa a 37 C por 24 horas se observa, si produce área de inhibición (se mide). Una variante de éste método es mezclar el extracto con el medio y refrigerar para después inocular la superficie con los microorganismos. Los extractos se llevaron a sequedad por medio de un rotavapor Büchi a baja temperatura y presión reducida, para disolverlos después en agua destilada .

A 1 g de muestra se agrega 9 mL de agua destilada, esta solución se esteriliza por filtración en membranas de nitrato de celulosa (Whatman), la concentración del extracto disminuye a 100 mg. Al tomar 50 microlitros de ésta dilución ,que son equivalentes a 5 mg de extracto, con esta dosis se realizaron las pruebas de inhibición.

Las fracciones aceitosas se trabajaron directamente (por la dificultad de su manejo). Los estándares de antibióticos de referencia utilizados fueron: Lincomicina y Ampicilina. Tambien se corrieron los solventes utilizados en los extractos, para determinar la inhibición debida a ellos.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3. Estudio Químico de *Senecio candidissimus* :

Extracción: Parte de la planta utilizada: La planta completa en etapa de floración, se secó a temperatura ambiente y se molió (molino tipo Wiley).

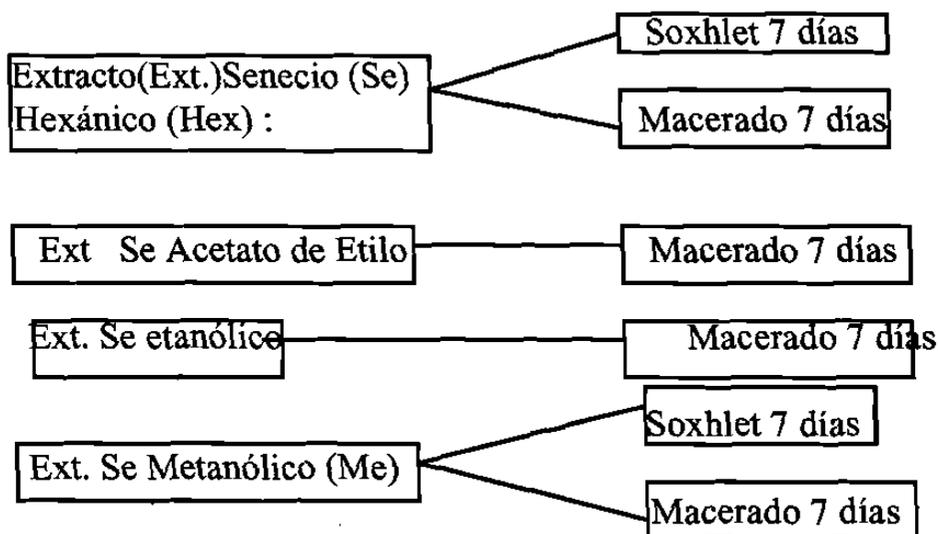
3.1 Preparación de los extractos :

El procedimiento empleado fue :

a).- Preparación tradicional:

Tisana (té) en agua
Macerado en H₂O(24 hrs)

b).- Preparación protocolo experimental:



En la siguiente tabla se expresan los resultados de la inhibición bacteriana de los extractos anteriores.

TABLA No. 1. INHIBICIÓN BACTERIANA DE EXTRACTOS DE *Senecio candidissimus*:

Género- Especie	Té	Macerado H ₂ O	SeHex*	Se.Ac. de Etilo*	Se Eñílico*	SeMe*
<i>Salmonella typhi</i>	---	---	+++	---	++	+++
<i>Shigella dysenteriae</i>	---	---	+++	---	+	++
<i>Escherichia coli</i>	---	---	+++	---	++	++
<i>Enterobacter aerogenes</i>	---	---	+++	---	---	++
<i>Yersinia pestis</i>	---	---	++	---	++	++
<i>Proteus vulgaris</i>	---	---	+++	---	++	++
<i>Listeria monocytogenes</i>	---	---	++	---	++	++
<i>Staphylococcus aureus</i>	---	---	++	---	++	++
<i>Bacillus cereus</i>	---	---	+++	---	++	++

Halo de Inhibición: += con un diámetro de 2.5 mm,

++ = con un diámetro de 5 mm.

+++ = con un diámetro de 10 mm.

* = macerado

Dependiendo del tipo de solvente ,varían los compuestos extraídos de la planta, ya que el uso medicinal es por 2 métodos, uso externo (maceración) y uso interno (té), por lo tanto deben existir diferencias, que se comprueban con las CCD de cada extracto que a continuación se exponen.

TABLA No.2 CCD EN PLACAS DE SiO₂ (No. DE MANCHAS).

Extractos	Visible	UV	Vapores de yodo	CoCl ₂	Dragendorff, Wagner,Ehrlich
Se té H ₂ O	amarillo claro	2	2	2	---
Se M.H ₂ O	amarillo obsc.	2	2	3	---
Se Etílico	café obsc.	5	3	7	---
Se Acet. Et.	verde obsc.	10	7	9	---
SeHex Sol.	verde obsc.	10	7	10	---
Macerado	verde	6	7	10	---
Se Me Sol	negro	6	5	9	---
Macerado	verde obsc.	6	5	9	---

3.1.1 Preparación tradicional:

Té en agua: Se preparó como tisana (20g) y se corrió una cromatografía en capa delgada (CCD) usando como eluente: benceno:clorofromo: ac. acético: agua (5:1:3:1) y como agentes cromogénicos: vapores de yodo y CoCl₂, revelando dos manchas, con sus R_f= 0.58 y 0.29. En las pruebas *in vitro* no presentaron inhibición bacteriana.

Macerado en H₂O: Se puso a macerar 500 g de *S. candidissimus* y se concentró al rotavapor, obteniéndose 42 g . Dá positiva la prueba de ac. grasos(AgNO₃), se corrió una CCD en gel de sílice al macerado usando como eluente benceno: cloroformo: ac. acético: agua (5:1:3:1) y como agentes cromogénicos vapores de yodo, CoCl₂ y 2,4-dinitrofenilhidracina. El las pruebas *in vitro* no tuvo efecto inhibitorio. Precipitó con acetona un compuesto fué por CCD, el cual dió un polvo ambar claro, de punto de fusión de 55° C, con R_f= 0.66 corrido con benceno:cloroformo:ac. acético:agua (5:1:3:1), dió una mancha celeste al UV y revelada con CoCl₂ es de color café . Se agrupan en la siguiente tabla los resultados obtenidos.

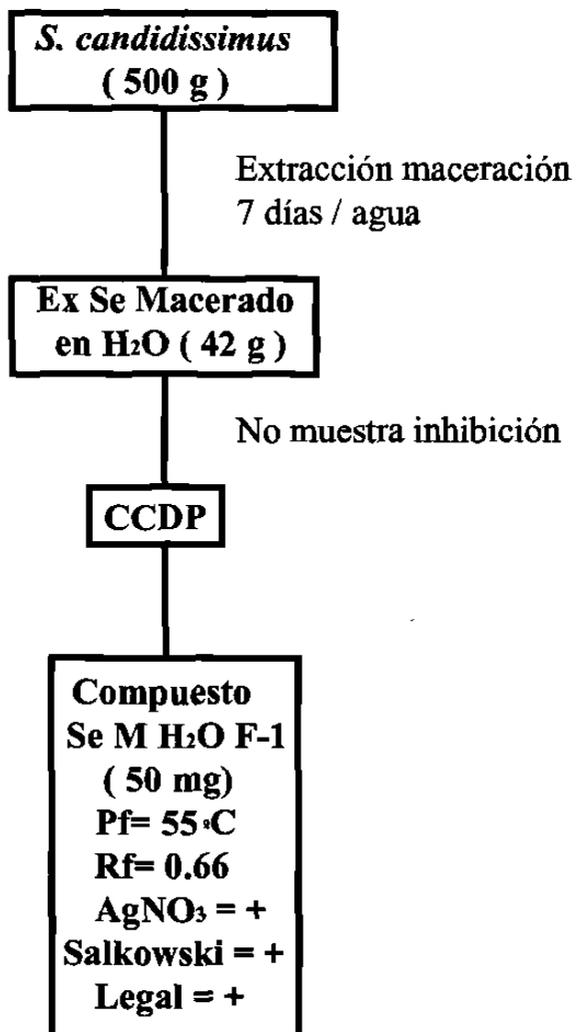
TABLA No.3. CCD EN PLACAS DE SiO₂ DEL EXT.MACERADO EN AGUA.

MANCHAS	VISIBLE	UV	VAP.DE YODO	CoCl ₂	Rf	2,4DNFH
1	---	blanco	---	café	0.66	---
2	café	celeste	café	verde	0.58	café
3	---	amarillo	café	violeta	0.29	---

En las pruebas generales para alcaloides, utilizando los reactivos de Dragendorff modificado y Wagner fueron negativas y en las específicas para alcaloides pirrolizidínicos y sus n-óxidos con el reactivo de Ehrlich también fueron negativas. (22,24)

A continuación se presenta el diagrama de separación del Ex Se Macerado en H₂O.

**DIAGRAMA DE SEPARACIÓN DE *Senecio candidissimus*
EXTRACTO MACERADO EN H₂O**



3.1.2 Preparación Protocolo Experimental:

3.1.2.1 Primera extracción con Hexano de *Senecio candidissimus*:

En un extractor tipo Soxhlet se extrajeron con hexano durante 7 días, 500 g. de planta seca de *Senecio candidissimus*. La solución obtenida se evaporó a sequedad en un rotavapor Büchi (Re 111) quedando 20 g. de extracto hexánico. Identificado como SeHex. Los resultados obtenidos de la CCD de este extracto, para detectar ácidos grasos, y sus fracciones son expresados en la siguiente tabla.

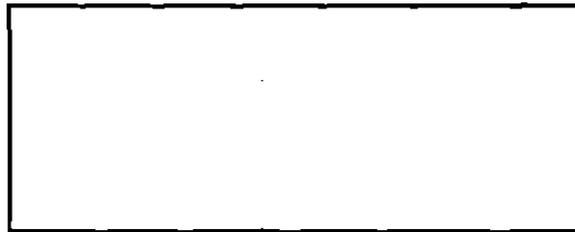
TABLA No.4 CCD EN PLACAS DE SiO₂ DEL EXTRACTO HEXÁNICO

MANCHAS	VISIBLE	UV	VAP. DE YODO	CoCl ₂	Rf
1	verde	verde obsc	café	violeta	0.94
2	---	negro	naranja	amarillo	0.88
3	---	---	verde	azul	0.83
4	---	rojo	---	negro	0.72
5	---	verde	---	café	0.61
6	verde claro	violeta	café	ambar	0.50
7	---	rojo	---	negro	0.47
8	---	---	verde	azul	0.62
9	---	negro	naranja	amarillo	0.44
10	verde	verde obsc	café	violeta	0.38
11	---	---	---	café	0.22
12	---	---	---	café	0.16

En las pruebas *in vitro* resultó con actividad inhibitoria para bacterias.

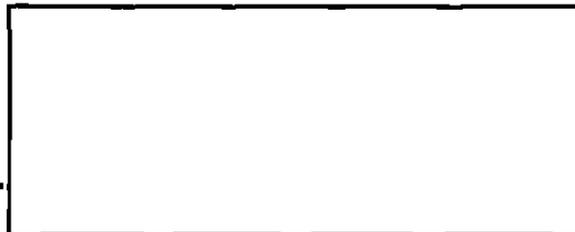
**ESQUEMA DE CCD EXT HEX PARA ACIDOS GRASOS
(no polares) :**

**1.- Placa normal en cloroformo
para detectar glicéridos
neutros con Rf= 0.58(+)**.....



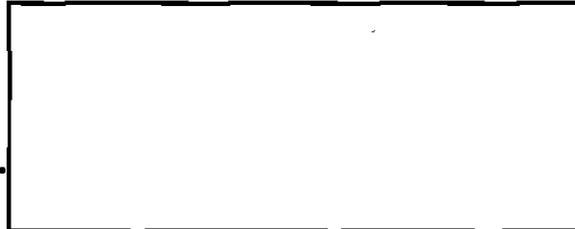
Rf= 0.58

**2.-Placa impregnada con nitrato
de plata al 5% para detectar
ácidos no sustituidos. Eluentes:
éter de petróleo, éter etílico y
ácido acético(9:1:1)**.....



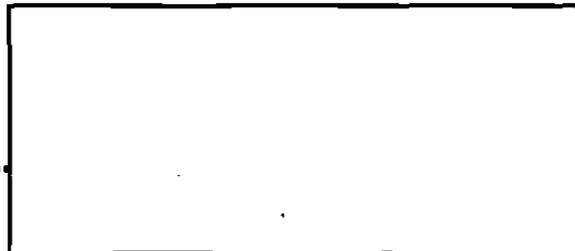
Rf= 0.35 0.47

**3.- Placa No.2 revelada con
H₂SO₄ al 25%**.....



Rf= 0.47 0.94

**4.- Placa No.2 revelada con
vapores de yodo**.....



Rf= 0.16 0.27 0.38 0.61 0.83
0.22 0.33 0.44 0.72 0.88

3.1.2.1.1 Separación por CCL de SeHex:

El extracto hexánico (20 g) se mezclaron con 60 g. de sílica gel 100-200 mallas (grado 923, Universal Absorbents Inc.) y se procedió a la separación de sus compuestos por CCL utilizando una columna de 1.20 cm. de altura y 5 cm. de diámetro, empacada con 250 g. de sílica gel de las mismas características. Los eluentes usados fueron: benceno (B), Cloruro de Metileno (CM) y metanol (MeOH).

La CCL se siguió por CCD, recogiendo fracciones de 125 mL cada una y procediendo a incrementar la polaridad del eluyente al no observar cambio apreciable en la CCD. En la siguiente tabla se muestra la marcha de separación de los componentes del extracto SeHex.

Tabla no. 5. Separación por CCL de SeHex. en SiO₂ .

FRACCIÓN	ELUENTE (v/v)	MANCHAS	ASPECTO
1 a 23	B a B:CM 9:1	1	ceroso
24 a 42	B:CM 9:1 a B:CM 7:3	1	ceroso
43 a 56	B:CM 7:3 a B:CM 1:1	2	aceitoso
57 a 61	B:CM 1:1 a B:CM 3:7	3	resinoso
62 a 69	Cloruro de Metileno	4	resinoso
70 a 86	CM: MeOH 1:1	4	resinoso
87 a 97	MeOH	4	resinoso

A continuación se muestra la tabla no. 6 de inhibición bacteriana del Ex Se Hex :

Tabla No. 6. Inhibición bacteriana de Ext. Se Hex de las fracciones obtenidas:

Género-Especie	F(1 a 23)	F(24 a 42)	F(43 a 56)	F(57 a 61)	F(62 a 69)	F(70 a 86)	F(87 a 97)
<i>Salmonella typhi</i>	++	++	++	+	---	---	---
<i>Shigella dysenteriae</i>	++	+	++	---	+	---	---
<i>Escherichia coli</i>	++	++	++	+	---	---	---
<i>Enterobacter aerogenes</i>	++	+++	++	---	---	---	---
<i>Yersinia pestis</i>	++	++	++	---	+	---	---
<i>Proteus vulgaris</i>	++	++	++	---	---	---	+
<i>Listeria monocytogenes</i>	+	++	++	---	---	---	---
<i>Staphylococcus aureus</i>	++	+	+++	---	---	+	---
<i>Bacillus cereus</i>	++	++	++	---	+	---	---

Concentración de 50 microlitros soluble en H₂O destilada.

Halo de inhibición:

+ = con un diámetro de 2.5 mm

++ = con un diámetro de 5 mm,

+++ = con un diámetro de 10 mm.

3.1.2.1.2 Compuestos obtenidos en la separación por CCL de SeHex . con inhibición bacteriana:

1.- Compuesto SeHex F-1 (ppdo):

De las fracciones 1-23 eluidas en benceno- cloruro de metileno (9:1) de la ccl se obtuvo un material de aspecto ceroso . Al cual se le añadieron 10 mL. de acetona observándose la formación de un precipitado blanco que fué filtrado, obteniéndose 10 mg., con un Pf=90°C y la CCD mostró una mancha café al revelar con CoCl₂ y al UV de color morado de un Rf= 0.64

(benceno:cloroformo:metanol: 3:6:1).

Pruebas Químicas:

Salkowski= positivo,

Legal = positivo,

H₂SO₄ = positivo,

Cumarinas= positivo

IR=mostró las siguientes bandas en cm⁻¹ : 3447(OH),2962,2918,2850,1737

(deformación C-H,CH₂ o CH₃),1262(estiramiento asimétrico C-O),1097, 1022(OH primario o secundario),802 (deformación del C-H)(Kbr,v,espectro no. 1).

En esta misma fracción aparece otro compuesto ceroso al que se denominó:

Compuesto SeHex F-1 :

De las fracciones 1-23 eluidas en benceno- cloruro de metileno(9:1) de la CCL del material que no precipitó se obtuvo un material de aspecto ceroso amarillo, con Pf=58° C, mostrando la CCD una mancha blanca al UV y con CoCl₂ es de color negro, de un Rf= 0.90 (benceno: cloroformo:metanol;:3:6:1).

Pruebas Químicas:

Salkowski = positivo,

Legal= positivo,

H₂SO₄ = positivo

2.- Compuesto SeHex F-2:

De las fracciones 24-42 eluidas en benceno:cloruro de metileno(7:3) se obtuvo un material que precipitó con metanol, de aspecto ceroso con Pf=58 C. La CCD mostró una mancha blanca- amarilla al UV y con CoCl₂ café , al visible es amarillo, de un Rf= 0.66 (cloroformo: metanol, 8:2)

Pruebas Químicas:

Salkowski = positivo,

Legal = positivo,

H₂SO₄ = positivo,

Cumarinas = positivo

IR = En el espectro no. 2 muestra señales a 3419(OH), 2955,2918 (CH₂ y CH₃), 1736,1716 (C=O), 1472,1416,1378 (CH₃),1220(alcohol primario o secundario), 730,720(C-H).(Kbr,v,).

3.- Compuesto SeHex F-3:

De la fracción 43-56 eluída en benceno:cloruro de metileno,(1:1) de la CCL se obtuvo un material de aspecto ceroso que precipitó con acetona. La CCD mostró una mancha celeste al UV y morado con CoCl₂ , muy aromática (mentolado) , de un Rf=0.88 (cloroformo:metanol,8:2) ,con un Pf=100° C.

Pruebas Químicas:

Salkowski = positivo

Legal = positivo

H₂SO₄ = positivo

Cumarinas = positivo

Espectro IR muestra las siguientes bandas en cm.-1: 3,444 (OH),2918,2850 (CH₂ y CH₃ estiramiento carbón alifático), 1769,1737,1714 (C=O),1463,1382 (C-H en CH₃ y CH₂), 1261,1116,1099(C-O),1044(alcohol primario o secundario), (Kbr,v).

4.- Compuesto SeHex F-4:

De la fracción 43-56 eluída en benceno:cloruro de metileno,(1:1), la parte restante se dejó evaporar, formando un compuesto amarillo ceroso, con un Pf= 60-62° C y la CCD dió una mancha azul al UV y café con CoCl₂ (Cloroformo:metanol, 8:2).

Pruebas Químicas:

Salkowski = positivo

Legal = positivo

H₂SO₄= positivo

Espectro IR muestra las siguientes bandas en cm-1: 3419 (OH), 2919,2850 (CH₂ y CH₃),1770,1739(C=O),1463 (C-H),1384,1338,1258,1230 (estiramiento a C-O), 1156,1098 (alcohol secundario), 1042(alcohol primario ó secundario) , 972,847,765,648,458 (C-H). (Kbr,v).

A continuación se presenta el diagrama de separación del Ex Se Hex. y enseguida la tabla para identificación de grupos funcionales para el mismo extracto.

DIAGRAMA DE SEPARACIÓN DEL EXT SE HEX.

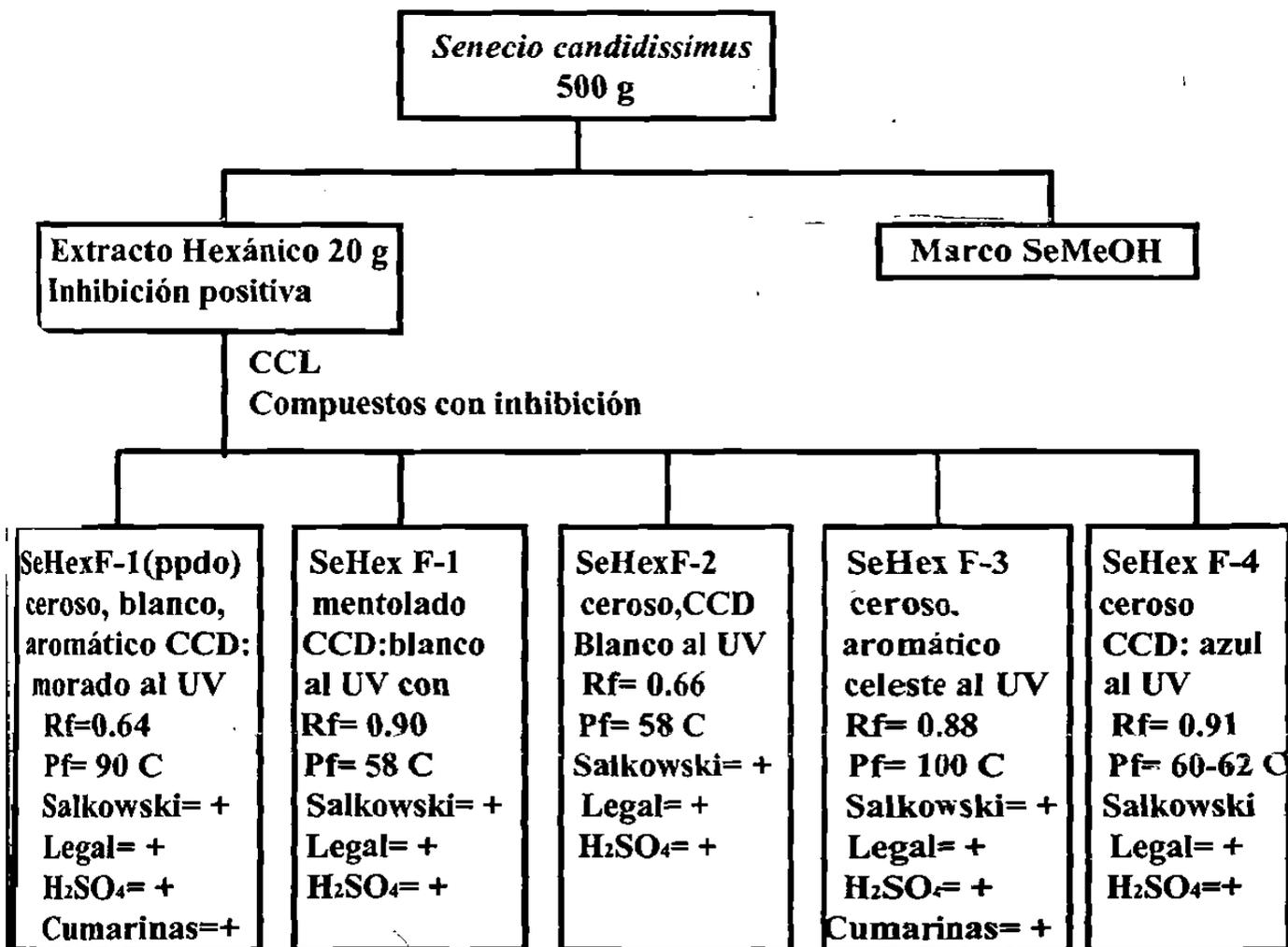


TABLA No.7.PRUEBAS QUÍMICAS PARA IDENTIFICACIÓN DE GRUPOS FUNCIONALES DE LA CCL DE SE HEX. CON INHIBICIÓN.

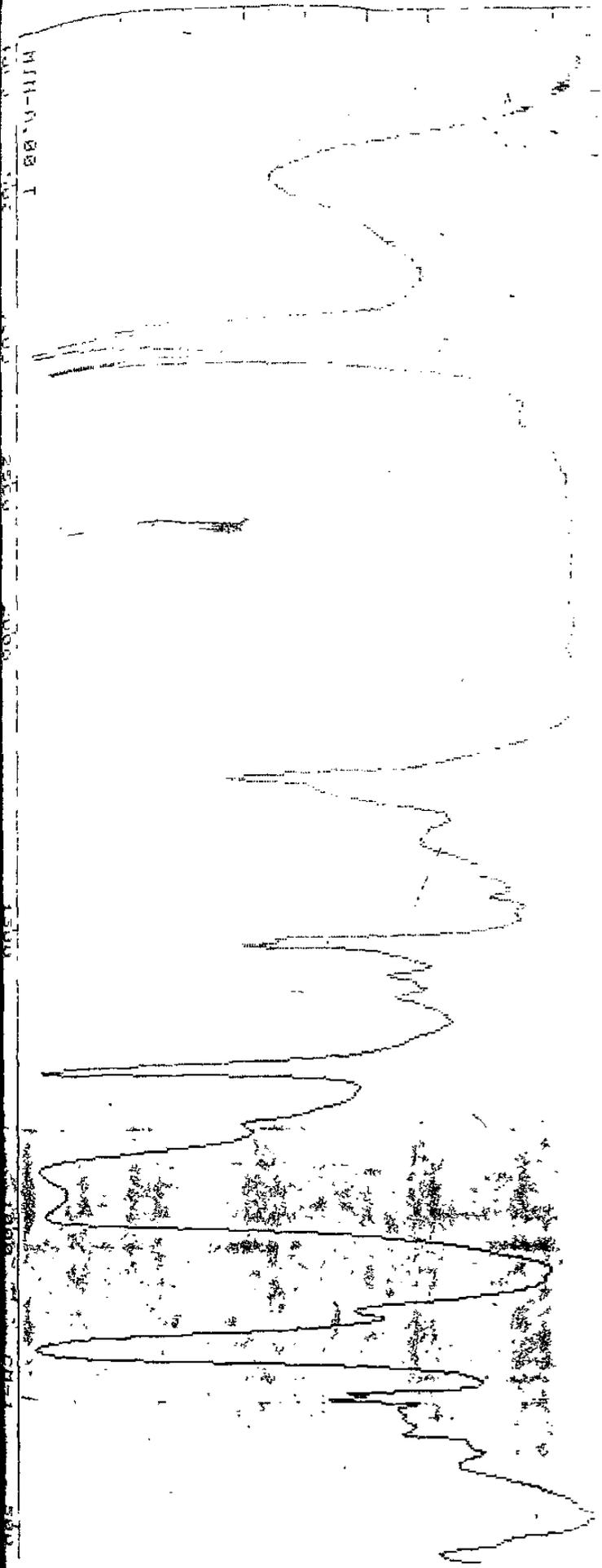
PRUEBAS QUÍMICAS	FRACCIONES				
	F-1pdo.	F-1	F-2	F-3	F-4
P. de ignición (arde orgánico)	+	+	+	+	+
P. de Liebermann-Buchard	---	---	---	---	---
Salkowski (triterpenos)	+	+	+	+	+
P. de bromo Permanganato de potasio (insaturaciones)	---	---	---	---	---
Legal (sesquiterpenlactonas)	+	+	+	+	+
2,4-Dinitrofenilhidracina (grupo carbonilo C=O)	---	---	---	---	---
Cloruro férrico (hidróxilos fenólicos)	---	---	---	---	---
Reactivo de Fehling (carbohidratos)	---	---	---	---	---
P. H₂SO₄ (flavonoides, quinonas, esteroides)	+	+	+	+	+
Hidróxido de sodio al 10% acuoso (quinonas)	---	---	---	---	---
P. para Saponinas	---	---	---	---	---
P. para coumarinas	+	---	---	+	---
Rf	0.64	0.90	0.66	0.88	0.91
Pf	90 C	58 C	58 C	100 C	60-62 C

X: 3581 4200-450 1.00 3.17 99.97 T F 92 AC 50K 4

REF. VALUES 4(00.00).0.2000 32.4

3767.	95.8	3854.	95.3	3895.	93.7	3880.	93.4	3821.	93.7
3781.	91.7	3735.	99.1	3712.	87.2	3691.	86.7	3674.	85.6
3785.	44.0	3211.	64.0	2912.	18.5	2915.	5.2	2850.	6.8
3882.	54.5	355.	32.2	1945.	32.4	1737.	37.0	1635.	68.4
3970.	7.	93.	7.8	5.6.	31.1	14.5.	34.5	146.	77.2
3971.	7.2	173.	91.6	1.87.	2.0	1.49.	29.8	1097.	5.7
3972.	1.1	337.	57.5	100.	4.7	730.	26.5	720.	53.7
3973.	5.1	89.	54.5	6.38.	22.3	244.	71.8		

PAGE 1



SoHex F-1 (prod.)

Nombre F-1 Rf = 0.64 p.f. 90°C
 Muestra 3
 Disolvente CH₂Br
 Fecha 21/Oct/94
 Operador Elda Gomez
 No. de espectro 1740

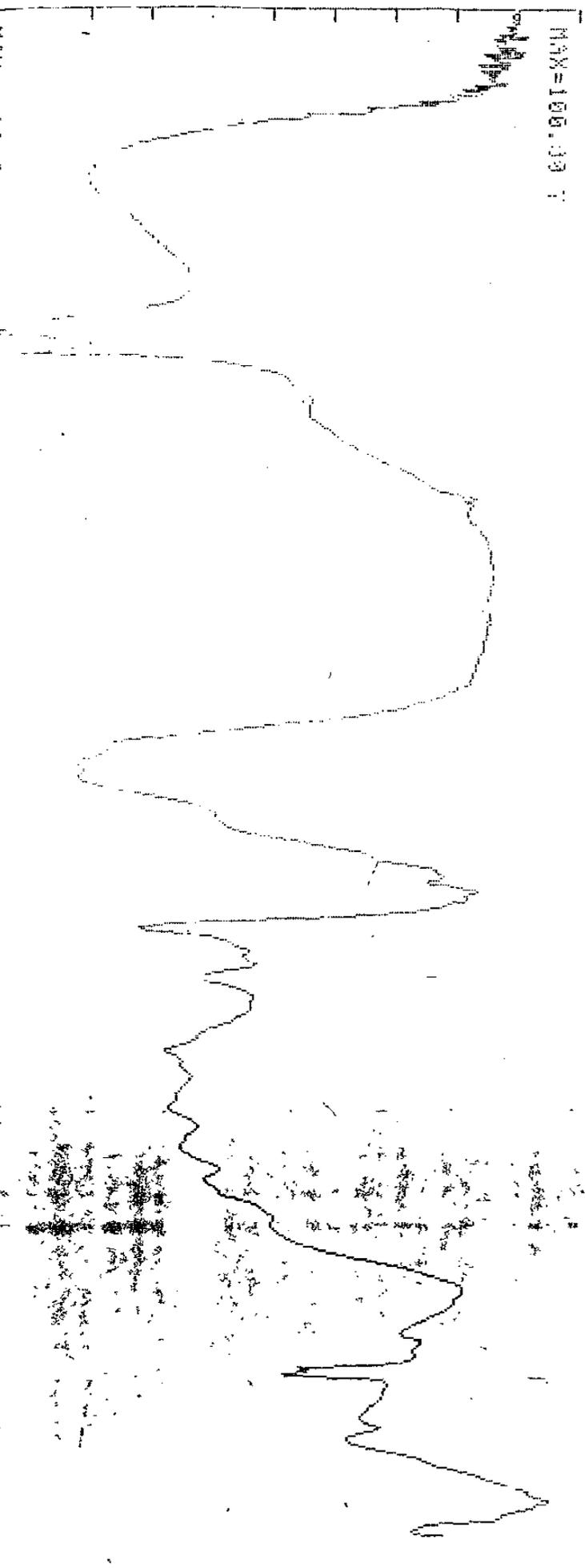
Y: 3951 4000-450 1.00 3.39 99.48 T F S2 AC 50R 4
 REF. VALUES: 4000 90.2 2000 87.3
 3958. 85.2 3541. 86.4 3914. 87.2 3899. 93.6 3881. 86.5
 3863. 86.6 3838. 84.0 3835. 85.0 3815. 85.9 3796. 87.7
 3773. 85.9 3756. 85.5 3744. 87.4 3732. 80.4 3720. 81.9
 3705. 78.8 3631. 78.6 3606. 73.3 3665. 65.9 3644. 59.6
 3635. 49.6 3444. 20.0 2916. 3.4 2850. 6.7 2352. 82.5
 2314. 93.1 1767. 24.3 1737. 20.0 1714. 19.6 1541. 77.7
 1517. 83.7 1403. 30.0 1416. 17.6 1383. 41.1 1281. 35.2
 1166. 35.8 1057. 37.7 1044. 45.1 787. 74.7 730. 57.7
 720. 55.3 585. 67.5 612. 66.1 456. 77.3
 END 44 PEAKS FOUND

PAGE 1

Nombre Sc Hex F3
 Numero 100°C Rf-0.88
 Disolvente KBr
 Fecha 21 Oct 1974
 Operador Elda Gomez
 No. de espectro 1742

MAX=100.00

MIN=0.00



3.1.2.2 Primera extracción Se Acetato de Etilo:

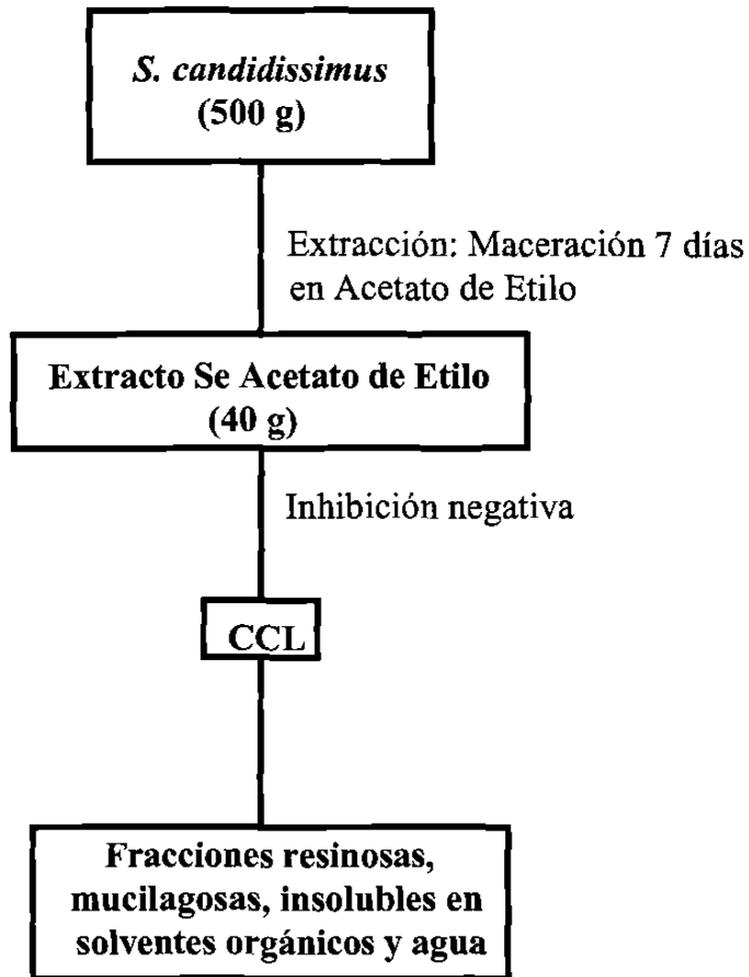
La planta seca y entera con un peso de 500 g. se puso en maceración por 7 días en acetato de etilo, al obtener el extracto(40 g.), se evaporó a sequedad en un rotavapor Büchi, extrayéndose en agua destilada para las pruebas *in vitro* , siendo negativa la inhibición. Se corrió una CCD con los eluentes: benceno:cloroformo(8:2):

TABLA No.8.CCD de Se Acetato de Etilo.

MANCHAS	VISIBLE	UV	VAP. DE YODO	CoCl ₂	Rf
1	----	amarillo	café	naranja	0.88
2	amarillo	morado	café	café	0.76
3	----	rosa	café	violeta	0.64
4	verde	rojo	café	amarillo	0.58
5	----	celeste	café	naranja	0.52
6	----	naranja	---	morado	0.41
7	----	negro	café	azul	0.29
8	verde	rojo	café	verde	0.16
9	verde	rojo	café	verde	0.14
10	verde	rojo	café	verde	0.11

Se montó en una columna el extracto (40 g.) y se eluyó con hexano, hexano-acetato de etilo, acetato de etilo, acetato de etilo-metanol y metanol en diferentes concentraciones, no se pudo separar ningún compuesto por ser demasiado resinosos, muy pegajosos e insolubles. A continuación el diagrama de separación:

**DIAGRAMA DE SEPARACIÓN DE *S. candidissimus* EXT
ACETATO DE ETILO**



3.1.2.3 Primera extracción de Se Etanólico :

La planta seca y entera con un peso de 750 g. se puso en maceración por 7 días en etanol absoluto. Al obtener el extracto se evaporó en un rotavapor Büchi a presión reducida y baja temperatura (48 g), se disolvió en agua destilada para las pruebas *in vitro* , teniendo regular inhibición bacteriana (5 cm). Al extracto etílico obtenido (48 g.) se sometió a una partición con cloruro de metileno:agua (3:1), separándose la capa orgánica (26 g.) y la acuosa (19 g.) , de los cuales el que resultó con inhibición bacteriana fué la partición acuosa, la que se identificó como SeEtSol.H₂O. Los resultados de la CCD de este extracto son:

TABLA No. 9 . CCD EXT Se Et Sol. H₂O.

Eluentes: benceno:etanol (9:1).

MANCHAS	VISIBLE	UV	VAP. DE YODO	CoCl ₂	Rf
1	verde claro	rojo	café	verde claro	0.91
2	----	----	----	verde-azuloso	0.72
3	----	----	----	violeta	0.54
4	----	----	----	azul	0.36

El extracto etanólico soluble en agua se mezcló con gel de sílice (60g), proporción 1 a 15, y se procedió a la separación de sus componentes por CCI , utilizando una columna de 1.5 mts. de largò por 3 cm. de diámetro, empacada con silicar tlc-7g(Mallinckrodt) por el método de suspensión (380 g proporción de 1 a 20). En columna invertida, el extracto se coloca, disuelto en sílica gel de las mismas características (60 g) en la parte inferior con un papel filtro, colocada la columna en un matraz tipo Erlenmayer conteniendo los solventes: dicloroetano, cloroformo, metanol, ácido acético (20:50:20:10), el desplazamiento de la columna fué lento. (2 meses) delimitándose 6 capas, las que se eluyeron con etanol y son las siguientes:

TABLA No.10 . CCI Ext. Etanólico Soluble en H₂O.

FRACCIÓN	MANCHAS	CARACTERÍSTICAS
1	2	amarillo-claro
2	2	amarillo
3	3	verde-clara
4	4	café-claro
5	4	café-oscuro
6	3	amarillo-claro

3.1.2.3.1 Compuestos obtenidos en la separación por CCI de SeEt.SolH₂O con inhibición bacteriana:

1.- Compuesto SeEtSolH₂O F-2:

De las fracciones de la columna invertida esta presentó inhibición bacteriana importante (halo de inhibición de 10 mm) y se separó precipitando con acetona un compuesto ceroso-ambar. Con un Pf=83-84°C y la CCD mostró una mancha azul al UV y con CoCl₂ de color violeta, con un Rf=0.93.

Pruebas Químicas:

Br = positivo,

FeCl₃ = positivo,

H₂SO₄ = positivo,

Molisch = positivo

Ehrlich = positivo,

AgNO₃ = positivo,

Legal = positivo,

A continuación se presenta la tabla de inhibición bacteriana , el diagrama de separación del Ex Se Et. y la tabla de identificación de grupos funcionales para las fracciones de Se Et.

TABLA No. 11 Inhibición bacteriana del Ext. Se. Etanólico de las fracciones obtenidas

Género - especie	F-1	F-2	F-3	F-4	F-5	F-6
<i>Salmonella typhi</i>	+	++	+	---	---	---
<i>Sigella disenteriae</i>	---	++	---	---	---	---
<i>Escherichia coli</i>	---	++	---	---	---	---
<i>Enterobacter aerogenes</i>	----	---	---	---	---	---
<i>Yersinia pestis</i>	---	++	---	---	---	---
<i>Proteus vulgaris</i>	+	+	---	---	---	---
<i>Listeria monocytogenes</i>	---	++	---	---	---	---
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	++	---	---	---	---
<i>Bacillus cereus</i>	+	+	---	---	---	---

Dosis extracto 50 microlitros.

Halo de inhibición : + = con un diámetro de 2.5 mm.

+ + = con un diámetro de 5 mm.

+ + + = con un diámetro de 10 mm

DIAGRAMA DE SEPARACIÓN DEL EXT. Se ETANÓLICO (macerado).

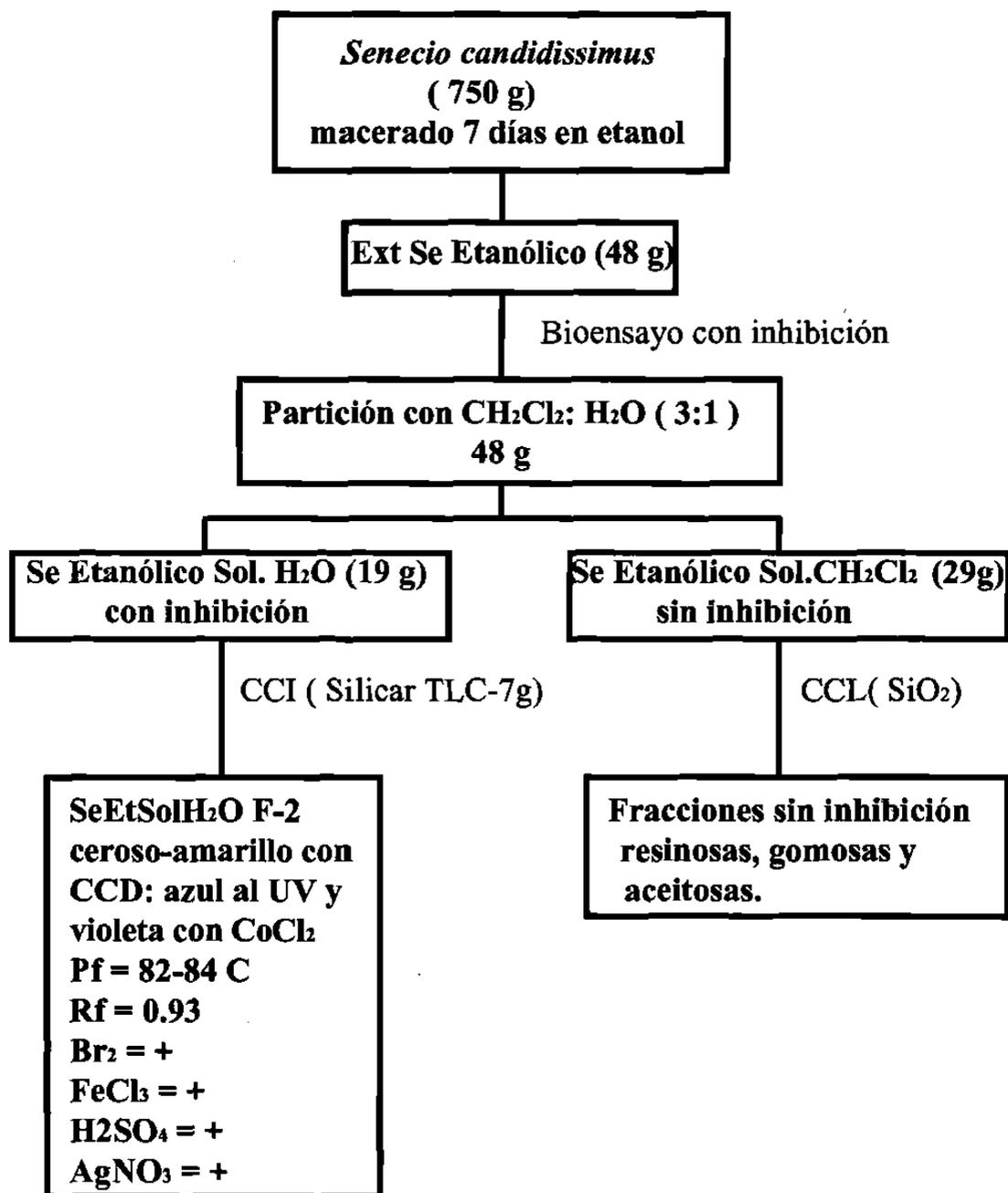


TABLA No.12. PRUEBAS QUÍMICAS PARA IDENTIFICACIÓN DE GRUPOS FUNCIONALES.

REACTIVOS	FRACCIONES Se Etilico						
	T	1	2	3	4	5	6
P. de ignición(arde es orgánico)	+	+	+	+	+	+	+
P. de Salkowski (esteroides)	+	---	---	---	---	---	---
P. de Liebermann- Burchard (triterpenos)	+	---	---	---	---	---	---
P. de Bromo (ac. carboxílicos no saturados)	+	+	+	+	+	+	+
P. KMnO ₄ (no saturados)	+	---	---	+	+	+	+
P. de FeCl ₃ (ac. carboxílicos y oxidrillos fenólicos)	+	+	+	+	+	---	+
P. de Shinoda (flavonoides)	+	---	---	+	+	---	+
P. de H ₂ SO ₄ (flavonoides)	+	+	+	+	+	---	---
P. de Molisch (azúcares reductores solubles)	+	+	+	+	+	+	+
P. de Fehling (aldosas)	+	---	---	---	+	---	---
P. de Yodoformo	+	---	---	+	---	---	---
P. de la espuma(saponinas)	+	---	---	---	---	---	---
P. de isonitrilo (aminas)	+	---	---	---	---	---	---
P. de Ehrlich (gpos. furanos) alcalino ácido	+	+	+	+	+	+	+
P. de Dragendorff, Wagner (alcaloides)	+	---	---	---	---	---	---
P. de Legal (sesquiterpenlactonas)	+	---	+	---	---	---	---
P. de Nitrato de Plata (ácidos grasos)	+	+	+	+	+	+	+
P. 2,4-DNFH (aldehídos y cetonas)	+	+	+	+	+	---	---
(carbonilos)	+	---	---	---	---	+	+
(acetales)	+	---	---	---	---	---	---
P. de Bornträger (naftaquinonas y antraquinonas)	+	---	---	---	---	---	---

3.1.2.4 Primera extracción con metanol de *Senecio candidissimus*:

El marco resultante de SeHex (480 g.) se sometió a una extracción metanólica en un extractor tipo Soxhlet durante una semana obteniéndose 72 g. de extracto metanólico, el cual se trató de la siguiente forma:

Primero se pusieron 72 g. de Ext.MeOH al cual se le agregó 300 mL de CH₂Cl₂ y 100 mL de H₂O, se agitó y se dejó en reposo por más de 6 hrs. separándose 3 fases:

- a).- Fase acuosa: soluble en H₂O de color obscura, dió positiva la prueba de inhibición (36 g.)
- b).- Fase orgánica: soluble en CH₂Cl₂ de color amarillo, no presentó inhibición (20 g)
- c).- Fase intermedia: insoluble en las dos fases anteriores , soluble en acetona; resina negra, pegajosa (16 g).

Se separaron las tres fases mediante un embudo de separación .

3.1.2.4.1 Separación fase orgánica SeMe:

La fase orgánica soluble en CH₂Cl₂ se llevó al rotavapor, obteniéndose 20 g. del extracto soluble en CH₂Cl₂, al que se realizó una CCD :

Eluentes: benceno: ciclohexano: cloruro de metileno : cloroformo: dioxano
(1:1:1:1:1)

TABLA No.13. CCD Ext Se Metanólico.

MANCHAS	VISIBLE	UV	VAP. DE YODO	CoCl ₂	Rf
1	amarillo	morado	café	violeta	0.94
2	----	verde	café	café	0.70
3	verde-claro	verde	café	negro	0.47
4	----	----	café	verde	0.35
5	----	----	----	violeta	0.23
6	verde	negro	negro	negro	0.05

Se montó una columna con gel de sílice 100-200 mallas (Universal Absorbents, Inc.) de 70x4.5 cm. en la proporción 1:15 (400 g. de sílica gel) previamente tapada con algodón y una vez empacado se agregó el extracto (mezclado en 60 g. de la misma sílica los 20 g. de extracto SeMeSolCH₂Cl₂).

TABLA No.14. CCL de SeMeSol. CH₂Cl₂.

Eluentes: CH₂Cl₂:MeOH

Fase estacionaria: Sílica gel 100-200 mallas(Universal Absorbents, Inc)

Fracciones de 150 mL cada una.

FRACCIÓN	ELUENTE	MANCHAS	CARACTERÍSTICAS
1 -- 11	CH ₂ Cl ₂	2	verde-aceitoso
12 - 23	CH ₂ Cl ₂ :MeOH (9:1)	2	verde-oscuro
24 -- 51	CH ₂ Cl ₂ :MeOH (7:3)	3	amarillo-resinoso
52 -- 67	CH ₂ Cl ₂ :MeOH (5:5)	3	amarillo-claro
68 -- 79	CH ₂ Cl ₂ :MeOH (4:6)	2	amarillo oscuro
80 -- 86	CH ₂ Cl ₂ :MeOH (3:7)	4	amarillo-verdoso
87 -- 95	CH ₂ Cl ₂ :MeOH (1:9)	2	café
96 -- 101	METANOL	2	amarillo-oscuro
102 - 106	DIOXANO	2	amarillo-claro
107 - 110	AGUA	2	amarillo-oscuro

Estas fracciones no presentaron actividad inhibitoria solo se usaron en cromatografía comparativa con los extractos que si inhibieron para tratar de observar diferencias en CCD

3.1.2.4.2 Separación Fase Acuosa de SeMe :

Se desarrolló una CCD en cromatoplasmas de sílica gel 60 F-254 para cromatografía en capa fina 5x10 cm. y con un espesor de 0.25 (Merck.).

Eluentes : benceno: cloroformo : metanol (4:5:1)

TABLA No. 15. CCD Ext.Se Me Sol H₂O.

MANCHAS	VISIBLE	UV	CoCl ₂	Rf	EHRLICH(Pas)*
1	---	azul	amarillo	0.94	---
2	---	verde	ambar	0.91	---
3	verde	rojo	verde	0.83	---
4	---	verde	violeta	0.77	---
5	---	naranja	verde	0.72	---
6	---	morado	amarillo	0.58	---
7	---	amarillo-rojo	gris	0.44	---
8	---	crema	verde	0.38	---
9	---	verde fuerte	café	0.33	---
10	---	celeste	café	0.22	---
11	---	verde	amarillo	0.16	---
12	-----	café	amarillo	0.08	---

* Reactivo específico para alcaloides pirrolizidínicos (22, 24).

A continuación tabla de inhibición bacteriana de SeMe Sol H₂O de las fracciones obtenidas.

TABLA No.16. INHIBICIÓN BACTERIANA DE Se Me Sol H₂O DE LAS FRACCIONES OBTENIDAS:

Rf=	0.33	0.38	0.44	0.58	0.72	0.77	0.83	0.91	0.94
<i>Salmonella typhi</i>	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+	++
<i>Shigella dysenteriae</i>	+++	++	+++	+++	+	++	+++	++	++
<i>Escherichia coli</i>	+	++	0	+	+	0	+	+	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	++	++	+	+	++	++	+	++	++
<i>Yersinia pestis</i>	+++	+	++	++	+	+	++	+	+++
<i>Proteus vulgaris</i>	+	+	+	0	0	+	+	0	+
<i>Listeria monocytogenes</i>	+	0	+++	+++	+++	++	+++	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	++	0	0	++	+	0	+
<i>Bacillus cereus</i>	++	0	0	+	0	0	+++	0	0

Dosis de 50 microlitros

Halo de inhibición:

+ = con un diámetro de 2.5 mm.

++ = con un diámetro de 5 mm

+++ = con un diámetro de 10 mm

3.1.2.4.2.1. Compuestos obtenidos en la separación por CCD de SeMeOHSol.H₂O . Con halos de inhibición de 10 mm de diámetro.

1.- Compuesto SeMeOHSol.H₂O F- 17:

De las fracciones de CCD en el sistema de eluentes: benceno:cloroformo: metanol (4:5:1) se obtuvo la fracción 17 , que al UV es de color rojo y amarillo-verdoso al revelar con CoCl₂, con un Rf= 0.83, polvo ligeramente verde, aromático. Con punto de fusión bajo (60° C).

Pruebas Químicas:

LB: positivo

KMnO₄: positivo

Br₂ = positivo,

Ehrlich = positivo,

AgNO₃ = positivo,

2,4-DNFH = positivo,

2.- Compuesto SeMeOHSol.H₂O F-11:

Esta fracción - 11, que al UV es verde fuerte y con CoCl₂ es rosa- morado con un Rf=0.33, polvo ambar-verde.con punto de fusión muy alto (380° C, cambio de color, no fundió por que el aparato detecta a 400 C).

Pruebas Químicas:

LB: positiva,

KMnO₄: positiva,

Br₂= positiva

Molisch = positiva,

Ehrlich = positiva,

Legal = positiva,

2,4-DNFH= positiva,

3.- Compuesto SeMeOHSol.H₂O F-14:

Fracción con un color al UV morado y al revelar con CoCl₂ es verde- rojizo, con un Rf= 0.58, polvo verdoso, con punto de fusión bajo (26°C).

Pruebas Químicas:

KMnO₄: positivo

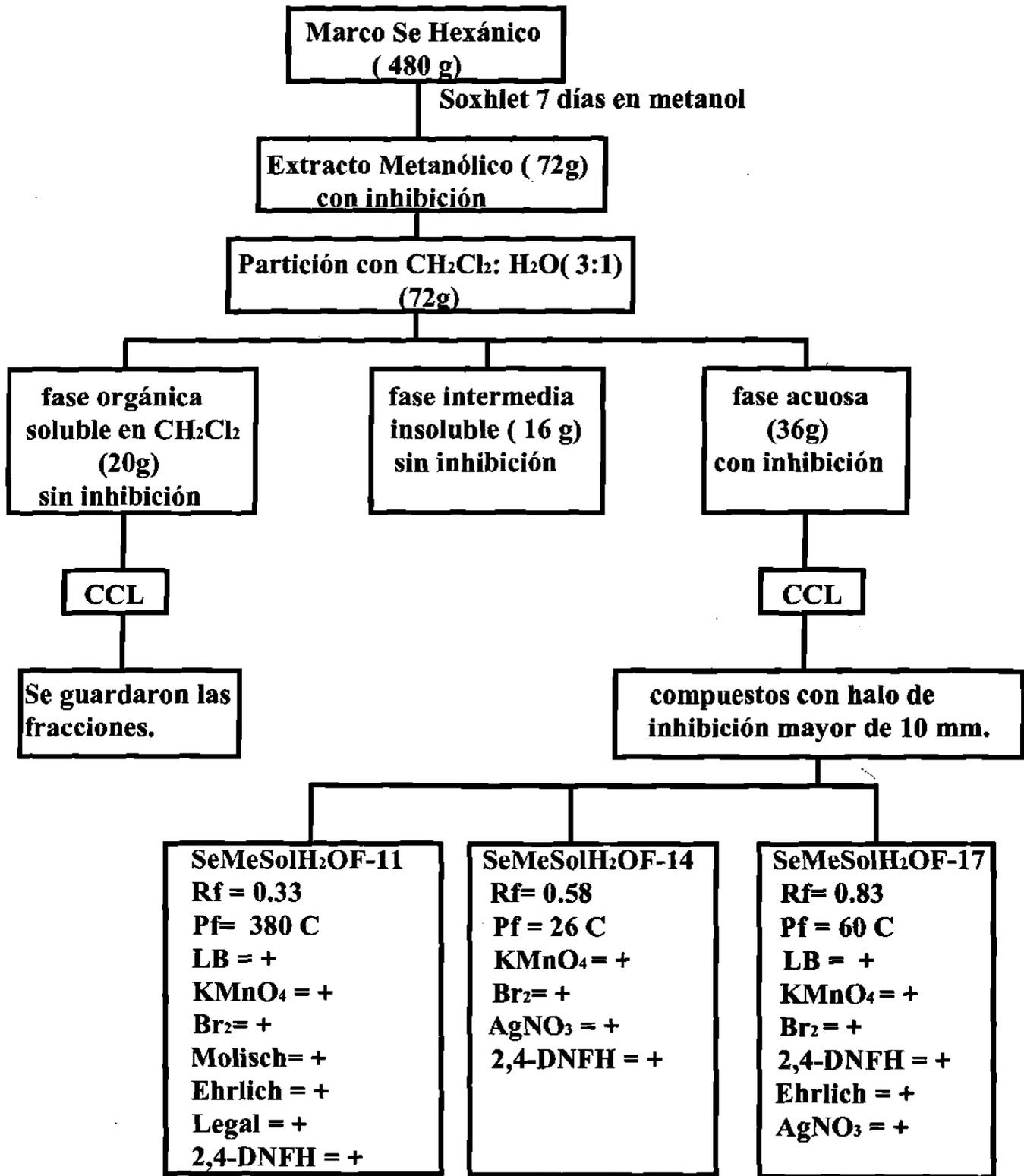
Br₂= positivo,

AgNO₃ = positivo,

2,4-DNFH= positivo

A continuación se presenta la secuencia de estudio y las pruebas químicas del Ex SeMeSolH₂O con sus fracciones.

SECUENCIA DE ESTUDIO DE *Senecio candidissimus* Extracto Metanólico.



3.2 EXTRACCIÓN ESPECÍFICA PARA ALCALOIDES PIRROLIZIDÍNICOS:

Debido a que es muy abundante el reporte de alcaloides pirrolizidínicos en el género *Senecio* o *Packera*, se procedió a realizar una extracción específica en la especie en estudio:

El material vegetal molido, seco y desengrasado previamente (con hexano), se extrajo con etanol. La solución se evaporó a sequedad (rotovapor) y el residuo obtenido se suspendió en una solución de amonio (5%). De esta mezcla se hizo una extracción con cloroformo, esta fase orgánica se mezcló con una solución de ácido clorhídrico al 5%, sin extraer ningún alcaloide en forma de sal. Por lo que la fase orgánica se descartó, se prosiguió con la solución acuosa que se alcalinizó y se mezcló con cloroformo, se llevó a sequedad y se realizó las pruebas siguientes: reactivo de Wagner, yodo(vapores), reactivo de Dragendorff modificado, realizandolos en los cromatogramas de capa delgada,; Son estos reactivos de uso general , se buscó uno específico para detectar Pas insaturados y sus N-óxidos en TLC(22,24). Las placas fueron tratadas con peróxido de hidrógeno para convertirlos de bases a N-óxidos, después con el anhídrido acético asperjado y se ponen a 230 C por 8 minutos, a continuación se trató con el reactivo de Ehrlich, a 230 C por 8 minutos, sin aparecer ninguna mancha azul o magenta en la placa, las cuales indican la presencia de Pas y sus N- óxidos (22,24). Por lo que se considera negativa para Pas.

4 DISCUSIÓN y RESULTADOS

SeHex F-1 (ppdo):

Polvo ceroso blanco (Tabla No. 6 y 7) de $P_f=90^\circ$ C (bajo). En la prueba de Bromo y $KMnO_4$ no existen dobles enlaces. En la prueba de Legal es positiva para sesquiterpenlactonas, lo mismo que la de Salkowski y H_2SO_4 para esteroides y triterpenos. La prueba para cumarinas fué positiva, tiene aroma mentolado. En las reacciones coloridas en CCD. al UV morado, y amarillo al visible (cumarina) después de revelar con $CoCl_2$. Es para ácidos grasos positivo. Se comprobó la presencia de una cumarina, por dar coloración amarilla en solución alcohólica alcalina, desapareciendo al acidular. Tiene una lactona (positiva en $NaOH$), no hay OH fenólicos (negativo $FeCl_3$), ni grupos furanos (Ehrlich negativo). En el espectro IR (espectro No. 1, muestra señales a 3447 de O-H, a 2962, 2918 y 2850 de C-H, a 1737 de una lactona alfa beta saturada, a 1262 da un estiramiento de C-O, a 1097, 1022 da un OH primario o secundario y a 802 da una deformación del C-H. El hecho de que el compuesto de positiva la prueba de Salkowski, Legal y H_2SO_4 se puede inferir que se trata de un terpeno con presencia de una lactona alfa beta saturada con OH.

SeHex F-1:

Por su característica cerosa, su bajo punto de fusión (58° C) y la CCD positiva para ácidos grasos (Tabla No. 6 y 7) con aroma mentolado, se sospecha de un triterpeno ó esteroide, no tiene OH fenólicos ($FeCl_3$ negativo), ni grupos carbonilo (2,4-DNFH negativa), negativo para cumarinas. La prueba de LB (esteroides), Fehling (azúcares) y la de la espuma (saponinas), fueron negativas. La prueba de Legal, Salkowski, y H_2SO_4 fueron positivas para esteroide. La prueba de Baljet negativa. Se sospecha de una sesquiterpenlactona alfa beta saturada. En CCD (cloroformo:metanol 9:1) y como agente cromogénico, ácido sulfúrico al 50% al calentar se observaron coloraciones rojo, verde y negro, lo cual confirma su presencia.

SeHex F-2:

Compuesto ceroso amarillo sin aroma con un punto de fusión bajo (58° C): En la prueba de Salkowski (Tabla No. 6 y 7) positivo para triterpenos y también la de Legal para sesquiterpenlactonas. En la prueba del H_2SO_4 indica presencia de terpenos, pero no hay hidroxilos ($FeCl_3$ negativo) y la prueba de Tortelli-Jaffe es negativa para esteroides, no tiene doble enlaces (Br_2

y KMnO_4 negativo) por lo que podría ser una sesquiterpenlactona saturada que no tiene doble enlace. En la CCD no presentan flavonoides, alcaloides, azúcares, quinonas, coumarinas. En el espectro IR (espectro No.2) muestra bandas a 3419 (OH), 2955, 2918 (CH_2 y CH_3), 1736, 1716 (presencia de una lactona alfa , beta saturada $\text{C}=\text{O}$), 1472, 1416, 1373 (CH_3), 1220 (alcohol primario o secundario), 730, 720 (C-H azúcares). Se trata de un compuesto de tipo terpeno lactona con OH.

SeHex F-3:

Compuesto ceroso ambar con punto de fusión bajo (100°C) Positivo en la prueba de Salkowski (Tabla No. 6 y 7) para triterpenos y Legal para sesquiterpenlactonas. En H_2SO_4 es positivo , también para cumarinas. En la CCD (cloroformo:metanol 9:1) aparece una mancha naranja con el reactivo de Ehrlich, se deduce presencia de una lactona. Al IR muestra las siguientes bandas a 3444 (OH), 2918, 2850 (CH_2 y CH_3); 1769, 1737 ($\text{C}=\text{O}$), 1714 ($\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$), 1463 (C-H), 1382. (CH en CH_2), 1261, 1116, 1099 (estiramiento C-O) , 1044 (OH primario o secundario). Se trata de una terpeno lactona saturada con OH.

SeHexF-4:

Compuesto ceroso amarillo aromático (cítrico) con punto de fusión bajo ($60-62^\circ\text{C}$), positivo (Tabla No. 6 y 7) para sesquiterpenlactonas (Legal), no tiene hidroxilos (FeCl_3) y negativo en la prueba de Tortelli-Jaffe deduciendo que ~~no~~ es un esteroil. En CCD positivo en AgNO_3 por lo que se sospecha de una sesquiterpenlactona., que se confirma al IR con las señales más significativas a 3419 (OH), 2919, 2850 (C-H en CH_2 y CH_3), 1770, 1739 ($\text{C}=\text{O}$), 1463 (C-H), 1384, 1338, 1258 y 1230 (estiramiento C-O), 1156, 1098 (alcohol primario), 1042 (alcohol primario o secundario), 972 (C-H, azúcares). Se trata de un compuesto terpeno lactona saturada con OH.

SeEt.Sol.H₂O F-2:

compuesto ceroso ambar con punto de fusión bajo ($83-84^\circ \text{C}$). En la CCD mostró una mancha azul al UV. En la prueba de Br_2 (Tabla No. 11 y 12) positivo dobles enlaces con oxhidrilos fenólicos (FeCl_3), presencia de grupos furano (Ehrlich). Prueba de Legal es positiva, también la de AgNO_3 . Se trata de un ácido graso .

SeMeOHSol.H₂O F-11:

Polvo aroma cítrico dulce de color ambar. Positivo para LB (Tabla No. 16 y 17) se sospecha la presencia de (para esteroides dió negativo Tortelli-Jaffe) terpenos con dobles ligaduras (Br₂ y KMnO₄ positivas), La prueba de Molisch(azúcares) positivo, negativa la prueba de Fehling y Yodoformo, tiene grupos furanos (Ehrlich positiva) y Sesquiterpenlactonas también es positiva (Legal). Pf=380° C. En CCD revela con CoCl₂ da color rosa-morado y al UV es de color verde. Se sospecha de un ácido graso terpenoide con dobles ligaduras.

SeMeOHSol.H₂O F-14:

Polvo ceroso amarillo verdoso (Tabla No. 16 y 17) con punto de fusión bajo(26° C) con dobles ligaduras (positivo Br₂ y KMnO₄) , en CCD positivo para ácidos grasos en nitrato de plata y positivo en aldehidos y cetonas (2,4-DNFH), al UV morado y al revelar con CoCl₂ da color verde-rojizo. Se sospecha de un ácido graso terpenoide con dobles ligaduras.

SeMeOHSol.H₂O F-17:

Polvo ceroso verde claro, aroma dulce con dobles ligaduras (Tabla No. 16 y 17) (Br₂ y KMnO₄) positivo para LB por lo que se sospecha de un ácido graso terpenoide, (Tortelli-Jaffe negativo para esteroides), con presencia de grupos furanos (Ehrlich positivo) y grupos aldehidos y cetonas (positivo 2,4-DNFH). Con Pf. bajo (60° C). En CCD con AgNO₃ presencia de ácidos grasos, al UV de color rojo y revela con CoCl₂ de color amarillo verdoso. Se sospecha de un ácido graso terpenoide con dobles ligaduras y presencia de grupo furano.

5. CONCLUSIONES

Los compuestos encontrados si presentan relación con las propiedades farmacológicas atribuidas tanto para uso externo por la actividad bactericida, como interno por la presencia de ácidos grasos, como hipótesis, éstos ácidos grasos sirven de protección a la mucosa del tracto digestivo , con lo que disminuyen las molestias e inflamación en problemas de gastritis, colitis, hemorroides, etc.

Las pruebas de inhibición bacteriana realizadas in vitro muestran que la acción bactericida se incrementa al actuar en sinergia. Los compuestos activos se localizan principalmente en las hojas

BIBLIOGRAFÍA:

- 1.- Barrero A.F., Sánchez J.F. y Manzaneda A.R. 1988. Di-*o*-acyl derivados del *Senecio nebrodensis*. *Phytochemistry*, 4(8):1191-1193.
- 2.- Bohlmann.F. 1990. Derivados del cacol de especies de *Senecio dominicanus*. *Phytochemistry* 29(10):3163-3165.
- 3.- Bohlmann-F. 1981. Derivados del cacalol del *Senecio lydenburgensis*. *Phytochemistry* 21 (3): 681-684.
- 4.- Bohlmann-F. 1981. Seco-eremofilanos de *Senecio macrotis*. *Phytochemistry* 20 (5):1155-1157.
- 5.- Bohlmann F. 1977. Alcaloides en especies de *Senecio*. *Phytochemistry* 16 (7): 965.
- 6.- Borstel K.V, Witté L. y Hartmann T. 1989. Alcaloides pirrolizidínicos de *Senecio vulgaris*, *S. Vernalis* y sus híbridos. *Phytochemistry* 28(6): 1635-1638.
- 7.- CIQA. 1985. Los productos de las plantas; una visión integral. Vol 1. Saltillo, Coah. Mexico.
- 8.- Cuidugli, F.H., Pestchanker MJ. Salmeron MSA y Giordano O.S. 1-Hidroxiplatifilidina, norsesquiterpenlactona de *Senecio galliesiano* *Phytochemistry* 25 (8):1923-1926.
- 9.- Diaz, J.L. 1979. Ethnopharmacology and taxonomy of mexican psychodysleptic plants. *Journal of Psychedelic Drugs*. 11,71-101.
- 10.- Dominguez, X.A. 1979. Fitoquímica. Edit. Limusa, Mexico, pp 94.
- 11.- Dominguez, X.A., 1982. Química Orgánica Experimental. Edit. Limusa, Mexico, pp. 79-106.
- 12.- Drewes, S.E. 1985. The long of *Senecio*, aljaloids. *Suid-Afrnkaanse tyds knif vir wetenskap*. 81,455-456.
- 13.- Freeman. S. 1981. Revisión de *Senecios* de Norteamérica. Kansas State

University, USA

- 14.- Gelbaum. 1982 .Algunos alcaloides en *Senecio vulgaris*. J.Nat. Prod. 45: 370.
- 15.- Glasby, J.S. 1976. Enciclopedia de los alcaloides. Vol.3 Plenum Press Inglaterra.
- 16.- Hegnauer R. 1989. Chemotaxonomie der pflanzen band 8 Birkhäuser Verlag.Germany. pp 260-319.
- 17.- Jakupovic J., Grenz M., Niemeyer HM 1991. Furoeremofilanos y otros constituyentes de especies de *Senecio* chilenas. Phytochemistry 30 (8): 2691-2693.
- 18.- Jares A.E, Tettamanzi M.C. 1990. Sitosterol 3-*O*-*B*-*D*-glucuronofiranósido del *Senecio bonariensis* .Phytochemistry 29(1):340-341.
- 19.- Lawrence ,G. 1951. Taxonomy of vascular plants. The Macmillan Co.
- 20.- Lewis, H.W. 1977. Medicinal Botany. John Wiley & Sons Publication. USA. pp. 374.
- 21.- Lietava, J.A. 1992. Medical plants in a middle paleolithic grave shanidar IV. Elsevier Scientific Pub.. Journal of Ethnopharmacology, 35, 263-266.
- 22.- Manske, R.H.F. Holmes, H.L. 1950 The Alkaloids, Chemistry and Physiology. Academic Press .USA pp.246-324.
- 23.- Mansour R. 1981. Flavonoides de 3 *Senecios* locales, 2 isorhamnetina glicósidos. *Senecio gallicus*. *S. noggariensis* y *S vulgaris*. Phytochemistry 20(5):1180-1181.
- 24.- Martz W. y Habermehl G.G. 1989. Un nuevo inhibidor del NADH-dehidrogenasa del *Senecio leptolobus*. Phytochemistry 28(9):2311-2313.
- 25.- Mattocks A.R. 1986. Chemistry and Toxicology of Pyrrolizidine Alkaloids. Academic Press USA..

- 26.- Mayo, W.D.1991. Microscale, techniques for the organic laboratory, John Wiley & Sons, Inc. USA. pp. 104-150.
- 27.- Mayo W.D., Pike M.R. y Trumper K.P. 1994. Microscale Organic Laboratory 3 De.1994. John Wiley & Sons, Inc USA. pp 73-104.
- 28.- Nathan, J. 1990. Oplopanos en hojas de *Senecio mexicanus*. Phytochemistry. 29(3):977-979.
- 29.- Pereda R.M.,Bye R.,Bah M.1993. Hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids in the Mexican medicinal plant *Packera candidissima*(*Asteraceae* : *Senecioneae*). Journal of Ethnopharmacology (Elsevier) 43:19-30.
- 30.- Pio F.Q. 1990. Plantas Medicinales. Ed. Labor, España. pp 829.
- 31.- Reader 's Digest.1986. Plantas Medicinales. Mex. pp 305.
- 32.- Roeder E.y Liu K.1991. Alcaloides pirrolizidínicos del *Senecio integrifolius* var. *fauriri* . Phytochemistry 30(5):1734-1737.
- 33.- Romo A.V.1985: Productos Naturales de La Flora Mexicana.Ed.Limusa Mexico .pp.72.
- 34.- Ruiz O.1966.Tratado Elemental de Botánica. Eclalsa. Mex. pp.676.
- 35.- Urones-Barcala.1988. Alcaloides pirrolizidínicos de *Senecio gallicus* y *S. adonidifolius*. Phytochemistry 27 (5): 1507.
- 36.- Urones G.J.,Teresa J.P. Marcos S. I.,Moro F.R. Barcala B.P. y CuadradoS.J. 1987. Acetofenonas y terpenoides de *Senecio gallicus* Phytochemistry 26 (4): 1113-1115.
- 37.- Villarroel L.1987 Revista Latinoamericana de Química,Vol.18(2):73-74.
- 38.- Vlastimil T.1990. Chromatographic analysis of alkaloids. Ed. Jack Cazes. USA. pp.590.
- 39.- Wagner et al. 1990. Chromatographic Analysis of Alkaloids; Milan Edit. Marcel Dekker Inc. pp. 296.

