

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA

UNAN - LEON

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



Determinación de la actividad biológica de cinco especies vegetales:
Talisia nervosa, *Cyclanthus bipartitus*, *Selaginella artrítica*,
Tetragastris panamensis y *Crisophila warscewiczii* en Cisticercos
de *Taenia solium*.

MONOGRAFÍA PARA OPTAR AL TITULO DE LICENCIADO EN QUIMICO
FARMACÉUTICO.

Integrantes : Br. HUGUETTE MONTERREY VANEGAS
Br. LEONOR ZAPATA ESCOBAR
Br. JASSIEL VARGAS LACAYO

TUTOR:
LIC. KELVIN NUÑEZ M.

LEON, 29 DE ABRIL DEL 2003.



INDICE

Dedicatoria.....	2
Agradecimientos.....	5
Objetivos	6
Introducción.....	7
Marco Teórico	8
Hipótesis	59
Material y Método	60
Material y Equipo	70
Resultado	72
Análisis de Resultado.....	88
Conclusiones	89
Recomendaciones	90
Bibliografía	91
Glosario	93



DEDICATORIA

A Dios mi Señor y a la virgen santísima por haber estado siempre conmigo acompañándome en los buenos y malos momentos, darme las fuerzas necesarias para reconfortarme cuando me sentía derrotada, haber conocido a todas las personas que con su buena voluntad ayudaron a coronar mi carrera y haberle prestado vida y fuerza a mis padres para ver culminado su sueño.

A mi hija *Maria Guadalupe* por ser la razón de mi vida. Con sus defectos y virtudes. Gracias hija.....

A mis *Padres: Dr.* José D. Monterrey y Sra. Miriam del Socorro Vanegas por su sacrificio y por haberme impulsado a ser alguien en la vida.

A mis *Amigas y Amigos*, por su tolerancia, fuerzas y comprensión.

Huguette G. Monterrey V.



DEDICATORIA

A Dios. por darme la vida, la esperanza de seguir adelante y la fe de llegar a donde él desee que llegue.

A mi Madre. Josefa Argentina Lacayo Roque, por darme su amor, cariño, ternura comprensión, consejos, apoyo incondicional y por ser el centro de mi inspiración.

Jassiel Vargas Lacayo.



DEDICATORIA

A Dios: por darme acierto al empezar, dirección al progresar y perfección al acabar.

A mis Padres: Eddy Zapata y Margarita Escobar, que con sus esfuerzos y su apoyo incondicional contribuyeron a mi formación profesional.

A mis Hermanos: Nolan Zapata Y Eddlixia Zapata, por su compañía y motivación.

A mis Amigas y amigos: por su amistad y su animos para continuar .

A Hemerix Cortez: Por estar siempre a mi lado y brindarme su cariño.

Leonor Zapata Escobar.



AGRADECIMIENTO

A Dios nuestro señor: por habernos dado fuerzas para alcanzar y ver culminado este sueño, por todas las bendiciones a lo largo de nuestro caminar, Bendito seas señor por haber sido en fuerte de donde prestábamos fuerzas cuando las nuestras fallaban y más aún por estar con nosotros compartiendo este maravilloso y ansiado momento.

A nuestros padres: por el inmenso esfuerzo realizado para la culminación de nuestros estudios, por los buenos momentos e impulsarnos hasta el final.

A nuestro Tutor. Lic. Kelvin Núñez M. por su dedicación esmero y apoyo incondicional para la realización de nuestra Tesis.

Al personal del Rastro Municipal de León por habernos proporcionado desinteresadamente la obtención del animal infectados con Cisticercos.

Al Departamento de morfología, en especial al Lic. Gustavo Vanegas Ardilas, por haber colaborado en la realización científica de nuestra monografía.

Al Departamento de análisis de la Facultad de Ciencias Químicas

Al Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Medicas, especialmente a Lic. Aleyda Téllez, jefa del Departamento, por haber colaborado del ensayo en Cisticercos de *Taenia solium*.



TEMA

Determinación de la actividad biológica en cinco especies vegetales: *Talisia nervosa*, *Cyclanthus bipartitus*, *Seladinella artritica*, *Tetragastris panamansis* y *Crisophila warscewiczii* con cisticercos de *Taenia solium*.



INTRODUCCIÓN

Las plantas se han utilizado desde siglos como agentes terapéuticos, en este continente los nativos por su curiosidad innata conocieron los productos naturales, al igual que su necesidad por dar respuesta a las múltiples enfermedades que le han aquejado. Sin embargo, todo este uso tradicional sé ha enmarcado siempre en un sistema mucho más complejo que implica practicas culturales, alimenticias, religiosas y mágicas a las que están indisolublemente ligadas. Hoy en día esta practica terapéutica naturista continua vigente en nuestros pueblos, en donde un 70% de las prescripciones medicas están representadas por plantas medicinales y es por estos beneficios que se han intensificado las investigaciones científicas para extraer y separar sustancias con actividad biológica o terapéutica, de ahí las alternativas para el cuido de la salud.

Existen muchas clases o categorías de sustancias naturales producto del metabolismo vegetal que se han clasificado según su origen características químicas, similitud estructural, molecular o su acción farmacológica. Todo este potencial que las plantas han demostrado podemos desarrollarlo, no solo, como medio de subsistencia, si no, valorarlos sobre la disponibilidad de fuentes de conocimientos que conlleven a una ruta para nuevos y mejores medicamentos.

De esta manera se justifica la búsqueda a través de la realización del ensayo, para determinar la actividad biológica en las especies vegetales a estudio, con el fin de encontrar una alternativa en favor de la disminución de la prevalencia de la enfermedad (Cisticercosis) y de esta manera contribuir a la salud de la población.



OBJETIVO GENERAL

- ❖ Determinar la actividad biológica de cinco especies vegetales *Crysophila warscewiczii*, *Cyclantrus bipartitus*, *Selaginella artrítica*, *Talisia nervosa*, *Tetragastri panamensis*, en cisticerco de *Taenia solium*.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- ❖ Elaborar extractos hidroalcoholicos de las muestras sometidas al ensayo, *Crysophila warscewiczii*, *Cyclanthus bipartitus*, *Selaginella artrítica*, *Talisia nervosa*, *Tetragastri panamensis*.
- ❖ Realizar fraccionamientos a fin de obtener extractos puros, con disolventes apropiados, cloroformo y hexano, para la realización del ensayo.
- ❖ Realizar pruebas de caracterización a los extractos en estudio.



BIODIVERSIDAD

Las condiciones ecológicas, geográficas y culturales de los países del trópico hacen de esta región un terreno fértil para planificar y ejecutar acciones que revaliden las practicas tradicionales e introduzcan nuevos enfoques en la producción, industria, desarrollo y atención de la salud de sus pobladores con alternativas terapéuticas. Latinoamérica es una región privilegiada por su biodiversidad, ecosistemas, ubicación geográfica y riqueza cultural heredada de sus antepasados.

La biodiversidad es uno de los elementos más importantes para el sustento de la vida, a partir de la adopción de práctica inadecuadas, no sólo, están desapareciendo especies valiosas, sino ecosistemas enteros, y quizás el primer hecho a comprender es que no solo somos custodios de la biodiversidad, si no también generadores de la misma, tanto con las plantas medicinales como de las semillas, crianza, adaptación, experimentación, multiplicación y traslado de las plantas y animales, todo esto a generado una impresionante diversidad biológica que es la que nos permite el presente subsistir.

PRINCIPALES FACTORES DE PERDIDA DE BIODIVERSIDAD.

Las causas principales de la extinción de especies y ecosistemas en Nicaragua, tienen su origen en los estilos de desarrollo y los ecosistemas tecnológicos que se utilizan en el proceso de incorporación de los ecosistemas naturales, al desarrollo de la sociedad.



Estos ecosistemas sufren modificaciones profundas en su estructura, composición y dinámica, perdiendo consecuentemente muchos elementos de la biodiversidad biótica. Dentro de los principales factores tenemos:

1. Destrucción y transformación del hábitat natural, principalmente por la remoción de la cobertura vegetal natural en áreas silvestres o por la introducción de especies exóticas.
2. Aprovechamiento directo de las especies vegetales y animales a niveles insostenibles.
3. Sobre explotación extractiva de recursos naturales sobre todo en el caso particular de las plantas medicinales nativas o de caza y pesca indiscriminada.
4. Extrema pobreza que lleva a la destrucción de los ecosistemas.
5. Pérdida de prácticas tradicionales y de sistemas productivos en equilibrio con la naturaleza.

Existen, además, ventajas y desventajas que deben ser consideradas en el proceso de biodiversidad, las cuales entran en juego para la conservación de las diferentes especies.

Ventajas.

1. Al comparar la biodiversidad con los aspectos botánicos en la selección de plantas, existe mayor descubrimiento de especies vegetales.
2. El proceso de obtención de las especies es más rápido, si se compara con el alcance etnomédico.



3. No es necesario el conocimiento exacto de la distribución ecográfica y Precisión en la identificación taxonómica del vegetal que puede ser realizado posteriormente.
4. Al hacer uso de la biodiversidad, la química taxonómica, facilita el descubrimiento de nuevos componentes presentes en las especies.

Desventajas.

1. Avance de la frontera agrícola, esto significa que cada vez se destruyen mas ecosistemas para ocupar territorios con mono cultivos.
2. El impacto ambiental de las grandes obras: represas, caminos, carreteras.
3. Deforestación a causa de la gran presión comercial ambiental, ejercida por las grandes empresas madereras, lo que lleva a reemplazar el bosque nativo por especies exóticas de crecimiento rápido.
4. Ausencia de información sobre los beneficios de los ecosistemas biodiversos.
5. De un 65-75% de las especies vegetales son indígenas de selvas tropicales, la distancia y desarrollo humano no permiten la expansión de las biodiversidades.



SCREENING

Para la medicina moderna se han usado muchas drogas con principios activos medicinales. El objetivo del screening es de reducir a un número manejable el conjunto de los extractos vegetales para efectuar sobre estos el fraccionamiento guiado por los bioensayos para encontrar el o los compuestos de interés.

La estrategia de Screening comprende por lo general dos etapas: **Screening primario** y **Screening secundario** o de orden superior. Cada una de las etapas implica la realización de uno o mas ensayos de actividad biológica(bioensayo). Ambas etapas poseen el mismo objetivo anteriormente expuesto.

Etapas del screening:

- ❖ **Primario:** el bioensayo utilizado para el **Screening primario** debe reunir las siguientes características:
 1. Ser de amplio espectro, se debe detectar una amplia gama de actividades biológicas.
 2. Tener alta capacidad para permitir el procedimiento simultaneo de muchas muestras.
 3. Rápido.
 4. Utilizar poca cantidad de muestra.
 5. Ser sencillo, económico y capaz de producir la actividad biológica buscada.



En la década de los sesenta los ensayos estándar para evaluar drogas potenciales se basaban en suministrar el material en estudio a animales de laboratorios y observar si estos permanecían enfermos y eventualmente morían o si mostraban algún otro cambio en su comportamiento o estado de salud. Este tipo de Screening era de respuesta lenta, de elevado costo de resultados imprecisos. Actualmente, los bioensayos (que frecuentemente están automatizados) son mucho más rápidos, económicos y significativamente más precisos, los estudios en animales de laboratorios y eventualmente en seres humanos se reservan para etapas posteriores más especializadas.

Los extractos que poseen actividad biológica en el screening primario pasan a ser analizados en el screening secundario. Este emplea bioensayos más específicos, que generalmente son de menor capacidad, de respuesta más lenta y tienen mayor complejidad y costo que los bioensayos primarios. Con los extractos vegetales que demuestran actividad en esta segunda etapa se efectúa el fraccionamiento guiado por bioensayos a fin de detectar el o los compuestos responsables de dicha actividad. Este fraccionamiento utiliza un bioensayo denominado monitor, que tiene las características de un bioensayo primario (sencillo económico de alta capacidad y respuesta rápida) y que frecuentemente es el mismo con que se realizó el Screening primario. Actualmente, a nivel industrial, los procedimientos de Screening son efectuados por analizadores automatizados de alta capacidad, que permiten el procesamiento muy rápido de una gran cantidad de muestras. Una vez que los compuestos con actividad biológica son aislados, se determina su estructura y se someten a estudios detallados y específicos que se efectúan *in vivo*, y son de baja capacidad, alto costo y respuesta lenta.



Estos estudios incluyen, por lo general, la determinación de la farmacocinética (que permite conocer el modo y la velocidad de distribución de la droga) y la toxicidad de la droga. Luego de esta etapa, las moléculas promisorias pueden ser modificadas químicamente en el laboratorio, si se considera que esto puede conducir, por ejemplo, a aumentar su actividad o disminuir su toxicidad. Finalmente, se realizan los ensayos preclínicos y clínicos.

- ❖ **Secundario:** En esta etapa se emplean bioensayos más específicos, que generalmente son de menor capacidad, de respuesta más lenta, mayor complejidad y mayor costo que los bioensayos primarios. En este tipo de estudio la actividad biológica demostrada por los compuestos son aislados, determinándose su estructura y se someten a estudios detallados y específicos que se efectúan *in vivo*. En estos estudios por lo general, se da la determinación farmacocinética y de la toxicidad de la droga. Posteriores a esta etapa las moléculas promisorias pueden ser modificadas químicamente en el laboratorio, si se considera que esto puede conducir a aumentar su actividad o disminuir su toxicidad. Finalmente se realizan los ensayos preclínicos y clínicos. La estrategia de análisis descrita, disminuye paulatinamente el número de plantas y compuestos bajo estudio, lo que representa un enorme ahorro de esfuerzos, tiempo y recursos.



PROCESOS PARA LA EXTRACCIÓN Y OBTENCIÓN DE LA DROGA.

Para la realización del estudio es importante considerar que la materia prima o materia vegetal seca, debe ser sometida a procesos de secamiento y estabilización. El secado del material en cuestión interrumpe los procesos enzimáticos en las células vegetales e impide el crecimiento de microorganismos, facilitando el almacenamiento y transporte de este material sin riesgo de deterioro.

Luego de haber sido sometido el material vegetal a la primera etapa del estudio es importante considerar el tipo de extractos con los que hemos de trabajar, conociendo que estos extractos vegetales se clasifican, según su consistencia en: fluidos, blandos y secos. Como su propio nombre lo indica los fluidos son líquidos y corresponden, en general, a la droga seca en proporción 1:1. Para el análisis, determinación, ensayos y aislamiento de cualquier tipo de planta es primordial que ésta sea sometida a las operaciones de molienda, extracción, concentración, purificación y secado.

MOLIENDA O PULVERIZACIÓN.

La molienda tiene como objetivo, la disminución del tamaño de las partículas de la droga vegetal, para adecuarla a la etapa siguiente del proceso de extracción. La extracción de una droga entera o dividida en fragmentos gruesos sería incompleta, debido a la pobre penetración del solvente en el tejido vegetal. En el caso específico de la droga previamente dividida, tales membranas se encuentran parcialmente destruidas, facilitando la disolución de los constituyentes celulares en el líquido externo.



Sin embargo, la división excesiva, con formación de polvo muy finos, causa problemas en el transcurso de la extracción. Ej: En el caso del proceso de precolación existe compactación del polvo, lo que dificulta el paso del solvente, dando como resultado una extracción incompleta de la droga. En el caso de la maceración las partículas muy finas pueden pasar al extracto dando a este una apariencia turbia. La filtración de estos extractos es muy difícil, lenta y se necesita adicionar auxiliares de filtración. Un procedimiento que antecede a la molienda es la selección para aislar las impurezas. En este proceso se separa manualmente los materiales extraños como: pedazos de madera, metal o materiales de otra naturaleza. La droga molida se clasifica de acuerdo con el tamaño de las partículas, el cual debe ser adecuado para el proceso de extracción. La operación de la molienda debe ser seguida por el tamizaje del material obtenido para adecuarlo al tamaño deseado.

La selección del equipo para la molienda está en función de la naturaleza de la droga vegetal y del tamaño de partículas del polvo que se pretende obtener. La reducción del tamaño de las partículas se consigue básicamente, utilizando dos mecanismos: El corte y la trituración.

Los molinos de cuchillas, que se utilizan para el corte son los mas indicados para la mayoría de las drogas vegetales: hojas, tallos, corteza y raíces y los molinos utilizados para la trituración son los mas indicados para las drogas desmenuzables y para las que contienen resinas. El proceso de molienda involucra generación de calor, lo que puede producir una pérdida de los componentes volátiles como aceites esenciales y causar una cierta obstrucción de los tamices. Para evitar la pérdida de los componentes volátiles, el material que va a ser molido debe ser enfriado con nitrógeno o dióxido de carbono líquido, siendo necesario enfriar también el molino. Aunque el proceso es caro, su uso se recomienda principalmente, en la producción de las oleorresina.



EXTRACCIÓN

Consideraciones iniciales.

Antes de iniciar un proceso extractivo en una escala piloto, se debe definir la selectividad del solvente a ser usado en el proceso. Dependiendo del propósito al que se destine se pueden obtener:

- ❖ Extractos cuya composición química, contienen la mayor parte de los constituyentes químicos de la planta.
- ❖ Extracto con compuestos químicos con una determinada característica.

Para el primer caso se utilizan solventes de naturaleza general, de alta polaridad como el alcohol etílico o el metanol. Para el segundo caso se emplea un solvente selectivo de menor polaridad, como el hexano que solo extrae de las plantas las grasas y otros compuestos apolares.

La materia prima vegetal en la industria de los fitofármacos está representada por la droga seca, de esta manera, la droga se pone en contacto con el solvente y se inicia un proceso opuesto al proceso de secado, que tiende a reconstituir el estado original de las células. Inicialmente el solvente penetra en la célula vegetal y expelle el aire contenido en el citoplasma, dándose inicio al proceso extractivo. La penetración del solvente en la célula induce un momento dipolar en las moléculas de los compuestos que van a ser extraídos. La capacidad de asociación puede expresarse en términos de la constante dieléctrica.



En el proceso de escogencia de un solvente determinado es necesario considerar aspectos relacionados con la selectividad, la facilidad de manipulación, el precio, la seguridad y los riesgos en cuanto a una posible contaminación ambiental, sin embargo el aspecto a ser considerado es el grado de toxicidad del solvente.

Estado de división de la droga.

La eficiencia del proceso extractivo sería mayor cuanto menor sea el tamaño de la partícula, ya que así se obtiene una mayor área de contacto con el solvente. La penetración del solvente en fragmentos mayores de la droga, es lenta y la salida de las sustancias extraíbles es difícil, por esta razón se recomienda la utilización de polvos con un tamaño de partículas moderadas en las mayorías de la drogas, para facilitar su extracción.

Agitación.

Permite que nuevas cantidades del solvente penetren en las sustancias extraíbles, entrando en contacto con el sólido, permitiendo un nuevo punto en el equilibrio de saturación.

Temperatura.

De la misma manera que la agitación, la temperatura contribuye al desplazamiento de la constante de equilibrio de saturación aumentando la eficiencia del proceso, sin embargo, muchos principios activos son termolábiles y pueden ser destruidos total o parcialmente a temperaturas elevadas. El aumento de la temperatura puede causar la pérdida de sustancias volátiles. Ej: los componentes de aceites esenciales.



pH.

El pH influye en la solubilidad de diversos compuestos ya que permite la posibilidad de formación de sales.

Naturaleza del solvente.

Entre los solventes generales los más utilizados son los alcoholes alifáticos de hasta tres carbonos o mezcla de estos con el agua. Con estos solventes se logran extraer la gran mayoría de las sustancias naturales de interés como: Alcaloides, Flavonoides, Glucósidos Cardiotónicos y los Terpenos.

El alcohol etílico y sus mezclas con el agua es el solvente por excelencia para la obtención de extractos y tinturas cuando no existen estudios específicos se recomienda utilizar una mezcla de alcohol-agua. (7:3 ó 8:2) para la extracción de las partes leñosas de las plantas raíces y semillas, mientras que la proporción 1:1 es recomendada para extraer las hojas o las partes aéreas verdes, ya que a esta concentración se evita la extracción de la clorofila y de las sustancias polimerizadas o resinoides que generalmente no representan actividad terapéutica.

Tiempo de extracción.

Este tiempo se determina experimentalmente en función del solvente y del equipo seleccionado, el tiempo de extracción debe ser suficiente para permitir la separación de los compuestos de interés, aunque se debe prestar cuidado para que no sea excesivo. Prolongar el tiempo de extracción no influye en el proceso negativamente, pero si en los costos de energía y de mano de obra no necesaria lo que acarrea un encarecimiento del proceso industrial.



TIPOS DE EXTRACCIÓN.

MACERACIÓN.

El proceso de maceración consiste en poner en contacto la droga con el solvente durante varios días. Se trata de un proceso que da como resultado un equilibrio de concentración entre la droga y el solvente y depende de factores que están unidos a las drogas. Ej: naturaleza, tamaño de las partículas, contenido de humedad y cantidad y factores que están relacionados con el solvente como: la selectividad y la cantidad.

El rendimiento del extracto disminuye cuando la relación droga solvente aumenta. Las grandes desventajas del proceso de maceración son: la lentitud del proceso y el hecho de no ser posible alcanzar la extracción completa de la droga. Para disminuir las pérdidas del extracto en el residuo de la extracción, la operación de maceración puede repetirse dos o tres veces después de haber escurrido el solvente de la extracción anterior. El proceso de maceración es bastante utilizado para la preparación en pequeña escala. El uso industrial de la maceración se limita a la fabricación de extractos a partir de drogas vegetales ricas en mucílagos.

LIXIVIACION.

La lixiviación o precolación es la operación en la cual un polvo depositado en un receptáculo especial es privado de sus componentes solubles mediante el descenso de un disolvente que pasa por él.



Principios de lixiviación.

Si se pone un polvo en un vaso cilíndrico que contenga un diafragma en su parte inferior y se vierte sobre él algún líquido que contenga la propiedad de disolver parte de la sustancia, la porción que se pone primero en contacto con él, al pasar hacia abajo, produce su efecto disolvente en las capas sucesivas del polvo, hasta quedar saturado e impedido; Hacia abajo por su propio peso y por la presión de la columna del líquido que gravita sobre él, menos la fuerza capilar con que el polvo tiene a retenerlo. Las fuerzas físicas que tienen parte importante en la lixiviación son las siguientes: Gravedad, viscosidad, adherencia, fricción, ósmosis, capilaridad y solución.

Humectación del polvo.

La regla general es humedecer siempre el polvo para ejecutar la lixiviación y son muy pocas las operaciones oficiales en que no se requiere esto. Es muy clara la razón para humedecer el polvo: si se vierte severamente un chorro de agua sobre una esponja internamente seca, se advierte que absorbe muy poco agua, pero si remoja bien la esponja y se exprime para expulsar toda el agua que se pueda entonces adsorbe gran cantidad de agua. Las drogas vegetales en su estado natural contienen humedad, pero la desecación humedece y reseca los tejidos, de suerte que a diferencia de las esponjas, adsorben muy lentamente la humedad cuando el polvo esta comprimido en el lixivador es aun mayor la resistencia que cuando se comprime bien un polvo seco.

Los casos especiales en el que no se debe humedecer el polvo son aquellos en que la adición del menstuo ocasionaría adhesividad y haría que el polvo formara terrones en lo que no penetraría fácilmente el líquido. Los casos en que el polvo humedecido ofreciera poca resistencia al paso del menstuo y aquellos en que el menstuo es tan volátil o inflamable es inconveniente o peligroso el humedecimiento.



DIGESTIÓN.

La digestión es una forma de maceración que consiste en aplicar calor moderado a las sustancias que están siendo tratadas. Se ejecuta en aquellos casos en que no perjudica las temperaturas altas y con ellas se acrecienta el poder disolvente del menstuo. Si este es volátil, es necesario conectar un condensador de reflujo al vaso en que se realiza la digestión, de suerte que el disolvente condensado vuelve al vaso y no hay merma o residuo de la cantidad emplea

INFUSIÓN

Son preparados líquidos que se elaboran por medio de la extracción de sustancias vegetales con agua caliente. La droga de la cual se extrae dicha sustancia no se sujeta a la ebullición, aunque comúnmente se vierte sobre ella agua hirviendo y se deja asentar la mixtura en un vaso cerrado hasta que se enfríe. Para preparar infusiones se reduce la droga a polvo grueso y se evita los polvos finos porque su uso es difícil al momento de la separación.

CLARIFICACIÓN DE LOS EXTRACTOS

El objetivo de esta etapa es retirar el residuo de droga que a veces queda presente en los extractos, así como el material indeseable formado durante el proceso de concentración. Mientras la precolación da como resultado generalmente extractos limpios, el proceso de maceración frecuentemente involucra el paso de partículas finas de la droga al extracto. Industrialmente la clarificación puede obtenerse a través de la centrifugación o a través de la filtración. (filtro-prensa)



CONCENTRACIÓN

La concentración representa la etapa siguiente al proceso de extracción. El proceso de concentración busca aumentar el contenido de sólidos en el extracto con la finalidad:

1. Alcanzar un determinado contenido de residuo seco.
2. Fabricar extractos blandos.
3. Como etapa preliminar en la producción de extractos secos.

La etapa de concentración es problemática, debido a la posibilidad de degradación de sustancias termolábiles.

SECADO

La operación de secado consiste en retirar el agua u otro solvente, se lleva a cabo cuando se quiere obtener extractos secos que ofrecen ventajas particulares, como la estabilidad química y mayor facilidad de almacenamiento y transporte. El secado para extracto acuoso como sustancia termolábiles, el proceso de elección es la liofilización. En cambio, para los extractos hidroalcohólicos, la atomización es el proceso de elección, este permite condiciones casi ideales para el secado de los extractos, aún se utiliza el proceso tradicional de secado en estufa, el cual consiste en circulación de aire que opera a una temperatura de 60-80°C, es adecuado para pequeñas cantidades de extractos y no pueden ser utilizados para secar productos termolábiles, otro inconveniente es la poca uniformidad en el secado.



FRACCIONAMIENTO O PARTICIÓN

Es el proceso mediante el cual el material a estudio que esta en una fase, se hace pasar a otra. La extracción puede ser para:

1. Eliminación del soluto (extracción exhaustiva) utilizada para la eliminación de un soluto.
2. Separación de los componentes (extracción selectiva) utilizada para la separación de los componentes de una mezcla compleja.

La escogencia del procedimiento para fraccionar el extracto crudo total en sus componentes, depende de las características físicas y químicas de estos. Los métodos separativos se pueden categorizar así:

1. Métodos mecánicos
2. Métodos físicos
3. Métodos químicos
4. Métodos físico-químicos: consisten en la separación mediante solventes, atendiendo a los grupos funcionales presentes.

Para la eliminación de un soluto el método es rápido y preciso, un montaje sencillo si el soluto tiene un coeficiente de distribución grande una sola operación en el embudo separador bastara para conseguir una buena separación, la operación puede repetirse con nuevas porciones del disolvente no miscible, las veces que sea necesario. Para conseguir una eliminación cuantitativa.



Uso del embudo separador.

Deben escogerse según el tamaño apropiado, que no contengan más de tres cuartas partes de su volumen para facilitar el proceso cuando la extracción de una solución acuosa se efectúa con un solvente más liviano que el agua (ej: Éter) se utilizan varias porciones. Luego se depositan las fases por separado. La fase acuosa se devuelve al embudo separador para una nueva extracción. Si el solvente es más pesado que el agua (ej. Cloroformo) la solución acuosa se retiene en el embudo, agitándola con porciones sucesivas de solventes orgánicos.

DETERMINACIÓN DEL COEFICIENTE DE PARTICIÓN

- ❖ **Método de shake – Flask:** El coeficiente de partición son usualmente determinados por el tradicional método de shake – flask. En este método el compuesto es disuelto en una fase y es adherida a otra fase, la mezcla se agita permitiendo colocar verticalmente la mezcla separando las fases, la concentración del soluto en cada fase es determinada por un método analítico conveniente.
- ❖ **Determinación de la concentración del soluto:** Un requisito para la determinación del coeficiente de partición es la disposición de un método sensitivo conveniente para el ensayo de ambas fases.
- ❖ **Elección del solvente:** Existe un largo número de diferentes sistemas, solventes – agua que puede ser usados para determinar coeficientes de partición en conexión con diseños de drogas y estudios de estructura – actividad, en este contexto el solvente es propuesto como un modelo para la fase lipofílica y el agua como un modelo para la fase hidrofílica.



MÉTODO DE SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA

La separación y purificación de los constituyentes químicos de plantas son efectuadas utilizando una o más técnicas cromatográficas, cuando dos o más compuestos son separados físicamente por la distribución entre dos fases:

- ❖ Una fase estacionaria, que puede ser un sólido o un líquido soportado sobre un sólido.
- ❖ Una fase móvil, un gas o un líquido que fluye continuamente por la fase estacionaria.

La separación de dos componentes depende primariamente de dos diferentes afinidades con la fase estacionaria, resultando migración diferencial de dos componentes individuales. Considerando la forma física del sistema cromatográfico, se distingue: cromatografía en columna, en la cual la fase estacionaria está en un tubo cilíndrico; la cromatografía plana, en la cual la fase estacionaria está dispuesta sobre una superficie plana. Con relación a la fase móvil esta puede ser un líquido (cromatografía líquida) o un gas (cromatografía gaseosa).

La cromatografía líquida cuando se desenvuelve en columna de vidrio, puede ser un flujo de la fase móvil debido simplemente a la fuerza de gravedad, algunas veces llamada cromatografía líquida por la fuerza de gravedad, o puede proceder con ayuda de bombas de baja o media presión. La utilización de presiones elevadas requiere uso de columnas metálicas, por ende la fase móvil adquiere una visión más rápida (cromatografía de alta presión) propiciando una elevada eficiencia en la separación de dos constituyentes y por eso más apropiadamente denominada de cromatografía líquida de alta eficiencia.



El principio básico de cromatografía líquida en columna aplicada a la separación de una tintura hipotética con tres componentes. La fase estacionaria consiste de partículas porosas, normalmente pequeñas (menos de 150 micras de metros de diámetro), frente a una columna. Posteriormente a una introducción de un pequeño volumen de muestra, capaz de fluir a la fase móvil a través de la columna. Los componentes individuales son lentamente fluidos en diferentes velocidades, dependiendo de la afinidad con la fase estacionaria.

La aplicación de técnicas cromatográficas para la separación o purificación de grandes cantidades de compuestos normalmente se constituyen en un procedimiento que consume un tiempo razonable, pudiéndose tornar tedioso, especialmente cuando son tinturas complejas como extractos de plantas u otros materiales biológicos. Alémdijo: Se debe de observar que no existe una técnica universal capaz de solucionar todos los problemas envueltos durante la separación de componentes de una misma tintura, y normalmente los mejores resultados ocurren en la utilización combinada de una o más técnicas cromatográficas.

Las técnicas más utilizadas (Collins y Bragan, 1987), ven como el desenvolvimiento de aquellas aplicadas a separación en escala preparativa. La cromatografía líquida en columna, utilizando una fase estacionaria de diferentes orígenes, es muy común y extensamente impregnada. Está técnica posee una alta capacidad de carga, a pesar de poseer una resolución relativamente franca la separación de componentes que necesitan de un largo tiempo de desenvolvimiento. Sus variantes, cromatografía breve y relámpago (cromatografía flash), posibilitan una separación rápida y con una resolución razonable. Para extractos brutos de plantas, conteniendo compuestos con una gran facilidad de polaridad, se tiene el propósito de un método denominado cromatografía *flip-flop*.



Otras técnicas, como la cromatografía en papel y cromatografía en capa delgada preparativa, han sido utilizadas para la preparación de productos naturales.

Técnicas más modernas, que requieren pequeño tiempo de desenvolvimiento, incorporan elementos para la aceleración centrífuga de soporte, de manera radial, como la cromatografía en capa delgada centrífuga, entre otras que pueden ser desarrolladas de manera rápida y con un consumo pequeño de solvente, pudiendo sustituir las cromatografías en columnas y en capa delgada preparativa. Su desventaja esta asociada a una resolución, que es limitada. La cromatografía líquida de alta eficiencia (CLAE) preparativa y un método bastante eficiente, necesitando un tiempo relativamente corto para su desenvolvimiento y presentando alta resolución, a pesar de requerir una purificación previa de extractos brutos de plantas, a fin de evitar la contaminación de la columna cromatografica.

Todas las técnicas mencionadas utilizan una fase estacionaria sólida y un líquido fijado sobre un soporte inerte. La presencia de ese material sólido en una columna, sobre la placa o disco, puede causar adsorción irreversible con compuestos muy polares por lo mismo causar modificaciones en dos compuestos presentes de una interfase liquido- sólido. Asimismo, técnicas de partición líquido – líquido, libre de soporte, han sido desarrollada. El proceso se asemeja al de una extracción simple entre dos líquidos no miscibles, sé efectúan en función de la separación. Está técnica, permite la separación de dos componentes resulta de las diferentes distribuciones de dos o varios solutos (compuestos) entre dos fases, de acuerdo con el coeficiente de partición. Una serie de extractos sucesivos forman la base de la cromatografía por distribución en contra corriente y varias modificaciones fueron realizadas con el objetivo de formar las más eficiente en términos de tiempo de desenvolvimiento y volumen de solvente utilizado, en aumento de una resolución de tinturas complejas.



CROMATOGRAFIA EN CAPA DELGADA

La cromatografía en capa delgada consiste en la separación de componentes, a través de la migración diferencial sobre una capa de adsorbente retenido sobre una superficie plana, generalmente de vidrio y aluminio. Una ventaja sobre CP esta nos diferencia los adsorbentes utilizados como fase estacionaria, o señala en su versatilidad la rapidez de desenvolvimiento y sensibilidad. La desventaja de CCD esta la no preparación de cromato placas, que requiere inicialmente, o desengorduramiento de la superficie con acetona, homogenización de adsorbente en agua, la aplicación uniforme de una capa de gel sobre la placa, finalmente, se seca y posterior se da la activación del adsorbente por resecamiento en estufa. (100-110 °C, 30 min.)

En algunas separaciones se puede modificar las propiedades del adsorbente por la adición de seis compuestos inorgánicos o sustancias orgánicas, como por ejemplo cromato placas cuyo adsorbente es de sílica. Comercialmente existen soportes (placa de vidrio o aluminio) pre-recubierto con lumina en silica gel, muchas veces incorporado el indicador de fluorescencia verde que se excita a 254nm, cuando la cromatoplaqa es irradiada por la luz ultravioleta. Como método para que se efectúe la escogencia preliminar del solvente, se prepara la muestra en varios solventes y se aplica, a través de capilares en las cromatoplaqa.

El solvente apropiado será aquel que formara un halo de la muestra próximo de 0.3-0.5 de radio el círculo del solvente. La aplicación de la muestra efectuada es de manera semejante a la CP, siendo la técnica, de desenvolvimiento ascendente normalmente utilizada y con una saturación de cuba cromatografica facilitada a través del revestimiento parcial de su pared interna.



Los valores de RF son considerablemente menos productivos que aquellos obtenidos por CP, en virtud de la influencia de varios factores como la naturaleza del adsorbente (tamaño de partícula, área superficial y naturaleza química) y a su actividad (contenido en agua), la naturaleza de fase móvil (pureza, contenido y precisión de tintura de solvente y volatilidad), temperatura y cantidad de muestra. La detección de dos componentes es normalmente efectuada utilizándose un agente revelador. Como la CCD son adsorbentes, como sílica y aluminio, son químicamente inertes, pudiéndose utilizar reveladores altamente reactivos, relativamente los utilizados en CP, por ejemplo, la cromato placa puede ser utilizada con ácido sulfúrico concentrado, seguido de crecimiento, siendo una de las ventajas sobre el CP. Alternativamente, los componentes pueden ser revelados se coloca la cromato placa en una cámara fechada conteniendo cristales de yodo.

Quizás todos los compuestos (excepto alcanos) forman complejos reversibles de transferencia de carga con yodo, formando manchas de coloración oscura no en el interior de la cámara y que deben ser marcados para análisis posteriores. La CCD puede ser utilizada como método cuantitativo de análisis directamente sobre la capa adsorbente de la cromatoplaque o se retira de la placa la capa de adsorbente que contiene un dos componentes, Posteriormente se determina la concentración y cuantificación de los componentes individuales por medio de métodos físicos. Una técnica de aislamiento muy útil es la CCD preparativa, efectuada en cromato placa de 20 x 20 cm, con espesor de 2 mm, que permite la aplicación de este en 100 mg de muestra. En este caso, se recomienda aplicar a la muestra, posteriormente al desenvolvimiento, delimitar el área de cada componente por irradiación en luz ultravioleta, y enseguida, se raspa la capa del adsorbente y se extrae, con solvente, los componentes individuales.



Proceso de adsorción.

La muestra aplicada en la capa aplicada en la superficie del material por las fuerzas electrostáticas (fuerzas de Van Der Waals, puentes de hidrógeno, efectos inductivos, etc.) luego, cuando la capa es expuesta a un flujo por aplicación capilar, se inicia una competencia de enlaces entre los sitios activos del adsorbente y la sustancia con el solvente.

Adsorbentes:

Los adsorbentes más utilizados en cromatografía de capa fina son:

- ❖ Sílica gel. (se utiliza en un 80% de las separaciones)
- ❖ Oxido de aluminio o Alumina. (ácida, neutra o básica)
- ❖ Tierra Sílica o Kieselguhr.
- ❖ Celulosa(nativa o micro-cristalina.
- ❖ Poliamidas.

Estos adsorbentes deben tener las siguientes características:

- ❖ Tamaño de las partículas.
- ❖ Volumen de poro.
- ❖ Diámetro de poro.
- ❖ Área superficial.
- ❖ Homogeneidad.
- ❖ Pureza.



Elección del disolvente.

El disolvente se elige según sea la separación: reparto, adsorción o de intercambio iónico, la naturaleza de las sustancias a separar, la naturaleza del material de relleno. Los disolventes empleados en la cromatografía de reparto son similares a los que se usan en la cromatografía de papel. Para las separaciones por adsorción es fundamental que los disolventes sean puros, porque de lo contrario las impurezas podrán alterar el curso completo del desarrollo.

Si el adsorbente es de tipo gel de sílice o alúmina, hay que considerar que entre más polar es la sustancia más intensa es la absorción. Se comienza trabajando con los solventes de baja polaridad y se va incrementando si es necesario.

Las separaciones basadas en el intercambio iónico, se realizan normalmente pasando la muestra en solución acuosa por una columna que contiene una resina de intercambio iónico, se realizan normalmente pasando la muestra en solución acuosa por una columna que contiene una resina de intercambio iónico. En este tipo de cromatografía los componentes se adsorben por fuerza electrostática. El disolvente está contenido por soluciones acuosas con buffer en las que se puede variar el pH o la concentración salina para conseguir una absorción selectiva.

Cámaras para desarrollo.

Existen varios tipos de cámaras:

- ❖ Normal.
- ❖ Doble compartimiento.
- ❖ Sándwich.
- ❖ Horizontal.
- ❖ Vario KS.



Detección o visualización:

Si la muestra (mancha) no es coloreada, se requiere de métodos que nos permitan visualizar él, (los) componente. (s) También se conoce este procedimiento como revelado.

Estos métodos son:

- ❖ Químicos (por inmersión o rociado). Se obtienen derivados coloreados o fluorescentes.
- ❖ Físicos (óptico. Generalmente se utiliza radiación UV.

Evaluación de un cromatograma en capa fina.

Análisis cualitativo:

- ❖ Medida de RF (distancia recorrida por la sustancia entre la distancia recorrida por el solvente).
- ❖ Comparación visual de color / intensidad.
- ❖ Propiedades UV / IR / MS / NMR.

Aplicación de la muestra.

La aplicación de la muestra es tal vez el aspecto más crítico de la cromatografía en capa fina, especialmente cuando se trata de moliendas cuantitativas. Por lo general, se aplica una disolución de la muestra del 0,01 al 0.1 por 100, como la mancha, a 1 o 2 cm del extremo de la placa. Para una mayor eficacia, la mancha deberá tener un diámetro mínimo de aproximadamente 5mm para una aplicación cualitativa y menor para el análisis cuantitativo. En el caso de las diluciones diluidas, se realizan tres o cuatro aplicaciones superpuestas secando la zona entre aplicación y aplicación. La aplicación manual de las muestras se realiza por contacto entre la placa y el capilar que contiene la muestra o utilizando una jeringa hipodérmica.



Desarrollo de la placa.

El desarrollo de la placa es un proceso análogo a la elusión en la cromatografía de líquidos, en el que la muestra es transportada por la fase móvil a través de la fase estacionaria. La forma más común de desarrollar la placa consiste en depositar una gota de la muestra cerca de uno de los extremos de la placa y marcar su posición con el lápiz. Una vez que se ha evaporado el solvente en el que estaba disuelta la muestra, se coloca la placa en un recipiente cerrado y saturado con los vapores del disolvente con que se efectuará el desarrollo.

Uno de los extremos de la placa se introduce en el eluyente procurando evitar el contacto directo de éste con la muestra. El eluyente asciende por la placa gracias al efecto de capilaridad ejercido entre las finas partículas. A medida que el eluyente se desplaza pasa por el punto de aplicación de la muestra, la disuelve y la arrastra por la placa distribuyéndose entre el disolvente que se desplaza y la fase estacionaria. Después que el disolvente ha pasado a través de la mitad o las dos terceras partes de la longitud de la placa, se retira ésta del recipiente y se seca. Las posiciones de los componentes de la muestra se determinan por cualquiera de los procedimientos habituales.

Localización de los analitos en la placa.

Existen diversos procedimientos para localizar los componentes de la muestra después de la separación. Dos de los métodos que originalmente se utilizan con la mayoría de las mezclas de sustancias orgánicas, consiste en nebulizar sobre la placa una disolución de yodo o de ácido sulfúrico, ya que ambos reaccionan con los compuestos orgánicos para dar productos oscuros. También se usan otros reactivos específicos (Ninhidrina) para localizar las especies separadas.



Otro método de detección se basa en la incorporación de un material fluorescente a la fase estacionaria. Una vez que ha finalizado el desarrollo, se examina la placa bajo la luz ultravioleta. Los componentes de la muestra amortiguan la fluorescencia del material de tal forma que, toda la placa exhibe fluorescencia excepto los lugares donde se encuentran los componentes de la muestra, no fluorescentes. En muchas ocasiones, las manchas reales sobre una placa presentan colas, lo que originan manchas que no son tan simétricas.

Características de eficacia de las placas de capa fina.

La mayoría de los parámetros y ecuaciones desarrolladas para la cromatografía en columna se pueden aplicar también, con ligeras modificaciones, a la cromatografía en capa fina, aunque se necesita un nuevo parámetro, el factor de retardo o R_F .

FACTOR DE RETARDO

El factor de retardo para el soluto viene dado por:

$$R_F = d_R / d_M$$

Donde d_R y d_M son las distancias lineales medidas desde la línea de aplicación. Los valores de los R_F pueden variar desde 1 para los solutos que no se retrasan a valores que se aproximan a 0. Téngase en cuenta que si las manchas no son simétricas, la medida de d_R se basa en la posición de la intensidad máxima.

FACTOR DE RETENCION

Solo se necesita relacionar d_R y d_M con t_R y t_M . Para establecer estas relaciones se considera el soluto único que aparece en el cromatograma.



En este caso, t_R y t_M corresponde a los tiempos necesarios para que la fase móvil y el soluto recorran una distancia determinada, en este caso d_R . Para una fase móvil, este tiempo es igual a la distancia que recorre dividido por la velocidad lineal del disolvente u , o

$$t_M = d_R / u$$

Sin embargo, el soluto no alcanza este punto hasta que la fase móvil no ha recorrido la distancia d_M . Por tanto:

$$T_M = d_M / u$$

Sustituyendo ambas ecuaciones, se obtiene:

$$K' = d_M - d_R / d_R$$

El factor K' también se puede expresar en funciones del factor de retardo describiendo la ecuación de la siguiente forma:

$$K' = \frac{1 - d_R / d_M}{d_R / d_M} = \frac{1 - R_f}{R_f}$$

Los factores de retención deducidos de este modo se pueden utilizar en el desarrollo de métodos para cromatografía en columna. Por otra parte, la obtención de factores de retención por cromatografía en capa fina es, por lo general, más sencillo y más rápido que a partir de los datos obtenidos en experimentos en columna.

ALTURAS DEL PLATO

Las alturas del plato aproximadas para un tipo determinado de relleno también se pueden deducir para la cromatografía en capa fina. De este modo, el número de platos teóricos N viene dado por:

$$N = 16 (d_R / W)^2$$

La altura del plato viene dada por:

$$H = d_R / N$$



FACTORES QUE AFECTAN LA CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA.

Existen tres factores:

1. Papel utilizado, presencia de impurezas y grupos carboxilos.
2. Disolventes, la selección de los disolventes puede emplearse por la experiencia, en su efecto selección de los disolventes por la serie electrópica o la constante dieléctrica.
3. Semejante disuelve a semejante.
4. Temperatura, ésta influye en la fase móvil, debido a que solventes volátiles afectan el coeficiente de difusión entre las fases.

APLICACIONES DE LA CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA.

Cromatografía en capa fina cualitativa:

Por lo general, los datos de un solo cromatograma no proporcionan la información suficiente para poder identificar las distintas especies presentes en una mezcla, debido a la variabilidad de los valores de R_f con el tamaño de la muestra, la placa de capa fina, y las condiciones existentes durante el desarrollo. Además, siempre existe la posibilidad de que dos solutos bastante diferentes pueden presentar valores de R_f idénticos o casi idénticos en unas condiciones determinadas.

Ventajas del uso de cromatografía de capa fina.

1. Equipo simple y de bajo costo.
2. Fácil comprensión y ejecución.
3. Rapidez, reproducibilidad y versatilidad en el análisis.
4. Utilización de una pequeña cantidad de solvente y de la muestra a ser analizada.
5. Posibilidad de analizar varias muestras en una sola placa cromatografica.



6. Posibilidad de revelar las placas con reactivos cromogenicos, lo cual hace posible detectar sustancias que no se absorben en la región UV / Visible.
7. Posibilidad de efectuar separaciones en escala semi-preparativa.

Variables que afectan a los Rf

En el mejor de los casos, los valores de Rf se pueden reproducir con dos cifras significativas, aunque con varias placas, una sola cifra significativa da una idea más real de la precisión. Entre los factores más importantes que determinan la magnitud de Rf se incluyen el grosor de la fase estacionaria, la humedad que contienen las fases móvil y estacionaria, la temperatura, el grado de saturación de la cámara de desarrollo con los vapores de la fase móvil, y el tamaño de muestra. En general, no es factible un control absoluto e estas variables. Sin embargo, se pueden conseguir un adecuado control de sus efectos utilizando un factor de retención relativo Rx en lugar del Rf donde:

$$Rx = \frac{\text{distancia recorrida por analito}}{\text{Distancia recorrida por una sustancia de referencia}}$$

Uso de patrones.

Uno de los métodos que a menudo proporciona una identificación experimental de los componentes de la muestra, consiste en aplicar a la placa la muestra desconocida y disoluciones de muestra purificadas de las especies que probablemente pueden estar presentes en la muestra desconocida. La coincidencia entre los valores Rf de alguna de las manchas de la muestra desconocida y el de algunos de los estándares proporciona una gran evidencia para la identificación de uno de los componentes de la muestra. Sin embargo, una confirmación adecuado consiste en repetir el experimento con diferentes fases móviles y estacionarias, y también con distintos reactivos de revelado.



Método de elusión.

La identificación de los analitos separados también se puede confirmar o establecer, raspando y disolviendo la mancha. En este caso, se raspa la zona de la placa que contiene el analito mediante una espátula o navaja y se recoge el sólido sobre un papel satinado. A continuación se transfiere a un tubo de ensayo, donde el analito se disuelve con un disolvente adecuado y se separa de la fase estacionaria por centrifugación o filtración. La identificación se realiza mediante técnicas como la espectrometría de masas, la resonancia magnética nuclear o la espectroscopia de absorción en infrarrojo.

Cromatografía en plano bi-dimensional.

La muestra se coloca en una de las esquinas de una placa cuadrada y se realiza el desarrollo en dirección ascendente con el primer disolvente. A continuación se elimina este disolvente por evaporación, y se gira la placa noventa grados, realizando ahora el desarrollo ascendente con el otro disolvente. Tras la eliminación del disolvente, se determina la posición de los aminoácidos nebulizando la placa con nihidrina, reactivo que forma un producto con los aminoácidos de color rosa a púrpura. Las manchas originadas se identifican comparando sus posiciones con las de los estándares.



CROMATOGRAFIA LIQUIDA EN COLUMNA

La cromatografía en columna (Matos et, al 1988) es una técnica muy aplicada en separación y purificación de componentes de una muestra en escala preparativa, o sea, una muestra suficientemente grande para permitir diversos análisis químicos y físicos para la determinación estructural en las mismas reacciones químicas con los componentes aislados.

Al principio, la cromatografía en columna por gravedad y normalmente escogida gracias a su simplicidad y versatilidad en la adaptación de las dimensiones de columna cromatografica y de cantidad de adsorbente en tamaño de la muestra a ser fraccionada, a pesar de envolver un dispendio de tiempo considerable, que se puede prolongar por días. Ese aumento de tiempo para el desenvolvimiento de CL clásico, con acondicionamiento gravitacional, se debe al gran diámetro medio de las partículas, utilizada como fase estacionaria (silica y alumina, las más comunes), que se encuentran entre 100-250 mm y empacadas en columnas de vidrio con diámetro interno normalmente de 1-5 cm. En esos casos, una pequeña presencia es necesaria para permitir el flujo del solvente entre las partículas de adsorbente.

Frecuentemente una pequeña columna de líquido (solvente), no toda la columna es proveniente de un reservatorio, actúa como una fuente de presión constante, en torno de 0,1-1 atmósfera de esa forma la velocidad de flujo de solvente muy pequeña (aproximadamente 0,1 mL / min.), Requiriendo un largo tiempo para la separación de dos componentes.



Una desventaja, es el largo tiempo ejecución, ésta no es posible de reaccionar entre los componentes de la atmósfera y su soporte, como reacción de isomerización de ligaciones duplas con el uso de sílica en formación de productos de condensación alcohólica, cuando se utiliza alumina básica.

La escogencia tanto del sistema de solvente como de adsorbente a ser utilizado en CC debe ser orientada a partir de observación de comportamiento de la muestra en CCD. La cantidad de adsorbentes a ser utilizada dependerá de la absortividad del material siendo una buena regla la practica de utilizar 30 gr de adsorbente por gramo de muestra. La construcción y dilución por escalamiento gravitacional se efectúa por hinchamiento de la columna cromatográfica lo más uniforme posible, a fin de aumentar la eficiencia de las separaciones entre los componentes de la muestra.

La superficie de la fase estacionaria se completa vigorosamente con la fase móvil, la columna cromatográfica se efectúa diluyéndose por acción de la gravedad con un vaso de aproximadamente una gota por segundo, calentándose en frascos, Inicialmente se hace la dilación con un solvente menos polar, aumentándose progresivamente la polaridad de la fase móvil por adición de un solvente más polar.

Para el análisis de dos componentes diluidos de las columnas cromatográficas, los frascos colectados de la fase móvil son monitoreados por CCD, reunidas de acuerdo con la identidad y la pureza de dos componentes revelados y concentrados.



ALGUNOS REVELADORES QUE PUEDEN SER UTILIZADOS EN CROMATOGRAFÍA EN CAPA DELEGADA

REACTIVO DE KEDDE:

- ❖ Solución A: 1 gramo de ácido 3,5 dinitrobenzoico se disuelve en una mezcla de 50 ml de metanol y 50 ml de hidróxido de potasio 2N. Manchas de color violeta azulado.
- ❖ Ácido 2,4,6 trinitrobenzoico.
- ❖ Solución I: ácido trinitrobenzoico 0.1% en una mezcla de dimetilformamida / agua.
- ❖ Solución II: carbonato de sodio 5% en agua.
- ❖ Solución III: fosfato diácido de sodio 5% en agua.
- ❖ Pulverizar con I y luego con II, calentar de 4 a 5 minutos a 100 grados, enfriar, pulverizar con III. Manchas rojo anaranjadas.

REACTIVO DE RAYMOUND:

- ❖ Meta dinitrobenceno en medio alcalino. Manchas violeta



ALCALOIDES

Los alcaloides se define como sustancias orgánicas nitrogenadas complejas de origen vegetal, conteniendo en la mayor parte de su molécula uno o varios anillos cíclicos nitrogenados, de reacción mas o menos básicos, dotados corrientemente de una a fuerte actividad fisiológica y farmacodinámica, que presentan un conjunto d reacciones químicas comunes.

Se puede establecer una relación muy estrecha entre la formación u origen de los alcaloides y la síntesis o destrucción de los materiales proteicos. Los alcaloides raramente se encuentran en el estado libre; mas a menudo bajo forma de sales o insolubles, formando combinaciones con los ácidos orgánicos del plasma (malico, succnico, cítrico, etc.) o raramente combinados a radicales, ácidos especiales, tales como el ácido aconítico, mecánico.

Un mismo vegetal contiene siempre, un conjunto de alcaloides vecinos, constituidos por un conjunto de productos que derivan de un núcleo común. Aunque muy repartidos los alcaloide, suelen faltar en las algas y los musgos, poco frecuente en las colchicáceas y en las dicotiledóneas, notablemente en las ranunculáceas, papaveráceas, rubiáceas, loganiáceas, apocináceas, solanáceas, etc. Carecen de ellas las rosáceas y crucíferas. Los órganos más ricos de las plantas que los poseen son las semillas, corteza y raíces, encontrándose en las plantas en mayor proporción en periodos de vegetación.



CARACTERÍSTICAS GENERALES

1. La mayoría son metabolitos secundarios, que derivan de aminoácidos con excepción de los pseudo alcaloides de las purinas y las adeninas.
2. El nitrógeno heterocíclico que posee puede ser una amina primaria, secundaria o terciaria.
3. La basicidad de los alcaloides varía notablemente, dependiendo de la actividad de la molécula y de los grupos funcionales.
4. La actividad farmacológica es específica de cada núcleo de alcaloide.
5. Son productos de reserva para síntesis de proteínas.
6. Actúan como núcleo de hormonas y coenzimas.

PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

1. La solubilidad de las sales de los alcaloides es en general opuesta a la de los alcaloides mismos de que se derivan. Las sales son precipitables de sus soluciones por el ácido tánico y los taninos, los ácidos fosfotúngico, fosfomolibólicos, picricos y picrolónico.
2. Los alcaloides dan sales dobles con las soluciones de yoduro bismuticopotásico, etc. Y si se reemplaza el yoduro potásico en estos reactivos por el yoduro de cesio, se aumenta extraordinariamente la sensibilidad.



3. Casi todos los alcaloides actúan sobre la luz polarizada, siendo casi todos levógiros, aunque su poder rotatorio varíe según el disolvente empleado.
4. Los no oxigenados, compuesto de C;H y N, son corrientemente líquidos a la temperatura ordinaria, volátiles y odorantes: nicotina, coniina y esparteína.
5. Generalmente los alcaloides son oxigenadas siendo entonces sólidos a la temperatura ordinaria poco soluble en el agua y solubles en los disolventes orgánicos (éter, bencina, cloroformo, éter de petróleo, alcohol etílico, etc. Algunos alcaloides oxigenados son líquidos a la temperatura ordinaria: paletierina y pilocarpina.
6. En cuanto a la basicidad de los alcaloides, es muy variable, pues mientras unos son bases fuertes(nicotina) otro lo son sumamente débiles, como la cafeína y la piperidina.
7. Los alcaloides poseen un punto de fusión estable o definidos.
8. La solubilidad de los alcaloides va a depender de dos factores:
 - ❖ forma de bases libres (soluble en solventes orgánicas de baja polaridad)
 - ❖ Forma de sales libre (solubles en solventes orgánicos de lata polaridad)
9. La mayoría de los alcaloides son sensibles a la luz y al color, degradándose a temperatura mayor de los 70°C.



TÉCNICAS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE ALCALOIDES.

Debido a la gran diversidad de estructuras que pueden presentar los alcaloides, el tener como referencia la planta (familia y género) el cual ha sido aislado reduce el problema de identificación a un número menor de posibilidades y clasifica al alcaloide dentro de un determinado tipo; la posterior aplicación de pruebas de cromatografía de capa delgada en combinación con reacciones generales y específicas de coloración hace posible en muchos casos la identificación de un alcaloide conocido, esta presunción puede ser comprobada y complementada con un registro UV e IR, con mediciones de rotación específica, la dispersión rotatoria a óptica o de dicroísmo circular que permitan confirmar la estereoquímica.

REACCIONES DE PRECIPITACIÓN Y COLORACIÓN.

Para la comprobación de la presencia de alcaloides se ha desarrollado también un gran número de reactivos de coloración y de precipitación; algunos de ellos son considerados de aplicación general, en cambio otros son de uso más específico y pueden servir para clasificaciones parciales de estas sustancias, generalmente se considera que hay presencia de alcaloides si dan reacción positiva por lo menos tres de estos reactivos. Son de uso general los reactivos de **Dragendorff, Mayer, Wagner** y específico el reactivo de **Erdmann**.



ANALISIS DE LA DROGA VEGETAL

RECONOCIMIENTO DE ALCALOIDES: Tomar 5 cc del filtrado y agregar por las paredes del tubo de ensayo unas gotas de reactivo de Dragendorff (iodo bismuto de potasio) dejar reposar. Si aparece un precipitado de color amarillo se considera positivo la reacción. Con la fracción B correspondiente a la fracción fina, realice las pruebas de almidón, taninos, saponinas, lignina y heterosidos antraquinonicos.

Procedimiento: En tres tubos de ensayos distribuya la muestra para determinar la presencia de taninos, saponinas, heterosidos.

PRESENCIA DE SAPONINAS: En un tubo de ensayo con la muestra agregue agua hasta la tercera parte, luego deje escurrir unas gotas por las paredes ácido clorhídrico diluido.

Si se observa la presencia de espuma que persiste la reacción se considera positiva.

PRESENCIA DE TANINOS: En un tubo de ensayo con la muestra agregue agua hasta la mitad y caliente suave mente 15 min. Una vez frío, a agregue por las paredes una gotas de solución de sal férrica y observe. La presencia de taninos se evidencia por la aparición de un precipitado de color gris oscuro.



Nombre científico: *Selaginella artrítica*

Sinónima: No se encontró referencia.

Nombre común: No se encontró información.

Género: *Selaginella*.

Especie: *artrítica*.

Familia: *Selaginellaceae*

Descripción botánica:

Tallos de 1-2 mm de ancho, bistéllicos, glabros, erectos, a menudo con renuevos en la base, generalmente no ramificados en la base, generalmente, no ramificados en medio inferior; rizóforos restringidos a la base de los renuevos; hojas patentes que aumenta de tamaño sobre el tallo distalmente, hojas axilares elíptico-lanceoladas, no auriculadas de márgenes enteros, con ápice agudo; Hojas laterales en el punto de la primera ramificación 4.5 x 3.5mm, asimétricas, el medio acroscópico más ancho a un tercio de la distancia desde la base y sin una aurícula basal, el medio bisiscópico de la hoja con una aurícula pequeña pero conspicua, deltada o escasamente incurvada, hojas medias asimétricas con nervaduras incurvadas, 2-auriculadas exteriores grande, una aurícula interior mas pequeña, ambas redondeadas con márgenes enteros, ápice agudo o escasamente acuminado, con células alargadas en el haz de las hojas; megásporas 500-600 μm , micrósporas de 22- 24 μm , equinadas. Se encuentran en las Selvas altas perennifolias, Riveras y plantíos.

Usos etnomédicos: No se encontró información.

Composición Química: No se encontró información.



Nombre científico: *Crysophila warscewiczii*

Sinonimia: No se encontró referencia.

Nombre común: No se encontró información.

Género: *Crisophila*.

Especie: *warscewiczii*

Familia: *Arecaceae*

Descripción botánica:

Palmas solitarias, erectas; tallos 6-10m de alto y 10-15 cm de diámetro, armados con raíces espinosas ramificadas, frecuentemente con un cono de raíces espinosas en la base; plantas hermafroditas. Hojas hasta 25, palmeadas, patentes, ampliamente redondeada de 150-200 cm de diámetro, haz glabra, no lustrosa, conspicuamente teselada, envés aplicado tomentoso con una mezcla de tricomonas blancos y rojizos, profundamente divididas en dos mitades más o menos iguales cada una con 20 segmentos, cada mitad a su vez dividida en 2 ó 3 divisiones angostas, cuneiformes y plegadas, no tan profundas como la división central. Segmentos libres abruptamente acuminados o cortamente bifidos; Vaina fibrosa, densamente flocosotomentosa, partiéndose por abajo del pecíolo y el resto desflecada, pecíolo 100-200 cm de largo, delgado, inerme, lígula subtriangular, con 1 cm de largo. Inflorescencias Interfoliares, péndulas 2 veces ramificadas, con 60 cm de largo, de color marfil excepto el perfilo verde con 13 cm de largo, tubular, bifido, bicarinado, pedúnculo corto, terete tomentoso, brácteas pedunculares 4, envainadoras y persistentes, raíz 11-22 cm de largo, hasta con 25 ramas simplemente ramificadas, cada una abrazada por una bráctea primaria grande, inflada o cocleada y decidua, volviéndose más pequeña distalmente basalmente 15-30 cm de largo, apicalmente 2 cm de largo, lanadas abaxialmente; raquillas fastigiadas 8-15 cm de largo, glabras.



Flores subsésiles, en hileras espiraladas, protoginas; sépalos 3 mm de largo, brevemente conados en la base; Pétalos 4 mm de largo libres, imbricados, anchamente ovados a redondeados; estambres 6. Frutos redondeados a obovoides 13-23 mm de diámetro, blandos, residuo estigmático amical, epicarpio liso, mesocarpo algo carnosos, endocarpio membranáceo; semilla globosa 9-16.5 mm de diámetro, libre del endocarpio, endosperma homogéneo con ligeras instrucciones, embrión lateral, en o por debajo del medio, eofilo simple, entero, blanco abaxilmente.

Poco común, en bosques perennifolios en la zona atlántica; 20-300m; fruto de Noviembre a diciembre. Desde el sur de Nicaragua al norte de Panamá. Un género con 8 especies distribuidas desde el oeste de México hasta el norte de Colombia. "Guara"

Usos etnomédicos: No se encontró información.

Composición Química: No se encontró información.



Nombre científico: *Cyclanthus bipartitus*.

Sinonimia: no se encontró referencia.

Nombre común: No se encontró información.

Genero: *Cyclanthus*.

Especie: *bipartitus*.

Familia: *Cyclanthaceae*

Descripción botánica:

Plantas terrestres, generalmente con tallo corto, con savia lechosa (escasa). Hojas (en espiral) dísticas, las láminas maduras profundamente bífidas casi hasta la base (raramente enteras) con una costilla central robusta hasta el ápice de cada segmento, pecíolo terete, junto con la vaina al menos tan largos como la lámina, espatas 4 ó 5, unidas cercas del espádice, gruesas y coriáceas, espádice cilíndrico. Órganos estaminados y pistilados en ciclos alternos o raramente en espiral; los carpelos de cada verticilo connados formando un disco. Espádices amarillo verdosos en frutos maduros, ciclos pistilados hinchándose y separándose para mostrar las semillas, espádice finalmente rompiéndose en discos; semillas ovoides a globosas, largamente pediculadas y longitudinalmente apostilladas.

Común en bosques muy húmedos de las zonas atlánticas y norcentral; 0-1000 m; flores y frutos esporádicos todo el año; México a Perú. Es una de las pocas especies de *Cyclanthaceae* que puede persistir en áreas muy húmedas deforestadas. Se diferencia de las otras plantas con flores por las costillas laterales largas y la extrema fusión de los órganos fértiles.



El género se ubica en una subfamilia separado de los otros géneros, consta de una especie más de Colombia y Panamá.

Usos etnomédicos: No se encontró información.

Composición Química: No se encontró información.



Nombre científico: *Tetragastris panamensis*.

Sinonimia: no se encontró referencia.

Nombre común: No se encontró información.

Genero: *Tetragastris*.

Especie: *panamensis*.

Familia: *Burseraceae*

Descripción botánica:

Árboles, 10-30 m de alto, corteza no exfoliante, savia lechosa. Hojas persistentes, hasta 44 cm de largo, peciolo y raquis no alados; folíolos 7-9, los laterales elípticos a lanceolados (oblanceolados), hasta 24 cm de largo y 6.5 cm de ancho, ápice acuminado, enteros, menuda y esparcidamente pubescentes a glabrescentes; pulvínulo distal presente en el peciolulo terminal, ausente en los laterales. Panículas axilares 3-15 cm de largo, con diminutos tricomas adpresos, amarillentos, flores pediceladas, 5-meras; pétalos mucho más largos que los sépalos 5-5.5 mm de largo, connados la media basal, carnosos, externamente con diminutos tricomas adpresos amarillentos, internamente glabros. Flores estaminadas con pistilodio y disco confluentes formando un ovariodisco subgloboso a cónico, rodeado y oculto por los estambres ligeramente sobrepasando al ovariodisco; flores postiladas con estaminodios muy sobrepasado por el pistilo, ovario 5-lobado y 5-locular, base hundida en un disco carnosos, estigma 5-lobado. Frutos ampliamente turbinados 1.5-2.5 cm de largo y 1.5-3 cm de ancho. Liso y glabros, rojizos al madurar, deshiscentes por (2-) 4 ó 5 valvas; pirenos (1-) 3-5, casi totalmente cubiertos de un pseudoarilo pulposo, dulce, blanco, cada uno con una semilla.



Es común en bosques muy húmedos en la zona atlántica; de 15-250 m, con flores en febrero- septiembre, fruto en febrero- octubre, de Belice a Venezuela, las Guayana, Brasil y Bolivia. Usada como leña y para casas. Género neo-tropical con 12 especies.

Usos etnomédicos: No se encontró información.

Composición química: No se encontró información.



Nombre científico: *Talisia nervosa*.

Sinonimia: no se encontró referencia.

Nombre común: Lengua de mujer.

Genero: *Talisia*.

Especie: *nervosa*.

Familia: *Sapindaceae*

Descripción botánica:

Arbusto o árboles pequeños, hasta 8(-10) m de alto, generalmente no ramificados, tallos glabros. Hojas pinnaticompuestas, amontonadas en el ápice del tallo de 1 m de largo o más largas, pecíolos hasta 25 cm de largo, folíolos de 5-8 pares, oblongo-elípticos con 20-45 cm de largos y 6.5-13 de ancho, agudos en el ápice y en la base, margen entero coriáceos, glabros a veces puberulentos en el envés, nervios laterales mayores encontrándose cerca del margen, pecíolos 5-10 mm de largo, hinchados. Inflorescencia terminal y subterminal, hasta 70 cm de largo, ampliamente ramificada, ramas mayores acostilladas, puberulentas a tomentosas, pedicelos 2mm de largo, con flores de 6-7 mm de largo, blancas, cáliz ciliado, pétalos seríceo; discos prominente, 6-ángulo, con estambres 5 u 8. Frutos 2-3 cm de largo, grabo. Poco común, en bosque húmedos y muy húmedos, zona atlántica; 0-300m; flores Marzo-Mayo, frutos Julio-Octubre; Nicaragua a Colombia. Está estrechamente relacionada con *T.dwyeri* Croat de Panamá se usa para postes.

Usos etnomédicos: No se encontró información.

Composición química: No se encontró información.



Taenia solium

Generalidades.

La *Tenia* porcina que infecta al hombre aparece en sitios en que las personas ingieren carne mal curada o mal cocida de cerdo. Los huevecillos embrionados, cuando son ingeridos por el cerdo (huésped intermediario) se desarrollan para llegar a la etapa de larva inféctante o cisticerco, en los músculos.

Si bien la *Tenia* adulta se desarrolla en el hombre después de ingerir la carne infestada, hay también infección de los cisticercos o larvas, por ingestión de los huevecillos sea de fuente exógena o por contaminación por las propias heces. Aunque no se ha comprobado, se piensa que el peristaltismo inverso puede llevar el contenido intestinal con los huevecillos a las porciones superiores del Duodeno, en donde, después de madurar las Oncosferas penetran directamente en la pared intestinal.

Por estas razones la infección con parásitos adultos de *Taenia solium* es peligrosa para el sujeto y para los que se ponen en contacto con él.

Estos Pacientes parasitado eliminan proglótides por el ano espontáneamente o con la materia fecal. Cuando caen a la tierra se desintegran y liberan los huevos en el suelo. Raramente salen los huevos en el intestino y son eliminados con las deposiciones. Los huevos infectados inmediatamente salen sin necesidad de embrionar en la tierra.



CISTICERCO.

La forma larvaria común de las tenias del género *Taenias* se conocen como cisticerco. Cuando se descubrieron esas etapas se desconocía su relación con el parásito adulto, y por ello recibieron nombres genéricos y específicos, con esa base, el cisticerco de *Taenia solium* fue designado *Cysticercus cellulosae*, y aun se le llama con este viejo nombre que ha dejado de tener validez taxonómica.

Un cisticerco es esencialmente en vesícula de pared delgada, que contiene escólex. Estas larvas tienen medio centímetro o más de diámetro. Este cisticerco tiene color semi transparente y opalescente, forma alargada u oval, que puede alcanzar una longitud de 0.6 a 2 cm. (Anexo) la vesícula está llena de líquido y en un lado se observa una zona más opaca a manera de mancha que contiene el escólex.

CICLO DE VIDA.

El hombre es el único huésped definitivo natural, la tenia se adquiere al ingerir carne mal cocida, infectada por las larvas. Poco después de la ingestión se desintegra la membrana externa en el intestino delgado y la larva incluida u Oncosfera penetra la pared intestinal. Las Oncosferas puede invadir la pared intestinal y penetrar un vaso sanguíneo por medio de los seis ganchos (hexacanto), puede ser transportada en la corriente sanguínea por todo el cuerpo y alojarse en un tejido, pero con mayor frecuencia se aloja en los músculos estriados. La larva forma una membrana y origina un quiste que tiene en su interior, líquido y escólex este quiste se llama *Cisticerco*, el cual al ser ingerido por el hombre, evagina el escólex en el intestino delgado. Este se adhiere a la mucosa, forma Proglótides y da origen a la *Taenia* adulta, el período patente el hombre es de 2 a 3 meses.



Características

La *T. solium* adulto puede alcanzar varios metros de longitud. El escólex es muscular y tiene además de las cuatro ventosas una doble corona de ganchitos sobresalientes que actúan en la fijación en la mucosa intestinal. Los segmentos maduros son más anchos que largos y contienen un grupo de órganos de la reproducción, masculinos y femeninos. Los segmentos grávidos suelen ser mas largos que anchos, los proglótides maduros carecen de esfínter vaginal con menos de doce ramas uterinas, principales a cada lado y contienen un útero ramificado lleno de huevecillos.

Un conducto uterino central se extiende en toda la longitud de un segmento grávido y de él nacen las ramas laterales que sobresalen hacia los lados y se extienden hacia el borde lateral de la proglótide. Estas ramas laterales principales tienen diversas ramitas secundarias. En *T. solium* él numero de ramas principales en un lado del conducto central varia de siete a diecisiete.

Clasificación taxonómica de la *Teania solium*

Reino	El animal
Clase	<i>Cestodo</i>
Familia	<i>Taeniidae</i>
Género	<i>Taenia</i>
Especies	<i>T. Solium, T. saginata, T. Ovis.</i>



HIPÓTESIS

El presente estudio Monográfico plantea que las especies sometidas a estudio presentan actividad biológica al ensayarse con cisticercos de *Taenia solium*.



MATERIAL Y METODO

Tipo de estudio: El presente estudio es del tipo de experimental y descriptivo.

Área de estudio: Se realizó en el Laboratorio de microbiología y Parasitología de la facultad de Ciencias Medicas y en el área de productos naturales del Departamento de Análisis y Drogas de medicamentos ubicados en la Facultad de Ciencias Químicas del complejo docente de la salud. (CAMPUS MEDICO)

Población de estudio: 11 especies vegetales procedente de la biodiversidad en la estación biológica de Bartola Río San Juan.

Muestra: se tomaron 5 especies de plantas recolectadas correspondiente al 40% de la población de estudio.

Variables: concentración y tiempo.

Procedimiento: Para la ejecución del presente estudio monográfico se realizaron diversas revisiones bibliograficas:

- Herbario (UNAN LEON) Miguel Ramírez Gollena.
- Biblioteca del complejo docente de la salud. (CAMPUS MEDICO)
- Red de información. (WEB)
- Biblioteca del hospital escuela Oscar Danilo Rosales. (HEODRA)

Plan de análisis: Los resultados obtenidos fueron representados y analizados a través de tablas y fotos de las diferentes plantas a estudio.



Procedimiento para la extracción de la droga y obtención previa de los extractos

- ❖ Las especies previamente secas se pulverizaron en un molino de cuchilla.
- ❖ Se pesaron 500 gr de cada especie y se humedeció con una mezcla Etanol: H₂O (8:2)
- ❖ Los extractos son obtenidos a través de maceración acelerada.

Maceración acelerada: Este método se utiliza para cantidades pequeñas poniéndose en contacto la muestra con una mezcla (etanol: Agua) se agita para humedecer uniformemente las muestras. Luego se colocan en baño maría por un periodo de 30-40 minutos a temperatura de 45° C.

- ❖ Filtración del macerado para la clarificación de los extractos con papel filtro # 3. (100 ml) .
- ❖ Concentración del filtrado a 50ml, por especie vegetal, luego se procede al secado del concentrado hasta obtener un extracto sólido.

Fraccionamiento:

- ❖ Utilizar embudos separadores de 250 ml, adicionar 30 ml de cada uno de los extractos por separado. Realizar tres lavadas por especie vegetal.
- ❖ El fraccionamiento de los extractos se realizó con solventes Cloroformo y Hexano, para su purificación, mezclando el extracto metanólico con cada uno de los solventes por separados con proporciones 30:30
- ❖ Agitar moderadamente para evitar la formación de una emulsión, dejar reposar hasta que las fases estén totalmente separadas.
- ❖ Los extractos con sus respectivas fracciones fueron almacenados bajo refrigeración..



PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN DEL ENSAYO

Obtención de cisticerco.

- ❖ Los trozos de cerdo infectado fueron proporcionado por el Rastro municipal de León y diseccionado en el departamento de Morfología de la facultad de ciencias Medica para la respectiva obtención.
- ❖ Los quistes se almacenaron a una temperatura de -12°C hasta la realización del ensayo.

Preparación de la muestra

- ❖ Los extractos se diluyen con una emulsión de Tween 20 al 1% hasta concentraciones de 0.1,0.2, 0.3, 0.4 % respectivamente.

Preparación del Estándar

- ❖ Preparación de una solución de Albendazol a concentración de 0.1, 0.2, 0.3,0.4%, con solución de Tween 20 al 1 %.

Ensayo

- ❖ La activación de los quistes posterior a la congelaciones realizó con dióxido de carbono en un medio de sales biliares.
- ❖ Tomar un grupo representativo de quistes de aproximadamente 5 mm de longitud, adicionar a dos placas petry de cuatro cuadrantes las que contiene 5 ml de las fracciones a ensayar(Cloroformo-Hexano) estándar blanco y extracto crudo a diferentes concentraciones 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 %.



Evaluación de la actividad

- ❖ El tiempo requerido para la determinar la parálisis completa se realiza en ambiente que contenga una temperatura de mas o menos 28° C.
- ❖ Se considera actividad positiva aquella concentración que paralicé el 80 ó 90 % de los parásitos.
- ❖ **Tabulación de los resultados:** Para la tabulación de los resultados se evalúen la concentraciones de la muestra y es establecer en términos de porcentaje de la concentración versus tiempo en minutos que produce parálisis o la muerte de los cestodos.

Cromatografía.

Preparación de las placas cromatográficas:

- ❖ Se adiciona aproximadamente 200ml de agua destilada previamente calentada a 300 g de sílica gel F254, hasta obtener una mezcla homogénea y de buena consistencia.
- ❖ Vertimos esta mezcla sobre placas de vidrio previamente lavada y secada.
- ❖ Una vez preparada, se deja secar por 30 minutos, después se llevaron al horno por 20 minutos a temperatura de 40°C
- ❖ Elaboración de la fase móvil que contiene cloroformo y metanol. (85: 15)
- ❖ Saturación de la cámara cromatográfica por espacio de 1h.



- ❖ Posteriormente medimos la placa cromatográfica dejando 1 cm del borde inferior y 2 cm de distancia entre cada punto.
- ❖ Siembra de 10 µl de una fracción diferente en cada punto señalado en la placa, realizando este mismo procedimiento para cada especie vegetal.
- ❖ Luego se dejó correr la muestra 12 cm de distancia hacia el borde superior y la dejamos secar por 15 minutos.
- ❖ Observamos las placas en el UV y señalamos las manchas.
- ❖ Posteriormente determinamos los valores de Rf de las fracciones por especie vegetal.

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por la sustancia}}{\text{Distancia recorrida por el solvente}}$$



**MARCHA FITOQUIMICA:
ALCALOIDES**

Extracción:

- ❖ Tomar la cantidad del EET correspondiente a 9 g. De la planta.
- ❖ Añadir HCl 5% y llevar a pH ácido (2 a 3) comprobar con papel pH.
- ❖ Adicionar NaOH al 20% y llevar a pH básico (10 a 12)
- ❖ Transferir el extracto alcalinizado a un embudo de separación, extraer con cloroformo utilizando un volumen igual al del extracto.
- ❖ Separar el extracto clorofórmico.
- ❖ Realizar un segunda extracción utilizando cloroformo etanol (3:2)
- ❖ Separar el extracto clorofórmico.
- ❖ Unir los extractos clorofórmicos, concentrar hasta eliminar el solvente, a presión reducida.
- ❖ Este extracto se denomina ECALC
- ❖ Del residuo se toma una alícuota, se acidifica, y se realiza la prueba de precipitación para identificación de alcaloides. Con el objetivo de comprobar que todos los alcaloides han sido extraídos.



Identificación:

- ❖ En el extracto ECALC se realizara la siguiente prueba de identificación:

- ❖ Separar una alícuota para cromatografía

- ❖ MAYER: positivo si aparece un precipitado de color blanco.

- ❖ DRAGGENDORFF: alícuota + R. Draggendorff = positivo precipitado de color rojo ladrilló.

- ❖ WAGNER: alícuota + R. Wagner = positivo precipitado de color marrón (café)

Cromatografía:

Utilizando placa de sílica gel G, como fase estacionaria y como fase móvil:

- 1) Acetato de etilo/ metanol / agua (100:13, 5:10)
- 2) Butanol / ácido acético / agua (10:1:3)
- 3) Cloroformo / metanol (85 :15)

Revelar la placa con Draggendorff (acético) manchas de color naranja.



FLAVONOIDES, TANINOS Y SAPONINAS.

Extracción:

- ❖ El residuo etanólico FET, trátalo con una mezcla de etanol / agua (1:7)
Calentar a 60 grados.

FLAVONOIDES.

Tomar un alícuota FET y realizar las siguientes reacciones.

Coloración:

- ❖ Reacción de Shidona. Adicionar a la muestra ácido clorhídrico concentrado y limadura de magnesio. Espuma abundante y/ o coloración roja intensa.
- ❖ Reacción de cianidina, 1 cc FET, añadir un cc de una solución de alcohol clorhídrico (alcohol etílico 50 grados y ácido clorhídrico concentrado 2:1 v/ v) y 2 o 3 trocitos de magnesio. Coloración rosa o roja.
- ❖ Reacción en medio alcalino alícuota de FET, mas gotas de hidróxido de potasio (5% en etanol de 95 grado) Coloración amarillo naranja, añadir unas gotas de cloruro férrico 2% coloración azul verdosa.



TANINOS.

Tomamos una alícuota del extracto FET y procedemos a las siguientes reacciones:

Coloración:

1. Cloruro férrico al 1%. Color azul si son hidrolizables, verdes si no es hidrolizables.
2. Gelatina salada: Adicionar una cantidad igual a la mitad de la alícuota del reactivo de gelatina sal. Solución al 1% de gelatina y 10% de sal en agua. Precipitado blanco frocúlenlo.
3. Acetato de zinc amoniacal: adicionar unas gotas de acetato de zinc amoniacal. Los hidrolizables se precipitan mas fácilmente.

SAPONINAS:

Tomando una alícuota del extracto FET y procedemos a las siguientes reacciones:

Identificación:

Con agua: adicionamos una cantidad de agua y procedemos a agitar. Observar la presencia de espumas permanentemente por un minuto (mínimo).

Directo sobre plantas:

Una pequeña cantidad de la planta fresca o pulverizada, adicionar agua y observar la presencia de espuma.



Identificación.

Reacciones de coloración:

- ❖ R. Dragendorff (alcaloides generales.

A: 8g Bi(NO₃)₃·5 H₂O/ml HNO₃.

B: 27.2g KI / 54ml H₂O.

Mezclar, reposar, secantar y diluir a 100ml.

- ❖ R. Erdmann (isoquinoleinas)

A: 6 gotas de HNO₃ / 100ml H₂O

B: 10 gotas a 20 gotas de 1 – 2mg de muestra + 8 gotas – 10 gotas de reactivo.

Color: Rojo al Reaccionar

- ❖ R. Mayer o Valsler.

A: 1.36g HgCl₂ / 60 ml + H₂O.

B: 5g KI / 10ml H₂O.

Mezclar y diluir a 100 ml.



MATERIAL Y EQUIPO

MATERIAL:

- ❖ Beaker: 1000 ml, 600ml,100ml,50ml.
- ❖ KIMAX USA
- ❖ Embudos separadores: capacidad 250 ml
- ❖ Pirex
- ❖ Espátula Fisher
- ❖ Vidrio reloj: Stándar 25 x 25 mm
- ❖ Balones : Capacidad: 500ml, 250ml, 100ml, 50ml, 25ml.

KIMAX USA

- ❖ Tubos de ensayo: Pirex
- ❖ Agitadores de vidrio
- ❖ Platos petry de cuatro cuadrantes: 100x100ml
- ❖ Pirex
- ❖ Mortero
- ❖ Placa Cromotográfica
- ❖ Clamp
- ❖ Aros metálicos
- ❖ Papel filtro
- ❖ Papel aluminio



EQUIPO:

- ❖ Horno: Precisión scientific graup 1 GCA corporation
- ❖ Cocina: Corning Hot plate p.c-101
- ❖ Soporte. Fisher Usa
- ❖ Refrigerador: White Westinghouse
- ❖ Balanza analítica
- ❖ Molino
- ❖ Termómetro
- ❖ Gradillas Metálicas y de Madera
- ❖ Cámara Cromatográfica y de saturación
- ❖ Secadora



Crisophila warscewiczii

Tabla No 1

T I E M P O 1		Extracto crudo			Fracción Cloroformo			Fracción Hexano			
		concentración	V	M	% A	V	M	% A	V	M	% A
			5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.4%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.4%	5	4	80%	5	4	80%	5	4	80%
	S/ n Tween 1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
T I E M P O 2		Extracto crudo			Fracción Cloroformo			Fracción Hexano			
	Muestra	concentración	V	M	% A	V	M	% A	V	M	% A
		0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.4%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
	Stándar	0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.4%	5	4	80%	5	4	80%	5	4	80%
Blanco	S/ n Tween 1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
T I E M P O 3		Extracto crudo			Fracción Cloroformo			Fracción Hexano			
	Muestra	concentración	V	M	% A	V	M	% A	V	M	% A
		0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.4%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
	Stándar	0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.4%	5	4	80%	5	4	80%	5	4	80%
	S/ n Tween 1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	

V: vivos. M: muertos. % A: % actividad.



Cyclantus bipartitus

Tabla No 2

T I E M P O	Muestra	Extracto crudo			Fracción Cloroformo			Fracción Hexano			
		concentración	V	M	% A	V	M	% A	V	M	% A
1		0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.2%	5	2	40%	5	0	0%	5	0	0%
		0.3%	5	3	60%	5	0	0%	5	0	0%
		0.4%	5	4	80%	5	3	60%	5	0	0%
	Stándar	0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.4%	5	5	100%	5	5	100%	5	5	100%
	Blanco	S/ n Tween 1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
			Extracto crudo			Fracción Cloroformo			Fracción Hexano		
2	Muestra	concentración	V	M	% A	V	M	% A	V	M	% A
		0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.2%	5	2	40%	5	0	0%	5	0	0%
		0.3%	5	3	60%	5	0	0%	5	0	0%
		0.4%	5	4	80%	5	4	80%	5	0	0%
	Stándar	0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.4%	5	5	100%	5	5	100%	5	5	100%
	Blanco	S/ n Tween 1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
3		Extracto crudo			Fracción Cloroformo			Fracción Hexano			
	Muestra	concentración	V	M	% A	V	M	% A	V	M	% A
		0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.2%	5	3	60%	5	0	0%	5	0	0%
		0.3%	5	5	100%	5	0	0%	5	0	0%
		0.4%	5	5	100%	5	4	80%	5	0	0%
	Stándar	0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.4%	5	5	100%	5	1	100%	5	5	100%
Blanco	S/ n Tween 1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	

V: vivos. M: muertos. % A: % actividad.



Selaginella artrítica
Tabla No 3

T I E M P O	Muestra	Extracto crudo			Fracción Cloroformo			Fracción Hexano			
		concentración	V	M	% A	V	M	% A	V	M	% A
1		0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.4%	5	4	80%	5	1	20%	5	0	0%
	Stándar	0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.4%	5	5	100%	5	5	100%	5	5	100%
	Blanco	S/ n Tween 1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
T I E M P O	Muestra	Extracto crudo			Fracción Cloroformo			Fracción Hexano			
		concentración	V	M	% A	V	M	% A	V	M	% A
2		0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.4%	5	4	80%	5	3	60%	5	0	0%
	Stándar	0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.3%	5	4	80%	5	4	80%	5	4	80%
		0.4%	5	5	100%	5	5	100%	5	5	100%
	Blanco	S/ n Tween 1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
T I E M P O	Muestra	Extracto crudo			Fracción Cloroformo			Fracción Hexano			
		concentración	V	M	% A	V	M	% A	V	M	% A
3		0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.4%	5	4	80%	5	3	60%	5	0	0%
	Stándar	0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.3%	5	4	80%	5	4	80%	5	4	80%
		0.4%	5	5	100%	5	5	100%	5	5	100%
	Blanco	S/ n Tween 1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%

V: vivos. M: muertos. % A: % actividad.



Talisa nervosa
Tabla No 4

T I E M P O	Muestra	Extracto crudo			Fracción Cloroformo			Fracción Hexano				
		concentración	V	M	% A	V	M	% A	V	M	% A	
1		0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.4%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
	Stándar	0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.4%	5	4	80%	5	4	80%	5	4	80%	
	Blanco	S/ n Tween 1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
	2		0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
			0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
			0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.4%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
Stándar		0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.4%	5	4	80%	5	4	80%	5	4	80%	
Blanco		S/ n Tween 1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
3			0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
			0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
			0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.4%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
	Stándar	0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.4%	5	4	80%	5	4	80%	5	4	80%	
	Blanco	S/ n Tween 1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	

V: vivos. M: muertos. % A: % actividad.



Tetragastris panamensis

Tabla No 5

TIEMPO	Muestra	Extracto crudo			Fracción Cloroformo			Fracción Hexano				
		concentración	V	M	% A	V	M	% A	V	M	% A	
1		0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.4%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
	Stándar	0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.4%	5	4	80%	5	4	80%	5	4	80%	
	Blanco	S/ n Tween 1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
	2		0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
			0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
			0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.4%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
Stándar		0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.4%	5	4	80%	5	4	80%	5	4	80%	
Blanco		S/ n Tween 1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
3			0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
			0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
			0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%
		0.4%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
	Stándar	0.1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.2%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.3%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	
		0.4%	5	4	80%	5	4	80%	5	4	80%	
	Blanco	S/ n Tween 1%	5	0	0%	5	0	0%	5	0	0%	

V: vivos. M: muertos. % A: % actividad.



Reacciones de Coloración

Prueba para Alcaloides

Método	Procedimiento	Especie Vegetal	Fracción	C. R	C.D	C. R
Wagner	Iodo metálico 5g yoduro de potasio 10g. Agua c.s.p. 1000ml.	C. bipartitus	Extracto crudo	Precipitado café o color marrón	marrón	+
			Cloroformo		café	+
			Hexano		-	-
		C. warszewiczii	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-
		S. artrítica	Extracto crudo		marrón	+
			Cloroformo		café	+
			Hexano		-	-
		Talisia nervosa	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-
		T. panamensis	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-



Reacciones de Coloración

Prueba para Alcaloides

Método	Procedimiento	Especie Vegetal	Fracción	C. R	C.D	C. R	
Dragendorff	a: 8g Bi (NO ₃) ₃ . SH ₂ O ml b: 27.2 Kg / 50ml H ₂ O. Mezclar, reposar, decantar, diluir a 100ml.	C. bipartitus	Extracto crudo	Precipitado Rojo ladrillo o marrón	Rojo Intenso	+	
			Cloroformo		marrón	+	
			Hexano		-	-	
		C. warscewiczii	Extracto crudo		-	-	
			Cloroformo		-	-	
			Hexano		-	-	
		S. artrítica	Extracto crudo		Rojo ladrillo	Rojo Intenso.	+
			Cloroformo		o marrón	marrón	+
			Hexano		-	-	
		Talisia nervosa	Extracto crudo		-	-	
			Cloroformo		-	-	
			Hexano		-	-	
		T. panamensis	Extracto crudo		-	-	
			Cloroformo		-	-	
			Hexano		-	-	



Reacciones de Coloración

Prueba para Alcaloides Isoquinolico

Método	Procedimiento	Especie Vegetal	Fracción	C. R	C.D	C. R
Erdmann	A: 6 gotas HNO3 100ml H2O. B: 10 gotas a 20 gotas H2SO4 1-2mg Muestra + 8 ó 10 gotas de reactivo	C. bipartitus	Extracto crudo	Rojo o Cualquier cambio de coloración.	Rojo	+
			Cloroformo		Rojo	+
			Hexano		-	-
		C. warscewiczii	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-
		S. artrítica	Extracto crudo		Rojo	+
			Cloroformo		Rojo	+
			Hexano		-	-
		Talisia nervosa	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-
		T. panamensis	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-



Reacciones de Coloración

Prueba para Alcaloides

Método	Procedimiento	Especie Vegetal	Fracción	C. R	C.D	C. R
Mayer	a: 1.36g HgCl ₂ / 60ml H ₂ O b: 5g KI / 10ml H ₂ O. Mezclar. Diluir a 100ml	C. bipartitus	Extracto crudo	Precipitado color Blanco o crema	P.P crema	+
			Cloroformo		PP crema	+
			Hexano		-	-
		C. warscewiczii	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-
		S. artrítica	Extracto crudo		PP crema	+
			Cloroformo		PP crema	+
			Hexano		-	-
		Talisia nervosa	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-
		T. panamensis	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-

PP: Precipitado.



Tabla No 10
Reacciones de Coloración

Prueba para Taninos

Método	Procedimiento	Especie Vegetal	Fracción	C. R	C.D	C. R
Acetato de Zinc.		C. bipartitus	Extracto crudo	Precipitado café (Hidrolizable)	-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-
		C. warszewiczii	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-
		S. artrítica	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		PP. Café.	+
			Hexano		-	-
		Talisia nervosa	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-
		T. panamensis	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-



Tabla No 11
Reacciones de Coloración

Prueba para Taninos

Método	Procedimiento	Especie Vegetal	Fracción	C. R	C.D	C. R
Gelatina Salada	Solución al 1% de gelatina + 10% sal en agua	C. bipartitus	Extracto crudo	Precipitado Blanco Floculento	-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-
		C. warszewiczii	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-
		S. artrítica	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		PP. Blanco	+
			Hexano		-	-
		Talisia nervosa	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-
		T. panamensis	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-



Tabla No 12
Reacciones de Coloración

Prueba para Taninos

Método	Procedimiento	Especie Vegetal	Fracción	C. R	C.D	C. R	
Cloruro Férrico 1%		C. bipartitus	Extracto crudo	Azul Hidrolizable Verde No Hidrolizable	-	-	
			Cloroformo		-	-	
			Hexano		-	-	
		C. warscewiczii	Extracto crudo		-	-	
			Cloroformo		-	-	
			Hexano		-	-	
		S. artrítica	Extracto crudo		Hidrolizable	-	-
			Cloroformo			verde	+
			Hexano			-	-
		Talisia nervosa	Extracto crudo		Verde	-	-
			Cloroformo		No	-	-
			Hexano			-	-
		T. panamensis	Extracto crudo		Hidrolizable	-	-
			Cloroformo			-	-
			Hexano			-	-



Tabla No 13
Reacciones de Coloración

Prueba para Flavonoide

Método	Procedimiento	Especie Vegetal	Fracción	C. R	C.D	C. R
Shidona	Adicionar a la muestra 1 cc HCl concentrado y limadura de Magnesio	C. bipartitus	Extracto crudo	Rosa o Cualquier cambio de coloración.	Rojo	+
			Cloroformo		Rojo	+
			Hexano		-	-
		C. warszewiczii	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-
		S. artrítica	Extracto crudo		Rojo	+
			Cloroformo		Rojo	+
			Hexano		-	-
		Talisia nervosa	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-
		T. panamensis	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-



Tabla No 14

Reacciones de Coloración

Prueba para Flavonoide

Método	Procedimiento	Especie Vegetal	Fracción	C. R	C.D	C. R
Cianidina	1 cc FET, mas 1 cc solución de alcohol clorhídrico + 2 ó 3 trozos de magnesio	C. bipartitus	Extracto crudo	Rosa 0 Rojo	Rojo	+
			Cloroformo		Rojo	+
			Hexano		-	-
		C. warscewiczii	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-
		S. artrítica	Extracto crudo		Rojo	+
			Cloroformo		Rojo	+
			Hexano		-	-
		Talisia nervosa	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-
		T. panamensis	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-



Tabla No 15
Reacciones de Coloración

Prueba para Saponinas

Método	Procedimiento	Especie Vegetal	Fracción	C. R	C.D	C. R
Espuma	Se toma una fracción y se agita por espacio de 1 min. Posterior a la adicción de H ₂ O.	C. bipartitus	Extracto crudo	Observar la espuma permanente máximo por 1 minuto	Espuma	+
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-
		C. warszewiczii	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-
		S. artrítica	Extracto crudo		Espuma	+
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-
		Talisia nervosa	Extracto crudo		Espuma	+
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-
		T. panamensis	Extracto crudo		-	-
			Cloroformo		-	-
			Hexano		-	-



Cromatografía de capa fina.
Caracterización de Alcaloides
Isoquinolinicos.

Fase móvil	Especie Vegetal	Fracción	Rf	
			Muestra	Stándar
CHCl ₃ : CH ₃ O ₄ 85: 15	C. bipartitus	Extracto crudo	0.778	0.803
		Cloroformo	0.686	0.696
		Hexano	-	-
	C. warszewiczii	Extracto crudo	-	-
		Cloroformo	-	-
		Hexano	-	-
	S. artrítica	Extracto crudo	0.778	0.883
		Cloroformo	0.688	0.696
		Hexano	-	-
	Talisia nervosa	Extracto crudo	-	-
		Cloroformo	-	-
		Hexano	-	-
	T. panamensis	Extracto crudo	-	-
		Cloroformo	-	-
		Hexano	-	-



ANALISIS DE RESULTADO

La evaluación de los resultados del presente ensayo muestra que únicamente dos de las cinco especies vegetales muestra actividad con Cisticercos de *Tenia Solium*, las dos especies activas fueron: Selaginella artrítica, mostró actividad a concentraciones de 0.4% en intervalos de 1 a 6 horas evaluadas en extractos crudos, siendo posteriormente a la primera hora de evaluación se alcanza actividad máxima en comparación con el estándar de referencia.

Cyclanthus bipartitus, mostró actividad a concentraciones de 0.4% en al tiempo de 6 horas de evaluación siendo posteriormente a la primera hora de evaluación se alcanza la actividad biológica y a las 6 horas se alcanza actividad máxima para el extracto crudo. La fracción cloroformiza mostró su actividad máxima a concentración de 0.4%, luego de 3 horas de exposición en comparación con el estándar de referencia. Los resultados de la marcha fotoquímica muestra la presencia de alcaloides de tipo isoquinólicos así como otros compuestos tales como: Taninos, Flavonoides y saponinas, en las especies mencionadas anteriormente, *Selaginella artrítica y Cyclanthus bipartitus*. Los resultados de cromatografía en capa fina para la evaluación de los alcaloides del grupo isoquinólicos muestra similitud presuntamente en la fracción cloroformica y extractos crudos respectivamente en comparación con el estándar de referencia.

De esta manera lo anteriormente mencionado comprueba que las especies vegetales: *Selaginella artrítica y Cyclanthus bipartitus*, presentan actividad biológica en cisticercos de *Taenia solium* y contienen compuestos de interés farmacognóstico que pueden ser los que brinden la actividad a las especies antes mencionadas.



CONCLUSIÓN

En el presente estudio monográfico en el cual se determinó la actividad biológica en cinco especies vegetales se comprobó que dos especies vegetales únicamente presentan actividad biológica siendo dicha especie *Selaginella artrítica* y *Cyclanthus bipartitus* de las cuales esta última demostró mejor actividad en la fase de extracto crudo y Cloroformo en la realización del ensayo.

La caracterización de ciertos compuestos presume la presencia de alcaloides del tipo Isoquinolico, los que son determinantes en la actividad sobre cestodos (Cisticercos de *Tenia de solium*) así como otros compuestos encontrados pero no de menor relevancia. Tales como Flavonoides, Taninos y Saponinas.



RECOMENDACIONES

1. Almacenar los extractos crudos y fraccionado a temperatura baja, aproximadamente de -10°C . Para evitar crecimiento de microorganismo y volatilización de los solventes.
2. Los Cisticercos deben ser almacenados a una temperatura de -12°C . Para evitar la descomposición por presencia de microorganismo
3. El área de trabajo debe reunir las condiciones adecuadas: temperatura, área aséptica para la ejecución del ensayo, tomando en cuenta la buena manipulación del equipo.
4. El tiempo de evaluación en el ensayo debe ser referido en comparación al estándar de referencia seleccionado para la determinación de la actividad.



BIBLIOGRAFÍA

1. Alston. Arch. Bot (Forli), 1935. pág 25-27.
2. Américo Albornoz M. Productos Naturales: Estudio de la sustancia y drogas extraídas de las plantas. Pág., 393-406.
3. Artículos y Estudios Q(x) de Productos Naturales, Vol. 13. Bioactividad de Productos Naturales part. A . Arta. Ur. Arman 1993. Pág. 642-645
4. Artículos de Farmacognosia Drog Discovery Pág. 12 Pág. 47-179-180-190.
5. Biodiversidad en Nicaragua. Editado por Marena 199. Edición No 1, Pág. 3-214-216-217.
6. Clarke Isolation and identification Drugs, Segunda edition, editor A.C Moffat the Farmaceutica. Pres 1986, Pág. 907, 144.
7. Davis Botero., Marcos Restrepo. Parasitosis Humana Tercera edición. Pág. No 342-357.
8. Gessner G. Hawley. Diccionario de Química y de productos Químicos, ediciones Griega S.A. 1995.
9. Informe sobre el estado de Recursos Filogenéticos en el Mundo, FAO. 1996.
10. James A. Duke. Handbook of medicinal Herbs. Editorial Boca Ratón 1929.
11. La Prensa. Edición No 23027, 11 de marzo 2003. Pág. 13.
12. The Chemistry of mind altering drugs, History Pharmacology and cultura context. Teas Vegetal ranked for antioxi clant activities. December 2, 1996 Pág. 48.
13. The Merck Index. Gleveth edition 1989. Pág. 36.
14. The Pharmaceutical Codex, edition Twelfth. Principals and practice of Pharmaceutics, 1994.



15. Luis Claudio Di Stasi. Plantas Medicinales Arte y Ciencia. Editorial UNESP. 1995. Pág. 113-135
16. Ministerio de Desarrollo Sostenible Medio Ambiente, Secretaria de Recursos Naturales. Dirección Nacional de Conservación de la Biodiversidad. Afiche del Herbario de la Escuela de Biología (UNAN-LEON).
17. Nikolai Sharapin, Autor. Roberto Pinzon S. Editor. Fundamento de Tecnología de productos fitoterapéuticos. Pag. 26-70.
18. Olga Lock de Ugar. Investigación Fotoquímica: Método en el estudio de los productos naturales. Segunda edición, 1994.
19. Plants as a Source of Potential antiviral agents. Programs for collaborative Research in the Parmaceutical Sciences college of pharmacy University of Illinois at Chicago 60680 USA
20. Parasitología Medica tercera edición, Dr. Edward K. Markrll, Dra. Maneltt Voge, 1973. Pág. 161.
21. Skoob Moller Nieman. V Edición Pcp. de análisis industrial.
22. Trase – Evans cu.c. evans, décima tercera edición, Cáp. 35. farmaconosia. Pág. 744-475-747.
23. Xorge A. Domínguez. Métodos de Investigación Fotoquímica: Editorial LIMUSA. Primera edición, 1978 México.



GLOSARIO

ABAXIAL: con relación a un eje, aplíquese al órgano más alejado de él

ACROSCÓPICO: dicéese del órgano o la parte orgánica orientados hacia el ápice del eje, hacia el extremo superior de un miembro, por oposición varioscópica, en las hojitas de los musgos existe una porción basal acroscópica, que mira al ápice del tallito.

ADHESIVIDAD: (adhesivo) cualquier sustancia inorgánica natural o sintética capaz de unir otra sustancia por contacto superficial.

BASISCÓPICO: aplíquese al órgano o a la parte orgánica orientados hacia la parte inferior de un miembro.

BIFIDAS: (dividido en dos partes) este vocablo se aplica a lo que está hendido en dos partes. En botánica sin embargo su empleo se dá al órgano dividido en dos proporciones que no llegan a la mitad de su longitud total.

BRACTEA: llámese brácteas a cualquier órgano foliaseo situado en la proximidad de las flores por su forma y tamaño.

CORIACEA: es un termino usado con frecuencia en la descripción botánica. Adj. De consistencia recia, aunque con cierta flexibilidad como el cuero.



CUNEIFORME: Adj. De figura de cuña o parecido a la sección longitudinal de una cuña, cuando se trata de órganos laminares como las hojas que es lo mas frecuente.

ESPADICE: espiga simple o compuesta de raquis mas o menos carnoso, con las flores generalmente unicelulares, inconspicuas, rodeada de una espata y es característica de las espadifloras.

ESTIGMATICO: propio del estigma o relativo a él. dicéase también de las plantas provistas de estigma por oposición a los astigmáticos, en este caso se emplea así mismo como substancia. Los astigmáticos son una de las dos grandes desviaciones de las plantas anemogamicas.

EXFOLIACION: fenómeno en virtud del cual la corteza u otra parte orgánica se divide en hojas o láminas que se desprenden de ellas.

PECÍOLO: rabilo que une la lamina de la hoja a la base foliar o al tallo por lo general su forma es rolliza y por lo común un poco acanalada superiormente

PERENNIFOLIO, LIA: así se designan los árboles y arbustos verdes todo el año, como las encinas los laureles, los pinos y las araucanas. En los árboles viejos las hojas no se caen antes de haberse desarrollado otras nuevas.

PROFILO: es cualquier brote lateral, la primera de cada una de las dos primeras hojas del mismo. Generalmente los profilos ocupan un lugar determinado en dicho brote con respecto a la hoja tectriz en cuya axila ha surgido posición que nada tiene que ver con las de las sucesivas hojas del brote lateral.



RECEPTÁCULO: lugar o casa que recibe en sí, algo en su sentido prístico de la base que sirve como asiento a las diversas pertenencias florales de una inflorescencia.

RIZFORÁCEAS: del género Rizófora. Fam. de mirtales del suborden de las mirtineas, de flores Actinomorfa, generalmente hermafroditas, heteroclamídeas, raras veces apopítalas.

