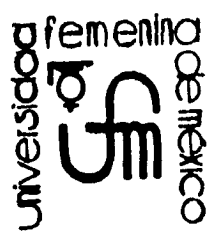


302927



UNIVERSIDAD FEMENINA DE MEXICO

**ESCUELA DE QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
INCORPORADA A LA UNAM**

2
nj

**CERNIMIENTO BIOLOGICO DE ALGUNAS PLANTAS
MEDICINALES UTILIZADAS EN LA COMUNIDAD
DE AMOJILECA, GUERRERO.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
**LICENCIADA EN QUIMICA
FARMACEUTICA BIOLOGA**
P R E S E N T A :
TALIA CHAMBERT PEREZ

DIRECTOR DE TESIS: M. EN C. VERONICA RODRIGUEZ LOPEZ

MEXICO, D. F.

ENERO DE 1996.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

**LO IMPORTANTE ES ESTAR DISPUESTO,
ENCUALQUIER MOMENTO, A DEJAR DE SER LO
LO QUE SE ES, PARA SER
ALGO MEJOR.**

AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento especial a la M. en C. Verónica Rodríguez López por su tiempo, dedicación y valiosos comentarios realizados para el desarrollo de este trabajo y que a pesar de la distancia siempre me ha apoyado y se ha preocupado por mí.

A la M. en C. Perla Caetano de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México y a la M. en C. Lourdes Hernández de Jesús de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, por las facilidades otorgadas en la realización de esta tesis.

A todos los mis profesores por su tiempo y por las enseñanzas transmitidas.

A mis padres: Raúl y Guadalupe todo el amor brindado, el apoyo que he recibido para todas las decisiones que he tomado y por haberme dado las alas para volar.

A mis hermanas: Gabriela y Aurea por las peleas y alegrías.

A mi Abuelita Carlota por su apoyo y ayuda a lo largo de mis estudios universitarios.

A mi Tío Memo por su ayuda incondicional, ya que siempre se ha preocupado por nosotras.

Amis Amigos: Alejandra, Patty, Felipe, Gabriel, Miguel, los cuales siempre han estado conmigo en los buenos y en los malos momentos.

Al futuro Abogado y asesor en el laboratorio Eduardo Lona Romero por su amistad y cooperación en la realización de esta tesis.

Al C.P. Jorge Díaz Francés y al Ing. Gonzalo Bezingger por la confianza que han depositado en mí por todo el que me han brindado a nivel profesional.

Gracias

Talia

ABREVIATURAS

MBC	Concentración Mínima Bactericida
MIC	Concentración Mínima Inhibitoria
MICD	Concentración Mínima Inhibitoria en Disco
BSLT	Bioensayo de Toxicidad contra el crustáceo <i>Artemia salina</i>
CL ₅₀	Concentración Letal Media
CI ₅₀	Concentración Inhibitoria Media
%C	Porcentaje de Crecimiento
%I	Porcentaje de Inhibición
%I ₅₀ (µg/ml)	Porcentaje de Inhibición Media en microgramos por mililitro
DMSO	Dimetilsulfóxido
cél/ml	No. de células por mililitro
ppm	Partes por millón
M	Molar
U.V.	Ultravioleta
ml	Mililitros
µl	Microlitros
g	Gramos
mg	Miligramos
µg	Microgramos
cm	Centímetros
mm	Milímetros
g/Kg	Gramos por kilogramo
mg/Kg	Miligramos por kilogramo
µg/ml	Microgramos por mililitro

INDICE

LISTA DE ABREVIATURAS

INDICE DE FIGURAS.....	I
INDICE DE TABLAS.....	I
INDICE DE GRAFICAS.....	II
INTRODUCCION.....	1
1. ANTECEDENTES.....	3
1.1 Actividad Geográfico.....	3
1.2 Actividad Biológica.....	4
1.1.1 Toxicidad contra el crustáceo <i>Artemia salina</i> Leach.....	4
1.1.2 Actividad antimicrobiana.....	5
1.1.2.1 Método de Estria de Mitscher.....	7
1.1.2.2 Concentración inhibitoria mínima.....	8
1.1.3 Actividad alelopática.....	9
1.2 Antecedentes de <i>Anoda cristata</i> Schl.....	13
1.2.1 Aspecto botánico.....	13
1.2.2 Aspecto Etnobotánico y usos.....	13
1.2.3 Aspecto Químico.....	13
1.3 Antecedentes de <i>Borago officinalis</i> L.....	15
1.3.1 Aspecto Botánico.....	15
1.3.2 Aspecto Etnobotánico y usos.....	15
1.3.3 Aspecto Farmacológico.....	15
1.3.4 Aspecto Químico.....	16
1.4 Antecedentes de <i>Bougainvillea glabra</i> Choisy.....	18
1.4.1 Aspecto Botánico.....	18
1.4.2 Aspecto Etnobotánico y usos.....	18
1.4.3 Aspecto Farmacológico.....	18
1.4.4 Aspecto Químico.....	19
1.5 Antecedentes de <i>Citrus aurantium</i> Linn.....	20
1.5.1 Aspecto Botánico.....	20
1.5.2 Aspecto Etnobotánico y usos.....	20
1.5.3 Aspecto Farmacológico.....	20
1.5.4 Aspecto Químico.....	21
1.6 Antecedentes de <i>Gnaphallium sp</i> HBK.....	26
1.6.1 Aspecto Botánico.....	26
1.6.2 Aspecto Etnobotánico y usos.....	28
1.6.3 Aspecto Farmacológico.....	29
1.6.4 Aspecto Químico.....	30
1.7 Antecedentes de <i>Lippia dulcis</i> Trev.....	33
1.7.1 Aspecto Botánico.....	33
1.7.2 Aspecto Etnobotánico y usos.....	33

1.7.3 Aspecto Farmacológico.....	33
1.7.4 Aspecto Químico.....	35
1.8 Antecedentes de <i>Mangifera Indica</i> L.....	38
1.8.1 Aspecto Botánico.....	38
1.8.2 Aspecto Etnobotánico y usos.....	38
1.8.3 Aspecto Farmacológico.....	38
1.8.4 Aspecto Químico.....	39
1.9 Antecedentes de <i>Marrubium vulgare</i> L.....	45
1.9.1 Aspecto Botánico.....	45
1.9.2 Aspecto Etnobotánico y usos.....	45
1.9.3 Aspecto Farmacológico.....	45
1.9.4 Aspecto Químico.....	45
1.10 Antecedentes de <i>Pinus teocote</i>	48
1.10.1 Aspecto Botánico.....	48
1.10.2 Aspecto Etnobotánico y usos.....	48
1.10.3 Aspecto Farmacológico.....	48
1.10.4 Aspecto Químico.....	49
1.11 Antecedentes de <i>Sambucus mexicana</i> Pres ex A.D.C.....	51
1.11.1 Aspecto Botánico.....	51
1.11.2 Aspecto Etnobotánico y usos.....	51
1.11.3 Aspecto Farmacológico.....	51
1.11.4 Aspecto Químico.....	53
1.12 Antecedentes de <i>Tagetes erecta</i> L.....	56
1.12.1 Aspecto Botánico.....	56
1.12.2 Aspecto Etnobotánico y usos.....	56
1.12.3 Aspecto Farmacológico.....	56
1.12.4 Aspecto Químico.....	57
1.13 Antecedentes de <i>Usnea barbata</i> Fries.....	61
1.13.1 Aspecto Botánico.....	61
1.13.2 Aspecto Etnobotánico y usos.....	61
1.13.3 Aspecto Farmacológico.....	61
1.13.4 Aspecto Químico.....	62
1.14 Antecedentes de <i>Verbesina crocata</i>	63
1.14.1 Aspecto Botánico.....	63
1.14.2 Aspecto Etnobotánico y usos.....	63
1.14.3 Aspecto Químico.....	63
1.15 Justificación.....	66
1.16 Objetivos.....	71
2. METODOLOGIA.....	73
2.1 Operaciones preeliminares.....	73
2.1.1 Molienda.....	73
2.1.2 Desgrasado.....	74
2.2 Evaluación de la toxicidad contra el crustáceo <i>Artemia salina</i> Leach.....	74
2.3 Evaluación de la actividad antimicrobiana.....	75
2.4 Determinación de la concentración inhibitoria mínima.....	79
2.5 Determinación de la actividad alelopática.....	81

3. RESULTADOS	83
3.1 Resultados de la cantidad de extracto (Metanólico, Clorofórmico y Hexánico) obtenido, después de las extracciones.....	83
3.2 Resultados de la Toxicidad contra el crustáceo <i>Artemia salina</i> Leach de los extractos estudiados.....	84
3.3 Resultados de la Actividad Antimicrobiana.....	86
3.3.1 Resultados de la serie de Sulfato de Estreptomicina. Control positivo.....	88
3.4 Resultados de la Actividad Alelopática de los extractos estudiados.....	90
3.4.1 Resultados de la actividad Alelopática de los extractos que resultaron activos.....	93
4. DISCUSION DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES.....	95
5. BIBLIOGRAFIA.....	111

INDICE DE FIGURAS

Página

Figura No. 1	Compuestos aislados de <i>Anoda cristata</i>	13
Figura No. 2	Compuestos aislados de <i>Borago officillis</i>	17
Figura No. 3	Compuestos aislados de <i>Bougainvillea glabra</i>	23
Figura No. 4	Compuestos aislados de <i>Citrus aurantium</i>	31
Figura No. 5	Compuestos aislados de <i>Gnaphallium sp</i>	37
Figura No. 6	Compuestos aislados de <i>Lippia dulcis</i>	41
Figura No. 7	Compuestos aislados de <i>Mangifera indica</i>	47
Figura No. 8	Compuestos aislados de <i>Marrubium vulgare</i>	50
Figura No. 9	Compuestos aislados de <i>Pinus teocote</i>	54
Figura No. 10	Compuestos aislados de <i>Sambucus mexicana</i>	59
Figura No. 11	Compuestos aislados de <i>Tagetes erecta</i>	62
Figura No. 12	Compuestos aislados de <i>Usnea barbata</i>	65
Figura No. 13	Compuestos aislados de <i>Verbesina crocata</i>	78
Figura No. 14	Patrón radial de sembrado de microorganismos.....	80
Figura No. 15	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria.....	81
Figura No. 16	Forma de acomodo de las semillas de <i>Amarantus hypochondriacus</i>	82

INDICE DE TABLAS

Tabla No. 1	Morbilidad hospitalaria en 1992 en México.....	70
Tabla No. 2	Principales causas de mortalidad general en 1992 en México.....	70
Tabla No. 3	Plantas estudiadas.....	72
Tabla No. 4	Cantidad de material vegetal y cantidad de solvente utilizado utilizado en la extracción.....	73
Tabla No. 5	Resultados de la cantidad de extracto obtenido, después de las extracciones.....	83

	Página
Tabla No. 6	Resultados de la toxicidad contra <i>Artemia salina</i> Leach de los extractos estudiados..... 84
Tabla No. 7	Resultados de la Actividad Antimicrobiana..... 86
Tabla No. 8	Resultados de la serie de Sulfato de Estreptomicina, Control positivo..... 88
Tabla No. 9	Resultados de la Actividad Alelopática de los extractos estudiados..... 90
Tabla No. 10	Resultados de la Actividad Alelopática de los extractos que resultaron activos. 93

INDICE DE GRAFICAS

Gráfica No. 1	Resultados de la toxicidad contra <i>Artemia Salina</i> Leach..... 101
Gráfica No. 2	Resultados de la Actividad Antimicrobiana. Porcentaje de Inhibición del Crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> 102
Gráfica No. 3	Resultados de la Actividad Antimicrobiana. Porcentaje de Inhibición del Crecimiento de <i>Escherichia coli</i> 103
Gráfica No. 4	Resultados de la Actividad Antimicrobiana. Porcentaje de Inhibición del Crecimiento de <i>Klebsiella pneumoniae</i> 104
Gráfica No. 5	Resultados de la Actividad Antimicrobiana. Porcentaje de Inhibición del Crecimiento de <i>Candida albicans</i> 105
Gráfica No.6	Resultados de la Actividad Antimicrobiana. Porcentaje de Inhibición del Crecimiento de <i>Pseudomona aeruginosa</i> 106
Gráfica No. 7	Resultados de la Actividad Antimicrobiana. Porcentaje de Inhibición del Crecimiento de <i>Mycobacterium smegmatis</i> ... 107
Gráfica No. 8	Resultados de la Actividad Alelopática. Porcentaje de Inhibición del Crecimiento radicular de los extractos estudiados..... 108

INTRODUCCION

El hombre ha recurrido al reino vegetal desde épocas ancestrales para curar sus enfermedades, es entonces cuando nace la inquietud para clasificar a las plantas medicinales de acuerdo a sus propiedades terapéuticas. En México, la tradición en el uso popular de sustancias de origen natural se ha preservado en la cultura nacional y transmitido de generación en generación. Hoy en día, esta inquietud constituye el interés de numerosas investigaciones farmacognósicas estrechamente relacionadas con la etnobotánica y la química vegetal.

En las últimas décadas, la farmacología molecular y la química orgánica han tenido un progreso muy rápido y en especial el desarrollo de los fármacos de origen sintético ha sido vigoroso. No obstante en la actualidad se está recurriendo nuevamente a la búsqueda de fármacos de origen vegetal, una de las razones para volver a las fuentes naturales es que éstas proporcionan prototipos o modelos estructurales que sirven como punto de partida para la síntesis de análogos con interés terapéutico con la ventaja que estos presentan menos efectos colaterales, por las manipulaciones moleculares que permiten modificar la actividad al cambiar la estructura. De ahí que el uso popular de las plantas medicinales representa el criterio primario en el cual se basa la farmacognosia para la selección de sus fuentes naturales de estudio. Numerosas investigaciones fitoquímicas dan prueba de la efectividad de esta aproximación. La detección de los constituyentes activos es una tarea difícil. Sin embargo en esta línea de investigación se enfoca al estudio de plantas medicinales y de utilidad económica mediante la aplicación de bioensayos durante el desarrollo de los procesos analíticos de purificación de los extractos (Suffreass y Doumos, 1979; Wallis, 1990). Diferentes análisis han permitido demostrar que las plantas medicinales presentan una gran gama de actividades biológicas que pueden ser potencialmente útiles. Por lo tanto al empleo de los diferentes bioensayos auxilia al fitoquímico a no descartar compuestos activos, que de otra manera pasarían inadvertidos contribuyendo al mismo tiempo a la investigación química y biológica de las especies medicinales. Los bioensayos utilizados incluyen desde sencillos análisis microbiológicos *in vitro*, hasta complejos estudios

farmacológicos *in vivo* utilizando organismos superiores (Suffreass y Dournos, 1979; Youngken, 1985).

Sin embargo la mayoría de las plantas superiores de interés económico y medicinal aún no se han descrito desde el punto de vista etnobotánico y, mucho menos, se ha realizado la investigación de sus constituyentes químicos biológicamente activos. Por lo tanto nuevas fuentes de materiales de valor comercial permanecen por ser descubiertos. En consecuencia, las plantas superiores constituyen una reserva de compuestos químicos de utilidad potencial no solo como fármacos, sino como punto de partida para la síntesis de análogos y como una herramienta alternativa para el conocimiento de los procesos biológicos involucrados en la terapia de numerosas enfermedades que aquejan a la población mexicana. (Suffreass y Dournos, 1979; Youngken, 1985).

1. ANTECEDENTES

1.1 Características geográficas de la comunidad de Amojileca, Guerrero

La comunidad de Amojileca Guerrero se ubica a 10 km al poniente de la ciudad de Chilpancingo, capital del estado de Guerrero; en la región de la vertiente norte del río Huacapa (170° 33' - 17° 40') latitud norte y (99° 33' - 99° 42') longitud oeste, a una altura de 1500 metros sobre el nivel del mar. Presenta un clima templado sub - húmedo con lluvias en verano; con una temperatura media anual de 21.1°C y una precipitación pluvial de 230 mm anuales.

Esta región presenta una vegetación tipo selva baja caducifolia; con especies de palma real y pinoencino, con baja predominancia, distribuida en forma irregular.

Amojileca proviene del náhuatl que significa: "Lugar del que se va a México en carretera". Algunos habitantes dicen que significa "Hoyo de hormiguero"; otros, "Lugar donde nace el agua", "Lugar donde nace el río", "Lugar de planta de Amolet" (de esta planta elaboran el jabón) y dicen que se llama Amojil, por un terrateniente llamado Jil, del cual tomaron su nombre. (Torres, 1993)

1.2 Actividad Biológica

El estudio de compuestos bioactivos derivados de plantas y extractos en el laboratorio de química es frecuentemente impedido por la falta de un procedimiento de investigación rápido y simple.

Al utilizar un bioensayo se van a determinar las actividades presentes en los extractos de las plantas.

Un bioensayo debe de cumplir con las siguientes características: debe de ser rápido, adecuado, de bajo costo, sensible, confiable, requiere de poco material y ser capaz de identificar un amplio espectro de actividades, no requiere de instalaciones sofisticadas, lo que ofrece un campo de investigación accesible para los países en desarrollo, que además es muy necesario.

1.2.1 Toxicidad contra el crustáceo *Artemia salina* Leach

Un bioensayo general el cual es capaz de detectar un amplio espectro de bioactividad presente en los extractos crudos es el Bioensayo de Toxicidad contra el crustáceo *Artemia salina* (BSLT). La técnica se domina fácilmente, de bajo costo y se utilizan pequeñas cantidades de material (20 mg para extracto crudo y 4 mg para compuesto puro). Por medio de este ensayo, se obtiene una respuesta cuantitativa y un tratamiento estadístico fácil, siendo indispensable para la fase preliminar en el estudio de los compuestos bioactivos (guía del fraccionamiento), este ensayo no es selectivo para un tipo químico y fortalece el estudio.

Se relaciona con la inhibición de la síntesis de proteínas en células de mamíferos y parásitos de la malaria, presenta actividad antifilaria (Solis *et al.* 1993). Predice la actividad citotóxica y pesticida, usado para determinar la toxicidad de las sustancias y para facilitar el aislamiento de compuestos biológicamente activos.

Los huevecillos del pequeño crustáceo *Artemia salina* son de fácil adquisición y se mantienen viables si son mantenidos en refrigeración. En un recipiente conteniendo

solución salina, se depositan los huevecillos. Manteniéndolos cerca de una lámpara por 48 hr para obtener una temperatura de 27 °C.

Este bioensayo predice la actividad citotóxica y pesticida. El pequeño crustáceo *Artemia salina* es usado. Los huevecillos son de fácil adquisición y se mantienen viables si se conservan en refrigeración. En un recipiente conteniendo solución salina, se depositan los huevecillos. Manteniéndolos cerca de una lámpara por 48 hrs.

Los compuestos y extracto a probar se colocan en viales conteniendo 5 ml de solución salina y 10 crustáceos por triplicado a concentraciones de 10, 100 y 1000 ppm. Los sobrevivientes son contados después de 24 horas y los valores de LC₅₀ son calculados. (Steven *et al.*, 1993; Estrada 1992)

Desde que ésta prueba fué presentada en 1982, ha sido utilizada en el aislamiento de agentes antitumorales activos y pesticidad producidos por plantas, los protocolos para las pruebas y los bioensayos guiados de fraccionamiento ya han sido descritos. (Meyer *et al.*, 1982; Alkofahi *et al.*, 1989)

1.2.2 Actividad Antimicrobiana

La investigación de la actividad antimicrobiana de las plantas medicinales, ha encontrado algunos problemas desde la diversidad de criterios y técnicas empleadas y propiedades lipofílicas de algunas muestras. La insolubilidad en el agua de extractos no polares hacen que sea muy difícil el uso de los medios acuosos en el estudio de la actividad antimicrobiana.

Se han realizado modificaciones en las técnicas para obtener mayores resultados. Algunos factores (composición del medio de cultivo, microorganismo probado, método de extracción, pH, solubilidad de la muestra en el medio de cultivo) pueden cambiar los resultados, es difícil usar estos métodos para estandarizar los procedimientos para el estudio de la actividad antimicrobiana en las plantas. Para la determinación de la actividad antimicrobiana se emplean métodos de difusión y métodos de dilución.

En general, los ensayos biológicos se realizan con microorganismos representativos responsables de las infecciones humanas, que incluyen a *Staphylococcus aureus* (bacteria Gram positiva), *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomona aeruginosa* (bacterias Gram negativas), *Mycobacterium smegmatis* (bacilo ácido resistente), *Candida albicans* (levadura), los ensayos cuantitativos y cualitativos se deben de combinar con un control positivo (Sulfato de estreptomycin). La susceptibilidad de tales microorganismos al agente potencial antimicrobiano (extracto) se determina realizando un ensayo cualitativo primario que permite detectar la presencia o ausencia de actividad. Y un ensayo donde se cuantifica la potencia relativa. (Barrientos *et al.*, 1994)

Método de difusión

El método de difusión fue originalmente diseñado para monitorear la cantidad de sustancias antibióticas en el extracto crudo. Es usado en la investigación a pesar de ciertas dificultades como difusión en el medio, porque esta no tiene relación entre el primer poder de difusión y la actividad antimicrobiana. Las ventajas de este método es la utilización de una pequeña muestra y la posibilidad de probar 5 ó 6 compuestos contra un solo microorganismo.

Mediante la técnica de difusión, no es recomendable determinar la potencia de los extractos vegetales, debido a que puede desarrollarse una zona de inhibición sumamente evidente causada por una sustancia altamente activa, y presente en pequeñas cantidades o de manera alternativa provocada por un compuesto poco activo presente en altas concentraciones.

Se ha comprobado que la cantidad inhibitoria depende de ciertas propiedades fisicoquímicas de cada muestra (extracto, fracciones o compuestos puros), que influyen *in vitro* sobre la velocidad de difusión sobre agar y no están necesariamente correlacionados con la actividad del antibiótico *in vivo*.

Método de dilución

En el método de dilución se incluyen la dilución en el medio líquido y en el medio sólido. Ambos métodos son basados en la dispersión homogénea de la muestra en un medio de cultivo, donde también se encuentra el microorganismo. Estos métodos son los mejores, cuando este es necesario para el ensayo de muestras solubles en agua o lipofílicas y para determinar la Concentración Mínima Inhibidora. (Barrientos *et al.*, 1994; Koneman *et al.*, 1983; Colegate y Molyneux, 1993; Ríos *et al.* 1988).

1.2.2.1 Método de Estría de Mitscher

Usando el método de dilución en agar se han investigado más de 1000 extractos de plantas, y se encontró que el 26% de éstas son activas, de las pruebas existentes, es la más conveniente para ser usada en un pequeño laboratorio, ya que el preparar muestras de extractos estériles es muy difícil, sin el uso de un autoclave. En esta técnica no es necesario, tener muestras estériles, por que los microorganismos aeróbicos no se desarrollan bajo el agar solidificado. La contaminación ocasional del medio de cultivo, el cual se desarrolla, en la superficie del agar, no es problema, ya que fácilmente se puede reconocer.

El método de Mitscher establece la cantidad de muestra necesaria, la cual no puede ser arriba de un miligramo de muestra en un mililitro de medio de cultivo. Las muestras activas se vuelven a probar a una concentración de 0.1 mg/ml.

Algunos investigadores usan un sistema de inoculación múltiple. Con este método, cerca de 20 - 25 microorganismos pueden ser estandarizados en un plato.

El método de dilución en agar es aplicable a muestras polares y no polares. Cuando la muestra es lipofílica, la inclusión puede ser hecha como una emulsión. En este caso la emulsión podrá permanecer estable hasta su inclusión en el medio. Para

aceites y extractos no polares se puede ocupar Tween 20 ó Tween 80 ya que estos emulsificantes son inocuos y estables.

Muchos de los antibióticos clínicamente usados son activos en una concentración de 10 $\mu\text{g/ml}$, por lo tanto si una sustancia pura no es activa a 100 $\mu\text{g/ml}$, esta probablemente no podrá ser clínicamente usada. Los extractos de la plantas si son activos a 100 $\mu\text{g/ml}$ tienen un buen nivel potencial y, dependiendo de la naturaleza química del compuesto responsable de la actividad, como consecuencia se utilizará la purificación.

1.2.2.2 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria

La técnica de dilución requiere de una dispersión homogénea de la muestra en agua. Es usada para determinar, principalmente la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC). Las propiedades fisicoquímicas de la dispersión son importantes, observando la actividad y las sustancias tensoactivas, las cuales ayudan a la dispersión. La muestra es activa cuando no existe crecimiento y el medio permanece claro. Cuando es inactiva la muestra contra los microorganismos probados, existe crecimiento y esto se observa en el medio el cual se encuentra turbio. El grado de inhibición se relaciona con la turbidez del medio y se mide por espectrofotometría.

La dilución en medio líquido es una técnica complicada, pero también la más precisa. Este método es recomendado para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de una muestra pura y también para la determinación de la Concentración Mínima Bactericida (MBC). La MBC es determinada por medio de un subcultivo del tubo con inhibición en una caja petri o en medio líquido. Cuando la muestra no muestra crecimiento es bactericida.

Las ventajas son un mayor contacto directo del extracto de prueba contra el microorganismo. El extracto de prueba va a ser disuelto o emulsificado con un agente surfactante. La estabilidad de la emulsión debe de permanecer constante durante todo el ensayo.

El estudio de los extractos de las plantas y los productos naturales con actividad antimicrobiana reveló la potencialidad de las plantas como una fuente de nuevos agentes antiinfecciosos. (Koneman *et al.*, 1983; Barrientos *et al.*, 1994, Rojas *et al.* 1992; Ríos *et al.* 1988).

1.2.3 Actividad Alelopática

Las interacciones planta - planta son diversas y se establecen entre aquellos vegetales que comparten el mismo hábitat; lo más importante de ellas es la competencia, ya que la mayoría de las plantas son sésiles y esta condición las obliga a compartir muchos recursos del ambiente.

Las interacciones químicas entre plantas, involucran metabolitos secundarios los cuales son producidos como consecuencia de vías metabólicas primarias, los cuales tienen la habilidad de inhibir el crecimiento y germinación de otras plantas. (Inoue *et al.*, 1992; Li, H. - H. *et al.*, 1992)

Estas interacciones reciben el nombre de Alelopatía, la cual deriva de dos raíces griegas : *Allelon* que significa recíproco y *Phatos* significa sufrimiento.

Para Li la alelopatía entre las plantas, es la transmisión de alelopáticos de una planta donadora (emitiendo) a otra planta aceptora (afectada), a través de la raíz o de los componentes volátiles que se encuentran en el aire. Para Rice (1984), la alelopatía se refiere a cualquier efecto perjudicial o benéfico de una planta sobre otra, como consecuencia de la producción y liberación al medio de metabolitos secundarios diversos. El concepto de alelopatía implica también algunas relaciones planta-animal los compuestos con potencial alelopático están presentes virtualmente en todos los tejidos de las plantas: hojas, tallos, rizomas, frutos y semillas (Rice, 1987).

Naturaleza Química de los Alelopáticos producidos por plantas y microorganismos

- Ácidos orgánicos solubles en agua, alcoholes de cadena corta, aldehídos alifáticos y cetonas.

- Lactonas insaturadas simples.
- Ácidos grasos de cadena larga.
- Naftoquinonas, antroquinonas y quinonas complejas, fenoles, ácido benzoico y derivados.
- Ácido cinámico.
- Flavonoides.
- Taninos.
- Terpenoides y esteroides.
- Aminoácidos y polipéptidos.
- Alcaloides.
- Glucósidos y sulfitos.
- Purinas y nucleótidos.
- Cristales de oxalato de calcio.
- Lignanos.
- Resinas y gomas (Whittaker y Feeny, 1971)

El destino de los metabolitos secundarios es diverso y frecuentemente, debido a su naturaleza química, pueden ser tóxicos para las plantas que los producen, por lo que estas han tenido que desarrollar diversas estrategias para mantenerlos alejados de las zonas donde se efectúan las reacciones metabólicas.

- Pueden inactivarlos y tornarlos inocuos combinándolos con distintos radicales, o formando polímeros.
- Pueden ser almacenados en vacuolas.
- Pueden ser depositados en células muertas (en el duramen de la madera), en espacios intercelulares, en los pelos glandulares de la superficie de las plantas.

Liberación al medio ambiente.

- Pueden ser descargadas al exterior por medio de la superficie de la hoja por la lluvia, niebla o rocío.
- Exudación de raíces.

- Volatilización a través de las hojas.
- Liberación de los compuestos de los restos orgánicos por medio de lixiviación o por la descomposición microbiana de los mismos.

Los metabolitos secundarios hasta ahora se han tratado como desechos tóxicos que deben de ser inactivados o excretado de la planta o ambas cosas. Si son retenidos dentro de la planta, pueden adquirir importancia, como medio para repeler a los herbívoros o a microorganismos patógenos.

Si se liberan al exterior, pueden inhibir a los competidores potenciales. De cualquier modo, si alguno de estos mecanismos impide la autointoxicación de la planta, de inmediato representa una ventaja para la misma, y si además, ejerce un control sobre algunos organismos perjudiciales, su valor para la planta productora aumenta. (Einhellig, 1988)

Modo de acción de los alelopáticos.

El modo de acción de los alelopáticos lo podemos dividir en acción directa o indirecta.

La acción indirecta puede incluir efectos a través de las alteraciones de las propiedades de la tierra, esto es un estado nutricional y una población alterada y/o actividad dañina / beneficiosa de los organismos como microorganismos, insectos, nemátodos.

La acción directa, la cual incluye efectos alelopáticos en varios aspectos del crecimiento de la planta y su metabolismo.

Sitios importantes y procesos conocidos que han sido atacados o influenciados por alelopáticos :

- Citología y ultraestructura.
- Fitohormonas y su balance.
- Membrana y su permeabilidad.

- Germinación de polen / esporas.
- Movimiento de los estomas, síntesis de pigmentos y fotosíntesis.
- Respiración.
- Síntesis de proteínas.
- Fijación del nitrógeno.
- Actividad enzimática específica.
- Material genético.

La determinación de los mecanismos directos y los modos de acción por medio de los cuales los compuestos alelopáticos inhiben el crecimiento de las plantas, es la clave para encontrar algunos de los usos potenciales de los aleloquímicos. (Whittaker y Feeny, 1971; Rizvi *et al.*, 1992; Ohira y Takagai, 1994)

1.3 Antecedentes de *Anoda cristata* Schl.

1.3.1 Aspecto Botánico :

Familia : Malvaceae

Sinonimia : Violeta, Violeta del campo, Amapolita del campo, Amapolita morada, Tsayaltsay. (Martínez, 1989)

Localización : Valle de México, Hidalgo, Veracruz, Guerrero.

Descripción : El género es principalmente mexicano y son especies que se encuentran en el campo. Es una planta vascular, espermatofita, angiosperma, dicotiledónea. Planta abundante de unos 40 cm de altura. Se ha reportado como una maleza. (Martínez, 1989)

1.3.2 Aspecto Etnobotánico y Usos :

Se utiliza la infusión de hojas y flores contra la tosferina, la tos, afecciones pulmonares y como emoliente. (Torres, 1993)

1.3.3 Aspecto Químico :

Contiene flavonoides aglicósidos : Crisoeriol (1), Gosipetina (2), Hipolaetina (3), Camferol (4), Luteolina (5) y Apigenina (6) (Matlawska, 1990; Merck Index, 1989; Dictionary of Natural Products, 1984)

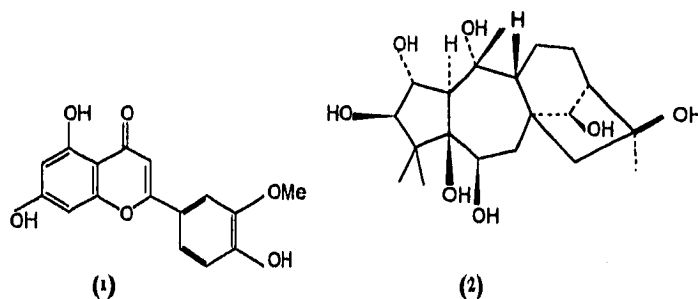


Figura No. 1 Compuestos aislados de *Anoda cristata*

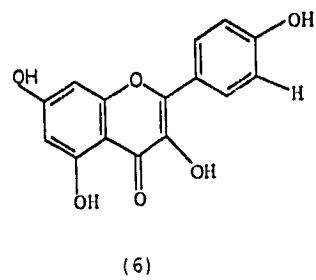
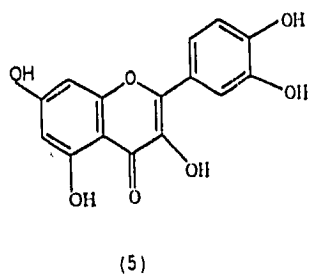
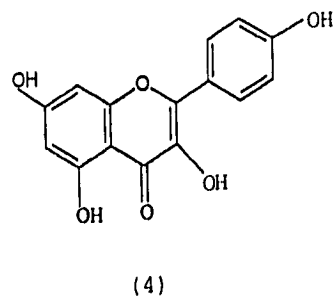
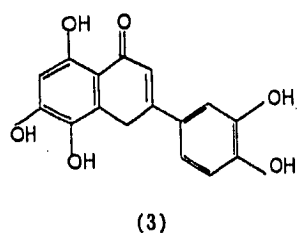


Figura No. 1 Compuestos aislados de *Anoda cristata*
(Continuación)

1.4 Antecedentes de *Borago officinalis* L.

1.4.1 Aspecto Botánico:

Familia: Boraginaceae

Sinonimia: Borrage, Borraxa, Borratiya, Borraina, Pa - y -peixel, Borral, Borroin, Borraya, Larra, Borraja silvestre, Burbellu, Berreillu, Murrum. (Font Quer, 1985)

Localización: Es originaria de Asia, pero se localiza casi en todo México.

Descripción: es una planta robusta de gruesa y prolongada raíz vellosa, de hojas alternas, y las inferiores pecioladas y sentadas las superiores, con bordes sinuosos y cara superior cubierta de abundantes pelos blancos y rígidos. Las flores están en cimas escorpioideas. Tienen cáliz con 5 divisiones y la corola es azul. Son melíferas. (Martinez, 1989)

1.4.2 Aspecto Etnobotánico y usos:

Las hojas de *Borago officinalis* se usan contra la tos y calentura, son diuréticas, emolientes, laxantes, anticatarrales, antitusígenas. También son usadas para la bronquitis y fiebre eruptiva utilizando 10 g de hojas por 1 litro de agua. Las flores son sudoríferas y es usada ½ onza por 5 litros de agua. Es usada en forma oral y tópica. (Torres, 1993)

1.4.3 Aspecto Farmacológico:

Fue probada la actividad biológica del extracto liofilizado de *B. officinalis*, en hamsters, provocando su infertilidad. (Mandich *et al.*, 1984)

Se ha reportado con actividad antigonotrópica *in vitro* (Graham y Noble, 1955)

El aceite de las semillas contiene ácido λ - linoleico y se puede ocupar como componente dietético. (Luethy *et al.*, 1984)

El extracto metanólico de las hojas de *B. officinalis* tiene actividad contra *Streptococcus pyogenes* causante de enfermedades respiratorias. (Cáceres *et al.*, 1991a; Cáceres, 1991b) Se inhibe la β - lactamasa de la *Yersinia enterocolitica*. En un estudio *In vitro* se probó el extracto acuoso de las hojas de *Borago officinalis*, demostrándose su alta actividad diurética, el experimento se realizó en ratas blancas utilizando la vía oral, en una dosis equivalente a 1 g / kg de material vegetal. (Cáceres *et al.*, 1987)

Para Font Quer (1985) las propiedades terapéuticas de la borraja se deben atribuir al ácido silícico soluble que contienen en notable proporción el tallo y las hojas de 1.5 - 2.2%.

La licopsamina y la supinidina viridiflorata son pirrolizidinas insaturadas, consideradas como venenosas, pero el bajo contenido de alcaloides encontrado da una escasa toxicidad durante el uso de la Borraja. Una mezcla de licopsamina e intermedina, han sido reportadas como carcinogénicas. (Larson *et al.*, 1984)

1.4.4 Aspecto Químico:

Las hojas y flores de *Borago officinalis* contienen abundante mucilago (hasta el 30%), nitrato potásico, materias resinosas, materia albuminoidea, malato calcico taninos En las hojas se reporta la existencia del ácido estearidónico. (Sewon *et al.*, 1993; Larson *et al.*, 1984)

Las semillas presentan ácidos grasos predominando: el ácido linoleico 38.1%, ácido γ - linoleico 22.8%, ácido oleico 16.3% y ácido palmítico 11.3%. En las hojas se encuentra principalmente ácido α - linoleico 55.2% y ácido γ - linoleico 4.4% del total de los ácidos grasos. Los cotiledones son la mejor fuente de ácidos grasos en las semillas. (Whipkey *et al.*, 1988)

Se reportó el aislamiento de un alcaloide de pirrolizidina insaturado, llamado: licopsamina, obtenido de las hojas de *Borago officinalis*. (Dodson y Sternitz, 1986) Este tipo de alcaloides se encuentran en una proporción de 2 - 10 ppm. La

licopsamina(8) e intermedina (7) son diastereoisómeros conteniendo grupos glicoles en diferente configuración. (Frahn *et al.*, 1980)

El *Borago officinalis* en las raíces contiene alcaloides de base libre, mientras que en las hojas contiene principalmente N - óxidos. (Larson *et al.*, 1984)

Se aisló la supinidina viridiflorata, conocida como Amabilina o cinaustina (10) (Dodson y Stermitz, 1986; Mohanraj y Herz, 1982)

El alcaloide encontrado en las flores y el mayoritario en las semillas fué la Tesinina (trans - p - hidroxicinnamato de (+) - isoretronecanol) (9) (Dodson y Stermitz, 1986;Larson, *et al.* 1984)

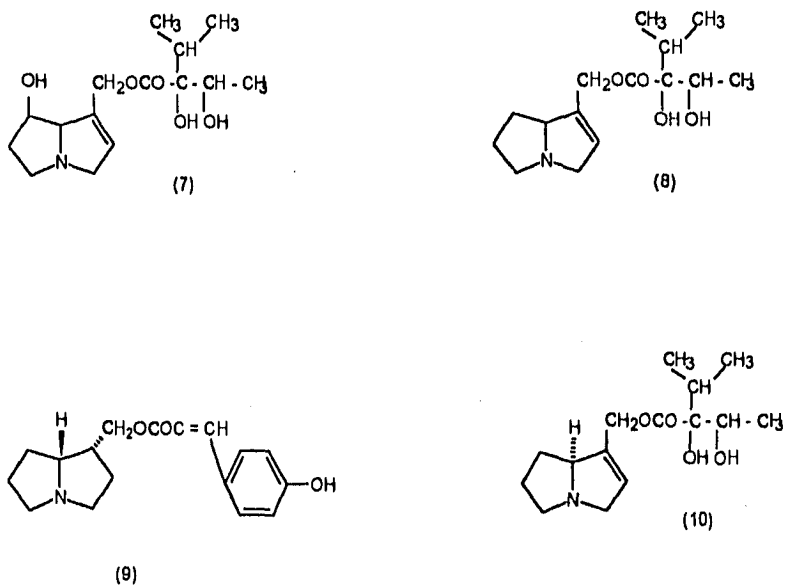


Figura No. 2 Compuestos aislados de *Borago officinalis*

1.5 Antecedentes de *Bougainvillea glabra* Choisy.

1.5.1 Aspecto Botánico:

Familia: Nictaginaceae

Sinonimia: Bugambilia, Camelina. (Martínez, 1989)

Localización: Habita en regiones tropicales, especialmente en América.

Descripción: Son hierbas y plantas leñosas, hojas alternas u opuestas, simples y sin espículas. Flores generalmente hermafroditas a veces unisexuales agrupadas en cimas o cabezuelas, muchas veces en brácteas coloreadas. Perigonio tubular, pataloideo con el limbo cinco lobulado. (Sánchez, 1980)

1.5.2 Aspecto Etnobotánico y usos:

Se utiliza la infusión de las flores contra la tos y manifestaciones de afecciones respiratorias. (Torres, 1993)

1.5.3 Aspecto Farmacológico:

Se estudiaron los efectos producidos por el extracto acuoso de la flor de *Bougainvillea glabra* en el músculo liso (aórtico, intestinal, intestinal y uterino) *in vitro* probados en cerdos de Guinea, ratas, conejos y perros. Se determinaron parámetros cardiovasculares, respiratorios y metabólicos.

Se utilizaron 40 µl del extracto acuoso de la flor por ml de solución buffer, obteniéndose los siguientes resultados:

En el cerdo de Guinea contracciones en el tejido uterino y del ileón.

En la rata se observó contracción del tejido uterino y del ileón.

En el conejo se observó la contracción del tejido uterino y la relajación del tejido del ileón.

El extracto fue inactivo en el tejido aórtico y traqueal de las especies estudiadas, también provocó una repentina caída en la presión arterial, la cual regresó a su nivel normal después de 30 minutos de la inyección.

No existieron alteraciones significativas en el resto de los parámetros fisiológicos.

Después de 60 minutos, se produjo un notable decremento de los niveles de glucosa en sangre, alcanzando un 35% de hipoglucemia (respecto al control) por 5 horas, administrado oralmente.

A la dosis empleada el extracto de *B. glabra* no produjo signos sedativos electroencefalográficos.

El extracto acuoso de las flores de *B. glabra* muestran cierto grado de actividad biológica, aunque no fué posible establecer una relación directa entre los efectos observados y las propiedades antitusivas con este trabajo. (Meckes - Lozoya y Mellado, 1985)

Se realizó un tamizaje de la actividad antibacteriana de las flores de *B. glabra*, no produciendo inhibición en ninguna de las siguientes bacterias: *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes*. (Cáceres *et al.*, 1991b)

1.5.4 Aspecto Químico:

Se determinó la presencia de un componente esteroidal en el extracto metanólico de las hojas de *B. glabra*. (Giri *et al.*, 1988)

Las proteínas BAP - 1 y BAP - 2 fueron aisladas de extractos de hojas de esta planta (Furano *et al.*, 1993a; Furano *et al.* 1993b).

1.6 Antecedentes de *Citrus aurantium* Linn.

1.6.1 Aspecto botánico:

Familia: Rutaceae

Sinonimia: Azahar, Hojas de Naranja Agrio, Naranja, Azut - spakal, Naranjero agrio, Laranjeiro azeda, Laranxeira aceda, Taroger agre, Larango, Larando.

Localización: Se encuentra en los lugares cálidos. en la República Mexicana principalmente en el estado de Veracruz.

Descripción: Arbol de porte más o menos delgado, con las hojas elípticas lanceoladas o ovoides. Alternas u opuestas, simples o compuestas sin estípulos. Las flores son blancas con cinco pétalos, actinomorfas, hermafroditas, agrupadas en inflorescencias diversas. El fruto es rugoso, redondo de color anaranjado. (Cabrera, 1943; Font Quer, 1985)

1.6.2 Aspecto Etnobotánico y usos:

Las hojas de *Citrus aurantium* se usan en forma de té colocando un par de hojas por taza, sirve para la tos como antiinflamatorio, antiespasmódico, tónico, febrífugo, para la excitación nerviosa, palpitaciones, epilepsia y tiene propiedades hipnóticas. (Torres, 1993)

1.6.3 Aspecto Farmacológico:

Se han probado las actividades antimalarias in vivo e in vitro de 30 alcaloides obtenidos de plantas *Citrus sp* (perteneciente a la familia Rutaceae). En una concentración de 10 µl / ml in vitro, siete de estos alcaloides suprimieron el 90% o más del microorganismo *Plasmodium yoelli*, el cual produce la malaria en los roedores. La Atalafilinina (alcaloide aislado de estas especies), fué inyectada intraperitonealmente en una dosis de 50 mg / Kg por 3 días dentro de los ratones infectados con 10⁷ eritrocitos parasitados con *Plasmodium berghei* o *Plasmodium vinckei*, eliminando totalmente el

desarrollo de parásitos de malaria, no ha sido obvio el efecto tóxico a la dosis probada. (Ju - ichi *et al.*, 1988)

Se han encontrado flavonas y heterósidos flavonoides los cuales producen efectos antiinflamatorios y antialérgicos, por sus propiedades antitrombóticas y vasoprotectoras, por la inhibición de la promoción de tumores y como protectores de la mucosa gástrica. (Evans, 1991)

Cáceres reporta que el fruto de *Citrus aurantium*, inhibe el desarrollo de *Staphylococcus aureus*. (Cáceres *et. al.*, 1991b)

1.6.4 Aspecto Químico:

Los pericarpios de naranja amarga desecados contienen no menos del 2.5% de esencia, vitamina C y heterósidos flavonoides hesperidina (17) y neohesperidina (18).

El principal flavonoide del pomelo es la Naringina (Evans, 1991)

Un nuevo alcaloide acridone: la citramina (13) y una nueva cumarina: el osthenon (11) fueron aislados del extracto acetónico de la raíz de una planta híbrida resultante de una cruce de *Citrus sp*, *C. tamurana* Tan. y también de otras plantas del genero *Citrus*. (Ju - ichi *et al.*, 1988)

Las hojas dan la esencia llamada de *petitgrain*. Esta esencia se compone de d - limoneno, l - linalol y acetato de linalilo con geraniol, acetato de geraniol. En las hojas también se forma un alcaloide, la l - estaquidrina muy soluble en agua y de sabor amargo.

En las flores se halla la esperidina, esencia de azahar.

La corteza contiene d - limoneno y 1% de aldehído decílico.

La pulpa de la naranja contiene tres glucósidos: hesperidina, que en las naranjas no del todo maduras, puede llegar a un 10%, Isohesperidina 3% y aurantiamarina, además ácido hesperidínico, ácido salicílico, probablemente en forma de ácido poligalacturónicos en los que algunos de los grupos carboxílicos se hallan en el estado

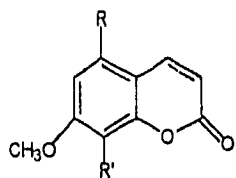
de éster metílico (pectina), sacarosa, dextrosa y levulosa. (Font Quer, 1985; Evans, 1989)

Del aceite de *Citrus aurantium* se han aislado varios compuestos: aurapteno (16), además de unos derivados de las cumarinas el cripteno (12) y bergapteno (Cáceres *et al.*, 1991b)

También se aisló una cumarina el auraptenol 7 - Metoxi - 8 - (2 - hidroxil - 3 metil - 3 butenil) cumarina (15). El cual se convierte por la adición de ácido sulfúrico en Isoaurapteno. (Stanley *et al.*, 1965)

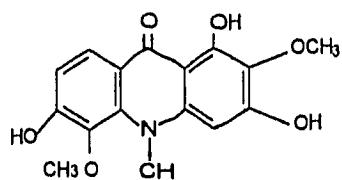
Se han aislado los siguientes compuestos: (Tang y Eisenbrand, 1992; Evans, 1991; Kariyone and Matsuno, 1953; Tang and Eisenbrand, 1992; Dictionary of Natural Products, 1994)

- l - estaquidrina (14)
- nobiletina (19)
- sinensetina (20)
- aurantina (21)
- 5 - hidroxiaurantina (22)
- sinefrina (23)
- N - metiltiramina (24)
- Nookatone (25)
- Nookatene (26)
- Aceites esenciales

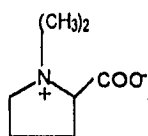


(11) $\text{R} = \text{H}$ $\text{R}' = \text{CH} = \text{CHCOCH}_3$

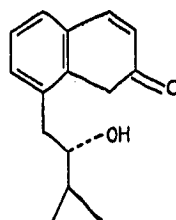
(12) $\text{R} = \text{OCH}_3$ $\text{R}' = \text{H}$



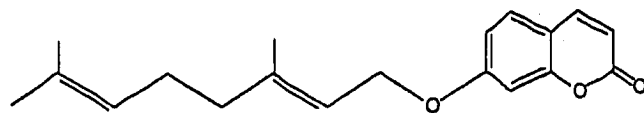
(13)



(14)

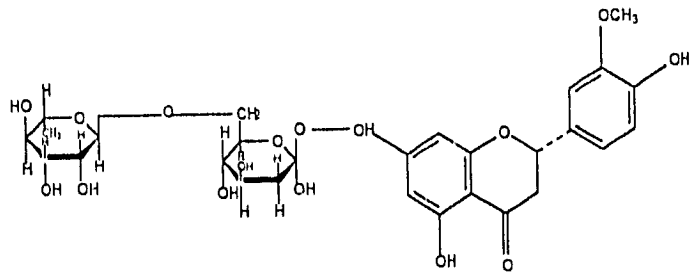


(15)

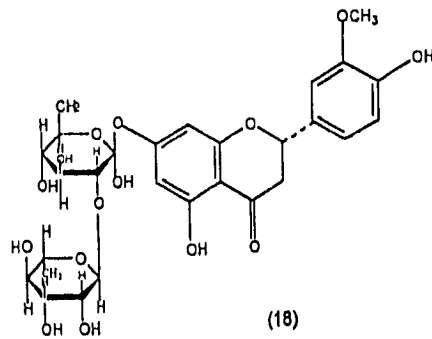


(16)

Figura No. 3 Compuestos aislados de *Citrus aurantium*

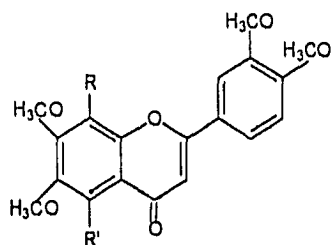


(17)



(18)

Figura No. 3 Compuestos aislados de *Citrus aurantium*
(Continuación)

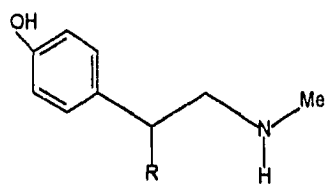


(19) R = MeO R' = MeO

(20) R = H R' = MeO

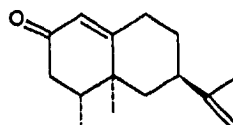
(21) R = MeO R' = H

(22) R = MeO R' = OH

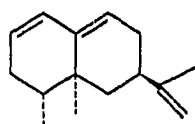


(23) R=H

(24) R=OH



(25)



(26)

Figura No. 3 Compuestos aislados de *Citrus aurantium*
(Continuación)

1.7 Antecedentes de *Gnaphallium sp* HBK.

1.7.1 Aspecto Botánico:

Gnaphallium sp

Familia: Compositae

Sinonimia: Gordolobo

Localización: Principalmente en el Valle de México

Descripción: Son hierbas leñosas o glandulosas, con hojas alternas sésiles, cabezulas heterogéneas discoideas, agrupadas en inflorescencias cimosocórimbosas o en espigas de glomérulos. las flores femeninas fértiles, periféricas, numerosas, en dos o más series. Involucro ovoide o acampanado con las brácteas alejadas, pluriseriadas, membranosas en el margen, receptáculo plano convexo, desnudo; la corola de las flores femeninas filiforme, dentada o partida en el ápice, la de las hermafroditas tubulosas, pentadentadas, pentapartidas. (Sánchez, 1980)

Gnaphallium americanum, Mill.

Sinonimia: Gordolobo

Descripción: cabezuelas sésiles, pequeñas de unos 3 mm de altura, aglomeradas en el extremo de los tallos, las brácteas oscuras en el ápice. (Sánchez, 1980)

Gnaphallium conoldeum H.B.K.

Sinonimia: Potonic, Paconi, Tlacoichic, Tzopotonic, Tzopotonic amargo. (Martínez, 1989)

Descripción: Tiene inflorescencias terminales, agrupadas en cabezuelas amarillas y brillantes (Martínez, 1989)

***Gnaphallium dioicum* L.**

Sinonimia: Cat peu de gat, Flor de Sempreduro, Pie de gato.

Descripción: Es una planta vivaz de tallo rastroso horizontal, que discurre a flor de tierra, forma céspedes densos. en el extremo de cada ramita del rizoma se forma una roseta de hojas espatuladas. (Font Quer, 1985)

***Gnaphallium bourgovell* Gray.**

Sinonimia: Gordolobo

Descripción: Son las mismas características del género, variando únicamente en las cabezuelas que son numerosas, pequeñas, blancas, brillantes de unos 3 mm de alto. (Sánchez, 1980)

***Gnaphallium brachypterum* D.C.**

Sinonimia: Gordolobo

Descripción: Cabezuelas numerosas, pequeñas de unos 3 - 4 mm de alto, blanco brillante, densamente aglomeradas en el extremo del tallo. (Sánchez, 1980)

***Gnaphallium inordatum* D.C.**

Sinonimia: Gordolobo

Descripción: Tiene cabezuelas peniculas, con el involucro rosado brillante. (Sánchez, 1980)

***Gnaphallium leptophyllum* D.C.**

Sinonimia: Gordolobo

Descripción: Cabezuelas abundantes, apretadas con el involucre blanco - amarillento, brillante, de unos 5 mm de alto (Sánchez, 1980)

Gnaphallium purpurancens. D.C.

Sinonimia: Gordolobo

Descripción: Difiere nada más en el color de las cabezuelas, en este caso es rojo. (Sánchez, 1980)

Gnaphallium semlplexicuale

Sinonimia: Gordolobo

Descripción: Son hierbas de 10 - 20 cm de altura con la superficie lanudo tomentosa, hojas sésiles, espátuladas, mucronadas, enteras, verdes y tomentosas en la cara superior, blanco algodonosas en la inferior.

Cabezuelas sésiles, pequeñas, de unos 3 mm de altura, aglomeradas en el extremo de los tallos. las cabezuelas son de color amarillo anaranjado. (Martínez, 1989)

Gnaphallium stramineum

Sinonimia: Sanalotodo

Gnaphallium viscosum

Sinonimia: Sanalotodo

1.7.2 Aspecto Etnobotánico y usos:

Se utiliza la flor y el tallo para la tos y la calentura en forma de té. Las flores se usan en forma de té como emoliente y pectoral, dolor de pecho en la bronquitis y humores flemáticos.

La cabezuela se usa en forma de té (1 onza por litro de agua) contra la tos y el catarro bronquial, afección hepática crónica y la ictericia. (Torres, 1993)

1.7.3 Aspecto Farmacológico:

El extracto etanólico de las flores de *Gnaphallium stramineum* y de *Gnaphallium viscosum* se probó contra bacterias enteropatógenas y bacterias gram positivas causantes de infecciones respiratorias obteniéndose los siguientes resultados:

El extracto del *Gnaphallium stramineum* es activo contra *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri* y *Staphylococcus aureus*.

El extracto del *Gnaphallium viscosum* inhibió el crecimiento de *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus pneumoniae*. (Cáceres *et al.*, 1991a; Cáceres *et al.*, 1991b; Cáceres, 1990)

Se probó el extracto acuoso de las flores en el músculo liso *in vitro* en varios animales: cerdo de Guinea, ratas, conejos y perros.

Se observó una relajación del músculo del ileón en el cerdo de Guinea, rata, perro y conejo. También se presentó una relajación del tejido uterino en rata y en perro. Y por último se observó una contracción en el tejido uterino del Cerdo de Guinea.

El extracto de *G. semimplexicaule* fué inactivo en el músculo traqueal y aórtico. La motilidad uterina fué modificada, obteniéndose resultados irregulares, dependiendo de la especie animal y de su situación hormonal. El cerdo de Guinea fué la especie animal más sensible. El *G. semimplexicaule* no provocó signos sedativos electroencefalográficos a la dosis empleada, no produjo ningún cambio significativo biodinámico en los modelos animales descritos. (Meckes - Lozoya y Mellado, 1986)

El 5,7,3',4' - Tetrahidroxi - 3 - metoxiflavona que se encuentra en el *G. indicum* inhibe el tumor de formol estér, promoviendo el aumento de la síntesis de fosfolípidos y la actividad de transporte del azúcar en las células de cultivo. La Luteolina y la Quercetina muestran ser promotoras de la actividad antitumoral *in vitro* e *in vivo*.

Esta planta puede ser ocupada en la quimioprevención del cáncer. (Maruyama *et al.*, 1974)

1.7.4 Aspecto Químico:

Del extracto etéreo de las hojas de *G. pellitum* y *G. graveolens* se han aislado los siguientes compuestos, los cuales son diterpenos del tipo labdano: (Torrenegra *et al.*, 1992)

- 13 - epi - cicloesclareol (27)
- ácido (-) - 16 - kauren - 19 oico (28)
- ácido (-) - 11 - β - acetoxi - 16 - kauren - 19 oico (29)
- 13 - epi - esclareol (30)
- 8 - epi - esclareol (31)
- esclareol (32)

Adicionalmente se obtuvo una mezcla de Estigmasterol y Sitosterol (esteroides). (Evans, 1991; Escarria *et al.*, 1977)

Además se ha obtenido un potente promotor antitumoral aislado del *Gnaphallium Indicum*: 5,7, 3',4' - tetrahidroxi - 3 - metoxiflavona (33). (Asaka *et al.*, 1992) y otro flavonoide llamado un flavonoide: 5 - hidroxí - 7, 8 - dimetoxiflavona (34) un compuesto de sabor dulce identificado como (+) pinitol.

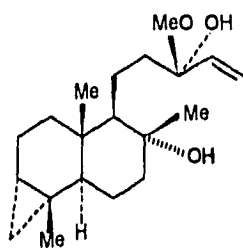
Del extracto etéreo se identificó un compuesto: el Sitosterol. (Escarria *et al.*, 1977)

Del extracto metanólico de las flores de *Gnaphallium multiceps* se obtuvo una chalcona: 4,2',4' - trihidroxí - 6' - metoxichalcona 4' glucósido (35). Y después de una hidrólisis ácida se obtuvo: la naringenina 5 - metil eter. (Maruyama *et al.*, 1974)

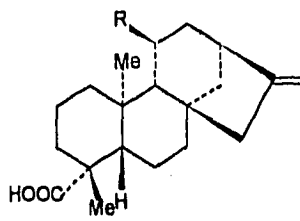
Del extracto de *Gnaphallium undulatum* se encontraron dos derivados del labdano y una lactona diterpénica. (Bohlmann y Ziesche, 1980)

Del extracto de *Gnaphallium undulatum* se encontraron dos derivados del labdano y una lactona diterpénica. (Bohlmann y Ziesche, 1980)

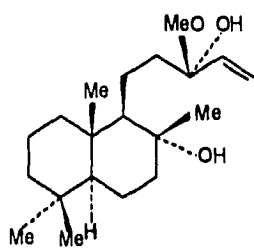
De *G. chilense* y *G. microcephalum* se aisló un flavonolde: 3,5 - dihidroxi - 6,7,8 - trimetoxiflavona (36). (Vollenweber *et al.*, 1993; Evans, 1991)



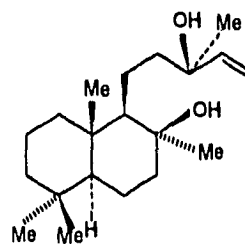
(27)



(28) R = H

(29) R = MeCO₂

(30)



(31)

Figura No. 4 Compuestos aislados de *Gnaphallium sp*

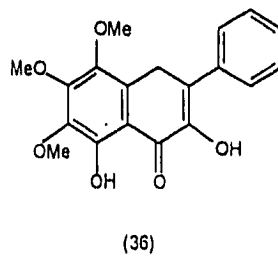
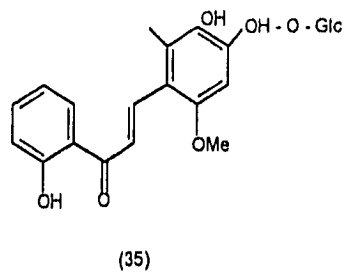
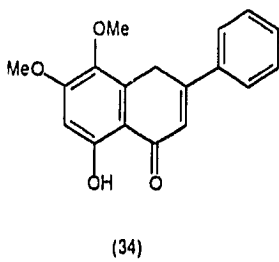
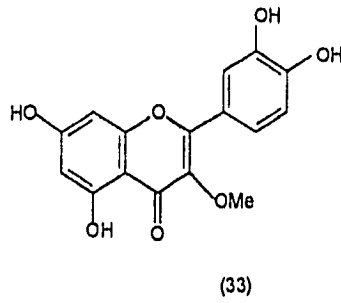
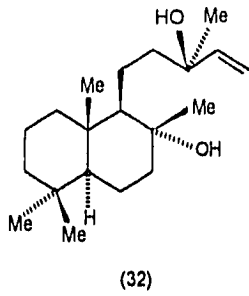


Figura No. 4 Compuestos aislados de *Gnaphallium sp*
(Continuación)

1.8 Antecedentes de *Lippia dulcis* Trev.

1.8.1 Aspecto Botánico:

Familia: Verbenaceae

Sinonimia: Cococxihuitl, Ocina, Hierba dulce, Neuctixihuitl, Orozuz, Salvia santa, Tzopelicxihuitl, X - tuhuy - xiu. (Martínez, 1989; Sánchez, 1980; Sinónimos de las Plantas Medicinales de México, 1976; Cabrera, 1943)

Localización: Veracruz, Morelos, Tamaulipas, Oaxaca, Yucatán, Guerrero y Tabasco. (Martínez, 1989)

Descripción: Planta pequeña de unos 50 cm con hojas membranosas, deltoideas, ovales y agudas, dentadas en sierra, la cara superior aspérea y pinchuda, la inferior igualmente pinchuda y pubescente. Flores en cabezuelas. Las hojas tienen sabor dulce. (Martínez, 1989; Sánchez, 1980)

1.8.2 Estudio Etnobotánico y usos:

Se ocupa como demulcente, pectoral, emenagogo, para la bronquitis crónica, afección catarral aguda del tracto respiratorio, cólicos, asma, tos, dolor de estómago, abortivo, inflamación abdominal y es usado contra la disentería. A partir de las hojas se hace la infusión (10 g de hojas por 1 litro de agua) y la tintura (1 parte de planta por 9 de alcohol) (Torres, 1993)

1.8.3 Aspecto Farmacológico:

Se obtuvieron extractos de las hojas con tres solventes de diferente polaridad (n - hexano, acetona y alcohol) y la actividad antimicrobiana *in vitro* fué demostrada contra bacterias enteropatógenas. Estudios *in vivo* han mostrado actividad contra *Salmonella typhi* y *Shigella flexneri*. El extracto acetónico da la mejor actividad con un MICD

(Concentración Mínima Inhibitoria en Disco) de 10 mg contra *Shigella flexneri*. (Cáceres *et al.*, 1993)

Se realizaron pruebas de tamizaje antibacteriano *In vitro* de las hojas de *Lippia dulcis*, inhibiendo el desarrollo de la *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*. Para confirmar su actividad, se realizaron estudios posteriores, realizándose extracciones con solventes de diferente polaridad, con el objeto de seleccionar en que polaridad se encontraba el principio antibacteriano, el cual se halló en el extracto acetónico para las siguientes bacterias: *Staphylococcus aureus* con un MICD de 10 mg, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes* un MICD de 5 mg (Cáceres *et al.*, 1991b)

En una investigación el extracto acuoso de las hojas fué preparado para probar su actividad diurética oral en ratas blancas después de una dosis administrada equivalente a 1g/Kg de material vegetal. *Lippia dulcis* no mostro actividad diurética. (Cáceres *et al.*, 1987)

El extracto etanólico de las hojas de *Lippia dulcis* presenta actividad contra las enterobacterias: *Salmonella typhi* y la *Shigella flexneri*. Causantes de enfermedades gastrointestinales. (Cáceres *et al.*, 1990). También estudios *In vitro* han demostrado actividad contra bacterias gram positivas. El extracto muestra una actividad intermedia contra *Staphylococcus aureus* y una actividad positiva contra el *Streptococcus pneumoniae*, responsables de enfermedades respiratorias. (Cáceres *et al.*, 1991a)

La potencia mutagénica de (±) - hernandulcina fué probado utilizando la *Salmonella typhimurium*. No se observó actividad mutagénica significativa. Tampoco es tóxico cuando se suspendió en 1% de carboximetilcelulosa sódica y entonces fué administrado oralmente a ratones machos Swiss - Webster en dosis de 2 Kg de peso, no produjo mortalidad. (Kaneda *et al.*, 1992; Compadre *et al.*, 1985)

En la *Lippia dulcis* el aceite volátil de mayor proporción es el camphor (53%). Es clasificado como un compuesto tóxico, reportando una dosis letal de 50 mg/Kg. Debido a

que cruza la placenta, ha sido asociado con la muerte neonatal, por lo que se reporta como abortiva.

La excesiva ingestión de las flores por los niños, puede provocar síntomas tóxicos como náusea y adormecimiento. (Kaneda *et al.*, 1992; Compadre *et al.*, 1986)

1.8.4 Aspecto Químico:

Las hojas de *Lippia dulcis* contienen: alcaloides; lipiol, hernandulcina y los aceites esenciales de mayor proporción son: (Cáceres *et al.*, 1993; Compadre *et al.*, 1986)

MONOTERPENOS

α - pineno
 camfeno
 mirceno
 limoneno
 terpinoleno
 linalol
 camfor
 borneol
 α - terpineol
 β - pineno

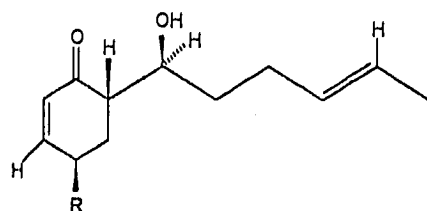
SESQUITERPENOS

6 - metil - 5 - hepten - 2 ona
 α - copaeno
 β - cariofileno
 δ - cadineno

El principio activo dulce es la Hemandulcina, fué probada en un panel de sabor y llegó a ser 1000 veces más dulce que una solución 1 M de sacarosa. (Compadre *et al.*, 1986)

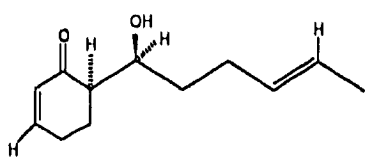
A partir del extracto de éter de petróleo de las flores y hojas de *Lippia dulcis* se han aislado los siguientes compuestos:

- (+) - Hernandulcina (37)
- (+) - 4 β - hidroxihernandulcina (38) (Kaneda *et al.*, 1992)
- (-) - Epihernandulcina (39)
- 6 - metil - 5 - hepten - 2 - ona (40)
- Acteosido (Verbascosido) (41)

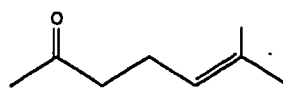


(37) R = H

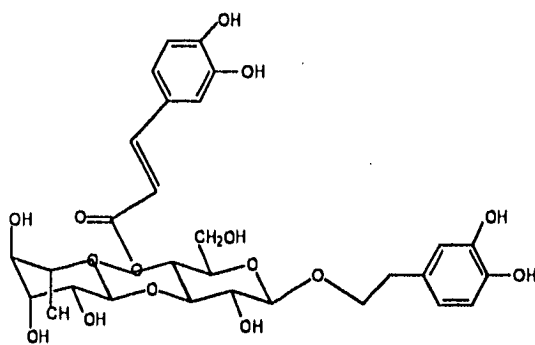
(38) R = OH



(39)



(40)



(41)

Figura No. 5 Compuestos aislados de *Lippia dulcis*

1.9 Antecedentes de *Mangifera indica* L.

1.9.1 Aspecto Botánico:

Familia : Anacardiaceae

Sinonimia : Rosamorada de Nayarit, Hoja de mango.

Localización : Zonas tropicales del país, planta originaria de Asia. (Martínez, 1989)

Descripción : Arbol de 12 a 40 m de altura, con hojas elípticas u oblongo - lanceoladas, glabras; flores pequeñas, amarillentas o rojizas, perfumadas, masculinas y hermafroditas, frutos de 5 a 15 cm de largo. (Torres, 1993)

1.9.2 Aspecto Etnobotánico y usos :

Se utiliza una infusión acuosa de la hojas o de la flor contra el asma, tos, astringente, antitusígeno, anticatarral y para el catarro vesical. (Torres, 1993)

1.9.3 Aspecto Farmacológico:

El extracto etanólico de las hojas de *Mangifera indica* se ha probado contra bacterias enteropatógenas para el hombre, las cuales son responsables de enfermedades gastrointestinales y bacterias gram positivas causantes de infecciones respiratorias inhibiendo el crecimiento de *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Streptococcus pneumoniae* y *Shigella flexneri*. (Cáceres *et al.*, 1990)

Los ácidos grasos, sus sales y derivados, los ácidos oleico, linoleico, pelargónico y el éster monoetilenglicol, son microbicidas.

Los ácidos grasos aumentan la actividad química y biológica de microbicidas conocidos.

El ácido pelargónico (1%) controla el moho verde, del limón causado por *Penicillium digitatum*. (3)

Se realizó un tamizaje de la actividad antibacteriana de la corteza, flor y hojas de *Mangifera Indica*, inhibiendo el desarrollo de : *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Streptococcus pneumoniae*. (Cáceres *et al.*, 1991b)

A partir del extracto metanólico de las hojas de *Mangifera Indica* se aislaron: la quercetina y el ácido gálico, en 1 y 4 mg/ml respectivamente, estos compuestos muestran una marcada actividad contra el virus de la influenza. (Zhongyi *et al.*, 1982)

1.9.4 Aspecto Químico :

De la fracción del extracto Hexánico de la corteza de *Mangifera Indica* se aislaron triterpenoides tetracíclicos (Anjaneyulu *et al.*, 1985; Anjaneyulu *et al.*, 1982)

- Cicloart - 25 - ene - 3 β , 24 - diol (42)
- 24 - metilencicloartano - 3 β , 26 - diol (43)
- Cicloart - 24 - eno - 3 β , 26 - diol (44)
- Acido mangiferónico (45)
- Cicloart - 25 - eno - 3 β , 24, 27 - triol (46)
- Cicloartano - 3 β , 24 , 25 - triol (47)
- Acido mangiferólico (48)
- 3 - cetodammar - 24 E - eno - 20 S, 26 - diol (49)
- Cicloartenol
- α - amirino
- β - amirino
- Sitosterol
- 3 β - hidroxícicloart - 25 - en - 26 - al
- Dammarenediol II (50)
- Ocotilol II
- ψ - taraxano - 3 β , 20 - diol (51)
- Friedelina (52)
- β - sitosterol

De la fracción ácida del mismo extracto se obtuvo :

- Metil mangiferonato
- Metil isomangiferonato
- Metil mangiferolato

Del extracto etanólico de las hojas de *Mangifera indica* se obtuvieron los siguientes compuestos: chinomina, ácido gálico, ácido protocatechuico, quercetina, hiperina e isochinomina. (Zhongyi *et al.*, 1982)

El hongo *Alternaria alternata* es el responsable de la enfermedad de los puntos negros en el mango (*Mangifera indica*) en Israel. La latencia en el desarrollo de esta enfermedad se debe a que la actividad antifúngica se encuentra en la cáscara del mango verde o inmaduro, donde se han encontrado una mezcla de 5 - resorcinol sustituido, el compuesto que se encuentra en mayor proporción es el 5 - (12 - cis - heptadecenil) - resorcinol (65%) (53) y el 5 - pentadecilresorcinol (15%) (54).

El mango pertenece a la familia Anacardiaceae, la fuente principal de mono y difenoles sustituidos en el anillo aromático con enlaces alifáticos. (Cojocarú *et al.*, 1986)

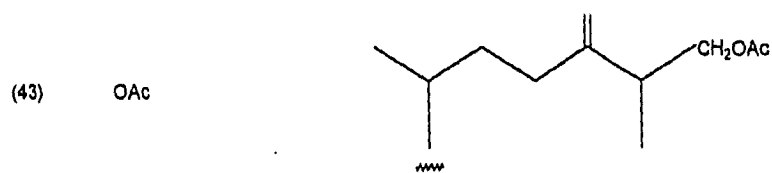
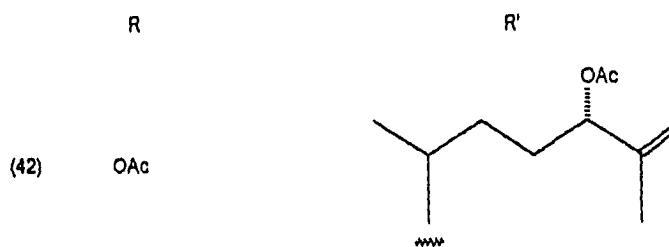
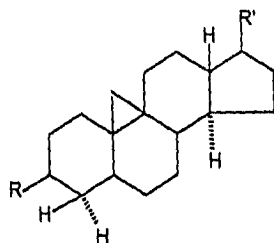


Figura No. 6 Compuestos aislados de *Mangifera Indica*

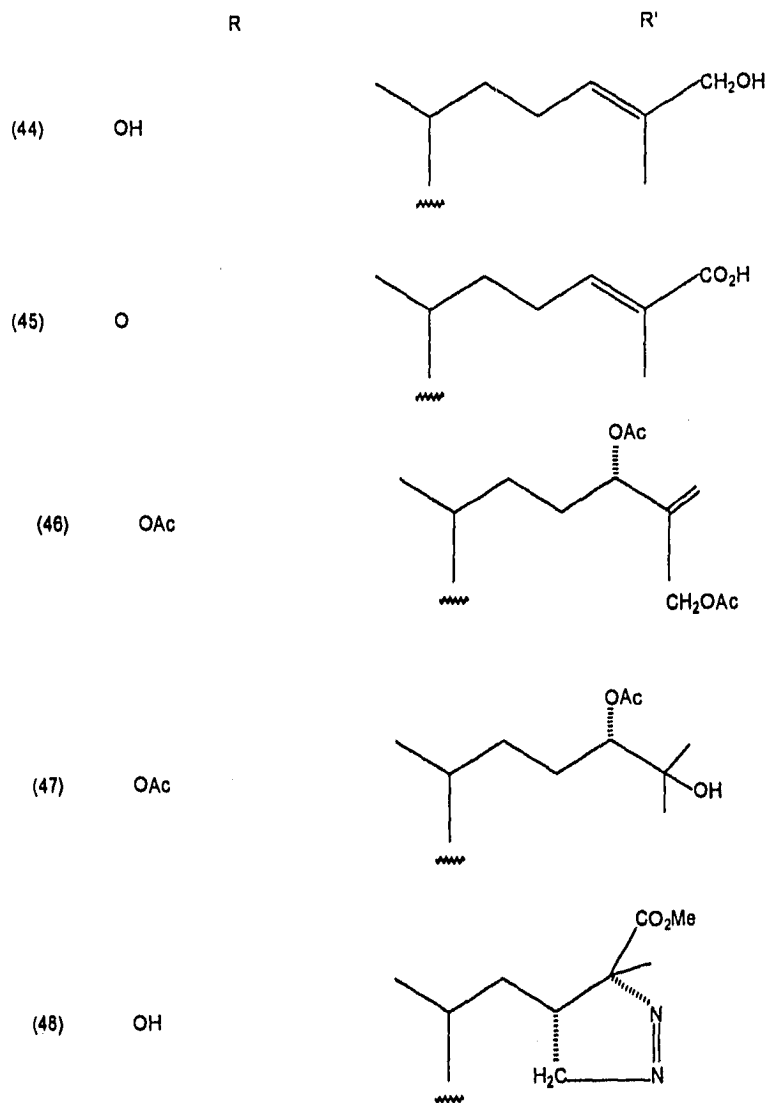
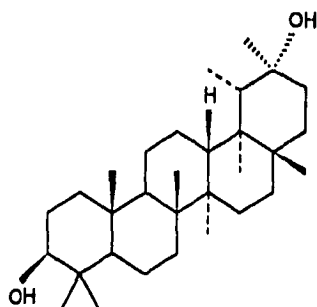
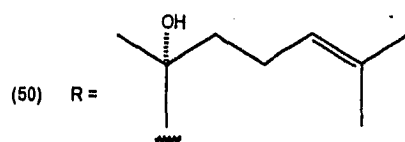
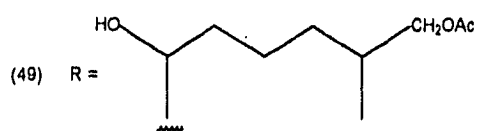
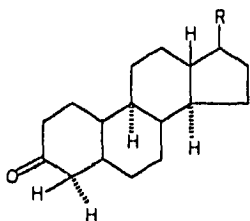


Figura No. 6 Compuestos aislados de *Mangifera indica*
(Continuación)



(51)

Figura No. 6 Compuestos aislados de *Mangifera indica*
(Continuación)

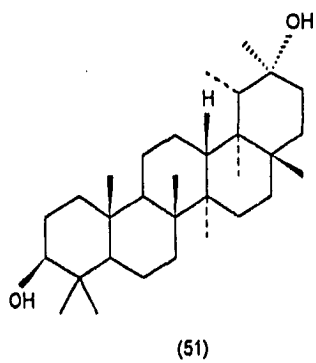


Figura No. 6 Compuestos aislados de *Mangifera Indica*
(Continuación)

1.10 Antecedentes de *Marrubium vulgare* L.

1.10.1 Aspecto Botánico:

Familia : Labiateae

Sinonimia : Manrubio, Marrubio blanco.

Localización : Es una planta Europea pero se ha naturalizado en nuestro país encontrándose casi en todas partes.

Descripción : Es una planta herbacea, vivaz hasta de un metro de altura de tallo cuadrangular, veloso, de hojas opuestas, rugosas, y asperas, ovales con dientes gruesos y redondeados, de olor algo balsámico y sabor amargo. Las flores con cáliz diezdentado, blancas, bilabiadas, el superior con dos segmentos y el inferior con tres, estambres didinamos, forman cabezuelas axilares, protegidas con brácteas agudas. (Martínez, 1989)

1.10.2 Aspecto Etnobotánico y usos :

Las hojas y la flor se utilizan en infusión (20 g por 1 litro de agua) sirve contra la inflamación, tos, anticatarral, antiespasmódico, antiparásitario, antipirético, bronquitis, dispepsia, bilis, padecimiento hepático, expulsa larvas de mosca que entran a la nariz, obesidad, diurético, astringente, catarro crónico. (Torres, 1993)

1.10.3 Aspecto Farmacológico:

La sal de sodio de la Marrubina tiene una pronunciada acción sobre la secreción biliar. (Rey *et al.*, 1992)

1.10.4 Aspecto Químico:

Si la premarrubina (56) (espiroeter) que puede ser aislada, mediante condiciones suaves se somete a calentamiento en etanol o se mantiene en cloroformo, se convierte en marrubina. (Romo de Vivar, 1985; Laonigro *et al.*, 1979). La Marrubina (55) se

el año de 1842, es una γ - lactona diterpénica, no es un producto natural. La Marrubina es una sustancia amarga que forma cristales acicutaes o tubulares muy poco solubles en agua pero que se disuelven fácilmente en eter. (Font Quer, 1985)

En las flores se encuentran pequeñas cantidades de esencia (0.055 %), algo de resina, materias grasas, cera, taninos (más del 5%) y cierta cantidad de un glucósido y de una saponina ácida. (Font Quer, 1985)

En las hojas y tallo superior se encuentran : Aceite esencial volatil, resina, tanino y ácido gálico. (Martínez, 1989)

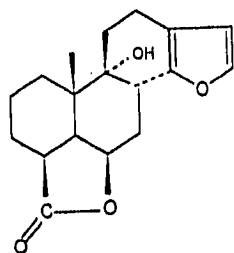
Del extracto acetónico y etanólico se aisló un esteroil insaturado, de la serie estigmasterol y sesquiterpeno ($C_{15}H_{22}O_2$). (Nicholas, 1964)

De las hojas de *Marrubium vulgare* se obtuvo el extracto etanol - agua 3:1, identificandose los siguientes compuestos: (Appleton *et al.*, 1967; Rey *et al.*, 1992; Nawwar *et al.*, 1989; Dictionary of Natural Products, 1994)

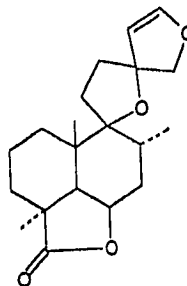
- 5, 7, 3', 4' - tetrahidroxi - 7 - o - lactoilflavona (luteolina 7 - lactato)
- 5, 7, 4' - trihidroxi - 7 - o - lactoilflavona (apigenina 7 - lactato)
- Luteolina 7 - [2 - glucuronosilactato]
- 7 - [2 - glucosilactato]
- Apigenina 7 - [2 - glucuronosilactato]

También se aislaron e identificaron compuestos conocidos :

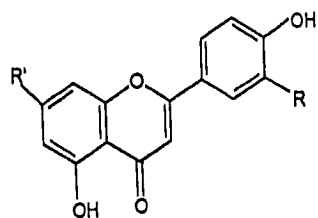
- Apigenina (57) (1)
- Luteolina (58)
- Apigenina - 7 - glucósido (59)
- Luteolina 7 - glucósido (60)
- Vicenina II (61)
- Vitexina (62)
- Crisoeriol (1)
- Apigenina 7 - (6'' - p - cumaril) glucosido
- Acido gálico



(55)



(56)



(57)

R	R'
H	OH

(58)

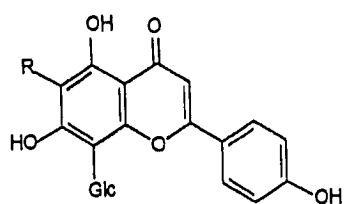
OH	OH
----	----

(59)

H	O - Glc
---	---------

(60)

OH	O - Glc
----	---------



(61) R = Glc

(62) R = H

Figura No. 7 Compuestos aislados de *Marrubium vulgare*

1.11 Antecedentes de *Pinus teocote*

1.11.1 Aspecto Botánico:

Familia: Pinaceae

Sinonimia: Ocote, Olote, Teocatl.

Localización: Desierto de los Leones, Cañada de Contreras, Ajusco, Salazar.

Descripción: Gimnosperma de 10 a 15 m de altura, puede alcanzar hasta 20 m, cubierto de una corteza de color grisáceo - rojiza, formada de placas. Hojas reunidas en fascículos, duras, tiesas, anchas, triangulares, miden de 10 a 16 cm de longitud, vainas persistentes de color castaño, de unos 7 mm de largo. Conos ovoideos, subcónicos de 4 - 7 cm simétricos, reflejos de color moreno rojizo, frecuentemente en parejas. Semillas oscuras, casi negras, de 4.0 - 4.5 mm, las alas miden 13 - 15 mm. (Martinez, 1989)

1.11.2 Aspecto Etnobotánico y usos:

Las flores de *Pinus teocote* se utilizan como té contra: la tos, tosferina, bronquitis y se considera antifímico. (Torres, 1993)

1.11.3 Aspecto Farmacológico:

El extracto etanólico de la madera fué probado contra tres bacterias gram positivas *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes*, las cuales son causantes de enfermedades respiratorias. La inhibición fué negativa. (Cáceres *et al.*, 1991a)

Se realizó un tamizaje de la actividad antibacteriana, utilizando las hojas del *Pinus teocote*, las cuales no provocaron inhibición a las siguientes bacterias: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella tify*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*. (Cáceres *et al.*, 1991a)

1.11.4 Aspecto Químico:

Del género *Pinus*, a partir del aceite se han aislado los siguientes compuestos: (Conner y Rowe, 1977)

- p - menta -1,3 - dieno
- α - terpineno
- β - felandrano
- 2 - metil - 6 - metileno -3,7 - octadien -2 - ol
- Terpinoleno
- γ - terpineno
- (\pm) - Pinostrobin
- ácido ($\Delta^{6,8(14)}$ - abietadienoico)
- 8 (14),15 - piramidieno -3 β , 18-diol
- 19 - hidroxil - 15,16 dinorlabd -8 (17) - en - 13 - ona
- 8,13 β - epoxy- 14 labden - 6 α -ol
- 8,11,13 - abietatrieno - 15,18 - diol
- 9, 10 -secoabieta - 8, 11,13 - trien -18,10 - olido

Del duramen del árbol del género *Pinus* han sido aislados los siguientes compuestos: (Matsuura, 1957; Dictionary of Natural Products, 1994)

- Estrobopinino C - metil - 5,7 - dihidroxiflavona (63)
- Criptostrobino (64)

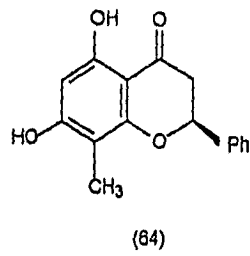
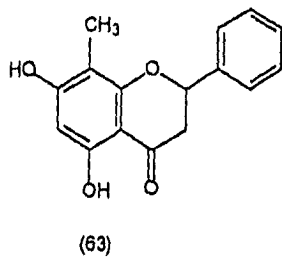


Figura No. 8 Compuestos aislados de *Pinus teocote*

1.12 Antecedentes de *Sambucus mexicana* Pres ex A. D.C.

1.12.1 Aspecto Botánico:

Familia: Caprifolaceae

Sinonimia: Azumiatl, Candumba, Cuntempa, Sauco, Xumettl.

Localización: Valle de México, Orizaba, Sonora, México, Guerrero.

Descripción: Arbusto o árbol de corteza gris y escamosa, con ramas quebradizas, provistas de abundante medula. Hojas compuestas de cinco hojuelas ovado - lanceoladas, algo pubescentes. Flores numerosas y pequeñas dispuestas en cimas. Su olor es intenso y agradable. El fruto es negruzco y de unos 6 mm de diámetro. Es comestible. (Martinez, 1989)

1.12.2 Aspecto Etnobotánico y usos:

Se utilizan las hojas y el tallo en forma de infusión para: la tos con calentura, antiinflamatorio, antitusígeno, estimulante, sudorífero, diaforético, aperitivo.

La corteza se usa como purgante, para la hidropesía y la epilepsia.

Las flores se usan como unguento.

Se utiliza en forma tópica en las ovejas contra la sarna. (Torres, 1993)

1.12.3 Aspecto Farmacológico:

El extracto etanólico de *S. mexicana* fue probado para determinar su actividad diurética, en ratas blancas después de una dosis equivalente a 1g/Kg de material vegetal, se registró el volumen acumulativo urinario excretado a las 2, 4 y 8 horas después de su administración. Obteniéndose un incremento urinario de 13.4%, *Sambucus mexicana* tiene una actividad diurética media, provocando una excreción baja de electrólitos y presenta estadísticamente un incremento urinario significativo de la excreción de ácido úrico. Tales hallazgos indican que podría ser seguro utilizar esta planta para pacientes cardíacos. (Cáceres *et al.*, 1987)

El extracto etanólico de las flores de *Sambucus mexicana* fué probado contra bacterias gram positivas, responsables de enfermedades respiratorias. El extracto no fué activo contra éstas. (Cáceres *et al.*, 1990)

Los extractos n - hexano, acetónico y alcohólico de las hojas de *S. mexicana* fueron probadas contra enterobacterias. Los extractos hexánico y acetónico, no presentaron actividad antibacteriana. El extracto metanólico presento una mejor actividad con un MICD (Concentración Mínima Inhibitoria en Disco) de 10 mg para *Shigella flexneri*.

El extracto etanólico fué probado para el espectro de susceptibilidad, mostrando una susceptibilidad moderadamente alta para *Salmonella typhi* y baja para *Pseudomona aeruginosa*. (Cáceres *et al.*, 1992)

En un estudio *in vitro* contra cinco bacterias enteropatógenas para el hombre, causantes de enfermedades gastrointestinales, se probó el extracto etanólico de las hojas de *Sambucus mexicana* el cual presentó actividad antibacteriana contra *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* y *Shigella flexneri*. (Cáceres *et al.*, 1990)

A partir del extracto acuoso de las flores de *Sambucus mexicana*, Meckes - Lozoya y Mellado (Meckes - Lozoya y Mellado, 1986) realizaron experimentos sobre músculo liso encontrando los siguientes resultados: en el cerdo de Guinea se observa una contracción de los tejidos aórtico y uterino, adicionalmente presenta una relajación de los tejidos traqueal y del ileón. En la rata se presentó contracción en el tejido aórtico y relajación en el tejido uterino y del ileón. En el perro se presentó contracción en el tejido aórtico y traqueal, y relajación en el tejido del ileón y uterino. En el conejo se presentó contracción en el tejido aórtico y uterino y relajación en el tejido del ileón. *Sambucus mexicana* no muestra ningún otro cambio a la dosis empleada en este modelo animal experimental (% presión arterial, % ritmo cardiaco, % ritmo respiratorio y % nivel de glucosa en sangre) A esta dosis empleada no produce señales electroencefalográficas sedativas. El extracto de la *S. mexicana* muestra cierta actividad biológica, aunque no fué posible establecer una relación directa entre los efectos observados y las supuestas propiedades antitusivas. *S. mexicana*, produce modificaciones en la contracción de músculo liso de diferentes tejidos *in vitro*. Se

requiere de estudios adicionales para determinar las acciones observadas. No se observaron efectos tóxicos durante la administración *in vivo* de la planta.

Se probó *in vitro* el extracto acuoso de *Sambucus mexicana* contra los dermatofitos más comunes, los cuales causan enfermedades dermatofíticas especialmente en los infantes de países en desarrollo, presentándose en los trópicos.

El extracto presenta actividad antimicótica contra: *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton mentagrophytes* variación algodonosa, *T. mentagrophytes* var. *granulare* y *Trichophyton rubrum*. (Cáceres et al., 1991c)

Se realizó un tamizaje de la actividad antibacteriana de la corteza, flores y hojas, inhibiendo el desarrollo de *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, después de esto se realizarán pruebas de confirmación en estudios posteriores, obteniéndose tres extractos con solventes de diferente polaridad, no se mostró actividad antibacteriana en ninguna de las tres fracciones ensayadas, a pesar de su amplio uso popular contra infecciones. Se necesita de un MICD (Mínima Concentración Inhibitoria en Disco) mayor a 10 mg para inhibir el crecimiento de *S. Typhi* y *S. flexneri*. (Cáceres et al., 1991b)

1.12.4 Aspecto Químico:

Presenta consistencia mantecosa, colina, materias tánicas y resinosas, azúcar, mucilago y la llamada eldrina que no es sino rutina; así como los ácidos málico, valerianico y tartárico y un glucósido nitrílico.

En las hojas se encuentra otro glucósido, la sambunigrina, que, mediante un fermento parecido a la emulsina, produce glucosa, aldehído bencilico y una cantidad de cianhídrico de unos 10 mg por cada 100 g de hojas frescas se ha hallado un alcaloide llamado sambucina, semejante a la conina.

En la corteza existe el alcaloide: sambucina (65), fitosterina, ácido resínico, flabafeno, materias tánicas, los ácidos esteárico y mirístico, con otras sustancias no bien conocidas aún.

Finalmente los frutos contienen alrededor de un 80 % de agua, pentosanas, azúcar invertido, un poco de aceite de saúco, proteínas, ácido málico, tanino. (Font Quer, 1965)

Se han obtenido los siguientes compuestos:

(Evans, 1991; The Merck Index, 1989; Dictionary of Natural Products, 1994)

Sambunigrina (L (+) - mandelonitrilo - D - glucósido) (66)

Acido mirístico (n - tetradenoico)

Acido esteárico (n - octadecanoico)

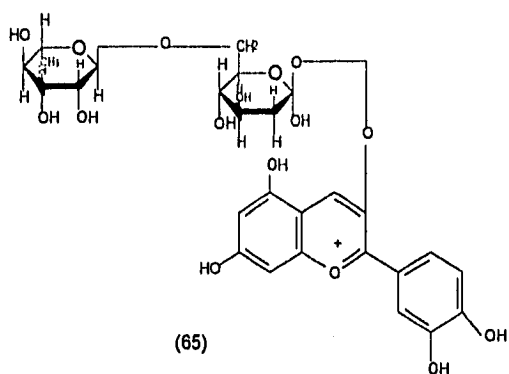


Figura No. 9 Compuestos aislados de *Sambucus mexicana*

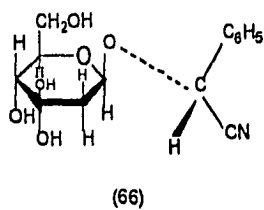


Figura No. 9 Compuestos aislados de *Sambucus mexicana*
(Continuación)

1.13 Antecedentes de *Tagetes erecta* L.

1.13.1 Aspecto Botánico:

Familia: Compositae

Sinonimia: Cempazuchil, Cempoasuchil, Flor de muerto, Periquillo, Cempoal xochitl. (Sinónimos de las Plantas Medicinales en México, 1976; Hernández, 1943)

Localización: Se cultiva en diversos lugares.

Descripción: Planta herbácea de hojas divididas y aromáticas con flores grandes de color anaranjado, amarillo o rojizo, de olor penetrante. Florece en Octubre y Noviembre. (Martínez, 1989)

Con glándulas oleíferas epidérmicas, especialmente las brácteas involucrales. (Font Quer, 1985)

1.13.2 Aspecto Etnobotánico y usos:

Se usa la infusión acuosa de la flor, hoja y/o la planta contra la tos con calentura, antipalúdico, aperitivo, resolutorio, empacho, cólicos ventosos, corrige y templata el estómago frío, provoca orina y sudor, quita los fríos de las temperaturas, cura la caquexia, mala disposición del hígado, relaja los nervios, cura la hidropesía, provoca vómito, tiene propiedades emagógicas y antihelmínticas. (Torres, 1993)

1.13.3 Aspecto Farmacológico:

Se probó el extracto etanólico de las flores de *Tagetes erecta* contra tres bacterias Gram positivas, causantes de infecciones respiratorias. El extracto inhibió el desarrollo de *Streptococcus pyogenes*. (Cáceres *et al.*, 1990)

Se probaron cinco enterobacterias patógenas para el hombre, usando en la investigación el extracto etanólico de las hojas de *Tagetes erecta*, inhibiendo el desarrollo de: *Salmonella enteritidis* y *Shigella dysenteriae*. (Suryaprakasa Rao y Seshadri, 1941)

La purificación del extracto de la flor de *Tagetes erecta*, contiene dipalmitato xantopílico (dipalmitato luteínico), el cual es vendido como un agente oftalmológico bajo el nombre de Adaptinol®. (Gau *et al.*, 1983)

Se realizó un tamizaje de la actividad antibacteriana *in vitro* de las hojas de *T. erecta*, observándose una inhibición en las siguientes bacterias: *Salmonella enteritidis*, *Shigella dysenteriae* y *Streptococcus pyogenes*. (Cáceres *et al.*, 1991b)

El α - tertienil muestra una actividad no provitamínica A en la rata, y tampoco una potencia antibiótica contra organismos como: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* o *Pseudomona ovals*. (Zechmeister y Sease, 1947)

1.12.4 Aspecto Químico:

En las raíces de *Tagetes erecta* se encuentra un compuesto α - tertienil (67) (es un poliacetileno de color azul cielo o azul oscuro fluorescente), (Zechmeister y Sease, 1947) el cual se probó como posible agente alelopático. El compuesto fué probado contra *Asclepias syriaca* L. y *Chenopodium album* L., dos hierbas comunes, *Phleum pratense* L. y *Trifolium pratense* L., dos plantas forrajeras comunes en el este de Norte América. La tierra que rodea a las raíces de *Tagetes erecta*, presenta una concentración de 0.48 ± 0.21 ppm de α - tertienil; provocando que esta concentración sea significativa he impida el crecimiento de las semillas. La actividad alelopática fué aumentada por la presencia de luz solar o por U.V., se obtuvo una CI_{50} para *A. syriaca* de 0.15 ppm, para *C. album* 0.27 ppm, para *P. pratense* 0.79 ppm y para *T. pratense* 1.93 ppm. El compuesto α - tertienil inhibió el crecimiento de las semillas tratadas sin U.V. El compuesto inhibe la germinación con o sin la exposición de U.V. El α - tertienil, es un compuesto de alta toxicidad se han hecho estos experimentos, los cuales han conducido a descubrir su alto potencial, como un agente natural en el control de hierbas a través de experimentos de la planta en la maceta y en el campo. (Campbell *et al.*, 1982)

Se llevó a cabo la identificación del espectro de masas de los ésteres de ácidos grasos xantofílicos de las flores de *Tagetes erecta* encontrándose los siguientes compuestos: dimiristato, palmitato dimiristato, dipalmitato, estearato de palmitato,

distearato y un compuesto desconocido mezcla de un éster estearato de palmitato xantofílico y de un éster miristato palmitato xantofílico. El compuesto que se encuentra en mayor cantidad es el dipalmitato xantofílico. (Gau *et al.*, 1983)

El género *Tagetes*, es prolífico en la producción de sustancias de importancia biológica. Los flavonoides de la especie *Tagetes erecta* L. han sido objeto de investigaciones.

Por medio de los extractos acuoso - metanólico de las flores y de las hojas, se obtuvieron los siguientes compuestos: (El - Emary y Ali, 1983; Harborne, 1973)

Extracto de las flores:

- α - tertienil (67)
- Helenieno (68)
- Acido síngico (69)
- Metil - 3,5 - dihidroxi - 4 - metoxibenzoato (derivado del ácido gálico)
- Quercetina (70)
- Quercetagetina (71)
- Quercetagerina (es un glucósido de la Quercetagetina) (72)
- 6 - hidroxiamferol - 7 - o - glucósido

Del extracto de las hojas se obtuvo:

- Camferol (4) (73)
- Camferol - 7 - o - ramnosido (74)
- Camferitrina (75)
- Mono y diglucósidos
-

Se encontró también el aglicón de glucósidos: β - sitosterol. (Ahmed *et al.*, 1992)

A partir del aceite de las semillas se encontraron los siguientes ácidos grasos: 9 - hidroxí - 10,12 - y 13 - hidroxí - 9, 11 octadecadienoico, en una cantidad de 8.9% Y también los siguientes ácidos: valérico, hexanoico, nonanoico, decanoico, subérico (octanedioico), azelaico (nonanedioico), dodecanodioico y tridecanodioico. (Hopkins y Chisholm,1965; Wingrove, 1990)

Las hojas y flores contienen aceite esencial, resina, material colorante amarillo, grasa y taninos. (Martínez,1989)

Se aislaron a partir de la planta el compuesto 5 - But - 1 - ol - 3 - inil) - 2,2' - bitienil y el etil galato. (Tripathi *et al.*,1992; Suryaprakasa Rao y Seshadri, 1941; The Merck Index, 1989; Dictionary of Natural Products, 1994)

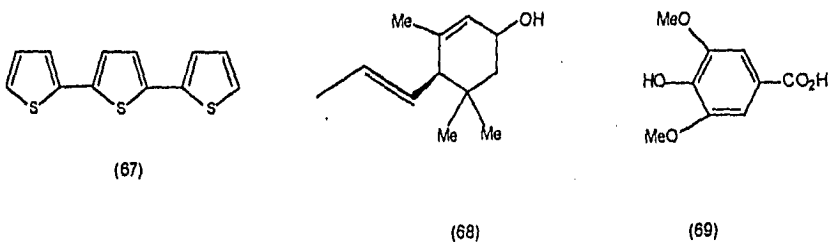
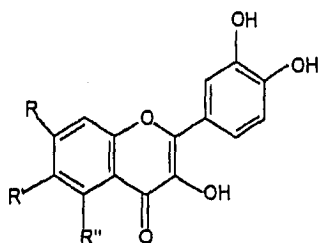
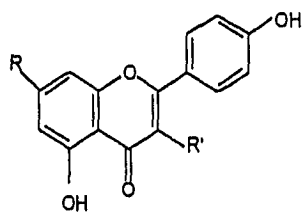


Figura No. 10 Compuestos aislados de *Tagetes erecta*



	R	R'	R''
(70)	OH	H	OH
(71)	OH	OH	H
(72)	Glc-O	OH	OH



	R	R'
(73)	OH	OH
(74)	RhO	OH
(75)	RhO	RhO

Figura No. 10 Compuestos aislados de *Tagetes erecta*
(Continuación)

1.14 Antecedentes de *Usnea barbata* Fries

1.14.1 Aspecto Botánico:

Familia: Usneaceae

Sinonimia: Heno, Barba de fraile, Musgo de la árboles, Musgo - Dos - Carvalhos, Barba de Caputxi, Barba d' alzina, Barba de Reboll, Arbol bizarrzuri, Paxtli, Tocali. (Font Quer, 1985)

Localización: Se cría en las ramas de los árboles, principalmente en los alcornoques, encinos, de todo el país, principalmente donde hay mucha humedad en el aire. (Font Quer, 1985)

Descripción : Es una planta epífita, un líquen muy ramificado, con numerosas y finas ramitas colgantes, de color blanquesino. Los aparatos reproductores forman discos planos sin reborde marginal y del mismo color ceniciento de todo el líquen. (Font Quer, 1985)

1.14.2 Aspecto Etnobotánico y usos :

Se usa en infusión acuosa o en vino contra : La tos, epilepsia infantil, es astringente, reprime el vómito y restringe el flujo del cuerpo, se usa como secante y antiséptico para las grietas y escoceduras de los pies, tiene propiedades antibióticas, es cordial y restituye el apetito. (Torres, 1993)

1.14.3 Aspecto Farmacológico :

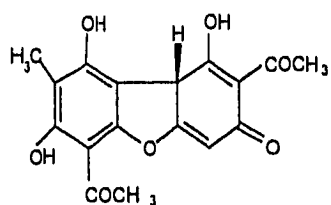
A la concentración de 1/100 000 el ácido úsnico impide el desarrollo del *Mycobacterium phlei*; *Staphylococcus aureus* requiere concentraciones más elevadas.

La sal sódica de este ácido es muy activa; el desarrollo del *Mycobacterium avium* queda totalmente paralizado con el usniato sódico al 1/100 000. (Torres, 1993)

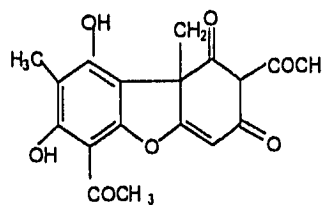
1.14.4 Aspecto Químico :

Contiene principalmente ácido úsnico (76), el cual es antibiótico.

Se ha encontrado también el ácido barbatólico (77). (Dictionary of Natural Products, 1992; The Merck Index, 1989)



(76)



(77)

Figura No. 11 Compuestos aislados de *Usnea Barbata*

1.15 Antecedentes de *Verbesina crocata*

1.15.2 Aspectos Botánicos:

Familia: Compositae

Sinonimia: Capitaneja, Capitaneja anaranjada, Chinalacatl, Nahuilput, Nzacahuiteputz.

Localización: Atlixco, Matamoros (Puebla), Córdoba (Veracruz), Tabasco, cerca de las Grutas de Cacahuamilpa (Guerrero).

Descripción: Planta semiherbácea, con las hojas inferiores alabardadas y las superiores pinatífidas y desigualmente dentadas. Los capítulos son de color anaranjado. (Hernández, 1946)

1.15.2 Aspecto Etnobotánico y usos:

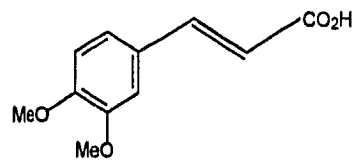
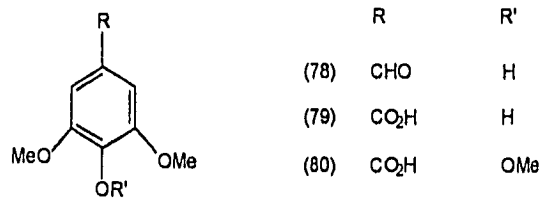
Se utiliza la infusión acuosa de flores y hojas contra: la tos con calentura, abscesos, aftas, amenorrea, caquexia, cefalalgias, enfermedad del estómago, mal del pinto, abre obstrucciones, enfermedades de los hojas, panadizo, tosferina, úlceras venereas, mordeduras de animales y fortalece a las parturientas; es considerada como: antisifilítica, antitumoral, catártico, diaforética, diurética y hemética. (Torres, 1993)

1.15.3 Aspecto Químico:

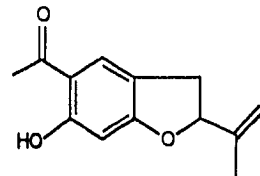
En las hojas y flores se ha encontrado resina neutra, resina ácida, ácido tánico, goma, azúcar, almidón, ácidos sulfúrico, clorhídrico, silícico y carbónico; potasa, cal, magnesio y fierro. (Martínez, 1989)

Del género *Verbesina* a partir del extracto clorofórmico de las hojas se obtuvo: (Herz y Kumar, 1981; Ortega *et al.*, 1985; Box *et al.*, 1977; Martínez *et al.*, 1989; Bohlmann y Lonitz, 1978)

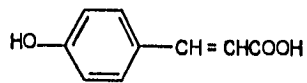
- Siringaldehído (78)
- Acido siringico (79)
- Acido eudésmico (80)
- Acido ferúlico (81)
- Acido 3,4 - dimetoxicinámico
- 2,6 - dimetoxibenzoquinona
- Sitosterol
- Euparina (82)
- Acido *p* - cumárico (83)
- Ester *p* - cumaril (84)
- Verbesindiol (85)
- Zempoalina C (86)
- Zempoalina D (87)
- Rupestrol (éster cinamato) (88)
- Rupestrinol (cinamato) (89)
- Ester *o* - cinamato (90)
- *o* - cinamatorupestrinol (91)
- β - caenocefalol (92)
- 4 β cinamoxi - 1 β (93)
- 4 β - cinamoiloxi - 1 β (94)



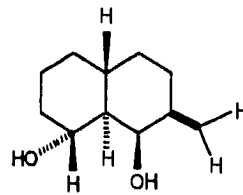
(81)



(82)

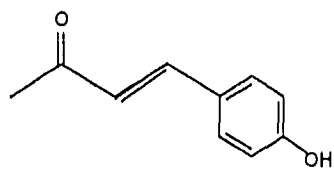


(83)

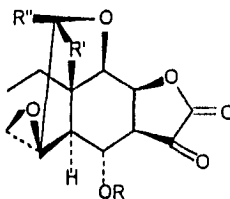


(84)

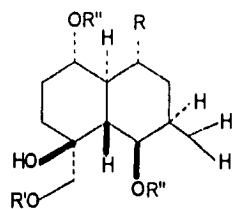
Figura No. 12 Compuestos aislados de *Verbesina crocata*



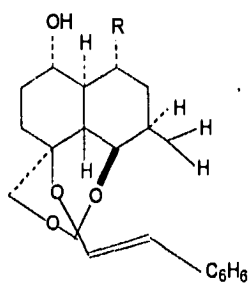
(85)



	R	R'	R''
(88)	ibu	H	OH
(87)	ibu	OAc	H

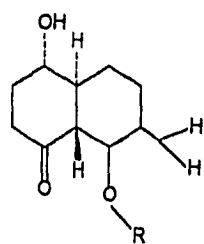


	R	R'	R''
(88)	OH	cinamoil	H
(89)	H	cinamoil	H

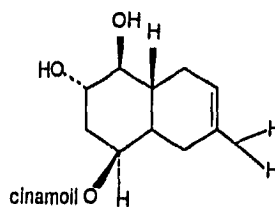


	R
(90)	OH
(91)	H

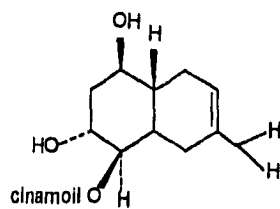
Figura No. 12 Compuestos aislados de *Verbesina crocata*
(Continuación)



(92)



(93)



(94)

Figura No. 12 Compuestos aislados de *Verbesina crocata*
(Continuación)

1.16 JUSTIFICACION

El hombre ha recurrido al reino vegetal desde los tiempos prehispánicos para curar sus enfermedades, es entonces cuando nace la inquietud para clasificar a las plantas medicinales de acuerdo a sus propiedades terapéuticas. En México, la tradición en el uso folklórico de sustancias de origen natural se ha preservado en la cultura nacional y transmitido de generación en generación. De ahí que el uso popular de las plantas medicinales representa el criterio primario en el cual se basa la farmacognosía para la selección de sus fuentes naturales de estudio. Numerosas investigaciones fitoquímicas dan prueba de la efectividad de esta aproximación.

Las enfermedades respiratorias son afecciones frecuentes de la población, particularmente en países en desarrollo y grupos etáreos de menores y ancianos, ya que diversas condiciones predisponen a una alta incidencia de la infección respiratoria por diversos virus, que en condiciones particulares se complican con infecciones bacterianas.

En México las infecciones ocupan la quinta causa de morbi - mortalidad. Durante 1991 la tasa de infecciones fué de 22.7 (4.8%) por 100,000 habitantes. Tabla No. 1 (O.P.S., 1994). En el estado de Guerrero, el comportamiento de las enfermedades de 1987 a 1991; indican que en primer lugar se siguen registrando las infecciones respiratorias agudas, las infecciones intestinales y enteritis, otras enfermedades diarreicas en segundo lugar y la amebiasis en tercero. (Beltrán *et al.*, 1992) Tabla No. 2

Del estudio etnobotánico de la comunidad de Amojileca, Guerrero, (Burgos *et al.*, 1992) se desprende la siguiente información: ochenta y cinco plantas fueron referidas en el levantamiento de una encuesta en la comunidad, que utilizan para el tratamiento de padecimientos gastrointestinales, respiratorios, psicosomáticos, cutáneos y cardiovasculares. En el presente trabajo se toma en cuenta unicamente las plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de las enfermedades respiratorias que junto con las enfermedades gastrointestinales desde la década de los cuarenta se han reportado en las estadísticas oficiales como las primeras causas de morbi - mortalidad en Guerrero.

En la actualidad nuestro país atraviesa por una severa crisis económica, situación aunada a los diversos problemas de salud pública que afectan notablemente los estratos socioeconómicos más pobres de la sociedad mexicana, lo que hace necesaria la búsqueda de nuevas alternativas para procurar la salud a un costo menor. Por lo tanto, cualquier proyecto enfocado al análisis fitoquímico de plantas económicas y medicinales con el objetivo de aislar principios activos se justifica plenamente y, de manera particular cuando los estudios son de especies mexicanas utilizadas popularmente para el tratamiento de enfermedades que aquejan a la población. Además se contribuiría a apreciar los recursos naturales ya que al conocer el potencial económico de una especie se justifican todas las medidas para su conservación. (Beltrán *et al.*, 1992; Burgos *et al.*, 1992)

Los resultados obtenidos de los estudios etnobotánicos a nivel nacional y regional de plantas medicinales hacen más que evidentes la importancia médica, económica y social que tales recursos tienen para la medicina mexicana.

No existen estudios enfocados hacia la investigación en el campo de la química de los productos naturales del estado de Guerrero, dirigida hacia el aislamiento y elucidación estructural de compuestos activos. Este hecho junto con la enorme tradición en el empleo de plantas medicinales en el estado motiva la iniciación de este proyecto con la finalidad de seleccionar aquellas especies vegetales que presenten actividad biológica.

El Sector Salud reporta los siguientes datos con respecto a las enfermedades respiratorias:

TABLA No. 1

Morbilidad hospitalaria por diagnóstico principal de egreso, sexo y días de estancia en 1992 en México.

DIAGNOSTICO	TOTAL	HOMBRES	MUJERES	ESTANCIA EN DIAS
Tuberculosis	21699	12117	9582	89790
Enfermedades crónicas de las amígdalas y vegetaciones adenoides	1381	672	709	2752
Neumonía	10446	5645	4801	67788
influenza	12	-----	12	228
Bronquitis crónica y la no especificada, efisema y asma	3934	2039	1845	11733

TABLA No. 2

Principales causas de Mortalidad general en 1992 en México.

CAUSA	DEFUNCIONES
Neumonía e influenza	18 688
Bronquitis crónica y la no especificada, efisema y asma.	8297
Enfermedad pulmonar obstructivas crónicas	6066
Tuberculosis pulmonar	4486

Fuente: Información Estadística del Sector Salud y Seguridad Social INEGI. (1994)

1.17 OBJETIVOS

El objetivo fundamental del presente trabajo es realizar el tamizaje biológico de los extractos hexánico, clorofórmico y hexánico de trece plantas (Tabla No. 2) detectadas a través de un estudio etnobotánico por ser usadas en Amojileca, Guerrero como agentes terapéuticos de las infecciones en las vías respiratorias, utilizando algunos bioensayos simples como el ensayo de toxicidad contra *Artemia salina* Leach, el método de estrías en agar para evaluar la actividad antimicrobiana, y adicionalmente la actividad alelopática.

Para el cumplimiento del objetivo general se contemplan los siguientes objetivos específicos:

1. Recopilar la información botánica, etnobotánica y química de las especies seleccionadas a través de una revisión bibliográfica exhaustiva.
2. Realizar las operaciones preliminares a las plantas.
3. Preparar los extractos vegetales de las plantas seleccionadas mediante un proceso de maceración y utilizando de manera general metanol, cloroformo y hexano como disolvente.
4. Determinar la toxicidad contra el crustáceo *Artemia salina* Leach de los extractos derivados de cada una de las especies seleccionadas.
5. Determinar la actividad antimicrobiana cualitativa de los extractos vegetales preparados utilizando el método de estría de Mitscher. Evaluar la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) de los extractos activos.
6. Evaluación de la actividad alelopática de los extractos en estudio.

7. Detectar los candidatos idóneos para futuras investigaciones fitoquímicas encaminadas a la obtención de productos naturales activos.

PLANTAS ESTUDIADAS

TABLA No. 3

NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN	PARTE ESTUDIADA
<i>Anoda cristata</i>	Violeta, amapolita del campo.	Flor
<i>Borago officinalis</i>	Borraja silvestre, borraja, borage, borrajta, borraína, Pa - i - peixet, borrai, borroin, borraya, larra borraya, burbeillu, berreillu, murrum.	Parte aérea
<i>Bougainvillea glabra</i>	Bugambilia.	Flor
<i>Citrus aurantium</i>	Azahar, hojas de naranjo agrio, naranjo, azut - spakal, naranjero agrio, laranjeira azeda, laranxeida aceda, taroger agre, larango, larando.	Hoja
<i>Gnaphallium sp.</i>	Gordolobo.	Flor
<i>Lippia dulcis</i>	Hierba dulce, cococxihuitl ocinino, neuctixihuitl, orozus, salvia santa, tzapelicxuihuit - x - tuhuy - xiu.	Hoja
<i>Mangifera indica</i>	Mango, rosa morada de Nayarit.	Hoja
<i>Marrubium vulgare</i>	Manrrubio, manrrubio blanco.	Flor
<i>Pinus teocote</i>	Ocote, olote, teocatl.	Parte aérea
<i>Sambucus mexicana</i>	Sauco, azumiatl, candumba, cuntempa.	Flor
<i>Tagetes erecta</i>	Cempazuchil, cempoalxochitl, flor de muerto, periquillo, cempoasuchil.	Flor
<i>Usnea barbata</i>	Heno, barba de fraile, musgo de los arboles, musgo - Dos - Carvalhos, barba de caputxi, barba alzina, barba de Reboll, árbol lizarzuri, paxtli, tecali.	Parte aérea
<i>Verbesina crocata</i>	Capitaneja anaranjada, chinatacatl, nahuitiputl, nzacanhuiteputz.	Hoja

2. METODOLOGIA

Las plantas se colectaron en la comunidad de Amojileca, Guerrero; entre los meses de mayo y junio de 1992. Una muestra de referencia de cada planta fue depositada en la colección etnobotánica del Herbario Nacional del IMSS.

2.1 Operaciones Preliminares

2.1.1 Secado y Molienda

El material vegetal se secó a temperatura ambiente y se llevó a cabo la pulverización del material en un molino de aspas Phillips. El material pulverizado se pesó y se inició una extracción exhaustiva del material vegetal con solventes de diferente polaridad como se muestra en la Tabla No. 4

NOMBRE DE LA PLANTA	MATERIAL VEGETAL g	VOLUMEN HEXANO ml	VOLUMEN CLOROFORMO ml	VOLUMEN METANOL ml
<i>Anoda cristata</i>	100.00	500.00	500.00	600.00
<i>Borago officinalis</i>	100.00	700.00	800.00	800.00
<i>Bougainvillea glabra</i>	56.00	700.00	1000.00	600.00
<i>Citrus aurantium</i>	100.00	600.00	600.00	1000.00
<i>Gnaphalium sp</i>	64.00	1800.00	1800.00	1500.00
<i>Lippia dulcis</i>	100.00	500.00	500.00	500.00
<i>Mangifera Indica</i>	100.00	300.00	400.00	500.00
<i>Marrubium vulgare</i>	100.00	700.00	900.00	800.00
<i>Pinus teocote</i>	100.00	200.00	200.00	300.00
<i>Sambucus mexicana</i>	100.00	400.00	400.00	500.00
<i>Tagetes erecta</i>	100.00	1000.00	1000.00	1000.00

NOMBRE DE LA PLANTA	MATERIAL VEGETAL g	VOLUMEN HEXANO ml	VOLUMEN CLOROFORMO ml	VOLUMEN METANOL ml
<i>Usnea barbata</i>	100.00	1600.00	1600.00	2000.00
<i>Verbesina crocata</i>	100.00	600.00	500.00	600.00

Tabla No. 4

Cantidad de material vegetal (g) y cantidad de solvente (ml) utilizado en la extracción.

2.1.2 Desengrasado

El desgrase se realizó a través de una maceración a temperatura ambiente durante 24 hr, posteriormente el disolvente de extracción (Hexano, Cloroformo, Metanol) se decantó y filtró para la concentración final por destilación con vacío.

Este proceso de extracción se realizó 3 veces, obteniéndose determinada cantidad de extracto.

2.2 Evaluación de la toxicidad contra el crustáceo *Artemia salina* Leach

Para la determinación de la toxicidad de los extractos contra *Artemia salina* L. se utilizó el método reportado por Meyer y Solis (Meyer *et al.* 1982; Solis *et al.* 1993)

Procedimiento:

Los huevecillos de *Artemia salina* se incubaron en solución salina a una temperatura de 30°C durante 48 horas.

Se prepararon concentraciones de cada uno de los extractos (hexánico, clorofórmico y metanólico), correspondientes a 10, 100 y 1000 µg/ml. Cada concentración se prepara por triplicado.

Se pesaron 20 mg de la muestra, los cuales se disolvieron en 2 ml de un disolvente adecuado según corresponda al extracto, de esta solución se transfirieron 5, 50 y 500 µl a sus respectivos viales. Se evaporó el disolvente completamente.

Se adicionó a cada vial 3 ml de solución salina y se transfirieron 10 larvas de *A. salina* a cada vial (30 individuos por dilución). Se ajustó el volumen de cada vial a 5 ml con solución salina.

La lectura del número de sobrevivientes se realizó después de 24 horas. Se determinaron los valores de la concentración letal media (CL₅₀) con ayuda del programa Finney. (Novelo, 1994).

2.3 Determinación de la Actividad Antimicrobiana por el Método de Mitscher

Los microorganismos a usar serán los siguientes: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium smegmatis*, *Candida albicans*, *Pseudomona aeruginosa*, los cuales fueron obtenidos en el Departamento de Microbiología del Hospital Juárez del ISSSTE, Magdalena de las Salinas, donde se llevaron a cabo las pruebas bioquímicas para su identificación.

Día 1

A. Cultivo de *Mycobacterium smegmatis*.

Con un asa estéril se transfieren una o dos asadas del microorganismo de un tubo, inclinado a un erlenmeyer cerrado que contenga 10 ml de caldo tripticasa soya estéril. Este envase se marca y se incuba a 37°C por 48 hr.

Día 2

B. Preparación de muestras para el ensayo.

Se pesa con precisión 20 ml de extracto y se disuelve en 0.2 ml de DMSO.

Una porción de esta solución 100 µl se pipetea a un tubo con agar. Esto debe realizarse asépticamente. Después que los platos se han preparado se dejan a temperatura ambiente o refrigerados si es necesario.

B. Preparación stock de sulfato de estreptomina.

Se pesan 100 mg de sulfato de estreptomina utilizando una balanza analítica y se disuelve en 10 ml de agua destilada estéril.

Se añaden 0.1 ml a un plato petri marcado. Una porción de la misma solución stock (200 μ l) se pipetea bajo condiciones estériles en un vial que contiene 200 μ l de agua destilada estéril (la concentración resultante es de 500 μ g / ml). Después de mezclar, se transfiere 200 μ l de esta solución al próximo vial que contiene 200 μ l de agua destilada estéril (después de mezclar, la concentración debe ser de 250 μ g / ml). La dilución en serie se continúa hasta lograr una concentración de 15.625 μ g / ml. Luego, de cada vial, se pipetea individualmente 100 μ l a cada plato petri previamente marcado. Estos platos contendrán 500; 250; 125; 62.5; 31.25; 15.6; μ g de patrón, respectivamente. Las soluciones que se añaden a los platos petri se diluyen con 10 ml de agar.

C. Preparación de los medios.

- 1.- Agar soya tripticasa.
- 2.- Caldo tripticasa soya.
- 3.- Solución salina al 0.9 %.

D. Preparación de las suspensiones del resto de los microorganismos.

Se inoculan 10 ml de Caldo tripticasa soya con una o dos asadas de los microorganismos: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* y *Pseudomona aeruginosa*. Son incubados a 37 °C por 24 hr.

E. Preparación de los platos.

Después de que se esterilizan los tubos con agar se deja enfriar aproximadamente a 55 °C añadiendo el extracto, homogeneizar y colocar en el plato

petri. Cuando el agar se solidifica , los platos se voltean y se mantienen a temperatura ambiente toda la noche.

Día 3

A. Preparación de las suspensiones de los microorganismos.

Todos los frascos erlenmeyer que contienen los microorganismos para el ensayo deben estar visiblemente turbios. Con el fin de conseguir aproximadamente la misma velocidad de crecimiento de cada uno de los microorganismos, algunas de estas suspensiones deben ser diluidas con solución salina estéril.

- | | |
|------------------------------------|--------------------------------------|
| 1.- <i>Staphylococcus aureus</i> | 100 μ l susp. /10 ml sol. salina |
| 2.- <i>Escherichia coli</i> | 100 μ l susp. /10 ml sol. salina |
| 3.- <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 100 μ l susp. /10 ml sol. salina |
| 4.- <i>Mycobacterium smegmatis</i> | sin diluir |
| 5.- <i>Candida albicans</i> | 1 ml susp. /10 ml sol. salina |
| 6.- <i>Pseudomona aeruginosa</i> | 1 μ l susp. /10 ml sol. salina |

B. Rayado de los microorganismos

Los platos petri que se han preparado el día 2, no deben de tener contaminación visible. La superficie de cada plato se marca con una línea que representan al microorganismo número 1, que posteriormente sera rayado. Con un asa de Henle estéril entre una aplicación y otra, se toma una asada de cada microorganismo en su turno. El asa con el microorganismo es rayado en un patrón radial de cada plato petri.

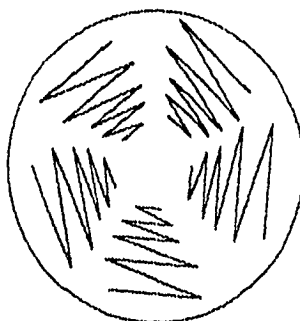


Figura No. 13 Patrón radial de sembrado de microorganismos

Se incuban los platos a 37 °C por 48 hr .

Se prepara un plato con DMSO será el control negativo y la series de sulfato de estreptomcina serán las de control positivo.

Día 4.5

Los platos se sacan de la incubadora y se examinan. Hay actividad antibiótica cuando no hay crecimiento visible en los platos rayados. La presencia de pocas colonias en una raya es señal de resistencia. La presencia de pocas colonias aisladas en el plato, lejos de las líneas rayadas, es señal de contaminación y se puede generalmente ignorar. (Mitscher *et al.*, 1971; Ríos *et al.*, 1988)

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

2.4 Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima

Día 1

Tomar una asada del microorganismo *Mycobacterium smegmatis* colocarla en caldo tripticasa soya e incubar a 37°C por 48 horas.

Día 2

Tomar una asada del microorganismo a ensayar (*C. albicans*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*) Inocularlo en caldo tripticasa soya e incubar a 37° C por 24 hr

Día 3

A. Preparación del Inóculo.

Para la preparación de la concentración inhibitoria mínima se recomienda un inóculo de 5×10^5 cel / ml (Sahm y Washington, 1991; Finegold y Baron, 1989). Se preparó una suspensión con Solución Salina Isotónica con una turbides comparable a la del tubo 0.5 de McFarland (1×10^8 cel / ml, a partir de los cultivos de microorganismos, del primer y segundo día.

De esta suspensión se realizó una dilución 1:100 en caldo tripticasa soya estéril para generar un inóculo conteniendo 1×10^6 cel / ml.

B. Bloensayo Cuantitativo

Se preparó una solución stock del extracto a una concentración de 1000 µg/ml 10 µl de la suspensión del microorganismo conteniendo 1×10^6 cel / ml se adicionó a una serie de tubos los cuales contienen 3 ml de caldo tripticasa soya y diferentes concentraciones del extracto de prueba (10, 50, 75, 100, 200, 400, 500, 600, 800, 1000 µg /ml). Aforar a 4 ml con caldo tripticasa soya, se preparó un blanco para cada concentración del extracto el cual se preparó de la misma manera que los demás tubos, pero sin el inóculo.

Un tubo (tubo cero o control) que contiene unicamente el inóculo, de éste, se realizo una dilución 1:1000, 1 ml de esta se sembró en un plato petri con agar tripticasa soya, por vertido. Los tubos y los platos petri se incubaron a 37° C por 24 hr.

Después del período de incubación se observa visualmente la turbidez de cada tubo.

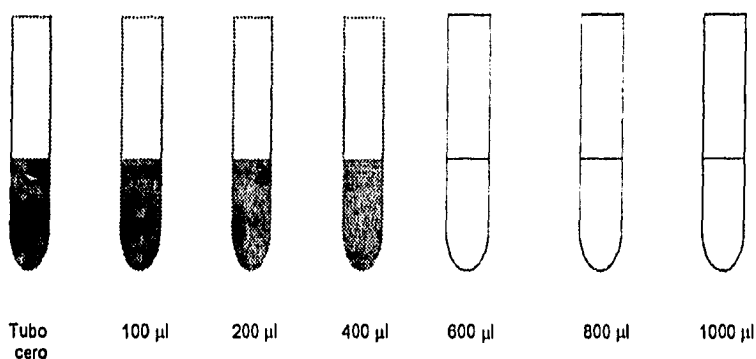


Figura No. 14 La Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria para la prueba ilustrada es de 600µg/ml

De los tubos, en los cuales no hay crecimiento, tomar 0.1 ml y colocarlo en un plato petri con 10 ml de agar tripticasa soya e incubar a 37° C por 24 hr determinando si hay crecimiento (bacteriostático) o no (bactericida). (Barrientos *et al.*, 1994)

2.5 Determinación de la Actividad Alelopática

Para determinar la actividad alelopática se utilizó el método reportado por Anaya (1991)

Procedimiento :

Preparar platos petri con papel filtro cada uno. Son series de cuatro cajas por cada concentración y por cada control .

Preparar soluciones de los extractos a probar (El extracto debe de ser reconstituido con el disolvente) para obtener concentraciones de 100 y 1000 ppm en la evaluación preliminar. Si se obtienen resultados significativos será necesario evaluar los extractos con las siguientes concentraciones 100, 200, 400, 800 y 1000 ppm

Colocar en cada uno de los platos petri 1 ml de la solución, esperar que se evapore el disolvente y completamente seco el papel filtro, añadir 2 ml de agua.

Preparar dos controles uno de agua y otro de disolvente, agregando 2 ml de agua y 2 ml de disolvente respectivamente. Esperar que se evapore el disolvente y agregar 2 ml de agua.

Agregar a todas las cajas 10 semillas de Amaranto *Amarantus hypochondriacus*, acomodarios en forma circular y equidistante.

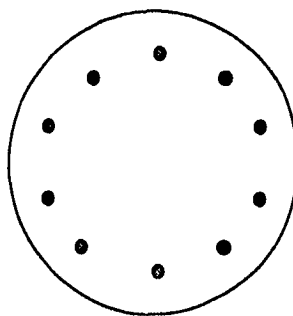


Figura No. 15 Forma de acomodo de las semillas de *Amarantus hypochondriacus*

Tapar y sellar las cajas.

Incubar a 35 °C por 24 hr., transcurido este tiempo se mide el crecimiento radicular, se determina la concentración inhibitoria media (CI_{50}) y los resultados son analizados con la ayuda del programa ANOVA determinando la existencia de la actividad alelopática.

3. RESULTADOS

3.1 Resultados de la cantidad de extracto (Metanólico, Clorofórmico y Hexánico) obtenido, después de las extracciones.

Tabla No. 5

PLANTA	EXTRACTO METANOLICO g	EXTRACTO CLOROFORMICO g	EXTRACTO HEXANICO g
<i>Anoda cristata</i>	8.0602	1.7431	3.1023
<i>Borago officinalis</i>	5.5707	1.5995	1.215
<i>Bougainvillea glabra</i>	5.6546	1.1102	0.7757
<i>Citrus aurantium</i>	8.0323	1.6296	2.3803
<i>Gnaphallium sp</i>	3.9822	2.049	4.1581
<i>Lippia dulcis</i>	7.3531	1.7641	1.4071
<i>Mangifera indica</i>	12.692	2.2684	7.0747
<i>Marrubium vulgare</i>	4.5907	5.5018	2.8235
<i>Pinus teocote</i>	13.6565	2.2935	2.451
<i>Sambucus mexicana</i>	7.5857	3.0903	8.5734
<i>Tagetes erecta</i>	9.0002	2.7341	7.5253
<i>Usnea barbata</i>	4.48	2.2229	3.0906
<i>Verbesina crocata</i>	6.2928	2.5456	6.9568

3.2 Resultados de la toxicidad contra *Artemia salina* Leach de los extractos estudiados. Tabla No. 6

Planta	Extracto	CL ₅₀ (µg/ml) *
<i>Anoda cristata</i>	Metanol	5.62
	Cloroformo	216.87
	Hexano	92.17
<i>Borago officinalis</i>	Metanol	0.428
	Cloroformo	>1000
	Hexano	291.15
<i>Bougainvillea glabra</i>	Metanol	582.73
	Cloroformo	>1000
	Hexano	186.39
<i>Citrus aurantium</i>	Metanol	84.74
	Cloroformo	0.0641
	Hexano	49.57
<i>Gnaphalium sp</i>	Metanol	176.10
	Cloroformo	0.0016
	Hexano	1.727
<i>Lippia dulcis</i>	Metanol	>1000
	Cloroformo	564.45
	Hexano	271.46
<i>Mangifera indica</i>	Metanol	55.61
	Cloroformo	>1000
	Hexano	>1000

3.2 Resultados de la toxicidad contra *Artemia salina* Leach de los extractos estudiados.

Tabla No. 6 (Continuación)

Planta	Extracto	CL ₅₀ (µg/ml) *
<i>Marrubium vulgare</i>	Metanol	0.3474
	Cloroformo	14.33
	Hexano	11.46
<i>Pinus teocote</i>	Metanol	48.96
	Cloroformo	>1000
	Hexano	>1000
<i>Sambucus mexicana</i>	Metanol	1.69
	Cloroformo	>1000
	Hexano	>1000
<i>Tagetes erecta</i>	Metanol	671.21
	Cloroformo	>1000
	Hexano	3.25
<i>Usnea barbata</i>	Metanol	>1000
	Cloroformo	>1000
	Hexano	0.9759
<i>Verbesina crocata</i>	Metanol	>1000
	Cloroformo	>1000
	Hexano	>1000

* CL₅₀(µg/ml) = Concentración letal media

3.3 Resultados de la actividad antimicrobiana.

Tabla No. 7

Planta	Extracto	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
<i>Anoda cristata</i>	Metanólico	-	-	-	-	-	+++
	Clorofórmico	-	-	-	-	-	-
	Hexánico	-	-	-	-	-	+++
<i>Borago officinalis</i>	Metanólico	++	-	-	-	-	+++
	Clorofórmico	-	-	-	-	-	-
	Hexánico	-	-	-	-	-	-
<i>Bougainvillea glabra</i>	Metanólico	+	+	+	+	+	-
	Clorofórmico	-	-	-	-	-	++
	Hexánico	-	-	-	++	-	-
<i>Citrus aurantium</i>	Metanólico	-	-	-	-	-	+++
	Clorofórmico	-	-	-	-	-	+++
	Hexánico	-	-	-	-	-	++
<i>Gnaphallium sp</i>	Metanólico	+++	++	-	++	-	+++
	Clorofórmico	++	-	-	++	-	+++
	Hexánico	-	-	-	-	-	+++
<i>Lippia dulcis</i>	Metanólico	++	-	-	-	-	+++
	Clorofórmico	-	-	-	-	-	+++
	Hexánico	+++	-	-	-	-	+++
<i>Mangifera indica</i>	Metanólico	+++	-	-	+++ a B	++	-
	Clorofórmico	-	-	-	-	-	++
	Hexánico	+++	-	-	-	-	+++
<i>Marrubium vulgare</i>	Metanólico	-	-	-	-	-	+++
	Clorofórmico	-	-	-	++	-	-
	Hexánico	-	-	-	++	-	+++
<i>Pinus teocote</i>	Metanólico	++	-	-	++	-	+++
	Clorofórmico	-	-	-	-	-	+++
	Hexánico	-	-	-	-	-	+++

3.3 Resultados de la actividad antimicrobiana. (Continuación)

Tabla No. 7 (Continuación)

Planta	Extracto	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
<i>Sambucus mexicana</i>	Metanólico	-	-	-	-	-	+++
	Clorofórmico	-	-	-	-	-	++
	Hexánico	-	-	-	-	-	++
<i>Tagetes erecta</i>	Metanólico	+++	++	++	+++ b B	++	++
	Clorofórmico	-	-	-	-	-	-
	Hexánico	-	-	-	-	-	++
<i>Usnea barbata</i>	Metanólico	++	-	-	++	-	+++
	Clorofórmico	-	-	-	-	-	++
	Hexánico	-	-	-	-	-	++
<i>Verbesina crocata</i>	Metanólico	-	-	-	-	-	+++
	Clorofórmico	-	-	-	++	-	-
	Hexánico	-	-	-	-	-	++

Crecimiento
 + Poca inhibición
 ++ Inhibición intermedia
 +++ Inhibición total

Concentración Mínima Inhibitoria
 a 800 µg/ml
 b 1000 µg/ml

B Bacteriostático

3.3.1 Resultados de la serie de Sulfato de Estreptomicina.

Control Positivo

Tabla No. 8

Concentraciones de Sulfato de Estreptomicina $\mu\text{g/ml}$	Extracto	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
1000	Metanólico Clorofórmico Hexánico	+++	+++	+++	++	+	+++
500	Metanólico Clorofórmico Hexánico	+++	++	+++	++	+	+++
250	Metanólico Clorofórmico Hexánico	++	+	++	+	+	+++
125	Metanólico Clorofórmico Hexánico	++	+	+	+	+	+++
62.5	Metanólico Clorofórmico Hexánico	+	+	+	+	+	+++
31.25	Metanólico Clorofórmico Hexánico	++	+	+	+	+	+++

**3.3.1 Resultados de la serie de Sulfato de Estreptomicina.
Control Positivo. (Continuación)**

Tabla No. 8 (Continuación)

Concentraciones de Sulfato de Estreptomicina $\mu\text{g/ml}$	Extracto	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
15.6	Metanólico Clorofórmico Hexánico	+	+	+	+	+	+

Crecimiento

- + Poca inhibición
- ++ Inhibición intermedia
- +++ Inhibición total

3.4 Resultados de la actividad alelopática de los extractos estudiados.
Tabla No. 9

Planta	Extracto	ppm	%C	%I
Anoda cristata	Metanol	100	100.00
		1000	45.16	54.83
	Cloroforno	100	62.16	17.63
		1000	54.05	45.94
	Hexano	100	100.00
		1000	58.44	43.55
Borago officinalis	Metanol	100	79.80	20.19
		1000	41.34	58.65
	Cloroforno	100	97.66	2.33
		1000	42.99	57.00
	Hexano	100	83.03	16.96
		1000	62.5	37.5
Bougainvillea glabra	Metanol	100	73.68	26.31
		1000	32.45	67.54
	Cloroforno	100	89.18	10.81
		1000	74.59	25.40
	Hexano	100	95.45	4.54
		1000	68.06	31.93
Citrus aurantium	Metanol	100	56.03	45.13
		1000	43.96	54.86
	Cloroforno	100	74.23	25.76
		1000	29.28	70.71
	Hexano	100	100.00
		1000	62.77	37.22
Gnaphallium sp	Metanol	100	100.00
		1000	74.09	25.80
	Cloroforno	100	84.38	15.61
		1000	60.44	39.55
	Hexano	100	100.00
		1000	100.00
Lippia dulcis	Metanol	100	100.00
		1000	80.64	19.35
	Cloroforno	100	91.14	8.85
		1000	39.59	60.40
	Hexano	100	100.00
		1000	10.04	89.95

3.4 Resultados de la actividad alelopática de los extractos estudiados.
Tabla No. 9 (Continuación)

Planta	Extracto	ppm	%C	%I
<i>Mangifera indica</i>	Melanol	100	52.91	47.08
		1000	15.56	64.43
	Cloroformo	100	41.08	18.91
		1000	48.10	51.89
	Hexano	100	100.00	-----
		1000	100.00	-----
<i>Marrubium vulgare</i>	Melanol	100	100.00	-----
		1000	52.88	47.11
	Cloroformo	100	100.00	-----
		1000	60.89	39.10
	Hexano	100	94.19	65.17
		1000	5.80	34.82
<i>Pinus teocote</i>	Melanol	100	82.49	17.50
		1000	51.38	48.63
	Cloroformo	100	94.39	5.80
		1000	70.09	29.90
	Hexano	100	63.61	38.38
		1000	43.77	56.22
<i>Sambucus mexicana</i>	Melanol	100	69.29	30.70
		1000	62.28	37.71
	Cloroformo	100	40.85	59.34
		1000	83.84	16.35
	Hexano	100	-----	-----
		1000	92.41	7.58
<i>Tagetes erecta</i>	Melanol	100	68.42	31.57
		1000	66.66	33.33
	Cloroformo	100	92.28	7.71
		1000	80.56	19.43
	Hexano	100	100.00	-----
		1000	84.82	15.17
<i>Usnea barbata</i>	Melanol	100	90.38	9.61
		1000	46.15	53.84
	Cloroformo	100	82.24	17.75
		1000	37.85	62.14
	Hexano	100	91.10	8.89
		1000	19.84	80.15

**3.4 Resultados de la actividad alelopática de los extractos estudiados.
(Continuación)**

Tabla No. 9 (Continuación)

Planta	Extracto	ppm	%C	%I
<i>Verbesina crocata</i>	Metanol	100	58.08	41.93
		1000	18.27	81.72
	Cloroformo	100	76.35	23.64
		1000	29.97	70.02
	Hexano	100	96.28	3.71
		1000	71.38	28.61

ppm = Partes por millón

%C = Por ciento de Crecimiento

%I = Por ciento de Inhibición

3.4.1 Resultados de la actividad alelopática de los extractos que resultaron activos.

Tabla No. 10

Nombre	Extracto	ppm	%C	%I	Cl ₅₀ (µg/ml)
<i>Citrus aurantium</i>	Metanol	100	50.49	49.50	50.4351 *
		200	37.62	62.37	
		400	51.48	48.51	
		800	55.44	44.51	
		1000	28.71	71.28	
	Cloroformo	100	67.46	32.53	704.9654 *
		200	72.22	27.77	
		400	65.87	34.12	
		800	59.52	40.47	
		1000	27.77	72.22	
<i>Lippia dulcis</i>	Cloroformo	100	100.00	—	411.9009 *
		200	50.98	49.01	
		400	50.98	49.01	
		800	37.25	62.74	
		1000	23.52	76.47	
<i>Mangifera indica</i>	Metanol	100	82.17	17.82	474.6827 *
		200	39.60	60.39	
		400	73.26	26.73	
		800	43.56	56.43	
		1000	30.69	69.30	
	Cloroformo	100	—	100.00	334.7230 *
		200	67.64	32.35	
		400	36.27	63.72	
		800	28.43	71.56	
		1000	24.50	75.49	

3.4.1 Resultados de la actividad alelopática de los extractos que resultaron activos.

Tabla No. 10 (Continuación)

Nombre	Extracto	ppm	%C	%I	CI ₅₀ (µg/ml)
<i>Usnea barbata</i>	Hexano	100	80.18	19.8	320.4667 *
		200	89.18	10.81	
		400	54.05	45.94	
		800	4.50	95.49	
		1000	—	100.00	
<i>Verbesina crocata</i>	Metanol	100	42.57	57.42	128.6091 *
		200	53.46	46.53	
		400	47.52	52.47	
		800	28.71	71.28	
		1000	19.80	80.19	
	Cloroformo	100	90.19	9.80	429.9375 *
		200	83.33	16.66	
		400	42.15	57.84	
		800	22.54	77.45	
		1000	31.37	68.62	

ppm = Partes por millón
 %C = Porcentaje de crecimiento
 * P < 0.05, ANOVA

%I = Porcentaje de Inhibición
 CI₅₀(µg/ml) = Concentración Inhibitoria media

4. DISCUSION DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES

La finalidad de la presente investigación y el objetivo de la tesis es el estudio de algunas plantas medicinales utilizadas en la comunidad de Amojileca, Guerrero.

Anteriormente se realizó un estudio bibliográfico exhaustivo de las plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de los padecimientos respiratorios en la comunidad de Amojileca, Guerrero. La Medicina Tradicional, requiere de estudio e investigación para conocer nuestra propia cultura en el campo de la Botánica. Basandose en el estudio bibliográfico se seleccionaron trece plantas, las cuales se evaluaron, realizandose estudios de toxicidad contra el crustáceo *Artemia salina* Leach, actividad antimicrobiana y alelopática. Los resultados más significativos se enumeran a continuación.

Los tres extractos probados de la *Anoda cristata* presentan toxicidad contra el crustáceo *Artemia salina*, siendo el metanólico el que presenta una mayor efectividad y a partir del cual sería necesario realizar un estudio fitoquímico biodirigido para la elucidación estructural del principio activo. El espectro de actividad antibacteriana es pequeño, ya que el extracto hexánico y el metanólico sólo inhibe el crecimiento del *Mycobacterium smegmatis*, a pesar de que se reporta (Torres, 1993) que la infusión se utiliza contra la tosferina, las afecciones pulmonares y como emoliente. Los tres extractos probados de *Anoda cristata* no presentan actividad alelopática.

Los extractos metanólico y clorofórmico de *Borago officinalis* muestran toxicidad contra *Artemia salina*, siendo el metanólico el de mayor efectividad con una CL_{50} de 0.428 $\mu\text{g/ml}$, a partir de este, se podría continuar la purificación del extracto, para obtener el principio activo. El extracto metanólico de esta planta muestra una ligera actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* y *Mycobacterium smegmatis*, se ha reportado actividad contra *Streptococcus pyogenes* causante de enfermedades respiratorias y la inhibición de β - lactamasa de la *Yersinia enterocolitica* (Cáceres *et al.*,1991a; Cáceres *et al.*,1991b) sin embargo la *Borago officinalis*, es reportada (Torres, 1993) como antitusígena, diurética, anticatarral, emoliente, laxante, contra la

bronquitis y la fiebre. Los extractos de *Borago officinalis* no presentan actividad alelopática.

Los extractos de las flores de *Bougainvillea glabra*, metanólico y hexánico presentaron actividad contra *Artemia salina*, siendo el de mayor efectividad el extracto hexánico, con una CL_{50} de 188.39 $\mu\text{g/ml}$, sería conveniente el estudio de este extracto a través de un ensayo biodirigido. El extracto metanólico inhibió el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* y *Pseudomonas aeruginosa*. El extracto clorofómico inhibió en forma intermedia al *Mycobacterium smegmatis* y el extracto hexánico inhibió el crecimiento de *C. albicans*.

Se ha reportado (Torres, 1993) a la planta como antitusígena y contra las manifestaciones de afecciones respiratorias. Esta planta no presenta actividad alelopática.

La toxicidad contra *Artemia salina*, que presentan los extractos: metanólico, clorofómico y hexánico de *Citrus aurantium*, demuestran que son muy activos, mostrando una CL_{50} de 84.74, 0.0641 y 49.57 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente, estos resultados motivan a continuar con un estudio fitoquímico biodirigido, para elucidar el principio activo. A partir del estudio del fruto de *C. aurantium*, se ha reportado (Cáceres et al., 1991b) actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*. Sin embargo en la presente investigación se trabajó con las hojas demostrando la actividad de los tres extractos contra *Mycobacterium smegmatis*. El extracto metanólico de *C. aurantium* muestra una actividad alelopática significativa, y una CI_{50} de 50.4851 $\mu\text{g/ml}$. El extracto clorofómico también presenta actividad alelopática significativa con una CI_{50} de 704.9654 $\mu\text{g/ml}$.

Los resultados obtenidos de la toxicidad contra *Artemia salina* de la planta *Gnaphalium sp* son bastante satisfactorios, sobre todo el extracto clorofómico que presenta una CL_{50} de 0.0018 $\mu\text{g/ml}$, estos resultados provocan la continuación de un estudio fitoquímico biodirigido de estos extractos, para la obtención del principio activo. El extracto metanólico inhibió el crecimiento de *S. aureus*, *C. albicans* y *M. smegmatis*. A parte de los resultados obtenidos en esta investigación, se ha reportado (Cáceres et al., 1991a; Cáceres et al., 1991b; Cáceres et al., 1990) la actividad antimicrobiana contra

bacterias enteropatógenas como: *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri* y contra bacterias grampositivas como: *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus pneumoniae*. Todos estos resultados validan el uso popular como un antimicrobiano contra enfermedades gastrointestinales así como respiratorias. La planta *Gnaphallium sp* no presenta actividad alelopática.

Los extractos clorofórmico y hexánico de la planta *Lippia dulcis* muestran toxicidad contra *Artemia salina*. Mostrando una CL_{50} de 564.45 y 271.48 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente, debido a estos resultados satisfactorios sería conveniente continuar con el estudio de esta planta y obtener el principio activo. La actividad antimicrobiana de esta planta muestra que el extracto metanólico, clorofórmico y hexánico son activos contra *M. smegmatis*, el extracto metanólico además presenta una actividad intermedia contra *Staphylococcus aureus* y el extracto hexánico también inhibe a este último microorganismo. se ha reportado (Cáceres *et. al.*, 1991a; Cáceres *et. al.*, 1991b; Cáceres *et. al.*, 1993) actividades antimicrobianas a partir del extracto acetónico y etanólico contra bacterias enteropatógenas como: *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, obteniendo un MICD de 10 mg. También ha partir del extracto etanólico y cetónico se ha probado la actividad antimicrobiana contra bacterias grampositivas, inhibiendo el desarrollo de *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus pneumoniae* con un MICD de 5 mg para la primera y de 10 mg para las otras dos restantes. Por medio de esta investigación se valida el uso que se le da a la planta desde infecciones respiratorias, hasta gastrointestinales. El extracto clorofórmico de *Lippia dulcis* presenta actividad alelopática significativa con una CI_{50} de 411.9009 $\mu\text{g/ml}$

De la planta *Mangifera indica*, el único extracto que presenta toxicidad contra *Artemia salina* es el metanólico presentando una CL_{50} de 55.61 $\mu\text{g/ml}$, por esta razón es necesario continuar un estudio fitoquímico biodirigido de este extracto para determinar el principio activo. Con respecto a la actividad antimicrobiana el extracto metanólico presenta actividad intermedia contra *Pseudomona aeruginosa*, inhibiendo el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y de *Candida albicans*, este último microorganismo presenta una Concentración Mínima Inhibitoria de 800 $\mu\text{g/ml}$, y se demostró que es bacteriostático. El extracto hexánico muestra una inhibición de los siguientes microorganismos: *S. aureus* y *Mycobacterium smegmatis*. El extracto

clorofórmico presenta una actividad antibacteriana intermedia contra *M. smegmatis*. Cáceres ha reportado que los extractos etanólicos de la corteza, flor y hojas de *Mangifera indica* inhiben el crecimiento de bacterias como: *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Streptococcus pneumoniae* y *Shigella flexneri*; se ha reportado (Zhongyi *et. al.*, 1982) que el extracto metanólico de las hojas de *Mangifera indica* contiene quercetina y ácido gálico, los cuales presentan actividad contra el virus de la influenza.

El extracto metanólico de *M. indica* muestra una actividad alelopática significativa, y una CI_{50} de 474.6827 $\mu\text{g/ml}$. El extracto clorofórmico también presenta actividad alelopática significativa con una CI_{50} de 334.7230 $\mu\text{g/ml}$

Los extractos metanólico, clorofórmico y hexánico de la planta *Marrubium vulgare* presentan resultados satisfactorios en el bioensayo de la toxicidad contra *Artemia salina*, obteniéndose las siguientes CL_{50} 0.3474, 14.33 y 11.48 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente. Estos resultados presentan una base para continuar con el estudio de esta planta y de esta manera determinar el principio activo de los extractos. La actividad antimicrobiana de *Marrubium vulgare* se presenta en el extracto metanólico, contra *Mycobacterium smegmatis*, el extracto clorofórmico presenta una actividad intermedia contra *Candida albicans* y en el extracto hexánico, existe una actividad inhibitoria contra el *M. smegmatis* e intermedia contra *C. albicans*. Los resultados no muestran una actividad antibacteriana contra los microorganismos probados pero a pesar de esto la planta de *M. vulgare* ha sido reportado (Torres, 1993) en el uso para la tos, como anticatarral, antipirético y otros, Esta planta no muestra actividad alelopática.

El extracto metanólico de *Pinus teocote* es el único que presenta toxicidad contra *Artemia salina* con una CL_{50} de 48.96 $\mu\text{g/ml}$. Se puede continuar con el estudio de este extracto a través de un estudio fitoquímico bidirigido, para obtener el principio activo. Con respecto a la actividad antimicrobiana, también el extracto metanólico de *Pinus teocote* es el único de los tres extractos probados de la planta que presenta es el único de los tres extractos probados de la planta ya que provoca una inhibición intermedia contra *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, y una inhibición total contra el *Mycobacterium smegmatis*. Los extractos clorofórmico y hexánico también

son activos contra *M. smegmatis*. Ninguno de los tres extractos de *Pinus teocote* presenta actividad alelopática.

La planta de *Sambucus mexicana* presenta una toxicidad contra *Artemia salina* de 1.69 µg/ml en el extracto metanólico. Debido a este resultado se debe de investigar el principio activo en ese extracto, a través de un estudio fitoquímico biodirigido. El extracto metanólico, inhibe el crecimiento de *M. smegmatis* y los extractos clorofórmico y hexánico, inhiben parcialmente el crecimiento. Se ha reportado (Cáceres *et. al.*,1987; Cáceres *et. al.*,1990; Cáceres *et. al.*,1992) que al utilizar el extracto etanólico y metanólico de las hojas existe una inhibición de las bacterias enteropatógenas como: *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* y *Shigella flexneri* está última con una Concentración Mínima Inhibitoria de 10 mg. El extracto etanólico se probó contra bacterias grampositivas, responsables de enfermedades respiratorias y no fué activo contra éstas. Se probó el extracto etanólico el cual tiene un espectro de susceptibilidad bajo para *Pseudomona aeruginosa*. Se utiliza la planta de *Sambucus mexicana* contra la tos con calentura, como antiinflamatorio, estimulante, aperitivo entre otros. Sin embargo en los microorganismos de prueba que se utilizaron no mostraron actividad. La planta de *Sambucus mexicana* no presenta actividad alelopática.

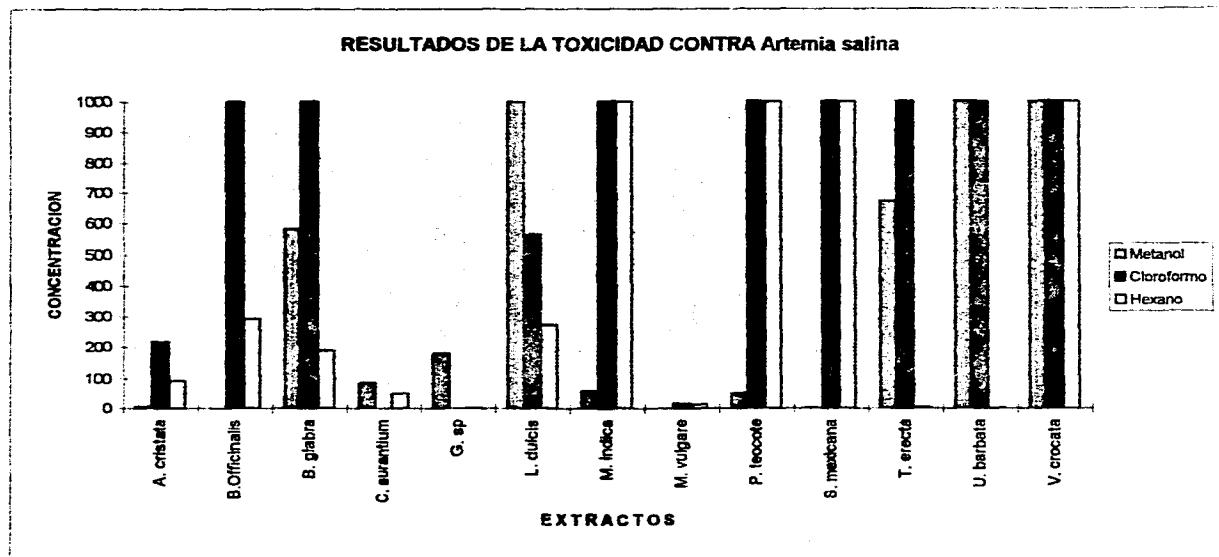
A partir de los extractos metanólico y hexánico de la planta *Tagetes erecta* se observa la toxicidad contra *Artemia salina* con valores de 671.21 y 3.25 µg/ml respectivamente. Estos resultados son satisfactorios por lo tanto se debe de llevar a cabo la purificación de los extractos y obtener el principio activo. El extracto metanólico de *Tagetes erecta* presenta una marcada actividad antimicrobiana ya que inhibe a todos los microorganismos probados en la presente investigación. El extracto metanólico de *Tagetes erecta* presenta una Concentración Mínima Inhibitoria de 1000 µg/ml contra *Candida albicans* adicionalmente se comprobó que es bacteriostático. Se ha reportado (Cáceres *et. al.*,1990; Cáceres *et. al.*,1991b) que el extracto etanólico de las hojas de *T. erecta* inhibe el crecimiento de *Salmonella enteritidis* y *Shigella dysenteriae*. El extracto etanólico de las flores inhibe el desarrollo de *Streptococcus pyogenes*. *T. erecta* presenta un amplio espectro de actividad antimicrobiana, desde bacterias grampositivas, gramnegativas, levadura y un báculo ácido resistente, por esta razón es ocupado en un sinnúmero de malesares producidos por afecciones respiratorias,

gastrointestinales y además se usa como diurético, disforético y relajante sin que se haya comprobado dicha actividad. Se ha reportado (Campbell, *et. al.*, 1982) la existencia de actividad alelopática a una concentración de 0.48 ± 0.21 ppm, inhibiendo el desarrollo de *Asclepias syriaca* L., *Chenopodium album* L., *Phleum pratense* L. y *Trifolium pratense* las dos primeras son plantas comunes y las siguientes son forrajeras, en la presente investigación se trabajo con semillas de *Amarantus hypochondriacus* y no se observo actividad alelopática en ninguno de los tres extractos de *Tagetes erecta*.

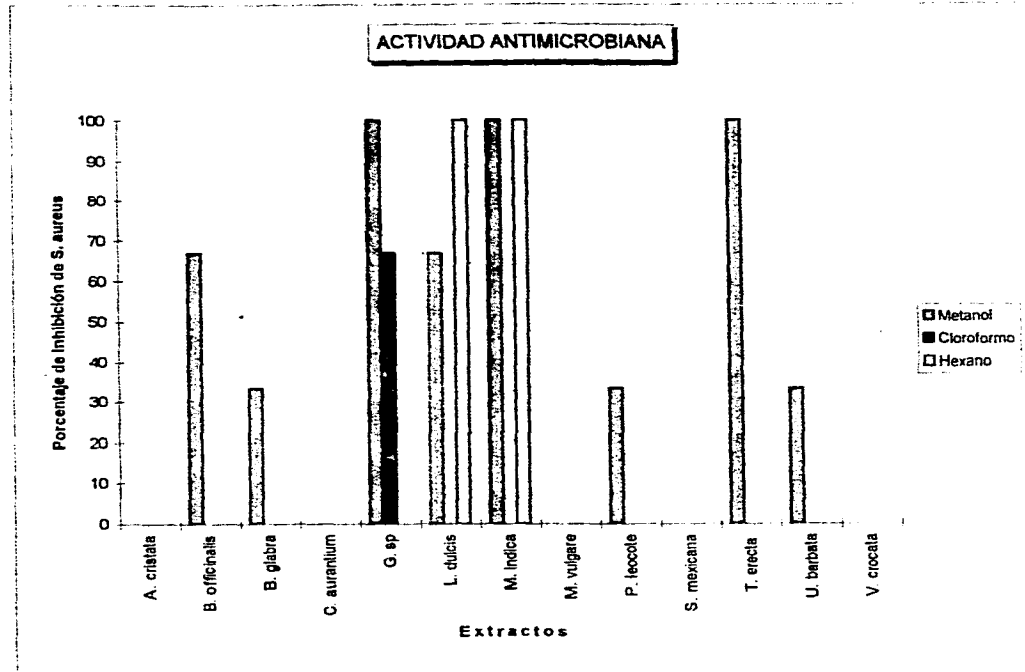
El extracto hexánico de *Usnea barbata* presenta toxicidad contra *Artemia salina* con unos valores en la CL_{50} sumamente satisfactorios de: $0.9759 \mu\text{g/ml}$ por lo tanto sería interesante continuar con el estudio de *Usnea barbata* a través de un estudio fitoquímico biológico cuyo objetivo sea el de obtener el principio activo. La actividad antimicrobiana se presentó en el extracto metanólico, inhibiendo de forma intermedia el desarrollo de *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y totalmente a *Mycobacterium smegmatis*. Se ha reportado (Torres, 1993) que el ácido úsnico, el cual se encuentra en la *Usnea barbata*, inhibe el desarrollo de *Mycobacterium phlei*, y de *Staphylococcus aureus*, su sal sódica inhibe el desarrollo del *Mycobacterium avium*. El extracto hexánico de *Usnea barbata* muestra una actividad alelopática significativa, y una CI_{50} de $320.4667 \mu\text{g/ml}$

Ninguno de los tres extractos de la planta *Verbesina crocata* presenta toxicidad contra *Artemia salina*. La actividad antimicrobiana se encuentra presente en el extracto metanólico con una inhibición total de *Mycobacterium smegmatis*, en el extracto clorofórmico con una actividad intermedia contra *Candida albicans* y por último el extracto hexánico, también con actividad intermedia contra *M. smegmatis*. Esta planta requiere de una investigación más profunda en todos los aspectos. El extracto metanólico de *Verbesina crocata* muestra una actividad alelopática significativa, y una CI_{50} de $128.6091 \mu\text{g/ml}$. El extracto clorofórmico también presenta actividad alelopática significativa con una CI_{50} de $429.9375 \mu\text{g/ml}$

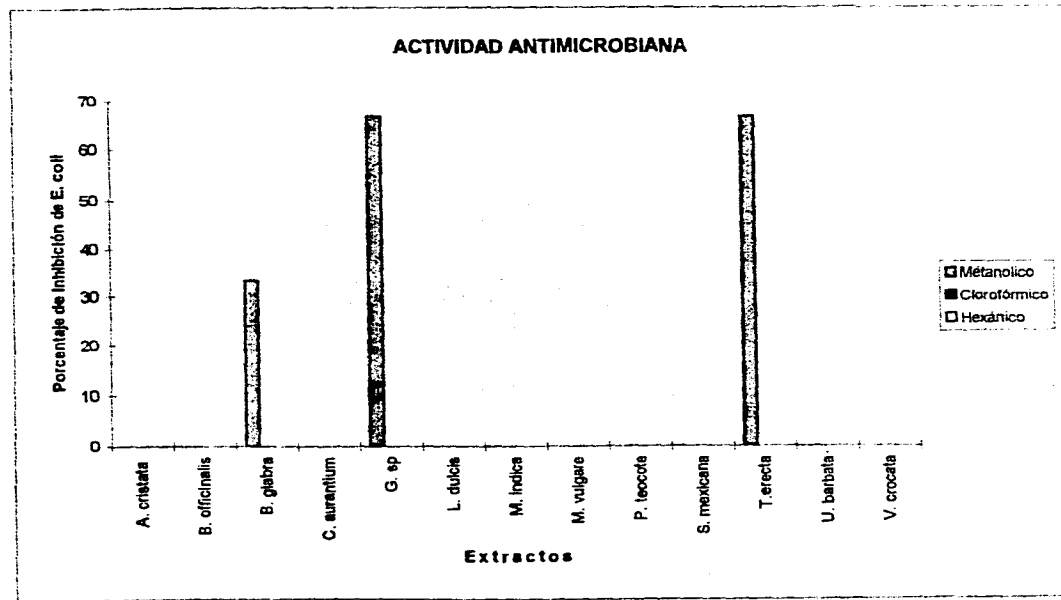
A partir de la gráfica No. 1 se puede observar que de los treinta y nueve extractos; veinticuatro de ellos presentan toxicidad contra *Artemia salina*. Este bioensayo se puede relacionar con otras actividades como: la actividad citotóxica,



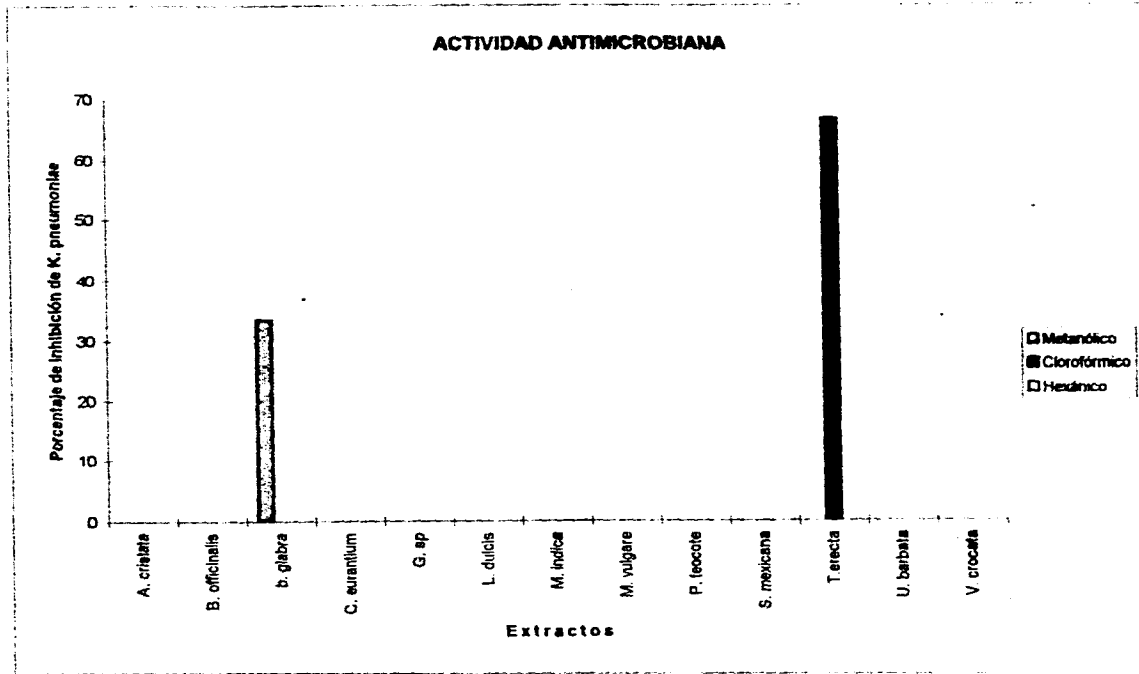
Gráfica No. 1 Resultados de la toxicidad contra Artemia salina Leach



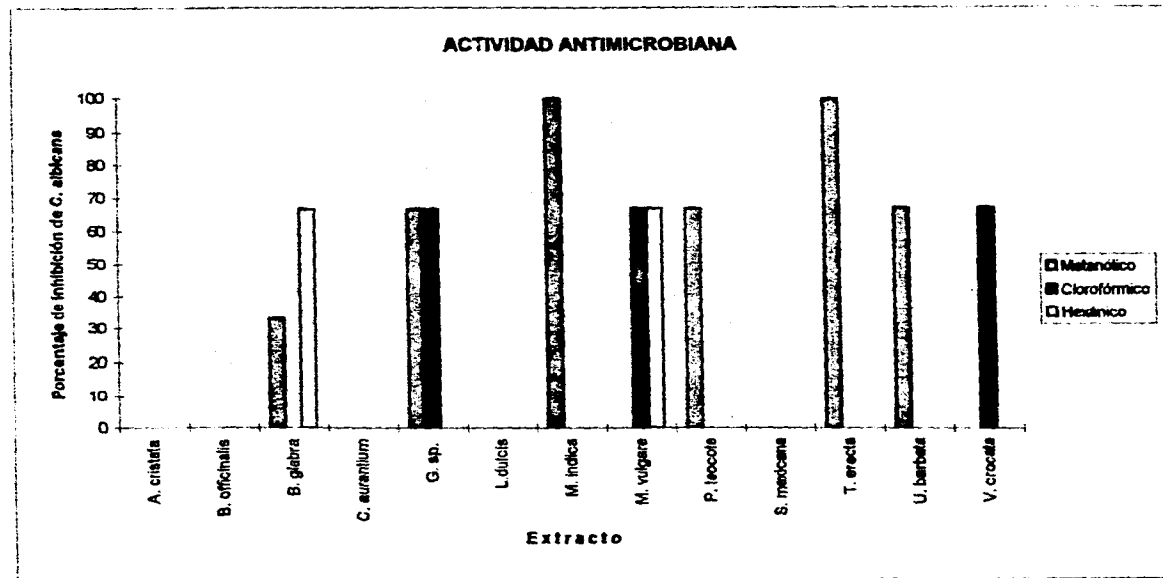
Gráfica No. 2 Resultados de la Actividad Antimicrobiana.
 Porcentaje de Inhibición del Crecimiento de Staphylococcus aureus



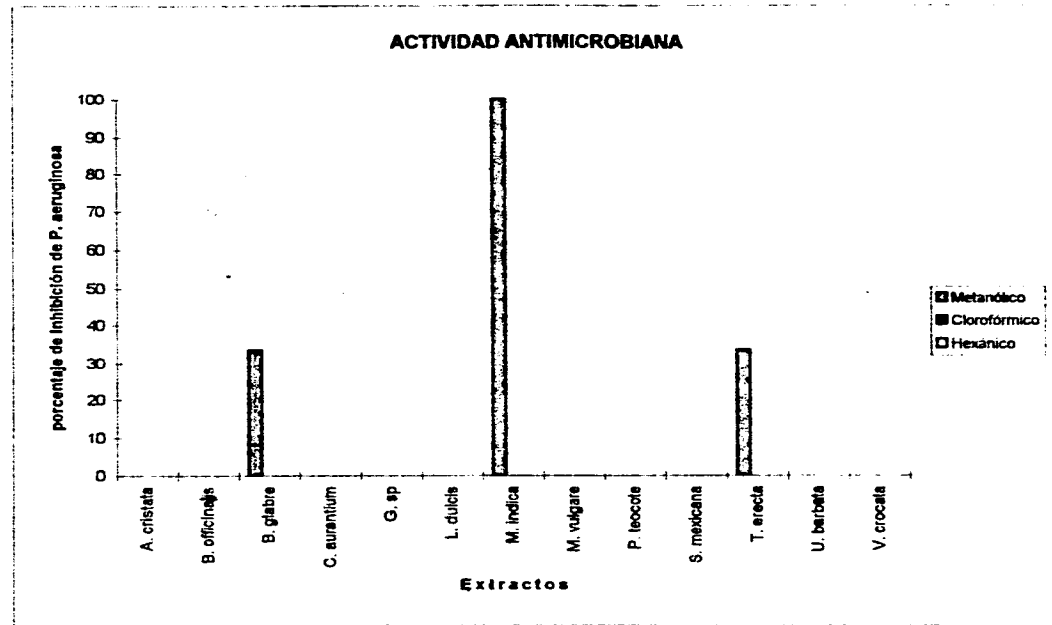
Gráfica No. 3 Resultados de la Actividad Antimicrobiana.
 Porcentaje de la Inhibición del Crecimiento de Escherichia coli



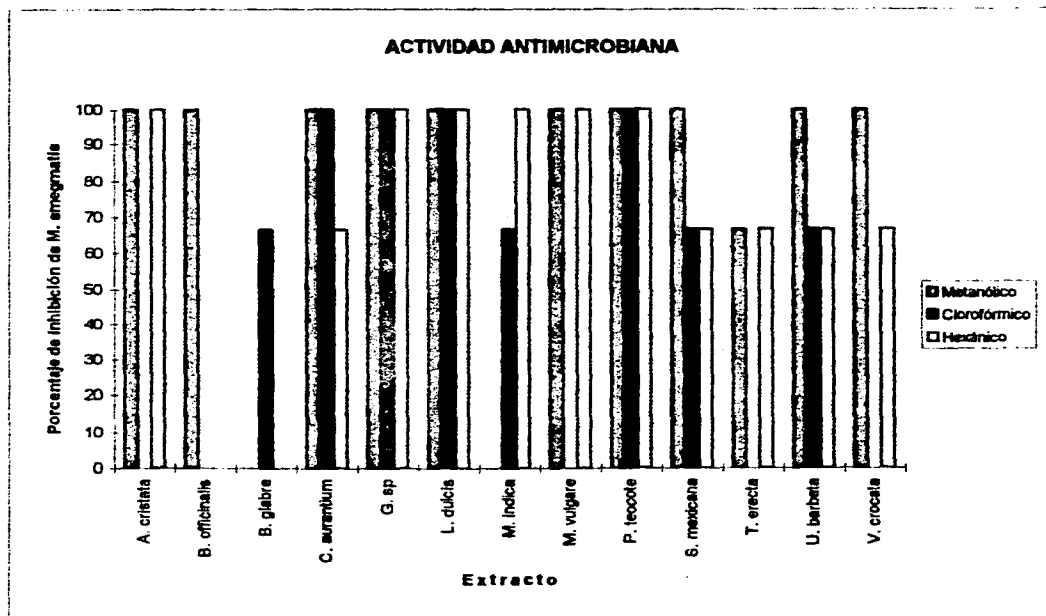
**Gráfica No. 4 Resultados de la Actividad Antimicrobiana.
Porcentaje de la Inhibición del Crecimiento de Klebsiella pneumoniae**



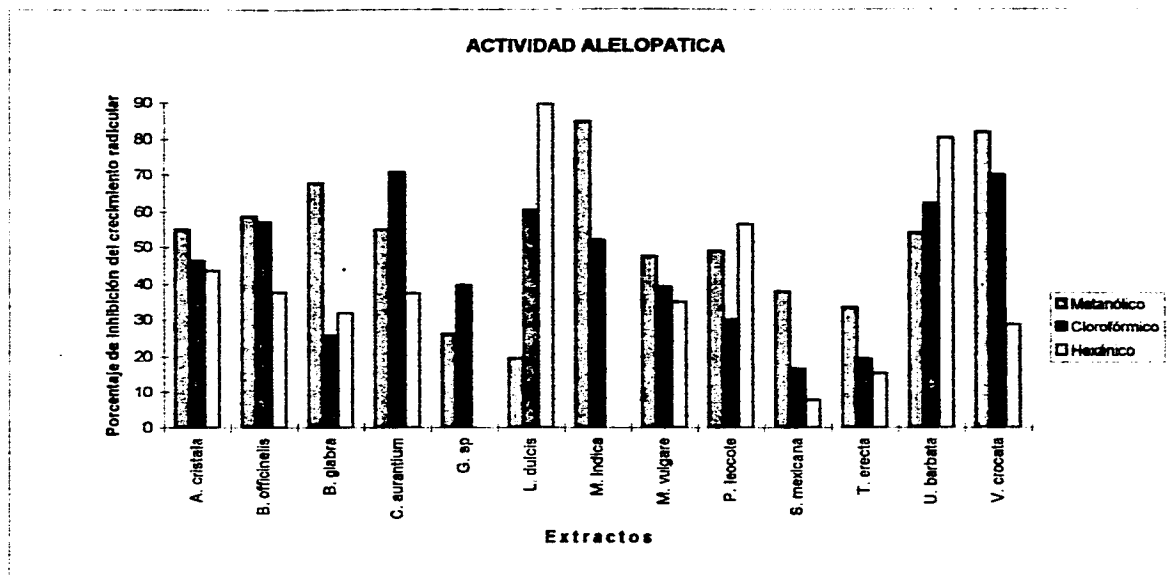
Gráfica No. 5 Resultados de la Actividad Antimicrobiana.
 Porcentaje de Inhibición del Crecimiento de *Candida albicans*.



**Gráfica No.6 Resultados de la Actividad Antimicrobiana.
Porcentaje de la Inhibición del Crecimiento de Pseudomona aeruginosa.**



Gráfica No. 7 Resultados de la Actividad Antimicrobiana.
Porcentaje de Inhibición del Crecimiento de Mycobacterium smegmatis



Gráfica No. 8 Resultados de la Actividad Alelopática.
 Porcentaje de Inhibición del Crecimiento radicular de los extractos estudiados.
 En 1000 ppm

plaguicida, antiparásitaria. Estos resultados sirven como base para la realización de otros bioensayos más específicos.

De la gráfica No. 2 a la No. 7 se muestra la inhibición del crecimiento de los diferentes extractos contra cada microorganismo de prueba, podemos observar que los extractos más activos contra *Staphylococcus aureus* fueron: el extracto metanólico de *Gnaphallium sp* y de *Mangifera Indica*; el extracto hexánico de *Lippia dulcis* y de *Mangifera indica*. Cabe mencionar que de los once extractos, que inhibieron el crecimiento de la bacteria Grampositiva utilizada, ocho son metanólicos.

Podemos observar que los extractos más activos contra *Escherichia coli* fueron: únicamente los extractos metanólicos de *Gnaphallium sp.* y *Tagetes erecta*.

Únicamente el extracto clorofórmico de *Tagetes erecta* fué activo contra *Klebsiella pneumoniae*.

Solamente el extracto metanólico de *Mangifera Indica* inhibió totalmente el crecimiento de *Pseudomona aeruginosa*.

Los extractos metanólicos de *Bougainvillea glabra*, *Tagetes erecta*, *Gnaphallium sp.* y *Mangifera Indica*; y el extracto clorofórmico de *Tagetes erecta* inhibieron a las bacterias Gramnegativas.

El microorganismo *Candida albicans* fué inhibido por once extractos, de los cuales el extracto metanólico de las especies de *Mangifera indica* y *Tagetes erecta* inhibieron totalmente su crecimiento.

Se observa que el microorganismo más susceptible a los extractos, fué el *Mycobacterium smegmatis*, ya que su crecimiento fué inhibido por 30 extractos, de los cuales 20 inhibieron su crecimiento totalmente.

Al observar las gráficas anteriores se puede concluir que las plantas que presentaron una mayor actividad antimicrobiana fueron las siguientes: *Bougainvillea glabra*, *Tagetes erecta*, *Gnaphallium sp* y *Mangifera Indica*. es claro que estos

resultados validan en parte el uso popular de las plantas como coadyuvantes en el tratamiento de las enfermedades respiratorias infecciosas.

La gráfica No. 8 presenta la actividad alelopática presente en los extractos estudiados a partir de estos resultados se eligieron los siguientes extractos los cuales presentaron mayor actividad: *Citrus aurantium* (metanólico y clorofórmico) con un CI_{50} de 50.4851 $\mu\text{g/ml}$ y 704.9654 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente, *Lippia dulcis* (clorofórmico) con un CI_{50} de 411.9009 $\mu\text{g/ml}$, *Mangifera indica* (metanólico y clorofórmico) con un CI_{50} de 474.6827 $\mu\text{g/ml}$ y 334.7230 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente, *Usnea barbata* (hexánico) con un CI_{50} de 320.4667 $\mu\text{g/ml}$ y *Verbesina crocata* (metanólico y clorofórmico) con un CI_{50} de 128.6091 $\mu\text{g/ml}$ y 429.9375 $\mu\text{g/ml}$; los cuales se volvieron a probar con una mayor cantidad de concentraciones y los resultados mostraron una actividad alelopática significativa.

Por medio de este trabajo se han detectado y señalado candidatos idóneos para futuras investigaciones fitoquímicas y evaluaciones biológicas encaminadas a la obtención de productos naturales activos en el aspecto microbiológico, alelopático y potencial citotóxico, plaguicida y antiparasitario. Se recomienda continuar con el aislamiento y elucidación estructural de los principios activos de los extractos más activos, a través de estudios fitoquímicos biodirigidos.

Este trabajo es únicamente un estudio preeliminar de algunas actividades biológicas, es obvio que es necesario continuar no solo con el estudio fitoquímico de aquellas especies que resultaron activas como se dijo en el párrafo anterior

Aquellas plantas que resultaron inactivas con los bioensayos utilizados, se hace necesario profundizar los estudios probando dichas plantas con otros bioensayos más específicos, ya que algunas plantas pueden estar actuando a otro nivel, ya sea como antitusígeno, anticatarral, diurético, contra afecciones gastrointestinales y otros, por lo tanto es necesario realizar estudios *in vivo*.

5. BIBLIOGRAFIA

- Ahmed, A. F., El Methnany, A. S. y El Zwi, M. (1992) Determination of the volatile oil contents, glycosides and sterols in some Libyan plants. *Egypt. J. Pharm. Sci.*, **33** (3 - 4), 599 - 608.
- Alkofahi, A., Rupprecht, J. K., Anderson, J. E., *et al.* (1989) *Search for new pesticides from higher plants in insecticides of plant origin*. Arnason, J. T., Philogene, B. J. R. and Morand, P., Ed., ACS Symp. Ser 387, American Chemical Society, Washington, D.C., chap.3.
- Anaya, A. L., Calera, M. R. *et al.* (1990) Allelopathic potential of compounds isolated from *Ipomoea tricolor* Cav. (Convolvulaceae). *J. Chem. Ecol.*, **16** (7), 2145 - 2152.
- Anjaneyulu, V. Prasad, K., Ravi, K. y Connolly, J.D. (1985) Triterpenoids from *Mangifera Indica*. *Phytochem.*, **24**(10), 2359 - 2367.
- Anjaneyulu, V., Prasad, K., *et al.* (1982) Triterpenoids of the root - bark of *Mangifera Indica*. *Indian J. Pharm. Sci.*, **44**(4), 85 - 87.
- Appleton, R. A., Fuike, J. W. B., Henderson, M. S. y McCrindle, R. (1987) The Stereochemistry of Marrubin. *J. Chem. Soc. (C)*, 1943 - 1947.
- Asaka, Y., Ohsaki, A., Takashi, K., Matsukawa, Y., *et al.* (1992) 5,7,3',4'- Tetrahydroxy-3-methoxyflavone, a potent antitumor promoter isolated from *Gnaphallium Indicum*. *Kyoto-furitsu Ika Daigaku Zasshi*, **101** (4), 353 - 359.
- Barrientos B., T. y Gutiérrez L., M. T. (1994) *Determinación de la actividad antimicrobiana y citotóxica potencial de extractos derivados de 30 especies vegetales utilizadas en la medicina tradicional mexicana*. Tesis de Licenciatura. Fac. Química. UNAM
- Beltrán, J. y Dagua, C. (1992) *Mercado de trabajo. Campo y práctica profesional de la enfermera en Guerrero*, Universidad Autónoma de Guerrero, pp 22 - 25.
- Bohlmann, F. y Lonitz, M. (1978) Neue Sesquiterpene aus *Verbesina occidentalis*. *Phytochem.*, **17**, 453 - 455.
- Bohlmann, F. y Ziesche, J. (1980) Neue Diterpene aus *Gnaphallium*-arten *Phytochem.*, **19**, 71 - 74.
- Box, V. G. S., Bardouille, V. y Chan, W. R. (1977) Enantio - eudesmane sesquiterpenes from *Verbesina rupestris*. *Phytochem.*, **16**, 987 - 990.
- Burgos, L. y Ramos, A. (1990) *Estudio etnobotánico y el impacto de la promoción al uso de plantas medicinales, en la comunidad de Amojileca Guerrero.*, Universidad Autónoma de Guerrero.

- Cabrera, L. G. (1943) *Plantas curativas de México*.
- Cáceres, A., Alvarez, A. V., Ovando, A. E. y Samayoa, B. E. (1991a) Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases. 1. Screening of 68 plants against gram - positive bacteria. *J. Ethnopharmacol.*, **31**, 193 - 206.
- Cáceres, A., Cano, O., Samayoa, B. E. y Aguilar, L. (1990) Plants used in Guatemala of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against enterobacteria. *J. Ethnopharmacol.*, **30**, 55 - 73.
- Cáceres, A., Fletes, L. y Samayoa, B. E. (1991b) *Actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de infecciones*. Ed. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Cáceres, A., Fletes, L., Samayoa, B. E., Aguilar, L., et al. (1993) Plants used in Guatemala for the treatment gastrointestinal disorders. 3. Confirmation of activity against enterobacteria of 16 plants. *J. Ethnopharmacol.*, **38**, 31 - 38.
- Cáceres, A., Girón, L. M. and Martínez, A. M. (1987) Diuretic activity of plants used for the treatment of urinary ailments in Guatemala. *J. Ethnopharmacol.*, **19**, 233 - 245.
- Cáceres, A., López, B.R., Glron, M.A. y Logemann, H. (1991c) Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. 1. Screening for antimycotic activity of 44 plant extracts. *J. Ethnopharmacol.*, **31**, 263 - 276.
- Campbell, G., Lambert, J. D. H., Amason, T. y Towers, N. (1982) Allelopathic properties of α - terthienyl and phenylheptatriyne, naturally occurring compounds from species of asteraceae. *J. Chem. Ecol.*, **8** (6), 961 - 971.
- Castañeda, P., García, M. R., Hernández, B. I., Torres, A. L., Anaya. (1992) Effects of some compounds isolated from *Celaenodendron mexicanum* Standl (Euphorbiaceae) on seeds and phytopathogenic fungi. *Journal of Chemical Ecology*, **18** (7), 1025.
- Cojocarú, M., Droby, S., Glotter, E., et al. (1986) 5-(12-Heptadecenyl)-resorcinol, the major component of the antifungal activity in the peel of mango fruit. *Phytochem.*, **25**(5), 1093 - 1095.
- Colegate, S. M. y Molyneux, R. J. (1993) *Bioactive Natural Products. Detection, Isolation and Structural Determination*. CRC Press, Inc., pp 15 - 21
- Compadre, C.M. Pezzuto, J.M. y Kinghorn, A.D. (1985) Hernendulcin: An intensely sweet compound discovered by review of ancient literature. *Science*, **227**, 417 - 419.
- Compadre, C.M., Robbins, E. F. y Kinghorn, D. (1986) The intensely sweet herb, *Lippia dulcis* Trev.: historical uses, field inquiries, and constituents. *J. Ethnopharmacol.*, **15**, 89 - 106.

- Conner, A.H. y Rowe, J.W. (1977) New neutral diterpenes from southern pine tall oil. *Phytochem.*, **16**, 1777 - 1781.
- Dictionary of Natural Products*. (1994) 1er. ed., Ed. Chapman & Hall Chemical Database. U.S.A.
- Dodson, C.D. y Stermitz, F.R. (1986) Pyrrolizidine alkaloids from borage (*Borago officinalis*) seeds and flowers. *J. Nat. Prod.*, **49** (4), 727 - 728.
- Einhelling, F. A. (1986) *Mechanisms and modes of action of allelochemicals, in The Science of Allelopathy* (eds A. R. Putnam and C. S. Tang), Wiley, New York, pp 171 - 188.
- El-Emary, N. A. y Ali, A. A. (1983) Revised phytochemical study of *Tagetes erecta*. *Fitoterapia*, **54** (1), 9 - 12.
- Escarria R., S., Torrenegra, R. D. y Angarita, B. (1977) Colombian plants of the genus *Gnaphallium*. *Phytochem.*, **16**, 1618.
- Estrada Lugo, E. (1992) *Plantas medicinales de México. Introducción a su estudio.*, 4a. ed., Universidad Autónoma de Chapingo, México. p 263.
- Evans, W.C. (1991) *Farmacognosia*. Ed. Interamericana Mc - Graw Hill, 13a. de.
- Finegold, S. M. y Baron, E. J. (1989) *Diagnóstico Microbiológico*, 7a. ed. Ed. Buenos Panamericana. Aires, pp 190 - 210
- Font Quer, P. (1985) *Plantas medicinales, El Dioscórides Renovado*. Ed. Labor, 9a. ed., España
- Frahn, J.L., Culvenor, C. J. y Mills, J.A. (1980) Preparative separation of the pyrrolizidine alkaloids. Intermedine and Lycopsamine, as their borate complexes. *J. Chromatogr.*, **195**, 379 - 383.
- Furano, M., Otsuka, H., Noguchi, M. y Mikami, Y. (1993a) *Isolation of protein BAP-1 from Bougainvillea glabra leave - extract, as virucide*. Japan. Patente.
- Furano, M., Otsuka, H., Noguchi, M. y Mikami, Y. (1993b) *Isolation of protein BAP-2 from Bougainvillea glabra and activity against plant viruses*. Japan. Patente.
- Gau, W., *et al.* (1983) Mass spectrometric identification of xanthophyll fatty acid esters from marigold flowers (*Tagetes erecta*) obtained by high performance liquid chromatography and Craig counter-current distribution. *J. Chromatogr.*, **262**, 277 - 284.
- Giri, S.N. Biswas, A. K., Saha, B.P. Pal, S.P. y Pal, M. (1988) *Studies on the anti-inflammatory action of Bougainvillea glabra leaves*. *Indian J. Pharm. Sci.*, **50** (1), 42- 44.
- Graham, R.C.B. y Noble, R.L. (1955) *Endocrinology*, **56**, 239.

- Harborne, J. B. (1973) *Phytochemical Methods* Ed Chapman & Hall London
- Hernández, F. (1943) *Historia de las plantas de Nueva España*. Vol. II, Publicada por el Instituto de Biología, UNAM, Imprenta Universitaria, México, D.F.
- Hernández, F. (1946) *Historia de las plantas de Nueva España*. Tomo III, Imprenta Universitaria, México.
- Herz, W. y Kumar, N. (1981) Aromatic and other constituents of four *Verbesina* species: structure and stereochemistry of Verbesindiol. *Phytochem.*, **20**, 247 - 250.
- Hopkins, C. Y. y Chisholm, M. J. (1965) Occurrence in seed oils of some fatty acids with conjugated unsaturation. *Can. J. Chem.*, **43**, 3160 - 3164.
- Información Estadística del Sector Salud y Seguridad Social* (1994) Cuaderno No. 10, INEGI, México, D. F., pp 15, 43.
- Inoue, M., Nishimura, H., Li, H. - H. y Mizutani, J. (1992) Allelochemicals from *Polygonum sachalinense* Fr. Schm. (Polygonaceae). *J. Chem Ecol.*, **18** (10), 1833 - 1840.
- Ju - ichi, M., Kaga, H., Muraguchi, M. y Inoue, M. (1988) New acridone alkaloid and coumarin from citrus plants. *Heterocycles*, **27**(9), 2197 - 2199.
- Kaneda, N., Lee, I.S., *et al.* (1992) (+) - 4 β - Hidroxihernandulcin, a new sweet sesquiterpene from the leaves and flowers of *Lippia dulcis*. *J. Nat. Prod.*, **55** (8), 1136 - 1141.
- Kariyone, T. y Matsuno, T. (1953) Studies on the Constituents of Orange Oil. I. On the structure of Auraptene. *Chem. Pharm. Bull.*, **1**, 119 - 122.
- Koneman, E. W. y Allen, S. D. (1983) *Diagnóstico microbiológico*. Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires, pp 382 - 385.
- Laonigro, G., Lanzetta, R., Parrilli, M., Adonolfi, M. y Magnoni, L. (1979) The configuration of the diterpene spiroethers from *Marrubium vulgare* and from *Leonitis leonurus*. *Gazz. Chim. Ital.*, **109**, 145 - 150.
- Larson, K. M., Roby, M.R. y Stermitz, F.R. (1984) Unsaturated pyrrolizidines from Borage (*Borago officinalis*), a common garden herb. *J. Nat. Prod.*, **47** (4), 747 - 748.
- Li, H. - H., Nishimura, Hasegawa, K., y Mizutani, J. (1992) Allelopathy of *Sasa cernua*. *J. Chem Ecol.*, **18** (10), 1785 - 1796.
- Luethy, J., Brauchli, J., Zweifel, U. *et al.* (1984) Pyrrolizidine alkaloids in Boraginaceae medicinal plants: *Borago officinalis* L. and *Pulmonaria officinalis* L. *Pharm. Acta Helv.*, **59**(9-10), 242 -246.
- Mandich, L., Bittner, M., Silva, M. y Barros, C. (1984) Phytochemical screening of medicinal plants studies of flavonoids. *Rev. Latinoamer. Quim.*, **15** (2), 80 - 82

- Martínez, M. (1989) *Las plantas medicinales de México*, 6a ed., Ed. Botas.
- Martínez, M., Romo de Vilvar, A., Ortega, A., *et al.* (1983) Eudesmane triols from *Verbesina virgata*. *Phytochem.*, **22**(4), 979 - 982.
- Maruyama, M., Hayasaka, K., Sasaki, S.-I., *et al.* (1974) A new chalcone glucoside from *Gnaphallium multiceps*. *Phytochem.*, **13**, 286 - 288.
- Matlawska, Y. (1990) Investigation of flavonoid compounds of selected species from Malvaceae family. *Herba Pol.*, **36** (3), 65 - 69.
- Matsuura, S. (1957) The Structure of Cryptostrobin and Strobopin, the Flavonones from the heartwood of *Pinus stobus*. *Chem. Pharm. Bull.*, **5**(3), 195 - 196.
- Meckes-Lozoya, M y Mellado Campos, V. (1986) Pharmacological screening of mexican plants, popularly used for the treatment of cough. *Fitoterapia*, **52** (5), 365 - 370.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., *et al.* (1982) Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med.*, **45**, 31.
- Mitscher, L.A., Leu, R.P.; Bathala, M.S., Wu, W. N., Beal, J.L. (1971) Antibiotic agents from higher plants. I. Introduction, rationale and methodology. *Lloydia*, **35** (2), 157 - 166.
- Mohanraj, S. y Herz, W. (1962) High resolution H-NMR and C-NMR spectra of saturated pyrrolizine monoester alkaloids. *J. Nat. Prod.*, 326 - 330.
- Nawwar, M. A. M., El - Mousallamy, A. M. D., Barakat, H. H., *et al.* (1989) Flavonoid lactates from leaves of *Marrubium vulgare*. *Phytochem.*, **28** (11), 3201 - 3206.
- Nicholas, H. J. (1964) Isolation of Marrubiin, a sterol and a sesquiterpene from *Marrubium vulgare*. *J. Pharm. Sci.*, **53** (8), 895 - 899.
- Novelo, A.M. (1994) Aislamiento y caracterización estructural de los principios activos con potencial antineoplásica de *Hyptis verticillata* Jacq (Lamiaceae). Tesis de Maestría, Depto. de Farmacia. División de Bioquímica y Farmacia, Fac. de Química, UNAM.
- Ohira, T. y Takagai, M. (1994) Allelopathic compounds produced by forest plants. II. The relationships between the inhibition affects on plant growth and killing activities of brine shrimp on phenolic compounds. *Mokuzai Gakkaishi*, **40** (5), 541 - 548.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS) (1994) *Las condiciones de salud en las Américas*. Vol. 2, Publicación Científica, No. 549, OPS, Washington.
- Ortega, A., Maldonado, E., Fronczek, F.R., *et al.* (1985) Elemanolides from *Verbesina seatonii*. *Phytochem.*, **24**(6), 1755 - 1760.

- Rey, J.P., *et al.* (1992) Extraction and high-performance liquid chromatographic methods for the γ -lactones parthenolide (*Chrysanthemum parthenium* Bernh.), (*Marrubium vulgare* L.) and artemisinin (*Artemisia annua* L.) *J. Chromatogr.*, **605**, 124 - 128.
- Rice, E. L. (1987) *Allelopathy: An overview, in Allelochemicals : Role in Agriculture and Forestry* (ed. G. R. Waller) Acs Symp. Ser. 330, Amer. Chem. Soc., Washington, DC., pp 8 - 22.
- Rice, E. L. (1984) *Allelopathy*, 2nd ed., Academic Press, Orlando, Florida.
- Ríos, J.L., Recio, M.C., Villar, A. (1988) Screening methods for natural products with antimicrobial activity: A review of the literature. *J. Ethnopharmacol.*, **23** (2-3), 127 - 149.
- Rizvi, S. J. H, y Rizvi, V. (1992) *Allelopathy: Basic and applied aspects*. 1er. ed., De. Chapman & Hall, London.
- Rojas, A., Hernández, L., *et al.* (1992) Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, **35**, 275 - 283.
- Romo del Vivar, A. (1985) *Productos Naturales de la flora mexicana*, Ed. Limusa, 5ta. de., México, D. F.
- Sahm, P. F. y Washington II, J. A. (1991) *Antibacterial susceptibility test dilution methods. Manual of clinical microbiology*. 5a. ed., Editor Balows, A. American Society for Microbiology. Washigton, D.C., pp 1105 - 1116.
- Sánchez, O. (1980) *La flora del Valle de México*, 6ta. ed., México, D.F., pp 50 - 51.
- Sewon, P. y Tyystjarvi, E. (1993) Steranidonic and gama - linolenic acid contents of common borage leaves. *Phytochem.*, **33** (5), 1029 - 1032.
- Sinónimos de las plantas medicinales de México* (1976) Instituto Mexicano para el Estudio de las Plantas medicinales. A. C. Editor José Luis Díaz, 1era. ed. México, D. F.
- Solis, P. N., Wright, C. W., Anderson, M. M., Gupta, M. P. y Phillipson, J. D. (1993) A microwell cytotoxicity assay using *Artemia salina* (brine shrimp). *Planta Med.*, **59**, 250 - 252.
- Stanley, W.L., Waiss Jr, A.C., Lundin, R.E. y Vannier, S.H. (1965) Auraptanol a coumarin compound in bitter (Seville) orange oil. *Tetrahedron*, **21**, 89 - 92.
- Suffreass, M. y Doumos, J. (1979) *Methods Cancer Research*, **15**, 73.
- Suryaprakasa Rao, P. y Seshadri, T. R. (1941) Isolation and constitution of quercetagitrin, a glucoside of quercetagetin. *Proc. Indian Acad. Sci.*, **14 A**, 289 - 296.

- Tang, W. y Eisenbrand, G. (1992) *Chinese drugs of plant origin*. Ed. Springer - Verlag. Berlín, Herdelberg.
- The Merck Index*. (1989) 11 ed., Ed. Merck & Co., Inc., Rahway, N. J., U. S. A.
- Torrenegra, R., Pedrozo, J., Robles, J., Waibel, R. y Achenbach, H. (1992) Diterpenes from *Gnaphallium pellitum* and *Gnaphallium graveolens*. *Phytochem.*, **31** (7), 2415 - 2418.
- Torres Castañon, M. E. (1993) *Estudio bibliográfico de las plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de los padecimientos respiratorios en la comunidad de Amojileca, Guerrero*. Tesis de Licenciatura. Universidad Femenina de México. UNAM
- Tripathi, A. K., Khan, S. A., Vaishnava, M. M., Singh, J. y Gupta, K. R. (1992) Compounds of taxonomic significance in tagetes. *Fitoterapia*, **53** (1), 85.
- Wallis, T. (1990) *Manual de Farmacognosia*, Compañía Editorial Continental, México, D.F.
- Whipney, A., Simon, J.E. y Janick, J. (1988) In vivo and in vitro lipid accumulation in *Borago officinalis* L. *J. American Oil Chem Soc.*, **65** (6), 979 - 981.
- Whittaker, R. H. y Feeny, P.P. (1971) Allelochemicals: Chemical Interactions between species. *Science*, **171** (3973), 757 - 768.
- Wingrove, A.S. y Caret, R.L. (1990) *Química Orgánica*. 1er. ed., Ed. Harla, México, D.F.
- Wollenweber, E., Fritz, H., Henrich, B., Jakupovic, J., et al. (1993) Rare flavonoid aglycons from *Anaphalis margaritacea* and two *Gnaphallium* species. *Z. Naturforsch., C: Biosci.*, **48** (5-6), 420 - 424.
- Youngken, H.W. (1985) *Pharmaceutical Botany*, The Blakiston Company, pp 618 - 622.
- Zechmeister, L. y Sease, J. W. (1947) A blue - fluorescing compound, Terthienyl, isolated from Marigolds. *J. Amer. Chem. Soc.*, **69**, 273 - 275.
- Zhongyl, L., Hongde, M., et al. (1982) Studies on the chemical constituents of Mango (*Mangifera indica*) leaf. *Zhongcaoyao*, **13**(3), 3 - 6.