

102



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"ESTUDIO FITOQUIMICO Y BIOLOGICO DE *Ageratum houstonianum* Mill."

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A :

NADIA JUDITH / JACOBO HERRERA



DIRECTOR DE TESIS: DR. ADOLFO ANDRADE CETTO

MEXICO, D.F.,



2001

290637



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



REPUBLICA NACIONAL
DE MÉXICO

MAT. MARGARITA ELVIRA CHÁVEZ CANO
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

"Estudio fitoquímico y biológico de Aceratum houstonianum Mill."

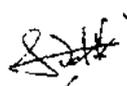
realizado por Nadia Judith Jacobo Herrera

con número de cuenta 9550348-2 , pasante de la carrera de biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

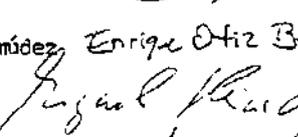
Director de Tesis
Propietario

Dr. Adolfo Andrade Cetto 

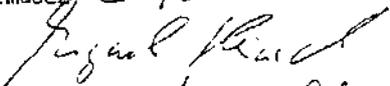
Propietario

Dr. Helmut Wiedenfeld 

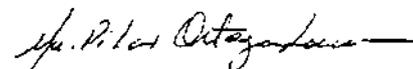
Propietario

Biól. Enrique Ortiz Bermúdez 

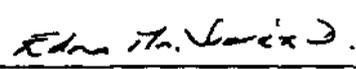
Suplente

Dr. Michael Heinrich 

Suplente

M. en C. Pilar Ortega Larrocea 

FACULTAD DE CIENCIAS
Consejo Departamental de Biología U.N.A.M.



Dra. Edna María Suárez Díaz



DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

DEDICATORIA

A mis padres Edmundo y Judith, por su ejemplo, su apoyo y por tanto amor. Seguimos creciendo y aprendiendo juntos.

A mis hermanos Iván y Frida, nunca dejaremos de luchar por intentar cambiar este mundo.

A Alejandro, este es el inicio de lo que tenemos por delante. Te amo.

Ai Ejército Zapatista de Liberación Nacional. Por su valioso ejemplo y su admirable valor.

A la memoria de mi primo Raúl, siempre conmigo.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer al Dr. Adolfo Andrade Cetto por su apoyo incondicional para la elaboración del presente trabajo. Muchas gracias por toda tu ayuda y amistad Adolfo.

A mis sinodales: M. en C. Pilar Ortega Larrocea, Biól. Enrique Ortiz Bermudez, Dr. Helmut Wiedenfeld, y Dr. Michael Heinrich, por su disposición para la revisión de este trabajo. Gracias por todos sus comentarios y sugerencias.

A Ángeles Bustamante, Eva Sabido, Iván Pérez, Adolfo Andrade Cetto, y Helmut Wiedenfeld, por su ayuda prestada para la recolecta de especímenes y la realización de entrevistas durante las salidas al campo efectuadas.

Al Biól. Enrique Ortiz Bermudez, por la ayuda en la determinación de los ejemplares recolectados. Al Dr. Helmut Wiedenfeld, por su ayuda en el financiamiento de parte del material y equipo utilizado en la parte de fitoquímica.

Muy en especial a la familia Andrade Ortega: Adolfo, Pilar y Bernardo; por su invaluable amistad.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE	iii
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
ANTECEDENTES	8
Historia taxonómica del género <i>Ageratum</i> L.	8
Distribución geográfica del género <i>Ageratum</i> L.	10
Descripción taxonómica de <i>Ageratum houstonianum</i>	10
Conceptos de especie y categorías infraespecíficas	13
Antecedentes etnobotánicos	15
Antecedentes fitoquímicos	17
Antecedentes fitoquímicos de <i>Ageratum houstonianum</i>	24
OBJETIVOS	26
ÁREA DE ESTUDIO	27
METODOLOGÍA	29
Estudio etnobotánico	29
Estudio fitoquímico	31
RESULTADOS	34
Estudio etnobotánico	34
Estudio fitoquímico	37
DISCUSIÓN	42
Implicaciones etnobotánicas	42
Implicaciones fitoquímicas	44
Inferencias quimiotaconómicas	46
CONCLUSIONES	49
BIBLIOGRAFÍA	50

RESUMEN

La especie *Ageratum houstonianum* es una planta ampliamente distribuida en México, siendo empleada en la medicina tradicional en diversas regiones de este país. *A. houstonianum* cuenta con dos formas descritas para México: *A. houstonianum* forma *houstonianum* y *A. houstonianum* forma *isochroum*. A pesar de que en varios estudios se han detectado algunos metabolitos secundarios para *A. houstonianum*, dichos estudios no han considerado las categorías subespecíficas de esta especie. En este trabajo se investigaron los usos medicinales de *A. houstonianum* f. *isochroum* en la comunidad de Tlanchinol, Tlaxiaco, Oaxaca; además, se detectó la presencia de terpenos, alcaloides y flavonoides en ambas formas de la especie en cuestión. Los resultados etnobotánicos obtenidos muestran que *A. houstonianum* f. *isochroum* es utilizada por el 60% de los informantes para curar heridas, siendo la aplicación más frecuente es por vía tópica. En las dos formas de *A. houstonianum* se detectó la presencia de cuatro alcaloides pirrolizidínicos, compuestos químicos que también están presentes en otras especies del género y tienen efectos hepatotóxicos. También se detectó en ambas formas tres flavonoides distintos, y no se detectó la presencia de terpenos. Los datos fitoquímicos obtenidos en el presente estudio revelaron que ambas formas de *A. houstonianum* presentan los mismos alcaloides y flavonoides, lo cual representa una homoplasia quimiotaxonómica para la especie.

INTRODUCCIÓN

Las plantas siempre han estado presentes en la vida cotidiana del hombre debido a sus múltiples usos, tales como alimenticio, en la construcción, ornamental, religioso, como combustible y medicinal, entre otros (Farnsworth, 1994). Con respecto a las plantas medicinales de uso tradicional éstas han sido un punto de partida hacia la síntesis de muchas drogas modernas, además de ser indicadores biológicos de sustancias activas (Prance, 1994). A lo largo de la historia, un importante número de plantas medicinales han estado sujetas a experimentación para conocer su efectividad o bien su toxicidad (Phillipson y Anderson, 1989). A partir de estos estudios se han descubierto diversos productos naturales con propiedades farmacológicas, como los alcaloides, los terpenos, los flavonoides, las resinas, los esteroides, las vitaminas, las cumarinas, los bálsamos, y los carbohidratos, por nombrar algunos (Phillipson y Anderson, 1989).

Una de las maneras de encontrar productos naturales con aplicación medicinal es a partir de las investigaciones de tipo etnofarmacológico (Phillipson y Anderson, 1989). La etnofarmacología se define como la observación, identificación, descripción, e investigación experimental de los ingredientes y efectos de las drogas tradicionales (Hedberg, 1993). Sus principales objetivos son los de rescatar y documentar una herencia cultural con respecto a la medicina tradicional antes de que ésta se pierda, así como evaluar e investigar los agentes empleados por la misma a través del aislamiento de las sustancias activas y de pruebas farmacológicas (Holmstedt y Bruhn, 1983). La etnofarmacología se apoya principalmente en tres disciplinas: la etnobotánica, la fitoquímica y la farmacología (Phillipson y Anderson, 1989;

Vickberg, 1993). Así, los análisis etnofarmacológicos comprenden esencialmente la extracción, la evaluación farmacológica y la identificación de cualquier químico bioactivo presente en los remedios tradicionales (Cotton, 1996).

Con respecto a la etnobotánica, ésta estudia las relaciones entre las sociedades humanas y las plantas, describiendo la interacción entre el hombre y su ambiente natural (Martínez, 1994; Martin, 1995). La etnobotánica se apoya a su vez en la botánica, la antropología, y la historia, siendo tanto la conservación cultural como la de la biodiversidad sus objetivos más importantes (Balick, 1994). Esta disciplina tiene un gran potencial en cuanto a sus aplicaciones. Por ejemplo, ésta colabora en la agricultura con la identificación de nuevas especies alimenticias, ayuda en la conservación del germoplasma y el manejo controlado de los recursos vegetales y su comercialización, reporta métodos alternativos de cultivo, e identifica nuevas drogas para su uso potencial en la industria farmacéutica (Cotton, 1996). Además, la etnobotánica advierte sobre el peligro del deterioro ambiental y orienta hacia el buen manejo de los recursos vegetales, ya que si no existe un conocimiento previo del medio que nos rodea la posibilidad de encontrar y experimentar nuevas drogas naturales se ve limitada (Martínez, 1994).

Recientemente, Lewis y Elvin-Lewis (1994) realizaron una clasificación de la etnobotánica, dividiéndola en los siguientes tres tipos con base en sus métodos de estudio y objetivos perseguidos: 1) la etnobotánica básica, que incluye la compilación y organización de la información obtenida sobre el uso de la biodiversidad por parte de las comunidades, es decir, el manejo de los recursos naturales; 2) la etnobotánica cuantitativa, la cual desarrolla métodos que permiten descripciones cuantitativas para la evaluación y análisis de datos; y 3)

la etnobotánica experimental, que comprende el conocimiento del uso de los recursos naturales para la búsqueda posterior de productos para la industria farmacéutica, alimenticia, de construcción, etc.

Por otra parte, la fitoquímica, en relación con la etnofarmacología, busca encontrar los principios activos de las plantas, sus derivados, y el aislamiento de los mismos (Cotton, 1996). A la fitoquímica le concierne el estudio de las sustancias elaboradas y acumuladas por las plantas, determinar las estructuras químicas de estas sustancias, conocer su biosíntesis, su metabolismo, su distribución natural y su función biológica (Harborne, 1988). Para la obtención de estos productos se requiere de métodos de separación, purificación e identificación de los constituyentes presentes en las plantas (*idem ant.*). Los químicos sintetizados a partir de los principios activos vegetales aportan una importante gama de sustancias, las cuales son usadas en la fabricación de diversos productos, tales como agentes estimulantes o terapéuticos, venenos, aceites, colorantes, barnices, pegamentos, ceras, resinas, fragancias y saborizantes (Farnsworth 1990; Cotton, 1996).

La última de las disciplinas que integran la etnofarmacología, la farmacología, estudia la acción y el efecto de las sustancias químicas de diversa naturaleza y origen sobre la materia viva (Kuklinski, 2000). Según Kuklinski (2000), las pruebas farmacológicas consisten en estudios de efecto, tolerancia y toxicidad que se realizan sobre animales de experimentación, células u órganos aislados. Estos estudios tienen como objetivos principales: 1) determinar el efecto o actividad de las drogas y su posible toxicidad sobre los organismos vivos a través de pruebas farmacodinámicas y biológicas; 2) determinar la estructura de los principios activos de las drogas; 3) evaluar los márgenes terapéuticos de la

droga estudiada, es decir, la dosis que debe ser empleada en un tratamiento; y 4) realizar controles microbiológicos para verificar la calidad de la droga. En conclusión, la farmacología apoya o refuta la validación de la utilización de las plantas medicinales de uso tradicional mediante la aplicación de diferentes modelos experimentales (en animales, cultivo de bacterias y hongos *in vitro*, etc.), mostrando en ocasiones usos no conocidos de éstas e inclusive posibles reacciones secundarias en el organismo.

Los estudios etnofarmacológicos, al igual que todas las disciplinas biológicas, deben contar con un sustento taxonómico sólido, ya que si no existe una determinación correcta del ejemplar estudiado no tiene validez su efectividad o nocividad reportada. La taxonomía participa en la identificación, nomenclatura y clasificación sistemática de las especies (Cotton, 1996). A su vez, la composición química de las plantas frecuentemente es empleada en la determinación taxonómica, conociéndose esta disciplina como quimiotaxonomía (Stace, 1984; Mann, 1987; Farnsworth, 1994). Los resultados obtenidos a partir de los estudios quimiotaxonómicos pueden ser de utilidad en la clasificación de las plantas, en la construcción de filogenias, y en menor grado en su identificación (Stace, 1984). La ventaja de las características químicas sobre las morfológicas en la clasificación vegetal es que las primeras están descritas en términos de su estructura y configuración por lo que no presentan variación, además de estar controladas genéticamente (*idem ant.*).

En cuanto a medicina tradicional se refiere, México es una nación con una gran herencia cultural que data desde la época prehispánica (Lozoya, 1994). Esto se ve reflejado en la actualidad en nuestro país, ya que la gente comúnmente acostumbra alternar los remedios caseros con los fármacos (Heinrich *et al.* 1998). Una de las familias de plantas

más utilizadas en la medicina tradicional mexicana es la familia Asteraceae (Heinrich et al., 1998), la cual tiene una distribución muy amplia (Johnson, 1971). Una gran variedad de productos químicos han sido aislados a partir de diversas especies de esta familia, destacando entre ellos los sesquiterpenos, los monoterpenos, los alcaloides y los flavonoides, esto debido a su actividad terapéutica (Heinrich et al., 1998).

Dentro de la familia Asteraceae, varias de las especies la tribu Eupatorieae se caracterizan por la presencia de alcaloides pirrolizidínicos, que son metabolitos secundarios de gran interés farmacológico debido al daño que causan en el hígado cuando son ingeridos (Roeder, 1999). A esta tribu antes mencionada pertenece *Ageratum houstonianum*, especie conformada por dos formas descritas para México, *A. houstonianum* f. *houstonianum* y *A. houstonianum* f. *isochroum*. Estas formas, de acuerdo con Johnson (1971), son diagnosticables únicamente por la estructura de su vilano. No obstante, a pesar de esto, estudios recientes han puesto en duda el reconocimiento de las formas antes mencionadas (Turner, 1997; King y Robinson, 1987), aunque sin haber realizado un estudio taxonómico riguroso, por lo que su situación taxonómica actual permanece a la fecha incierta. *A. houstonianum* ha sido escasamente reportada como planta medicinal en nuestro país (p. ej., Sabido, 2000), por lo que hace falta profundizar más en estudios etnobotánicos con respecto a esta especie debido a la posible repercusión que pudieran tener los compuestos tóxicos de estas plantas en el organismo.

En el presente estudio se investigaron los posibles usos medicinales de *A. houstonianum* f. *isochroum* en la comunidad de Tlanchinol, Hidalgo, localidad donde se distribuye esta forma. Además, se aislaron algunos de los compuestos químicos secundarios

ANTECEDENTES

Historia taxonómica del género *Ageratum* L.

El género *Ageratum* surgió en la nomenclatura binomial a partir de la propuesta hecha por Lineo (1753) para incluir en él a algunas especies de la tribu Eupatorieae, *Ageratum conyzoides*, *A. ciliare* y *A. altissimum*. Posteriormente, de Candolle (1836), distinguió al género *Ageratum* del género *Coelestin*, estando integrado el primer género por dos secciones: *Euageratum*, con especies con cinco tipos distintos de vilano escamoso, acuminado y anstado; y *Pectinellum* que incluía especies con 10 tipos distintos de vilano escamoso y pectinado-cilado. En este trabajo se describieron cuatro variedades para *A. conyzoides*.

En 1852, Bentham realizó una discusión sobre el género *Ageratum*, con énfasis en sus variaciones en el vilano. Más tarde, Baker (1876) colocó a *Ageratum* dentro de la tribu *Ageratae*, que se distinguía por poseer 5 aquenios con nervaduras y anteras con apéndices apicales. En 1881, Hemsley hizo una revisión basada principalmente en localización geográfica y no estrictamente en la taxonomía del grupo. En 1891, Kuntze transfirió todas las especies de *Ageratum* al género *Carelia*, aunque posteriormente Robinson (1913) incluyó en *Ageratum* únicamente a especies que poseyeran un vilano de 5 distintas escamas o un tipo de corona corta y escamas conadas, excluyendo a aquellas con un vilano con cerdas o sin vilano. Robinson (1913) dividió a *Ageratum* en dos secciones: *Euageratum*, con especies con un vilano de 5 escamas, y *Coelestina* con especies con copa como vilano.

En años recientes destacan dos estudios taxonómicos con el género *Ageratum*. En el primero, Johnson (1971) modificó la revisión de Robinson, transfiriendo algunas especies de la sección *Euageratum* a la sección *Coelestina*, y volvió a colocar a *Ageratum domingense* en la sección *Pectinellum* y a *Ageratum stachyofolium* en una sección propia. Además, Johnson (1971) redujo también muchas variedades propuestas por Robinson a *Ageratum* *orymbosum*, y ubicó a *Atomia echioides* dentro del género *Ageratum*. En el otro estudio importante para el género *Ageratum*, King y Robinson (1987) dividieron en 19 grupos a la tribu Eupatoriae, de los cuales en México están presentes 13. En esta división, el género *Ageratum* quedó incluido dentro del grupo Piqueria

Actualmente el género *Ageratum* contiene cerca de 40 especies (Turner, 1997). No obstante, aún no se ha llegado a un acuerdo definitivo en cuanto al número de especies que realmente integran el género, ya que varias de ellas están conformadas por algunas subespecies y formas. Tal es el caso de *Ageratum houstonianum*, a la cual Johnson (1971) reconoció con dos formas, *A. houstonianum* f. *houstonianum* y *A. houstonianum* f. *isochroum*, esto con base en características del vilano y del involucre. Sin embargo, en la última revisión del género (Turner, 1997), no se reconocen las dos formas anteriormente propuestas por Johnson (1971), considerando únicamente como variación individual las diferencias encontradas por este último autor, aunque no explicó la razón de esta conclusión.

Distribución geográfica del género *Ageratum* L.

Ageratum está restringido a América e India Occidental, excepto *A. conyzoides* ssp. *conyzoides*, hierba introducida pantropicalmente (Johnson, 1971). De los 39 taxa reconocidos por este último autor, la gran mayoría ocurren en México, América Central, India Occidental y el sur de Florida, y sólo cuatro taxa se encuentran en América del Sur, siendo una de estos *A. conyzoides* ssp. *conyzoides*. En México, el género está ampliamente distribuido, especialmente en la zona de bosque de pino-encino (Johnson, 1971).

Descripción taxonómica de *Ageratum houstonianum*

Ageratum houstonianum Miller, Gard. Dict. Ed. 8, 1768.

Holotipo: México: Veracruz.

Planta anual, (2.5-)3-7(-9) cm de alto.

Raíces fibrosas, adventicias en nódulos inferiores si es un tallo decumbente. Tallos simples o ramificados, especialmente en la parte superior, erectos o decumbentes, de color rojizo a verde, en la parte superior viloso-glandular o lanoso, pelos de color blanco a amarillento. Hojas opuestas, a veces alternadas en la parte superior, ovadas a deltoideas, 2.4-8.6(-9.5) cm de longitud, (1.7-)2.9-6.5(-8) cm de ancho, ápice redondeado o agudo, base truncada a cordada, margen crenado o raramente dentado, más o menos ciliado, la superficie superior color verde oscuro, pilosa, pelos distribuidos de manera irregular o densos, especialmente sobre las venas, la superficie inferior clara (verde pálida), peninervada, densamente pilosa-puberulenta, especialmente sobre las venas, a casi glabra.

Pecíolos de 0.6-3.5 mm de longitud, densamente pilosos, de color blanco, especialmente los superiores.

Inflorescencia terminal, de 5-15 cabezuelas sostenidas en racimos cerrados o abiertos en un pedúnculo con brácteas, densamente piloso-puberulento (a veces glandular) Invólucro campanulado, brácteas biseriadas, estrechamente lanceoladas, (3.75-)4-5 mm de largo, las externas de 0.5-0.75(-0.95) mm de ancho, con 2 costillas de color verde a café, de pilosas a prácticamente glabras, ápice acuminado, ciliado-glandular, a veces rojo oscuro, margen entero, de herbáceo a escarioso, glandular-ciliado especialmente en la parte superior. Corola (2.15-)2.5-3.5 mm de longitud, en forma de embudo (cónica), tubo blanco, glandular a liso, cuello (garganta) azul, lila, lavanda, raramente blanca, los 5 lóbulos verticales o agudos externamente puberulentos, con la misma pigmentación que el cuello. Presenta aquenios 5-angulados, negros, (1.15-)1.5-1.75 mm de longitud, ásperos en los ángulos, carpodidio blanco, prominente. Vilano con escamas oblongas, delgadas de (1.5-)2-3(-3.4) mm de longitud, margen pectinado, ápice cerdoso, seta escabrosa, a veces las escamas apicales son truncadas o sin seta, entonces las escamas son de 0.1-0.15 mm de longitud

Ageratum houstonianum Mill. se divide en dos formas basadas en los caracteres del vilano e involucre:

Escamas del vilano oblongas, pectinadas, cerdosas en el ápice, escamas de (1.5-)2-3(-3.4) mm de longitud, las brácteas del involucre tienen glándulas ciliado-estipitadas.

Ageratum houstonianum f. *houstonianum*

Escamas del vilano oblongas, pectinadas, truncadas en el ápice, no cerdosas, 0.1-0.13 mm de longitud; brácteas del involucre con o sin glándulas estipitadas.....A.

houstonianum f. *isochroum*.

Ageratum houstonianum forma *houstonianum*

Ageratum conyzoides Lam., Ill. Gen. Pl. Bot. 248, Pl. 672 1823 (Holotipo: op. cit. pl.

372)

Ageratum mexicanum Sims Bot. Mag. 52: 2524. 1825, fide Robinson (1913b).

Holotipo: op. cit. pl. 2524; plant raised from seeds sent by Bullock from Mexico.)

Ageratum mexicanum Hort. ex Vilm. var. *nanum* Vilm. forma *imperiale* Vilm. Fl. Pt.

Terre. Ed. 4. 44. 1894.

Ageratum houstonianum Miller var. *typicum* Robins. forma *normale* Robins., Contr.

Gray Herb. 68: 5. 1923. *Nom. ncal.*

Esta forma presenta un vilano con escamas apicales cerdosas, de (1.5-)2-3(-3.4) mm

de longitud; brácteas involucrales estrechamente lanceoladas, ciliadas, glandular-estipitadas.

Forma nativa del sur de México que se extiende hasta Guatemala y Honduras (Figura 1). Se

encuentra por lo general en hábitats húmedos que pueden ser sombreados o soleados, a

una elevación de 200 a 1700 msnm. Su distribución se amplía a Florida central, México,

Cuba, Jamaica y Hawai. Johnson (1971) también encontró especímenes en África, China,

India, Francia, Java, Okinawa, Filipinas y el norte de Vietnam, empleándose todos ellos como

plantas de cultivo.

Ageratum houstonianum forma *isochroum*

Ageratum houstonianum Miller var. *mutescens* Robins. forma *isochroum* Robins. Contr.

Gray Herb. 68: 6. 1923. (Holotipo: México. Prov. Huasteca: Wartenberg, cerca de Tantoyuca,

Ercendberg 100 (GH); isotipo, F.)



Figura 1. Distribución de *Ageratum houstonianum* en la República Mexicana. Círculos: *A. h. f. houstonianum*; rombos: *A. h. f. isochroum* (tomado de Johnson, 1971).

geratum houstonianum Miller var. *multicaespens* Robins. forma *versicolor* Robins., Contr. Gray Herb. 68: 6. 1923. (Holotipo: encontrado en el material vendido por Joseph Breck y Sons Corporation y cultivado en el Glen. Echo. Maryland, para estudios en el Departamento de Agricultura en Washington, *Freeman* 5084, (US); isotipo, GH.)

nomado de Johnson (1971)

Forma muy parecida a *A. houstonianum* f. *houstonianum*, sólo difieren en que *A. houstonianum* f. *isochroum* presenta vilano con escamas truncadas de 0.1-0.15 mm de longitud y las brácteas del involucre a veces no presentan glándulas estipitadas. Aunque es similar a *A. houstonianum* f. *houstonianum* en la forma de la hoja, la pubescencia pilosa, las brácteas involucrales, así como en tener el mismo número cromosómico ($n=10$). Se le considera como aberrante en dos aspectos: por un lado carece en general de la pubescencia glandular en las brácteas del involucre, y por otro lado la presencia de escamas muy cortas en el vilano, que tiene lóbulos pectinados, como ligeramente esparcidos. Las plantas con estas características no están separadas geográficamente de los miembros típicos de la especie; sin embargo el estatus de forma se mantiene, y la forma *isochroum* es aplicada. Esta forma la encontramos en México, América Central e India Occidental (Figura 1), en hábitats similares a *A. houstonianum* f. *houstonianum*. Los botones, flores y frutos son como los de la forma *houstonianum*.

Conceptos de especie y categorías infraespecíficas

La problemática para la definición de las especies ha sido una de las controversias más relevantes que se ha dado dentro de la taxonomía a lo largo de su historia. Particularmente, en los últimos veinte años ha existido un intenso debate sobre cual

concepto de especie es el que debiera aplicarse. Desde mediados del siglo XX, el concepto biológico de especie (CBE) fue el concepto más empleado. De acuerdo con el CBE, las especies son grupos de poblaciones naturales que se pueden reproducir entre sí y que se encuentran reproductivamente aislados de otros grupos (Mayr, 1969). No obstante, hace aproximadamente dos décadas éste último concepto empezó a ser sujeto de diversas críticas. De las críticas más importantes hechas al CBE destacan las siguientes: 1) sólo se aplica para especies con reproducción sexual, 2) su limitante para poder diagnosticar únicamente especies simpátricas (Frost y Hillis, 1990), y 3) que la compatibilidad reproductiva no es una medida de relación evolutiva (Frost y Hillis, 1990).

A raíz de las limitantes del CBE surgieron conceptos de especie alternativos. Uno de ellos es el concepto evolutivo de especie (CEE: Simpson, 1961, Wiley, 1980), que propone que una especie es un linaje que evoluciona independientemente de otros linajes y que tiene una trayectoria evolutiva independiente. A pesar del consenso en el apoyo a este concepto por parte de los taxónomos, su principal limitante radicaba en su inoperabilidad. Los conceptos filogenéticos de especie (CFE, ver Cracraft, 1983) intentan incorporar la idea de la especie como unidad evolutiva junto con su diagnóstico por parte del taxónomo. De acuerdo con el CFE de Rosen (1978) las especies son aquellas poblaciones geográficamente bien delimitadas y diagnosticables por un conjunto único de características propias.

Por otra parte, tradicionalmente se ha recurrido a la designación de taxa infraespecíficos, tales como subespecies, variedades y formas para nombrar patrones complejos de variación morfológica (Stuessy 1990). Para el caso de la nomenclatura

otánica, la categoría de subespecie se utiliza para diagnosticar a poblaciones de una especie que se encuentran en alopatria o peripatria, y que se distinguen por diversas diferencias conspicuas; la categoría de variedades para poblaciones ampliamente simpátricas o con varios sobrelapamientos, distinguibles por pocas diferencias conspicuas; y la categoría de forma para aquellos morfotipos esporádicamente simpátricos, usualmente distinguibles tan sólo por una diferencia conspicua

Antecedentes etnobotánicos

Varias plantas del género *Ageratum* han sido empleadas en la medicina tradicional en diversas localidades a lo largo de su área de distribución. En el cuadro 1 están enlistados algunos de los usos dados a diversas especies del género a nivel mundial (sin incluir México).

Particularmente para México están reportados para el género diversas aplicaciones medicinales, las cuales se encuentran enlistadas en el cuadro 2. Con respecto a la especie *A. houstonianum*, los únicos usos medicinales encontrados en literatura son en Guatemala, donde la planta se usa para aliviar la garganta inflamada (Johnson, 1971) y en México, en la comunidad de San Felipe Usila, Oaxaca, en donde *A. houstonianum* f. *houstonianum* se usa para aliviar el "susto" (Sabido, 2000).

Cuadro 1. Usos medicinales para el género *Ageratum* a nivel mundial (tomados de Johnson, 1971)

ESPECIE	PAIS O CONTINENTE	USO
<i>conyzoides</i>	Africa	Enfermedades de la piel, neumonía, fiebre, como purgante, problemas para dormir, úlceras y tratamientos intrauterinos.
<i>conyzoides</i>	Malasia	Para curar heridas
<i>conyzoides</i>	Borneo	Para curar heridas por mordedura, como remedio para dolor de estómago
<i>conyzoides</i>	América del Sur	Tratamiento para hemorragia vaginal no menstrual
<i>conyzoides</i>	Colombia y Venezuela	Dolor de estómago
<i>conyzoides</i>	Islas de Carolina	Para cortadas
<i>conyzoides</i>	El Salvador	Remedio contra la gonorrea
<i>conyzoides</i>	Colombia	Antigripal
<i>echinoides</i>	Guatemala	Malaria

Cuadro 2. Usos medicinales en México reportados para especies del género *Ageratum* L. y *A. houstonianum* en México (basado en Aguilar et al., 1994; Instituto Nacional Indigenista, 1994)

Nombre científico	Nombre común	Estado	Uso
<i>conyzoides</i> L.	Capulin agaloso	Veracruz	Inflamación vaginal
		Oaxaca	Eliminar granos
		Chiapas	Garganta inflamada
<i>littorale</i> A. Gray	Hawayche'	Quintana Roo	Contra enfermedades de la boca como fuegos
<i>corymbosum</i> Zucc.	Hierba dulce, Tzopolixihuitl	Ixcacautilla, Veracruz.	Para granos
<i>gaumeri</i> Robins.	Xta' uulmi, xta' uulum Hierba del pavo Tulum (maya)	Quintana Roo Mérida, Yucatán	Ardor en la piel, en el parto, hemorragia, sangrado de la nariz
<i>houstonianum</i> f.		Sn. Felipe Usila,	Susto
<i>houstonianum</i> Johnson.		Oaxaca.	

Antecedentes fitoquímicos

Los alcaloides, flavonoides y terpenos son metabolitos secundarios buscados frecuentemente en las plantas reportadas con uso medicinal. debido a sus propiedades terapéuticas (Heinrich *et al.*, 1998; Phillipson y Anderson, 1988). A continuación se hace una breve descripción de éstos tres tipos de compuestos químicos.

Alcaloides.- De acuerdo con Dewick (1997), los alcaloides son bases orgánicas nitrogenadas que se encuentran principalmente en plantas. Estos compuestos tienen uno o más átomos de nitrógeno, típicamente como aminas secundarias o terciarias, lo que generalmente confiere la basicidad del alcaloide, facilitando su aislamiento y purificación. Se forman biosintéticamente a partir de un aminoácido y los principales precursores son la ornitina, triptofano, ácido antranílico, histidina, lisina y tirosina, siendo éstas dos últimas las más frecuentes.

Algunos autores distinguen otros dos tipos de alcaloides, los protoalcaloides y los pseudoalcaloides (Bruneton, 1995). Los pseudoalcaloides no derivan de un aminoácido y los más conocidos son los isoprenoides que son alcaloides terpenoides como los alcaloides monoterpénicos (β -skythantina), alcaloides sesquiterpénicos de Nymphaeaceae, alcaloides diterpénicos como la aconitina del tubérculo de aconita, y alcaloides esteroidales como la paravallarina (Bruneton, 1995). Por otra parte, los protoalcaloides son aminas simples en donde el átomo de nitrógeno no es parte del anillo heterocíclico, son básicos y se elaboran a

rtir de un aminoácido, como por ejemplo la serotonina, la mezcalina del peyote, la cationia
l té de Abyssinia, y las betaianinas (*idem ant.*).

La mayoría de los alcaloides los podemos encontrar en las angiospermas (*idem ant.*),
e las monocotiledóneas en las familias Amaryllidaceae y Liliaceae; y en dicotiledóneas en
s familias Annonaceae, Apocynaceae, Fumariaceae, Lauraceae, Loganiaceae,
agnoliaceae, Asteraceae, Papaveraceae, Menispermaceae, Ranunculaceae, Rubiaceae,
utaceae, Solanaceae, etc. (Bruneton, 1995) También están presentes en otros organismos
omo bacterias (la pyocyanina de *Pseudomonas aeruginosa*); en hongos como la psilocina;
n pteridofitas como los alcaloides derivados de lisina en Lycopodiaceae; y en gimnospermas
el género *Cephalotaxus* (*idem ant.*).

En plantas, los alcaloides se encuentran tanto en forma de almacenamiento como de
ansportación. La forma de almacenamiento se da como alcaloides libres y la forma de
ansportación ocurre como sales (citratos, malatos, tartratos, meconatos, isobutiratos,
enzoatos) o como complejos. La síntesis de los alcaloides ocurre en las raíces en
recimiento, siendo transportados hacia la flor y las semillas. Se encuentran en menor
concentración en hojas y normalmente no están presentes en tallo. Su función está
volucrada con la relación planta depredador (Bruneton, 1995).

Los alcaloides son sustancias conocidas por sus actividades farmacológicas, destacan
quellos que actúan sobre el Sistema Nervioso Central como depresivos (morfina,
scopolaminas) o como estimulantes (estricina) (Bruneton, 1995). En el Sistema Nervioso

Autónomo actúan la efedrina, yohimbina, eserina, atropina, nicotina, espateina. Además, incluyen propiedades de curación como anestésicos locales (cocaína), agentes para tratar fibrilación (quinidina), agentes antitumorales (vinblastina, elipticinas), antimaláricos (quinina), antibacteriales (berberinas), y amebicidas (emetina) (*idem ant*)

Los alcaloides que derivan de la ornitina son los llamados alcaloides pirrolizidínicos (PA por sus siglas en inglés), los cuales se han aislado de las familias Asteraceae, Boraginaceae, Fabaceae y en menor grado de las familias Apocynaceae, Leguminosae, Orchidaceae y Poaceae (Roeder, 1999). Los PA se han encontrado en aproximadamente 600 especies de plantas ampliamente distribuidas en el mundo y pertenecientes a unos cuantos géneros de diferentes familias (Roeder, 1999). Para la tribu Eupatorieae (familia Asteraceae) se han aislado alcaloides pirrolizidínicos de los géneros *Adenostemma*, *Ageratum*, *Chromolaena*, *Conoclinium*, *Critonia* (= *Eupatorium*), *Eupatorium*, *Liatris* y *Trichogonia* (Roeder, 1999). La gran mayoría de los alcaloides pirrolizidínicos son ésteres con dos grupos principales de OH en la base, llamados necinas (Wiedenfeld, 2000). Los ácidos mono y diésteres carboxílicos son característicos de la familia Boraginaceae y los diésteres macrocíclicos se encuentran en gran parte en la familia Asteraceae (Bruneton, 1995)

Únicamente aquellos alcaloides pirrolizidínicos que tienen una doble ligadura en la posición 1.2 de la necina y que están esterificados tanto en R1 como en R2 (tipo heliotridina y retronecina/ tipo otonecina) son tóxicos (Wiedenfeld, 2000). Los componentes básicos de los PA tóxicos por lo general son la retronecina, heliotridina y otonecina (Roeder, 1999), aunque por sí mismos no son tóxicos, sino que esta toxicidad se debe a un proceso que se

realiza dentro del organismo, específicamente en el hígado (Wiedenfeld, 2000). Muchos de estos producen daño hepático y envenenamiento en el ganado (Roeder, 1999).

Los alcaloides pirrolizidínicos provocan una hinchazón de los hepatocitos, necrosis del hígado, bazo hepático central, alargamiento del núcleo celular, trombosis de la vena hepática, aumento de la bilirrubina, ascitis y fallas en el hígado (Bruneton, 1995). En humanos son responsables de intoxicaciones crónicas como pérdida del apetito, dolor abdominal, edema de extremidades, pueden provocar hepatomegalia y cirrosis (Bruneton, 1995) El daño más importante ocasionado por estos, es el llamado padecimiento de oclusión de venas (VOD por sus siglas en inglés). Esto se ha observado sobre todo en países en donde las plantas que los contienen son utilizadas como remedio de diferentes padecimientos (*idem ant*)

La toxicidad de los alcaloides pirrolizidínicos varía según su estructura los monoésteres son menos tóxicos que los diésteres ácidos y estos menos tóxicos que los ésteres macrocíclicos (Bruneton, 1995). La ruta metabólica de toxicidad (Figura 2) que siguen los alcaloides pirrolizidínicos se lleva a cabo en el hígado y consiste en tres pasos. 1) se construyen los hidróxidos que van en posición alfa con respecto al nitrógeno; 2) después de la deshidratación se forma el alcaloide pirrol, y 3) después de remover los ésteres se va a formar un radical pirrol alcalino bifuncional. Este radical puede reaccionar en el entrecruzamiento con la adenina y citosina del ADN (Wiedenfeld, 2000) Los derivados pirroles resultan de una oxidación microsomal de los pirrolizidínicos en el hígado, estos compuestos pirroles reaccionan como agentes alquilantes con nucleótidos biológicos como macromoléculas nucleica y proteínica (Bruneton, 1995)

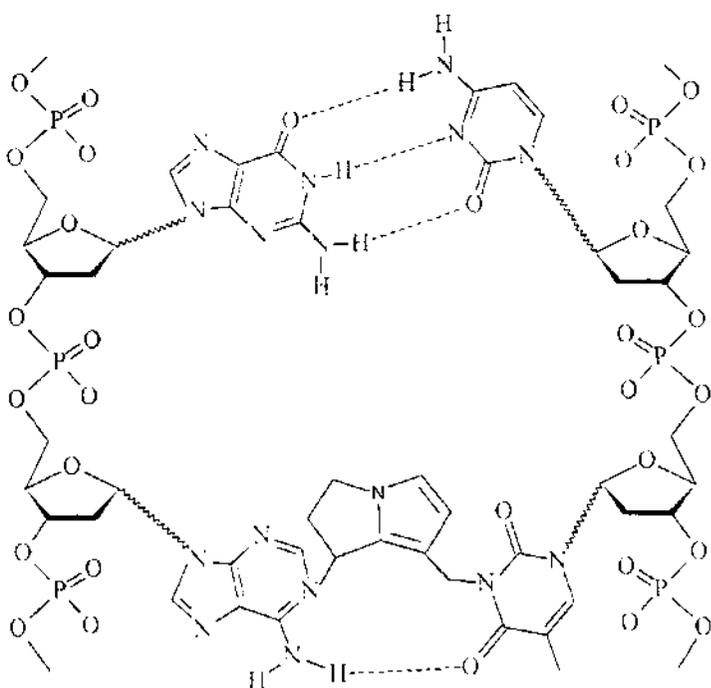


Fig 2 Vía metabólica de los alcaloides pirrolizidínicos (tomado de Wiedenfeld 2000).

Además de sus propiedades farmacológicas, los alcaloides juegan un papel biológico importante por su asociación con insectos como los lepidopteros. Por ejemplo, algunas mariposas de la subfamilia Danaidae utilizan los alcaloides pirrolizidínicos como precursores de la producción de hidropirrolizidínicos, productos que son utilizados por los machos para vuelos de cortejo o afrodisiacos (Wiedenfeld y Roeder, 1990). También en algunas larvas de mariposas nocturnas (polillas) los alcaloides son obtenidos a través de las plantas con las que se alimentan, y son acumulados en los tejidos, lo que las convierten en desagradables a los depredadores y así de esta manera ahuyentarlos (Bruneton, 1995). Otros insectos atrapan los alcaloides pirrolizidínicos de las plantas y los usan como agentes de defensa y

precusores de ferohormonas danaoidona, danaidal e hidroxidanaidal (Wiedenfeld y Roeder, 1990). Por último, se ha encontrado que los alcaloides no sólo tienen propiedades de defensa, por su toxicidad contra herbívoros, insectos, bacterias y hongos, sino que algunos alcaloides de color rojo y amarillo llamados betalainas actúan como atrayentes en flores y frutos de plantas como los cactus y el betabel (Kaufman *et al.*, 1999)

Flavonoides.- Los responsables del color de las flores, frutos y algunas veces de las hojas son los flavonoides, como por ejemplo, las chalconas, auronas y flavonoles amarillos (pigmentos amarillos) y las antocianinas que pueden ser pigmentos rojos, azules o morados (Dewick, 1997). En plantas los flavonoides tienen propiedades antibacteriales y antifúngicas. Los flavonoides son comunes en Briofitas (musgos y hepáticas), en Pteridofitas, Gimnospermas y Angiospermas. De ésta última, en la Familia Asteraceae se han identificado aproximadamente 30 tipos distintos de flavonoides (Bruneton, 1995)

Los flavonoides forman parte del grupo de los fenoles, los cuales poseen en su estructura química un anillo aromático, separados por una unidad propano con uno o más sustituyentes hidroxilo (Cotton, 1996); los flavonoides son derivados de flavona (Kaufman *et al.*, 1999). Estos grupos hidroxilo son libres o esterificados y uno de ellos debe enlazar en la unión glicosídica; tienen un origen biosintético común y por lo tanto poseen la misma estructura elemental llamada esqueleto 2-fenilcromona (*idem ant.*).

Una propiedad medicinal atribuida a los flavonoides es su acción sobre las venas, en donde disminuyen la fragilidad y permeabilidad capilar. Además, son antiinflamatorios, antialérgicos, protegen al hígado (como la isobutrina, hispiridina, flavanolignas), o pueden ser

antiespasmódicos (flavonoides del tomillo). Otros pueden disminuir el colesterol en sangre, algunos flavonoides muestran propiedades diuréticas, antibacteriales, antivirales y en menor número pueden ser citoestáticos *in vitro* (Bruneton, 1995). Dentro del grupo de flavonoides presentes en la industria farmacéutica están los citroflavonoides (de la familia Rutaceae), utilizados en el tratamiento de síntomas crónicos funcionales de las piernas y en insuficiencia orgánica de las venas, como por ejemplo la diosmina, la hesperidina y la rutina.

Terpenos.- La gran mayoría de los terpenos los encontramos en las plantas, aunque también se ha detectado su presencia en animales como los sesquiterpenoides en las ferohormonas de los insectos y en hormonas de juveniles, diterpenos de organismos marinos (Coelenterata, Spongiae) y como exclusivos de plantas están los triterpenos (Bruneton, 1995) Los terpenos vegetales constituyen una amplia gama de sustancias todas ellas basadas en la molécula isopreno (Cotton, 1996. Kaufman *et al.*, 1999)

Existen diversas clases de terpenos, los cuales son clasificados de acuerdo al número de unidades de 5-carbonos que contengan, los más comunes son los monoterpenos (C₁₀), que son en su mayoría aceites esenciales y tienen una actividad aromática y antimicrobial; los sesquiterpenos (C₁₅), lactonas y sesquiterpenoides, encontrados principalmente en Asteraceae presentan actividad tóxica y alérgica, son de sabor amargo; los diterpenos (C₂₀) en su mayoría son las ceras y resinas con actividad biológica tóxica y alérgica, el diterpeno más conocido es el ácido giberiico una de las hormonas vegetales (Cotton, 1996; Kaufman *et al.*, 1999). Por ejemplo los terpenos de bajo peso molecular como los monoterpenos y sesquiterpenos (C₁₀ y C₁₅), generalmente volátiles, son los aceites esenciales de las plantas

como la menta (*Mentha* spp.), la rosa (*Rosa* spp.) o el geranio (*Pelargonium* spp.) (Harborne, 1988; Cotton, 1996).

La función de estos compuestos en las plantas es de dos tipos, fisiológica y ecológica. Muchos de ellos inhiben el crecimiento de plantas alelopáticas, algunas son conocidas como insecticidas y en otras se ha encontrado que atraen a insectos polinizadores (Kaufman *et al.*, 1999). Un ejemplo de terpenos con aplicación farmacéutica es el aceite esencial extraído del árbol de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill.), llamado eucaliptol, que es usado por sus propiedades antisépticas para descongestionar las vías respiratorias en un resfriado común (Bruneton, 1995). Los podolactones (diterpenos) son conocidos por sus propiedades reguladoras en plantas y por su actividad antileucémica; el taxol, otro diterpeno, es un importante antimitótico (Kaufman *et al.*, 1999). Los ginsenosidos triterpenos extraídos del ginseng (*Panax ginseng*) se cree que tienen actividad inmunoestimuladora (Kaufman *et al.*, 1999).

Antecedentes fitoquímicos de *Ageratum houstonianum*.

De las raíces de *A. houstonianum* se han aislado los metabolitos ageratonina y hidroageratonina (benzofuarinas), los cuales están estructuralmente relacionadas con la coumarina e hidroxitremetona respectivamente (Anthonsen y Chantharasakul, 1970). Bowers *et al.* (1976) demostraron la presencia de los terpenos precoceno I y precoceno II, los cuales tienen una actividad hormonal anti-juvenil en insectos. Estos mismos terpenos también fueron reportados por Brooks *et al.* (1979) Chandra *et al.* (1996), aislaron aceites esenciales de *A. houstonianum* proveniente de una región de India, y obtuvieron que el aceite esencial

estaba constituido por un 23.34% del terpeno precoceno I, 43.99% de precoceno II y de beta-cariophylleno por un 9.18%.

Hsia *et al* (1981) mostraron que el precoceno II aislado de *A. houstonianum*, era hepatotóxico para ratas macho, causaba una necrosis de las células parenquimatosas en las áreas hepáticas centrolobulares. Menut, Lamaty, Zollo, Kuate y Bessiere (1993) reportaron la cantidad de precoceno I y II que hay en *A. houstonianum* y en *A. conyzoides*. La primera presenta un 32% de 7-metoxi-2,2-dimetilcromemo (precoceno I) y un 24% de ageratocromeno (precoceno II), y para *A. conyzoides* un 81% de precoceno I y sólo 0.2% de precoceno II. Minonskowski y Gill (1973, 1975), reportaron flavonoides aislados de *A. mexicanum* (*A. houstonianum sensu stricto*) campferol 3,7-diglicosido, quercetina 3-ramnoflicosido, campferol 3-(O-rhamnosiglicosido), quercetina 3,7-diglucosido, quercetina 3-(O-ramnosiglicosido) y campferol 7-glucosido y 3-glucosido.

Quijano *et al.* (1982), aislaron dos polimetoxiflavonas de *A. houstonianum*: agehoustina A y agehoustina, además de agecorynina C, eupalestina y lucidina di-metil-éter. En otros trabajos Quijano, *et al.* (1985, 1987) aislaron agehoustina C y agehoustina D de las partes aéreas de *A. houstonianum*, y aislaron agehoustina E, agehoustina F y agehoustina G. Por último, Fagoonee y Umrit (1981) reportaron que *A. conyzoides* tiene los mismos terpenos, precoceno I y II, que *A. houstonianum*.

OBJETIVOS

Realizar el estudio etnobotánico sobre los usos medicinales de *Ageratum houstonianum* f. *isochroum* en la localidad de Tlanchinol, Hidalgo, México.

Detectar y cuantificar los alcaloides, flavonoides y terpenos presentes en las dos formas descritas de *Ageratum houstonianum* Mill., *Ageratum houstonianum* f. *houstonianum* y *Ageratum houstonianum* f. *isochroum* (Robins.) Johnson

A partir de los resultados fitoquímicos obtenidos, mencionar las implicaciones taxonómicas para esta especie.

ÁREA DE ESTUDIO

Ubicación geográfica.

El trabajo etnobotánico se realizó en el municipio de Tlanchinol, Hidalgo, México, en la comunidad de Tlanchinol (palabra que en náhuatl significa "sobre o encima de la casa quemada") Este poblado está ubicado en el norte del estado de Hidalgo dentro de la Huasteca Hidalguense, enclavada en la provincia de la Sierra Madre Oriental (Luna *et al.* 1994) (Figura 3). El Municipio de Tlanchinol se localiza entre los 20° 59' latitud norte, y 98° 40' longitud oeste (INEGI, página web) a una altitud que va de los 900 a los 1800 msnm (Luna, *et al.* 1994). Su extensión territorial es de 380.3 Km² y sus principales comunidades son Apantlazol, Olotla, Acahuanuzco, Tierra Colorada y Cuatlatán (CEEMH, 1988).

Clima y vegetación.

Esta localidad presenta clima cálido subhúmedo, con una temperatura media anual de 18.9° C y una precipitación media anual de 2691 mm (Luna *et al.* 1994) Su vegetación es bosque mesófilo de montaña, en el que se distinguen las plantas pertenecientes a las familias Solanaceae, Polypodaceae, Rosaceae, Asteraceae, Rubiaceae, Orchidaceae, Melastomataceae, Leguminosae y Convolvuliaceae entre otras (Luna *et al.*, 1994)

Datos poblacionales

El Municipio de Tlanchinol tiene una población de 32,250 habitantes (INEGI, página web) Los grupos indígenas presentes son los de origen nahua y tepehua (CEEMH, 1988). El

ESTADO DE HIDALGO

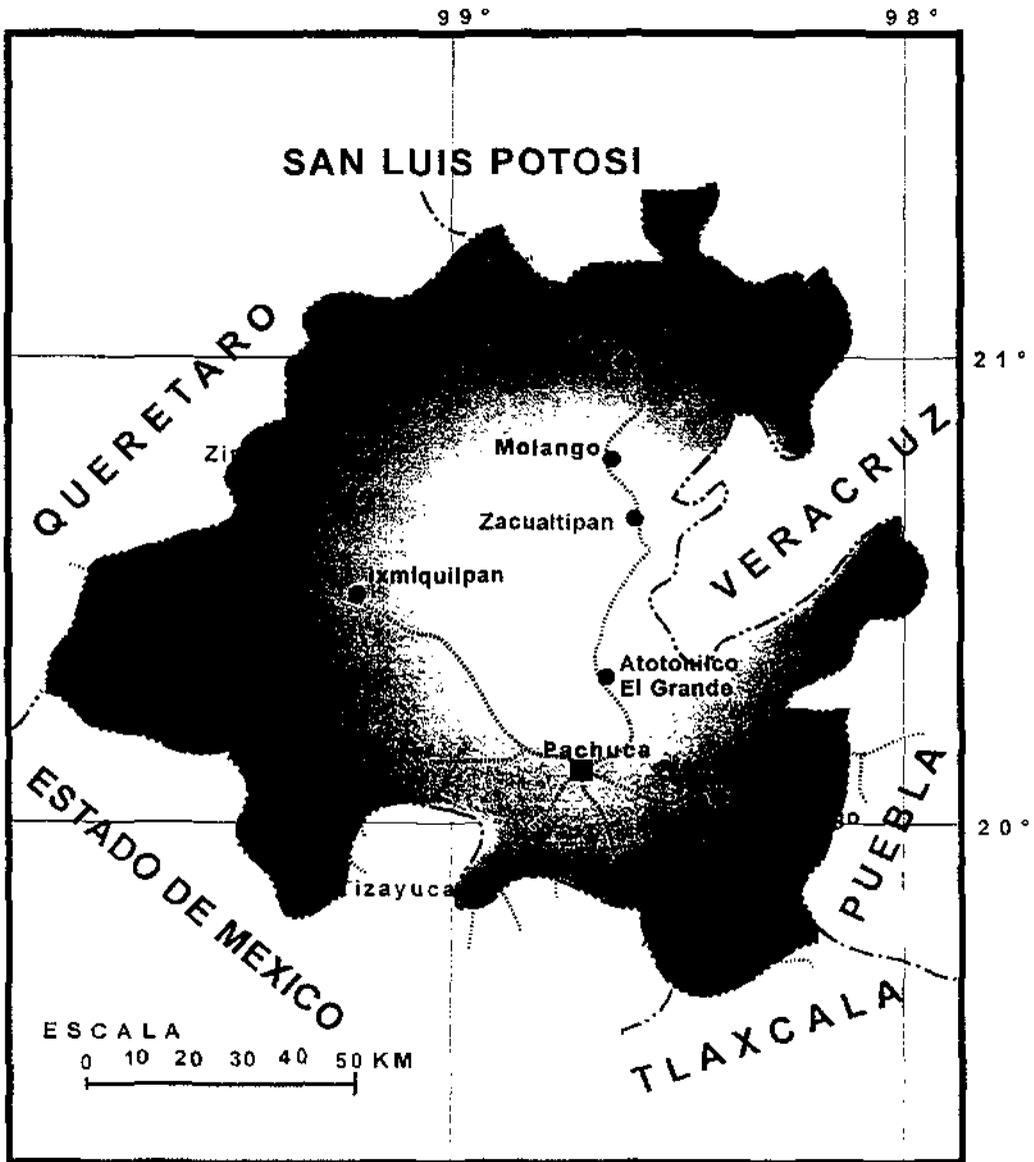


Figura 2. Ubicación geográfica de la localidad de Tlanchinol (◆), Estado de Hidalgo. Las líneas dentro del estado representan las carreteras principales.

3.81% de los habitantes hablan náhuatl y el 63.5% de la población de 15 años en adelante sabe leer y escribir (INEGI, página web).

Actividades económicas.

Las principales actividades económicas que realizan los pobladores de la localidad de Tlanchinol son la agricultura, (cultivo en su mayoría de café, maíz, frijol, plátano y naranja) y la ganadería (bovinos, ovino y porcinos) y la industria minera, siendo el principal material mineral de explotación el manganeso (Luna *et al.* 1994)

METODOLOGÍA

Estudio etnobotánico

Obtención de ejemplares

A continuación se mencionan las localidades y números de catálogo de los ejemplares recolectados de las dos formas descritas de *Ageratum houstonianum*. Todos los ejemplares fueron determinados por el Biól. Enrique Ortiz Bermúdez, quien labora en el Herbario Nacional de México del Instituto de Biología de la UNAM, y fueron depositados en el Herbario del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSSM).

A. houstonianum f. *houstonianum*: San Felipe Usila, Oaxaca (número de recolecta 19 del grupo de etnofarmacología de la Facultad de Ciencias, UNAM, GEFC); Ciudad Alemán, Veracruz (número de recolecta GEFC 74, número de catálogo 14147 del herbario del Instituto Mexicano de Seguro Social, IMSSM)

A. houstonianum f. *isochroum*: Tlanchinol, Hidalgo (números de recolecta 32-36, 38 GEFC, número de catálogo 14141 del IMSSM)

Estudio etnobotánico

El trabajo etnobotánico de campo se llevó a cabo en el poblado de Tlanchinol, Hidalgo (ver detalles de la localidad en la sección área de estudio), en donde se obtuvo información acerca del uso medicinal para *A. houstonianum* f. *isochroum*. Dicha información se obtuvo mediante la aplicación de entrevistas directas a los pobladores por medio de un cuestionario dirigido a la especie en mención, con el apoyo de ejemplares de herbario de la planta recolectados en la comunidad, los cuales fueron previamente determinados. El cuestionario

consistió básicamente en preguntas enfocadas al nombre común de la planta (español y náhuatl), usos medicinales, forma de preparación, parte vegetal empleada, y dosis aplicadas. Los cuestionarios se aplicaron aleatoriamente, sin distinción de sexo, edad o posición socioeconómica.

Para conocer los porcentajes de uso medicinal, parte utilizada de la planta y nombre común se aplicó el índice de fidelidad (Fi) propuesto por Friedman *et al* (1986):

$$Fi = (IP / IU) \times 100$$

Fi = índice de fidelidad.

IP = Número de informantes que mencionen el uso de la especie en estudio para algún fin particular.

IU = total de informantes que mencionan la planta (total de reportes de uso para la planta).

En este caso, para el IU se tomó en cuenta el total del número de reportes de usos mencionados para la planta y no el número total de informantes que mencionaron la planta, ya que algunos informantes conocían más de un uso para ésta. Para obtener el índice de fidelidad del nombre común se aplicó la misma fórmula, en la que IU se consideró como el número de veces en total en el que se dieron los nombres para la planta. Por último, se obtuvieron los porcentajes de la parte utilizada de la planta y su forma de preparación para el uso más común en la comunidad.

Estudio fitoquímico

Todo el material recolectado (aproximadamente 1 m³ para cada forma) se secó en una cámara caliente a 44°C aproximadamente, y posteriormente fue molido y guardado en bolsas de estraza en la oscuridad hasta su procesamiento.

Obtención de extractos

Se procedió a la elaboración de los siguientes extractos: extracto hexánico por el método de Soxhlet para terpenos, extracto metanólico por el método de Soxhlet para flavonoides y alcaloides y extracto ácido también para alcaloides. Todos los procedimientos de extracción utilizados fueron los descritos por Roeder y Wiedenfeld (1977) y Wiedenfeld y Roeder (1979). Para los dos primeros tipos de extracción fueron utilizados 160 g de los ejemplares molidos, mientras que para el tercer tipo de extracción se pesaron 300 g.

El extracto de terpenos se llevó a sequedad con la ayuda de un Rotavapor y fue conservado en una cámara fría a una temperatura de 4° C hasta su uso. Para el caso de los flavonoides se eliminaron las clorofilas del extracto después de la extracción metanólica (de acuerdo con Wiedenfeld, 2000), la fase acuosa se eliminó y el extracto se secó en un rotavapor. El extracto seco se conservó en una cámara fría a 4° C. Los alcaloides del extracto metanólico y ácido también se limpiaron de clorofilas. La fase orgánica, que es la que contiene los alcaloides, fue sometida a evaporación en un Rotavapor. Los extractos secos se guardaron en una cámara fría a 4 ° C.

Detección de metabolitos secundarios

La detección de terpenos, flavonoides y alcaloides se hizo mediante el empleo de dos diferentes técnicas con el fin de verificar la veracidad de los resultados obtenidos: la técnica de cromatografía en capa fina (TLC, por sus siglas en inglés) descrita por Roeder y Wiedenfeld (1977) y Wiedenfeld y Roeder (1979), y la técnica de cromatografía de gases (GC, por sus siglas en inglés) descrita en (Roeder *et al.*, 1990).

Cromatografía en capa fina.

Para los terpenos se hizo una elución de 80:20 diclorometano- metanol respectivamente, y el extracto se disolvió en diclorometano. Para flavonoides se utilizó una elución de diclorometano, acetona, ácido acético y metanol 70:20:10:10 respectivamente, y el extracto se disolvió en metanol. Para alcaloides se preparó una elución de diclorometano, metanol y amoníaco 85:14:1 respectivamente, y el extracto se disolvió en diclorometano.

Los tres extractos se corrieron en placas de vidrio de silicagel 60 (con indicador fluorescente) para cromatografía en capa fina de 5 x 20 cm y con un espesor de 0.25 mm de la marca MERCK™. Dichas placas, se colocaron en la cubeta de cromatografía con su respectivo eluyente por 1 hora aproximadamente o hasta que el extracto corrió a ¾ partes de la placa.

Para el revelado de las placas se utilizó en los terpenos la vainillina como sustancia reveladora y se observó con luz natural. Para el revelado de flavonoides se usó una solución de ácido bórico y se observó la placa con luz UV en un cuarto oscuro. Y finalmente, para

alcaloides pirrolizidínicos se reveló con el reactivo de Dann y observaron las placas con luz normal.

Después de reveladas y observadas las placas se midió el índice de retención (Rf) de los alcaloides y flavonoides, siendo éste la distancia que recorrió el alcaloide sobre la placa medida en centímetros. Para ello se usó la siguiente fórmula (Schewdt, 1994):

$$Rf = \frac{\text{Corrimiento de la sustancia del principio (Csust.)}}{\text{Corrimiento de la solución desde el principio (Csol.)}}$$

En donde,

Csust. = medida en centímetros recorridos de los alcaloides en la placa

Csol. = cm recorridos por el eluyente

La cromatografía de gases se llevó a cabo únicamente para detectar alcaloides. Dicha técnica se efectuó en un cromatógrafo de gases Shimadzu™ modelo GC-9A, con un software de detección (Chromeleon) La muestra fue inyectada automáticamente mediante un inyector (inyección= 40ml/ min) Las condiciones de la cromatografía fueron las siguientes: una columna capilar de 50 m SE-54 (ID 0.32mm), Helio como el gas empleado; temperatura del inyector y detector = 280° C, temperatura del programa inicial = 214° C durante 15 min, la cual subió 10° C por minuto hasta llegar a 250° C durante 7 min, temperatura final = 280° C por 3 min

RESULTADOS

Estudio etnobotánico

Se entrevistó a un total de 50 personas de manera aleatoria, de las cuales el 48% reconoce a *Ageratum houstonianum* f. *isochroum* como planta medicinal. En la localidad bajo estudio se encontraron los siguientes 11 usos medicinales para la planta en mención: 1) para tratar cortadas y heridas, 2) lavado de granos o inflamaciones producidos por piquetes de insectos, 3) para curar la tos, 4) baños después de parir, 5) hemorroides, 6) susto por accidentes, 7) nervios, 8) dolor de muela, 9) resfriado, 10) diarrea y dolor de estómago, y 11) baños para bajar la calentura.

Estos once usos medicinales fueron reducidos a siete dependiendo de la forma de aplicación de la planta y de las propiedades farmacológicas (Cuadro 3). El índice de fidelidad se calculó con base en estos siete grupos. En este caso, el índice de fidelidad se calculó entre el número de reportes para la planta (31) y no entre el número de informantes que mencionan la planta (24), debido a que algunas de las personas entrevistadas conocían más de un uso. En el cuadro 3 se puede apreciar que el uso más generalizado para *A. houstonianum* f. *isochroum* es para curar heridas, cortadas y granos con un 61%. Le siguen con un casi 13% los baños corporales para diferentes padecimientos y como remedio para resfriados y resfriado, y en menor grado, con 3%, el resto de las aplicaciones.

En cuanto a la parte empleada de la planta, independientemente del uso medicinal que se le dé, el 60% de los entrevistados mencionaron que usan toda la planta, el 33% la

hoja y el 7% restante la flor. La forma de preparación que predomina con un 75% es hirviendo la planta en agua, tallada o machacada sobre la piel con un 19%, y remojada en aguardiente con un 6%. Es importante mencionar que para curar la tos, resfriado y dolor de estómago, la gente prepara un té con la planta y lo toman como agua de tiempo.

Cuadro 3. Usos medicinales en Tlanchinol, Hgo. Para *A. houstonianum* f. *isochroum* según su índice de fidelidad (Friedman, 1986)

Uso	F _i (%)
Cortadas, heridas, granos	61
Baños (para después de panrr, calentura o nervios)	13
Tos, resfriado	13
Hemorroides	3
Dolor de muela	3
Diarrea, dolor de estómago	3
Susto por accidente	3

El uso más frecuente que se le da a *A. houstonianum* f. *isochroum* en Tlanchinol, Hgo. es para curar heridas, cortadas y granos. Las formas de preparación para este uso en particular fueron en un 84.2% hirviendo la planta en agua (ya sea completa, las hojas o la flor), para después hacer lavados sobre la cortada, o tallada la hoja directamente sobre la herida en un 15.8%. La estructura vegetal más utilizada en la preparación del remedio fue toda la planta con 68.4%, la hoja con 21.05% y la flor con 10.5%.

El 70.8% de los informantes conocía el nombre de la planta. En español la llaman mostranzo, mostranzo cimarrón, mostrancillo, flor azul, hierba azul, violeta, chupona y hierba del pasmo y en náhuatl chíaxochitl o chiantoloxochitl y micaxihuil. Estos diez nombres fueron agrupados en seis y se calculó el índice de fidelidad para cada uno (Cuadro 4):

Cuadro 4. Índice de fidelidad de Friedman (1986) de los nombres comunes para *A. houstonianum f. houstonianum* en Tlanchinol, Hgo.

Nombre español	Ft (%)	Nombre náhuatl	Ft (%)
Mostranzo, mostranzo	41	5) Chiaxochitl,	6
narrón, mostrancillo		chiantoloxochitl	
flor azul, hierba azul, violeta	29	6) Micaxihuitl	6
Chupona	12		
Hierba del pasmo	6		

En el cuadro 4 se muestra el nombre en español más conocido, que es el de mostranzo con sus variantes (41%), y chiaxochitl y micaxihuitl en náhuatl, los cuales son mencionados con la misma frecuencia (6%).

En el cuadro 5 se muestran los índices de fidelidad de Friedman (1986) de los cuestionarios aplicados por Sabido (2000; modificados en este estudio para su comparación) para conocer el uso medicinal de *A. houstonianum f. houstonianum* en esta localidad. El índice de fidelidad del estudio mencionado anteriormente, y que es el único realizado para la forma *A. houstonianum f. houstonianum*, se calculó con la finalidad de comparar con los mismos parámetros los usos reportados de las dos formas de *A. houstonianum*, ya que esta metodología no fue usada en el trabajo anterior.

En la comunidad de San Felipe Usila, Oaxaca el uso medicinal más frecuente es para el gusto (82%), la planta es preparada remojándola con aguardiente en la mayoría de los

...s (64%) y remojada en agua en un 36%; la parte utilizada de la planta para ambas formas de preparación fue la hoja con un 57%, toda la planta en un 36% y la flor sólo en el 7% de los casos.

Cuadro 5 Índices de fidelidad de Friedman (1986) para los usos medicinales de *A. houstonianum* f. *houstonianum* en San Felipe Usila, Oaxaca (resultados tratados de manera diferente para este estudio).

Enfermedad	F _i
Susto	82
Heridas	6
Dolores	6
Baños para bajar calentura en niños	6

Estudio fitoquímico

No se encontraron terpenos en los extractos utilizados por el método de cromatografía de capa fina. Para el caso de los flavonoides, en la Fig. 4 se observa una placa hecha por cromatografía de capa fina (TLC) para identificación de flavonoides. Esta placa muestra la presencia de tres flavonoides, dos de color anaranjado (números 1 y 2) y uno de color azul (número 3) que están en la misma posición y con el mismo color para ambas formas de *A. houstonianum*. Además, en el extremo derecho de la placa se corrieron dos flavonoides puros, quercitina y rutina (coloración amarilla), los cuales tuvieron la función de actuar como muestras patrón para poder comparar el comportamiento de los flavonoides en la placa. En el cuadro 6, se muestran los R_f obtenidos de los flavonoides presentes en los extractos de *A. houstonianum* f. *isochroum* y en *A. houstonianum* f. *houstonianum* (planta 74) que se observan en la figura 4. Con base a los resultados obtenidos, se puede afirmar que los

A. houstonianum
f. *isochroum*

A. houstonianum
f. *houstonianum* (74)

quercitina

rutina

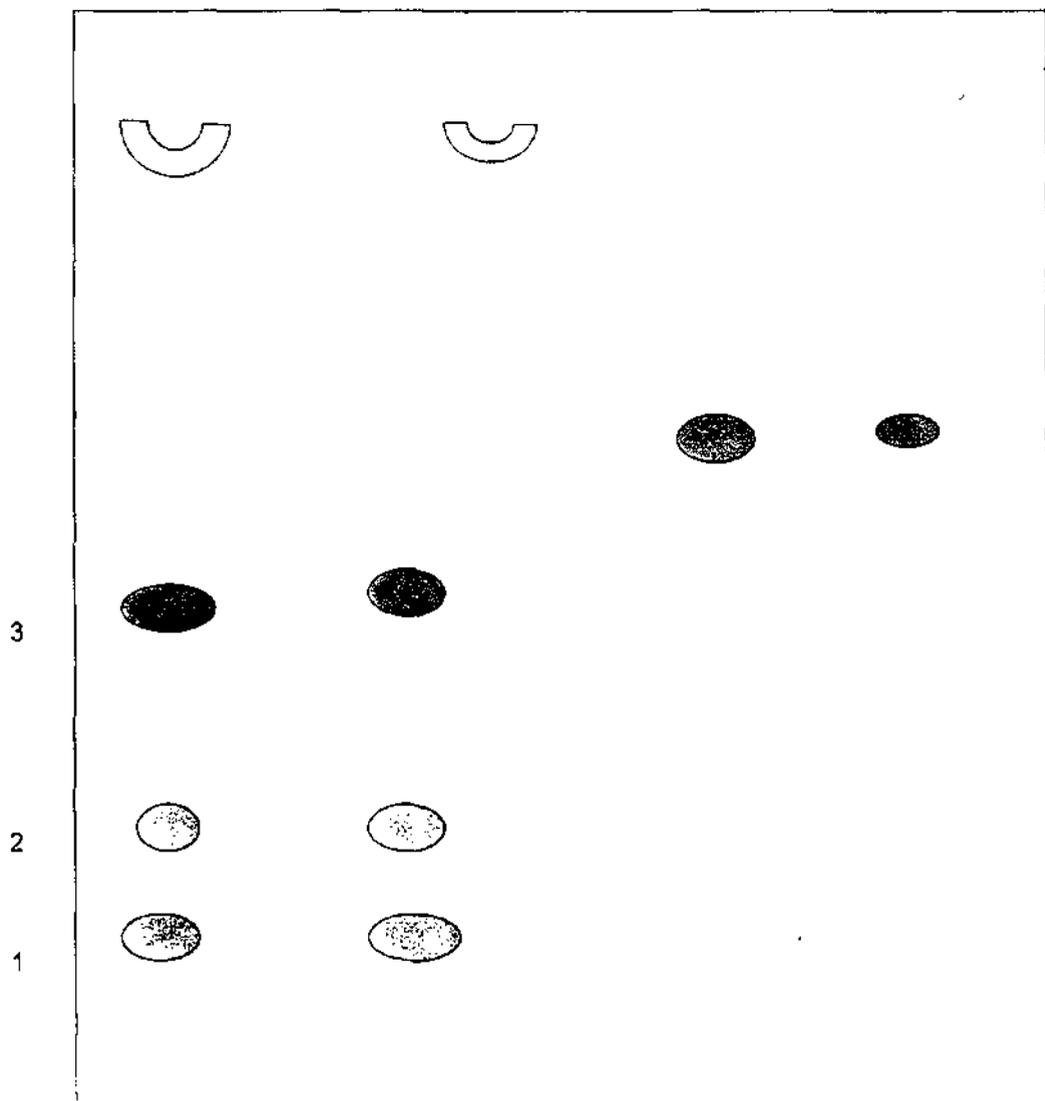


Figura 4. Placas de cromatografía en capa fina para flavonoides.

flavonoides encontrados en ambas plantas son iguales, de acuerdo al patrón de coloración y al corrimiento (Rf).

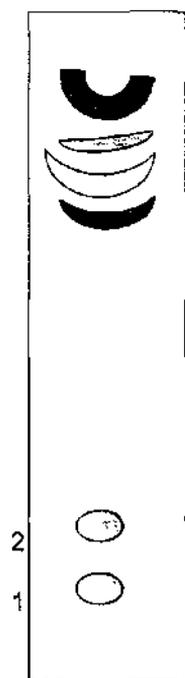
Cuadro 6. Índice de retención (Rf) de los flavonoides presentes en ambas formas de *Ageratum houstonianum*.

Número	<i>A. f. isochroum</i>	<i>A. h. houstonianum</i>
1	0.11	0.11
2	0.19	0.19
3	0.33	0.33

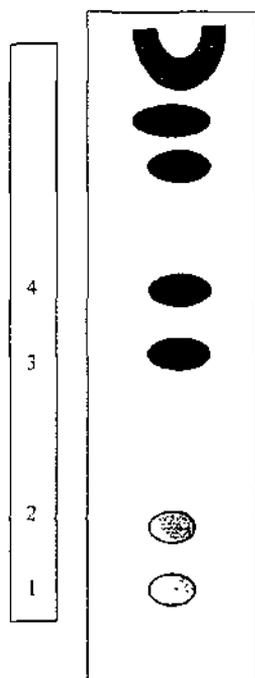
La figura 5 representa a las placas hechas especialmente para alcaloides, las dos primeras son extracciones ácidas y la última metanólica. De acuerdo con esta figura, en *A. houstonianum f. isochroum* se pueden contar dos alcaloides de coloración rosa (números 1 y 2); para *A. houstonianum f. houstonianum* de Veracruz la placa presenta 4 manchas, los números 3 y 4 son de color morado, lo que nos indica que son alcaloides tóxicos, y los números 1 y 2 de color rosa, que indica que no son tóxicos; por último, en *A. houstonianum f. houstonianum* de Oaxaca se ven dos alcaloides color rosa (números 1 y 2)

En el Cuadro 7 se observan los (Rf) de los alcaloides en las placas, para poder comparar la posición de éstos en cada una de las muestras de extracto para *A. houstonianum*. Los alcaloides 1 y 2 obtenidos a partir de extracción ácida para *A. houstonianum f. houstonianum* (74) presentan un Rf de 0.12 y 0.21 respectivamente, prácticamente el mismo tiempo de retención que los alcaloides número 1 y 2 de extracción ácida de *A. houstonianum f. isochroum*, los cuales además presentan la misma coloración. En *A. houstonianum f. houstonianum* (19), los alcaloides corrieron de diferente manera, probablemente debido al tipo de extracción (metanólica), su Rf es igual a 0.36 para el

a) Ex. ácido



b) Ex. ácido



c) Ex. metanólico

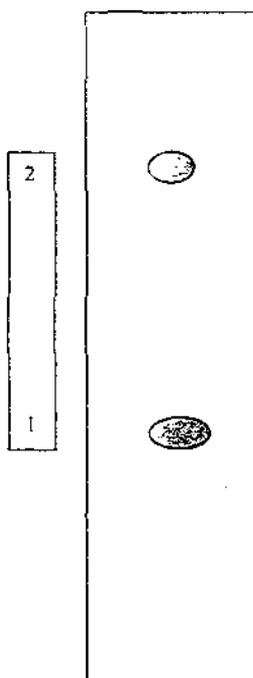


Figura 5. Placas de cromatografía en capa fina para alcaloides.

a) *A. houstonianum* f. *isochroumm*, extracto ácido; b) *A. houstonianum* f. *houstonianum* (planta 74), extracto ácido; c) *A. houstonianum* f. *houstonianum* (planta 19), extracto metanólico.

alcaloide número uno y 0.85 para el segundo. Los alcaloides 3 y 4 de la planta 74 son tóxicos (por su coloración morada) y sólo se observaron en ésta, sus tiempos de retención son 0.33 y 0.41 respectivamente, seguramente en este caso influyó la época del año de colecta de la planta o la concentración del compuesto en el corrimiento de la placa.

Tabla 7. Índice de retención (Rf) de los alcaloides presentes en ambas formas de *Ageratum houstonianum*, para la extracción ácida y metanólica.

<i>A. houstonianum</i> (Guatemala) Extracción ácida	Núm.	<i>A. houstonianum</i> f. (Sochroum) (Jalisco) Extracción ácida	Núm.	<i>A. houstonianum</i> (Guatemala) Extracción metanólica
0.12				
0.21	1	0.21		
	2	0.28		
0.33			1	0.36
0.41			2	0.85

Según los datos observados en las placas de cromatografía para alcaloides, se puede decir que ambas formas de *Ageratum houstonianum* son iguales químicamente, aunque los alcaloides hayan corrido de diferente manera, ya que puede variar la concentración de éstos dependiendo del tipo de extracción o la época del año en la cual la planta fue colectada.

En el trabajo de laboratorio realizado para este estudio se logró el extracto de las tres muestras de plantas (número 19, 74 y de las 32 a las 38). Una vez aislados los alcaloides de estas plantas, fueron enviados para su identificación al Instituto de Farmacia de la Universidad de Bonn, lográndose la elucidación estructural de cuatro compuestos. Si bien, la

estructura de los compuestos no formó parte de este trabajo, ésta se llevó a cabo en parte gracias a los extractos aquí preparados.

En la Fig. 6 se observa nuevamente una placa de cromatografía en capa fina para alcaloides. Esta placa se corrió con los alcaloides determinados en la Universidad de Bonn por el Dr. H. Wiedenfeld y el Dr. A. Andrade-Cetto con el método de espectroscopia de masas y resonancia magnética nuclear C^{13} NMR y H^1 NMR, a partir de los extractos aquí realizados. En esta placa se ven los cuatro alcaloides previamente detectados en el extracto ácido de *A. houstonianum* f. *houstonianum* (planta 74 figura 6) de manera más detallada. Se encontraron tres alcaloides pirrolizidínicos nuevos, la isoretrohoustina, la retrohoustina y la heliohoustina, así como la lycopsamina, alcaloide ya conocido, todos éstos en ambas formas de la especie. Con este resultado se confirmó que las dos formas descritas para *Ageratum houstonianum*, en cuanto a alcaloides se refiere son iguales independientemente de la muestra que sea examinada.

Además del TLC, los extractos ácido y metanólico para alcaloides, fueron analizados por cromatografía de gases (gráficas 1, 2 y 3), en donde se grafica voltaje (mV) en el eje de coordenadas Y, contra tiempo (min), en el eje de coordenadas X. El tiempo de retención y el voltaje son específicos para cada sustancia y dependen del compuesto que se haya inyectado. De esta manera cada pico corresponde a un alcaloide previamente identificado.

A. houstonianum f. *houstonianum* (Gráfica 1) presenta tres alcaloides pirrolizidínicos: heliohoustina localizada en las coordenadas (14.12, 30.12), retrohoustina (14.6, 46.6) e isoretrohoustina (14.6, 4.1) Los alcaloides heliohoustina y retrohoustina también los

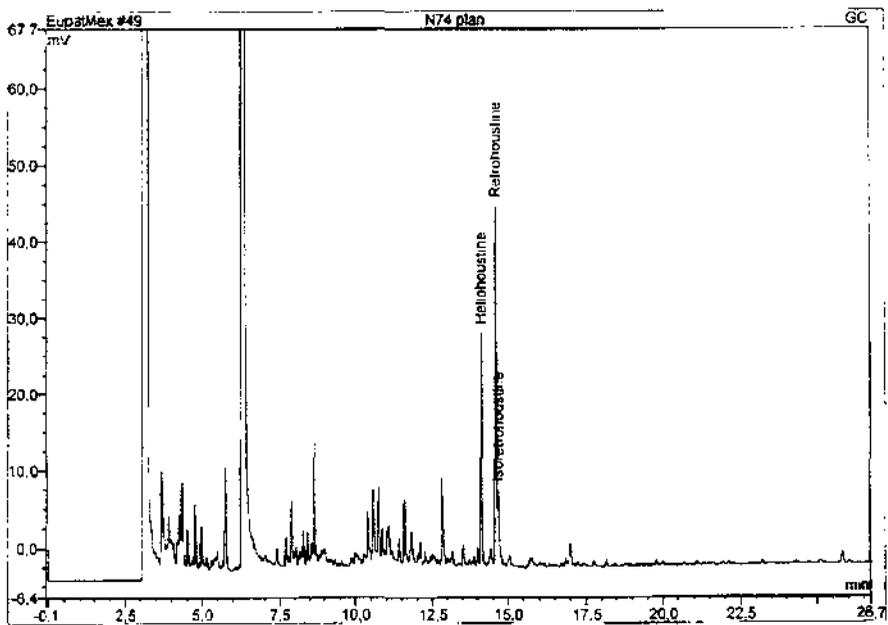


angeloylheliotridina
Lycopsamina

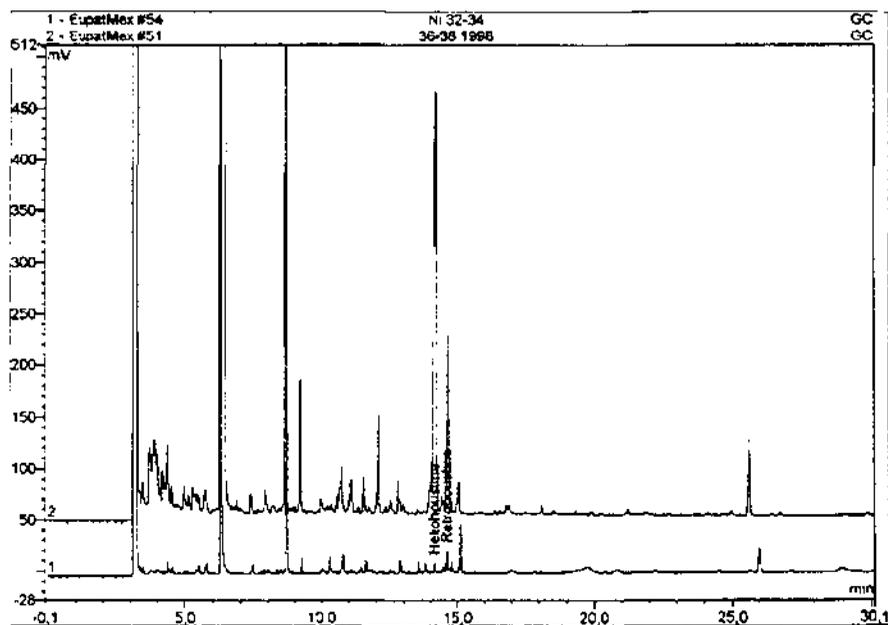
Isoetrohoustonina
Retrohoustonina
Heliohoustonina
N-oxidada

angeloylheliotridina 1 2 3 4

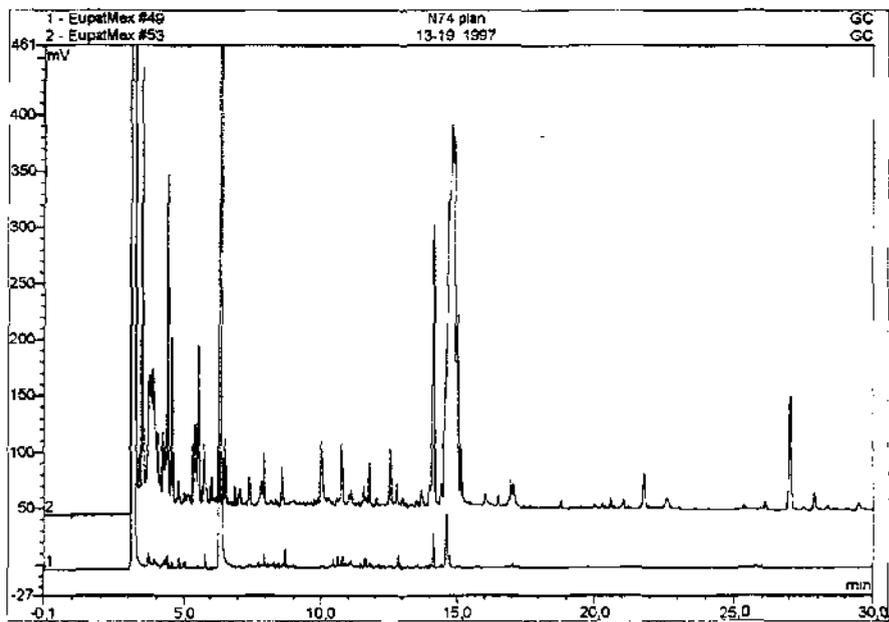
Figura 6. TLC de alcaloides. 1) y 4) *A. houstonianum* f. *isochroum*, 2) *A. houstonianum* f. *houstonianum* (19) y 3) *A. houstonianum* f. *houstonianum* (74).



Gráfica 1 GC para alcaloides de *A. houstonianum* f. *houstonianum* (planta 74)
 Realizado por el Dr. Wiedenfeld, Universidad de Bonn, Alemania.



Gráfica 2. GC para alcaloides de *A. houstonianum* f. *isochroum*.
 Realizado por Dr. Wiedenfeld, Universidad de Bonn, Alemania.



Gráfica 3. GC para alcaloides de *A. houstonianum* f. *houstonianum* (74) y *A. houstonianum* f. *houstonianum* (19).

Realizado por el Dr. Wiedenfeld, Universidad de Bonn, Alemania.

Podemos observar en las gráficas 2 y 3, que corresponden a *A. houstonianum* f. *isochroum* y a *A. houstonianum* f. *houstonianum* respectivamente. La gráfica 3 muestra un solapamiento entre los *A. h. houstonianum* de dos localidades (Veracruz y Oaxaca) y se observa claramente que los compuestos tienen el mismo tiempo de retención para los dos alcaloides heliohoustina y retrohoustina de aproximadamente 14 y 14.5 min.

DISCUSIÓN

Aplicaciones etnobotánicas

El género *Ageratum* cuenta con varias especies usadas en la medicina tradicional, tanto a nivel nacional como mundial (Johnson, 1971). Por ejemplo, la especie *A. conyzoides* se distingue por ser una planta frecuentemente utilizada en diversas regiones del planeta incluyendo a México. Es empleada para curar enfermedades de la piel, para cortadas, como antipirético, para el dolor de estómago, para la fiebre, como purgante y para detener hemorragias vaginales, eliminar granos y para la garganta inflamada, entre otros (Johnson, 1971). Además, en nuestro país las especies *A. littorale*, *A. corymbosum* y *A. gaumeri* son empleadas en la medicina tradicional. Estas tres especies mencionadas anteriormente, son utilizadas en la parte sureste del país contra enfermedades de la boca, para granos, ardor en la piel, hemorragia, etc., usos semejantes a *A. conyzoides* reportados para el resto del mundo (Johnson, 1971) (ver antecedentes).

En cuanto a la especie *A. houstonianum*, solo se conocen dos trabajos en donde se menciona el uso medicinal de esta. Uno de ellos es un breve reporte incluido en un trabajo taxonómico del género *Ageratum* (Johnson, 1971) en donde se menciona que la especie en cuestión es utilizada en Guatemala para tratar problemas de garganta inflamada. El otro trabajo es un estudio etnofarmacológico realizado por Sabido (2000), en donde se hizo un estudio etnobotánico para la forma *A. houstonianum* f. *houstonianum* en la comunidad de San Felipe Usila, Oaxaca. Este estudio reportó que esta planta sirve principalmente para el gusto y de manera poco frecuente para curar heridas en la piel.

Los usos mencionados en el trabajo de Sabido (2000) para *A. houstonianum* f. *houstonianum* coinciden con los datos encontrados en el presente estudio para *A. houstonianum* f. *isochroum* en la localidad de Tlanchinol, Hidalgo. En esta última localidad esta planta, que es nombrada comúnmente "mostranzo", es utilizada principalmente para curar heridas, cortadas o granos, y en menor medida como un remedio contra el susto. Dicha coincidencia en cuanto a los mismos usos medicinales para esta especie por parte de etnias diferentes como lo son la náhuatl (presente en Tlanchinol, Hidalgo) y la chinanteca (presente en Usila, Oaxaca) sugiere que probablemente *A. houstonianum*, así como otras especies del mismo género, tengan propiedades antisépticas, antiinflamatorias o relajantes. Debido a lo anterior, es importante realizar pruebas farmacológicas que apoyen o refuten el uso tradicional de estas plantas.

De acuerdo con este estudio etnobotánico, *A. houstonianum* f. *isochroum* en la comunidad de Tlanchinol, Hidalgo, se usa por el 61% de los entrevistados para aliviar heridas, cortadas o granos, éstos últimos ocasionados por piquetes de insectos, la forma de preparación más frecuente es hirviendo la planta en agua y haciendo lavados con ésta sobre la herida. Estas aplicaciones medicinales sugieren que la planta probablemente tenga alguna propiedad bacterioestática, antiséptica o relajante, lo cual coincide con reportes anteriores

Aplicaciones fitoquímicas

En el presente trabajo se detectaron cuatro alcaloides pirrolizidínicos y tres flavonoides, tanto para *A. houstonianum* f. *houstonianum* como para *A. houstonianum* f. *isochroum*. Los datos fitoquímicos aquí encontrados para *A. houstonianum* f. *houstonianum* y para *A. houstonianum* f. *isochroum* revelaron que ambas formas son iguales en cuanto a su contenido de flavonoides y alcaloides. No obstante, no se encontraron terpenos, lo cual contrasta con lo observado en anteriores estudios para la misma especie (Bowers *et al.*, 1976; Brooks *et al.*, 1979; Chandra *et al.*, 1996), en donde se encontraron diferentes tipos de este metabolito secundario como el precoceno I y II.

En otros trabajos fitoquímicos de la especie *A. houstonianum*, se aislaron los flavonoides campferol 3,7-diglucosido, quercetina 3-ramnoflicosido, quercetina 3,7-diglucosido, entre otros (Minonskowski y Gill, 1973, 1975). Además, de la misma especie se han aislado flavonoides del tipo polimetoxiflavonas como lo son la agehoustina A, B, C, E, F, G (Quijano *et al.*, 1982, 1985, 1987). En el presente trabajo solamente se detectaron tres flavonoides presentes en ambas formas de la especie, los cuales sean probablemente algunos de los compuestos ya reportados. Para poder afirmar lo anterior se requieren estudios más detallados sobre estos compuestos.

Tanto los terpenos como los flavonoides muestran propiedades terapéuticas, a éstos últimos se les atribuye una acción sobre las venas, como antiinflamatorios o como antialérgicos, principalmente. (Bruneton, 1995) Por otra parte, los terpenos tienen diversos efectos terapéuticos, por ejemplo para descongestionar las vías respiratorias como el eucaliptol (Kaufman *et al.*, 1999) Estos efectos farmacológicos de terpenos y flavonoides

corroboran los usos tradicionales dados a *A. houstonianum* f. *isochroum* y *A. houstonianum* f. *houstonianum* en los estados de Hidalgo y Oaxaca

En cuanto a alcaloides pirrolizidínicos se refiere, en este estudio fitoquímico se detectaron cuatro alcaloides para ambas formas de *A. houstonianum*: isoretrohoustina, retrohoustina, heliohoustina y lycopsamina. Éste último, es un compuesto reportado también para *Eupatorium compositifolium*, así como en otras especies (Harborne y Baxter, 1993) que pertenecen a la tribu Eupatorieae, al igual que *A. houstonianum*

Ageratum houstonianum es una planta cuya importancia medicinal falta aún por ser investigada de manera rigurosa, ya que es necesario evaluar por medio de pruebas farmacológicas las supuestas propiedades antisépticas, relajantes y/o antiinflamatorias, como se mencionó en párrafos anteriores. En caso de que estas pruebas resultaran positivas, el siguiente paso consistiría en conocer qué compuestos son los que intervienen en este proceso.

Por otra parte, el principal efecto sobre la salud que tiene *Ageratum houstonianum* radica en que este presenta alcaloides pirrolizidínicos, compuestos que han demostrado tener actividad hepatotóxica, produciendo necrosis y cirrosis en el hígado en animales de laboratorio y en humanos (Mattocks, 1986; Bah, 1994). Además, sus pirroles, producidos en el hígado, son agentes alquilantes que se unen a las macromoléculas de la célula provocando efectos carcinogénicos y mutagénicos (Huxtable, 1989; Bah, 1994). Estos efectos pueden presentarse si la planta es tomada, como en el caso de usarla como remedio para la tos, resfriado o dolor de estómago (usos medicinales reportados en Tlanchinol, Hgo.),

que su ingestión es por vía oral, por lo que hay que evitarla ya que daña el hígado de manera directa. En el caso de la toxicidad por absorción (a través de baños corporales o cuando la hoja es tallada directamente sobre la piel por causa de heridas o cortadas), el daño es menor que el ocasionado por los alcaloides pirrolizidínicos en el hígado, ya que los materiales hepatotóxicos que entran por la piel se pueden eliminar por medio del tejido o por orina (Bah, 1994). Es importante mencionar que los alcaloides aislados de ambas formas de *A. houstonianum* no son considerados como extremadamente tóxicos.

Diferencias quimiotaxonómicas

Los metabolitos secundarios de las plantas han demostrado tener gran relevancia como información taxonómica ayudando en la caracterización, descripción y clasificación de una especie (Fairbrothers, 1968, Stace, 1984). Los compuestos mejor conocidos para este fin incluyen a los alcaloides, fenoles, terpenos y carbohidratos (Stace, 1984). Los flavonoides son productos químicos de especial interés en la taxonomía debido a que presentan una alta variabilidad estructural, una estabilidad química, una amplia distribución en el reino vegetal y una sencilla identificación (Harborne, 1967; Fairbrothers, 1968). Últimamente se han utilizado los alcaloides pirrolizidínicos como marcadores taxonómicos para la familia Asteraceae, siendo un ejemplo de ello el trabajo del género *Senecio* realizado por Pérez *et al.* (1999; 2000).

Para el caso de las dos formas *Ageratum houstonianum*, los datos fitoquímicos obtenidos en este trabajo por medio de las técnicas de cromatografía de capa fina y de la cromatografía de gases mostraron que ambas contienen los mismos alcaloides y flavonoides, lo cual sugiere una misma composición química de estos metabolitos secundarios para ambas formas.

De acuerdo con Johnson (1971), *A. houstonianum* f. *houstonianum* y *A. houstonianum* f. *isochroum* son diagnosticables morfológicamente por presentar diferencias en la estructura de su vilano. No obstante, en revisiones posteriores de la especie (Turner, 1997, King y Robinson, 1987) esta variación se consideró como variación individual y no como una variación geográfica consistente como para poder diagnosticar a ambas formas, por lo que se propuso eliminar esta categoría. Sin embargo, esta última conclusión fue sugerida sin haber realizado un examen riguroso sobre la taxonomía de la especie en mención. La aportación quimiotaixonómica de este trabajo, que indica una misma composición química para flavonoides y alcaloides en ambas formas de *Ageratum houstonianum*, no puede ser conclusiva en cuanto a que debiera usarse un solo nombre para todas las poblaciones de esta especie, ya que para esto debe examinarse de manera rigurosa otro tipo de evidencia, tanto a nivel morfológico como molecular.

Durante las últimas dos décadas, y con el surgimiento de conceptos de especie evolutivos (p. ej., concepto evolutivo, concepto filogenético), se ha puesto en evidencia la naturaleza artificial que representan las categorías subespecíficas, ya que los taxones nombrados con dichas categorías no representan unidades discretas y en muchas ocasiones no son taxa naturales (p. ej., Frost y Hillis, 1990). Los conceptos de tipo evolutivo sugieren que en caso de que se encuentre evidencia incontrovertible de aislamiento geográfico, diagnosticabilidad morfológica o genética, e historias filogenéticas distintas, dos poblaciones taxonómicamente asignadas a una especie deben ser consideradas como especies independientes (Frost y Hillis, 1990).

Tomando en cuenta todo lo anterior, para resolver de manera definitiva la problemática taxonómica de las formas descritas de *Ageratum houstonianum* es necesario realizar estudios que ayuden a conocer bien la distribución geográfica de ambas formas, investigar diversos tipos de caracteres que ayuden a una posible diagnosticabilidad de éstas, así como realizar análisis filogenéticos para evaluar la monofilia de las poblaciones de la especie.

CONCLUSIONES

Ageratum houstonianum f. *isochorum* es conocida en la comunidad de Tlanchini. Hgo. como mostranzo (palabra en castellano), y como chixochitl o micaxihui (palabra en náhuatl). Esta planta medicinal es empleada principalmente para lavar heridas, cortadas o granos, y en menor medida como remedio contra el susto.

La comparación del presente estudio con otro trabajo etnobotánico, muestra una coincidencia en el uso medicinal de las dos formas de *Ageratum houstonianum* en dos estados de la República Mexicana: Oaxaca e Hidalgo. En el primer estado *A. houstonianum* f. *houstonianum* se ocupa principalmente para curar el susto, y en menor grado para lavar heridas. Los usos medicinales reportados para esta especie no tienen un efecto hepatotóxico considerable, ya que la manera de preparación y aplicación es en la mayoría de los casos por vía dérmica, de modo que las posibles sustancias nocivas (alcaloides pirrolizidínicos) no están presentes en la forma de preparación utilizada tradicionalmente.

Para ambas formas *A. houstonianum* f. *houstonianum* y *A. houstonianum* f. *isochorum*, se detectaron tres flavonoides y cuatro alcaloides pirrolizidínicos, lo cual sugiere que ambas formas son químicamente iguales en cuanto a estos metabolitos secundarios se refiere.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

BIBLIOGRAFÍA

- Juliar, A., J. R. Camacho, y S. Chino. 1994. Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. IMSS. México. pp. 36, 250.
- Mathonsen, T., S. Chantharasakul. 1970. Ageratone and dihydroageratone, new benzofuran derivatives from *Ageratum houstonianum*. Acta Chem Scand 24 (2) 721-722.
- Queta, V. A., y L. M. Cano Asseleh. 1994. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Instituto Nacional Indigenista. México. DF. Tomo I pp. 363. tomo II pp. 726.
- Wagner, J. G. 1876. Compositae. En: C. R. P. von Martius, Flora Brasiliensis 6 (2-3). Leipzig.
- Wah, M., R. Bye, y R. Pereda. M. 1994. Hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids in the Mexican medicinal plant *Packera candidissima* (Asteraceae, Senecioneae). Journal of Ethnopharmacology 43: 19-30
- Walick, M. J. 1994. Ethnobotany, drug development and biodiversity conservation – exploring the linkages. En: Ethnobotany and the search for new drugs. Wiley, Chichester (Ciba Foundation Symposium 185) pp. 4-24
- Wentham, G. 1852. Compositae Centroamericanae. Vidensk. Meddel. Dansk Naturhist pp. 65-121
- Winters, W. S., T. Ohta, J. S. Cleere, y P.A. Marsella. 1976. Discovery of insect antijvenile hormones in plants. Science. 193 (4253): 542-547
- Winters, W. S. 1977. Chromene compounds useful as insecticides with antijvenile hormone action. DE 2639671. Cornell Research Roundation, I. USA. (patent).

- Bowers, W. S. 1987. Preparation of dialkylalkoxychromenes as antijuvenile hormones and their isolation from *Ageratum houstonianum*, US 4656189 A. Cornell Research Foundation, I: USA, (patent).
- Brooks, G. T., A. F. Hamnett, R. C. Jennings, A. P. Ottridge, y G. E. Pratt. 1979. Aspects of the mode of action of precocenes on milkweed bugs (*Oncopeltus fasciatus*) and locusts (*Locusta migratoria*). Proc. Br. Crop Prot. Conf.-Pests Dis. No 1 273-279.
- Bruneton 1995. Pharmacognosy, Phytochemistry Medicinal Plants. Technique and Documentation-Lavoisier France. 915 pp.
- Candolle, A. P. de 1836. Prodromus Systematics Naturalis Regni Vegetabilis 3. Paris.
- CEEMH (Centro Estatal de Estudios Municipales de Hidalgo). 1988. Los Municipios de Hidalgo. Colección Enciclopedia de los Municipios de México, Pachuca. Hgo. 303 pp.
- Chandra, S., A. K. Shahi, P. Dutt, y A. Tava. 1996 Essential oil composition of *Ageratum houstonianum* Mill. from Jammu region of India J Essent. Oil Res 8 (2) 129-134
- Cotton, C. M. 1996 Ethnobotany. Principles and applications John Wiley & Sons England. 424 pp.
- Cracraft, J. 1983. Species concepts and speciation analysis. Current Ornithology Vol Plenum Press, New York pp. 159-187.
- Dewick. 1997 Medicinal Natural Products. Ed. Wiley England. 466 pp.
- Fagoonee, I. I., y G. Umrit. 1981 Antigonodotropic hormones from the goatweed, *Ageratum conyzoides* Insect Sci Its Appl 1 (4) 373-376
- Fairbrother, D. E. 1968. Chemosystematics with emphasis on systematic serology En: Modern methods in plant taxonomy, Academic Press, Inc. USA. pp.141-146

- Farnsworth, N. R. 1994. Ethnopharmacology and drug development. En: Ethnobotany and the search for new drugs. Wiley, Chichester (Ciba Foundation Symposium 185) pp. 42-59.
- Flora Medicinal Indígena de México. Tomo III. 1994. Instituto Nacional Indigenista. México, D F Biblioteca de la Medicinal Tradicional Mexicana.
- Friedman, J., Z. Yaniv, A. Dafni, y D. Palevitch 1986. A preliminary classification of the healing potential of medicinal plants, based on a ration analysis of an ethnopharmacological field survey among bedouins in the Neveg desert. Israel. Journal of Ethnopharmacology 16. pp. 275-287
- Frost D. R., y D. M. Hillis. 1990. Species in concept and practice: Herpetological applications. Herpetologica 46 87-104
- Harborne, J. B. 1967. Comparative biochemistry of the flavonoids Academic Press. London.
- Harborne, J. B 1988. Introduction to Ecological Biochemistry. Academic Press. London.
- Harborne, J. B. y H. Baxter. 1993. Phytochemical Dictionary A handbook of bioactive compounds from plants. Capitulo 26 pp 255-266.
- Hedberg, I 1993. Botanical methods in ethnopharmacology and the need for conservation of medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology, 38. 121-128.
- Heinrich, M., M. Robles, J. E. West, B. R. Ortiz de Montellano, y E. Rodriguez. 1998. Ethnopharmacology of Mexican Asteraceae (Compositae) Ann Rev Pharmacol. Toxicol 38 539-565.
- Hemsley, W. 1881. Botany. En. Godman y Salvin editors, Biologia Centrali-americana 5. London.
- Holmstedt B. y J. G. Bruhn 1983. Ethnopharmacology- A Challenge. Journal of Ethnopharmacology 20. 251-256.

- Hsia, M. T. S., S., Grossman, y K. R. Schrankel. 1981. Hepatotoxicity of the antijuvenile hormone precocene II and the generation of dihydrodiol metabolites. *Chem.-Biol. Interact.* 37 (3): 265-277.
- Huxtable, R. J. 1989. Human Health implications of pyrrolizidine alkaloids and herbs containing them. En: *Toxicants of plant Origin. Alkaloids Vol. I.* CRC Press. Boca Raton. FL. pp. 41-86
- Johnson, M. F. 1971. A monograph of the genus *Ageratum* L. (Compositae- Eupatorieae). *Annals of the Missouri Botanical Garden.* Vol. 58. 6-82 pp.
- Kaufman, P. B., L. J. Cseke, S. Warber, J. A. Duke, y H. L. Brielmann. 1999. *Natural Products from Plants.* CRC Press. USA. pp 1-90.
- King, R. M. y H. Robinson. 1987. *The Genera of the Eupatorieae (Asteraceae).* Monographs in Systematic Botanic from the Missouri Botanical Garden. USA. 581pp.
- Kuklinski, C. 2000. *Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural.* Omega. Barcelona. pp. 3-5
- Kuntze, C. E. O. 1891. *Revisio Generum Plantarum I.* Leipzig.
- Lewis, W., H. y M. P. Elvin-Lewis. 1994. Basic, quantitative and experimental research phases of future ethnobotany with reference to the medicinal plants of South America En: *Ethnobotany and the search for new drugs.* Wiley, Chichester (Ciba Foundation Symposium 185) pp 60-76
- Lineo, C. 1753. *Species Plantarum.* 2 Stockholm.
- Lozoya, X. 1994. Two decades of Mexican ethnobotany and research in plant drugs En: *Ethnobotany and the search for new drugs.* Wiley, Chichester (Ciba Foundation Symposium 185) pp. 130-152.

- Luna, V., I. S. Ocegueda y O Alcántara. 1994. Fitorística y notas biogeográficas del bosque mesófilo de montaña del Municipio de Tlanchinol, Hidalgo, México. *Anales Inst. Biol. Univ. Autónom. México Ser. Bot.* 65 (1): 31-62.
- Mann, J. 1987. *Secondary metabolism*. Oxford Science publications. Oxford. pp. 1-6.
- Mata P., S., D. Méndez, y M. A. Marmolejo. 1994. *Diccionario Enciclopédico de la Medicina Tradicional Mexicana*. Tomos I y II Instituto Nacional Indigenista México. D.F.
- Martin, G. J. 1994. Conservation and ethnobotanical exploration. En: *Ethnobotany and the search for new drugs* Wiley. Chichester (Ciba Foundation Symposium 185) pp. 228-245.
- Martin, G. J. 1995. *Ethnobotany: A conservation manual*. Chapman and Hall. London
- Martínez A., M. A., 1994. Estado actual de las investigaciones etnobotánicas en México. *Bot. Soc. Bot. México* 55:65-74
- Mattocks, A. R. 1986. *Chemistry and toxicology of pyrrolizidine alkaloids*. Academic Press London pp. 158-271.
- Mayr, E. 1969. *Principles of Systematic Zoology* Mc Graw Hill New York
- Menut, C., G. Lamaty, P. H. A. Zollo, J. R. Kuate, y J. M. Bessiere. 1993. Aromatic plants of tropical Central Africa. Part X. Chemical composition of the essential oils of *Ageratum houstonianum* Mill. and *Ageratum conyzoides* L. from Cameroon. *Flavour Fragrance J.* (1): 1-4
- Minonskowski, H., y S. Gill. 1973. Flavonoids from *Ageratum mexicanum* (herb). *Acta Pol Pharm* 30 (1): 105.
- Minonskowski, H., y S. Gill. 1975. Flavonoids from the herb *Ageratum mexicanum* Sims. (Compositae). *Acta Pol Pharm.* 32 (5). 633-639.

- Pérez, C., A. L., A. Arciniegas, J. L. Villaseñor, y A. Romo V. 1999. Alkaloids from three *Senecio* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27: 835-837.
- Pérez, C., A. L., A. Arciniegas, F. Martínez, J. L. Villaseñor, y A. Romo V. 2000. Pyrrolizidine alkaloids from four *Senecio* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28: 279-282.
- Phillipson, J. D., y L. A. Anderson. 1989. Ethnopharmacology and Western Medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 25: 61-72.
- Prance, J. 1994. Ethnobotany and the search for new drugs. Chichester (Ciba Foundation Symposium 185) pp. 1-3
- Quijano, L., J. S. Calderón, G. F. Gómez, y T. Ríos. 1982. Two polymethoxyflavones from *Ageratum houstonianum*. *Phytochemistry* 21 (12): 2965-2967.
- Quijano, L., J. S. Calderón, G. F. Gómez, E. Escobar, y T. Ríos. 1985. Flavonoids from *Ageratum* species. Part 4. Octasubstituted flavones from *Ageratum houstonianum*. *Phytochemistry* 24 (5): 1085-1088.
- Quijano, L., J. S. Calderón, G. F. Garibay, E. Escobar, y T. Ríos. 1987. Flavonoids from *Ageratum* species. Part 5. Further polysubstituted flavones from *Ageratum houstonianum*. *Phytochemistry* 26 (7): 2075-2078.
- Robinson, H., y R.M. King. 1987. Eupatorieae-Systematic Review pp. 438-485
- Roeder, E., H. Wiedenfeld. 1977. Isolierung und strukturaufklärung des Alkaloids Fuchsisenecionin aus *Senecio fuchsii*. *Phytochemistry* 16: 1462-1463.
- Roeder, E., H. Wiedenfeld, R. Kersten, y R. Kroeger. 1990. Determination of open chain pyrrolizidine alkaloids by capillary gas chromatography. *Planta Medica* 56: 522.
- Roeder, E. 1999. Analysis of pyrrolizidine alkaloids. *Current Organic Chemistry* 3: 557-576

- Rosen, D. E. 1978. Vicariant patterns and historical explanation in biogeography. *Syst. Zool.* 27: 159-188.
- Sabido, P. E. 2000. Estudio etnofarmacológico de *Ageratum houstonianum* f. *houstonianum* Mill (Asteraceae). Tesis de licenciatura. Biología. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Schwedt, G. 1994. Chromatographische Trennmethode. Theoretische Grundlagen, Techniken und analytische Anwendungen. Georg Thieme. Verlag Stuttgart. New York. pp. 30-31
- Simpson, G. C. 1961. Principles of Animal Taxonomy. Columbia University Press, New York.
- Stace, C. A. 1984. Plant Taxonomy and Biosystematics. Edward Arnold. Great Britain. pp. 88-112.
- Stuessy, T. F. 1990. Plant Taxonomy. The systematic evaluation of comparative data. Columbia University Press, New York. pp. 182-193.
- Turner, B. L. 1997. The Comps of Mexico. A systematic account of the Family Asteraceae. Volume I Eupatorieae. *Phytologia Memoirs*. Vol II. pp. 51-55.
- Vickberg, B. 1993. Chemical methods in ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. 38: 139-165
- Viedefeld, H., y E. Roeder. 1979. Das Pyrrolizidinalkaloid Senecionin aus *Senecio fuchsii*. *Phytochemistry* 18: 1083-1084
- Viedefeld, H., y E. Roeder. 1990. Pyrrolizidine alkaloids from *Ageratum conyzoides*. *Planta Medica*. 56. 521.
- Viedefeld H., R. Guerrero y E. Roeder. 1995. Pyrrolizidine Alkaloids from *Eupatorium portoricense* in *Planta Medica* 61. 380-381
- Viedefeld, H. 2000. Structure-toxicity relationship of pyrrolizidine alkaloids. Comunicado Interno. Pharmazeutisches Institut der Universitaet, Bonn, Germany. pp. 95-96.

Wiley, E. O. 1980. Is the evolutionary species fiction? A consideration of classes, individuals, and historical entities. *Syst. Zool.* 29. 76-80.

Páginas web

Instituto Nacional de Estadística. Geografía e Informática. www.inegi.gob.mx