



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MEXICO

---

---

FACULTAD DE QUÍMICA

ESTUDIO FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE  
*Acalypha arvensis*

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:

ROGELIO IBARRA BALCAZAR



México D.F.

2009



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE: Profesor: QFB MA. DEL PILAR GRANADA MACIAS**

**VOCAL: Profesor: DR. ROGELIO GREGORIO PEREDA MIRANDA**

**SECRETARIO: Profesor: DRA. MA. CRISTINA PEREZ AMADOR BARRON**

**1er. SUPLENTE: Profesor: QFB EDUARDO BONILLA ESPINOSA**

**2° SUPLENTE: Profesor: DR. JOSE FAUSTO RIVERA CRUZ**

Sitio en donde se desarrolló el tema:

Laboratorio de Fitoquímica del Departamento de Biología de la Facultad de  
Ciencias de la UNAM

Asesora

\_\_\_\_\_  
Dra. María Cristina Pérez-Amador y Barrón

Supervisor técnico

\_\_\_\_\_  
Q.A. Verónica Muñoz Ocotero

Sustentante

\_\_\_\_\_  
Rogelio Ibarra Balcazar

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco infinitamente a mi madre Caritina Balcazar Olvera por su amor, esfuerzo, apoyo y confianza que depositó en mí, gracias por guiar mi camino y estar junto a mí en todo momento para que yo pudiera culminar esta meta tan anhelada, a ella le dedico esta tesis.

A mi tía Manuela Balcazar Olvera quien desde niño me lleno de amor y buenos consejos, que me motivaron durante toda mi vida.

A mi hermano Antonio Ibarra Balcazar que desde pequeños compartimos momentos inolvidables y que junto a su esposa Lucia Juárez Antonio, me brindaron su apoyo y motivación durante la carrera.

A Susana Ibarra Balcazar y Fabián Ramírez Gómez, quienes han estado conmigo tanto en los buenos momentos como en los más difíciles, gracias por su apoyo, comprensión y enseñanzas.

A Héctor Arturo Arturo Jiménez y Rosa María Ibarra por su cariño y amistad incondicional, gracias por estar junto a mí.

A mis sobrinos Karen, Daniela y Octavio, por alegrarme, verlos crecer cada día y ser un impulso más para alcanzar este objetivo tan anhelado.

A Lizeth Meza Bernal por tu cariño y amor que a diario me brindas, por tu sinceridad, honestidad y confianza las cuales me impulsan a seguir luchando para alcanzar nuevas metas, gracias por todo este tiempo lleno de sorpresas y alegrías el cual espero que se prolongue aún más.

A la UNAM por darme la oportunidad de crecer en esta maravillosa casa de estudios y ser parte de ella, a todos mis compañeros de la Facultad de Química. A cada uno de mis profesores los cuales han contribuido para que este paso se lleve a cabo.

A mis mejores amigos de la Facultad de Química a quienes tanto quiero y aprecio, por todos los momentos compartidos, por su consejos y porque no decirlo también regaños y disgustos, pero sobre todo por su buen compañerismo y apoyo en todo momento: Mayell Soto, Amanda Ochoa, Aracne Huerta, Eunice Gonzales, Elizabeth Závala, Guadalupe Ponce, Omar Escalante, Christian I. Velásquez, Víctor Gamero, Adrián Zúñiga, Liliana Torres y Marco Antonio Cornejo muchas gracias por su amistad.

También a mis compañeras a quienes conocí en los últimos de la carrera: Marcela Hernández, Luz María Mora, Karina Vera, Cristina Paz e Itzel Pacheco.

A una gran persona que conozco desde hace mucho tiempo y a pesar que cada vez son menos los momentos que compartimos, sabe que la apreció mucho, gracias por tú amistad Aimeé Edith Martínez.

A la Doctora María Cristina Pérez-Amador Barrón por recibirme en el laboratorio y brindarme su apoyo para la realización de este trabajo de tesis.

A Verónica Muñoz Ocotero por la supervisión técnica de dicho trabajo, además de participar de manera directa en este proyecto, gracias por todo tú apoyo y sobre por tú amistad.

Y finalmente gracias a cada uno de mis compañeros del Laboratorio de Fitoquímica del Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias de la UNAM.

“POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU”

**INDICE**

|                       |     |
|-----------------------|-----|
| LISTA DE TABLAS.....  | III |
| Lista de figuras..... | VI  |

**CONTENIDO**

|      |                                                                                              |    |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| I.   | Introducción.....                                                                            | 1  |
| II.  | Antecedentes.....                                                                            | 3  |
|      | 2.1 Plantas Medicinales: Antecedentes Históricos y en el Mundo.....                          | 3  |
|      | 2.2 Metabolitos Secundarios.....                                                             | 6  |
|      | 2.3 Género <i>Acalypha</i> .....                                                             | 9  |
|      | 2.3.1 <i>Acalypha arvensis</i> .....                                                         | 12 |
|      | Botánica y ecología.....                                                                     | 12 |
|      | Etnobotánica y antropología.....                                                             | 13 |
|      | Farmacología.....                                                                            | 14 |
|      | 2.4 Enfermedades microbianas .....                                                           | 14 |
|      | 2.4.1 Antibióticos .....                                                                     | 15 |
|      | 2.4.2 <i>Escherichia coli</i> .....                                                          | 16 |
|      | 2.4.3 <i>Bacillus subtilis</i> .....                                                         | 16 |
|      | 2.5 Inflamación .....                                                                        | 17 |
|      | 2.5.1 Tipos de inflamación .....                                                             | 19 |
|      | Inflamación aguda .....                                                                      | 19 |
|      | Inflamación crónica .....                                                                    | 20 |
|      | 2.5.2 Mediadores moleculares y celulares involucrados en la inflamación                      | 21 |
|      | Fosfolipasa A <sub>2</sub> .....                                                             | 22 |
|      | Ciclooxigenasa-2 (COX-2) .....                                                               | 23 |
| III. | Objetivos .....                                                                              | 25 |
| IV.  | Material y Metodología .....                                                                 | 26 |
|      | 4.1 Extracción .....                                                                         | 27 |
|      | 4.1.2 Detección de metabolitos secundarios .....                                             | 28 |
|      | Caracterización de metabolitos secundarios por reacciones de coloración o precipitación..... | 29 |
|      | Prueba de Molisch .....                                                                      | 29 |
|      | Prueba de espuma para identificación de saponinas .....                                      | 29 |
|      | Prueba de Liebermann.Buchard para la identificación de terpenos-esteroides.....              | 30 |
|      | Prueba del ácido silicotungstico para la identificación de alcaloides                        | 30 |
|      | 4.1.3 Actividad antibacterial de <i>Acalypha arvensis</i> .....                              | 30 |

|                                                                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Ensayos de microdilución en placa.....                                                                                                        | 30 |
| 4.1.4 Evaluación cuantitativa de la actividad antibacterial.....                                                                              | 31 |
| 4.1.5 Edema agudo inducido por 12-O-tetradecanoil-forbol-13-acetato (TPA) en oreja de ratón.....                                              | 32 |
| 4.1.6 Determinación de la actividad tóxica en <i>Artemia salina</i> .....                                                                     | 34 |
| V. Resultados .....                                                                                                                           | 36 |
| 5.1 Rendimientos .....                                                                                                                        | 36 |
| 5.1.2 Cromatografía en capa fina.....                                                                                                         | 37 |
| Extractos hexánicos de <i>Acalypha arvensis</i> .....                                                                                         | 37 |
| Extractos de acetato de etilo de <i>Acalypha arvensis</i> .....                                                                               | 38 |
| 5.1.3 Detección en placa de metabolitos secundarios.....                                                                                      | 41 |
| Extractos de hexano de <i>Acalypha arvensis</i> .....                                                                                         | 42 |
| Extractos de acetato de etilo de <i>Acalypha arvensis</i> .....                                                                               | 44 |
| 5.1.4 Detección De Metabolitos Secundarios por reacciones de precipitación o coloración.....                                                  | 47 |
| Grupos químicos de metabolitos secundarios encontrados en los diferentes extractos de <i>Acalypha arvensis</i> .....                          | 49 |
| 5.1.5 Determinación De La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) De Los Extractos Por El Método De Microdilución En Placa De 96 Pozos....     | 50 |
| 5.1.6 Determinación De Actividad Mínima Inhibitoria (CMI) De Los Extractos Por El Método De Difusión En Disco En Placas De Agar...            | 53 |
| 5.1.7 Comparación de la CMI y la Concentración con mayor halo de Inhibición obtenidos en la actividad frente a <i>Escherichia coli</i> .....  | 55 |
| 5.1.8 Comparación de la CMI y la Concentración con mayor halo de Inhibición obtenidos en la actividad frente a <i>Bacillus subtilis</i> ..... | 56 |
| 5.1.9 Actividad Antiinflamatoria en el Modelo de Edema Inducido con 12-o-tetradecanoil-forbol-13-acetato (TPA).....                           | 58 |
| 5.1.10 Pruebas de toxicidad en <i>Artemia salina</i> .....                                                                                    | 59 |
| VI. Análisis de resultados.....                                                                                                               | 75 |
| VII. Conclusiones .....                                                                                                                       | 80 |
| VIII. Referencias.....                                                                                                                        | 82 |

LISTA DE TABLAS

|          |                                                                                                                                                                                                                                                          |    |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla A  | Principales grupos de metabolitos secundarios.                                                                                                                                                                                                           | 7  |
| Tabla B  | Disolventes utilizados para la solubilización de los diferentes extractos de <i>Acalypha arvensis</i>                                                                                                                                                    | 34 |
| Tabla 1  | Actividad biológica de diferentes especies de <i>Acalypha</i>                                                                                                                                                                                            | 10 |
| Tabla 2  | Metabolitos secundarios de algunas especies de <i>Acalypha</i>                                                                                                                                                                                           | 11 |
| Tabla 3  | Mediadores moleculares involucrados en la inflamación                                                                                                                                                                                                    | 21 |
| Tabla 4  | Gramos totales de las diferentes partes de la planta (secas y molidas) de <i>Acalypha arvensis</i> .                                                                                                                                                     | 36 |
| Tabla 5  | Rendimiento obtenido de la maceración de <i>Acalypha arvensis</i> .                                                                                                                                                                                      | 36 |
| Tabla 6  | Rendimiento obtenido de la infusión.                                                                                                                                                                                                                     | 36 |
| Tabla 7  | Perfiles cromatográficos de los extractos de hexano de <i>Acalypha arvensis</i>                                                                                                                                                                          | 37 |
| Tabla 8  | Perfiles cromatográficos de los extractos de Acetato de etilo de <i>Acalypha arvensis</i>                                                                                                                                                                | 38 |
| Tabla 9  | Muestra la elucidación de metabolitos secundarios de los extractos de hexano en Hoja (a), Tallo (B), Inflorescencia (C) y Raíz (D)                                                                                                                       | 41 |
| Tabla 10 | Muestra la elucidación de metabolitos secundarios de los extractos de acetato de etilo en Hoja (a), Tallo (B), Inflorescencia (C) y Raíz (D).                                                                                                            | 44 |
| Tabla 11 | Muestra la elucidación de metabolitos secundarios por reacciones de precipitación o coloración de los extractos de hexano                                                                                                                                | 47 |
| Tabla 12 | Muestra la elucidación de metabolitos secundarios por reacciones de precipitación o coloración de los extractos de acetato de etilo.                                                                                                                     | 47 |
| Tabla 13 | Muestra la elucidación de metabolitos secundarios por reacciones de precipitación o coloración de los extractos de metanol.                                                                                                                              | 48 |
| Tabla 14 | Muestra la elucidación de metabolitos secundarios por reacciones de precipitación o coloración de la infusión                                                                                                                                            | 48 |
| Tabla 15 | Resultados de los grupos químicos de metabolitos secundarios detectados en los diferentes extractos de <i>Acalypha arvensis</i> a = detección en placa (Rf) b = reacciones de precipitación o coloración                                                 | 49 |
| Tabla 16 | Concentraciones probadas de cada extracto orgánico (hoja, tallo, inflorescencia y raíz) frente a <i>E. coli</i> y <i>B. subtilis</i> , así como del control con ampicilina                                                                               | 50 |
| Tabla 17 | CMI de los extractos de hoja, tallo, inflorescencia y raíz de <i>Acalypha arvensis</i> frente a <i>E coli</i>                                                                                                                                            | 50 |
| Tabla 18 | CMI de los extractos de hoja, tallo, inflorescencia y raíz de <i>Acalypha arvensis</i> frente a <i>B. subtilis</i> . Los extractos de hexano y metanol mostraron la misma actividad bactericida y el extracto de acetato de etilo mostro mayor actividad | 51 |
| Tabla 19 | Concentraciones probadas de cada infusión (hoja, tallo, inflorescencia y raíz) frente a <i>E. coli</i> y <i>B. subtilis</i> , así como del                                                                                                               | 52 |



|          |                                                                                                                                                                                                                            |    |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
|          | control con ampicilina                                                                                                                                                                                                     |    |
| Tabla 20 | CMI de los extractos de hoja, tallo, inflorescencia y raíz de <i>Acalypha arvensis</i> frente a <i>E coli</i>                                                                                                              | 52 |
| Tabla 21 | CMI de los extractos de hoja, tallo, inflorescencia y raíz de <i>Acalypha arvensis</i> frente a <i>B. subtilis</i>                                                                                                         | 52 |
| Tabla 22 | Halos de inhibición (mm) obtenidos en la actividad de los distintos extractos de <i>A. arvensis</i> frente a <i>Escherichia coli</i>                                                                                       | 53 |
| Tabla 23 | Halos de inhibición (mm) obtenidos en la actividad de los distintos extractos de <i>A. arvensis</i> frente a <i>B. subtilis</i> .                                                                                          | 54 |
| Tabla 24 | A, B, C, D. Porcentaje de la mayor concentración contra la concentración mínima inhibitoria analizada mediante la prueba de t de student. Como 100% se consideró el control de ampicilina                                  | 55 |
| Tabla 25 | A, B, C, D. Porcentaje de la mayor concentración contra la concentración mínima inhibitoria analizada mediante la prueba de t de student. Como 100% se consideró el control de ampicilina                                  | 56 |
| Tabla 26 | A, B, C, D. actividad antiinflamatoria de los extractos de <i>Acalypha arvensis</i>                                                                                                                                        | 58 |
| Tabla 27 | Evaluación de la actividad tóxica en el crustáceo <i>Artemia salina</i> Leach                                                                                                                                              | 59 |
| Tabla 28 | Evaluación de la actividad tóxica en el crustáceo <i>Artemia salina</i> Leach                                                                                                                                              | 60 |
| Tabla 29 | Evaluación de la actividad tóxica en el crustáceo <i>Artemia salina</i> leach de los extractos de metanol de <i>Acalypha arvensis</i>                                                                                      | 61 |
| Tabla 30 | Mortalidad de <i>Artemia salina</i> después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de hexano de hoja de <i>Acalypha arvensis</i> .                                                                 | 62 |
| Tabla 31 | Mortalidad de <i>Artemia salina</i> después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de hexano de tallo de <i>Acalypha arvensis</i> . Los datos se trataron a partir de la concentración de 125 ppm. | 63 |
| Tabla 32 | Mortalidad de <i>Artemia salina</i> después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de hexano de inflorescencia de <i>Acalypha arvensis</i> .                                                       | 64 |
| Tabla 33 | Mortalidad de <i>Artemia salina</i> después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de hexano de raíz de <i>Acalypha arvensis</i> .                                                                 | 65 |
| Tabla 34 | Mortalidad de <i>Artemia salina</i> después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de acetato de etilo de hoja de <i>Acalypha arvensis</i> .                                                       | 66 |
| Tabla 35 | Mortalidad de <i>Artemia salina</i> después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de acetato de etilo de tallo de <i>Acalypha arvensis</i> .                                                      | 67 |
| Tabla 36 | Mortalidad de <i>Artemia salina</i> después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de acetato de etilo de                                                                                          | 67 |

|          |                                                                                                                                                                      |    |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
|          | inflorescencia de <i>Acalypha arvensis</i> .                                                                                                                         |    |
| Tabla 37 | Mortalidad de <i>Artemia salina</i> después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de acetato de etilo de raíz de <i>Acalypha arvensis</i> . | 69 |
| Tabla 38 | Mortalidad de <i>Artemia salina</i> después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de metanol de hoja de <i>Acalypha arvensis</i>            | 70 |
| Tabla 39 | Mortalidad de <i>Artemia salina</i> después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de metanol de tallo de <i>Acalypha arvensis</i>           | 71 |
| Tabla 40 | Mortalidad de <i>Artemia salina</i> después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de metanol de inflorescencia de <i>Acalypha arvensis</i>  | 72 |
| Tabla 41 | Mortalidad de <i>Artemia salina</i> después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de metanol de raíz de <i>Acalypha arvensis</i>            | 73 |
| Tabla 42 | Mortalidad de <i>Artemia salina</i> después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de dicromato de potasio usado como control                            | 74 |

LISTA DE FIGURAS

|           |                                                                                                                                                                                                                                                 |    |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1  | Vías generales del metabolismo secundario de las plantas, que producen los 3 tipos generales de compuestos secundarios: productos nitrogenados, productos fenólicos, y terpenoides. También se muestra su relación con el metabolismo primario. | 8  |
| Figura 2  | <i>Acalypha arvensis</i>                                                                                                                                                                                                                        | 13 |
| Figura 3  | Metabolismo del ácido araquidónico                                                                                                                                                                                                              | 24 |
| Figura 4  | Perfiles cromatográficos de los diferentes extractos de <i>Acalypha arvensis</i>                                                                                                                                                                | 40 |
| Figura 5  | Revelado de metabolitos secundarios en placa de los extractos de hexano                                                                                                                                                                         | 43 |
| Figura 6  | Detección de metabolitos secundarios en placa de los extractos de acetato de etilo.                                                                                                                                                             | 46 |
| Figura 7  | Estimación de la concentración letal 50 en <i>Artemia salina</i> , por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se intersecten las dos curvas se obtiene la dosis letal 50.    | 62 |
| Figura 8  | Estimación de la concentración letal 50 en <i>Artemia salina</i> , por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se intersecten las dos curvas se obtiene la dosis letal 50.    | 63 |
| Figura 9  | Estimación de la concentración letal 50 en <i>Artemia salina</i> , por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se intersecten las dos curvas se obtiene la dosis letal 50     | 64 |
| Figura 10 | Estimación de la concentración letal 50 en <i>Artemia salina</i> , por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se intersecten las dos curvas se obtiene la dosis letal 50     | 65 |
| Figura 11 | Estimación de la concentración letal 50 en <i>Artemia salina</i> , por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se intersecten las dos curvas se obtiene la dosis letal 50     | 66 |
| Figura 12 | Estimación de la concentración letal 50 en <i>Artemia salina</i> , por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se intersecten las dos curvas se obtiene la dosis letal 50.    | 67 |
| Figura 13 | Estimación de la concentración letal 50 en <i>Artemia salina</i> , por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se intersecten las dos curvas se obtiene la dosis letal 50     | 68 |
| Figura 14 | Estimación de la concentración letal 50 en <i>Artemia salina</i> , por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se intersecten las dos curvas se obtiene la dosis letal 50     | 69 |
| Figura 15 | Estimación de la concentración letal 50 en <i>Artemia salina</i> , por                                                                                                                                                                          | 70 |

|           |                                                                                                                                                                                                                                               |    |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
|           | el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se intersecten las dos curvas se obtiene la dosis letal 50                                                                          |    |
| Figura 16 | . Estimación de la concentración letal 50 en <i>Artemia salina</i> , por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se intersecten las dos curvas se obtiene la dosis letal 50 | 71 |
| Figura 17 | Estimación de la concentración letal 50 en <i>Artemia salina</i> , por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se intersecten las dos curvas se obtiene la dosis letal 50   | 72 |
| Figura 18 | Estimación de la concentración letal 50 en <i>Artemia salina</i> , por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se intersecten las dos curvas se obtiene la dosis letal 50   | 73 |
| Figura 19 | Estimación de la concentración letal 50 en <i>Artemia salina</i> , por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se intersecten las dos curvas se obtiene la dosis letal 50.  | 74 |

### 1.- INTRODUCCIÓN

Las plantas constituyen un recurso muy valioso dentro de la medicina tradicional de los diferentes países. El nuestro no es la excepción ya que la medicina popular herbolaria goza de una gran tradición debido principalmente a la gran abundancia y biodiversidad de especies vegetales.

En la últimas dos décadas a nivel mundial se ha incrementado considerablemente el interés por el estudio de las plantas medicinales como fuente de obtención de compuestos farmacológicamente activos; además el uso de la medicina tradicional está muy extendido en los países en vías de desarrollo; su empleo está arraigado a las circunstancias históricas y creencias, siendo en algunos casos la medicina tradicional la única fuente accesible de atención sanitaria especialmente para los pacientes más pobres (OMS, 2002). Las plantas medicinales registradas en los estudios etnobotánicos pueden ser una fuente de información para encontrar compuestos bioactivos, además estos pueden ser estudiados y validados a través de estudios fitoquímicos y farmacológicos (Verpoorte, 1998). Por otra parte, el incremento de bacterias patógenas fármaco-resistentes, ha hecho más urgente la necesidad de encontrar nuevos agentes antibacterianos.

El uso de las plantas medicinales en el mundo es parte de la cultura y de las tradiciones de los pueblos además, se trata de un recurso barato y accesible ya que la mayoría de los remedios vegetales se obtienen a partir de plantas que crecen en cada localidad. (Waller 1993).

Del estudio etnobotánico de las plantas medicinales de la Sierra Norte de Puebla, *Acalypha arvensis* (Euphorbiaceae), es una especie que ha sido utilizada

ampliamente en la medicina tradicional en el tratamiento contra: erisipela, heridas, furúnculos, diversas enfermedades de la piel, erupciones en la boca, inflamaciones estomacales y del riñón, por lo cual en el presente trabajo se realizó el análisis Fitoquímico preliminar de dicha especie, mediante maceraciones sucesivas con disolventes de polaridad ascendente (hexano, acetato de etilo y metanol), también se determinó su perfil cromatográfico utilizando cromatografía en capa fina, se detectaron los principales grupos de metabolitos secundarios presentes en cada extracto y determinar su posible acción biológica.

Por otro lado se evaluó la actividad biológica de los extractos obtenidos con tres diferentes ensayos: actividad antibacterial frente a *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*, actividad antiinflamatoria con el modelo de edema inducido en oreja de ratón con 12-o-tetradecanoil-forbol-13-acetato (TPA) y pruebas de toxicidad en *Artemia salina*.

Como resultado importante del presente trabajo, se comprobó que los extractos obtenidos de *Acalypha arvensis* poseen actividad antibacterial contra *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*., así como actividad antiinflamatoria.

El estudio cubrió aspectos básicos para dar a conocer un antecedente de evidencia científica del uso etnomédico de la especie, así como aportar en forma preliminar, mayores conocimientos de la composición química de esta especie vegetal utilizada tradicionalmente por la población, ya que a la fecha no existía información al respecto.

### 2.- ANTECEDENTES

#### 2.1 PLANTAS MEDICINALES: ANTECEDENTES HISTÓRICOS EN MÉXICO Y EN EL MUNDO

El uso de la plantas medicinales figura en la historia más primitiva, los datos que existen del antiguo Egipto, Asiria, China e India muestran la utilización de las plantas para fines medicinales, dicho consumo es probablemente una progresión natural ya que el hombre posee un reconocimiento de las plantas que consume, comenzando por las que son puramente alimenticias, como de aquellos que además de servir como alimento, han sido utilizado con efectos medicinales (por ejemplo: higos, ciruelas, mucílago que actúan como laxantes suaves) finalmente con el reconocimiento de plantas puramente medicinales (Bruneton, 2001). La recolección de plantas para fines medicinales data de la más remota antigüedad. Los sumerios conocían gran número de ellas desde el año 2500 a.C. Los papiros de los antiguos egipcios escritos hacia 1600 a.C. registran los nombres de numerosas drogas usadas por los médicos de este periodo, de todos los escritos egipcios el llamado *Papiro de Ebers* encontrado en Tebas cerca del Mar Muerto es el más extenso y famoso.

Los antiguos griegos conocían ciertas drogas que todavía siguen utilizándose; el filósofo griego Pitágoras (528 a.C.) estaba familiarizado con la mostaza, el médico Hipócrates (466 a.C.) conocía el ajenjo, la canela, la cicuta, la genciana, la manzanilla, etc. Teofrasto (372 a.C.) escribió libros *Sobre la Historia de las Plantas* y otros ocho sobre *Las Causas de las Plantas*, el médico griego Dioscórides (siglo I de nuestra Era) fue el primer autor que escribió de manera extensa sobre las plantas medicinales en su obra *De Materia Médica*, Plinio el viejo (23-79 d. C.), soldado y escritor romano, escribió cuarenta y siete volúmenes

sobre *Historia Natural*, Galeno (131-200 d.C.), farmacéutico y médico Grecorromano escribió veinte libros en los que incluye fórmulas y dosificaciones adecuadas para diversas preparaciones, lo que hoy se conoce como preparaciones Galénicas; en sus obras se describen las adulteraciones del azafrán, de la mirra, de la canela, etc. Los árabes continuaron los avances científicos de los griegos y de los romanos entre ellos uno de los más notables, Mesué el Viejo (777-857) escribió un formulario farmacéutico e introdujo el sen y el tamarindo entre otros.

Carl von Linné (Linneo) botánico sueco publicó *Genera Plantarum*, obra considerada como punto de partida de la botánica sistemática, la más notable de todas sus obras es *Species Plantarum* la cual incluye una larga lista de especies de plantas junto con sus descripciones y su clasificación, de acuerdo a un sistema natural que se basa en el estudio de las analogías y diferencias de sus órganos sexuales, su sistema de nomenclatura binario, uno para el género y otro para la especie, es empleado en la actualidad por todos los naturalistas. En 1806 el farmacéutico Alemán Friedrich Wilhem Adam Sertüner, aísla la morfina del opio demostrando su carácter tóxico, este descubrimiento contribuyó a desviar la atención de los científicos hasta entonces localizada en las plantas medicinales hacia las drogas crudas y sus principios activos.

El descubrimiento y conquista de América por los españoles en el siglo XVI produce una extensa bibliografía de las plantas y productos naturales del nuevo continente. El historiador Gonzalo Hernández de Oviedo y Valdés (1458-1557) es el primero en ocuparse de los productos naturales de América sus obras *De la natural Historia de las Indias e Historia general y Natural de las Indias e Islas y Tierra Firme del Mar Océano*, describe plantas como: el tabaco, el cacao, el guayaco y el achiote. Del siglo XVI data la valiosa recopilación sobre plantas



medicinales conocidas por los antiguos mexicanos, el texto escrito en 1552 en Náhuatl por el médico azteca Martín de la Cruz, con ilustraciones a colores, traducido al latín por el xochimilca Juan Badiano, conocido como código Badiano el cual describe 263 plantas. Fray Bernardino de Sahagún autor de *Historia de las Cosas de la Nueva España* trabajó de 1558-1582 en varios manuscritos de los cuales fueron resumidos dentro del Código Florentino; Francisco Hernández (1517-1587) es autor de un estudio sistemático de la flora curativa de la nueva España como parte de la *Historia Natural de la Nueva España*. En el siglo XVII el fraile dominico Francisco Ximénez editó *Cuatro libros de la Naturaleza y virtudes de la Nueva España*, obra que consta de 17 volúmenes cuyo contenido es lo escrito por Francisco Hernández. Posteriormente en 1950 aparece la primera Farmacopea mexicana en la cual se describen preparados medicinales a base de plantas (Trease, 1989).

La riqueza de las plantas medicinales en México puede ser estimada por el número de especies utilizadas que forman parte esencial de las estrategias generadas por la población para enfrentar sus enfermedades cotidianas. Las plantas medicinales no son inocuas, tienen un efecto terapéutico sobre el ser humano e implican riesgos cuando se emplean de forma inapropiada, por ello es importante establecer lineamientos de control de calidad haciendo énfasis en su identidad composición y pureza para asegurar la idoneidad en su uso.

### 2.2 METABOLITOS SECUNDARIOS

Se llama metabolismo primario de las plantas a los procesos químicos que intervienen en forma directa en la sobrevivencia, crecimiento y reproducción de las plantas. Debido a su carácter universal en el Reino vegetal los procesos que intervienen en el metabolismo primario y sus metabolitos, se encuentran en todas las plantas sin excepción (Croteau et al., 2002).

Los metabolitos primarios son compuestos orgánicos que intervienen en los ciclos vitales de todos los organismos y que les permiten sobrevivir, crecer y reproducirse, entre ellos se encuentran los aminoácidos, carbohidratos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. Generalmente, se encuentran en todos los organismos (Dewick, 1997).

Los metabolitos secundarios son compuestos químicos sintetizados por las plantas, se les considera no esenciales para la vida, aunque pueden ser fundamentales para una determinada función biológica (Figura 1). Algunos son responsables de la coloración, de aromas de flores y frutos; otros vinculados con la interacción ecológica como la atracción de polinizadores; y otros participan en el mecanismo de defensa de las plantas (las fitoalexinas, los alelopáticos), compuestos de gran interés farmacológico, que podrían ser utilizados como “principios activos” de algunos fármacos. Por el potencial que representan estos metabolitos, las investigaciones se han dirigido a la elucidación de estructuras químicas, evaluación de su actividad biológica y hacia su obtención en cultivos in vitro (Croteau et al., 2002).

Por su origen biosintético, se ha clasificado a los metabolitos secundarios en: terpenos, fenilpropanoides y alcaloides (Harbone, 1990).

Hay metabolitos que proceden de una ruta biosintética específica y los hay que proceden de varias:

Tabla A. Principales grupos de metabolitos secundarios (Harbone, 1990).

| <b>Metabolitos</b>   | <b>Ruta biosintética</b>                                 |
|----------------------|----------------------------------------------------------|
| Ácidos fenólicos     | Ruta del ácido shikimico                                 |
| Taninos              | Ruta del ácido shikimico                                 |
| Flavonoides          | Ruta del ácido shikimico y,<br>Rruta de los policétidos  |
| Alcaloides           | Ruta del ácido shikimico y,<br>Ruta del ácido mevalónico |
| Antraquinonas        | Ruta de los policétidos                                  |
| Lignanós y cumarinas | Ruta del ácido shikimico                                 |
| Terpenos             | Ruta del ácido mevalónico                                |

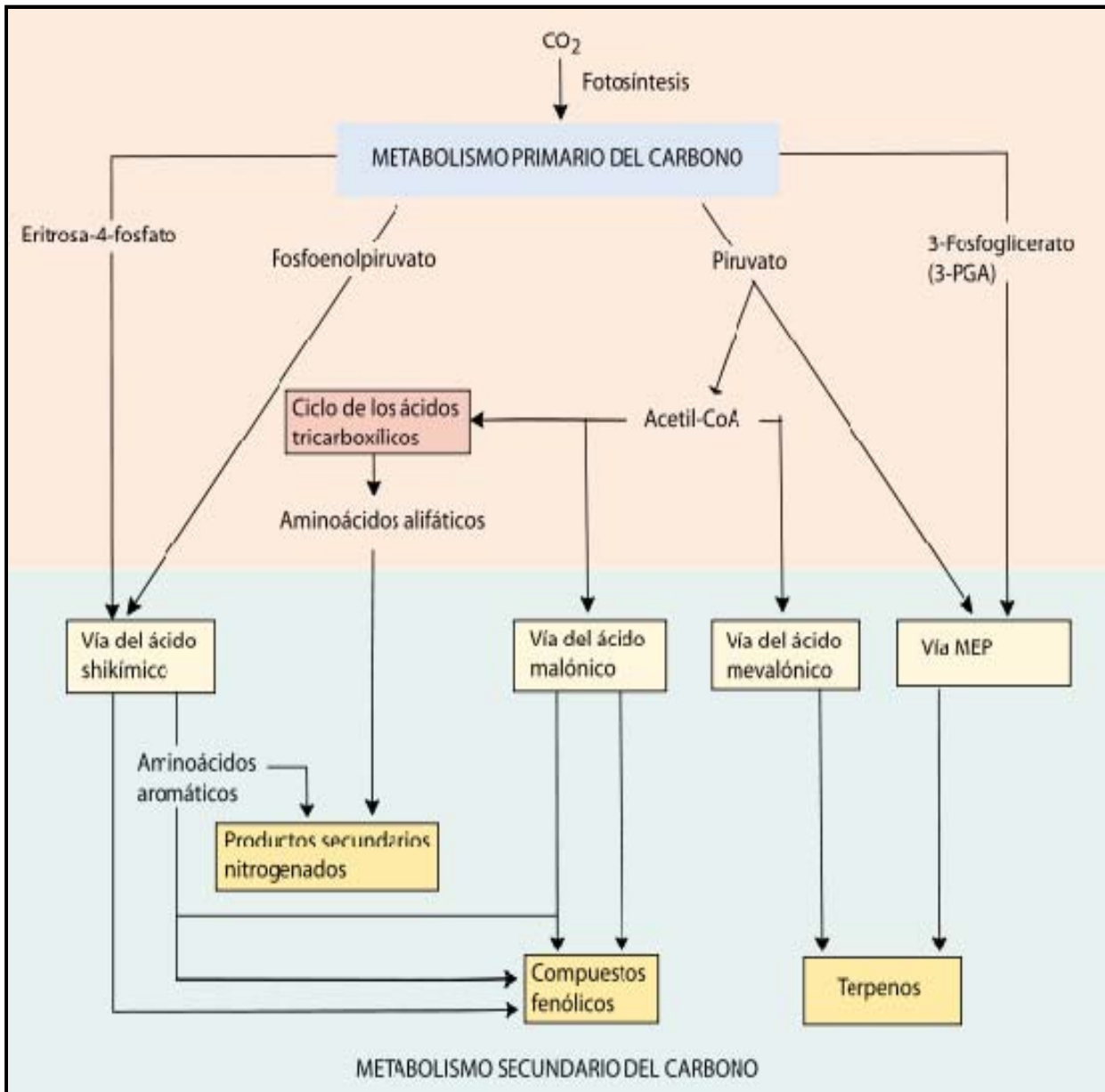


Figura 1. Vías generales del metabolismo secundario de las plantas, que producen los 3 tipos generales de compuestos secundarios: productos nitrogenados, productos fenólicos, y terpenoides. También se muestra su relación con el metabolismo primario. (Lincoln y Zeiger, 2006).

### 2.3 Género *Acalypha*

El género ***Acalypha*** L. (Euphorbiaceae), comprende plantas herbáceas, anuales o perennes y más frecuentemente arbustos o pequeños arbolillos, monoicos o dioicos. Las hojas son alternas, pecioladas, estipuladas, con la lámina entera o dentada. Tienen inflorescencias espiciformes o amentáceas, terminales o axilares, con flores unisexuales o bisexuales. Las flores masculinas son subsésiles, con el cáliz formado por 4 segmentos valvados, y se suelen disponer en glomérulos que están rodeados de pequeñas brácteas; el androceo tiene 4-8 estambres con los filamentos libres o unidos basalmente. Las flores femeninas son subsésiles, con el cáliz formado por 3-5 lóbulos imbricados unidos en la base, y se disponen en grupos de 1-5 rodeadas de una bráctea acrescente o en las axilas de pequeñas brácteas ligeramente foliáceas. El ovario está formado por 1-3 carpelos. El fruto es una pequeña cápsula tricoca rodeada por una bráctea acrescente. Sus semillas son ovoides, generalmente carunculadas. El nombre proviene del griego *akalephe*, nombre griego antiguo de la ortiga, aplicado por Linneo a este género por la apariencia de las hojas de algunas especies. El género incluye alrededor de 400 especies distribuidas por ambos hemisferios, principalmente en América tropical.

Dentro de la familia Euphorbiaceae, el género *Acalypha* posee especies con diferentes actividades biológicas véase Tabla 1.

## Antecedentes

Tabla 1. Actividad biológica de diferentes especies de *Acalypha* (Astudillo, 2004)

| Especie                                  | Actividad biológica                                                                                                                                                                                                                                                                      | Cita                                                                                                         |
|------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Acalypha adenostachia</i> Muell. Arg. | Desordenes gastrointestinales                                                                                                                                                                                                                                                            | Argueta, 1994; López e Hinojosa, 1988                                                                        |
| <i>Acalypha alopecuroides</i> Jacq       | Desordenes gastrointestinales                                                                                                                                                                                                                                                            | Mendieta y Del Amo, 1981; Argueta, 1994.                                                                     |
| <i>Acalypha arvensis</i> Poepp & Endl.   | Desordenes gastrointestinales                                                                                                                                                                                                                                                            | Mendieta y Del Amo, 1981; González, 1984; Girón et. al., 1991; Argueta, 1994; Martínez-Alfaro et. al., 1995. |
|                                          | Actividad antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus</i>                                                                                                                                                                                                                             | Cáceres et. al., 1987b                                                                                       |
|                                          | Actividad diurética<br>Actividad antiespasmódica                                                                                                                                                                                                                                         | Cáceres et. al., 1987a<br>Gupta, 1995                                                                        |
| <i>Acalypha californica</i> Benth        | Desordenes gastrointestinales                                                                                                                                                                                                                                                            | López e Hinojosa, 1988                                                                                       |
| <i>Acalypha diversifolia</i> Jacq.       | Desordenes gastrointestinales                                                                                                                                                                                                                                                            | Girón et. al., 1991                                                                                          |
| <i>Acalypha hederacea</i> Torr           | Desordenes gastrointestinales                                                                                                                                                                                                                                                            | Hernández et. al., 2003                                                                                      |
| <i>Acalypha hederacea</i>                | Actividad sobre <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Sarcina lutea</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> | Hernández et.al., 2003                                                                                       |
| <i>Acalypha indica</i> L.                | Desordenes gastrointestinales                                                                                                                                                                                                                                                            | Duke, 1989                                                                                                   |
| <i>Acalypha phleoides</i> Cav.           | Desordenes gastrointestinales                                                                                                                                                                                                                                                            | Díaz, 1977; Hernández y López 1988; Bye, 1993; Martínez, 1994; Aguilar et. al., 1994                         |
| <i>Acalypha senensis</i> Klotzch         | Desordenes gastrointestinales                                                                                                                                                                                                                                                            | Stäuble, 1986                                                                                                |
| <i>Acalypha subvisida</i> Watson         | Desordenes gastrointestinales                                                                                                                                                                                                                                                            | López e Hinojosa, 1988                                                                                       |
| <i>Acalypha communis</i>                 | Desordenes gastrointestinales<br>Actividad antimicrobiana                                                                                                                                                                                                                                | Gutiérrez-Lugo et. al., 2002<br>Gutiérrez-Lugo et.al., 2002                                                  |
| <i>Acalypha guatemalensis</i>            | Actividad contra <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Bacillus cereus</i><br>Actividad contra <i>Salmonella typhi</i> y <i>Shigella flexneri</i>                                                                                                                                            | Cáceres et. al., 1987 b<br>Cáceres et. al., 1993                                                             |

## Antecedentes

| Especie                       | Actividad biológica                                                                                               | Cita                   |
|-------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| <i>Acalypha guatemalensis</i> | Actividad contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                                                                    | Navarro et. al., 2003  |
|                               | <i>Tripanosoma cruzi</i> y actividad antimicótica contra <i>Epidermophyton floccosum</i> y actividad antioxidante |                        |
|                               | Antitripanosómica                                                                                                 | Cáceres et. al., 1998  |
|                               | Actividad diurética                                                                                               | Cáceres et. al., 1987a |

En la Tabla 2 se muestran los diferentes metabolitos secundarios encontrados en las diferentes especies del genero *Acalypha*.

Tabla 2. Metabolitos secundarios de algunas especies de *Acalypha* (Astudillo 2004)

| Especie                       | Metabolitos secundarios                                                                                                      | Cita                                                        |
|-------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| <i>Acalypha australis</i>     | Australisina y daucosterol.<br>$\beta$ -sitosterol                                                                           | Dong et.al., 1994<br>Zang et. al., 1994, Dong et. al., 1994 |
|                               | Palmitil palmitato, 1-triacontanol, sacarosa, fructosa y rafinosa.                                                           | Zang et. al., 1994                                          |
|                               | Ácidos fenol carboxílicos, flavonoides y taninos                                                                             | Park et. al., 1993                                          |
| <i>Acalypha communis</i>      | Triterpenos tipo cicloartano                                                                                                 | Gutiérrez-Lugo et. al., 2002                                |
| <i>Acalypha diversifolia</i>  | Amidas                                                                                                                       | Siems et. al., 1996                                         |
| <i>Acalypha guatemalensis</i> | Antocianinas, flavonoides y taninos                                                                                          | Navarro et. al., 2003                                       |
| <i>Acalypha hispida</i>       | Acalipidinas                                                                                                                 | Amakura et. al., 1999                                       |
|                               | Ácido gálico, corilagina, geranina, quercetina 3-O-rutinosido y camferol 3-O-rutinosido                                      | Adesina et. al., 2000                                       |
|                               | Antocianinas                                                                                                                 | Reiersen et. al., 2003                                      |
| <i>Acalypha indica</i>        | Alcaloides como acalipina                                                                                                    | Nahrstedt et. al., 1982                                     |
|                               | Acaliphamida, aurantiamida, succinamida, 2-metilantraquinona, $\beta$ -sitosterol, $\beta$ -sitosterol- $\beta$ -D-glucosido | Talapatra et. al., 1981                                     |
|                               | Estigmasterol y aceto de acaliphol.                                                                                          | Manzoor-i-Khuda et. al., 1985                               |
|                               |                                                                                                                              |                                                             |

| Espece                                                 | Metabolitos secundarios                                                                                                                                             | Cita                                            |
|--------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| <i>Acalypha macrostachia</i>                           | Friedolabdanos, derivados del curcumeno                                                                                                                             | Siems et. al., 1996                             |
| <i>Acalypha wilkesiana</i> y <i>Acalypha marginata</i> | Esteroles, triterpenos, alcaloides, carbohidratos, glicósidos, taninos, flavonoides y saponinas, Liquiritigenina, $\beta$ -sitosterol, $\alpha$ -amirina y taninos. | El-Tohami et. al., 1992<br>Mahran et. al., 1993 |
| <i>Acalypha wilkesiana</i>                             | Ácido gálico, corilagina y geranina                                                                                                                                 | Adesina et. al., 2000                           |

### 2.3.1 *Acalypha arvensis*

Alacrán, hierba del pastor, hoja de araña, hoja de la pastora, tapón, tapón de burro. Puebla toxio potei (otomí), tujumatuhuan (totonaco), zipozitzin (nahua); San Luis Potosí: bójol ts' ojol, tdum ts' ojol (tenek); Veracruz: jap' ati (tepehua).

#### Botánica y ecología

Hierba o arbusto delgado de unos 50 cm de altura, que en ocasiones crece tendida en el suelo. Las hojas son alargadas, a veces anchas en medio, puntiagudas y arrugadas. Las flores se encuentran en espigas y parecen gusanos de color verde o rojizo. Los frutos cuando secos, están cubiertos con pelos largos y tiesos.

Es originaria de América tropical, habita en climas cálido, semicálido y templado entre el rango de 400 a 2600 metros sobre el nivel del mar. Se encuentra asociada a dunas costeras, así como a bosques tropical perennifolio, mesofilo de montaña y de encino. En la Figura 2 se muestra una fotografía de *Acalypha arvensis*.





Figura 2. *Acalypha arvensis*

<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/euphorbiaceae/acalypha-arvensis/imagenes/habito-parcial.jpg>

### **Etnobotánica y antropología**

En Veracruz los usos medicinales que se dan a esta planta la indican contra la diarrea y como antihemético, para lo cual se emplea la planta entera en conocimiento por vía oral. Haciendo enjuagues para erupciones en la boca o bien de forma externa, lavando la parte afectada, o en baños para niños recién nacidos. Incluso aconsejan su uso contra las picaduras de capulincillo.

En tabasco, para la sarna (escabiosis), se dan baños con la cocción de las hojas, o maceradas éstas junto con tabaco se aplican para el piquete de araña.

### **Farmacología**

Únicamente se ha demostrado la actividad antibiótica contra *Staphylococcus aureus* que ejerce la tintura de las hojas, la cual fue probada también contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Candida albicans* con resultados negativos. Además se investigaron, la actividad diabética en rata y la acción citotóxica de los extractos metanólico, clorofórmico y etéreo, en cultivos de células de carcinoma humano de colon CO-115, sin resultados positivos (Argueta, 1994).

Debido a que *Acalypha arvensis* es utilizada de manera más frecuente en procesos inflamatorios e infecciones bacterianas, a continuación se detallan ambos procesos biológicos.

### **2.4 Enfermedades microbianas**

Vivimos en un mundo de microbios desde el nacimiento hasta la muerte y todos poseemos una variedad de microorganismos, o microbiota sobre y en el interior de nuestro cuerpo. Si bien suele beneficiarnos, en algunas circunstancias puede producirnos enfermedades o infectar a otras personas con las que tenemos contacto.

La distinción entre salud y enfermedad es en buena parte un equilibrio entre las defensas naturales del organismo y la capacidad de producir enfermedad de los microbios. Los microorganismos pueden entrar en nuestro cuerpo siempre que respiramos, deglutimos, sufrimos un corte en nuestra piel o tenemos un contacto

próximo con otras personas o con animales. Algunos microorganismos producen enfermedad al invadir los tejidos corporales, otros atacan indirectamente liberando toxinas. Generalmente hace falta un gran número de microorganismos para que produzcan enfermedad.

Que nuestro cuerpo sea capaz de vencer las tácticas ofensivas de un microorganismo en particular depende de nuestra resistencia. Una importante resistencia natural es la proporcionada, por la piel, mucosas, células ciliadas, ácido estomacal y sustancias antimicrobianas como los interferones. Los microbios pueden ser destruidos por los glóbulos blancos, los procesos inflamatorios, la fiebre y nuestro potente sistema inmunitario. A veces nuestras defensas naturales no son lo bastante fuertes para rechazar al invasor y necesitan ser ayudadas por antibióticos o por otros fármacos (Tortora, 2004).

### **2.4.1 Antibióticos**

Los antibióticos revolucionaron la medicina permitiendo el tratamiento de enfermedades infecciosas que alguna vez fueron fatales y no se pudieron combatir (Livermore 2004), sin embargo el uso inadecuado de los antibióticos ha ocasionado el surgimiento de cepas bacterianas resistentes, situación que es de gran preocupación desde 1990, ya que el incremento de cepas resistentes continua ocasionando severos problemas de salud pública (Pollard y Dobson, 2000).

Los principales grupos de antibióticos empleados para tratar las infecciones causadas por enterobacterias son:  $\beta$ -lactamasas, quinolonas, aminoglicosidos, tetraciclinas, y sulfonamidas (Georgopapadokü, 2002). Algunos de los efectos adversos que causan los antibióticos son: el incremento de la resistencia

bacteriana, los costos elevados del tratamiento, las reacciones alérgicas y sobretodo la destrucción de la flora bacteriana normal lo cual favorece la colonización de gérmenes potencialmente patógenos como *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Clostridium* y *Candida*, esto puede ser un factor que predispone al huésped a adquirir infecciones sistémicas (Gutierrez-Camacho, et. al., 1997).

Se han encontrado penicilinas semisintéticas que son más resistentes a la acidez (y por tanto más eficaces por vía oral) y cuyo espectro de actividad es a menudo más amplio que el de las penicilinas naturales. Por ejemplo, la *ampicilina*, la *amoxicilina* y la *carbenicilina*, siendo eficaces frente a patógenos Gram-negativos importantes. Y a excepción de la carbenicilina, son lo bastante estables en medio ácido como para tomarse por vía oral (Tortora, 2004)

### **2.4.2 *Escherichia coli***

El anaerobio facultativo *E. coli* es uno de los habitantes más comunes del tracto intestinal, se dispone de una enorme información sobre la bioquímica y la genética de *E. coli*, que sigue siendo una importante herramienta para las investigaciones biológicas básicas. Su presencia en agua y alimentos es también importante como indicación de contaminación fecal. *E. coli* no es considerado normalmente como un patógeno; sin embargo, es una causa frecuente de infecciones del tracto urinario y algunas cepas producen enterotoxinas, que son causa común de la diarrea del viajero (Tortora, 2004).

### **2.4.3 *Bacillus subtilis***

*Bacillus subtilis* es una bacteria Gram positiva, Catalasa-positiva comúnmente encontrada en el suelo. Un miembro del género *Bacillus*, *B. subtilis* tiene la habilidad para formar una resistente, endospora protectora, permitiendo al

organismo tolerar condiciones ambientales extremas. Sus esporas pueden sobrevivir la calefacción extrema que a menudo es usada para cocinar el alimento, y es responsable de causar la fibrosidad en el pan estropeado.

*Bacillus subtilis* es un microorganismo que se ha adoptado como un buen modelo biológico para estudios de laboratorio debido a la manipulación genética sobre la diferenciación celular y más explícitamente en la esporulación por lo que este microorg es usado generalmente como un equivalente gram positivo de *E. coli*.

### **2.5 Inflamación**

Generalmente los procesos inflamatorios envuelven una serie de eventos que pueden ser provocados por numerosos estímulos, tales como agentes infecciosos, isquemia, interacción antígeno-anticuerpo, daño físico y fiebre (Insel, 1990). Por lo general se asocia con dolor como un proceso secundario resultante de la liberación de mediadores inflamatorios (Osadebe et. al. 2003).

A través de los años se han realizado ingeniosas síntesis y modificaciones estructurales, las cuales usualmente son acompañadas de un diseño y desarrollo de nuevos fármacos, muchos agentes antiinflamatorios no esteroideos (AINES) han sido preparados (Olaniyi, 2000). Estos han sido de inmensa ayuda en la gestión de varios procesos inflamatorios como reumatismo, artritis y dolor en el pecho. Sin embargo, estos fármacos son conocidos por provocar irritación gastrointestinal haciéndolos poco factibles, por ello la necesidad de buscar nuevas alternativas antiinflamatorias de fármacos y medicamentos en diferentes hierbas naturales (Osadebe et. al. 2003).

La inflamación puede ser definida como la respuesta fisiológica del sistema de microcirculación y sus contenidos a un daño, con el fin de aislar y de destruir al agente dañino, así como reparar el tejido u órgano afectado. En el ámbito macroscópico la respuesta se acompaña de los conocidos signos clínicos como rubor, tumor o edema, calor y dolor.

Diversos estímulos pueden provocar la reacción inflamatoria, cada tipo de estímulo presenta un patrón característico de reacción o de respuesta que constituye una variante relativamente menor del mismo fenómeno. Los estudios se pueden clasificar en tres grupos:

- a) Físicos: trauma mecánico, irradiación, frío o calor.
- b) Químicos: ácidos, alcaloides, fenoles y otros irritantes inflamatorios como turpetina, kaolín y carragenina.
- c) Infección e inmunidad: daño provocado por organismos vivientes, como virus, bacterias, parásitos y hongos, además de daño por respuesta inmune como hipersensibilidad (Dominguez, 2006).

Los patógenos pueden empezar la respuesta inflamatoria por distintos mecanismos, incluyendo la activación del sistema de proteasas plasmáticas por interacción con los productos de degradación de las paredes bacterianas constituidas principalmente por polisacáridos y lipopolisacáridos (LPS) y por la secreción de toxinas (Dominguez, 2006).

La habilidad para desencadenar una respuesta inflamatoria es esencial para la supervivencia, dado los innumerables agentes patógenos y lesivos ambientales existentes; aunque el problema que surge de la respuesta inflamatoria es que la defensa se dirija tanto hacia agentes dañinos como a no

dañinos, provocando en algunas situaciones y enfermedades que la respuesta puede ser intensificada y perpetuada sin un beneficio manifiesto.

### **2.5.1 TIPOS DE INFLAMACIÓN**

La respuesta inflamatoria comprende la inflamación aguda y la crónica. La inflamación aguda es rápida, ocurre en corto tiempo (minutos o días) se responde de manera uniforme a un daño agudo y esta caracterizada por la acumulación de fluidos, proteínas plasmáticas y neutrófilos. En contraste en la inflamación crónica se observan fenómenos de larga duración (semanas, meses o indefinidamente) e incluye flujo de linfocitos, macrófagos y crecimiento de fibroblastos (Rossenberg y Gallin, 1999).

#### **INFLAMACIÓN AGUDA**

En la inflamación aguda se inician una serie de eventos moleculares como la producción de mediadores solubles pro-inflamatorios que promueven la sintomatología de la inflamación, los que incluyen:

1. Vasodilatación
2. Incremento de la permeabilidad vascular.
3. Agrupamiento y activación de células.
4. Fiebre o calor.

### Inflamación crónica

La inflamación crónica aguda es el resultado de una respuesta prolongada de la inflamación aguda que no ha podido ser reparada. La transición de la inflamación aguda a inflamación aguda crónica puede ser el resultado de tres mecanismos diferentes:

1. Persistencia del daño inflamatorio
2. La presencia de un antígeno endógeno o
3. Varios factores endógenos los cuales pueden alterar el tipo de célula y su función en el sitio de inflamación (Dominguez, 2006)

En algunos casos el estímulo de la inflamación crónica puede ser un componente “normal” del tejido. Esto ocurre en enfermedades inflamatorias donde el proceso es iniciado y mantenido por una anomalía en la regulación de la respuesta inmune a un propio tejido, conocido también como enfermedad autoinmune (<http://medweb.bham.ac.uk>).

Ejemplos de enfermedades que involucran inflamación crónica:

- Tuberculosis
- Colecistitis crónica
- Bronquiectasis
- Artritis reumatoide
- Tiroiditis de Hashimoto



- Enfermedad inflamatoria del intestino (colitis ulcerativa y enfermedad de Crohn's)
- Silicosis y otras neumoconosis
- Rechazo de implantes

**2.5.2 Mediadores moleculares y celulares involucrados en la inflamación**

Los procesos de inflamación son iniciados, regulados y por último eliminados por la acción de numerosas sustancias llamadas *mediadores inflamatorios solubles* (Tabla 3). Algunos de estos mediadores existen en forma inactiva y son activados como producto de la inflamación; otros son sintetizados y/o liberados por células involucradas en respuesta a la respuesta inflamatoria (Rossenberg et. al. 1999).

Tabla 3. Mediadores moleculares involucrados en la inflamación (Rossenberg et. al. 1999).

|                                             |                                  |
|---------------------------------------------|----------------------------------|
| 1. Citocinas proinflamatorias               | II. Mediadores lípidicos         |
| IL-1                                        | Prostaglandinas                  |
| IL-8                                        | Leucotrienos                     |
| IL-6                                        | Factor activados de plaquetas    |
| IL-12                                       | IV. Óxido nítrico                |
| Factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) | V. Especies reactivas de oxígeno |
| Interferon- $\gamma$ (INF- $\gamma$ )       | VI. Proteasas plasmáticas        |
| III. Aminas y peptidos                      | Complemento (C3)                 |
| Histamina                                   | Cininas (Bradicinina)            |
| Serotonina                                  |                                  |
| Neuropeptidos                               |                                  |

En la respuesta inflamatoria están involucradas una gran cantidad de células, entre las que destacan las células fagocíticas profesionales (neutrófilos, basófilos, eosinófilos, monocitos y macrófagos) estas son las principales responsables de la fagocitosis y la destrucción de microorganismos extraños, entre otras funciones.

Por otro lado en la respuesta inflamatoria aguda se considera que las principales células involucradas son leucocitos polimorfonucleares (neutrófilos, basófilos y eosinófilos) y en las lesiones crónicas las células mononucleares (monocitos y macrófagos) (Dominguez, 2006).

### **Fosfolipasa A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>)**

La fosfolipasa A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) es una enzima que hidroliza el enlace éster SN-2 de los glicerofosfolípidos liberando ácidos grasos, principalmente en ácido araquidónico y lisofosfolípidos. La fosfolipasa A<sub>2</sub> es inducida por numerosas células bajo la acción de diferentes estímulos como la IL-1, TNF- $\alpha$ , y lipopolisacáridos, los cuales provocan su acumulación en los líquidos inflamatorios (Valdés et. al., 2002).

El ácido araquidónico (ácido 5, 8, 14-eicosatetraenoico) es un ácido graso de 20 carbonos, componente normal en los fosfolípidos de las membranas celulares. Una vez liberado el ácido araquidónico es metabolizado hasta obtener productos oxigenados por la acción de diferentes sistemas enzimáticos como las ciclooxigenasas (COX) y la lipoxigenasa (LOX) (Campbell y Shalaska, 1996).

### **Ciclooxigenasa-2 (COX-2)**

La COX también llamada prostaglandina sintetasa es una enzima que produce prostaglandinas en la mayoría de los tejidos y tipos de células. Diferentes estudios han mostrado que la actividad de COX se incrementa en los estados de inflamación y es inducida por citocinas proinflamatorias y factores de crecimiento (Dewitt, 1991). Siguiendo estas observaciones y a una amplia investigación se descubrieron dos isoformas existentes de COX. 1) La isoforma constitutiva ciclooxigenasa-1 (COX-1), que se encuentra presente en el estómago, intestino o riñón, tejidos donde la producción de prostaglandinas juega un papel citoprotector al mantener los procesos fisiológicos normales, y 2) la isoforma inducible ciclooxigenasa-2 (COX-2), la cual se expresa en los procesos inflamatorios en diversas células incluyendo fibroblastos y macrófagos, los cuales aumentan en gran medida la producción de prostaglandinas proinflamatorias (Smith et. al., 2000, Wu, 1995).

Las prostaglandinas son formadas en una conversión de dos pasos del ácido araquidónico (Figura 3). Primero la enzima convierte el ácido araquidónico a endoperóxido cíclico (PGG<sub>2</sub>) por la acción de la ciclooxigenasa (COX), la cual promueve la captura de dos moléculas de oxígeno para formar el anillo endoperóxido en los carbonos C-9 y C-11 y el grupo hidroperóxido en C-15, dando lugar a PGG<sub>2</sub>. La segunda actividad involucra la reducción del peróxido para producir PGH<sub>2</sub> con un grupo hidroxilo en C-15, que es esencial para la actividad biológica. PGH<sub>2</sub> es un producto intermediario inestable del metabolismo del ácido araquidónico, que es rápidamente convertido a una variedad de productos que incluyen prostaglandinas como PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>, tromboxanos; TXA<sub>2</sub> o prostaciclina; PGI<sub>2</sub> por enzimas isómeras específicas (Dominguez, 2006).

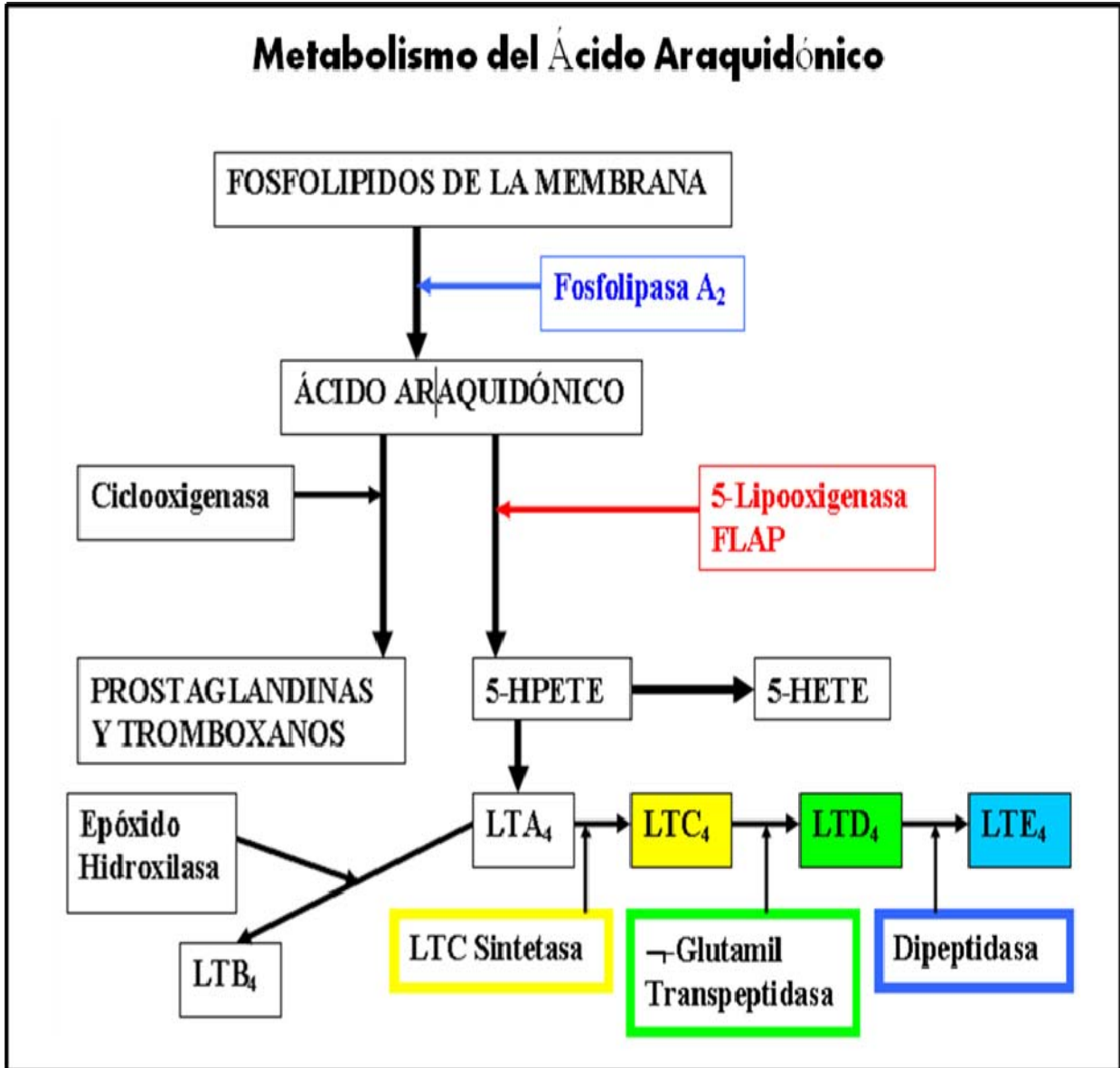
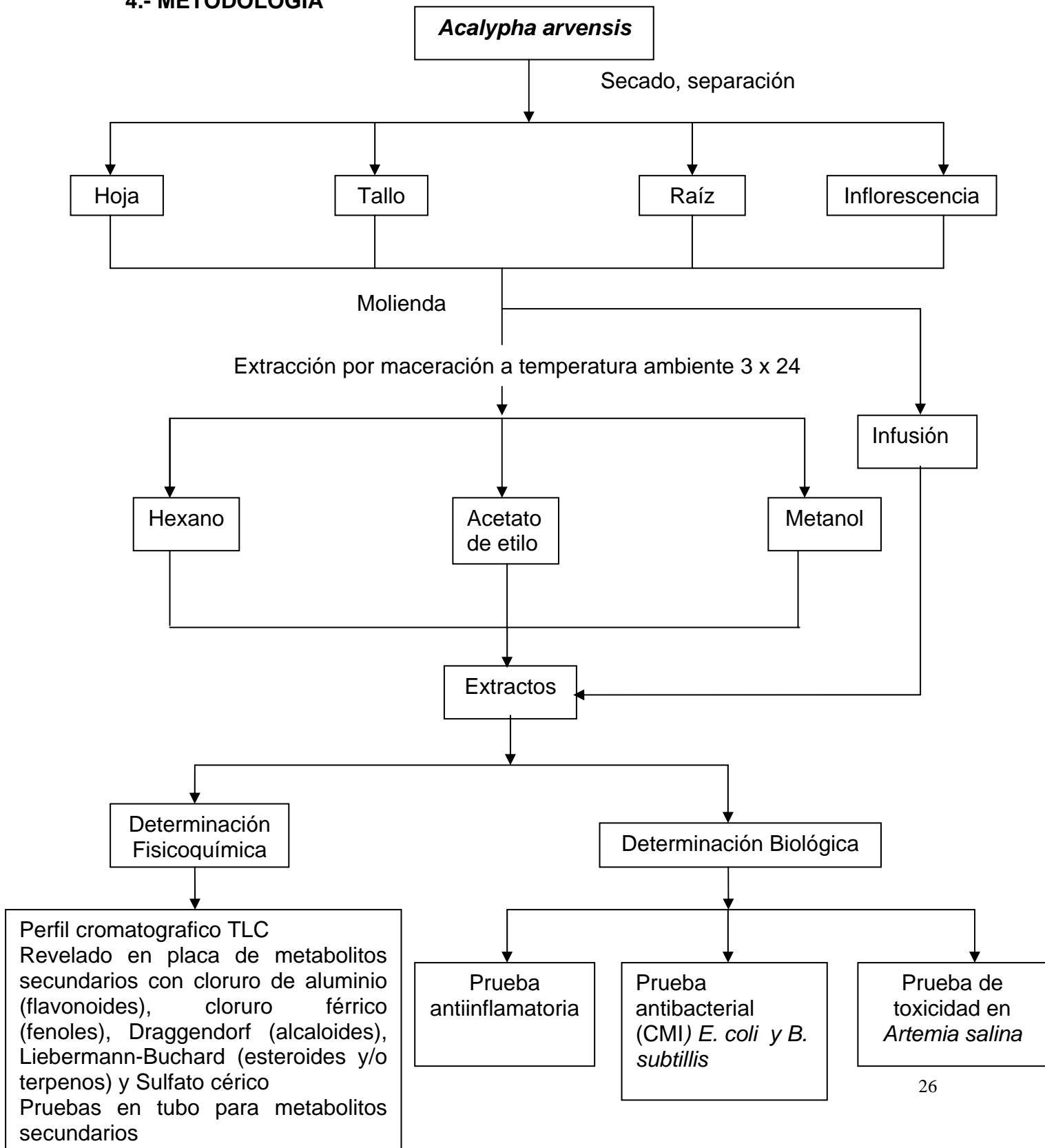


Figura 3. Metabolismo del ácido araquidónico (www.alergomurcia.com)

### 3.- OBJETIVOS

- Obtener los extractos de *Acalypha arvensis* y determinar sus perfiles cromatograficos, utilizando Cromatografía en Capa Fina (CCF).
- Detectar los grupos químicos de metabolitos secundarios presentes en los extractos de *Acalypha arvensis*.
- Determinar el potencial antimicrobiano de los extractos de *Acalypha arvensis* frente a *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*.
- Evaluar la actividad antiinflamatoria siguiendo el modelo de 12-o-tetradecanoil-forbol-13-acetato (TPA) en oreja de ratón de los extractos de *Acalypha arvensis*.
- Evaluar la toxicidad de los extractos en el crustáceo *Artemia salina* Leach.

4.- METODOLOGIA



### Estudio Fitoquímico

El material vegetal de *Acalypha arvensis* fue recolectado en el 2006, en la Sierra Norte de Puebla.

#### 4.1 Extracción

##### Obtención de los extractos

Se pesaron las diferentes partes de la planta (hojas, inflorescencia, raíz y tallo) para obtener los gramos en peso seco y proseguir con la maceración obteniendo la siguiente relación: hojas (485.5g), tallos (731 g) inflorescencias (117g) y raíces (175g).

##### Maceración.

Después de tener la relación del peso de cada una de las partes de la planta se maceraron a una temperatura de 25°C por 24 h x 3 sucesivamente con disolventes de polaridad ascendente (hexano, acetato de etilo y metanol). Los extractos obtenidos fueron concentrados mediante destilación a presión reducida. El rendimiento de cada uno de los extractos se obtuvo en relación al peso seco de las partes de la planta. Adicionalmente, se realizó una infusión con 5g de hojas, tallos, inflorescencias y raíces (preparación común en la medicina tradicional) en 100mL de agua destilada a temperatura de ebullición, posteriormente se liofilizó por 12 horas a una temperatura de - 50°C.

### 4.1.2 Detección de Metabolitos Secundarios

Se aplicaron 2 mg de cada extracto en la placa cromatográfica, una vez desarrollados óptimamente los perfiles cromatográficos con el eluyente idóneo para cada extracto, se procedió a evaporar el eluyente de la placa y revelar los metabolitos secundarios con reactivos específicos para la detección de flavonoides, fenoles, esteroides y terpenos (Domínguez, 1973).

#### Reveladores y tratamiento

Para revelar flavonoides se asperja una disolución de  $\text{AlCl}_3$  al 1% en etanol sobre la placa, posteriormente se calienta la placa en una parrilla a  $90^\circ\text{C}$  y se observa la placa en el visible y a 365nm en U.V. La presencia de colores amarillo o verde se considera prueba positiva.

Para revelar fenoles se asperja una disolución de cloruro férrico al 10% en etanol, posteriormente se calienta la placa en una parrilla a  $90^\circ\text{C}$  y se observa la placa en el visible, la aparición de colores verde o azul se considera prueba positiva

Para el revelado de esteroides y/o terpenos se asperja una solución del reactivo de Liebermann-Buchard sobre la placa, posteriormente se calienta la placa en una parrilla a  $90^\circ\text{C}$  y se observa la placa en el visible, si se observa un cambio de color hacia el anaranjado, rojo, azul o violeta, la prueba se considera positiva.



### **Caracterización de metabolitos secundarios por reacciones de coloración o precipitación**

También se determinaron los metabolitos secundarios por medio de reacciones coloridas o de precipitación, empleando 1 mg de cada extracto disuelto en el medio adecuado con reactivos específicos para: flavonoides, alcaloides, fenoles, taninos y saponinas (Domínguez, 1973).

- Mölisch para glicósidos
- Dragendorff y silicotungstico para alcaloides
- Prueba de espuma para saponinas
- Liebermann-Buchard para terpenos- esteroides
- Shinoda para flavonoides

#### Prueba de Mölisch.

A 0.5 mg de extracto disuelto en etanol o metanol (1mL) se agregan 2 gotas de una solución de alfa naftol en etanol y 1 mL de ácido sulfúrico concentrado dejándolo resbalar por las paredes poco a poco, de tal forma que el ácido y la solución metanolica se estratifiquen. Cuando es positivo se observa un anillo violeta en la interfase de los dos líquidos.

#### Prueba de espuma para identificación de saponinas

Esta prueba consiste en agitar durante un minuto los extractos diluidos en cloroformo la espuma que se genera debe permanecer por lo menos 20 minutos para considerarse positiva

Prueba de Liebermann-Burchard para la identificación de terpenos-esteroides.

El extracto disuelto en cloroformo más 1 mL de reactivo. Reactivo: mezclar volúmenes iguales de anhídrido acético y cloroformo, enfriar la mezcla en hielo y agregar gotas de ácido sulfúrico concentrado como mL de cloroformo contenidos en la mezcla.


La formación de colores rojo, naranja, verde, azul y violeta indican que es positiva la prueba.

Prueba del ácido silicotungstico para la identificación de alcaloides.

Se disuelven 50 g de ácido silicotungstico, en ácido sulfúrico 6N, necesario para formar 100 mL de solución estos se agregan al extracto la aparición de un precipitado indica prueba positiva para alcaloides.

### 4.1.3 Actividad antibacterial de *Acalypha arvensis*

Ensayos de microdilución en placa

El inóculo bacteriano fue preparado de un medio de cultivo de 18 a 24 h, y la suspensión fue ajustada en un espectrofotómetro (Termo Spectronic Genesys 20) al estándar 0,5 de la escala de McFarland. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos de *Acalypha arvensis* fue probada frente a *Escherichia coli* (ATCC-25922) y *Bacillus subtilis* (ATCC-6633), y ésta fue determinada basada en el método de microdilución en placa de 96 pozos (Swanson et al.,1992, citado en Ozturk,2006 ). En cada pozo se depositó 95 µL de caldo nutritivo, 5µL del inóculo y 100 µL de extracto a partir de una concentración de 8  de los extractos de hexano, acetato de etilo y metanol, (los extractos de

hexano y acetato de etilo se disolvieron en diclorometano, dimetilsulfoxido, metanol y agua, mientras que para los extractos de metanol los disolventes utilizados fueron metanol y agua), y en el caso de la infusión se partió de una concentración inicial de 64  $\mu\text{g}$  se prueban 6 diluciones (Factor de dilución 2). El caldo nutritivo se usó como control negativo del crecimiento bacteriano y como control positivo el caldo nutritivo más el inóculo. Se incluyó un blanco, el cual contiene el disolvente en el que fue disuelto el extracto.

El fármaco de referencia fue ampicilina anhidra (Sigma) a partir de una concentración de 0.8  $\mu\text{g}$  se obtienen 12 diluciones (Factor de dilución 2). La prueba se realizó por triplicado, el período de incubación es de 24h a 37°C y después de la incubación a todos los pozos se adicionó 50 $\mu\text{L}$  del indicador p-iodonitrotetrazolium al 10%, la aparición de color rojo indica que el compuesto es reducido a formazan, dando una prueba positiva de que la bacteria es viable (Roslev et al., 1993). La CMI de cada extracto se consideró como la concentración más baja que inhibió el crecimiento bacteriano y se confirmó por la siembra de 5  $\mu\text{L}$  de la muestra (CMI y pozos sucesivos sin crecimiento) en medio sólido de agar nutritivo (Ozturk, 2006).

#### **4.1.4 Evaluación cuantitativa de la actividad antibacterial.**

Los extractos de hexano, acetato de etilo, metanol e infusión, fueron probados individualmente contra *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*. La actividad antibacterial de los diferentes extractos fue realizada por el método de difusión en disco (Kirby-Bauer modificado). El inóculo de bacteria fue preparado de un medio de cultivo de 18 a 24 horas, y la suspensión fue ajustada en un espectrofotómetro (Termo Spectronic Genesys 20) al estándar 0,5 de la escala de McFarland (Se mezcla homogéneamente la suspensión con el agar nutritivo y posteriormente se

agregan los discos de papel filtro estériles impregnados con cada extracto a diferentes concentraciones. Como control se utilizó ampicilina a una concentración de 0.024 mg. Para el extracto de hexano y acetato de etilo las concentraciones que se evaluaron fueron: 6 mg, 4 mg, 2 mg, y 1 mg, mientras que para el extracto de metanol fueron: 8 mg, 6 mg, 4 mg, y 2 mg, y para la infusión: 8 mg, 6 mg, 4 mg y 2 mg en hoja y tallo, para inflorescencia de 4 mg, 2 mg y 1 mg, mientras que para el extracto de raíz fueron de 6 mg, 4mg, 2 y 1 mg. Todos los bioensayos se realizaron por triplicado.

### **4.1.5 Edema agudo inducido por 12-O-tetradecanoil-forbol-13-acetato (TPA) en oreja de ratón**

En el Instituto de Química de la UNAM se realizaron las pruebas antiinflamatorias siguiendo el modelo de TPA en oreja de ratón (Garcia-Argaez et. al., 2000) a todos los extractos obtenidos para conocer su respuesta ante la presencia de una inflamación.

Estas pruebas se hicieron en serie de cinco para cada extracto utilizando ratones machos albinos de la cepa CD-1 con pesos que oscilaban entre los 20 y 25 g.

Los extractos de hexano de hoja, tallo y raíz se disolvieron en hexano, mientras que el de inflorescencia se disolvió en metanol:acetona 1:1, al igual que los extractos de metanol. Los extractos de acetato de etilo de hoja, tallo e inflorescencia se disolvieron en metanol:diclorometano 1:1 y el de raíz en metanol:acetona 1:1.

La cantidad empleada por extracto fue de 31 mg/kg, como controles se usaron los disolventes empleados para cada extracto.

A los ratones anestesiados, se les suministró la muestra vía intraperitoneal, se esperó 30 minutos para que la absorción se llevara a cabo, posteriormente se aplicaron 10 µL de TPA + etanol (EtOH) como vehículos distribuidos en la cara interna y externa de una de las orejas (oreja tratada), mientras que la oreja contraria se le administraron 10 microlitros de EtOH (oreja control) distribuidos en ambas caras de la misma, en ambos casos se realizó vía tópica con la ayuda de una microjeringa.

La inflamación se presenta en un periodo aproximado de 4 horas, pasado este tiempo los ratones fueron sacrificados por dislocación cervical, enseguida se obtuvo la muestra de la oreja tratada y la oreja control con ayuda de un sacabocados de 9 mm de diámetro, se tomó el peso de dichas porciones y por diferencia de peso se determinó la respuesta antiinflamatoria de los extractos.

El porcentaje de inhibición del edema se calculó con la ecuación:

$$\% \text{ inhibición} = - \left( \frac{Tg}{Cg} \times 100 \right) \text{ Donde:}$$

Tg: peso de la oreja tratada en gramos

Cg: Peso de la oreja control en gramos (Garcia-Argaez et. al.,2000)

### 4.1.6 Determinación de la actividad tóxica en *Artemia salina* Leach

Se preparó una salmuera, la cual consiste de 23 g de NaCl, 11 g de MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 4 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1.3 g CaCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.7 g KCl en 1000mL de agua destilada. El pH se ajustó a 9 con una solución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> para disminuir el riesgo de muerte de *Artemia salina* por la disminución del pH durante la incubación. La solución se esterilizó y se oxigenó durante treinta minutos, finalmente se agregan los huevecillos de *Artemia salina* y se incuban durante 48 horas a una temperatura de 20 a 30°C, colocando una lámpara para su óptimo crecimiento.

Se probaron diferentes disolventes para cada extracto encontrando aquellos con los que mejor se disolvieron, y estos sirvieron como control para evitar falsos positivos además de comprobar que dichos disolventes fueran miscibles en agua. En la tabla B se muestran los extractos y cada mezcla de disolventes utilizados.

Tabla B. disolventes utilizados para la solubilización de los diferentes extractos de *Acalypha arvensis*

| Extracto         | Mezcla de disolventes        |
|------------------|------------------------------|
| Hexano           | Acetato de etilo:metanol 1:1 |
| Acetato de etilo | Acetona:metanol 1:1          |
| Metanol          | Metanol:agua 1:1             |

Después de las 48 horas de incubación se transfieren 10 larvas a cada tubo de ensaye para evaluar cada extracto, partiendo de una concentración de 1000 ppm de los diferentes extractos de *Acalypha arvensis*; se evaluaron 8 diluciones (Factor de dilución 2), para determinar la LC<sub>50</sub>.

Se incluyó una serie de referencia con una solución estándar de dicromato de potasio con las mismas condiciones empleadas en los extractos, así como un control que sólo contenía larvas y salmuera. Después de incubar por 24 horas a 20-30°C y con una lámpara, se cuentan las larvas vivas y muertas y la  $LC_{50}$  fue estimada usando el método Reed-Muench. Los bioensayos se realizaron por cuadruplicado.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 RENDIMIENTOS

Del total de las muestras recolectadas se obtuvo:

Tabla 4. Gramos totales de las diferentes partes de la planta (secas y molidas) de *Acalypha arvensis*.

| Parte de la planta             | Hoja  | Tallo | Inflorescencia | Raíz |
|--------------------------------|-------|-------|----------------|------|
| <b>Peso<sub>g</sub>TOTALES</b> | 485.5 | 731.8 | 117            | 175  |

#### Obtención de los extractos de *Acalypha arvensis*.

##### a) Maceración.

En la tabla 5 se muestra el rendimientos obtenido de las diferentes partes de *Acalypha arvensis* macerada con los disolventes orgánicos empleados. El rendimiento de cada uno de los extractos se obtuvo en relación al peso seco de las partes de la planta.

Tabla 5. Rendimiento obtenido de la maceración de *Acalypha arvensis*.

| EXTRACTO                | HOJA    |              | TALLO    |              | INFLORESCENCIA |              | RAÍZ    |              |
|-------------------------|---------|--------------|----------|--------------|----------------|--------------|---------|--------------|
| <b>HEXANO</b>           | 3.9160g | <b>0.47%</b> | 2.3022g  | <b>0.31%</b> | 0.3170g        | <b>0.27%</b> | 0.827g  | <b>0.47%</b> |
| <b>ACETATO DE ETILO</b> | 3.4724g | <b>0.72%</b> | 1.7926g  | <b>0.25%</b> | 0.8236g        | <b>0.70%</b> | 1.1482g | <b>0.65%</b> |
| <b>METANOL</b>          | 21.1625 | <b>4.35</b>  | 26.7555g | <b>3.65%</b> | 2.1479g        | <b>1.83%</b> | 3.9969g | <b>2.28%</b> |

##### b) Infusión.

Para la obtención de las infusiones se utilizaron 5 gramos en peso seco de cada una de las partes de *Acalypha arvensis* (Metodología, 4.1). En la Tabla 6 se muestran los rendimientos obtenidos.

Tabla 6. Rendimiento obtenido de la infusión.

|                 | HOJA    |               | TALLO   |              | INFLORESCENCIA |              | RAÍZ   |              |
|-----------------|---------|---------------|---------|--------------|----------------|--------------|--------|--------------|
| <b>INFUSIÓN</b> | 0.6296g | <b>12.60%</b> | 0.4438g | <b>8.80%</b> | 0.2793g        | <b>5.60%</b> | 0.3209 | <b>5.73%</b> |



5.1.2 CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

Extractos Hexanicos de *Acalypha arvensis*

Los extractos de hoja, tallo, inflorescencia y raíz de hexano y acetato de etilo se analizaron mediante cromatografía en capa fina, en una placa de sílica gel. Se desarrollaron los extractos de hexano, con hexano:acetato de etilo (7:3).

Tabla 7. Perfiles cromatográficos de los extractos de hexano de *Acalypha arvensis*

| Rf   | Hoja  |       |                                 | Tallo |       |                                 | Inflorescencia |       |                                 | Raíz  |       |                                 |
|------|-------|-------|---------------------------------|-------|-------|---------------------------------|----------------|-------|---------------------------------|-------|-------|---------------------------------|
|      | 254nm | 365nm | Ce <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 254nm | 365nm | Ce <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 254nm          | 365nm | Ce <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 254nm | 365nm | Ce <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> |
| 0.04 |       |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.05 |       |       |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |
| 0.08 | ✓     |       | ✓                               |       |       |                                 |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.12 |       |       |                                 |       |       |                                 |                | ✓     | ✓                               | ✓     |       | ✓                               |
| 0.14 |       |       |                                 | ✓     |       | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.16 |       | ✓     |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |
| 0.17 |       |       |                                 | ✓     |       | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.18 |       |       |                                 |       |       |                                 | ✓              |       | ✓                               |       |       |                                 |
| 0.22 |       |       |                                 | ✓     |       | ✓                               |                |       |                                 | ✓     |       | ✓                               |
| 0.24 |       |       |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 | ✓     |       | ✓                               |
| 0.25 |       |       |                                 |       |       |                                 | ✓              |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.27 |       |       |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 | ✓     |       | ✓                               |
| 0.28 |       |       |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 | ✓     |       | ✓                               |
| 0.30 |       | ✓     | ✓                               |       |       |                                 |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.31 |       |       |                                 |       |       |                                 | ✓              |       | ✓                               | ✓     |       | ✓                               |
| 0.33 |       |       |                                 |       | ✓     | ✓                               | ✓              |       | ✓                               |       |       |                                 |
| 0.35 |       |       |                                 |       |       |                                 | ✓              |       | ✓                               |       |       |                                 |
| 0.36 |       |       | ✓                               |       |       |                                 |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.37 |       |       |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 | ✓     |       | ✓                               |
| 0.40 |       |       |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 | ✓     |       | ✓                               |
| 0.41 |       |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.43 |       |       |                                 |       |       |                                 |                | ✓     | ✓                               |       |       |                                 |
| 0.46 | ✓     |       | ✓                               |       |       |                                 |                | ✓     | ✓                               |       |       |                                 |
| 0.47 |       |       |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 | ✓     |       | ✓                               |
| 0.50 | ✓     |       | ✓                               |       | ✓     | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.52 |       |       |                                 |       |       |                                 |                | ✓     | ✓                               |       |       |                                 |
| 0.54 |       | ✓     |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.55 | ✓     |       | ✓                               |       | ✓     | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.63 | ✓     |       | ✓                               |       | ✓     | ✓                               | ✓              |       | ✓                               | ✓     |       | ✓                               |
| 0.66 |       | ✓     | ✓                               | ✓     |       | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.70 |       |       |                                 |       |       |                                 | ✓              |       | ✓                               |       |       |                                 |
| 0.75 | ✓     | ✓     | ✓                               | ✓     |       | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |

| Rf   | Hoja  |       |                                 | Tallo |       |                                 | Inflorescencia |       |                                 | Raíz  |       |                                 |
|------|-------|-------|---------------------------------|-------|-------|---------------------------------|----------------|-------|---------------------------------|-------|-------|---------------------------------|
|      | 254nm | 365nm | Ce <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 254nm | 365nm | Ce <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 254nm          | 365nm | Ce <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 254nm | 365nm | Ce <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> |
| 0.77 |       |       | ✓                               | ✓     |       | ✓                               |                |       |                                 | ✓     |       | ✓                               |
| 0.80 |       |       |                                 |       |       |                                 | ✓              |       | ✓                               |       |       |                                 |
| 0.81 |       |       |                                 | ✓     |       | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.83 |       |       |                                 |       |       |                                 | ✓              |       | ✓                               |       |       |                                 |
| 0.87 |       |       |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 | ✓     |       | ✓                               |
| 0.88 |       | ✓     | ✓                               | ✓     |       | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |

### Extractos de acetato de etilo de *Acalypha arvensis*

Los extractos de acetato de etilo se desarrollaron en hexano:acetato de etilo 8:2

Tabla 8. Perfiles cromatográficos de los extractos de Acetato e etilo de *Acalypha arvensis*

| Rf   | Hoja  |       |                                 | Tallo |       |                                 | Inflorescencia |       |                                 | Raíz  |       |                                 |
|------|-------|-------|---------------------------------|-------|-------|---------------------------------|----------------|-------|---------------------------------|-------|-------|---------------------------------|
|      | 254nm | 365nm | Ce <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 254nm | 365nm | Ce <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 254nm          | 365nm | Ce <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 254nm | 365nm | Ce <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> |
| 0.05 |       |       |                                 |       |       |                                 | ✓              |       | ✓                               |       | ✓     | ✓                               |
| 0.07 |       |       |                                 |       |       |                                 | ✓              |       | ✓                               |       |       |                                 |
| 0.08 |       |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.10 | ✓     |       | ✓                               |       |       |                                 |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.11 |       |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |                |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |
| 0.12 |       |       |                                 |       |       |                                 |                | ✓     | ✓                               |       |       |                                 |
| 0.14 |       |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.16 | ✓     |       | ✓                               |       |       |                                 |                |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |
| 0.17 |       |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.18 |       |       |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 | ✓     |       | ✓                               |
| 0.20 | ✓     |       | ✓                               |       | ✓     | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.23 |       |       |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |
| 0.26 |       |       |                                 |       |       |                                 |                | ✓     | ✓                               |       |       |                                 |
| 0.28 |       |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.30 |       |       |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |
| 0.32 |       |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |                | ✓     | ✓                               |       |       |                                 |
| 0.33 | ✓     |       | ✓                               |       |       |                                 |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.34 |       |       |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 | ✓     |       | ✓                               |
| 0.35 |       |       |                                 |       |       |                                 |                | ✓     | ✓                               |       |       |                                 |
| 0.36 |       |       |                                 | ✓     |       | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.38 |       |       |                                 |       |       |                                 | ✓              |       | ✓                               |       | ✓     | ✓                               |
| 0.40 | ✓     |       |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.41 |       |       |                                 | ✓     |       | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.42 |       |       |                                 | ✓     |       | ✓                               | ✓              |       | ✓                               |       |       |                                 |
| 0.43 |       |       |                                 |       |       |                                 |                |       | ✓                               |       | ✓     | ✓                               |
| 0.46 |       |       |                                 |       | ✓     | ✓                               | ✓              |       | ✓                               |       |       |                                 |
| 0.48 |       | ✓     | ✓                               |       |       |                                 |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.50 |       |       |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |

## Resultados

| Rf   | Hoja  |       |                                 | Tallo |       |                                 | Inflorescencia |       |                                 | Raíz  |       |                                 |
|------|-------|-------|---------------------------------|-------|-------|---------------------------------|----------------|-------|---------------------------------|-------|-------|---------------------------------|
|      | 254nm | 365nm | Ce <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 254nm | 365nm | Ce <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 254nm          | 365nm | Ce <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 254nm | 365nm | Ce <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> |
| 0.52 | ✓     |       |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.55 |       |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |                | ✓     | ✓                               |       |       |                                 |
| 0.56 | ✓     |       |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.57 |       |       |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |
| 0.60 |       | ✓     | ✓                               |       | ✓     | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.63 |       |       |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |
| 0.65 |       | ✓     | ✓                               |       |       |                                 | ✓              | ✓     | ✓                               |       |       |                                 |
| 0.66 |       |       |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 | ✓     |       | ✓                               |
| 0.68 |       |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.71 |       |       |                                 |       |       |                                 | ✓              | ✓     | ✓                               |       |       |                                 |
| 0.72 |       | ✓     | ✓                               | ✓     |       | ✓                               |                |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |
| 0.75 |       |       |                                 | ✓     |       | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.76 |       | ✓     | ✓                               |       |       |                                 |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.77 |       |       |                                 |       |       |                                 |                | ✓     | ✓                               | ✓     |       | ✓                               |
| 0.78 |       |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |
| 0.82 |       |       |                                 |       |       |                                 |                | ✓     | ✓                               |       |       |                                 |
| 0.83 |       | ✓     | ✓                               |       |       |                                 |                |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |
| 0.88 |       |       |                                 |       |       |                                 |                |       |                                 |       | ✓     | ✓                               |
| 0.90 |       |       |                                 | ✓     |       | ✓                               |                |       |                                 |       |       |                                 |

A los extractos de metanol e infusión se les realizó cromatografía en capa fina, se probaron diferentes fases móviles en las cuales no se lograron resolver las bandas de los compuestos que contienen dichos extractos, por lo cual la determinación de metabolitos secundarios de estos se comprobaron por reacciones de precipitación-coloración con reactivos específicos.

*Acalypha arvensis*

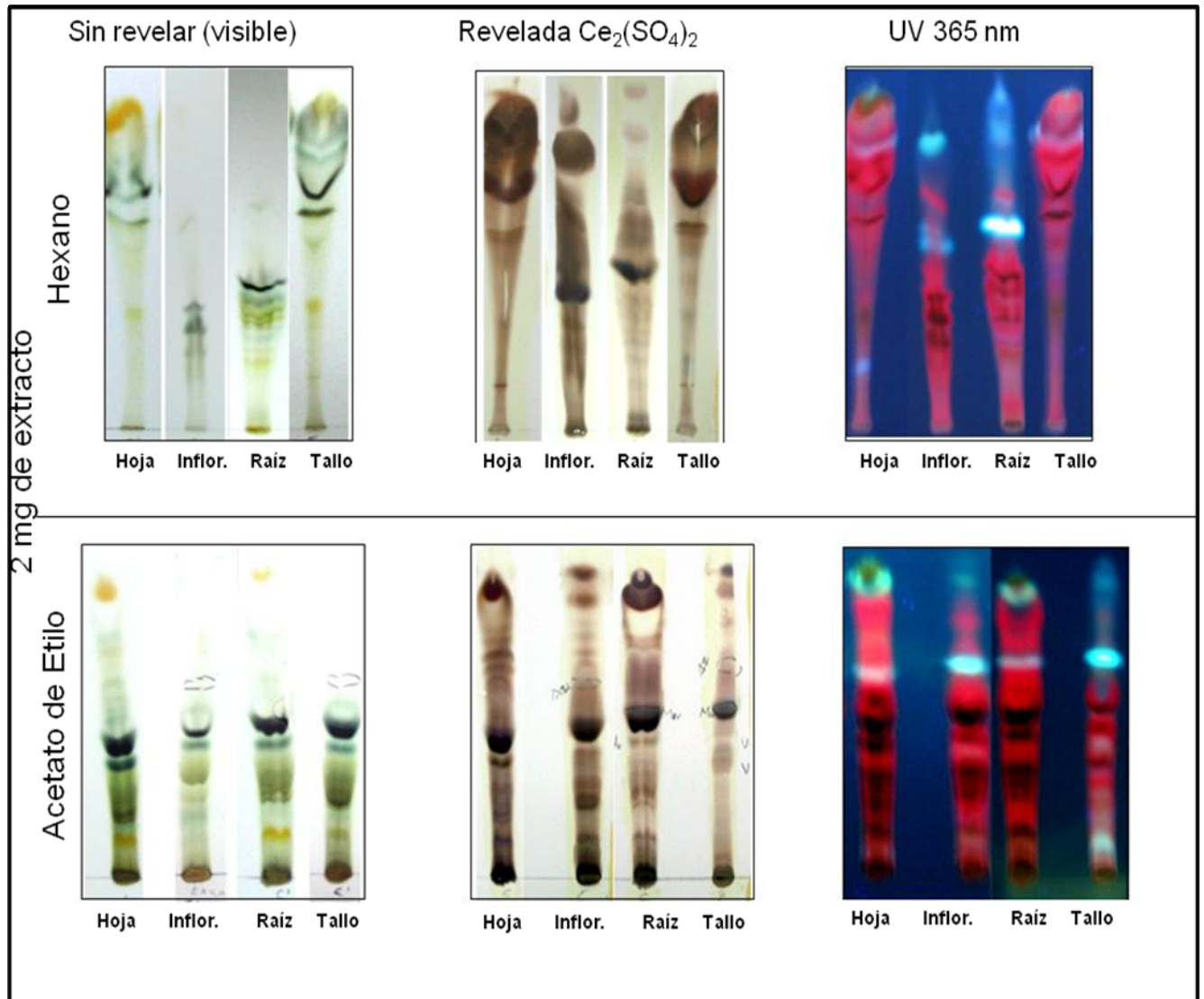


Figura 4. Perfiles cromatográficos de los diferentes extractos de *Acalypha arvensis*

## 5.1.3 DETECCIÓN EN PLACA DE METABOLITOS SECUNDARIOS

EXTRACTOS DE HEXANO DE *Acalypha arvensis*

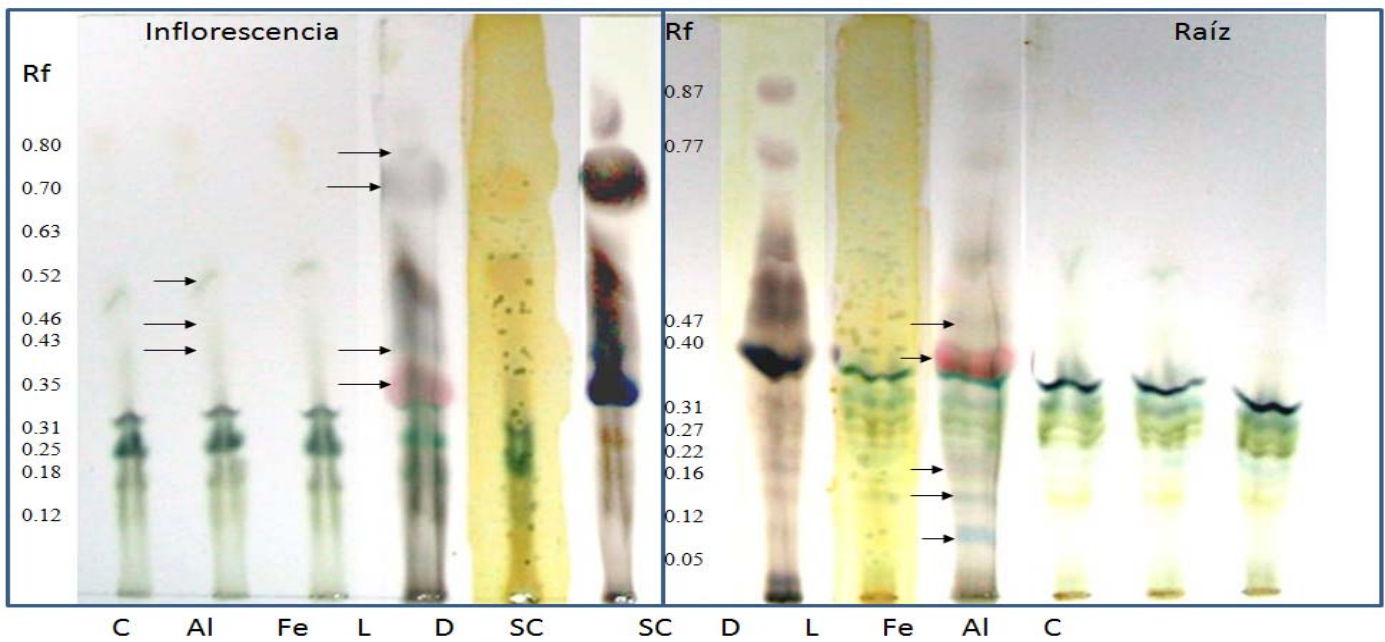
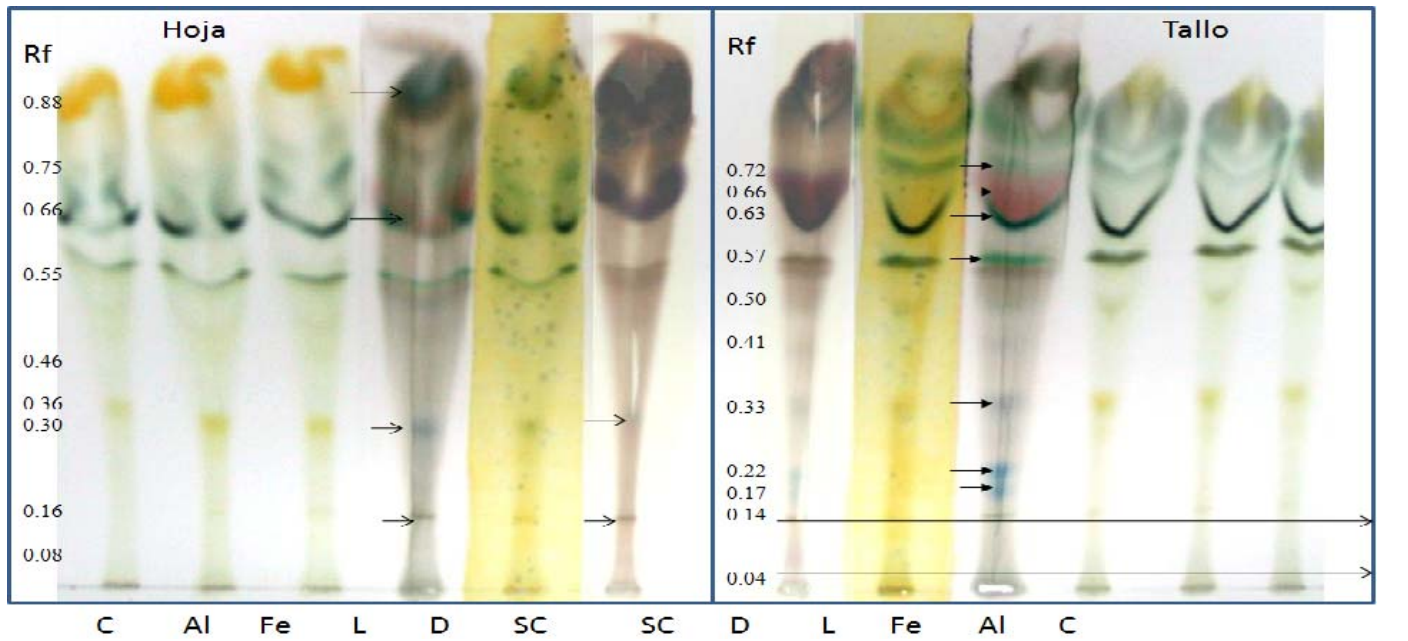
Tabla 9. Muestra la detección de metabolitos secundarios de Hoja (A), Tallo (B), Inflorescencia (C) y Raíz (D).

| <b>A Hoja</b> |          |                   |                                    |                   |           |             |                |
|---------------|----------|-------------------|------------------------------------|-------------------|-----------|-------------|----------------|
| Rf            | Visible  | UV <sub>365</sub> | AlCl <sub>3</sub> <sub>uv365</sub> | FeCl <sub>3</sub> | Lieberman | Draggendorf | Sulfato cérico |
| 0.08          | -        |                   | Azul                               | -                 | -         | -           | +              |
| 0.16          | -        | Morado            | -                                  | -                 | Azul      | -           | +              |
| 0.30          | -        | Morado            | -                                  | -                 | -         | -           | +              |
| 0.36          | -        | -                 | Azul                               | -                 | -         | -           | +              |
| 0.46          | -        | -                 | -                                  | -                 | -         | -           | +              |
| 0.50          | -        | -                 | -                                  | -                 | Rosa      | -           | +              |
| 0.55          | Verde    | Rojo              | Rosa                               | -                 | Verde     | -           | +              |
| 0.63          | Verde    | -                 | -                                  | -                 | Verde     | -           | +              |
| 0.66          | Verde    | Rojo              | -                                  | -                 | Rosa      | -           | +              |
| 0.75          | Verde    | Rojo              | -                                  | -                 | -         | -           | +              |
| 0.77          | Verde    | -                 | -                                  | -                 | Verde     | -           | +              |
| 0.88          | Amarillo | Amarillo          | -                                  | -                 | Gris      | -           | +              |

| <b>B Tallo</b> |         |                   |                                    |                   |           |             |                |
|----------------|---------|-------------------|------------------------------------|-------------------|-----------|-------------|----------------|
| Rf             | Visible | UV <sub>365</sub> | AlCl <sub>3</sub> <sub>uv365</sub> | FeCl <sub>3</sub> | Lieberman | Draggendorf | Sulfato cérico |
| 0.04           | -       | Rojo              | -                                  | -                 | -         | -           | +              |
| 0.14           | -       | -                 | -                                  | -                 | Gris      | -           | +              |
| 0.17           | Verde   | -                 | -                                  | -                 | Azul      | -           | +              |
| 0.22           | Verde   | -                 | -                                  | -                 | Azul      | -           | +              |
| 0.33           | -       | Naranja           | -                                  | -                 | Azul      | -           | +              |
| 0.41           | -       | Morado            | -                                  | -                 | -         | -           | +              |
| 0.50           | -       | Rojo              | -                                  | -                 | Rosa      | -           | +              |
| 0.55           | Verde   | Café              | -                                  | -                 | Verde     | -           | +              |
| 0.63           | Verde   | Rojo              | -                                  | -                 | Verde     | -           | +              |
|                | Verde   | -                 | -                                  | -                 | Rosa      | -           | +              |
| 0.75           | Verde   | -                 | -                                  | -                 | Verde     | -           | -              |
| 0.77           | Verde   | -                 | -                                  | -                 | Verde     | -           | +              |
| 0.81           | Verde   | -                 | -                                  | -                 | -         | -           | +              |
| 0.88           | -       | -                 | -                                  | -                 | -         | -           | +              |

| <b>C</b>              |                |                         |                                         |                         |                  |                    |                       |
|-----------------------|----------------|-------------------------|-----------------------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|-----------------------|
| <b>Inflorescencia</b> |                |                         |                                         |                         |                  |                    |                       |
| <b>Rf</b>             | <b>Visible</b> | <b>UV<sub>365</sub></b> | <b>AlCl<sub>3</sub><sub>UV365</sub></b> | <b>FeCl<sub>3</sub></b> | <b>Lieberman</b> | <b>Draggendorf</b> | <b>Sulfato cérico</b> |
| 0.12                  | Verde          | Naranja                 | -                                       | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.18                  | Verde          | -                       | -                                       | -                       | Verde            | -                  | +                     |
| 0.31                  | Verde          | -                       | -                                       | -                       | Verde            | -                  | +                     |
| 0.33                  | Verde          | -                       | -                                       | -                       | Verde            | -                  | +                     |
| 0.35                  | -              | -                       | -                                       | -                       | Rosa             | -                  | +                     |
| 0.43                  | -              | Azul-verdoso            | Azul                                    | -                       | Gris             | -                  | +                     |
| 0.46                  | -              | Morado                  | Rosa                                    | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.52                  | -              | Rojo                    | Verde                                   | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.63                  | -              | -                       | -                                       | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.70                  | -              | -                       | -                                       | -                       | Azul             | -                  | +                     |
| 0.80                  | -              | -                       | -                                       | -                       | Gris             | -                  | +                     |
| 0.83                  | -              | -                       | -                                       | -                       | -                | -                  | +                     |

| <b>D</b>    |                |                           |                                         |                         |                  |                    |                       |
|-------------|----------------|---------------------------|-----------------------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|-----------------------|
| <b>Raíz</b> |                |                           |                                         |                         |                  |                    |                       |
| <b>Rf</b>   | <b>Visible</b> | <b>UV<sub>365nm</sub></b> | <b>AlCl<sub>3</sub><sub>UV365</sub></b> | <b>FeCl<sub>3</sub></b> | <b>Lieberman</b> | <b>Draggendorf</b> | <b>Sulfato cérico</b> |
| 0.05        | Verde          | Rojo                      | -                                       | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.12        | Verde          | -                         | -                                       | -                       | Azul             | -                  | +                     |
| 0.16        | Verde          | Naranja                   | -                                       | -                       | Azul             | -                  | +                     |
| 0.22        | Verde          | -                         | -                                       | -                       | Rosa             | -                  | +                     |
| 0.24        | Verde          | -                         | -                                       | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.27        | Verde          | -                         | -                                       | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.28        | Verde          | -                         | -                                       | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.31        | Verde          | -                         | -                                       | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.37        | Verde          | -                         | -                                       | -                       | verde            | -                  | +                     |
| 0.40        | Verde          | -                         | -                                       | -                       | Rosa             | -                  | +                     |
| 0.47        | Verde          | -                         | -                                       | -                       | Gris             | -                  | +                     |
|             | -              | -                         | -                                       | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.77        | -              | -                         | -                                       | -                       | Rosa             | -                  | +                     |
| 0.87        | -              | -                         | -                                       | -                       | Gris             | -                  | +                     |



Para el revelado de placas se utilizaron los siguientes reveladores  
 Cloruro de aluminio (Al)  
 Cloruro férrico (Fe)  
 Reactivo de Liberman (L)  
 Reactivo de Dragendorff (D)  
 Sulfato cerico (SC)  
 Control (c)

Extractos de hexano

Fig. 5 Revelado de metabolitos secundarios en placa de los extractos de hexano.

### EXTRACTOS DE ACETATO DE ETILO DE *Acalypha arvensis*

Tabla 10. Muestra la detección de metabolitos secundarios de Hoja (a), Tallo (B), Inflorescencia (C) y Raíz (D).

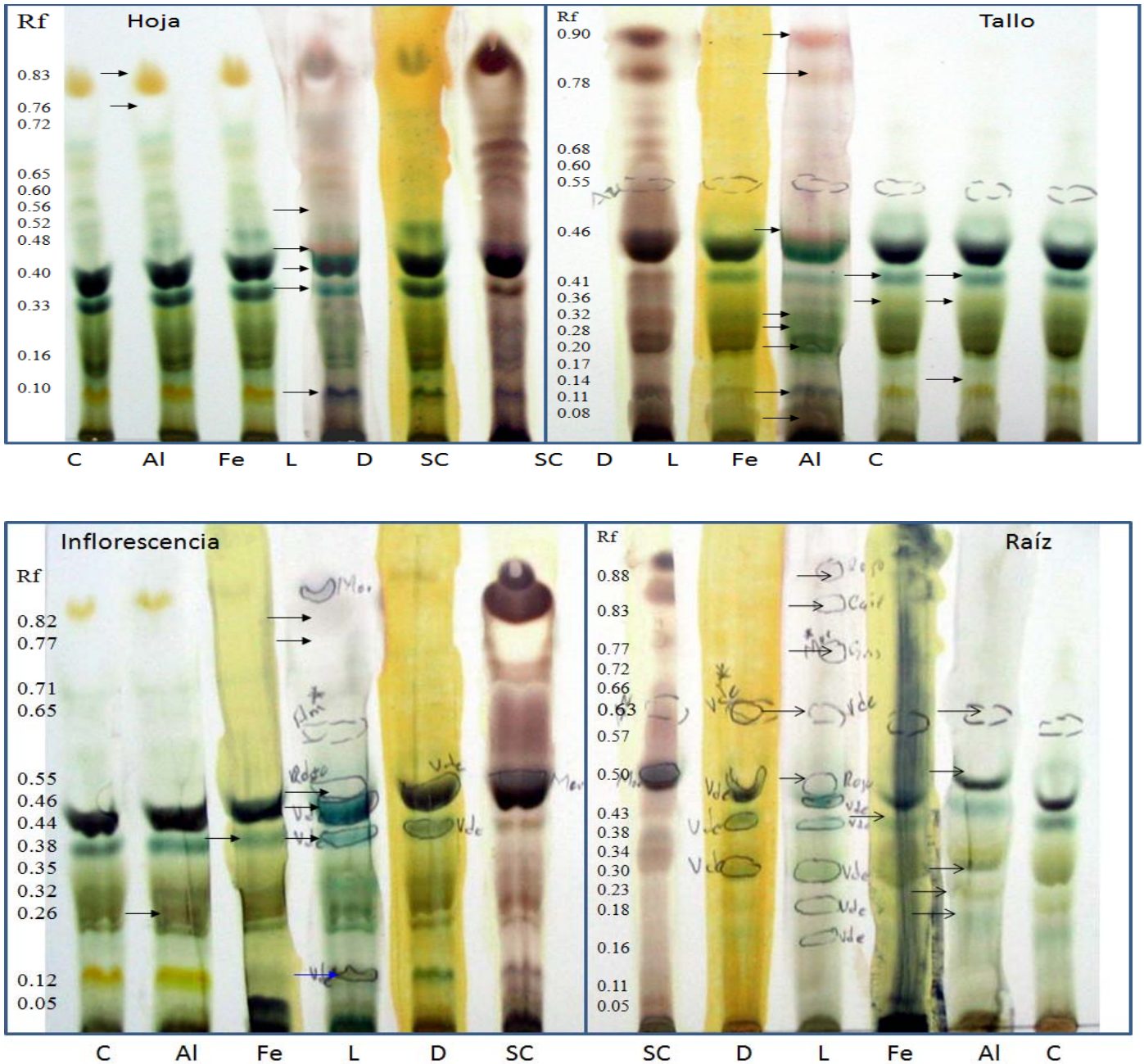
| <b>A</b>    |          |                     |                        |                   |           |             |                |
|-------------|----------|---------------------|------------------------|-------------------|-----------|-------------|----------------|
| <i>Hoja</i> |          |                     |                        |                   |           |             |                |
| Rf          | Visible  | UV <sub>365nm</sub> | AlCl <sub>3uv365</sub> | FeCl <sub>3</sub> | Lieberman | Draggendorf | Sulfato cérico |
| 0.10        | Amarillo | -                   | Café                   | Verde             | -         | -           | +              |
| 0.16        | Café     | -                   |                        | -                 | Azul      | -           | +              |
| 0.20        | Verde    | -                   | -                      | -                 | -         | -           | +              |
| 0.33        | Verde    | -                   | -                      | -                 | Azul      | -           | +              |
| 0.40        | Verde    | -                   | -                      | -                 | Verde     | -           | +              |
| 0.48        | Verde    | Azul                | -                      | -                 | Rosa      | -           | +              |
| 0.52        | Verde    | -                   | -                      | -                 | -         | -           | +              |
| 0.56        | Verde    | -                   | -                      | -                 | Rosa      | -           | +              |
| 0.60        | Verde    | Rosa                | -                      | -                 | -         | -           | +              |
| 0.65        | Verde    | Rojo                | -                      | -                 | -         | -           | +              |
| 0.72        | -        | Morado              | -                      | -                 | -         | -           | +              |
| 0.76        | Amarillo | Amarillo            | Amarillo               | -                 | -         | -           | +              |
| 0.83        | Amarillo | Café                | Café                   | -                 | Gris      | -           | +              |

| <b>B</b>     |             |                     |                        |                   |           |             |                |
|--------------|-------------|---------------------|------------------------|-------------------|-----------|-------------|----------------|
| <i>Tallo</i> |             |                     |                        |                   |           |             |                |
| Rf           | Visible     | UV <sub>365nm</sub> | AlCl <sub>3uv365</sub> | FeCl <sub>3</sub> | Lieberman | Draggendorf | Sulfato cérico |
| 0.08         | Verde       | Amarillo            | -                      | -                 | Gris      | -           | +              |
| 0.11         | Café        | Café                | Verde                  | -                 | Azul      | -           | +              |
| 0.14         | Verde       | Verde               | -                      | -                 | -         | -           | +              |
| 0.17         | Verde       | Rojo                | -                      | -                 | -         | -           | +              |
| 0.20         | Verde       | Rojo                | -                      | -                 |           | -           | +              |
| 0.28         | Verde       | Rojo                | -                      | -                 | Verde     | -           | +              |
| 0.32         | Verde claro | Amarillo            | -                      | -                 | Verde     | -           | +              |
| 0.36         | Verde olivo | -                   | Azul-Verdoso           | Verde             | -         | -           | +              |
| 0.41         | Verde       | -                   | Verde                  | Verde             | -         | -           | +              |
| 0.42         | Verde       | -                   | -                      | -                 | Verde     | -           | +              |
| 0.46         | -           | Rojo                | -                      | -                 | Rosa      | -           | +              |
| 0.55         | -           | Azul                | -                      | -                 | -         | -           | +              |
| 0.60         | -           | Rosa                | -                      | -                 | -         | -           | +              |
| 0.68         | -           | Rojo                | -                      | -                 | -         | -           | +              |
| 0.72         | -           | -                   | -                      | -                 | -         | -           | +              |
| 0.75         | -           | -                   | -                      | -                 | -         | -           | +              |
| 0.78         | -           | Amarillo            | -                      | -                 | Rosa      | -           | +              |
| 0.90         | -           | -                   | -                      | -                 | Rosa      | -           | +              |



| <b>C</b>              |                |                           |                              |                         |                  |                    |                       |
|-----------------------|----------------|---------------------------|------------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|-----------------------|
| <b>Inflorescencia</b> |                |                           |                              |                         |                  |                    |                       |
| <b>Rf</b>             | <b>Visible</b> | <b>UV<sub>365nm</sub></b> | <b>AlCl<sub>3uv365</sub></b> | <b>FeCl<sub>3</sub></b> | <b>Lieberman</b> | <b>Draggendorf</b> | <b>Sulfato cérico</b> |
| 0.05                  | Verde          | -                         | -                            | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.07                  | Verde          | -                         | -                            | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.12                  | Amarillo       | Café                      | Amarillo                     | -                       | Gris             | -                  | +                     |
| 0.26                  | Café           | Café                      | -                            | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.32                  | Verde          | Rojo                      | Café                         | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.35                  | Verde olivo    | Café                      | Verde                        | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.38                  | Verde          | -                         | -                            | Verde                   | Verde            | -                  | +                     |
| 0.42                  | Verde          | -                         | -                            | -                       | Verde            | -                  | +                     |
| 0.43                  | Verde          | -                         | -                            | -                       | Verde            | -                  | +                     |
| 0.46                  | Verde          | -                         | -                            | -                       | Rosa             | -                  | +                     |
|                       | Verde          | Café                      | -                            | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.65                  | -              | -                         | Verde                        | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.71                  | -              | -                         | Verde                        | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.77                  | -              | Azul                      | -                            | -                       | Gris             | -                  | +                     |
| 0.82                  | -              | Morado                    | Café                         | -                       | Rosa             | -                  | +                     |

| <b>D</b>    |                |                         |                              |                         |                  |                    |                       |
|-------------|----------------|-------------------------|------------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|-----------------------|
| <b>Raíz</b> |                |                         |                              |                         |                  |                    |                       |
| <b>Rf</b>   | <b>Visible</b> | <b>UV<sub>365</sub></b> | <b>AlCl<sub>3uv365</sub></b> | <b>FeCl<sub>3</sub></b> | <b>Lieberman</b> | <b>Draggendorf</b> | <b>Sulfato cérico</b> |
| 0.05        | Verde claro    | Rojo                    | -                            | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.11        | Verde claro    | Amarillo                | -                            | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.16        | Verde claro    | Café                    | -                            | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.18        | Verde olivo    | -                       | Rojo                         | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.23        | Verde olivo    | Rojo                    | Café                         | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.30        | Verde olivo    | Café                    | Café                         | -                       | Verde            | -                  | +                     |
| 0.34        | Verde          | -                       | -                            | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.38        | Verde          | Rojo                    | -                            | Verde                   | -                | -                  | +                     |
| 0.43        | Verde claro    | Verde                   | -                            | -                       | Verde            | -                  | +                     |
| 0.50        | Amarillo       | Rojo                    | Azul                         | -                       | Rosa             | -                  | +                     |
| 0.57        | -              | Azul                    | -                            | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.63        | -              | Azul                    | Verde                        | -                       | Rosa             | -                  | +                     |
| 0.66        | -              | -                       | -                            | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.72        | -              | Rojo                    | -                            | -                       | -                | -                  | +                     |
| 0.77        | -              | -                       | -                            | -                       | Rosa             | -                  | +                     |
| 0.83        | -              | Amarillo                | -                            | -                       | Rosa             | -                  | +                     |
| 0.88        | -              | Morado                  | -                            | -                       | Rosa             | -                  | +                     |



Para el revelado de placas se utilizaron los siguientes reveladores  
 Cloruro de aluminio (Al)  
 Cloruro férrico (Fe)  
 Reactivo de Liberman (L)  
 Reactivo de Draggendorf (D)  
 Sulfato cerico (SC)  
 Control (C)

Extractos de acetato de etilo

Figura 6. Detección de metabolitos secundarios en placa de los extractos de acetato de etilo.

### 5.1.4 DETECCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS POR REACCIONES DE PRECIPITACIÓN O COLORACIÓN

Tabla 11. Muestra la elucidación de metabolitos secundarios por reacciones de precipitación o coloración de los extractos de hexano.

| <b>Extractos de Hexano</b>      |                  |                    |                       |                  |
|---------------------------------|------------------|--------------------|-----------------------|------------------|
| <b><i>Acalypha arvensis</i></b> | <b>Hoja</b>      | <b>Tallo</b>       | <b>Inflorescencia</b> | <b>Raíz</b>      |
| Terpenos                        | Verde claro<br>+ | Verde claro<br>+   | Verde claro<br>+      | Verde claro<br>+ |
| Glicósidos                      | -                | -                  | -                     | -                |
| Flavonoides                     | Verde<br>++      | Verde pasto<br>+++ | Verde pasto<br>+++    | Verde<br>+       |
| Fenoles                         | Verde<br>+       | Verde<br>+         | Verde<br>+            | Verde<br>+       |
| Alcaloides                      | -                | -                  | -                     | -                |
| Taninos                         | -                | -                  | -                     | -                |

Tabla 12. Muestra la elucidación de metabolitos secundarios por reacciones de precipitación o coloración de los extractos de acetato de etilo.

| <b>Extractos de Acetato de etilo</b> |              |              |                       |             |
|--------------------------------------|--------------|--------------|-----------------------|-------------|
| <b><i>Acalypha arvensis</i></b>      | <b>Hoja</b>  | <b>Tallo</b> | <b>Inflorescencia</b> | <b>Raíz</b> |
| Terpenos                             | Verde<br>+++ | Verde<br>++  | Verde<br>+            | Verde<br>+  |
| Glicósidos                           | -            | -            | -                     | -           |
| Flavonoides                          | Verde<br>++  | Verde<br>++  | Verde<br>+            | Verde<br>+  |
| Fenoles                              | Verde<br>+   | Verde<br>+   | Verde<br>+            | Verde<br>+  |
| Alcaloides                           | -            | -            | -                     | -           |
| Taninos                              | +            | +            | +                     | +           |

+ = 25%, ++ = 50%, +++ = 75%, ++++ = 100%

Tabla 13. Muestra la elucidación de metabolitos secundarios por reacciones de precipitación o coloración de los extractos de metanol

| <b>Extractos de Metanol</b>     |                      |                     |                       |                     |
|---------------------------------|----------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|
| <b><i>Acalypha arvensis</i></b> | <b>Hoja</b>          | <b>Tallo</b>        | <b>Inflorescencia</b> | <b>Raíz</b>         |
| Terpenos                        | Verde amarillo<br>++ | -                   | Verde agua<br>+       |                     |
| Glicósidos                      | Morado<br>++         | Morado<br>++++      | Morado<br>++          | Morado<br>++++      |
| Flavonoides                     | Verde claro<br>++    | Verde amarillo<br>+ | Verde claro<br>++     | Verde-amarillo<br>+ |
| Fenoles                         | Verde<br>++++        | Verde<br>++         | Verde<br>++++         | Verde<br>++++       |
| Alcaloides                      | +                    | +                   | +                     | +                   |
| Taninos                         | +                    | +                   | +                     | +                   |
| Saponinas                       | +                    | +                   | +                     | +                   |

Tabla 14. Muestra la elucidación de metabolitos secundarios por reacciones de precipitación o coloración de la infusión.

| <b>Infusión</b>                 |                      |              |                       |                     |
|---------------------------------|----------------------|--------------|-----------------------|---------------------|
| <b><i>Acalypha arvensis</i></b> | <b>Hoja</b>          | <b>Tallo</b> | <b>Inflorescencia</b> | <b>Raíz</b>         |
| Terpenos                        | Verde amarillo<br>++ | Rosa<br>+    | Verde-amarillo<br>+   | Verde-amarillo<br>+ |
| Glicósidos                      | Morado<br>++         | Morado<br>++ | Morado<br>+++         | Morado<br>++++      |
| Flavonoides                     | Verde-amarillo<br>++ | Rosa<br>+++  | Verde<br>+            | Verde<br>+          |
| Fenoles                         | Verde<br>++++        | Verde<br>++  | Inflorescencia<br>++  | Verde<br>+++        |
| Alcaloides                      | +++                  | ++           | ++                    | ++                  |
| Taninos                         | ++++                 | +++          | ++                    | +                   |
| Saponinas                       | +                    | +            | +                     | +                   |

+ = 25%, ++ = 50%, +++ = 75%, ++++ = 100%

**Tabla 15. Grupos químicos de metabolitos secundarios encontrados en los diferentes extractos de *Acalypha arvensis***

| Extracto       | Hexano                                                                                       | Rf                                                                      | Acetato de etilo                                                                               | Rf                                                                                                    | Metanol <sup>b</sup>                                                                   | Infusión <sup>b</sup>                                                                  |
|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| Hoja           | Flavonoides <sup>a,b</sup><br>Fenoles <sup>b</sup><br>Terpenos y/o esteroides <sup>a,b</sup> | 0.08, 0.36<br>0.50<br>0.16, 0.50,<br>0.55, 0.63,<br>0.66, 0.77,<br>0.88 | Flavonoides <sup>a,b</sup><br>Fenoles <sup>a,b</sup><br>Terpenos y/o esteroides <sup>a,b</sup> | 0.10, 0.76,<br>0.83<br>0.10<br>0.16, 0.33,<br>0.40, 0.48,<br>0.56, 0.83                               | Flavonoides<br>Fenoles<br>Terpenos<br>Alcaloides<br>Taninos<br>Glicosidos<br>Saponinas | Flavonoides<br>Fenoles<br>Terpenos<br>Alcaloides<br>Taninos<br>Glicosidos<br>Saponinas |
| Tallo          | Flavonoides<br>Fenoles<br>Terpenos y/o esteroides <sup>a,b</sup>                             | 0.14, 0.17,<br>0.22, 0.33,<br>0.50, 0.55,<br>0.63, 0.66,<br>0.75, 0.77  | Flavonoides <sup>a,b</sup><br>Fenoles <sup>a,b</sup><br>Terpenos y/o esteroides <sup>a,b</sup> | 0.11, 0.33,<br>0.41<br>0.36, 0.41<br>0.08, 0.11,<br>0.28, 0.32,<br>0.42, 0.46,<br>0.78, 0.90          | Flavonoides<br>Fenoles<br>Alcaloides<br>Taninos<br>Glicosidos<br>Saponinas             | Flavonoides<br>Fenoles<br>Terpenos<br>Alcaloides<br>Taninos<br>Glicosidos              |
| Inflorescencia | Flavonoides<br>Fenoles <sup>b</sup><br>Terpenos y/o esteroides <sup>a,b</sup>                | 0.43, 0.46,<br>0.52<br>0.18, 0.31,<br>0.33, 0.35                        | Flavonoides <sup>a,b</sup><br>Fenoles <sup>a,b</sup><br>Terpenos y/o esteroides <sup>a,b</sup> | 0.12, 0.32,<br>0.35, 0.65,<br>0.71, 0.82<br>0.38<br>0.12, 0.38,<br>0.42, 0.44,<br>0.46, 0.77,<br>0.82 | Flavonoides<br>Fenoles<br>Terpenos<br>Alcaloides<br>Taninos<br>Glicosidos              | Flavonoides<br>Fenoles<br>Terpenos<br>Alcaloides<br>Taninos<br>Glicosidos              |
| Raíz           | Flavonoides <sup>b</sup><br>Fenoles <sup>b</sup><br>Terpenos y/o esteroides <sup>a,b</sup>   | 0.12, 0.16,<br>0.22                                                     | Flavonoides <sup>a,b</sup><br>Fenoles <sup>a,b</sup><br>Terpenos y/o esteroides <sup>a,b</sup> | 0.18, 0.23,<br>0.30<br>0.38<br>0.30, 0.43,<br>0.50, 0.63,<br>0.77, 0.83,<br>0.88                      | Flavonoides<br>Fenoles<br>Alcaloides<br>Taninos<br>Glicosidos                          | Flavonoides<br>Fenoles<br>Terpenos<br>Alcaloides<br>Taninos<br>Glicosidos              |

<sup>a</sup>= detección en placa (Rf) <sup>b</sup> = reacciones de precipitación o coloración.

**5.1.5 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) DE LOS EXTRACTOS POR EL MÉTODO DE MICRODILUCIÓN EN PLACA DE 96 POZOS FRENTE A *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*.**

Para determinar la CMI se probó la actividad bactericida de los extractos frente a *E. coli* y *B. subtilis*.

En la Tabla 16 se muestran las concentraciones probadas de cada extracto orgánico (hoja, tallo, inflorescencia y raíz) así como del control con ampicilina.

Tabla 16. Concentraciones probadas de cada extracto orgánico (hoja, tallo, inflorescencia y raíz) frente a *E. coli* y *B. subtilis*, así como del control con ampicilina.

|                                                                    |        |        |        |        |        |       |      |     |     |     |     |
|--------------------------------------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|------|-----|-----|-----|-----|
| $\left[ \frac{\mu\text{g}}{\mu\text{L}} \right] \text{extracto}$   | 0.25   | 0.5    | 1      | 2      | 4      | 8     |      |     |     |     |     |
| $\left[ \frac{\mu\text{g}}{\mu\text{L}} \right] \text{ampicilina}$ | 0.0007 | 0.0015 | 0.0031 | 0.0062 | 0.0012 | 0.025 | 0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.4 | 0.8 |

La serie de diluciones de los extractos incubadas con las bacterias de prueba a 37°C durante 24 h, mostraron los siguientes resultados:

Tabla 17. CMI de los extractos de hoja, tallo, inflorescencia y raíz de *Acalypha arvensis* frente a *E. coli*.

| CONCENTRACIÓN MINIMA INHIBITORIA <i>E. coli</i> $\frac{\mu\text{g}}{\mu\text{L}}$ |        |                  |         |
|-----------------------------------------------------------------------------------|--------|------------------|---------|
| EXTRACTO                                                                          | Hexano | Acetato de etilo | Metanol |
| <b>CMI</b>                                                                        | 4      | 2                | 4       |
| <b>Ampicilina</b>                                                                 | 0.1    | 0.1              | 0.1     |

Tabla 18. CMI de los extractos de hoja, tallo, inflorescencia y raíz de *Acalypha arvensis* frente a *B. subtilis*. Los extractos de hexano y metanol mostraron la misma actividad bactericida y el extracto de acetato de etilo mostro mayor actividad.

| <b>CONCENTRACIÓN MINIMA INHIBITORIA <i>B. subtilis</i>. <math>\frac{\mu g}{\mu L}</math></b> |               |                         |                |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-------------------------|----------------|
| <b>EXTRACTO</b>                                                                              | <b>Hexano</b> | <b>Acetato de etilo</b> | <b>Metanol</b> |
| <b>CMI</b>                                                                                   | 4             | 2                       | 4              |
| <b>Ampicilina</b>                                                                            | 0.2           | 0.2                     | 0.2            |

Para determinar la CMI de la infusión se probó la actividad bactericida de la infusión frente a *E. coli* y *B. subtilis*.

Tabla 19. Concentraciones probadas de cada infusión (hoja, tallo, inflorescencia y raíz) frente a *E. coli* y *B. subtilis*, así como del control con ampicilina.

|                                                           |        |        |        |        |       |       |      |     |     |     |     |
|-----------------------------------------------------------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|------|-----|-----|-----|-----|
| <b>Extracto</b><br>$\left[ \frac{\mu g}{\mu L} \right]$   | 0.0625 | 0.0125 | 0.25   | 0.5    | 1     | 2     | 4    | 8   | 16  | 32  | 64  |
| <b>Ampicilina</b><br>$\left[ \frac{\mu g}{\mu L} \right]$ | 0.0007 | 0.0015 | 0.0031 | 0.0062 | 0.012 | 0.025 | 0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.4 | 0.8 |

La serie de diluciones de los extractos incubadas con las bacterias de prueba a 37°C durante 24 h, mostraron los siguientes resultados:

Tabla 20. CMI de los extractos de hoja, tallo, inflorescencia y raíz de *Acalypha arvensis* frente a *E. coli*.

| <b>CONCENTRACIÓN MINIMA INHIBITORIA <i>E. coli</i></b> $\left[ \frac{\mu g}{\mu L} \right]$ |             |              |                       |             |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|--------------|-----------------------|-------------|
| <b>EXTRACTO</b>                                                                             | <b>Hoja</b> | <b>Tallo</b> | <b>Inflorescencia</b> | <b>Raíz</b> |
| <b>CMI</b>                                                                                  | 32          | 32           | 32                    | 32          |
| <b>Ampicilina</b>                                                                           | 0.1         | 0.1          | 0.1                   | 0.1         |

Tabla 21. CMI de los extractos de hoja, tallo, inflorescencia y raíz de *Acalypha arvensis* frente a *B. subtilis*.

| <b>CONCENTRACIÓN MINIMA INHIBITORIA <i>B. subtilis</i></b> $\left[ \frac{\mu g}{\mu L} \right]$ |             |              |                       |             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|--------------|-----------------------|-------------|
| <b>EXTRACTO</b>                                                                                 | <b>Hoja</b> | <b>Tallo</b> | <b>Inflorescencia</b> | <b>Raíz</b> |
| <b>CMI</b>                                                                                      | 32          | 32           | 32                    | 32          |
| <b>Ampicilina</b>                                                                               | 0.2         | 0.2          | 0.2                   | 0.2         |



### 5.1.6 DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) DE LOS EXTRACTOS POR EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCO EN PLACAS DE AGAR.

Como control se utilizo ampicilina a una concentración de 0.024mg.

Tabla 22. Halos de inhibición (mm) obtenidos en la actividad de los distintos extractos de *A. arvensis* frente a *Escherichia coli*

| <b>A Extractos de Hexano</b> |      |      |      |      |            |
|------------------------------|------|------|------|------|------------|
| Muestra                      | 6 mg | 4 mg | 2 mg | 1 mg | Ampicilina |
| Hoja                         | NA   | NA   | NA   | NA   | 25         |
| Tallo                        | NA   | NA   | NA   | NA   | 25         |
| Inflorescencia               | 7.7  | 6.6  | 6.0  | 6.0  | 25         |
| Raíz                         | 8.6  | 6.6  | 6.0  | 6.0  | 25         |

| <b>B Extractos de Acetato de Etilo</b> |      |      |      |      |            |
|----------------------------------------|------|------|------|------|------------|
| Muestra                                | 6 mg | 4 mg | 2 mg | 1 mg | Ampicilina |
| Hoja                                   | NA   | NA   | NA   | NA   | 26         |
| Tallo                                  | 10   | 7.3  | 7.0  | 6.0  | 25.3       |
| Inflorescencia                         | 7    | NA   | NA   | 7.3  | 26         |
| Raíz                                   | 9.6  | 8    | 7    | 6    | 25         |

| <b>C Extractos de Metanol</b> |      |      |      |      |            |
|-------------------------------|------|------|------|------|------------|
| Muestra                       | 8 mg | 6 mg | 4 mg | 2 mg | Ampicilina |
| Hoja                          | 12.7 | 10   | 12   | 7.7  | 24.7       |
| Tallo                         | 10   | 9.6  | 8.3  | 7.3  | 24.7       |
| Inflorescencia                | 11.7 | 10.3 | 10.3 | 9.7  | 2.53       |
| Raíz                          | 15.7 | 10.6 | 10.3 | 8.7  | 25         |

| <b>D Infusión</b> |      |      |      |      |            |
|-------------------|------|------|------|------|------------|
| Muestra           | 8 mg | 6 mg | 4 mg | 2 mg | Ampicilina |
| Hoja              | 9.3  | 7.3  | 6    | 6    | 25         |
| Tallo             | 11.6 | 8    | 6.3  | 0    | 24.3       |
|                   | 4 mg | 2 mg | 1 mg |      |            |
| Inflorescencia    | 8    | 6.5  | 6    |      | 14         |
|                   | 6 mg | 4 mg | 2 mg | 1 mg |            |
| Raíz              | 12.3 | 8    | NA   | NA   | 24.3       |

NA: no activo

Tabla 23. Halos de inhibición (mm) obtenidos en la actividad de los distintos extractos de *A. arvensis* frente a *B. subtilis*.

| <b>A Extractos de Hexano</b>                                                               |             |             |             |             |                   |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------------|
| <b>Halo de inhibición (mm) obtenidos en la actividad frente a <i>Bacillus subtilis</i></b> |             |             |             |             |                   |
| <b>Muestra</b>                                                                             | <b>8 mg</b> | <b>6 mg</b> | <b>4 mg</b> | <b>2 mg</b> | <b>Ampicilina</b> |
| <b>Hoja</b>                                                                                | 8.3         | 8.0         | 6.3         | 6.3         | 31.0              |
| <b>Tallo</b>                                                                               | 8.0         | 6.5         | 6.5         | 6.2         | 29.3              |
| <b>Inflorescencia</b>                                                                      | 7.6         | 8.0         | 7.3         | 6.6         | 24.6              |
| <b>Raíz</b>                                                                                | 8.7         | 7.6         | 8.6         | 7.7         | 24.7              |

| <b>B Extractos de Acetato de Etilo</b>                                                     |             |             |             |             |                   |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------------|
| <b>Halo de inhibición (mm) obtenidos en la actividad frente a <i>Bacillus subtilis</i></b> |             |             |             |             |                   |
| <b>Muestra</b>                                                                             | <b>8 mg</b> | <b>6 mg</b> | <b>4 mg</b> | <b>2 mg</b> | <b>Ampicilina</b> |
| <b>Hoja</b>                                                                                | 7.7         | 6.5         | 6.5         | 6.0         | 26.7              |
| <b>Tallo</b>                                                                               | 11.7        | 10.3        | 7.0         | 6.3         | 26.7              |
| <b>Inflorescencia</b>                                                                      | 10.0        | 10          | 0.76        | 6.2         | 30.0              |
| <b>Raíz</b>                                                                                | 11.0        | 7.6         | 6.6         | 6.0         | 30.0              |

| <b>C Extractos de Metanol</b>                                                              |             |             |             |             |                   |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------------|
| <b>Halo de inhibición (mm) obtenidos en la actividad frente a <i>Bacillus subtilis</i></b> |             |             |             |             |                   |
| <b>Muestra</b>                                                                             | <b>8 mg</b> | <b>6 mg</b> | <b>4 mg</b> | <b>2 mg</b> | <b>Ampicilina</b> |
| <b>Hoja</b>                                                                                | 15          | 12          | 12          | 8.7         | 19.7              |
| <b>Tallo</b>                                                                               | 12.3        | 10.6        | 9.3         | 6.8         | 19.7              |
| <b>Inflorescencia</b>                                                                      | 15          | 12          | 10.6        | 8.7         | 19.7              |
| <b>Raíz</b>                                                                                | 16          | 11.6        | 10.7        | 8.3         | 18.7              |

| <b>D Infusión</b>                                                                          |             |             |             |             |                   |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------------|
| <b>Halo de inhibición (mm) obtenidos en la actividad frente a <i>Bacillus subtilis</i></b> |             |             |             |             |                   |
| <b>Muestra</b>                                                                             | <b>8 mg</b> | <b>6 mg</b> | <b>4 mg</b> | <b>2 mg</b> | <b>Ampicilina</b> |
| <b>Hoja</b>                                                                                | 12.0        | 11.0        | 8.0         | 6           | 25                |
| <b>Tallo</b>                                                                               | 11.3        | 8.0         | 7.3         | NA          | 28                |
|                                                                                            | 4 mg        | 2 mg        | 1 mg        | -           |                   |
| <b>Inflorescencia</b>                                                                      | 7.2         | 6           | 6.2         | -           | 28                |
|                                                                                            | 6 mg        | 4 mg        | 2 mg        | 1 mg        |                   |
| <b>Raíz</b>                                                                                | 8.6         | 6.6         | 6.5         | NA          | 28                |

NA: no activo

**5.1.7 Comparación de la CMI y la concentración con mayor halo de inhibición obtenidos en la actividad frente a Escherichia coli.**

Teniendo como control ampicilina a una concentración de 0.024mg, se calculó el porcentaje de inhibición entre la concentración con mayor halo de inhibición y la concentración mínima inhibitoria, para determinar si existe diferencia significativa.

Tabla 24. A, B, C, D. Porcentaje de la mayor concentración contra la concentración mínima inhibitoria analizada mediante la prueba de t de student. Como 100% se consideró el control de ampicilina.

| <b>A Extractos de Hexano</b> |            |     |      |                                                   |     |       |
|------------------------------|------------|-----|------|---------------------------------------------------|-----|-------|
| <b>Muestra</b>               | <b>CMI</b> |     |      | <b>Concentración con mayor halo de inhibición</b> |     |       |
|                              | mg         | mm  | %    | mg                                                | mm  | %     |
| <b>Hoja</b>                  | 1          | NA  | NA   | 6                                                 | NA  | NA    |
| <b>Tallo</b>                 | 1          | NA  | NA   | 6                                                 | NA  | NA    |
| <b>Inflorescencia</b>        | 1          | 6.0 | 24.0 | 6                                                 | 7.7 | 30.67 |
| <b>Raíz</b>                  | 1          | 6.0 | 24.0 | 6                                                 | 8.6 | 34.67 |

| <b>B Extractos de Acetato de Etilo</b> |            |     |       |                                                   |     |         |
|----------------------------------------|------------|-----|-------|---------------------------------------------------|-----|---------|
| <b>Muestra</b>                         | <b>CMI</b> |     |       | <b>Concentración con mayor halo de inhibición</b> |     |         |
|                                        | mg         | mm  | %     | mg                                                | mm  | %       |
| <b>Hoja</b>                            | 1          | NA  | NA    | 6                                                 | NA  | NA      |
| <b>Tallo</b>                           | 1          | 6.0 | 23.68 | 6                                                 | 10  | 39.47** |
| <b>Inflorescencia</b>                  | 1          | 7.3 | 30.77 | 6                                                 | 7   | 26.92   |
| <b>Raíz</b>                            | 1          | 6   | 24.00 | 6                                                 | 9.6 | 38.67   |

| <b>C Extractos de Metanol</b> |            |     |       |                                                   |      |         |
|-------------------------------|------------|-----|-------|---------------------------------------------------|------|---------|
| <b>Muestra</b>                | <b>CMI</b> |     |       | <b>Concentración con mayor halo de inhibición</b> |      |         |
|                               | mg         | mm  | %     | mg                                                | mm   | %       |
| <b>Hoja</b>                   | 2          | 7.7 | 31.08 | 8                                                 | 12.7 | 51.35   |
| <b>Tallo</b>                  | 2          | 7.3 | 29.73 | 8                                                 | 10   | 40.54** |
| <b>Inflorescencia</b>         | 2          | 9.7 | 38.16 | 8                                                 | 11.7 | 46.05   |
| <b>Raíz</b>                   | 2          | 8.7 | 34.67 | 8                                                 | 15.7 | 62.67   |

| <b>D</b>                     |            |     |       |                                                   |      |         |
|------------------------------|------------|-----|-------|---------------------------------------------------|------|---------|
| <b>Extractos de Infusión</b> |            |     |       |                                                   |      |         |
| <b>Muestra</b>               | <b>CMI</b> |     |       | <b>Concentración con mayor halo de inhibición</b> |      |         |
|                              | mg         | mm  | %     | mg                                                | mm   | %       |
| <b>Hoja</b>                  | 2          | 6   | 24.00 | 8                                                 | 9.3  | 37.33** |
| <b>Tallo</b>                 | 4          | 6.3 | 26.03 | 8                                                 | 11.6 | 47.95   |
| <b>Inflorescencia</b>        | 1          | 6   | 44.05 | 4                                                 | 8    | 57.38   |
| <b>Raíz</b>                  | 4          | 8   | 32.88 | 6                                                 | 12.3 | 50.68   |

Los datos representan el promedio de tres ensayos  $\pm$  el error estándar de la media ( $x \pm EEM$ ). Los resultados se analizaron mediante una prueba de t de Student y los valores  $p \leq 0.05$  (\*) y  $p \leq 0.01$  (\*\*) se consideraron como diferencia significativa con respecto al control.

#### 5.1.8 Comparación de la CMI y la concentración con mayor halo de inhibición obtenidos en la actividad frente a *Bacillus subtilis*.

Teniendo como control ampicilina a una concentración de 0.024mg, se calculó el porcentaje de inhibición entre la concentración con mayor halo de inhibición y la concentración mínima inhibitoria, para determinar si existe diferencia significativa.

Tabla 25. A, B, C, D. Porcentaje de la mayor concentración contra la concentración mínima inhibitoria analizada mediante la prueba de t de student. Como 100% se consideró el control de ampicilina.

| <b>A</b>                   |            |     |       |                                                   |     |         |
|----------------------------|------------|-----|-------|---------------------------------------------------|-----|---------|
| <b>Extractos de Hexano</b> |            |     |       |                                                   |     |         |
| <b>Muestra</b>             | <b>CMI</b> |     |       | <b>Concentración con mayor halo de inhibición</b> |     |         |
|                            | mg         | mm  | %     | mg                                                | mm  | %       |
| <b>Hoja</b>                | 2          | 6.3 | 21.51 | 8                                                 | 8.3 | 26.88   |
| <b>Tallo</b>               | 2          | 6.2 | 20.00 | 8                                                 | 8.0 | 27.27   |
| <b>Inflorescencia</b>      | 2          | 6.6 | 27.03 | 8                                                 | 7.6 | 31.08** |
| <b>Raíz</b>                | 2          | 7.7 | 28.0  | 8                                                 | 8.7 | 35.14** |

| <b>B Extractos de acetato de etilo</b> |            |     |       |                                                   |      |         |
|----------------------------------------|------------|-----|-------|---------------------------------------------------|------|---------|
| <b>Muestra</b>                         | <b>CMI</b> |     |       | <b>Concentración con mayor halo de inhibición</b> |      |         |
|                                        | mg         | mm  | %     | mg                                                | mm   | %       |
| <b>Hoja</b>                            | 1          | 6.0 | 22.50 | 6                                                 | 7.7  | 28.75** |
| <b>Tallo</b>                           | 1          | 6.3 | 21.43 | 6                                                 | 11.7 | 43.75** |
| <b>Inflorescencia</b>                  | 1          | 6.2 | 20.56 | 6                                                 | 10.0 | 33.33** |
| <b>Raíz</b>                            | 1          | 6.0 | 20.00 | 6                                                 | 11.0 | 36.67   |

| <b>C Extractos de Metanol</b> |            |     |       |                                                   |      |         |
|-------------------------------|------------|-----|-------|---------------------------------------------------|------|---------|
| <b>Muestra</b>                | <b>CMI</b> |     |       | <b>Concentración con mayor halo de inhibición</b> |      |         |
|                               | mg         | mm  | %     | mg                                                | mm   | %       |
| <b>Hoja</b>                   | 2          | 8.7 | 58.33 | 8                                                 | 15   | 71.67** |
| <b>Tallo</b>                  | 2          | 6.8 | 35.00 | 8                                                 | 12.3 | 62.71   |
| <b>Inflorescencia</b>         | 2          | 8.7 | 44.07 | 8                                                 | 15   | 76.27   |
| <b>Raíz</b>                   | 2          | 8.3 | 47.37 | 8                                                 | 16   | 85.71   |

| <b>D Extractos de Infusión</b> |            |     |       |                                                   |      |         |
|--------------------------------|------------|-----|-------|---------------------------------------------------|------|---------|
| <b>Muestra</b>                 | <b>CMI</b> |     |       | <b>Concentración con mayor halo de inhibición</b> |      |         |
|                                | mg         | mm  | %     | mg                                                | mm   | %       |
| <b>Hoja</b>                    | 2          | 6   | 25.34 | 8                                                 | 9.3  | 49.32   |
| <b>Tallo</b>                   | 4          | 6.3 | 25.93 | 8                                                 | 11.6 | 40.48   |
| <b>Inflorescencia</b>          | 1          | 6   | 22.14 | 4                                                 | 8    | 25.60** |
| <b>Raíz</b>                    | 4          | 8   | 25.93 | 6                                                 | 12.3 | 32.10   |

Los datos representan el promedio de tres ensayos  $\pm$  el error estándar de la media ( $x \pm EEM$ ). Los resultados se analizaron mediante una prueba de t de Student y los valores  $p \leq 0.05$  (\*) y  $p \leq 0.01$  (\*\*) se consideraron como diferencia significativa con respecto al control.

### 5.1.9 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA EN EL MODELO DE EDEMA INDUCIDO CON 12-O-TETRADECANOIL-FORBOL-13-ACETATO (TPA). Dosis

1  $\frac{mg}{oreja}$

Tabla 26. A, B, C, D. actividad antiinflamatoria de los extractos de *Acalypha arvensis*.

| <b>A</b>              |                   |                       |
|-----------------------|-------------------|-----------------------|
| <b>Hexano</b>         |                   |                       |
| <b>Muestra</b>        | <b>Edema (mg)</b> | <b>Inhibición (%)</b> |
| <b>Control</b>        | 14.133 ± 0.20     | -                     |
| <b>Hoja</b>           | 6.80 ± 1.53       | 51.89*                |
| <b>Tallo</b>          | 6.57 ± 1.01       | 50.13**               |
| <b>Inflorescencia</b> | 10.07 ± 0.72      | 42.59*                |
| <b>Raíz</b>           | 10.95 ± 0.79      | 22.52*                |

| <b>B</b>                |                   |                       |
|-------------------------|-------------------|-----------------------|
| <b>Acetato de Etilo</b> |                   |                       |
| <b>Muestra</b>          | <b>Edema (mg)</b> | <b>Inhibición (%)</b> |
| <b>Control</b>          | 13.17 ± 0.87      | -                     |
| <b>Hoja</b>             | 2.10 ± 0.97       | 84.05**               |
| <b>Tallo</b>            | 6.70 ± 0.45       | 49.11**               |
| <b>Inflorescencia</b>   | 2.60 ± 0.61       | 80.25**               |
| <b>Raíz</b>             | 8.97 ± 2.52       | 48.86*                |

| <b>C</b>              |                   |                       |
|-----------------------|-------------------|-----------------------|
| <b>Metanol</b>        |                   |                       |
| <b>Muestra</b>        | <b>Edema (mg)</b> | <b>Inhibición (%)</b> |
| <b>Control</b>        | 17.53 ± 0.64      | -                     |
| <b>Hoja</b>           | 14.07 ± 0.97      | 19.77                 |
| <b>Tallo</b>          | 14.37 ± 0.54      | 18.06                 |
| <b>Inflorescencia</b> | 14.57 ± 0.95      | 16.92                 |
| <b>Raíz</b>           | 13.07 ± 0.81      | 25.48*                |

Los datos representan el promedio de tres animales  $\pm$  el error estándar de la media ( $\bar{x} \pm EEM$ ). Los resultados se analizaron mediante una prueba de t de Student y los valores  $p \leq 0.05$  (\*) y  $p \leq 0.01$  (\*\*) se consideraron como diferencia significativa con respecto al control.

La infusión de cada parte (hoja, tallo, inflorescencia y raíz) que se utilizó no mostró actividad antiinflamatoria.

5.1.10 PRUEBAS DE TOXICIDAD EN *Artemia salina*.

EXTRACTOS DE HEXANO DE *Acalypha arvensis*

Tabla 27. Evaluación de la actividad tóxica en el crustáceo *Artemia salina* Leach.

| Muestra        | Vehículo                 | µg<br>mL | Número de sobrevivientes |       |       |       | Número de sobrevivientes<br>(vehículo) |       |       |       |
|----------------|--------------------------|----------|--------------------------|-------|-------|-------|----------------------------------------|-------|-------|-------|
|                |                          |          |                          |       |       |       |                                        |       |       |       |
| Hoja           | Acetato de etilo/metanol | 1000     | 0/10                     | 0/10  | 0/10  | 0/10  | 0/10                                   | 0/10  | 0/10  | 0/10  |
|                |                          | 500      | 0/10                     | 0/10  | 0/10  | 0/10  | 0/10                                   | 0/10  | 0/10  | 0/10  |
|                |                          | 250      | 8/10                     | 3/10  | 0/10  | 0/10  | 3/10                                   | 0/10  | 0/10  | 0/10  |
|                |                          | 125      | 10/10                    | 10/10 | 9/10  | 10/10 | 9/10                                   | 8/10  | 9/10  | 8/10  |
|                |                          | 62.5     | 10/10                    | 10/10 | 10/10 | 9/10  | 10/10                                  | 9/10  | 10/10 | 9/10  |
|                |                          | 31.25    | 10/10                    | 9/10  | 10/10 | 10/10 | 10/10                                  | 8/10  | 10/10 | 9/10  |
|                |                          | 15.62    | 10/10                    | 10/10 | 9/10  | 10/10 | 9/10                                   | 9/10  | 10/10 | 10/10 |
|                |                          | 7.81     | 10/10                    | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 10/10                                  | 10/10 | 10/10 | 10/10 |
| Tallo          | Acetato de etilo/metanol | 1000     | 0/10                     | 0/10  | 0/10  | 0/10  | 0/10                                   | 0/10  | 0/10  | 0/10  |
|                |                          | 500      | 0/10                     | 0/10  | 0/10  | 0/10  | 0/10                                   | 0/10  | 0/10  | 0/10  |
|                |                          | 250      | 0/10                     | 0/10  | 0/10  | 0/10  | 3/10                                   | 0/10  | 0/10  | 0/10  |
|                |                          | 125      | 0/10                     | 0/10  | 0/10  | 0/10  | 9/10                                   | 8/10  | 9/10  | 8/10  |
|                |                          | 62.5     | 5/10                     | 3/10  | 4/10  | 1/10  | 10/10                                  | 9/10  | 10/10 | 9/10  |
|                |                          | 31.25    | 5/10                     | 4/10  | 6/10  | 9/10  | 10/10                                  | 8/10  | 10/10 | 9/10  |
|                |                          | 15.62    | 7/10                     | 3/10  | 8/10  | 6/10  | 9/10                                   | 9/10  | 10/10 | 10/10 |
|                |                          | 7.81     | 8/10                     | 9/10  | 9/10  | 9/10  | 10/10                                  | 10/10 | 10/10 | 10/10 |
| Inflorescencia | Acetato de etilo/metanol | 1000     | 0/10                     | 0/10  | 0/10  | 0/10  | 0/10                                   | 0/10  | 0/10  | 0/10  |
|                |                          | 500      | 0/10                     | 0/10  | 0/10  | 0/10  | 0/10                                   | 0/10  | 0/10  | 0/10  |
|                |                          | 250      | 0/10                     | 0/10  | 0/10  | 0/10  | 3/10                                   | 0/10  | 0/10  | 0/10  |
|                |                          | 125      | 0/10                     | 0/10  | 0/10  | 0/10  | 0/10                                   | 8/10  | 9/10  | 8/10  |
|                |                          | 62.5     | 0/10                     | 0/10  | 0/10  | 0/10  | 10/10                                  | 9/10  | 10/10 | 9/10  |
|                |                          | 31.25    | 3/10                     | 3/10  | 2/10  | 2/10  | 10/10                                  | 8/10  | 10/10 | 9/10  |
|                |                          | 15.62    | 2/10                     | 5/10  | 4/10  | 2/10  | 9/10                                   | 9/10  | 10/10 | 10/10 |
|                |                          | 7.81     | 4/10                     | 5/10  | 5/10  | 6/10  | 10/10                                  | 10/10 | 10/10 | 10/10 |
| Raíz           | Acetato de etilo/metanol | 1000     | 0/10                     | 0/10  | 0/10  | 0/10  | 0/10                                   | 0/10  | 0/10  | 0/10  |
|                |                          | 500      | 0/10                     | 0/10  | 0/10  | 0/10  | 0/10                                   | 0/10  | 0/10  | 0/10  |
|                |                          | 250      | 0/10                     | 0/10  | 0/10  | 0/10  | 3/10                                   | 0/10  | 0/10  | 0/10  |
|                |                          | 125      | 0/10                     | 0/10  | 0/10  | 0/10  | 0/10                                   | 8/10  | 9/10  | 8/10  |
|                |                          | 62.5     | 0/10                     | 0/10  | 0/10  | 0/10  | 10/10                                  | 9/10  | 10/10 | 9/10  |
|                |                          | 31.25    | 0/10                     | 2/10  | 1/10  | 0/10  | 10/10                                  | 8/10  | 10/10 | 9/10  |
|                |                          | 15.62    | 4/10                     | 0/10  | 2/10  | 0/10  | 9/10                                   | 9/10  | 10/10 | 10/10 |
|                |                          | 7.81     | 5/10                     | 7/10  | 5/10  | 1/10  | 10/10                                  | 10/10 | 10/10 | 10/10 |

Vivos/Muertos

**EXTRACTOS DE ACETATO DE ETILO DE *Acalypha arvensis***

Tabla 28. Evaluación de la actividad tóxica en el crustáceo *Artemia salina* Leach.

| Muestra        | Vehículo               | µg<br>mL | Número de sobrevivientes |       |       |       | Número de sobrevivientes<br>(vehículo) |       |       |       |
|----------------|------------------------|----------|--------------------------|-------|-------|-------|----------------------------------------|-------|-------|-------|
|                |                        |          |                          |       |       |       |                                        |       |       |       |
| Hoja           | Metanol/acetona<br>1:1 | 1000     | 2/10                     | 1/10  | 0/10  | 3/10  | 0/10                                   | 0/10  | 0/10  | 0/10  |
|                |                        | 500      | 2/10                     | 3/10  | 2/10  | 1/10  | 2/10                                   | 4/10  | 3/10  | 2/10  |
|                |                        | 250      | 7/10                     | 7/10  | 6/10  | 7/10  | 8/10                                   | 10/10 | 9/10  | 8/10  |
|                |                        | 125      | 6/10                     | 8/10  | 7/10  | 7/10  | 10/10                                  | 8/10  | 9/10  | 10/10 |
|                |                        | 62.5     | 7/10                     | 9/10  | 8/10  | 9/10  | 10/10                                  | 9/10  | 8/10  | 10/10 |
|                |                        | 31.25    | 10/10                    | 9/10  | 8/10  | 8/10  | 10/10                                  | 10/10 | 10/10 | 10/10 |
|                |                        | 15.62    | 9/10                     | 9/10  | 8/10  | 2/10  | 10/10                                  | 10/10 | 10/10 | 10/10 |
|                |                        | 7.81     | 8/10                     | 8/10  | 9/10  | 9/10  | 9/10                                   | 10/10 | 7/10  | 10/10 |
| Tallo          | Metanol/acetona<br>1:1 | 1000     | 0/10                     | 0/10  | 0/10  | 0/10  | 0/10                                   | 0/10  | 0/10  | 0/10  |
|                |                        | 500      | 6/10                     | 6/10  | 6/10  | 7/10  | 2/10                                   | 3/10  | 3/10  | 2/10  |
|                |                        | 250      | 10/10                    | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 8/10                                   | 10/10 | 9/10  | 8/10  |
|                |                        | 125      | 10/10                    | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 10/10                                  | 8/10  | 9/10  | 10/10 |
|                |                        | 62.5     | 10/10                    | 10/10 | 10/10 | 9/10  | 10/10                                  | 9/10  | 8/10  | 10/10 |
|                |                        | 31.25    | 7/10                     | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 10/10                                  | 10/10 | 10/10 | 10/10 |
|                |                        | 15.62    | 8/10                     | 9/10  | 10/10 | 9/10  | 10/10                                  | 10/10 | 10/10 | 10/10 |
|                |                        | 7.81     | 8/10                     | 10/10 | 9/10  | 10/10 | 9/10                                   | 10/10 | 7/10  | 10/10 |
| Inflorescencia | Metanol/acetona<br>1:1 | 1000     | 0/10                     | 0/10  | 0/10  | 0/10  | 0/10                                   | 0/10  | 0/10  | 0/10  |
|                |                        | 500      | 0/10                     | 4/10  | 0/10  | 0/10  | 2/10                                   | 4/10  | 3/10  | 2/10  |
|                |                        | 250      | 8/10                     | 8/10  | 0/10  | 0/10  | 8/10                                   | 10/10 | 9/10  | 8/10  |
|                |                        | 125      | 10/10                    | 8/10  | 7/10  | 0/10  | 10/10                                  | 8/10  | 9/10  | 10/10 |
|                |                        | 62.5     | 10/10                    | 9/10  | 10/10 | 8/10  | 10/10                                  | 9/10  | 8/10  | 10/10 |
|                |                        | 31.25    | 10/10                    | 10/10 | 8/10  | 10/10 | 10/10                                  | 10/10 | 10/10 | 10/10 |
|                |                        | 15.62    | 10/10                    | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 10/10                                  | 10/10 | 10/10 | 10/10 |
|                |                        | 7.81     | 10/10                    | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 9/10                                   | 10/10 | 7/10  | 10/10 |
| Raíz           | Metanol/acetona<br>1:1 | 1000     | 0/10                     | 0/10  | 0/10  | 0/10  | 0/10                                   | 0/10  | 0/10  | 0/10  |
|                |                        | 500      | 5/10                     | 4/10  | 5/10  | 5/10  | 2/10                                   | 4/10  | 3/10  | 2/10  |
|                |                        | 250      | 8/10                     | 8/10  | 4/10  | 8/10  | 8/10                                   | 10/10 | 9/10  | 8/10  |
|                |                        | 125      | 8/10                     | 8/10  | 9/10  | 9/10  | 10/10                                  | 8/10  | 9/10  | 10/10 |
|                |                        | 62.5     | 10/10                    | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 10/10                                  | 9/10  | 8/10  | 10/10 |
|                |                        | 31.25    | 10/10                    | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 10/10                                  | 10/10 | 10/10 | 10/10 |
|                |                        | 15.62    | 10/10                    | 10/10 | 10/10 | 9/10  | 10/10                                  | 10/10 | 10/10 | 10/10 |
|                |                        | 7.81     | 10/10                    | 10/10 | 10/10 | 8/10  | 9/10                                   | 10/10 | 7/10  | 10/10 |

Vivos/Muertos



**EXTRACTOS DE METANOL DE *Acalypha arvensis***

Tabla 29. Evaluación de la actividad tóxica en el crustáceo *Artemia salina* Leach.

| Muestra | Vehículo     | $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ | Número de sobrevivientes |       |      | Número de sobrevivientes (vehículo) |       |       |
|---------|--------------|---------------------------------|--------------------------|-------|------|-------------------------------------|-------|-------|
|         |              |                                 |                          |       |      |                                     |       |       |
| Hoja    | Metanol/agua | 1000                            | 1/10                     | 3/10  | 4/10 | 10/10                               | 10/10 | 10/10 |
|         |              | 500                             | 6/10                     | 6/10  | 6/10 | 8/10                                | 9/10  | 10/10 |
|         |              | 125                             | 10/10                    | 10/10 | 9/10 | 10/10                               | 10/10 | 5/10  |
|         |              | 62.5                            | 10/10                    | 10/10 | 10/0 | 9/10                                | 9/10  | 10/10 |
|         |              | 15.62                           | 10/10                    | 10/10 | 10/0 | 10/10                               | 10/10 | 10/10 |
| Tallo   | Metanol/agua | 1000                            | 2/10                     | 9/10  | 4/10 | 10/10                               | 10/10 | 10/10 |
|         |              | 500                             | 10/10                    | 9/10  | 9/10 | 8/10                                | 9/10  | 10/10 |
|         |              | 250                             | 9/10                     | 10/10 | 9/10 | 9/10                                | 10/10 | 10/10 |
|         |              | 125                             | 10/10                    | 10/10 | 8/10 | 10/10                               | 10/10 | 5/10  |
|         |              | 62.5                            | 10/10                    | 10/10 | 10/0 | 9/10                                | 9/10  | 10/10 |
|         |              | 31.25                           | 9/10                     | 10/10 | 10/0 | 10/10                               | 10/10 | 10/10 |
|         |              | 15.62                           | 0/10                     | 10/10 | 9/10 | 10/10                               | 10/10 | 10/10 |

Vivos/Muertos

| Muestra        | Vehículo     | $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ | Número de sobrevivientes |       |       |       | Número de sobrevivientes (vehículo) |       |       |       |
|----------------|--------------|---------------------------------|--------------------------|-------|-------|-------|-------------------------------------|-------|-------|-------|
|                |              |                                 |                          |       |       |       |                                     |       |       |       |
| Inflorescencia | Metanol/agua | 1000                            | 8/10                     | 7/10  | 9/10  | 4/10  | 10/10                               | 10/10 | 10/10 | 8/10  |
|                |              | 500                             | 9/10                     | 5/10  | 7/10  | 4/10  | 8/10                                | 9/10  | 10/10 | 10/10 |
|                |              | 250                             | 9/10                     | 3/10  | 6/10  | 8/10  | 9/10                                | 10/10 | 10/10 | 9/10  |
|                |              | 125                             | 7/10                     | 2/10  | 6/10  | 0/10  | 10/10                               | 10/10 | 5/10  | 10/10 |
|                |              | 62.5                            | 2/10                     | 0/10  | 6/10  | 8/10  | 9/10                                | 9/10  | 10/10 | 2/10  |
|                |              | 31.25                           | 7/10                     | 9/10  | 10/10 | 4/10  | 10/10                               | 10/10 | 10/10 | 9/10  |
|                |              | 15.62                           | 9/10                     | 7/10  | 10/10 | 10/10 | 10/10                               | 10/10 | 10/10 | 9/10  |
|                |              | 7.81                            | 10/10                    | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 9/10                                | 10/10 | 9/10  | 8/10  |
| Raíz           | Metanol/agua | 1000                            | 2/10                     | 0/10  | 1/10  | 2/10  | 10/10                               | 10/10 | 10/10 | 8/10  |
|                |              | 500                             | 3/10                     | 3/10  | 2/10  | 0/10  | 8/10                                | 9/10  | 10/10 | 10/10 |
|                |              | 250                             | 0/10                     | 8/10  | 3/10  | 0/10  | 9/10                                | 10/10 | 10/10 | 9/10  |
|                |              | 125                             | 3/10                     | 10/10 | 7/10  | 0/10  | 10/10                               | 10/10 | 5/10  | 10/10 |
|                |              | 62.5                            | 2/10                     | 2/10  | 8/10  | 2/10  | 9/10                                | 9/10  | 10/10 | 2/10  |
|                |              | 31.25                           | 0/10                     | 10/10 | 1/10  | 0/10  | 10/10                               | 10/10 | 10/10 | 9/10  |
|                |              | 15.62                           | 7/10                     | 0/10  | 8/10  | 7/10  | 10/10                               | 10/10 | 10/10 | 9/10  |
|                |              | 7.81                            | 10/10                    | 9/10  | 3/10  | 5/10  | 9/10                                | 10/10 | 9/10  | 8/10  |

Vivos/Muertos

**Prueba de toxicidad en *Artemia salina* con Extracto de Hexano de Hoja de *Acalypha arvensis***

Tabla 30. Mortalidad de *Artemia salina* después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de hexano de hoja de *Acalypha arvensis*.

| Dosis (ppm) | Log dosis | Muertos | Vivos | Muertos acumulados | Vivos acumulados | Muertos totales | Mortalidad (%) |
|-------------|-----------|---------|-------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|
| 125         | 2.1       | 1       | 39    | 4                  | 39               | 43              | 9.3            |
| 62.5        | 1.8       | 1       | 39    | 3                  | 78               | 81              | 3.7            |
| 31.25       | 1.5       | 1       | 39    | 2                  | 117              | 119             | 1.7            |
| 15.62       | 1.2       | 1       | 39    | 1                  | 156              | 157             | 0.6            |
| 7.81        | 0.9       | 0       | 40    | 0                  | 196              | 196             | 0              |

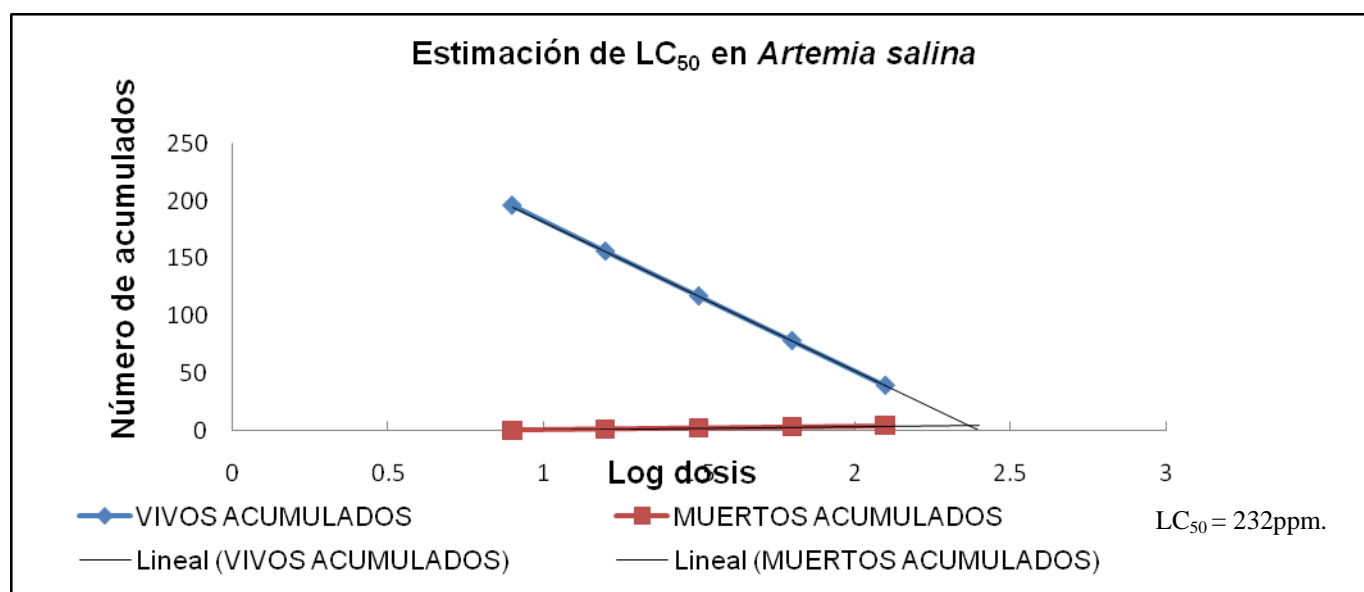


Figura 7. Estimación de la concentración letal 50 en *Artemia salina*, por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se interseccionan las dos curvas se obtiene la dosis letal 50.

**Prueba de toxicidad en *Artemia salina* con Extracto de Hexano de Tallo de *Acalypha arvensis***

Tabla 31. Mortalidad de *Artemia salina* después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de hexano de tallo de *Acalypha arvensis*.

| Dosis (ppm) | Log dosis | Muertos | Vivos | Muertos acumulados | Vivos acumulados | Muertos totales | Mortalidad (%) |
|-------------|-----------|---------|-------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|
| 125         | 2.1       | 1       | 0     | 65                 | 0                | 65              | 100            |
| 62.5        | 1.8       | 27      | 13    | 64                 | 13               | 77              | 83.1           |
| 31.25       | 1.5       | 16      | 24    | 37                 | 37               | 74              | 50             |
| 15.62       | 1.2       | 16      | 24    | 21                 | 61               | 82              | 25.6           |
| 7.81        | 0.9       | 5       | 35    | 5                  | 96               | 101             | 4.9            |

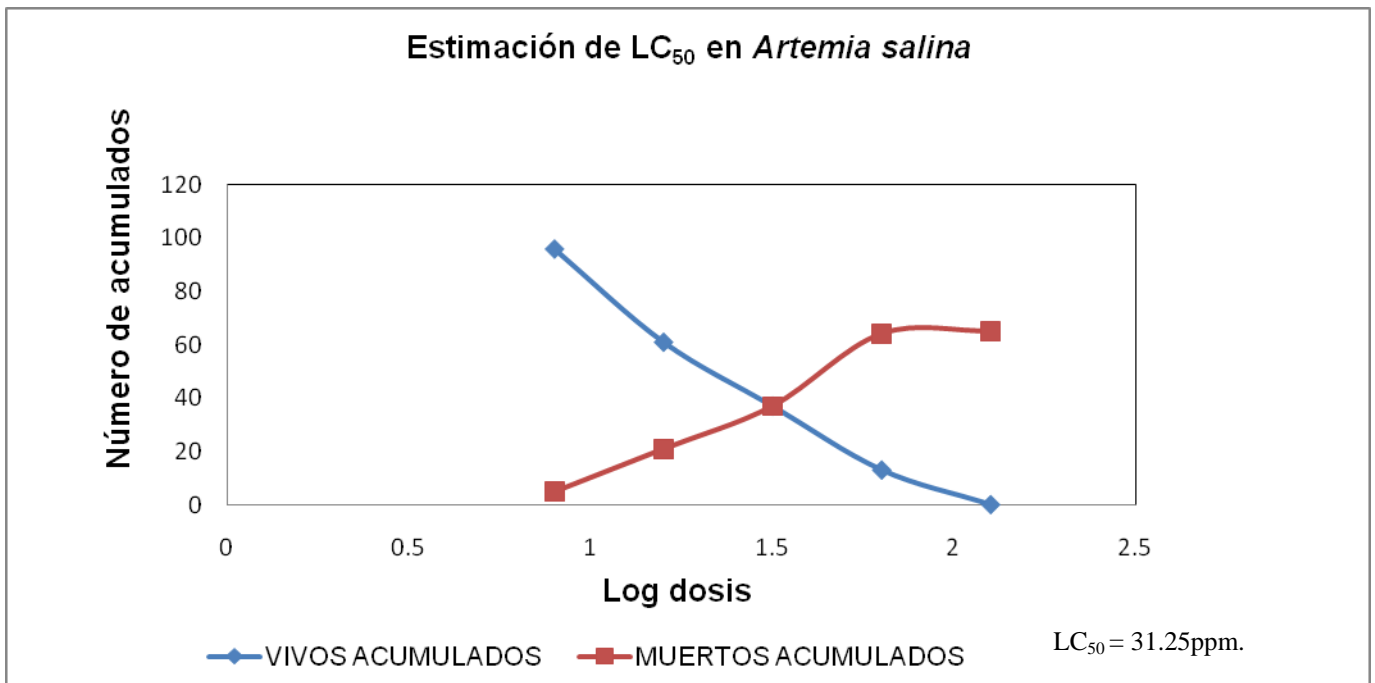


Figura 8. Estimación de la concentración letal 50 en *Artemia salina*, por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se interseccionan las dos curvas se obtiene la dosis letal 50.

**Prueba de toxicidad en *Artemia salina* con Extracto de Hexano de Inflorescencia de *Acalypha arvensis***

Tabla 32. Mortalidad de *Artemia salina* después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de hexano de inflorescencia de *Acalypha arvensis*.

| Dosis (ppm) | Log dosis | Muertos | Vivos | Muertos acumulados | Vivos acumulados | Muertos totales | Mortalidad (%) |
|-------------|-----------|---------|-------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|
| 62.5        | 1.8       | 22      | 18    | 68                 | 18               | 86              | 79.1           |
| 31.25       | 1.5       | 16      | 24    | 46                 | 42               | 88              | 52.3           |
| 15.62       | 1.2       | 16      | 24    | 30                 | 66               | 96              | 31.2           |
| 7.81        | 0.9       | 14      | 26    | 14                 | 92               | 106             | 13.2           |

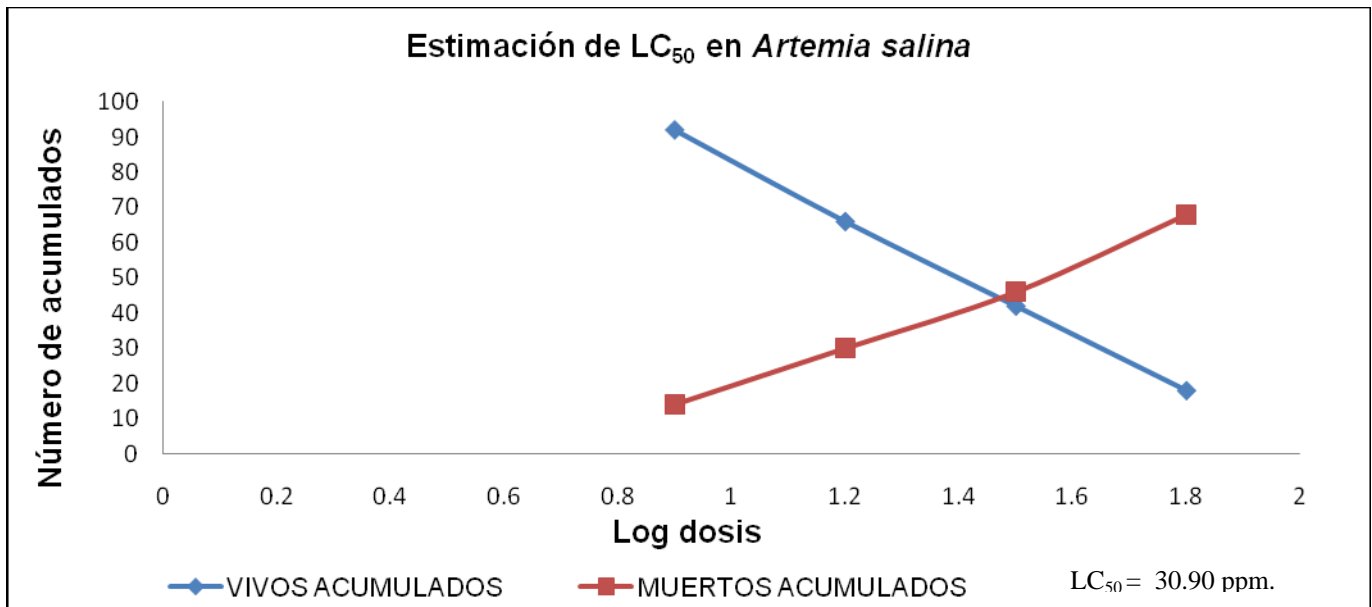


Figura 9. Estimación de la concentración letal 50 en *Artemia salina*, por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se intersecan las dos curvas se obtiene la dosis letal 50.

**Prueba de toxicidad en *Artemia salina* con Extracto de Hexano de Raíz de *Acalypha arvensis***

Tabla 33. Mortalidad de *Artemia salina* después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de hexano de raíz de *Acalypha arvensis*.

| Dosis (ppm) | Log dosis | Muertos | Vivos | Muertos acumulados | Vivos acumulados | Muertos totales | Mortalidad (%) |
|-------------|-----------|---------|-------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|
| 31.25       | 1.5       | 37      | 3     | 93                 | 3                | 96              | 97             |
| 15.62       | 1.2       | 34      | 6     | 56                 | 9                | 65              | 86.1           |
| 7.81        | 0.9       | 22      | 18    | 22                 | 27               | 49              | 45             |

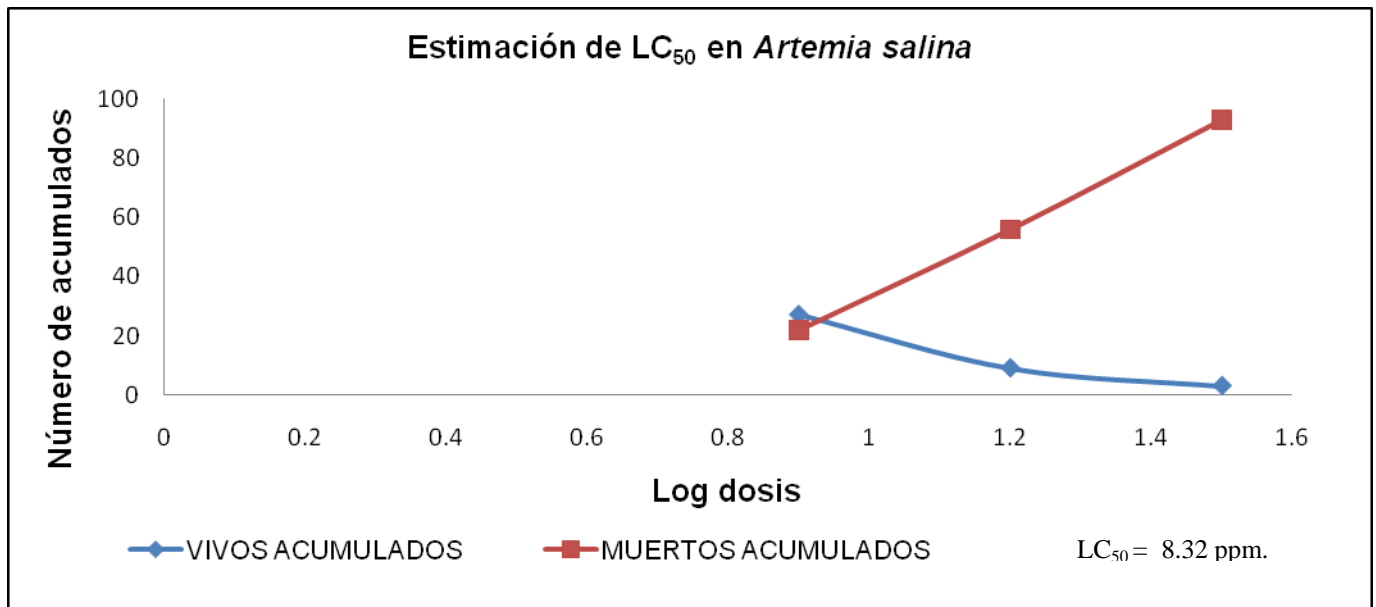


Figura 10. Estimación de la concentración letal 50 en *Artemia salina*, por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se interseccionan las dos curvas se obtiene la dosis letal 50.

**Prueba de toxicidad en *Artemia salina* con Extracto de Acetato de etilo de Hoja de *Acalypha arvensis***

Tabla 34. Mortalidad de *Artemia salina* después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de acetato de etilo de hoja de *Acalypha arvensis*.

| Dosis (ppm) | Log dosis | Muertos | Vivos | Muertos acumulados | Vivos acumulados | Muertos totales | Mortalidad (%) |
|-------------|-----------|---------|-------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|
| 250         | 2.4       | 13      | 27    | 46                 | 27               | 73              | 63             |
| 125         | 2.1       | 12      | 28    | 33                 | 55               | 88              | 37.5           |
| 62.5        | 1.8       | 7       | 33    | 21                 | 88               | 109             | 19.3           |
| 31.25       | 1.5       | 4       | 36    | 14                 | 124              | 138             | 10.15          |
| 15.62       | 1.2       | 4       | 36    | 10                 | 160              | 170             | 6              |
| 7.81        | 0.9       | 6       | 34    | 6                  | 194              | 200             | 3              |

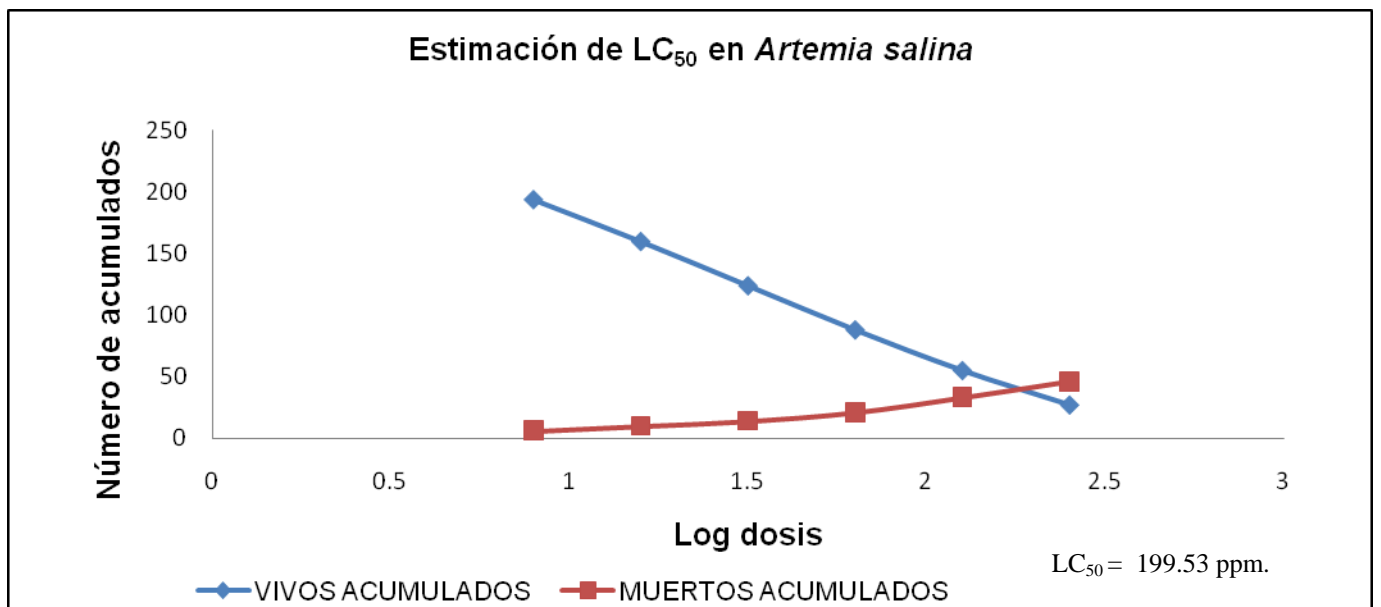


Figura 11. Estimación de la concentración letal 50 en *Artemia salina*, por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se interseccionan las dos curvas se obtiene la dosis letal 50.

**Prueba de toxicidad en *Artemia salina* con Extracto de Acetato de etilo de Tallo de *Acalypha arvensis***

Tabla 35. Mortalidad de *Artemia salina* después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de acetato de etilo de tallo de *Acalypha arvensis*.

| Dosis (ppm) | Log dosis | Muertos | Vivos | Muertos acumulados | Vivos acumulados | Muertos totales | Mortalidad (%) |
|-------------|-----------|---------|-------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|
| 250         | 2.4       | 0       | 40    | 11                 | 40               | 51              | 21.6           |
| 125         | 2.1       | 0       | 40    | 11                 | 80               | 91              | 12.1           |
| 62.5        | 1.8       | 1       | 39    | 11                 | 119              | 130             | 8.5            |
| 31.25       | 1.5       | 3       | 37    | 10                 | 156              | 166             | 6              |
| 15.62       | 1.2       | 4       | 36    | 7                  | 192              | 199             | 3.5            |
| 7.81        | 0.9       | 3       | 37    | 0                  | 229              | 229             | 0              |

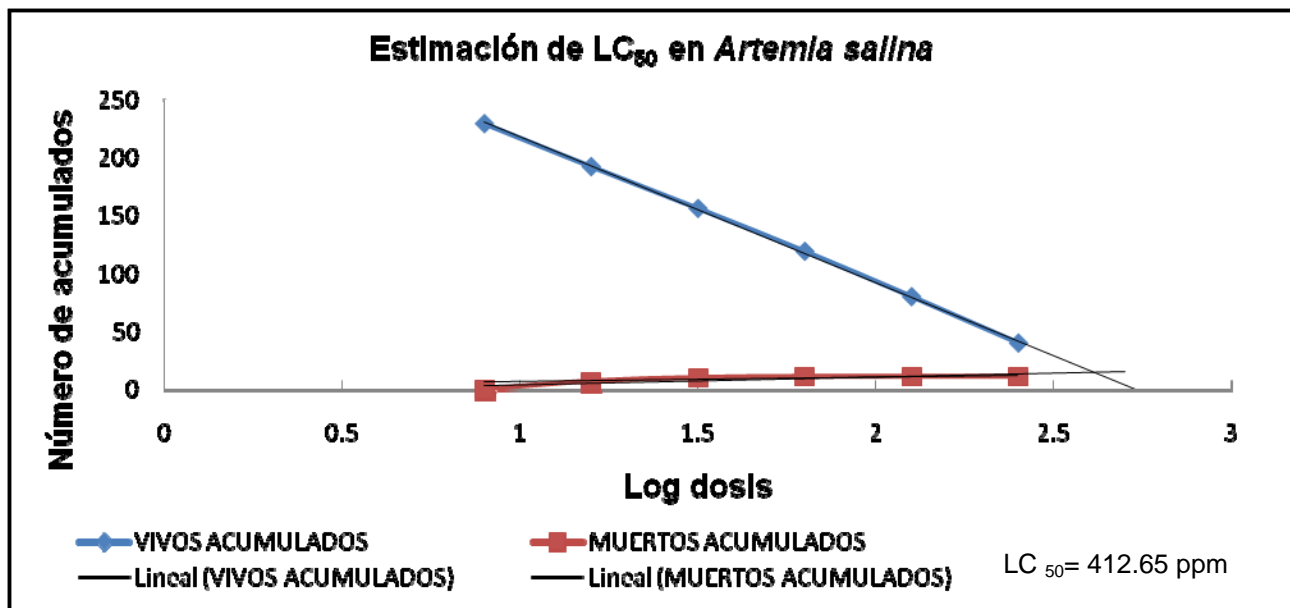


Figura 12. Estimación de la concentración letal 50 en *Artemia salina*, por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se intersecten las dos curvas se obtiene la dosis letal 50.

**Prueba de toxicidad en *Artemia salina* con Extracto de Acetato de etilo de Inflorescencia de *Acalypha arvensis***

Tabla 36. Mortalidad de *Artemia salina* después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de acetato de etilo de inflorescencia de *Acalypha arvensis*.

| Dosis (ppm) | Log dosis | Muertos | Vivos | Muertos acumulados | Vivos acumulados | Muertos totales | Mortalidad (%) |
|-------------|-----------|---------|-------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|
| 250         | 2.4       | 24      | 16    | 44                 | 40               | 84              | 52.3           |
| 125         | 2.1       | 15      | 25    | 20                 | 65               | 85              | 23.5           |
| 62.5        | 1.8       | 3       | 37    | 5                  | 102              | 107             | 4.7            |
| 31.25       | 1.5       | 2       | 38    | 2                  | 140              | 142             | 1.4            |
| 15.62       | 1.2       | 0       | 40    | 0                  | 180              | 180             | 0              |
| 7.81        | 0.9       | 0       | 40    | 0                  | 220              | 220             | 0              |

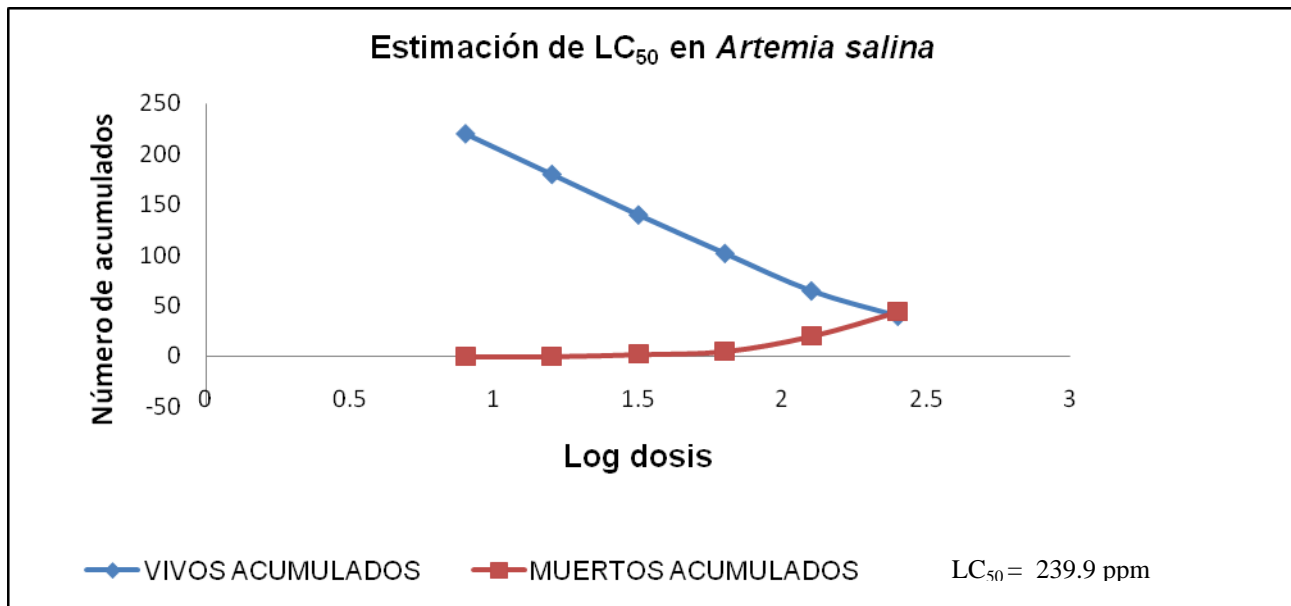


Figura 13. Estimación de la concentración letal 50 en *Artemia salina*, por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se interseccionan las dos curvas se obtiene la dosis letal 50.



**Prueba de toxicidad en *Artemia salina* con Extracto de Acetato de etilo de Raíz de *Acalypha arvensis***

Tabla 37. Mortalidad de *Artemia salina* después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de acetato de etilo de raíz de *Acalypha arvensis*.

| Dosis (ppm) | Log dosis | Muertos | Vivos | Muertos acumulados | Vivos acumulados | Muertos totales | Mortalidad (%) |
|-------------|-----------|---------|-------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|
| 250         | 2.4       | 12      | 28    | 36                 | 40               | 76              | 47.4           |
| 125         | 2.1       | 15      | 25    | 24                 | 65               | 89              | 27             |
| 62.5        | 1.8       | 6       | 34    | 9                  | 99               | 108             | 8.3            |
| 31.25       | 1.5       | 0       | 40    | 3                  | 139              | 142             | 2.1            |
| 15.62       | 1.2       | 1       | 39    | 3                  | 178              | 181             | 1.6            |
| 7.81        | 0.9       | 2       | 38    | 2                  | 216              | 218             | 0.9            |

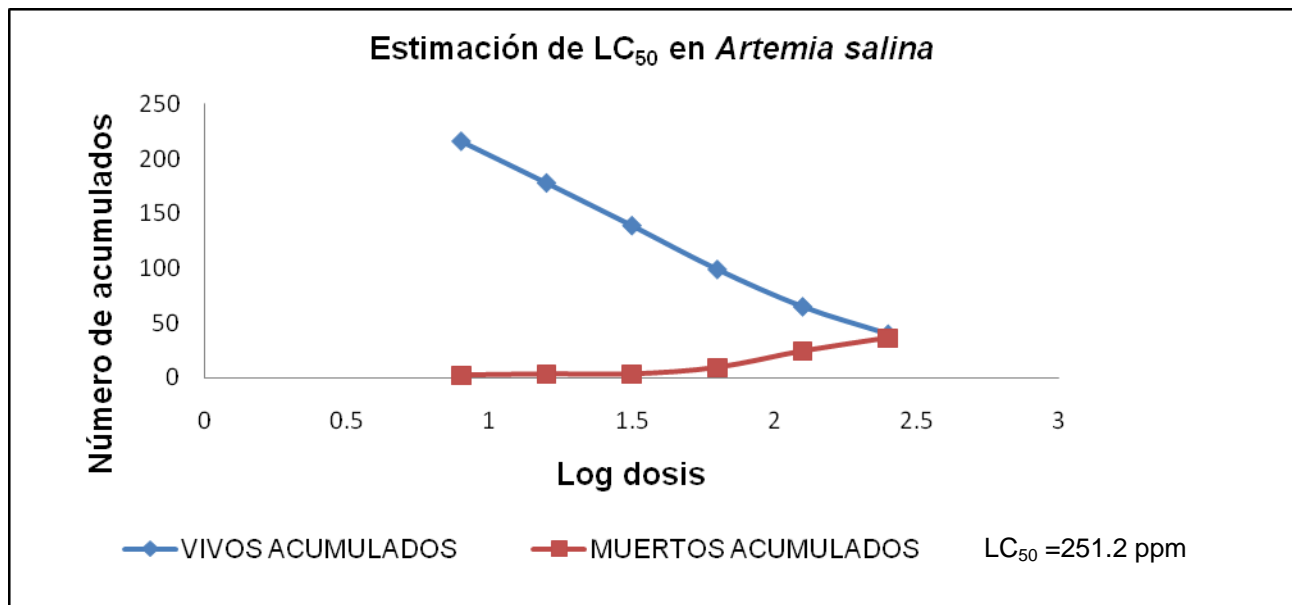


Figura 14. Estimación de la concentración letal 50 en *Artemia salina*, por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se intersectan las dos curvas se obtiene la dosis letal 50.

**Prueba de toxicidad en *Artemia salina* con Extracto de Metanol de Hoja de *Acalypha arvensis***

Tabla 38. Mortalidad de *Artemia salina* después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de metanol de hoja de *Acalypha arvensis*.

| Dosis (ppm) | Log dosis | Muertos | Vivos | Muertos acumulados | Vivos acumulados | Muertos totales | Mortalidad (%) |
|-------------|-----------|---------|-------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|
| 1000        | 3         | 22      | 8     | 35                 | 8                | 35/43           | 81.40          |
| 500         | 2.7       | 12      | 18    | 13                 | 26               | 13/39           | 33.33          |
| 125         | 2.1       | 1       | 29    | 1                  | 55               | 1/56            | 1.80           |
| 62.5        | 1.8       | 0       | 30    | 0                  | 85               | 0/85            | 0              |
| 15.62       | 1.2       | 0       | 30    | 0                  | 115              | 0/115           | 0              |

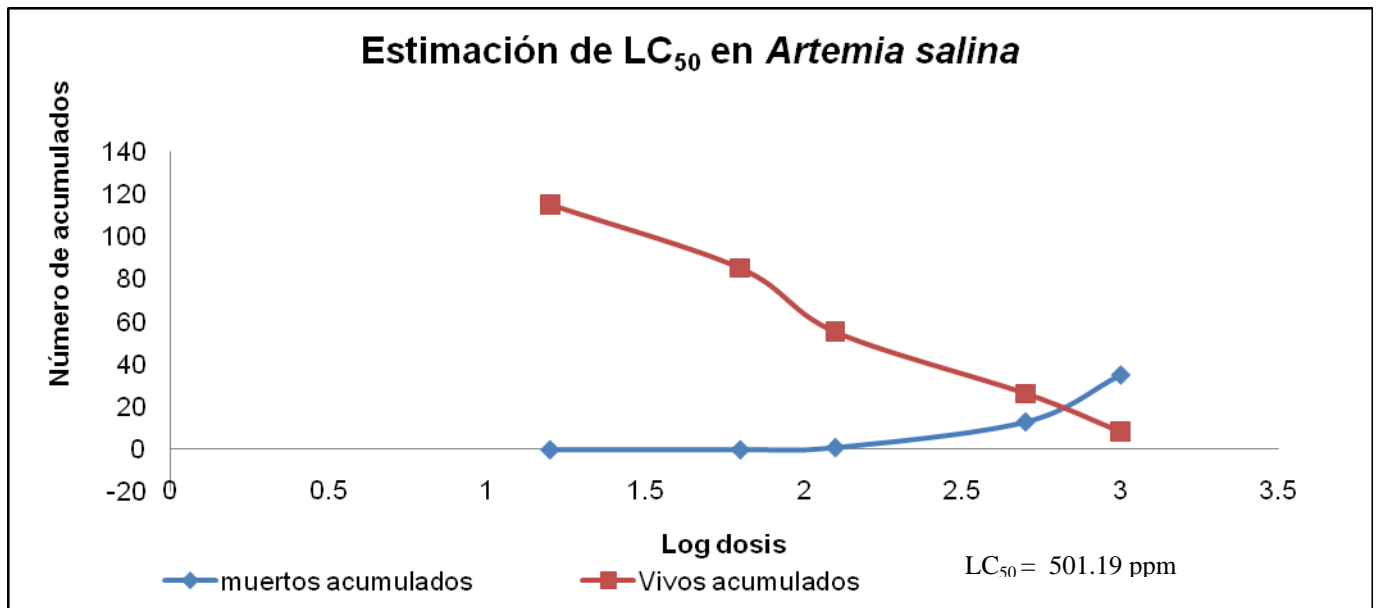


Figura 15. Estimación de la concentración letal 50 en *Artemia salina*, por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se intersecan las dos curvas se obtiene la dosis letal 50.

**Prueba de toxicidad en *Artemia salina* con Extracto de Metanol de Tallo de *Acalypha arvensis*.**

Tabla 39. Mortalidad de *Artemia salina* después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de metanol de tallo de *Acalypha arvensis*.

| Dosis (ppm) | Log dosis | Muertos | Vivos | Muertos acumulados | Vivos acumulados | Muertos totales | Mortalidad (%) |
|-------------|-----------|---------|-------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|
| 1000        | 3         | 16      | 14    | 36                 | 14               | 36/50           | 72             |
| 500         | 2.7       | 5       | 25    | 20                 | 39               | 20/59           | 33.90          |
| 250         | 2.4       | 2       | 28    | 15                 | 67               | 15/82           | 18.30          |
| 125         | 2.1       | 2       | 28    | 13                 | 95               | 13/108          | 12.04          |
| 62.5        | 1.8       | 0       | 30    | 11                 | 125              | 11/136          | 30.55          |
| 31.25       | 1.5       | 1       | 29    | 11                 | 154              | 11/165          | 6.67           |
| 15.62       | 1.2       | 10      | 20    | 10                 | 174              | 10/184          | 5.43           |

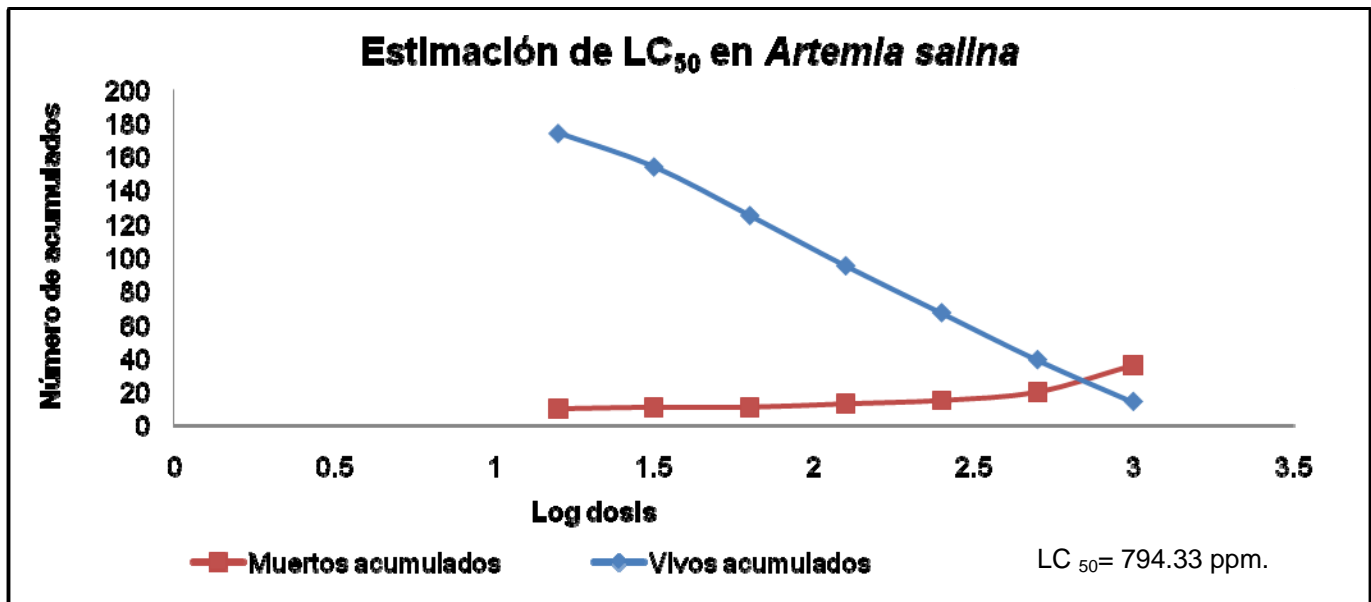


Figura 16. Estimación de la concentración letal 50 en *Artemia salina*, por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se interseccionan las dos curvas se obtiene la dosis letal 50.

**Prueba de toxicidad en *Artemia salina* con Extracto de Metanol de Inflorescencia de *Acalypha arvensis***

Tabla 40. Mortalidad de *Artemia salina* después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de metanol de inflorescencia de *Acalypha arvensis*.

| Dosis (ppm) | Log dosis | Muertos | Vivos | Muertos acumulados | Vivos acumulados | Muertos totales | Mortalidad (%) |
|-------------|-----------|---------|-------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|
| 1000        | 3         | 12      | 28    | 103                | 28               | 103/131         | 78.62          |
| 500         | 2.7       | 14      | 26    | 91                 | 54               | 91/145          | 62.80          |
| 250         | 2.4       | 14      | 26    | 77                 | 80               | 77/157          | 49.04          |
| 125         | 2.1       | 25      | 15    | 63                 | 95               | 62/158          | 39.24          |
| 62.5        | 1.8       | 24      | 16    | 38                 | 111              | 38/149          | 25.50          |
| 31.25       | 1.5       | 10      | 30    | 14                 | 141              | 14/155          | 9.03           |
| 15.62       | 1.2       | 4       | 36    | 4                  | 177              | 4/181           | 2.21           |
| 7.81        | 0.9       | 0       | 40    | 0                  | 217              | 0/217           | 0              |

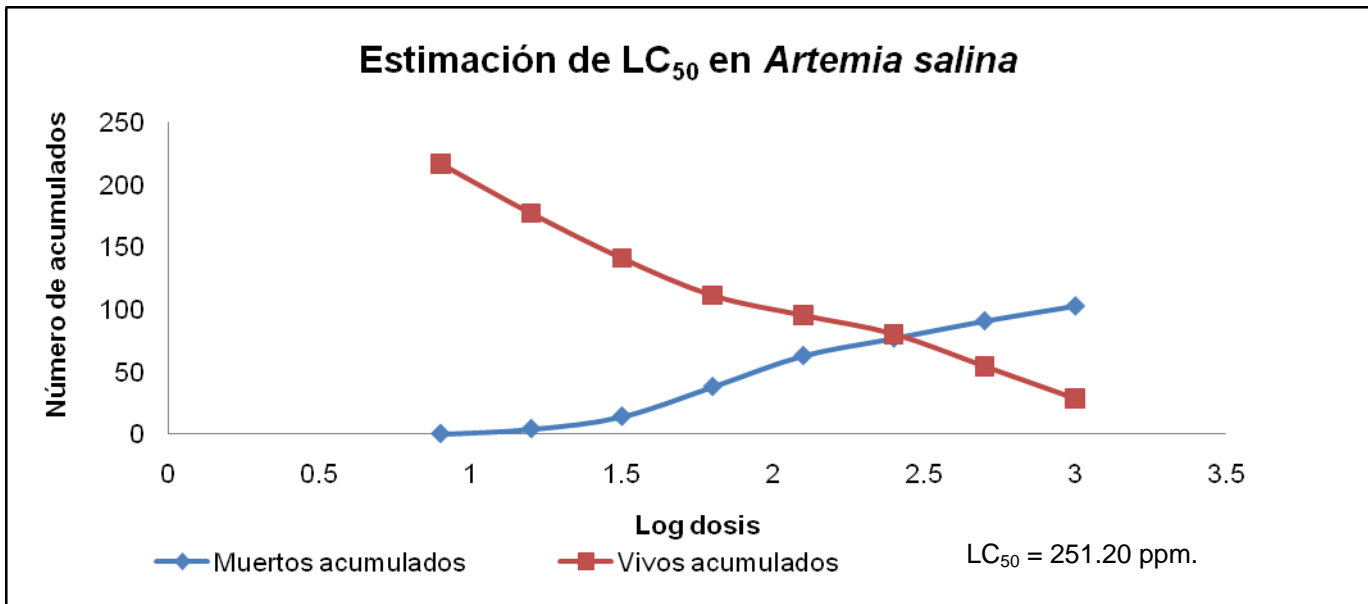


Figura 17. Estimación de la concentración letal 50 en *Artemia salina*, por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se interseccionan las dos curvas se obtiene la dosis letal 50.

**Prueba de toxicidad en *Artemia salina* con Extracto de Metanol de Raíz de *Acalypha arvensis***

Tabla 41. Mortalidad de *Artemia salina* después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de extracto de metanol de raíz de *Acalypha arvensis*.

| Dosis (ppm) | Log dosis | Muertos | Vivos | Muertos acumulados | Vivos acumulados | Muertos totales | Mortalidad (%) |
|-------------|-----------|---------|-------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|
| 1000        | 3         | 35      | 5     | 192                | 5                | 5/197           | 2.54           |
| 500         | 2.7       | 32      | 8     | 157                | 13               | 13/170          | 7.64           |
| 250         | 2.4       | 29      | 11    | 125                | 24               | 24/149          | 16.10          |
| 125         | 2.1       | 10      | 20    | 96                 | 44               | 44/140          | 31.43          |
| 62.5        | 1.8       | 26      | 14    | 86                 | 58               | 58/144          | 40.27          |
| 31.25       | 1.5       | 29      | 11    | 60                 | 69               | 69/129          | 53.48          |
| 15.62       | 1.2       | 18      | 22    | 31                 | 91               | 91/122          | 74.60          |
| 7.81        | 0.9       | 13      | 27    | 13                 | 118              | 13/131          | 9.92           |

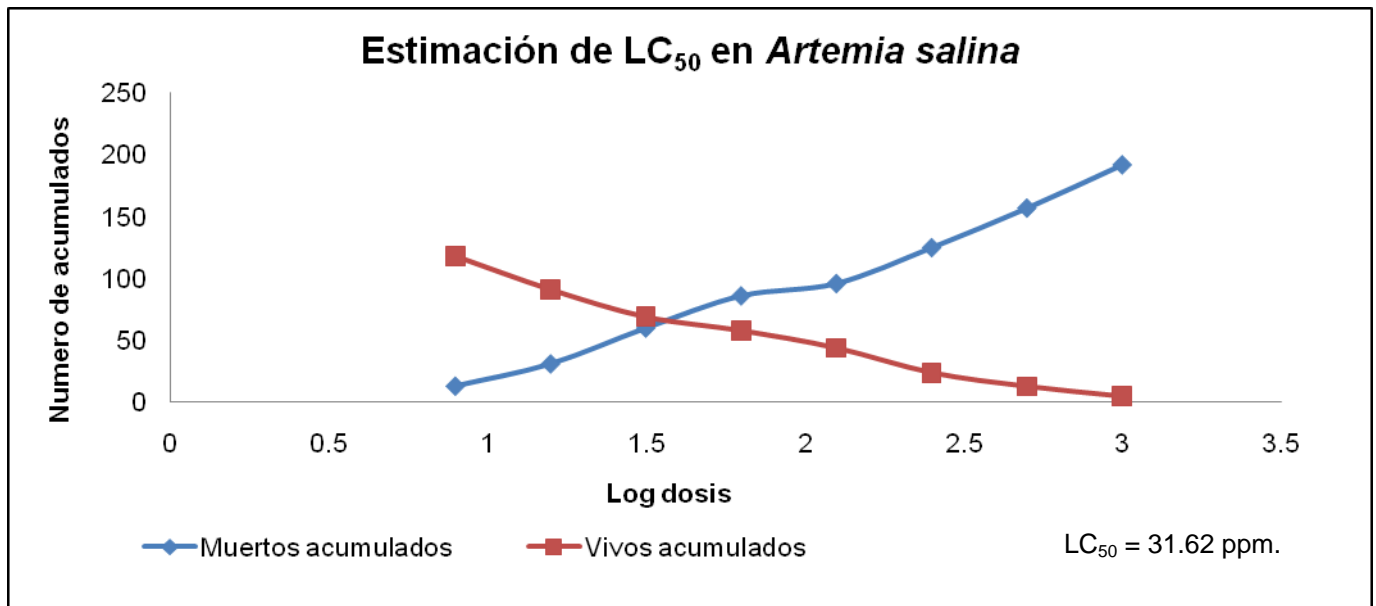


Figura 18. Estimación de la concentración letal 50 en *Artemia salina*, por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se interseccionan las dos curvas se obtiene la dosis letal 50.

**Prueba de toxicidad en *Artemia salina* con dicromato de potasio**

Tabla 42. Mortalidad de *Artemia salina* después de 12 h de exposición a diferentes concentraciones de dicromato de potasio usado como control.

| Dosis (ppm) | Log dosis | Muertos | Vivos | Muertos acumulados | Vivos acumulados | Muertos totales | Mortalidad (%) |
|-------------|-----------|---------|-------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|
| 1000        | 3         | 40      | 0     | 261                | 0                | 261/261         | 100            |
| 500         | 2.70      | 40      | 0     | 221                | 0                | 221/221         | 100            |
| 250         | 2.40      | 40      | 0     | 181                | 0                | 181/181         | 100            |
| 125         | 2.10      | 40      | 0     | 141                | 0                | 141/141         | 100            |
| 62.5        | 1.80      | 40      | 0     | 101                | 0                | 101/101         | 100            |
| 31.25       | 1.50      | 36      | 4     | 61                 | 4                | 61/65           | 93.8           |
| 15.62       | 1.20      | 17      | 23    | 25                 | 27               | 25/52           | 48.0           |
| 7.81        | 0.90      | 8       | 32    | 8                  | 59               | 8/67            | 13.5           |

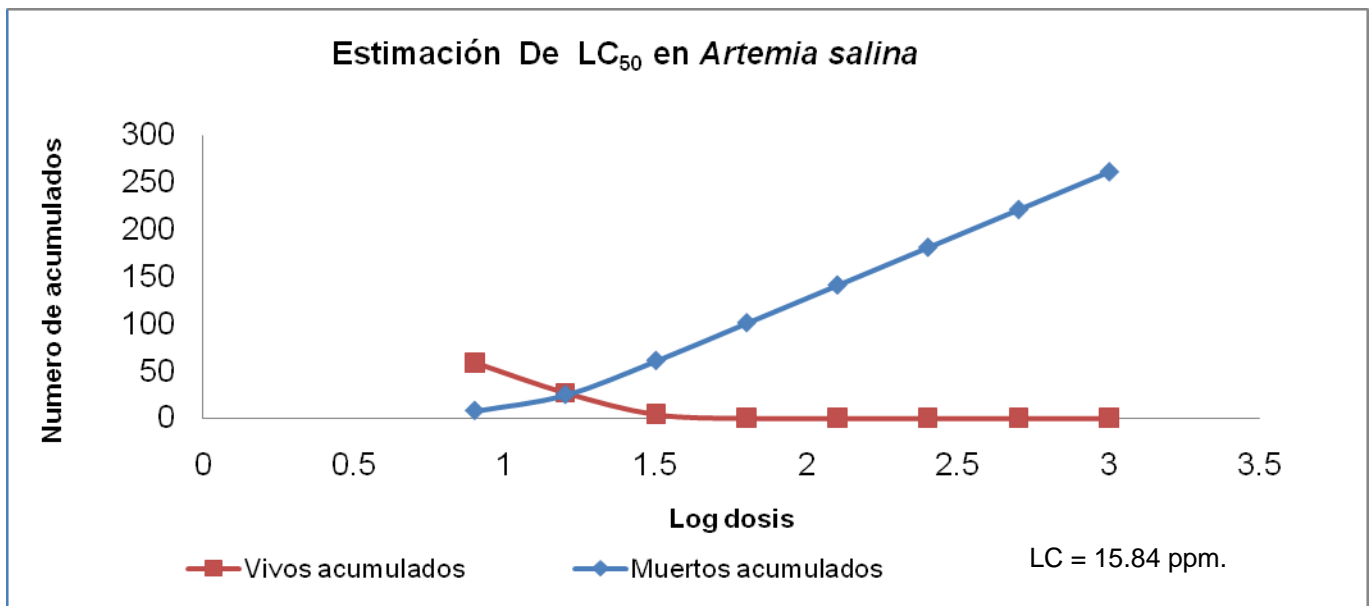


Figura 19. Estimación de la concentración letal 50 en *Artemia salina*, por el método Reed-Muench, los muertos acumulados y vivos acumulados se grafican en los mismos ejes. En donde se intersecan las dos curvas se obtiene la dosis letal 50.

## 6. ANÁLISIS DE RESULTADOS

En cuanto al rendimiento obtenido de los diferentes extractos, bajo las condiciones de extracción, el menor corresponde a los obtenidos con hexano seguido de los extraídos con acetato de etilo y metanol, el mayor rendimiento se obtuvo en las infusiones. Por lo tanto, la mayor parte de los compuestos extraídos de la planta son de naturaleza polar.

Para el caso del hexano el menor rendimiento se obtuvo en la inflorescencia, seguido del tallo, raíz y hoja, siendo para ésta el 0.47% de su composición.

Los componentes de los extractos de acetato de etilo no representan ni el 1% de las partes de la planta estudiadas, mientras que los porcentajes de los extractos de metanol van del 1.83 al 4.35%.

La hoja fue la parte vegetativa de dónde se logró extraer mayor cantidad de componentes con los diferentes disolventes empleados y con los dos métodos de extracción (maceración e infusión).

En cuanto a los perfiles cromatográficos, se determinó la fase móvil para los extractos de hexano y acetato de etilo las cuales son hexano:acetato (7:3) y hexano:acetato (8:2) respectivamente.

En los perfiles cromatográficos de los 4 extractos de hexano se puede observar que los únicos que guardan cierta similitud son los de hoja y tallo, mientras que en los de acetato de etilo hay más semejanzas pues se pudo observar que la hoja se parece a tallo y a su vez el perfil del tallo al de inflorescencia y raíz.

El tipo de componentes que se encuentran en los extractos de hexano corresponden a compuestos de tipo esteroides y/o terpenos, de los cuales se pudo observar que 12 son de naturaleza polar, 12 de polaridad media y 8 de polaridad baja, flavonoides; 2 polares y 4 de polaridad media y estos sólo se encuentran en hoja e inflorescencia. Mientras que en los extractos de acetato de etilo también se encontraron esteroides y/o terpenos 8 polares, 12 de polaridad media y 6 de polaridad baja; flavonoides: 8 polares, 4 de polaridad media y 5 de baja polaridad, además de fenoles 7 polares, 4 de polaridad media y 5 de polaridad baja siendo el tallo el que vincula a las otras partes de la planta por la similitud observada en los diferentes Rf.

Para los extractos de metanol e infusiones, no fue posible resolver los perfiles cromatográficos a pesar de las diferentes fases móviles probadas por lo que la detección de metabolitos secundarios sólo se realizó por reacciones de coloración y precipitación, para comparar los resultados entre todos los extractos, se incluyeron los extractos de hexano y acetato de etilo en esta técnica, logrando complementar la detección de los grupos químicos presentes en cada extracto.

Respecto a los grupos químicos de metabolitos secundarios presentes en la planta, obtenidos por medio de reacciones de coloración y precipitación se observó que los fenoles, entre ellos los flavonoides, están presentes en cada uno de los extractos e infusiones; terpenos y/o esteroides se hallaron en los extractos de hexano, acetato de etilo e infusión en todas las partes de la planta, mientras que en hoja e inflorescencia sólo se encuentran en el extracto de metanol.

Los taninos están ausentes únicamente en los extractos de hexano de hoja, tallo, inflorescencia y raíz.



La prueba para detectar glicósidos, alcaloides y saponinas sólo se realizó en los extractos de metanol y en las infusiones. Las saponinas sólo se encuentran en los extractos de hoja y tallo de metanol, así como en la infusión de hoja. Glicósidos y alcaloides se encontraron en los extractos de metanol y en la infusión en todas las partes de la planta.

La prueba de actividad antimicrobiana de los diferentes extractos obtenidos, por el método de microdilución, mostró que el más activo es el de acetato de etilo en hoja, tallo, inflorescencia y raíz, los cuales tuvieron la misma CMI de  $2 \frac{\mu\text{g}}{\mu\text{L}}$ . Una actividad menor presentaron los extractos de hexano y metanol, que es igual en las diferentes partes de la planta con una CMI de  $4 \frac{\mu\text{g}}{\mu\text{L}}$ . Estas CMI son efectivas tanto para *E. coli* y *B. subtilis*

La inhibición que se observó con las infusiones en hoja es la misma para tallo, inflorescencia y raíz, encontrando una CMI frente a *E. coli* y *B. subtilis* de  $32 \frac{\mu\text{g}}{\mu\text{L}}$ , 12 veces menos efectiva a la obtenida con acetato de etilo.

Los resultados obtenidos en la actividad antimicrobiana por el método de difusión en disco frente a *E. coli*, demostraron que los extractos de hexano de hoja y tallo, así como el extracto de acetato de etilo de hoja no tienen actividad bactericida. Sin embargo, en el método de microdilución en placa si se observó actividad, esto quiere decir, que cada caso depende en gran medida de la sensibilidad del método empleado y de las concentraciones adecuadas a probar.

En el resto de los extractos si se observó actividad frente a dicho microorganismo, la mayor actividad se obtuvo en los extractos e infusiones de inflorescencia, seguido de raíz, hoja y con una menor efectividad los obtenidos de tallo. La infusión de inflorescencia presentó la mayor inhibición con 44.05% y la menor se observó en el extracto de inflorescencia de hexano 24%.

Para el caso de la actividad frente a *Bacillus subtilis* se observó que en todas las partes de la planta los extractos con mayor efecto inhibitorio fueron los de metanol, seguido de los obtenidos con hexano, la infusión y con una menor efectividad los extractos de acetato de etilo. En el extracto de hoja de metanol se observó la mayor inhibición con 58.33%, mientras que la menor inhibición se observó en el extracto de acetato de etilo de raíz que inhibió 20.00% el crecimiento bacteriano.

En la prueba de actividad antiinflamatoria se puede observar con respecto al extracto de hexano que tiene la siguiente actividad antiinflamatoria: hoja (51.89%)> tallo > inflorescencia > raíz.

En los extractos de acetato de etilo se observó que es el extracto con mayor actividad antiinflamatoria, el de hoja con 84.05%, y con menor actividad inflorescencia, tallo, raíz.

Con respecto a los extractos de metanol la actividad antiinflamatoria se presentó en el de raíz (25.48 %), seguido de hoja, tallo y con una menor actividad el de inflorescencia con 16.92%.

De acuerdo con lo observado el extracto que presentó mayor actividad antiinflamatoria es el de acetato de etilo, seguido del extracto de hexano y con

menor actividad el extracto de metanol. En las infusiones obtenidas de la planta no se observó actividad antiinflamatoria.

La mayor actividad antiinflamatoria se presentó en los extractos de acetato de etilo, esto se puede deber a que la presencia de metabolitos secundarios presentes en la planta como flavonoides y esteroides y/o terpenos es más abundante a la observada en los extractos de hexano y metanol.

En lo que se refiere a la prueba de toxicidad en el crustáceo *Artemia salina*, en general lo que se observó en dicho ensayo es que los extractos más tóxicos son los de hexano, seguido de acetato de etilo y los menos tóxicos, los extractos de metanol. Con respecto a las infusiones no se realizó la prueba de toxicidad en el crustáceo debido a la insuficiencia de muestra para la reproducción del ensayo por la poca cantidad que se obtuvo de dicha preparación y la ausencia de material vegetal disponible para la extracción.

En los extractos de hexano se observó que el extracto más tóxico es el de raíz, a una concentración de 8.32 ppm, seguido de inflorescencia, tallo y hoja que presenta toxicidad a una concentración de 232 ppm.

En el caso de los extractos de acetato de etilo se observó que *A. salina* es sensible a concentraciones de 199 ppm, en hoja y muestra menor sensibilidad en tallo donde resiste concentraciones de hasta 412 ppm.

En los extractos de metanol se pudo observar que el crustáceo es resistente a concentraciones de hasta 794 ppm en tallo y que en cambio muestra una alta sensibilidad en el extracto de raíz a una concentración de 31.62 ppm, en donde su mortandad es del 54% y no tolera concentraciones mayores, es decir no sobrevive.

## CONCLUSIONES

*Acalypha arvensis* presenta diferentes metabolitos secundarios como flavonoides, fenoles, terpenos y/o esteroides; además de alcaloides, glúcidos, taninos y saponinas en los extractos obtenidos de metanol e infusiones.

Los metabolitos secundarios detectados en *Acalypha arvensis* presentan actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*, en donde se observó que los constituyentes más activos son aquellos que se encuentran en los extractos obtenidos con metanol (hoja 58.33%) y las infusiones (inflorescencia 44.05%), esto demuestra que los extractos vegetales pueden ser una fuente de nuevos agentes antimicrobianos para inhibir o combatir el crecimiento de cepas resistentes a los antibióticos que actualmente son utilizados.

Se determinó que la planta tiene actividad antiinflamatoria, en donde los extractos más activos fueron los de acetato de etilo, lo cual sugiere que probablemente la actividad antiinflamatoria proveniente de los extractos de esta planta radica principalmente en los compuestos de tipo flavonoides y esteroides y/o terpenos de polaridad media.

El modelo biológico de elección para el ensayo de toxicidad resultó adecuado para el propósito de este trabajo, ya que fue posible seguir el estudio biodirigido de los extractos de *A. arvensis* en *Artemia salina*, observándose que los extractos menos tóxicos son los de metanol, y de acuerdo con la forma de empleo de la planta como remedio en la medicina tradicional (maceración alcohólica e infusión bebida o en cataplasma) no representaría un riesgo a las personas que lo utilizan para curar las afecciones del tipo inflamación o infeccioso por bacterias, a pesar de que los ensayos demuestran que hay una menor actividad antiinflamatoria que antibacteriana es recomendable el uso de estas infusiones, ya

que el uso completo de esta planta podría tener un efecto de sinergia de los componentes de la misma, esto demuestra que la especie empleada como remedio medicinal tradicional en la Sierra Norte de Puebla, posee propiedades terapéuticas que podrían ser aprovechadas en la industria farmacéutica y cosmética.

### REFERENCIAS

1. Argueta V. A Cano, A. L. y Rodarte M. E. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, INI. México 1994, pp. 236-237
2. Astudillo Vazquez Adela, Estudio farmacológico de *Acalypha phleoides* sobre la función gastrointestinal e identificación de principios activos antiespasmódicos, Tesis Doctorado (Doctorado en Ciencias Químicas)-UNAM, Facultad de Química. México el Autor 2004.
3. Bruneton Jean, Farmacognosia Fitoquímica de Plantas Medicinales 2<sup>a</sup> Ed. Acribia S. A. España 2001 pp. 457-465
4. Campbell W., Halushka P. Lipid derived Autacoids, eicosanoids and platelet-activity factor. En Goodman y Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics. 9ed. International Edition, McGraw-Hill. pp. 601-610. (1996)
5. CARDIEL, J. M. (1995). Las especies herbáceas de *Acalypha* (Euphorbiaceae) de Colombia. *Anales Jard. Bot. Madrid*52(2): 151-157.
6. Croteau, R., Kitchan, T.M., Lewis, N. G., Natural Products (Secondary Metabolites). In Buchanan. B. Grissem, W., Jones, R. Eds. 2002. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiology. USA. pp. 1250-1318.
7. Dewick, P. Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach John Wiley and Sons, England 1997. pp. 5-7
8. Domínguez López Mariana, Actividad antiinflamatoria y Antioxidante de las especies *Barleyanthus salicifolius Kunth* y *Penstemon gentianoides H.B.K.* Tesis de Doctorado (Doctorado en Ciencias Bioquímicas), UNAM, Facultad de Química. México el Autor 2006.
9. Garcia Arguez, N. A. T. O. Ramirez, H Parra, Velásquez G., Martínez-Velásquez 2000, Antiinflammatory Activity of Coumarins from

- Aecatropys bicolor* on TPA Ear Mice Model. *Planta Médica* 66 (2000), 279- 281
10. Georgopapadokü N. H., 2002 Antibiotic resistance in enterobacteria. In Lewis K., Salyers A. A., Taber H. W. and Wax R. G. (Eds.) *Bacterial resistance to antimicrobials*. Marcel Dekker inc. New York pp. 405-406
  11. Gutierrez Camacho C., Mota Hernández F, Cabrera Martínez R. G. y Orozco Peralta F. J., 1997. Antimicrobiannos en diarrea aguda. *Boletín Médico del Hospital Infantil* 54, 409-505
  12. Harbone, J. B. 1990 Role of Secundarie Metabolites in Chemical Defense Mechanism in Plants. *Bioactive Compounds from Plants*. Ciba Foundation Symposium 154. Wiley, Chichester, pp. 126-139.
  13. Hunskaar, S., Hole, K., 1987. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain* 30, 103–104.
  14. Insel, P.A., 1990. Analgesic, antipyretics and anti-inflammatory agents: drugs employed in the treatment of rheumatic arthritis and gout. In: Goodman, A.G., Gilman, A.G. (Eds.), *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, vol. 8. Pergamon Press, Oxford, pp. 637–681.
  15. J. Suresh Reddy <sup>b</sup>, P. Rajeswara Rao <sup>a</sup>, Mada S. Reddy <sup>b,\*</sup>, Wound healing effects of *Heliotropium indicum*, *Plumbago zeylanicum* and *Acalypha indica* in rats. November 2001, *JOURNAL OF ETNOPHARCOLOGY*
  16. Lincon y Eduardo Zeiger "Secondary Metabolites and Plant Defense". En: *Plant Physiology, Fourth Edition*. Sinauer Associates, Inc. 2006. Capítulo 13.
  17. Mackay A., Sedgwick A., Dun C., Flemming., Willoughby D. The transition from acute to chronic inflammation. *British Journal of Dermatology* 113, Supplement 28, 34-48 (1985).
  18. Miguel Ángel Martínez Alfaro, Virginia Evangelista Oliva, Myrna Mendoza Cruz, Gustavo Morales Garcia, Guadalupe Toledo Olozcoaga

- y Alfredo Wong León. Catálogo de plantas útiles de la sierra norte de Puebla, México, Instituto de Biología, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.
19. Musher D., Cohen M., Baker C. Immune responses to extracellular bacteria. En: Rich. R., Fleisher T., Schwartz B., Shearer W., Strober W. eds Clinical Immunology Vol. 1 St Louis: Mosby-Year Book, pp. 59-63 (1996).
  20. Needleman P., Turk J., Jakschik A., Morrison A., Leftwith J. Arachidonic acid. Metabolism. *Annual Review of Biochemistry* 55, 69-102 (1986)
  21. Nahrstedt \*, M. Hungeling, F. Peterleit, Phytochemical communication. Flavonoids from *Acalypha indica*, Institute of Pharmaceutical Biology and Phytochemistry, University of Muenster, D-48149 Muenster, Germany. April 2006. FITOTERAPIA.
  22. Olaniyi, A.A., 2000. Essential Medicinal Chemistry, 2nd ed. Shaneson C.I. Ltd., Ibadan, Nigeria.
  23. Osadebe, P. O., Okoye F. B. C. 2003 Anti-inflammatory effects of crude methanolic extract and fractions of *Alchornea cordifolia* leaves. Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharm. Sciences, University of Nigeria, Nsukka, Nigeria, *Journal of Ethnopharmacology* 89 (2003) 19–24
  24. Pollard A. J. and Dobson S. R., 2000 Emerging infectious diseases in the 21 st century. *Current Opinion in Infectious Diseases* 13, 265-275.
  25. Roslev Peter and Gary M. King., 1993 Application of a Tetrazolium Salt with a Water Soluble Formazan as an Indicator of Viability in Respiring Bacteria. Department of Microbiology and Molecular Biology an Darling Marine Center, University of Maine , Walpole, Maine 04573, Vol. 59 No. 9 pp. 2891-2895.



## Referencias

---

26. Rosenberg H., Gallin J., Inflammation. En: Fundamental Immunology. 4ed, William E. Paul. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia. pp. 1050-1088, (1999).
27. "Secondary Metabolites and Plant Defense". En: Taiz, Lincoln y Eduardo Zeiger. *Plant Physiology, Fourth Edition*. Sinauer Associates, Inc. 2006. Capítulo 13.
28. Sedwick A., Willoughby D. Initiation of the inflammatory response and its prevention. En: Handbook of inflammation, Vol. 5. The Pharmacology of Inflammation Bonta I., Bray M., Parnham M., publications Elsevier Science B.V. páginas 465. (1985).
29. Smith W., Dewitt D., Garavito M. Cyclooxygenases: Structural, Cellular and Molecular Biology. *Annual Review of Biochemistry* 69, 45-82 (2000).
30. Suzan Ozturk, Sezai Ercisli. "The chemical composition of essential oil and *in vitro* antibacterial activities of essential oil and methanol extract of *Ziziphora persica* Bunge", *JOURNAL OF ETNOPHARMACOLOGY*, 106 (2006) 372-376
31. Swanson, K.M.S., Busta, F.F., Peterson, E.H., Johanson, M.G., 1992. Colony count methods. In: Vanderzant, C., Splittstoesser, D.F. (Eds.), *Compendium of Methods for Microbiological Examination of Food*, third ed. American Public Health Association, Washington, pp. 75–95.
32. Tortora J. Gerard, Funke R. Berdell, Case L. Cristine *Microbiology and Introduction*. Pearson 2007. Pp. 4, 10, 12, 79, 94, 101.
33. Trease E.; *Farmacognosia* 13<sup>a</sup> Ed. Mc-Graw-Hill, México pp. 7441-748.
34. Valdés Y., Bilbao M., León J. Origen e importancia de la fosfolipasa A<sub>2</sub> de secreción. *Revista Cubana de Farmacia* 36, 121-128 (2002).
35. T. Hernández <sup>a\*</sup>, M. Canales <sup>a</sup>, J.G. Avila <sup>a</sup>, A. Duran <sup>a</sup>, J. Caballero <sup>b</sup>, A. Romo de Vivar <sup>c</sup>, R. Lira <sup>a</sup>, Ethnobotany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla (México). 2003 *JOURNAL OF ETNOPHARCOLOGY*

## Referencias

---

36. Waller, D. P., Methods in Ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology* 38, (1993) 189-195
37. Wiart<sup>a\*</sup>, A. Hannah<sup>a</sup>, M. Yassim<sup>b</sup>, H. Hamimah<sup>b</sup>, M. Sulaiman<sup>c</sup>, Antimicrobial activity of *Acalypha siamensis* Oliv. ex Gage September 2004, *JOURNAL OF ETNOPHARCOLOGY*.
38. Winn T., Cheever A. Cytoquine regulation of granuloma formation in schistosomiasis. *Current Opinion in Immunology* 7, 505-511 (1995).
39. Wu K. Inducible cyclooxygenase and nitric oxide synthase. *Advance in Pharmacology* 33, 179-207 (1995).