



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Actividad antioxidante *in vitro* de plantas empleadas en la
medicina tradicional mexicana

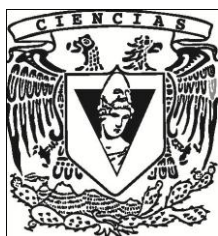
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

MARÍA DEL PILAR VILLANUEVA BAHENA



DIRECTOR DE TESIS:
DRA. SILVIA GUZMÁN BELTRÁN
2016

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX.



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.

1. Datos del alumno
Villanueva
Bahena
María del Pilar
58401071
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
304183182
2. Datos del tutor
Dra.
Silvia
Guzmán
Beltrán
3. Datos del sinodal 1
Dra.
Helia Reyna
Osuna
Fernández
4. Datos del sinodal 2
Dr.
José Eduardo
Rodríguez
Bustamante
5. Datos del sinodal 3
Dra.
Susana
González
Reyes
6. Datos del sinodal 4
M. en C.
Antonio
Cruz
Peralta
7. Datos del trabajo escrito.
Actividad antioxidante *in vitro* de plantas empleadas en la medicina tradicional mexicana
66 páginas
2016

Esta tesis se realizó bajo la tutoría de la Dra. Silvia Beltrán Guzmán del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

La colecta de plantas y la realización de los extractos se realizaron con el apoyo del laboratorio de Fisiología y estructura de plantas, ubicado en la Facultad de ciencias, Ciudad Universitaria, bajo la supervisión de la Dra. Helia Reyna Osuna Fernández.

El secado de plantas se realizó bajo la supervisión de la M. en C. María Eugenia Muñiz Díaz de León, Técnica académica en el Taller de Plantas I y II ubicado en la Facultad de ciencias, Ciudad Universitaria.

Las pruebas de ORAC se realizaron con la supervisión técnica de la Dra. Susana González Reyes en el laboratorio 209 de la Facultad de Química, en el laboratorio del Dr. José Pedraza-Chaverri, Ciudad Universidad.

AGRADECIMIENTOS

A las Dras. Silvia Guzmán-Beltrán y Helia Reyna Osuna-Fernández, por todo el apoyo y paciencia que en todo momento me brindaron para poder realizar esta tesis.

A todo el laboratorio 209 de la facultad de química, CU., en especial al Dr. José Pedraza-Chaverri quien me permitió realizar las pruebas de ORAC en su laboratorio, siempre brindándome todo su apoyo; al M. en C. Omar Medina-Campos por su asesoría y facilitarme el protocolo para el ORAC y a la Dra. Susana González-Reyes por todo el apoyo y asesoría que me brindo con el presente trabajo.

Facultad de Ciencias, Ciudad Universitaria:

Biól. Jorge Fernando Rojas Gutiérrez

M. en C. Armando Gómez Campos

M. en C. Beatriz Zúñiga Ruíz

Instituto de Biología, Ciudad Universitaria:

Dr. David Sebastian Gernandt

Leandro Javier Ramos Ventura

Ubaldo Melo Samper Palacios

A la máxima casa de estudios, la UNAM, que me ha dado tanto.

DEDICATORIAS

A mis padres Pilar e Ignacio.

Gracias por que siempre han estado allí y me han ayudado en todo momento de mi vida, me han enseñado a sobreponerme a las malas rachas y a valorar los buenos momentos. Quiero que sepan que estoy agradecida por ser su hija y aunque sé que no soy perfecta y que no siempre hago lo que se supone, cuando se supone, e incluso no tengo el mejor tono, les agradezco por amarme aún en los momentos más difíciles. Aunque bien saben que no soy buena demostrando mi afecto con las personas, ustedes significan mucho para mí, y espero que con mis logros se sientan orgullosos de mí, porque si he llegado hasta donde estoy es gracias a ustedes. Gracias por impulsarme y hacer de mí la persona que hoy soy.

A mi hermano Ignacio, sabes que eres de mis personas favoritas en todo el mundo, que con esfuerzo y dedicación todo se puede, no dejes de luchar ni te des por vencido nunca. A Ian, Bonzo, Aztlán, Maya, Athena, Peluso y Fausto, que están clavados en lo más profundo de mi corazón y por ellos quiero seguir siendo la gran persona que ellos merecen. A mi tío Edgar Felipe, que es una parte importante en nuestra familia, siempre un apoyo para todos.

A Hugo A. Sumano Escobedo, gracias por el tiempo compartido, las enseñanzas aprendidas, los viajes juntos, las risas, el llanto, gracias por ser parte de mi vida y por el camino recorrido.

A mis grandes amigos Tania Salazar, Víctor Trejo, Marysol Ramírez, Linda Saldaña, Liz, Tania, Karlita, por los buenos momentos juntos, las risas y sobre todo por su apoyo incondicional siempre, y a todos aquellos que con su tiempo y amistad que me brindaron me ayudaron a ser una mejor persona cada día.

Percibo lo Secreto...

*Percibo lo secreto, lo oculto:
¡Oh vosotros señores!
Así somos, somos mortales,
de cuatro en cuatro nosotros los hombres,
todos habremos de irnos,
todos habremos de morir en la tierra.*

*Nadie en jade,
nadie en oro se convertirá:
En la tierra quedará guardado.
Todos nos iremos
allá, de igual modo.
Nadie quedará,
conjuntamente habrá que perecer,
nosotros iremos así a su casa.*

*Como una pintura
nos iremos borrando.
Como una flor,
nos iremos secando
aquí sobre la tierra.
Como vestidura de plumaje de ave zacuán,
de la preciosa ave de cuello de hule,
nos iremos acabando
nos vamos a su casa.*

*Se acercó aquí.
Hace giros la tristeza
de los que en su interior viven.
Meditadlo, señores,
águilas y tigres,
aunque fuérais de jade,
aunque fuérais de oro,
también allá iréis,
al lugar de los descarnados.
Tendremos que desaparecer,
nadie habrá de quedar.*

Nezahualcóyotl

INDICE

1. RESUMEN	9
2. INTRODUCCIÓN	10
3. ANTECEDENTES	12
3.1. ESPECIES REACTIVAS DE OXIGENO (ERO)	12
3.1.1 Formación de las especies reactivas de oxígeno	13
3.1.2 Función de las especies reactivas en las células.....	14
3.2 ANTIOXIDANTES	14
3.2.1 Antioxidantes enzimáticos.....	15
3.2.2 Antioxidantes no enzimáticos.....	17
3.3 ESTRÉS OXIDANTE	18
3.4 ENFERMEDADES ASOCIADAS AL ESTRÉS OXIDANTE.....	20
3.5 PLANTAS MEDICINALES	23
3.5.1 Euphorbia dioeca Kunth.....	27
3.5.2 Gnaphalium oxyphyllum DC.....	31
3.5.3 Piscidia grandifolia (Donn.Sm.) I.M. Johnston	34
3.5.4 Tillandsia imperialis E. Morren ex Mez	37
4. JUSTIFICACIÓN	41
5. OBJETIVO GENERAL.....	41
5.1 OBJETIVOS PARTICULARES	41
6. METODOLOGIA.....	42
6.1 SELECCIÓN Y RECOLECCIÓN DE LAS PLANTAS MEDICINALES	42
6.1.1 Euphorbia dioeca Kunth.....	42
6.1.2 Gnaphalium oxyphyllum. DC.....	42
6.1.3 Piscidia grandifolia (Donn.Sm.) I.M. Johnston	43
6.1.4. Tillandsia imperialis E. Morren ex Mez	43
6.2 OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS.....	44
6.3 SECADO DEL MATERIAL VEGETAL.....	45
6.4 EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO MEDIANTE EL SISTEMA SOXHLET.....	45
6.6 DETECCIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE “IN VITRO”	48

6.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	49
7. RESULTADOS	50
7.1 OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS.....	50
7.2 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR LA TÉCNICA DEL ORAC ...	51
8. DISCUSIÓN	55
9. CONCLUSIÓN	59
10. BIBLIOGRAFÍA	60

1. RESUMEN

El oxígeno es un elemento esencial para el desarrollo de la vida aerobia, no obstante, también posee efectos tóxicos inherentes a su estructura ya que se derivan moléculas inestables denominadas especies reactivas de oxígeno (ERO), las cuales pueden causar daño celular. El efecto adverso provocado por el metabolismo del oxígeno se contrarresta por el sistema antioxidante de las células. Sin embargo en algunas patologías como enfermedades crónicas o infecciosas, hay una producción exacerbada de ERO o una deficiencia del sistema antioxidante, lo que provoca un desbalance entre ambos, conocido como estrés oxidante. Esta condición puede ocasionar procesos degenerativos e inclusive la muerte.

El uso de antioxidantes sintéticos está muy generalizado actualmente, pero existe mucha controversia debido a que algunos presentan problemas de toxicidad, por ello, los antioxidantes naturales obtenidos de plantas medicinales (que se han consumido por el hombre desde hace mucho tiempo) podrían ser una alternativa como complemento para retrasar o prevenir el daño por estrés oxidante.

En este trabajo se evalúa la actividad antioxidante *in vitro*, de cuatro plantas con reporte de uso medicinal: *Euphorbia dioeca* Kunth, *Gnaphalium oxyphyllum* D.C., *Piscidia grandifolia* (Donn.Sm.) I.M.Johnston, *Tillandsia imperialis* E. Morren ex Mez. Estas plantas se colectaron en localidades donde crecen naturalmente, luego se secó el material colectado y se obtuvieron extractos mediante la extracción sólido-líquido con el sistema Soxhlet, utilizando como disolvente metanol. Finalmente, se evaluó la actividad antioxidante de cada extracto obtenido por el método de ORAC. En general, se obtuvo buen rendimiento, las plantas con mejor rendimiento fue *Euphorbia dioeca* (32.02%), y *Piscidia grandifolia* (30.81%). En cuanto a la actividad antioxidante se observó que la flor de *Gnaphalium oxyphyllum* DC. presentó actividad antioxidante con un valor de $CI_{50} 6.77 \pm 1.48$, siendo el más activo de todos los extractos evaluados, mientras que el extracto que presentó menor actividad fue el tallo de *Piscidia grandifolia* (Donn.Sm.) I.M.Johnston con un $IC_{50} 12.69 \pm 0.99$.

2. INTRODUCCIÓN

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) son moléculas altamente reactivas debido a la presencia de una capa de electrones de valencia no apareada. Estas moléculas se producen continuamente en las células de organismos aerobios como parte del metabolismo normal del oxígeno y tienen un importante papel en la señalización celular (Hansberg-Torres, 2002).

Las ERO, tales como anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y radical hidroxilo (OH^{\bullet}) se mantienen en un balance, ya que pueden ser neutralizadas por un sistema antioxidante enzimático como la catalasa, la superóxido dismutasa, la glutatión peroxidasa, la hemo-oxigenasa y también numerosos antioxidantes no enzimáticos endógenos, que incluyen vitaminas, glutatión, bilirrubina, etc. Sin embargo, cuando hay alteraciones en el metabolismo celular por una producción exacerbada de ERO o por deficiencias en el sistema antioxidante se puede generar un desequilibrio en el estado redox y dañar a las estructuras celulares, llevando a una situación conocida como estrés oxidante (Evans & Halliwell, 2001).

La producción exacerbada de ERO provoca daños a nivel molecular al reaccionar con lípidos, proteínas y DNA. Así, el estrés oxidante se ha relacionado con diversas patologías, como las enfermedades neurodegenerativas, diabetes, cáncer, e inclusive infecciones (Kandola et al., 2015).

Por otra parte, se ha demostrado que la administración de antioxidantes en modelos animales con daño por estrés oxidante, pueden retardar o detener el daño por las ERO. Por ello, es recomendable el aporte de antioxidantes exógenos a través de la dieta, de suplementos de vitaminas A, C y E, y de minerales como el zinc, el cobre, el magnesio y el selenio, e inclusive por el consumo de plantas medicinales ricas en antioxidantes.

El uso de antioxidantes sintéticos está muy generalizado actualmente, pero existe mucha controversia debido a que algunos presentan problemas de toxicidad, por ello, los antioxidantes naturales obtenidos de plantas medicinales (que se han consumido por el hombre desde hace mucho tiempo) podrían representar una alternativa.

La naturaleza química de los antioxidantes presentes en las plantas es muy variada incluyendo carotenoides, clorofilas, fenoles, flavonoides, esteroides, antocianinas, aminoácidos, etc. Por ello, las plantas son consideradas como una fuente natural e inagotable de antioxidantes. De hecho, el campo de los antioxidantes naturales es muy extenso, ya que también se usan como suplementos alimenticios, ingredientes de cosméticos, alimentos funcionales y conservadores en alimentos para retrasar la oxidación.

3. ANTECEDENTES

3.1. Especies reactivas de oxígeno (ERO)

La mitocondria es la fuente principal de especies reactivas de oxígeno. Este fenómeno se efectúa a nivel de la cadena de transporte de electrones, que es la última etapa de producción de protones de alta energía, y cuyo transporte a través de la membrana interna mitocondrial genera un gradiente eléctrico que aporta la energía necesaria para formar el adenosina trifosfato (ATP). En este proceso de fosforilación oxidativa, el oxígeno actúa como aceptor final de electrones, adquiriendo en más del 95 % de estas reacciones un total de 4 electrones de moléculas con producción de 2 moléculas de agua. Durante el catabolismo se forman varias moléculas con diferente grado de oxidación y producir intermediarios reactivos derivados del oxígeno (Rodríguez et al., 2001).

Las ERO son moléculas que están incompletamente reducidas son más reactivas que el oxígeno y pueden ser o no radicales libres. Los radicales libres se definen como cualquier compuesto capaz de existir independientemente y que contienen uno o más electrones desapareados (cuadro 1) (Cárdenas-Rodríguez, 2006).

Cuadro 1. Especies reactivas de oxígeno

Radicales	No-radicales
Superóxido ($O_2^{\bullet-}$)	Oxígeno singulete (1O_2) forma $^1\Delta$
Hidroxilo ($OH\bullet$)	Peróxido de hidrógeno (H_2O_2)
Peroxilo ($RO_2\bullet$)	Ozono (O_3)
Alcoxilo ($RO\bullet$)	Anión peroxinitrito ($ONOO^-$)
Hidroperoxilo ($HO_2\bullet$)	Ácido hipocloroso ($HOCl$)
	Ácido hipobromoso ($HOBr$)

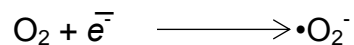
Tomado de Cárdenas-Rodríguez, 2006.

3.1.1 Formación de las especies reactivas de oxígeno

Las ERO son producidas normalmente en las células durante la respiración mitocondrial y la generación de energía, pero son degradadas y eliminadas por los sistemas antioxidantes.

Si bien es necesario el paso de los electrones (e^-) a través de los complejos enzimáticos en la membrana para la generación de un gradiente electroquímico de protones y, por tanto, para producir energía, un efecto indeseado de las reacciones redox que ocurren en la mitocondria es la generación de ERO. De hecho, los principales productores son los complejos I y III de la cadena transportadora de e^- (Macedo-Márquez, 2012).

Las mitocondrias intervienen en la respuesta celular al estrés oxidante; diversos pasos en la ruta de reducción del oxígeno en las mitocondrias tienen el potencial para producir radicales libres muy reactivos que pueden dañar las células. En el paso de (e^-) desde ubiquinol (QH_2) al citocromo *bL* a través del Complejo III y en el paso de e^- desde el Complejo I a QH_2 , interviene el radical ubiquinona ($\bullet Q^-$) como intermediario. El $\bullet Q^-$ puede, con una probabilidad baja, pasar un electrón al O_2 en la reacción:



El radical superóxido libre ($\bullet O_2^-$), así generado es muy reactivo y puede dañar enzimas, lípidos de membrana y ácidos nucleicos. Desde un 0.1% y hasta un 4% del O_2 usado por mitocondrias que respiran activamente forma $\bullet O_2^-$, más de lo que hace falta para tener efectos letales sobre una célula a menos que se elimine rápidamente (Lehninger, 2005).

Aproximadamente entre el 1% y 3% del oxígeno consumido por la mitocondria es convertido en ERO, lo cual hace que dicho organelo sea el responsable de generar el 90% de las ERO intracelulares. Sin embargo, existen otras fuentes endógenas de menor producción, entre las que se encuentran los peroxisomas, la

activación de células fagocíticas y la acción de ciertos sistemas enzimáticos. Ciertas enzimas como la xantina oxidasa, el sistema de detoxificación hepática del citocromo P450, la acil CoA oxidasa, las NADPH/NADH oxidasas y la acil CoA oxidasa son también fuentes endógenas de producción de O_2^- y de H_2O_2 . Las ERO, además, pueden ser generadas en respuesta a estímulos externos, como: citocinas proinflamatorias, factores de crecimiento, toxinas ambientales, luz UV, radiaciones ionizantes, entre otros (Marotte & Zeni, 2013).

3.1.2 Función de las especies reactivas en las células

Las ERO también participan en la regulación de varios procesos celulares; en el caso de mamíferos controlan la secreción y la acción de la insulina, la producción de hormonas de crecimiento, la expresión de citocinas (comunicación entre células), la unión de las proteínas G a sus receptores, diversos factores de transcripción, y regulan a diversos transportadores y canales de iones (Mayorga, 2015).

Es importante resaltar que las ERO son detectadas por moléculas sensoras que transducen la señal para generar una respuesta específica, por ejemplo, induciendo mecanismos de protección o señales apoptóticas (Marotte, 2013). Sin embargo, las ERO resultan nocivas cuando se producen exacerbadamente ya que pueden dañar los constituyentes celulares e inducir la muerte celular. Por ello, las células producen un sistema antioxidante que impide o retrasa la oxidación de las biomoléculas. De hecho, las deficiencias de este sistema pueden provocar diversas alteraciones fisiológicas (Macedo-Márquez, 2012).

3.2 ANTIOXIDANTES

Un antioxidante se define como una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. Los antioxidantes pueden ser de tipo enzimático como: la superóxido dismutasa, la catalasa, la glutatión peróxidasa, la tiorredoxina

reductasa y la glutatión reductasa y no enzimático como el glutatión, la bilirrubina, el tocoferol (Avello & Suwalsky, 2006).

3.2.1 Antioxidantes enzimáticos

Superóxido dismutasa (SOD). Esta enzima cataliza la dismutación de superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno. Existen diversas isoformas por ejemplo la que se encuentra en las mitocondrias, la cual es dependiente de manganeso (Mn-SOD) y dos del citosol las cuales dependen de zinc-cobre (ZnCu-SOD).



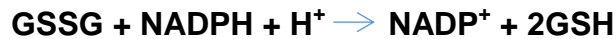
La distribución de las SOD es muy amplia a nivel tisular, con excepción de la Mn-SOD, que no se localiza a nivel eritrocitario; todas ellas ejercen un importante papel en el control de los niveles del radical superóxido a nivel celular (Galván et al, 2008).

Glutatión peroxidasa. El glutatión (GSH), presente en plantas, animales y algunas bacterias, puede ser considerada como un amortiguador de oxidación-reducción. La forma oxidada del glutatión (GSSG), producida en el transcurso de sus actividades redox, contiene dos moléculas de glutatión unidas mediante un puente disulfuro. Esta enzima es notable por la presencia de un residuo selenocisteína, en la que un átomo de selenio reemplaza el átomo de azufre normalmente presente en el tiol de la cadena lateral. Su acción redox también se usa para la eliminación de los peróxidos tóxicos que se forman durante el crecimiento y en el metabolismo en condiciones aeróbicas:

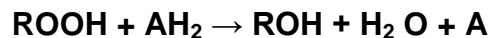


Esta enzima cataliza la reducción de peróxidos empleando dos moléculas de glutatión reducido (GSH). Los productos de la reacción son el glutatión oxidado (GSSG) y el agua (Lehninger, 2005).

Glutatión reductasa. Es una enzima que actúa indirectamente como antioxidante; es una flavoproteína que utiliza NADPH como dador de electrones manteniendo constante los niveles de glutatión reducido (GSH). El GSH es un tripéptido con un grupo sulfhidrilo libre, combate el estrés oxidante y pasa a su forma oxidada (GSSG). Entonces la glutatión reductasa reduce al glutatión (de GSSG a GSH) (Berg et al., 2008).



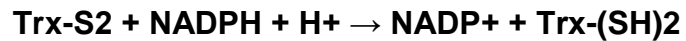
Catalasa (CAT). Esta enzima actúa sobre el peróxido de hidrógeno de forma muy eficaz. La función de la CAT es doble: por un lado cataliza la descomposición de peróxidos de hidrógeno en agua y oxígeno, en tanto que también puede oxidar donadores de hidrógeno como el metano, los fenoles o el etanol con consumo de peróxidos como el H_2O_2 .



Es una enzima ferroporfirínica, cuya localización principal son los peroxisomas (80%) y el citosol, aunque también está presente en las mitocondrias y otros orgánulos. La concentración de CAT varía en las diferentes localizaciones celulares, y entre los distintos tejidos del organismo, por ejemplo es muy abundante y activa en hígado y en eritrocitos (Galván et al, 2008).

Tiorredoxina reductasa (TrxR). Es una selenoproteína que contiene en su penúltimo carbono un residuo de selenocisteína, necesario para su actividad. Existen dos isoformas: la TrxR1 citosólica y la TrxR2 mitocondrial. Las dos

isoformas son homodiméricas con un FAD por subunidad, el cual reduce el grupo disulfuro del sitio activo. Su función es catalizar la reducción del polipéptido tiorredoxina (Trx) (Cárdenas-Rodríguez, 2006):



La tiorredoxina reductasa participa en la regeneración de muchos antioxidantes, incluyendo probablemente a la vitamina C. Mantener la tiorredoxina en su forma reducida a través de la tiorredoxina reductasa es importante para la regulación del crecimiento celular y su viabilidad (Mustacich & Powis, 2000).

3.2.2 Antioxidantes no enzimáticos

Los antioxidantes no enzimáticos se clasifican en dos grupos, dependiendo de su solubilidad en agua (hidrofílicos) o en lípidos (hidrofóbicos). En general los antioxidantes hidrofílicos reaccionan con los oxidantes del citoplasma y el plasma sanguíneo, mientras que los antioxidantes liposolubles protegen a las membranas contra la lipoperoxidación (Zamora, 2007). Los diferentes antioxidantes están presentes en una amplia gama de concentraciones en fluidos corporales y tejidos, algunos tales como el glutatión o la ubiquinona mayormente presente dentro de las células, mientras que otros como el ácido úrico se distribuyen más uniformemente a través del cuerpo (Delgado-Olivares et al., 2010).

Otra clasificación útil de los antioxidantes es como endógenos (cuadro 2), los cuales son todas aquellas moléculas sintetizadas en el organismo, mientras que los exógenos son los que ingerimos. En cuadro siguiente se enlistan endógenos de tipo enzimático y no enzimático.

Cuadro 2. Antioxidantes endógenos

Antioxidantes enzimáticos	Función
Superóxido dismutasa	Dismuta radicales superóxido
Glutation peróxidasa	Elimina el peróxido de hidrógeno y los hidroperóxidos orgánicos
Catalasa	Elimina peróxido de hidrógeno
Antioxidantes no enzimáticos	Función
Vitamina E	Principal antioxidante presente en la membrana celular
Vitamina C	Efecto eliminador de radicales y recicla la vitamina E
Ácido úrico	Su efecto es eliminar los radicales hidroxilo
Glutación	Tiene varios efectos en la defensa antioxidante celular
Ácido lipoico	Sustituto eficaz del glutación
Bilirrubina	Producto del metabolismo del grupo hemo de la hemoglobina y tiene efecto antioxidante a nivel extracelular
Ubiquinonas	Derivado de quininas lipídicas solubles, cuyas formas reducidas tienen efectos eficaces como antioxidantes

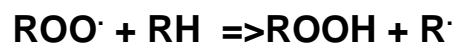
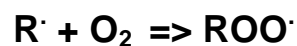
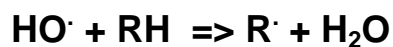
Tomado de Zamora, 2007.

3.3 ESTRÉS OXIDANTE

Cuando el sistema antioxidante celular no es suficiente para eliminar la producción exacerbada de ERO por deficiencia en el sistema o por influencia externas como las radiaciones electromagnéticas o fármacos se puede generar el desequilibrio en el estado redox.

El estrés oxidativo se describe como una situación en la cual las defensas antioxidantes son insuficientes para inactivar completamente a las especies reactivas de oxígeno. Este desequilibrio entre la producción y la neutralización de ERO, puede afectar los componentes celulares, incluyendo lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos. Muchos de los cambios que ocurren durante el envejecimiento y durante la progresión de ciertas enfermedades son una consecuencia del estrés oxidante. El daño a los constituyentes celulares, puede llevar a la pérdida total o parcial de las funciones celulares y provocar la muerte (Irazusta, 2008). Las tres reacciones más relevantes que provocan daño celular por estrés oxidante son:

- **La lipo-peroxidación de las membranas.** Los Lípidos representan al grupo más susceptible a reaccionar con los RL debido a la presencia de dobles enlaces en los ácidos grasos insaturados, evento denominado lipoperoxidación (LPx). Los RL que pueden iniciar esta reacción son: el radical hidroxilo ($\text{HO}\bullet$), el peroxilo ($\text{ROO}\bullet$), el alcoxilo ($\text{RO}\bullet$) y el alquílico ($\text{R}\bullet$). Proceso químico donde ocurren las reacciones:



Sobre ácidos grasos insaturados. Los grupos -OOH de los hidroperóxidos (ROOH), localizados en carbonos terciarios en medio de la cadena hidrocarbonada de los ácidos grasos insaturados de las membranas biológicas llevan a una distorsión de su espacio hidrofóbico y a una pérdida de su función biológica. La acumulación de grupos hidroperóxido en carbonos alílicos lleva a su vez a la ruptura de la cadena carbonada y a la formación de malonaldehído ($\text{COH-CH}_2\text{-CHO}$) que es un indicador de la ocurrencia de lipoperoxidación (Milei et al, 2006).

- **Nitración y carbonilación de proteínas.** Los grupos carbonilo pueden ser introducidos en las proteínas en diferentes sitios y por diversos mecanismos. Este tipo de modificaciones se producen habitualmente por el ataque del radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$), que puede ser originado por radiación ionizante o por la reacción de cationes metálicos con el peróxido de hidrógeno (H_2O_2 , reacción de Fenton). También otros mecanismos que pueden dar lugar a la carbonilación proteica es la reacción generada durante la peroxidación lipídica; este tipo de reacción denominada “Adición de Michael”, conlleva la adición de grupos aldehídos reactivos a las cadenas laterales de los residuos de cisteína, histidina o lisina (Irazusta et al, 2008). La nitración de proteínas es una modificación post-traducciona mediada por especies de nitrógeno reactivo (ENR) que ha sido asociada a situaciones de estrés nitro-oxidante tanto en células animales como vegetales (Begara-Morales et al, 2012).
- **Fragmentación del ADN.** Las reacciones de los radicales libres con la timina en el ADN nuclear y mitocondrial producen roturas en las cadenas sencillas. Se ha implicado este daño del ADN en la muerte, envejecimiento y transformación maligna de las células (Kumar et al, 2008).

3.4 ENFERMEDADES ASOCIADAS AL ESTRÉS OXIDANTE

Varios estudios demuestran que las especies reactivas de oxígeno (ERO) y nitrógeno (ERN) contribuyen para la patogénesis de agravamientos cardiovasculares, como hipertensión, arterosclerosis, hipertrofia y falla cardíaca, además de lesiones derivadas de isquemia y reperfusión. Múltiples sistemas enzimáticos producen ERO-ERN y sus derivados en la vasculatura, incluyendo ciclooxigenasa, lipoxigenasa, citocromo P450, xantina oxidasa (XO), mieloperoxidasa (MPO), óxido nítrico sintasa (NOS) y NADPH oxidasa, esta última una de las más importantes fuentes de estas sustancias, tanto en las células endoteliales como musculares lisas (Rabêlo et al, 2010).

- **Enfermedades respiratorias**

Entre las enfermedades pulmonares donde se ha demostrado la participación de ERO en el daño pulmonar destacan el síndrome de insuficiencia respiratoria progresiva, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y el asma (Sierra et al, 2004).

El asma es un padecimiento inflamatorio crónico de las vías respiratorias que provoca la generación excesiva de ERO y especies reactivas de nitrógeno (ERN) (Hicks-Gómez et al, 2005). Durante la ventilación pulmonar se inhalan agentes contaminantes de diversas fuentes, como gases y partículas suspendidas de diversos diámetros aerodinámicos y composición química. Además del ozono (O_3) y de los radicales libres dióxido de nitrógeno (NO_2), hidroxilo (HO) y óxido nítrico (NO) presentes en la fase gaseosa, se han descrito otros radicales relativamente estables en las partículas suspendidas, como son los casos de semiquinonas derivadas de varias quinonas e hidroquinonas. Otro de los contaminantes importantes del aire lo constituye el humo del cigarrillo, que contiene 1×10^{16} oxidantes por bocanada, entre los que se encuentran: aldehídos, epóxidos, peróxidos, óxidos de nitrógeno, radicales peróxilo (R-COO), radicales de carbono (R_3C) y de nitrógeno que incluyen principalmente al óxido nítrico (NO) con la suficiente vida media para alcanzar el espacio alveolar (Sierra et al, 2004).

Se sabe que la exposición excesiva a ERO, como sucede a los fumadores, puede provocar estrés oxidante generando daño a proteínas esenciales, peroxidación lipídica, ruptura de cadenas en el ADN, modificación de sus bases, aumento intracelular anormal de Ca^{2+} libre y, en ciertos casos, apoptosis o necrosis (Gutiérrez, 2003).

- **Cáncer**

El desarrollo tumoral es un proceso altamente complejo caracterizado por la presencia de necrosis celular del tejido sano, crecimiento incontrolado de las células cancerosas, neovascularización del área afectada para asegurar el aporte de oxígeno y nutrientes al tumor, entre otros muchos fenómenos. Las ERO estimulan el crecimiento de las células musculares lisas, lo que sugiere un papel del estrés oxidante en la neovascularización tumoral o angiogénesis. Además la transformación oncogénica viene condicionada por la presencia de genes mutados u oncogenes que controlan funciones celulares clave, y esto también puede influenciarse por el estado redox celular. Se han detectado niveles disminuidos de enzimas antioxidantes en diversos tipos de células tumorales así como alteraciones en el estado de los tioles celulares (Elejalde, 2001).

- **Enfermedades neurodegenerativas**

Si bien la totalidad de las células aeróbicas son susceptibles de sufrir los efectos del estrés oxidante, el cerebro de los mamíferos es todavía más vulnerable a la acción nociva de los ERO. Una de las razones es su alto consumo de oxígeno. En los humanos el cerebro representa una fracción reducida del peso corporal, sin embargo, su consumo de oxígeno es aproximadamente el 20% del oxígeno total del cuerpo y tiene una tasa metabólica alta, por lo que es un tejido fácilmente oxidable (Cerdá et al, 2010). Estas condiciones justifican la importancia de la presencia de antioxidantes en el cerebro, que son necesarios para mantener el equilibrio redox.

El Alzheimer, se caracteriza por la pérdida progresiva de neuronas asociada con la agregación de placas de la proteína β -amiloide y marañas neurofibrilares de la proteína de unión a microtúbulos. Una de las hipótesis actuales con respecto a la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer está relacionada con la mitocondria y el estrés oxidante (Sánchez-Valle & Méndez-Sánchez, 2013). Se ha

estudiado la interacción de los antioxidantes con ésta enfermedad, entendiendo que las neuronas son sumamente vulnerables al daño mediado por los RL afectando al envejecimiento cerebral y relacionándose con la patogénesis de la misma (Zamora, 2001).

Beneficios de los productos naturales

Un desequilibrio en el estado redox puede revertirse por la ingesta de nutrientes o infusiones ricas en antioxidantes. De hecho, la administración de suplementos con antioxidantes puede retrasar o inclusive revertir daño por desequilibrio redox, por ello podría ser una alternativa como terapia complementaria para algunas enfermedades relacionadas con las ERO (Conti et al, 2016). Particularmente, las plantas son una fuente inagotable de compuestos bioactivos que proporcionan beneficios a la salud. De hecho son la base de la medicina tradicional en todo el mundo, muchos fármacos que se usan hoy en día son aislados de plantas. Estudios de etnobotánica y etnofarmacología ayudan en la identificación de las especies de plantas con potencial farmacológico, por ello el estudio de la actividad antioxidantes de las plantas medicinales puede ser la base para el descubrimiento de nuevas biomoléculas activas (Costa et al., 2015).

3.5 PLANTAS MEDICINALES

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a las plantas medicinales como cualquier especie vegetal que contienen sustancias que pueden ser empleadas para propósito terapéutico o cuyos principios activos pueden servir de precursores para la síntesis de nuevos fármacos. Se calcula que aproximadamente el 85% de las personas que habitan regiones menos desarrolladas utilizan las plantas como tratamiento para aliviar diversas enfermedades (Farnsworth et al., 2015) y que al menos 35,000 especies vegetales presentan potencial para uso medicinal (García de Alba García et al., 2012).

La investigación sobre el uso de plantas medicinales forma parte de la Etnobotánica, que ha sido definida como el estudio de las interrelaciones entre los grupos humanos y las plantas. Por su naturaleza interdisciplinaria abarca muchas áreas, incluyendo: botánica, química, medicina, farmacología, toxicología, nutrición, agronomía, ecología, sociología, antropología, lingüística, historia y arqueología, entre otras; lo cual permite un amplio rango de enfoques y aplicaciones (Bermúdez et al., 2005). Los estudios sobre el uso prehispánico de las plantas se enfocan usualmente en dos aspectos: el primero es el proceso de domesticación de las especies; el segundo es la descripción de los usos de las plantas encontradas en los manuscritos elaborados a la llegada de los españoles. A este respecto, existen cuatro fuentes importantes del siglo XVI que ilustran el conocimiento en este momento: 1) el Códice Florentino o Historia General de las cosas de la Nueva España, de Fray Bernardino de Sahagún, describe las propiedades de las plantas en su libro undécimo; 2) el Códice Cruz-Badiano o *Libellus de medicinalibus indorum herbis*, de Martín de la Cruz y Juan Badiano, documenta las hierbas medicinales de los indios; 3) la Historia Natural de la Nueva España, de Francisco Hernández, registra principalmente las plantas medicinales y 4) las Relaciones Geográficas, son escritos solicitados por el rey de España, en donde se describen las regiones y hacen referencia de algunas plantas utilizadas (Vázquez-Alonso et al., 2014).

En México existe una extensa variedad de tratamientos fitoterapéuticos que forman parte de la herbolaria tradicional mexicana (Taddei-Bringas et al., 1999). De hecho, somos el segundo lugar a nivel mundial por el número de plantas medicinales registradas. Tanto en los países desarrollados como en los que están en vías de desarrollo, el uso y la comercialización de fitofármacos y productos naturales con fines medicinales muestran un crecimiento acelerado en los últimos años (García de Alba García et al., 2012).

Los principios activos de las plantas dependen de diversos factores: época del año, característica del terreno donde se cultiva y el tipo de compuestos químicos a los que se encuentre sometida la planta (infecciones por hongos, bacterias, administración de abono, sustrato, humedad). Por ello, es importante determinar estudios exhaustivos sobre la actividad biológica de cada planta para poder documentar sus principios activos y con base en ello el tipo de beneficios a la salud (cuadro 3).

Cuadro 3. Los principios químicos de las plantas

Compuesto	Función principal
Flavonoides	<p>Pigmentos naturales que se encuentran en los vegetales y protegen al organismo del daño causado por agentes oxidantes (rayos ultravioletas, contaminación, ciertos alimentos). Se destacan por sus propiedades:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Antioxidantes: tienen una alta capacidad para neutralizar los radicales libres e impedir los efectos que se producen sobre el organismo. ○ Anticancerosas: inhiben el crecimiento de células cancerosas. ○ Antiinflamatorias y analgésicas ○ Antimicrobianas: la mayoría tiene propiedades antivirales, antifúngicas y antibacterianas.
Taninos	<p>Son compuestos polifenólicos muy astringentes y de sabor amargo. Desde la antigüedad han sido utilizados por sus propiedades: los egipcios utilizaban los frutos de la acacia para curtir pieles. Se pueden diferenciar varios tipos: hidrolizables y condensados.</p> <p>Los taninos proporcionan a las plantas las siguientes propiedades medicinales:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Antioxidante: tienen capacidad de eliminar los radicales libres. ○ Antídoto contra venenos: inhiben la absorción de los alimentos en el tubo digestivo, por lo que se utilizan como contraveneno neutralizando los principios del veneno. ○ Antibacteriana: tienen función antibacteriana al privar al organismo del medio idóneo para reproducirse.
Saponinas	<p>Son glucósidos vegetales caracterizados por producir espuma cuando entra en contacto con el agua y emulsionan el aceite en el agua, además de poseer un efecto hemolítico. Algunas de estas plantas han sido utilizadas como jabón natural (<i>Saponaria officinalis</i>).</p>
Vitaminas y Minerales	<p>Las vitaminas son compuestos heterogéneos que no son sintetizados por el organismo (a excepción de la vitamina</p>

	<p>D), por lo que deben ser obtenidos a través de la ingesta de alimentos o bien de productos realizados por síntesis. Son nutrientes esenciales para la vida.</p> <p>Las vitaminas son 13 y se pueden clasificar dependiendo de su solubilidad, bien en agua o en lípidos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Hidrosolubles: se disuelven en agua, al no almacenarse en el cuerpo han de ingerirse diariamente. ○ Liposolubles: son aquellas que se disuelven en grasa almacenándose en la grasa corporal especialmente en el hígado.
Alcaloides	<p>Son sustancias orgánicas nitrogenadas con acción fisiológica energética (medicinal o venenosa) como la cafeína, nicotina o morfina. Por tratarse de sustancias peligrosas (son venenos vegetales muy activos), dependiendo de la dosis, pueden curar enfermedades pero también un uso inadecuado en cantidades incorrectas puede causar intoxicaciones graves e incluso ocasional la muerte.</p>
Ácidos grasos esenciales	<p>Los ácidos grasos esenciales son un grupo de ácidos grasos que el organismo no puede producir por lo que tienen que ser ingeridos a través de los alimentos. Podemos diferenciar varios tipos de ácidos grasos esenciales:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ <i>Ácidos grasos esenciales omega-3</i> (ácido linolénico): tienen propiedad antiartrítico, antiesclerótica, hipocolesterolemico, antiinflamatoria, antiprostático, hepatoprotector, etc. Los podemos encontrar en el nogal, aguacate, lino, ajonjolí, cacahuete, girasol, soja, almendro. ○ <i>Ácidos grasos esenciales omega-6</i> (ácido linoleico): lo podemos encontrar en el nogal, aguacate, girasol, ajonjolí, trigo.
Glucósidos	<p>Son derivados de azúcares que se hidrolizan al contacto con una enzima. Podemos diferenciar:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Glucósidos cianogenéticos ○ Glucósidos cardiacos
Grasas	<p>La grasa es una sustancia formada por carbón, hidrógeno y oxígeno que no es soluble en agua. Se encuentra formada por combinaciones de glicerina con ácidos grasos.</p> <p>Las principales funciones son:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Proteger los órganos. ○ Metabolizar las vitaminas liposolubles (A, E, K y D). <p>Podemos diferenciar dos tipos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Grasas saturadas ○ Grasas insaturadas
Fibra	<p>Es la parte del vegetal que constituye el esqueleto de sostén de la planta y no puede ser ingerido por el organismo humano. Podemos encontrarlo preferiblemente en el exterior de las semillas y de los frutos secos, frutas, legumbres y cereales integrales.</p>

	<p>La fibra es un carbohidrato complejo, se distinguen varios tipos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Fibra soluble ○ Fibra insoluble
--	---

(Pablo-Hernández, 2010)

Las plantas pueden ser utilizadas por sus propiedades y principios medicinales pero hay que tener en cuenta, que también puede tratarse de un perjuicio para la salud, como cualquier otro tipo de medicamento, es importante que la utilización de plantas medicinales se realice con moderación y precaución, siguiendo siempre los consejos del fitoterapeuta o naturópata (Pablo-Hernández, 2010).

Plantas medicinales utilizadas en esta investigación

A continuación se enlistan las plantas que se utilizaron en este trabajo y se menciona su clasificación y se describen sus características, así como su distribución en nuestro país.

3.5.1 *Euphorbia dioeca* Kunth

Información Taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Malpighiales

Familia: Euphorbiaceae

Género: Euphorbia

Especie: *Euphorbia dioeca* Kunth

Euphorbia dioeca Kunth = *Chamaesyce dioeca* (Kunth) Millsp., es una sinonimia ya que la taxonomía de la familia Euphorbiaceae es compleja, (figura 1).

Nombre(s) común(es): Alfombrilla, golondrina (México, Guatemala), hierba de la golondrina, golondrina serrana.

Usos: Su principal propiedad es como antiespasmódico. En Oaxaca, se emplean las hojas en infusión, administrada en forma oral. Además, se emplea contra hemorragias, en Yucatán y como antiséptico, en Oaxaca (BDMTM-UNAM, 2009).

Descripción botánica: Hierba, rastrera; las ramas de hasta 30 cm de largo; varios tallos saliendo desde la base, ramificados, rastreros; hojas opuestas, de hasta 8 mm de largo, oblongas, asimétricas, con el margen finamente aserrado, ondulado o entero, la base fuertemente asimétrica, generalmente con escasos tricomas; posee inflorescencias llamadas ciatos, las flores agrupadas hacia los extremos de las ramas y en las axilas de las hojas, inflorescencias que en su interior lleva de 5 a 15 flores masculinas (representadas exclusivamente por 1 estambre desnudo por cada flor) y una flor femenina (con un ovario con 3 estilos, cada uno dividido en 2 ramas), estos ciatios son en forma de copa, de color verde o rojizo, de aproximadamente 1 mm de alto, en su borde presenta 4 glándulas que se extienden en estructuras planas parecidas a pétalos de color blanquecino, rosa o rojo oscuro, 2 de ellas son evidentemente más grandes que las otras; el fruto es una cápsula trilobada, de aproximadamente 1.5 mm de largo, cubierta de pelillos reclinatorios, que al madurar se separa en 3 partes y cada una se abre para dejar salir su única semilla; las semillas de color rosa o café, con la superficie surcada (CONABIO).

Distribución: En México en los estados de Campeche, Chiapas, Guerrero, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Nayarit, Oaxaca, Querétaro, Quintana Roo, Veracruz y Yucatán, también se encuentra en Centroamérica.

Hábitat: Selva alta caducifolia, selva alta perennifolia, selva mediana subperennifolia, bosque de pino-encino, bosque de pino, matorral, dunas costeras, sabana, pastizal, chaparral.

Fenología: En el centro de México florece de junio a noviembre (Rzedowski, 2001).

En la tesis “Evaluación fitoquímica y farmacológica de *Euphorbia dioeca* Kunth (Euphorbiaceae) para el control de enfermedades crónico–degenerativas” (Cristians-Niizawa, 2006), se utilizaron extractos hexánico, diclorometánico, metanólico y acuoso, se realizaron pruebas de citotoxicidad en líneas celulares tumorales, evaluando el efecto de los extractos en carcinoma nasofaríngeo, carcinoma de colon y carcinoma de cérvix, donde ninguno de los extractos de *E. dioeca* presentó un efecto citotóxico. Los extractos metanólico y acuoso no produjeron alteraciones fisiológicas o conductuales al evaluarlos a través de la prueba de toxicidad aguda. De igual manera se realizó curva de tolerancia al almidón utilizando ratas cepa Long Evans diabetizadas, evaluando los extractos metanólico y acuoso. Los principios activos responsables de la actividad inhibitoria de α -glucosidasas se encuentran posiblemente relacionados con la presencia de compuestos fenólicos, dando como resultado una propuesta de la planta *E. dioeca* como una planta potencial en la elaboración de un fitofármaco para el control de la diabetes mellitus tipo 2 (Cristians-Niizawa, 2006). Sin embargo, no se han encontrado estudios que corroboren su actividad antioxidante.

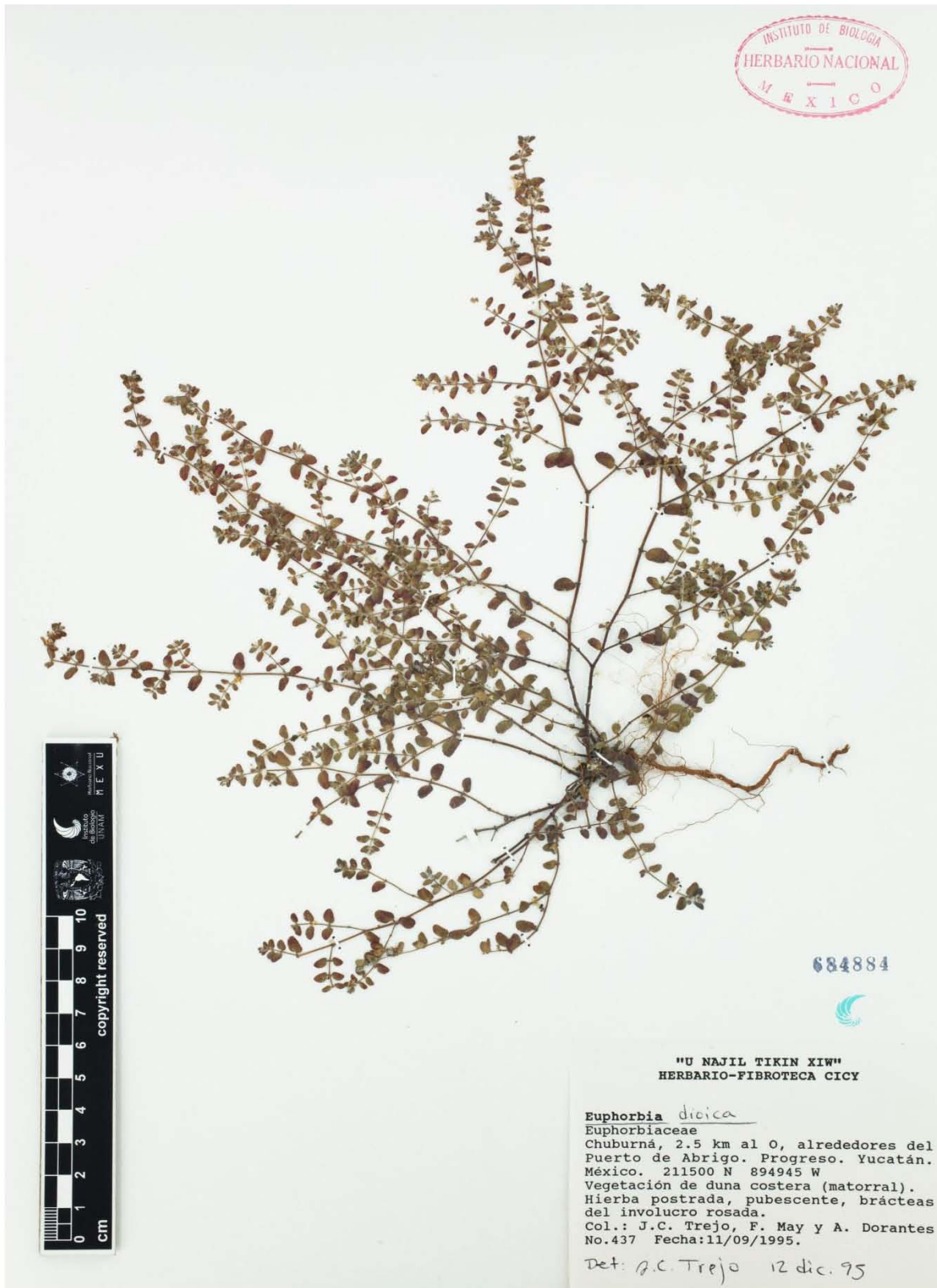


Figura 1. Departamento de Botánica, Instituto de Biología (IBUNAM), *Euphorbia dioeca* Kunth, ejemplar de: Herbario Nacional de México (MEXU), Plantas vasculares.

3.5.2 *Gnaphalium oxyphyllum* DC.

Información Taxonómica:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Gnaphalium*

Especie: *Gnaphalium oxyphyllum* DC.

En: The Plant List = *Pseudognaphalium oxyphyllum*

Nombre(s) común(es): Gordolobo, también es conocido con el nombre náhuatl de *tzonpotonic* (Linares, 1999), (BDMTM-UNAM, 2009).

Usos: Se utiliza tradicionalmente para curar la tos, el empacho, los dolores de vientre, así como para quitar la flatulencia y provocar el sudor, también para aliviar el dolor de pecho ocasionado por la bronquitis. Para curar a niños se hierve en leche; para adultos, se hace un cocimiento en agua. Se toma de preferencia antes de acostarse, por que provoca la sudoración. Se emplea para enfermedades del aparato respiratorio. Se utilizan los tallos, las hojas y flores (de preferencia). Se emplean frescas y secas (Linares, 1999).

Descripción botánica: Hierba perenne, lanosa o glandular de 20 a 80 cm de altura; tallos erectos o procumbentes finamente blanco-vellosos; hojas simples, alternas, bicoloras, lineares a oblongas, lanceoladas u obovadas pubescentes en ambas caras, margen entero, sésiles a veces decurrentes; cabezuelas agrupadas en cimas o corimbos; involucre cilíndrico a globoso, con las brácteas escariosas, pluriseriadas, imbricadas, de color blanquecino, amarillento, café o rojizo, lanosas o glabras, hialinas, brillantes u opacas; receptáculo plano, convexo o semicónico,

desnudo; flores dimorfas, simpétalas, corola de color amarillo, café, verdoso-blanquecino, blanco o rojizo-purpúreo, ovario ínfero; las periféricas femeninas, numerosas, en 2 a muchas series, corola filiforme, 3 a 4 dentada; las del disco bisexuales, pocas corola tubulosa, 5-dentada; frutos aquenios de 0.5 a 1.5 mm de largo elípticos, oblongos u obovados, cilíndricos o comprimidos con el vilano de pelos o cerdas capilares, delgados, uniseriados, a veces unidos en la base, (figura 2).

Distribución: Planta mexicana de amplia distribución (Linares, 1999).

Habitat: Pastizales abiertos, colinas rocosas, sombra parcial en bosques de roble fino, también en lugares más húmedos en suelos profundos de bosque de pinos, pino-roble o el bosque de abetos. Entre los 1900-2700 m.s.n.m. (McVaugh, 1984). Climas templados (Jiménez-Merino, 2011).

Fenología: Florece de septiembre a diciembre (McVaugh, 1984).

Diversos estudios han corroborado su actividad bactericida de diversas especies de *Gnaphalium* (Xing et al., 2013), incluyendo a *G. oxyphyllum* (Villagómez-Ibarra et al., 2001), se han probado con eficacia en *Staphylococcus aureus.*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* (Rojas et al., 2001). Sin embargo, no hay estudios que determinen la actividad antioxidante de dicha especie.



Figura 2. Departamento de Botánica, Instituto de Biología (IBUNAM), *Gnaphalium oxyphyllum* DC., ejemplar de: Herbario Nacional de México (MEXU), Plantas vasculares.

3.5.3 *Piscidia grandifolia* (Donn.Sm.) I.M. Johnston

Información Taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Género: *Piscidia*

Especie: *Piscidia grandifolia* (Donn. Sm.) I.M. Johnston

En The Plant List = *Derris grandifolia* Donn.Sm. (figura 3).

Nombre(s) común(es): Zopilocuabo, mata piojo, barbasco, chijol, habín, llorasangre, papaché, palo de zope, zopilote.

Usos: Se utiliza como remedio para el dolor de muelas, posee efecto desinflamatorio, sedante (Matias-Lozada, 2013).

Algunos campesinos emplean la corteza como abortivo en humanos y ganado vacuno. Otros usos medicinales son contra asma, bronquitis, cefalea, delirio, insomnio, histeria, neuralgia, tos ferina y rabia.

Descripción botánica: Son árboles de hasta 20 m de alto; los tallos jóvenes tomentulosos, glabrescentes. Folíolos 9–13, elípticos a obovados, de 4–20 cm de largo y 2–13 cm de ancho, ápice obtuso a subagudo, a veces mucronado, base redondeada a aguda, haz glabrescente, envés tomentoso; estípulas ovadas, 7–8 mm de largo y 4–8 mm de ancho. Las inflorescencias en forma de espigas axilares, con flores 15–18 mm de largo; cáliz 7–8 mm de largo, tomentuloso, lóbulos agudos; los pétalos blancos a rosados, estandarte glabro por

fuera. Frutos 4–15 cm de largo (incluyendo el estípite 5–15 mm de largo) y 1.5–4 cm de ancho (incluyendo las alas de 5–15 mm de ancho y el cuerpo seminífero de 6–10 mm de ancho), tomentosos o velutinos; semillas (1–) 2–7 (–8), 12–13 mm de largo y 5 mm de ancho, café-rojizas.

Distribución: originario del Sur de Florida, México, Guatemala y Honduras, se distribuye hasta el Norte de América del Sur; a una altitud de 1000–1500 m.s.n.m.

Hábitat: Bosques húmedos, semideciduo o de pino-encino

Se demostró el efecto anestésico del extracto acuoso de *Piscidia grandifolia* (Matias-Lozada, 2013). De igual manera se corroboró el efecto repelente contra el piojo *Pediculus humanus var.capitis*, siendo el extracto acuoso el de mayor eficacia (Reyes-Ruíz, 2014).

No se encontraron estudios previos que indiquen actividad antioxidante.



Figura 3. Departamento de Botánica, Instituto de Biología (IBUNAM), *Piscidia grandifolia* (Donn. Sm.) I. M. Johnston, ejemplar de: Herbario Nacional de México (MEXU), Plantas vasculares.

3.5.4 *Tillandsia imperialis* E. Morren ex Mez

Información Taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Poales

Familia: Bromeliaceae

Género: *Tillandsia*

Especie: *Tillandsia imperialis* E. Morren ex Mez

Nombre(s) común(es): Pitaya, súchil (Veracruz), tencho (Puebla), lirio, tinaja, kets tekum, tonux kux, tecolote (Jiménez-Merino, 2011).

Usos: Se utilizan las hojas para tratar enfermedades respiratorias como la tos ferina y la tos (Vite-Posadas et al., 2011).

Descripción botánica: (figura 4). Hierbas arrosetadas, epífitas, en floración de 35-70 cm de alto; las rosetas tipo tanque de hasta 45 cm de diámetro en su parte más ancha, solitarias, acaules; hojas numerosas, las vainas pardas-purpúreas en ambas caras, pero más notablemente en el haz, anchamente oblongas a ovadas, de 7-20 cm de largo, 5-10 cm de ancho, densamente punctulado-lepidotas en ambas superficies; las láminas verdes, largamente triangulares a triangulares, de 13-35 cm de largo, 2.5-5.5 cm de ancho en la base, punctulado-lepidotas en ambas superficies, acuminadas, erectas a erecto-extendidas; inflorescencias terminales, erectas compuestas, 2-pinnadas, con 10-20 espigas; en el escapo cilíndrico, de 12-15 cm de largo, 10-12 mm de diámetro, inconspicuo, totalmente cubierto por las hojas; brácteas del escapo foliáceas, similares a las hojas, pero más pequeñas, reduciéndose en tamaño hacia el ápice del escapo, las espigas aplanadas, elípticas, de 67.5 cm de largo, 2.8-3.2 cm de ancho, cortamente pedunculadas; los pedúnculos alrededor de 1 cm de largo; brácteas primarias

rojas, a veces con el ápice verde, cortamente foliáceas a vaginiformes, ampliamente ovadas a ovadas, de 6.5-15 cm de largo, 5-7 cm de ancho, más largas que los entrenudos y cubriendo totalmente a las espigas, imbricadas, acuminadas; brácteas florales verdes en la base y rojas en el ápice, elípticas, de 5-6 cm de largo, 2-2.8 cm de ancho cuando desdobladas y aplanadas, más largas que los entrenudos, imbricadas, ligeramente nervadas, carinadas, glabras externamente, densamente punctuladonadas, glabras externamente, densamente punctuladolepidotas internamente, agudas; flores dísticas, erectas, 3-5 por espiga, actinomorfas, tubiformes, sésiles; sépalos verdes, elípticos a elíptico-oblongos, de 3-3.5 cm de largo, 7-9 mm de ancho, glabros externamente, agudos a cortamente acuminados en el ápice, los dos posteriores carinados, cortamente connados en la base; pétalos libres, violetas en su tercio apical, blancos en sus dos tercios basales, oblongo-espátulados, de 6-7 cm de largo, 6-7 mm de ancho, redondeados en el ápice; estambres subiguales, más largos que los pétalos; los filamentos, filiformes, de 5-7 cm de largo; las anteras amarillas, lineares, de 10-13 mm de largo, 3-4 mm de diámetro; el estilo blanco, linear, de 6-7 mm de largo; el estigma violeta. Cápsula verde, fusiforme, rostrada, de 2.8-3.2 cm de largo, alrededor de 7 mm de diámetro; semillas pardas-rojizas a pardas oscuras, fusiformes, alrededor de 3.5 mm de largo, con un apéndice plumoso blanco, alrededor de 2.1 cm de largo (Vázquez-Torres et al., 2010).

Distribución: especie endémica de México, se ha encontrado en Querétaro, Hidalgo, Puebla, Oaxaca, Veracruz, Guatemala, Honduras y El Salvador (Vázquez-Torres et al., 2010).

Hábitat: Esta planta epífita de *Quercus*, *Pinus* y *Fagus*, crece en zonas con bosques caducifolios, de encino y de pino-encino, en altitudes entre los 800-2500 m.s.n.m. Clima: templado húmedo (Jiménez-Merino, 2011).

Fenología: Con excepción de diciembre a febrero, florece prácticamente todo el año (Vázquez-Torres, 2010).

Se ha demostrado que *Tillandsia imperialis* posee efectos antimicrobianos sobre *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Streptococcus pyogenes* (ATCC 08668), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Streptococcus faecalis* (ATCC 29212), *Salmonella Typhi* (ATCC 06539), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883) y *Candida albicans* (ATCC 10231). De igual manera se corroboró su efecto antimicrobiano sobre patógenos de vías respiratorias como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* (Vite-Posadas et al., 2011). Sin embargo, no hay estudios que hablen de su actividad antioxidante.



Figura 4. Departamento de Botánica, Instituto de Biología (IBUNAM), *Tillandsia imperialis* E. Morren ex Mez, ejemplar de: Herbario Nacional de México (MEXU), Plantas vasculares.

4. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad el 20% de la población tiene acceso a los medicamentos de primera línea debido a sus elevados costos, por lo cual se recurre al uso de las plantas medicinales como medio para combatir las enfermedades, ya que han sido utilizadas desde hace mucho tiempo, transmitiendo ese conocimiento de generación en generación por miles de años. Por ello es importante dar a conocer su eficacia mediante métodos científicos que corroboren su importancia en la medicina tradicional mexicana.

5. OBJETIVO GENERAL

Obtener los extractos metanólicos de las plantas consideradas para determinar su actividad antioxidante.

5.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Obtener los extractos de las plantas seleccionadas mediante una extracción sólido-líquido en el sistema Soxhlet.
- Determinar la actividad antioxidante de los extractos obtenidos, mediante ORAC.

6. METODOLOGIA

6.1 Selección y recolección de las plantas medicinales

Para este trabajo se seleccionaran cuatro plantas mexicanas con reportes etnobotánicos de uso medicinal tradicional. El hecho de tratarse de plantas empleadas por la población rural durante años sugiere ausencia de toxicidad.

Primero se realizó la recolección de las plantas y posteriormente se realizó la identificación y la descripción del material colectado en el laboratorio de taxonomía vegetal de la Facultad de Ciencias, Ciudad Universitaria.

6.1.1 *Euphorbia dioeca* Kunth

La colecta se llevó a cabo en el mes de agosto de 2004 por Sol Cristians Niizawa, en la localidad de Playa la Trocha, municipio de Alvarado, Veracruz (18°47'17.5"N, 95°45'17.5"). Los ejemplares se depositaron en el Herbario de la Facultad de Ciencias (FCME # 089182 y # 089184), así como en el Herbario del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSSM #14967).

6.1.2 *Gnaphalium oxyphyllum*. DC.

La colecta fue realizada por María del Pilar Villanueva Bahena, en La Riconada, Tepeapulco, Hidalgo, a principios de noviembre de 2010, en matorral xerófilo a una altura de 2500 msnm. Se depositaron tres ejemplares en el Herbario del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSSM) con los respectivos folios: 15678, 15679, 15680.

6.1.3 *Piscidia grandifolia* (Donn.Sm.) I.M.Johnston

Fue colectada en el estado de Guerrero en la localidad de Xochipala, por el M. en C. Armando Gómez Campos de la Facultad de Ciencias, UNAM, en el mes de enero del 2013. Se depositó un ejemplar en el Herbario del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSSM) con el número 15527.

6.1.4. *Tillandsia imperialis* E. Morren ex Mez

El material vegetal procedió de plantas adultas compradas por José Alejandro Vite Posadas, en la Central de Abastos, al oriente de la Ciudad de México, entre los meses de febrero y abril de 2004, el cual provenía del estado de Veracruz, según la información proporcionada por los vendedores. Se depositó un ejemplar con el número de registro del herbario de la UAM-Iztapalapa (UAMIZ) 55702.

6.2 Obtención de los extractos

A continuación se muestra un diagrama de flujo del proceso que se llevó a cabo para la obtención de los extractos

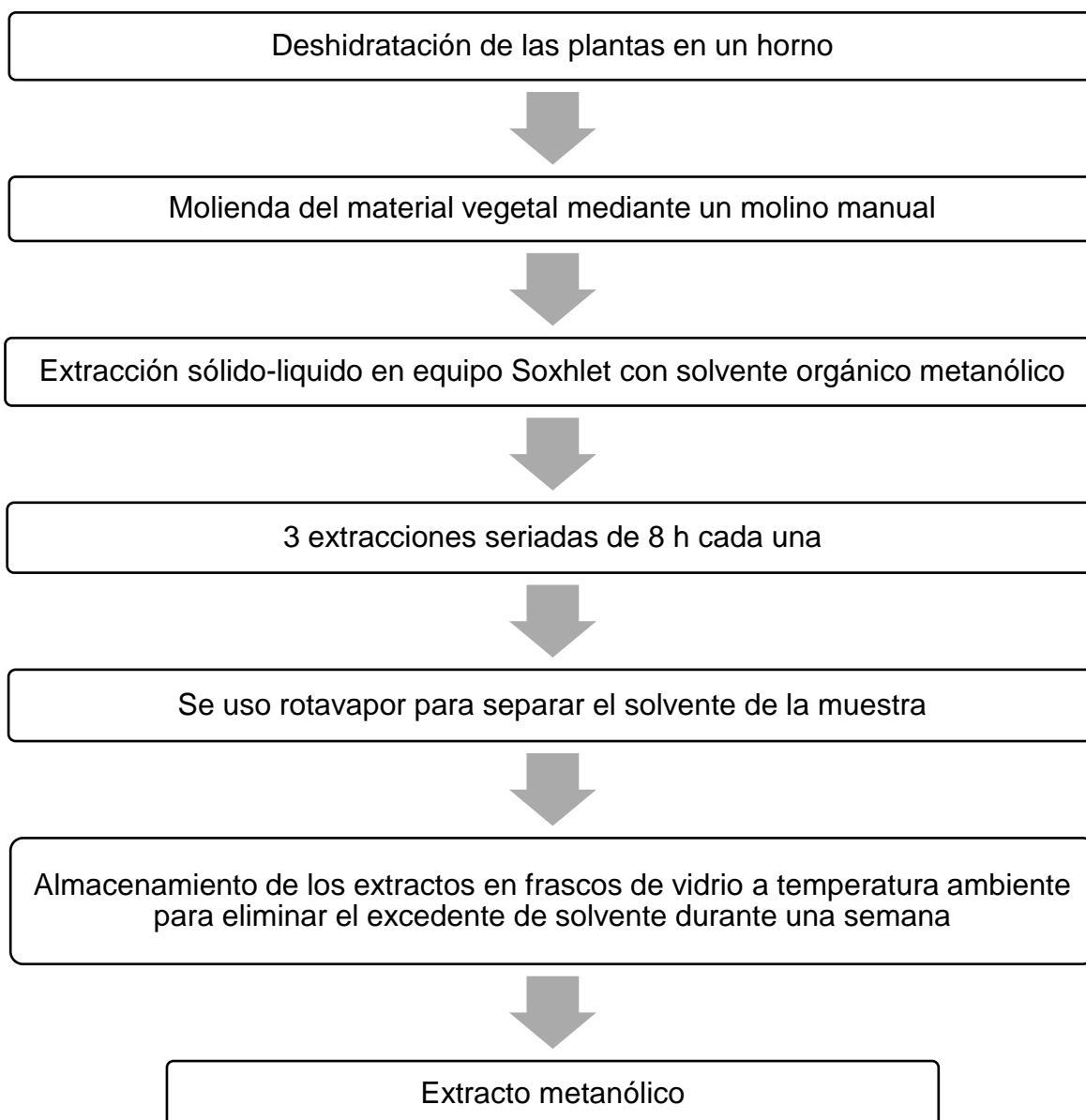


Figura 5. Diagrama del procedimiento realizado para la obtención de los extractos metanólicos

6.3 Secado del material vegetal

El secado de las plantas consiste en eliminar por deshidratación la mayor cantidad de agua posible y permitir el almacenamiento. Se puede realizar mediante calor natural, es decir en el exterior sin estar en contacto con los rayos de sol directo, o bien mediante un sistema de secado artificial, que consiste en utilizar un estufa a una temperatura a temperatura constante (Pablo-Hernández, 2010).

Ensayo

Las plantas utilizadas se limpiaron con una gasa para eliminar maleza o polvo, luego se realizó el secado del material vegetal en horno a 25 °C por 25 días (esto con el fin de deshidratar todo el material vegetal sin que se quemara y evitar la degradación de los compuestos más volátiles), finalmente se hizo la pulverización de las plantas mediante un molino manual.

6.4 Extracción sólido-liquido mediante el sistema Soxhlet

Si los compuestos no son solubles en agua debido a su carácter no polar, se selecciona un disolvente orgánico (por ejemplo, acetona, metanol, etanol, cloroformo, éter dietílico, cloruro de metileno, o una combinación de más de un disolvente orgánico) para llevar a cabo la extracción (Rojas-Llanes et al., 2014). La temperatura de esta extracción depende del punto de ebullición del disolvente elegido y debe ser vigilado para evitar accidentes, en el caso del metanol el punto de ebullición es de 64.7 °C.

El método de extracción sólido-líquido más común es utilizando un extractor Soxhlet, que es básicamente una unidad de reflujo de vidrio (Leland et al., 2006). Consiste en la utilización de un calentador sobre el que se sitúa un matraz de bola con el disolvente extractante, encima se coloca el extractor Soxhlet el cual contiene la muestra sólida depositada en un cartucho de material poroso que se

sitúa dentro de la cámara del extractor. Por encima de éste, se coloca el refrigerante de reflujo; una vez que el equipo está armado, se mantiene constante el flujo de agua que funciona como condensador para enfriar los vapores, se calienta el disolvente extractante, situado en el matraz, llegada la temperatura a la de ebullición del solvente, éste comienza a evaporarse hasta un condensador a reflujo, el condensado cae gota a gota sobre el cartucho que contiene la muestra, extrayendo los analítos solubles. A medida que el condensado va cayendo sobre el cartucho este comienza a resbalar por la parte inferior del mismo llenando el recipiente de extracción, cuando el nivel del disolvente condensado en la cámara alcanza la parte superior del sifón lateral (el tope del sifón está por encima del cartucho para asegurar que todas las veces el material a extraer quede embebido en el solvente), el disolvente, con los analítos disueltos, asciende por el sifón y retorna al matraz de ebullición. Este proceso se repite hasta que se completa la extracción de los analítos de la muestra y se concentran en el disolvente (figura 6 y 7A) (Núñez, 2008).

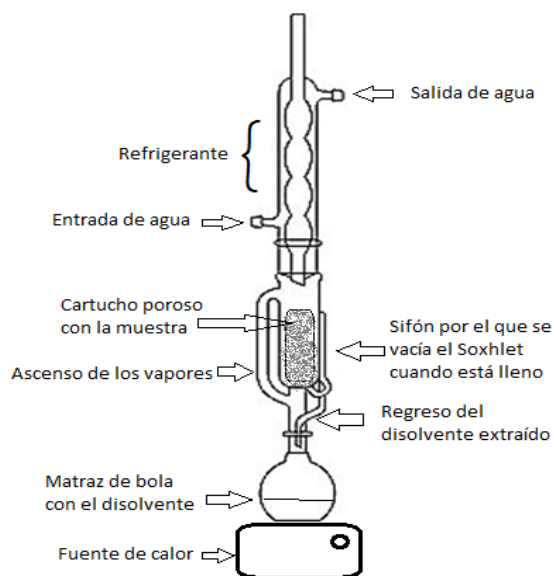


Figura 6. Esquema de la extracción sólido-líquido con equipo Soxhlet.

Como en todo este tipo de procesos es fundamental definir el punto final, cual dependerá de: el sistema conformado por el equipo, la muestra y las condiciones de temperatura. Una vez terminada la extracción, es conveniente esperar un cierto tiempo para que el sistema se enfríe (Núñez, 2008). El extracto obtenido se puede filtrar a través de celita (sílice finamente pulverizada) al vacío, y después se concentra a baja presión en un rotavapor en el que se pueden concentrar grandes volúmenes de líquido a temperaturas bajas (Valencia, 1995).

El extracto recolectado, se almacena en frascos de cristal envueltos en papel aluminio para evitar el paso de la luz y a su vez la posible degradación de algún compuesto, posteriormente se llevó a sequedad utilizando un rotavapor conectado a una bomba de vacío (figura 7B), lo obtenido se depositó en frascos más pequeños de cristal y se dejó secar a temperatura ambiente aproximadamente una semana para que se eliminara completamente el solvente que llegase a quedar.

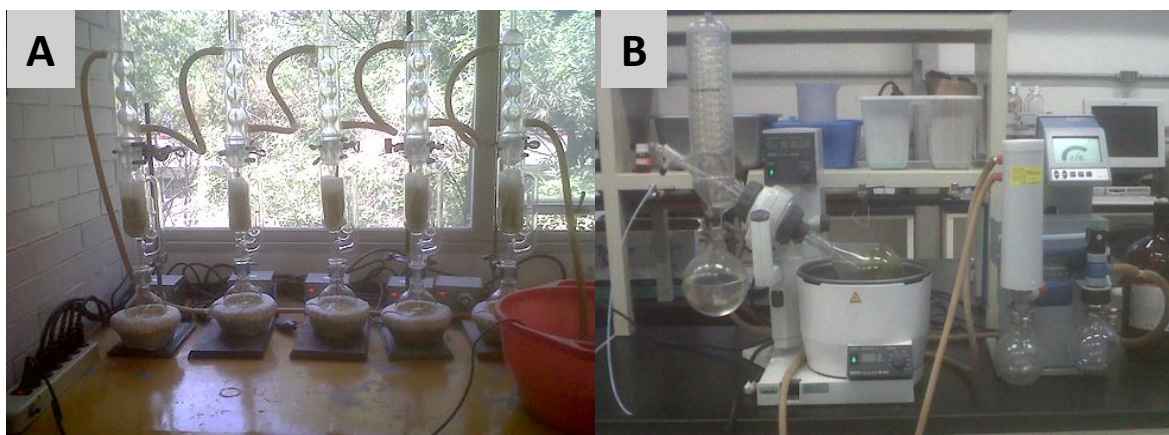


Figura 7. A) Equipo Soxhlet para la extracciones sólido-líquido extracciones de las plantas utilizadas y B) Rotavapor (izquierda) y bomba de vacío (derecha) utilizado para destilar los disolventes orgánicos.

6.5 Ensayo para evaluar la capacidad antioxidante

El extracto seco de cada planta se pesó con balanza analítica y se calculó el rendimiento de cada uno de los extractos para ser utilizados en las pruebas de ORAC. Para ello, todos los extractos se prepararon a una concentración de 3 mg/ml en DMSO, y luego se diluyeron en buffer de fosfatos 50 mM pH 7.4 desde 1:10 hasta 1:1000, con el fin de determinar la concentración inhibitoria 50 (CI₅₀), la cual se define como aquella concentración capaz de neutralizar el 50% de la ERO que se está evaluando (Reis et al., 2015).



Imagen 8. Frascos de los extractos elaborados y tubos de microcentrífuga con 3 miligramos de extracto cada uno.

6.6 Detección de la actividad antioxidante “*in vitro*”

La detección de la actividad antioxidante de cada extracto obtenido se llevó a cabo por la técnica de ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity, por sus siglas en inglés). El ensayo ORAC se basa en la capacidad de atrapamiento del radical peroxilo (ROO•), el cual se genera mediante la reacción entre el dihloruro de 2,2'-azobis (2-metilpropionamidina) (AAPH). Se considera que los azoderivados (AAPH) producen radicales peroxilo por calentamiento, que daña la molécula fluorescente, resultando en pérdida de su fluorescencia la cual

es monitoreada durante un periodo de 1.5 h en un fluorómetro. Los antioxidantes protegen la molécula fluorescente de la degeneración oxidativa. El grado de protección se cuantifica usando un fluorómetro. La degeneración (o descomposición) de fluoresceína se mide en función del retardo en el decaimiento de fluorescencia, respecto a la presencia o no del antioxidante. Durante este tiempo se registran los cambios en la intensidad de la fluorescencia, lo que permite calcular al final del ensayo el área bajo la curva (UAC, por sus siglas en inglés) de la caída de la fluorescencia.

El ensayo ORAC se realizó en el Laboratorio 209, Departamento de Biología de la Facultad de Química de la UNAM, como se describe en Delgadillo et al., 2015. Brevemente, se disolvió 0.0828 g. de AAPH en 2 ml de amortiguador de fosfatos concentración final de 153 mM pH 7.4.

Se preparó una solución de fluoresceína a 75 nM en un buffer de fosfato (pH 7.4), y se mantuvo en frascos ámbar a 4°C para evitar su degradación. Por otro lado, cada extracto obtenido, se pesó (3 mg) y se disolvió en 1 ml de dimetilsulfóxido (DMSO). A partir de esta solución se prepararon diluciones logarítmicas seriadas.

En una placa de fondo negro de 96 pozos, se colocó 25 µL de la muestra, 25 µL de AAPH y 130 µL de fluoresceína en cada pozo. Se monitoreo la pérdida de la fluorescencia durante 1.5 horas (cada minuto) en un fluorómetro Biotek Sinergy HT, usando 485 nm (Ex), 528 nm (Em) a 37°C. Finalmente, la actividad antioxidante se reportó como aquella concentración de cada extracto donde se proteja el 50% de la fluorescencia (CI₅₀).

6.7 Análisis estadístico.

Todas las determinaciones se realizaron por triplicado por cada experimento y se realizaron 3 repeticiones de manera independiente. Los resultados se expresaron como porcentajes de atrapamiento y el valor de CI₅₀ es el promedio de las tres

replicas. Además se determinó el error estándar para cada condición. Es importante mencionar que las regresiones lineales fueron calculadas utilizando el programa de Excel.

7. RESULTADOS

7.1 Obtención de los extractos

Primero se determinó el porcentaje de rendimiento de los extractos obtenidos, este valor indica la cantidad de extracto crudo que se obtiene con el solvente utilizado, en relación al peso total de la planta seca empleada en la extracción. Con base en este valor, se determinó con cual solvente es posible obtener la mayor cantidad de extracto para cada planta. A pesar de que en este trabajo solo se utilizó metanol se pudo observar que la planta con mejor rendimiento se obtuvo en dos extractos; uno obtenido de *Euphorbia dioeca*, ya que muestra 32.02%, y el otro fue el obtenido de las hojas de *Piscidia grandifolia* con un rendimiento del 30.81%. Mientras que el menor rendimiento fue el extracto obtenido del tallo de *Piscidia grandifolia*, ya que se requirió mayor cantidad de masa de la planta seca para obtener el solo el 14.41 % (cuadro 4).

Cuadro 4. Rendimiento de los extractos de plantas del estudio

Plantas	Parte de la planta utilizada	Peso planta seca (gr)	Peso extracto (gr)	Rendimiento (Porcentaje)
<i>Euphorbia dioeca</i>	Total	10	3.20	32.02
<i>Gnaphalium oxyphyllum</i>	Flor	20	4.17	20.87
	Tallo y hojas	15	3.99	26.65
<i>Piscidia grandifolia</i>	Hojas	10	3.08	30.81
	Tallo	10	1.44	14.41
<i>Tillandsia imperialis</i>	Total	10	1.90	19.08

7.2 Determinación de la actividad antioxidante por la técnica del ORAC

En general las cuatro plantas seleccionadas exhiben actividad antioxidante. En las figuras siguientes se observa el porcentaje de atrapamiento de cada extracto reportado como microgramo por mililitro ($\mu\text{g/ml}$) y el CI_{50} (figuras 9 a 14).

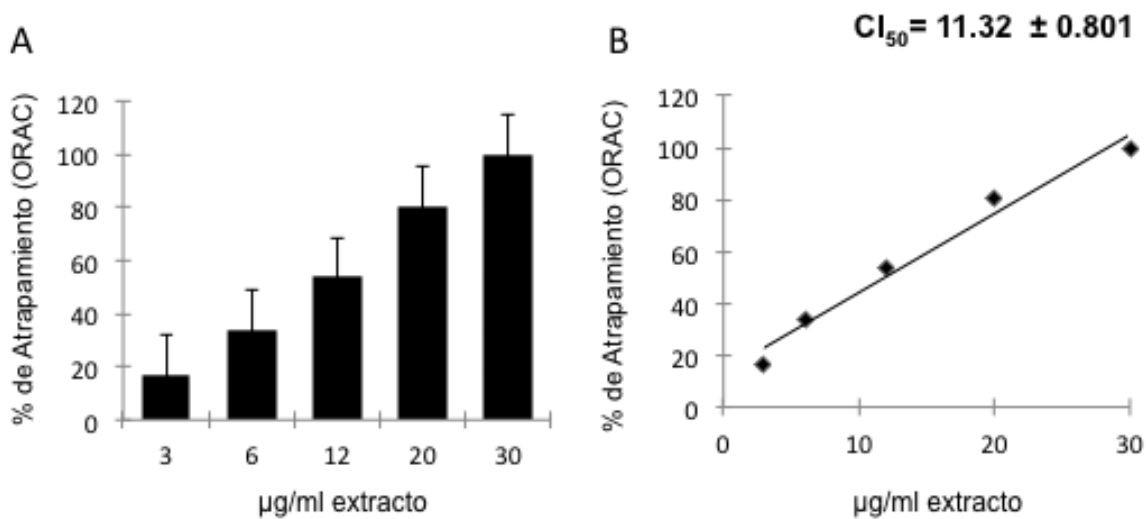


Figura 9. Actividad antioxidante de *Euphorbia dioeca* Kunth. (A) Se muestra el porcentaje de atrapamiento y (B) la regresión lineal y la concentración mínima inhibitoria 50 (CI_{50}).

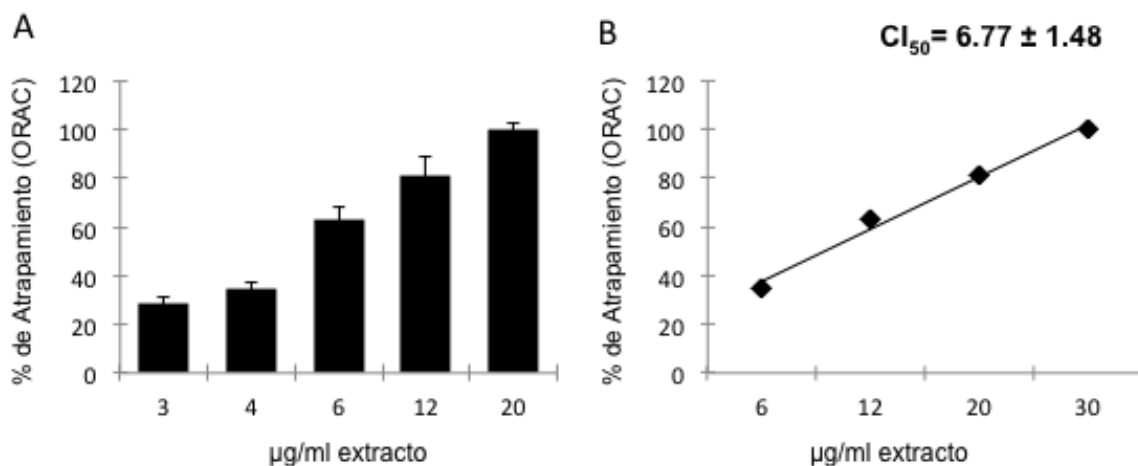


Figura 10. Actividad antioxidante de *Gnaphalium oxyphyllum* DC. (Flor). (A) Se muestra el porcentaje de atrapamiento y (B) la regresión lineal y la concentración mínima inhibitoria 50 (CI₅₀).

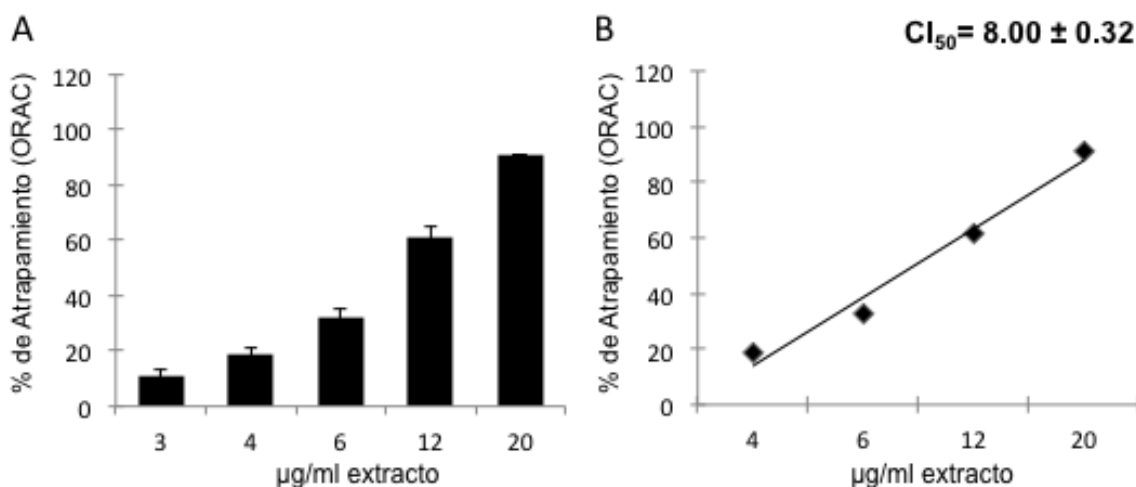


Figura 11. Actividad antioxidante de *Gnaphalium oxyphyllum* DC. (Tallo y hojas). (A) Se muestra el porcentaje de atrapamiento y (B) la regresión lineal y la concentración mínima inhibitoria 50 (CI₅₀).

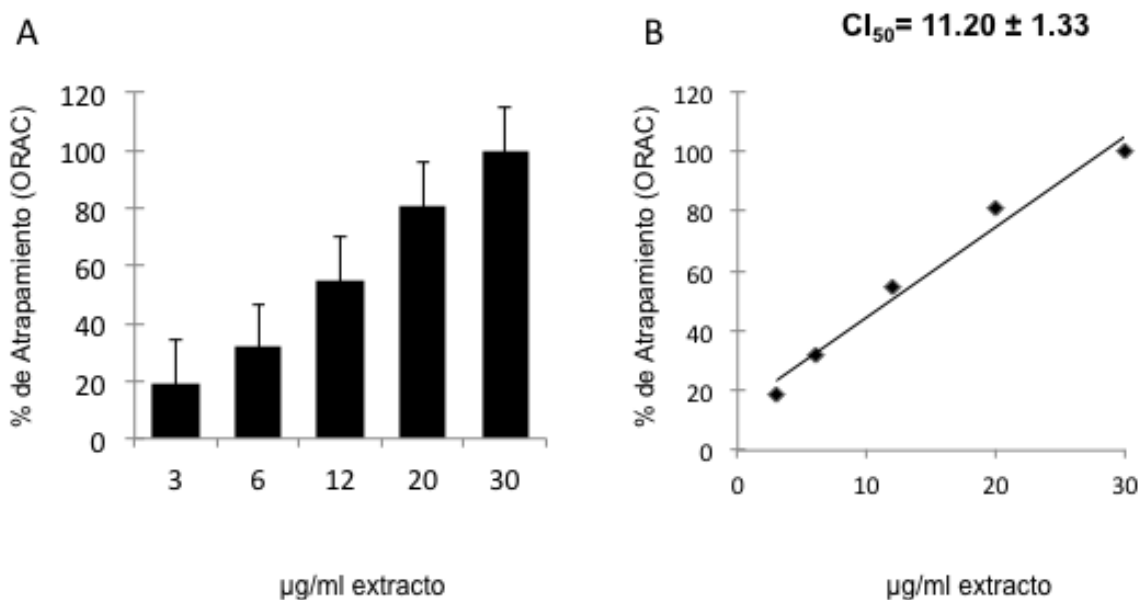


Figura 12. Actividad antioxidante de *Piscidia grandifolia* (Donn. Sm.) I.M. Johnston (Hoja). (A) Se muestra el porcentaje de atrapamiento y (B) la regresión lineal y la concentración mínima inhibitoria 50 (CI₅₀).

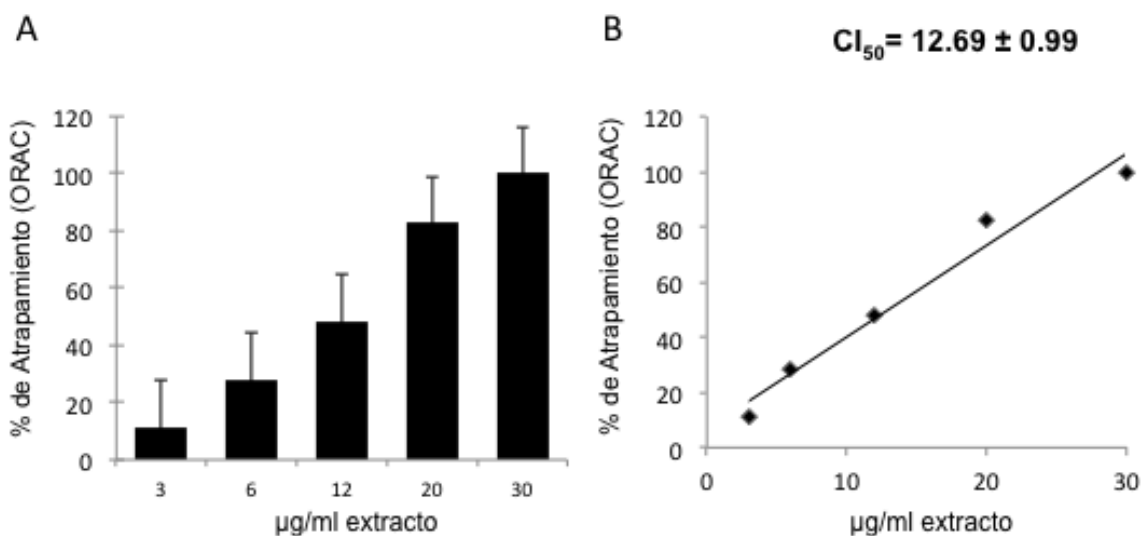


Figura 13. Actividad antioxidante de *Piscidia grandifolia* (Donn. Sm.) I.M. Johnston (Tallo). (A) Se muestra el porcentaje de atrapamiento y (B) la regresión lineal para determinar el CI₅₀.

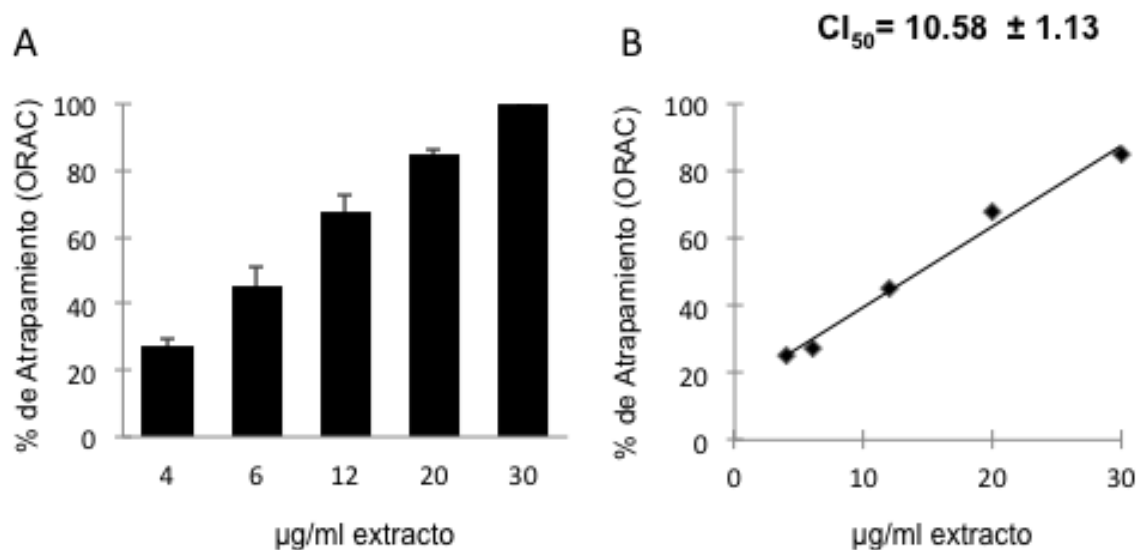


Figura 14. Actividad antioxidante de *Tillandsia imperialis* E. Morren ex Mez. (A) Se muestra el porcentaje de atrapamiento y (B) la regresión lineal para determinar el CI₅₀.

En general todos los extractos presentan actividad antioxidante entre 6 y 12 µg/ml. Para fines comparativos se reportó la actividad antioxidante en unidades Trolox del extracto acuoso de la raíz de *Curcuma longa*, descrito anteriormente (Tilak y col., 2004). En el cuadro 5 se muestran los resultados obtenidos.

Cuadro 5. Valores de CI₅₀ de cada extracto metanólico obtenido

EXTRACTO	CI ₅₀ (µg /mL)	UNIDADES TROLOX	REFERENCIA
<i>Euphorbia dioeca</i> Kunth.	11.32 ± 0.801 (3)	3349 ± 59	Este trabajo
<i>Gnaphalium oxyphyllum</i> . DC. (Flor)	6.77 ± 1.48 (3)	3444 ± 49	Este trabajo
<i>Gnaphalium oxyphyllum</i> . DC. (Tallo y hojas)	8.00 ± 0.32 (3)	3444 ± 33	Este trabajo
<i>Piscidia grandifolia</i> (Donn.Sm.) I.M.Johnston (Hoja)	11.20 ± 1.33 (3)	3312 ± 42	Este trabajo
<i>Piscidia grandifolia</i> (Donn.Sm.) I.M.Johnston (Tallo)	12.69 ± 0.99 (3)	3323 ± 50	Este trabajo
<i>Tillandsia imperialis</i> E. Morren ex Mez	10.58 ± 1.13 (3)	3444 ± 44	Este trabajo
Extracto acuoso de la raíz de <i>Curcuma longa</i>	ND	19.54±1.29*	Tilak et al., 2004

*Antioxidantes de referencia, son valores reportados por la técnica de ORAC, los valores entre paréntesis hacen referencia al número experimentos independientes (n)

Con base en los resultados obtenidos se muestra que a pesar de que los extractos tienen actividad antioxidante, el extracto acuoso obtenido de la raíz de *Curcuma longa* es mayor, en este extracto puede atribuirse su actividad a la curcumina.

8. DISCUSIÓN

En México, el conocimiento empírico sobre las propiedades medicinales de las plantas es la base para curar diversos padecimientos. A pesar de los beneficios en la salud que se les han atribuido a las plantas, no existen evidencias sobre la eficacia y la seguridad de los remedios. De hecho, existe información acerca de algunas consecuencias adversas por su uso (Adhyapak & Kachole, 2015). Por esta razón hay gran interés en investigar la farmacología y la seguridad de su consumo, ya que ha incrementado el número de personas que las consumen. De hecho se ha reportado que el 80% de la población mundial utilizan las plantas medicinales para curar diversos padecimientos (Atsafack et al., 2015). Por ello, es necesario comprobar su actividad biológica *in vitro* e *in vivo* y caracterizar químicamente los principios activos de los extractos crudos obtenidos de las plantas, así como su toxicidad.

Como primera etapa de este trabajo, se corroboró el uso medicinal de cada una de las plantas utilizadas, luego se ubicaron las localidades donde crece naturalmente, esto con el fin de realizar la colecta del material vegetal. Posteriormente se realizó la identificación en el laboratorio de taxonomía vegetal de la Facultad de Ciencias de la UNAM, con el fin de corroborar la especie con la que se está trabajando.

El secado natural (bajo el sol o la sombra) depende del medio circundante, a pesar de que el gasto de la energía es nulo, el tiempo de secado es prolongado, lo que no garantiza en todos los casos la calidad del producto final porque bajo este método varía mucho la temperatura, esto puede favorecer la degradación de los compuestos. Por ello, el secado artificial que realizamos, garantizó que el producto final que se obtiene es de mejor calidad debido a que se encuentra a una temperatura constante y en ambiente controlado (Rodríguez et al., 2005)

.

Por otro lado, en relación a la técnica de extracción sólido-líquido por el sistema soxhlet, resulta óptimo para la obtención de principios activos en tejidos

vegetales, la muestra está en contacto constante con porciones frescas de disolvente, la extracción se realiza con el disolvente caliente, así se favorece la solubilidad de los analitos, minimizando los riesgos de oxidación de la muestra. En este trabajo se realizaron los extractos con metanol, debido a su polaridad similar al agua, ya que tradicionalmente, las plantas se utilizan en infusiones con agua, ya sea para aplicación tópica o ingerida (BDMTM-UNAM, 2009).

Por otro lado, es importante recalcar que el estudio de las propiedades antioxidantes de diversos productos naturales se ha convertido en un interés particular, debido al efecto benéfico para prevenir o retrasar diversos efectos adversos de algunas patologías como diabetes, asma, envejecimiento, cáncer, enfermedades hepáticas, enfermedades neurológicas como Alzheimer, Huntington, Parkinson, las cuales se caracterizan por desequilibrio en el estado redox (Ndhlala et al., 2010).

La capacidad antioxidante de las plantas, generalmente está relacionada con su contenido de fenoles, polifenoles, flavonoides y carotenoides. Los compuestos fenólicos, especialmente los flavonoides, muestran una gran capacidad para captar radicales libres causantes del estrés oxidante presente en diferentes patologías (Escamilla et al., 2009). Es importante recalcar que las plantas consideradas en este trabajo se utilizan para curar diversos padecimientos como bronquitis, antiespasmódico, antihemorrágico, desinflamatorio, etc., patologías relacionadas con el estrés oxidante.

En este trabajo hemos demostrado que *Euphorbia dieca* Kunth presenta actividad antioxidante con un valor de CI_{50} de $11.32 \pm 0.80 \mu\text{g/mL}$. Su actividad puede estar relacionada con los compuestos reportados para esta familia (*Euphorbiaceae*). Se han caracterizado alcaloides, terpenos, flavonoides, glucósidos sianogénicos, taninos, cumarinas, quinonas, ácidos fenólicos, ácidos grasos y lípidos, glucosinolaos, lignanos, aminoácidos, y particularmente para *E.*

dioeca se reportado que contiene fenoles, flavonoides, taninos y glucósidos (Cristians-Niizawa, 2006).

La flor de *Gnaphalium oxyphyllum* DC. presenta actividad antioxidante con un valor de CI_{50} $6.77 \pm 1.48 \mu\text{g/mL}$, mientras que el tallo y hojas presenta una actividad antioxidante con un CI_{50} de $8.00 \pm 0.32 \mu\text{g/mL}$. Esto puede estar relacionado con el hecho de que las flores presentan mayor número de metabolitos secundarios en comparación con otras partes de la planta (Atta-ur-Rahman, 2008). De hecho, en la medicina tradicional se utiliza infusiones solo de la flor. Se pudo terminar que esta planta es mejor antioxidante en comparación con los otros extractos evaluados en este trabajo. En el género *Gnaphalium* se han reportado, saponinas, taninos, terpenoides, metoxiflavonas, flavonoides, diterpenos, en algunas especies hay presencia de especies hay aceites esenciales y esencias amargas (Waizel & Waizel, 2009). Para *Gnaphalium oxyphyllum* se reportan flavonoides y taninos (Barranco-López, 2004). A pesar de su potencial antioxidante de este género, existen pocos estudios en algunas especies (Zeng et al., 2011), lo que nos lleva a pensar que la mayoría de las especies de *Gnaphalium* presentaran una eficiente capacidad antioxidante.

En el caso de *Piscidia grandifolia* observamos que el extracto de la hoja presenta una actividad antioxidante con un CI_{50} $11.20 \pm 1.33 \mu\text{g/mL}$, mientras que el extracto de tallo presenta una actividad antioxidante con un CI_{50} $12.69 \pm 0.99 \mu\text{g/mL}$, se reporta que tradicionalmente se utiliza la corteza del tallo (Matias-Lozada, 2013), sin embargo en este trabajo se comprobó que el extracto de la hojas presenta una mayor actividad antioxidante, de igual manera en la tesis “Evaluación del efecto repelente de *Piscidia grandifolia* y su propagación por semilla” (Reyes-Ruíz, 2014) también se comprobó que el extracto de la hoja tiene mejor efecto repelente que el tallo. Entre los compuestos aislados del género *Piscidia* están ácido piscídico; las isoflavonas, ichthyonona, jamaicina, lisetina, piscerythrona y piscidona, y los rotenoides (Reyes-Ruíz, 2014). Se sabe que la corteza de *Piscidia grandifolia* presenta alcaloides, glucósidos cariotónicos,

sesquiterpentactonas, taninos y triterpenos (Matias-Lozada, 2013), sin embargo no hay estudios que hablen de actividad antioxidante.

En *Tillandsia imperialis* E. Morren ex Mez se demuestra su actividad antioxidante con un IC_{50} $10.58 \pm 1.13 \mu\text{g/mL}$. El género *Tillandsia* se han reportado metabolitos secundarios como triterpenos, esteroides, flavonoles, flavonas y antocianinas (Vite-Posadas, 2011), y al igual que las demás plantas evaluadas en este estudio no hay reportes de actividad antioxidante.

En los resultados se observa que la actividad depende de su concentración, como se observa extracto de *Gnaphallium oxyphyllum* (flor) resultó ser el de mayor actividad antioxidante y el de tallo de *Piscidia grandifolia* (Donn.Sm.) I.M.Johnston como el de menor actividad antioxidante, dado que hasta el momento no se cuenta con trabajos que corroboren su actividad antioxidante este trabajo queda como precedente para futuros trabajos.

Cabe mencionar que existen diversos factores internos y externos que afectan la calidad y/o cantidad de los compuestos fenólicos en las plantas, como la diversidad genética (variedad y origen de la muestra), etapa de madurez, variaciones ambientales, mes de colecta, procesamiento y almacenamiento. Además, pueden existir correlaciones bajas o moderadas entre la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales, debido a la presencia de otros compuestos no fenólicos, como carotenoides y ácido ascórbico, con potencial antioxidante (Zapata et al., 2014).

En el cuadro 5, para determinar si los extractos presentaban una actividad significativa se compararon con un extracto obtenido de *Curcuma longa*, descrita anteriormente con alta capacidad antioxidante (Tilak et al., 2004). Se pudo demostrar que los extractos de las plantas presentaron actividad, sin embargo es significativamente menor a la reportada para *Curcuma*.

Finalmente, a pesar de que en este trabajo se demostró por primera vez la actividad de *Euphorbia dioeca*, *Gnaphalium oxyphyllum*, *Piscidia grandifolia*, *Tillandsia imperialis* aún queda mucho trabajo por explorar con respecto a su capacidad antioxidante, se podría determinar específicamente la ERO que es capaz de neutralizar, por ejemplo anión superóxido, radical hidroxilo, etc., Además, se puede purificar e, compuesto mayoritario de los diferentes extractos y evaluar su capacidad antioxidante de cada uno de ellos.

9. CONCLUSIÓN

- ◆ Se obtuvo un rendimiento entre el 14 al 32 % de los extractos por gramo de peso seco de cada planta
- ◆ Todos los extractos evaluados mostraron tener actividad antioxidante en un rango de 3000 y 4000 equivalentes trolox y CI_{50} entre 6.77 a 12.6
- ◆ De los extractos probados, el de gordolobo (flor) fue el mejor antioxidante ya que fue el valor trolox más bajo con 3444 ± 49 equivalentes trolox y un $CI_{50} 6.77 \pm 1.480$

10. Bibliografía

Adhyapak, M. S., & Kachole, M. S. (2015). Investigation of adverse effects of interactions between herbal drugs and natural blood clotting mechanism. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, Vol. 41, núm 4, p. 644-647. DOI: 10.1007/s11239-015-1269-4

Atsafack, S. S.; Kuate, J. R.; Mouokeu, R. S.; Koanga Mogtomo, M. L.; Tchinda, A. T.; De Dieu, T. J.; Magnifouet Nana, H.; Ebelle Etame, M. E.; Biyiti, L.; Ngono Ngane, R. A. (2015). Toxicological studies of stem bark extract from *Schefflera barteri* Harms (Araliaceae). *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15: 44.. doi:10.1186/s12906-015-0581-z.

Atta-ur-Rahman. (2008). *Studies in Natural Products Chemistry*: Elsevier Science, p. 450.

Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*, n.494, p.161-172.

Barranco-López, S. L. M. (2004). Búsqueda de compuestos antimicrobianos en *Heterotheca inuloides*, *Gnaphalium oxyphyllum*, *Passiflora incarnata*, *Rosmarinus officinalis* y *Ruta graveolens*. Tesis de Licenciatura, Universidad de las Américas Puebla, Cholula, Puebla, México.

BDMTM. (2009). Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana. <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/index.php>

Begara-Morales, J. C.; Sánchez-Calvo, B.; Chaki, M.; Valderrama, R.; Leterrier, M.; Palma, J. M.; Barroso, J. B.; Corpas, F. J. (2012). Análisis de la nitración fisiológica de proteínas en órganos de plantas de guisante (*Pisum sativum* L) durante su desarrollo y senescencia *Proteómica*, Número 8, 61, p. 139.

Berg, J. M.; Tymoczko, J. L. & Stryer L. (2008). *Bioquímica* (6a. Edition ed.): Editorial Reverté, p. 586, 701, 720

Bermúdez, A., Oliveira-Miranda, M. A., & Velázquez, D. (2005). La Investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: Una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. *Interciencia*, vol.30, n.8, p. 453-459.

Cárdenas-Rodríguez, N. & Pedraza-Chaverri, José. (2006). Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes: aspectos básicos. Educación Química, Vol. 17, Nº. 2, 164-173.

Cerdá Micó, C.; Borrego Oliva, S.; Sáez Tormo, G. (2010). Estrés oxidativo en las enfermedades neurodegenerativas. Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia. p. 283-302.

CONABIO.

<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/euphorbiaceae/euphorbia-indivisa/fichas/ficha.htm>

Conti, V.; Izzo, V.; Corbi, G.; Russomanno, G.; Manzo, V.; De Lise, F.; Di Donato, A.; Filippelli, A. (2016). Antioxidant Supplementation in the Treatment of Aging-Associated Diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 7, 24. doi: [10.3389/fphar.2016.00024](https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00024)

Costa, L. S. d.; Andrezza, N. L.; Correa, W. R.; Cunha, I. B. d. S.; Ruiz, A. L. T. G.; Carvalho, J. E. d.; Schinor, E.; Elisandra C.; Dias, D. A. & Salvador, M. J. (2015). Antiproliferative activity, antioxidant capacity and chemical composition of extracts from the leaves and stem of *Chresta sphaerocephala*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, vol.25, n.4, p. 369-374. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2015.04.005>

Cristians-Niizawa, S. (2006). Evaluación fitoquímica y farmacológica de *Euphorbia dioeca* Kunth (Euphorbiaceae) para el control de enfermedades crónico-degenerativas. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.

Delgadillo Puga, C.; Cuchillo Hilario, M.; Espinosa Mendoza, J. G.; Medina Campos, O.; Molina Jijón, E.; Díaz Martínez, M.; Álvarez Izazaga, M. A.; Ledesma Solano, J. A.; Pedraza Chaverri, J. (2015). Antioxidant activity and protection against oxidative-induced damage of *Acacia shaffneri* and *Acacia farnesiana* pods extracts: in vitro and in vivo assays. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15, 435. <http://doi.org/10.1186/s12906-015-0959-y>

Delgado-Olivares, L.; Betanzos-Cabrera, G.; Sumaya-Martínez, M. T. (2010). Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Investigación y Ciencia*, vol. 18, núm. 50, 10-15.

Elejalde Guerra, J. I. (2001). Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *Anales de Medicina Interna*, vol. 18, núm. 6, 326-335.

Escamilla Jiménez, C. I.; Cuevas Martínez, Y. E.; C. E., Guevara Fonseca, J. (2009). Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Rev Fac Med UNAM*, 52(2), p. 73-75.

Evans P. & Halliwell B. (2001). Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *Br J Nutr.*, May; 85 Suppl 2:S67-74.

Farnsworth, N. R.; Akerele, O.; Bingel, A. S.; Soejarto, D. D.; Guo, Z. (1985). Medicinal plants in therapy. *Bull World Health Organ*, vol 63, núm. 6, p. 965-981.

Galván, C. de Teresa; Guisado Barrilao, R.; García, M. C.; Ochoa, J.; Ocaña Wilhelmi, J. (2008). Antioxidantes y ejercicio físico: funciones de la melatonina. *Revista Andaluza de Medicina del Deporte*, Vol. 1, núm. 2, p. 61-72.

García de Alba García, J. E.; Ramírez Hernández, B. C.; Robles Arellano, G.; Zañudo Hernández, J.; Salcedo Rocha, A. L.; García de Alba Verduzco, J. E. (2012). Conocimiento y uso de las plantas medicinales en la zona metropolitana de Guadalajara. *Desacatos*, n.39, p.29-44.

Gutiérrez Maydata A. (2003). Oxidantes en el humo del cigarro y enfermedades cardiopulmonares. *Revista Cubana de Medicina*, vol.42, n.5.

Hansberg-Torres, W. (2002). Biología de las especies de oxígeno reactivas. *Mensaje Bioquímico*, Vol XXVI, 19-54.

Hicks-Gómez, J. J.; Sierra-Vargas, M. P.; Olivares-Corichi, I. M.; Torres-Ramos, Y. D.; Guzmán-Grenfell, A. M. (2005). Estrés oxidante en asma. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*, vol.18, n.1, p.70-78.

Irazusta, V.; Moreno-Cermeño, A.; Ros, J.; Tamarit, R. (2008). Estrategias proteómicas para el análisis de grupos carbonilo como marcadores de daño oxidativo en proteínas. *Proteómica*, Núm. 2, 51-58.

Jiménez-Merino, F. A. (2011). *Herbolaria Mexicana*. México: Editorial del Colegio de Postgraduados, p. 215, 424.

Kandola, K.; Bowman, A.; Birch-Machin, M.A. (2015). Oxidative stress - a key emerging impact factor in health, ageing, lifestyle and aesthetics. *Int J Cosmet Sci.*, 2015 Dec; 37 Suppl 2:1-8.

Kumar, V.; Abbas, A. K; Robbins, S. L.; Fausto, N.; Mitchell, R. N. (2008). Robbins. *Patología humana*. España. p. 17-18.

Lehninger, A. L. (2005). *Principios de bioquímica* (4a ed.). España: Ediciones Omega, p. 722, 857, 858.

Leland J. Cseke, et al. (2006). *Natural products from plants* (2nd ed. ed.): Taylor & Francis, p. 274, 275.

Linares, E. B., R.; Flores, B. (1999). *Plantas Medicinales de México: usos y remedios tradicionales.*: Instituto de Biología, UNAM, p. 61, 121.

Macedo-Márquez, A. (2012). La producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) en las mitocondrias de *Saccharomyces cerevisiae*. Vol.15, n.2 p.97-103.

Marotte, C. & Zeni, S. N. (2013). Especies reactivas de oxígeno y su efecto sobre la actividad de las células óseas. *Acta bioquím. clín. latinoam*. Vol.47, n.4, p. 661-674.

Martínez, A. L. (2015). *Herbolaria mexicana para el tratamiento del dolor*. *Ciencia. Revista de la Academia Mexicana de Ciencias*, Vol. 66 No. 3, p. 60-67.

Matias-Lozada, A. (2013). Evaluación del efecto anestésico de las plantas: *Dioscorea composita* "barbasco", *Gliricidia sepium* "cacahuananche" y *Piscidia grandifolia* "mata piojos" en *Oreochromis niloticus* "juveniles de tilapia". Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

Mayorga Torres, B. J. M.; Camargo, M.; Cadavid, Ángela P, & Cardona Maya, Walter D. (2015). Estrés oxidativo: ¿Un estado celular defectuoso para la función espermática. *Rev. chil. obstet. ginecol*. Vol.80, n.6, p. 486-492.

McVaugh, R. (1984). *Compositae Flora Novo-Galiciana* (Vol. Vol. 12, p. 460, 461).

Milei, J.; Forcada, P.; Fraga, C. G.; Grana, D. R.; Tritto, I.; Jannelli, G.; Chiariello, M., & Ambrosio, G. (2006). Lipoperoxidación de membranas y daño

ultraestructural por estrés oxidativo en isquemia-reperfusión miocárdica. *Revista Argentina de Cardiología*, vol.74, n.1, p. 12-.

Mustacich, D., & Powis, G. (2000). Thioredoxin reductase. *Biochemical Journal*, 346 (Pt 1), 1–8.

Ndhkala, A., Moyo, M., & Van Staden, J. (2010). Natural Antioxidants: Fascinating or Mythical Biomolecules? *Molecules*, 15(10), 6905.

Núñez, C. E. (2008). Extracciones con equipo Soxhlet. Disponible en: <http://www.cenunez.com.ar/archivos/39-extraccinconequiposoxhlet.pdf>

Pablo-Hernández, C. (2010). Plantas medicinales: propiedades naturales y científicas prácticas: Editorial Formación Alcalá. p. 33, 38-46.

Pérez Gastell, P. L. & Pérez de Alejo, J. L. (2000). Métodos para medir el daño oxidativo. *Revista Cubana de Medicina Militar*, vol.29, n.3, p. 192-198.

Rabêlo, L. A.; Souza, V. N. d.; Fonseca, L. J. S. d.; Sampaio, W. O. (2010). Desbalance redox: NADPH oxidasa como un objetivo terapéutico en el manejo cardiovascular. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, vol.94, n.5, 684-693.

Reis, E. M.; Zanatta, M.; Carmona, M., & Menten, J. O. M. (2015). Relationship between IC50 determined in vitro/in vivo and the fungicide rate used in the Field. *Summa Phytopathologica*, vol.41, n.1, p. 49-53.

Reyes-Ruíz, D. (2014). Evaluación del efecto repelente de *Piscidia grandifolia* y su propagación por semilla. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

Rodríguez Ferradá, C. A.; Carballo Guerra, C.; Hechevarría Sosa, I., & Acosta de la Luz, L. (2005). Ahorro de energía en el secado de plantas medicinales. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 10, 0-0. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962005000100011&nrm=iso

Rodríguez Perón, J. M.; Menéndez López, J. R. & Trujillo López, Y. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev Cub Med Mil*. 2001, vol.30, n.1, p. 15-20.

Rojas, G.; Lévaro, J.; Tortoriello, J., & Navarro, V. (2001). Antimicrobial evaluation of certain plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of respiratory diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, 74(1), p. 97-101.

Rojas-Llanes, J. P.; Martínez, J. R., & Stashenko, E. E. (2014). Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de extractos de mora (*Rubus glaucus* Benth) obtenidos bajo diferentes condiciones. *Vitae*, vol.21, núm.3, p.218-227.

Rzedowski, G. C. de y J. Rzedowski, 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.

Sánchez-Valle, V. Y Méndez-Sánchez, N. (2013). Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. *Rev. Invest. Med. Sur Mex.*, 20(3): 161-168.

Sierra Vargas, M. P.; Guzmán Grenfell, A. M.; Olivares Corichi, I. M.; Torres Ramos, Y. D.; Hicks Gómez, J. J. (2004). Participación de las especies reactivas del oxígeno en las enfermedades pulmonares. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*, vol.17, n.2, p.135-148.

Taddei-Bringas, G. A., Santillana-Macedo, M. A., Romero-Cancio, J. A., & Romero-Téllez, M. B. (1999). Aceptación y uso de herbolaria en medicina familiar. *Salud Pública de México*, vol.41, n.3, p.216-220.

The Plant List. (2010). *Piscidia grandifolia* (Donn.Sm.) I.M.Johnst. Disponible en: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/ild-14728>

The Plant List. (2012). *Gnaphalium oxyphyllum* DC. Disponible en: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/gcc-194>

The Plant List. (2013). *Euphorbia dioeca* Kunth. Disponible en: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-37944>

Tilak, J. C.; Banerjee, M.; Mohan, H. and T. P. A. Devasagayam, T. P. A. (2004). Antioxidant Availability of Turmeric in Relation to its Medicinal and Culinary Uses. *Phytother. Res.* 18, p. 798–804.

Valencia Ortiz, C. (1995). *Fundamentos de Fitoquímica*: Trillas Editorial.

Vázquez-Alonso, M. T., Bye, R., López-Mata, L., Pulido-Sala, M. T. P., McClung de Tapia, E., & Koch, S. D. (2014). Etnobotánica de la cultura teotihuacana. *Botanical Sciences*, vol.92, n.4, p.563-574.

Vázquez-Torres, M.; Carvajal-Hernández, C. I. y Armenta-Montero, S. (2010). Atlas de la flora de Veracruz. *Tillandsia imperialis* E. Morren ex Roezl. Comisión del Estado de Veracruz para la conmemoración de la Independencia Nacional y la Revolución Mexicana (Ed.). Un patrimonio natural en peligro (p. 416). Veracruz, México.

Villagómez-Ibarra, J. R.; Sánchez, M.; Espejo, O.; Zúñiga-Estrada, A.; Torres-Valencia, J. M. n., & Joseph-Nathan, P. (2001). Antimicrobial activity of three Mexican *Gnaphalium* species. *Fitoterapia*, 72(6), p. 692-694.

Vite-Posadas, J. A., Brechú-Franco, Alicia E., Laguna-Hernández, Guillermo, Rojas-Bribiesca, M. Gabriela, Osuna-Fernández, H. Reyna. (2011). Morphoanatomical characterization and antimicrobial activity of *Tillandsia imperialis* (Bromeliaceae). *Polibotánica*, núm. 31, p. 21-29.

Waizel, H.S. & Waizel, B.J. (2009). Algunas plantas utilizadas en México para el tratamiento del asma. 54(4):145-71.

Xing Zheng, W. W., Huishan Piao, Weiqiang Xu, Haibo Shi and Chengai Zhao. (2013). The Genus *Gnaphalium* L. (Compositae): Phytochemical and Pharmacological Characteristics. *Molecules*, 18(7), p. 8298-8318.

Zamora S., J. D. (2007). Antioxidantes: Micronutrientes en la lucha por la salud. *Revista chilena de nutrición, Rev. chil. nutr.* Vol.34, n.1, p.17-26.

Zapata, S., Piedrahita, A. M., & Rojano, B. (2014). Capacidad atrapadora de radicales oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia. *Perspectivas en Nutrición Humana*, 16, 25-36.

Zeng, W.-C., Zhu, R.-X., Jia, L.-R., Gao, H., Zheng, Y., & Sun, Q. (2011). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oil from *Gnaphalium affine*. *Food and Chemical Toxicology*, 49(6), 1322-1328.