



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA.

ESTUDIO QUÍMICO DE DIFERENTES ESPECIES DEL GÉNERO *HYPTIS*.

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA

CAROLINA APARICIO SEDAS



MÉXICO. CDMX.

2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: María Isabel Aguilar Laurents

VOCAL: Isabel del Carmen Rivero Cruz

SECRETARIO: Mabel Clara Fragoso Serrano

1er. SUPLENTE: Mario Alberto Figueroa Saldivar

2do. SUPLENTE: Rogelio Gregorio Pereda Miranda

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Departamento de Farmacia, Laboratorio 123.

Facultad de Química.

Universidad Nacional Autónoma de México.

ASESOR DE TEMA:

Mabel Clara Fragoso Serrano

SUPERVISOR TÉCNICO:

Rogelio Gregorio Pereda Miranda

SUSTENTANTE:

Carolina Aparicio Sedas

Lista de Abreviaturas

Abreviatura	Significado
AcOEt	Acetato de etilo
ACN	Acetonitrilo
Abs	Absorbancia
CCF	Cromatografía en capa fina
CG	Cromatografía de gases
EM	Espectrometría de masas
CD ₃ OD	Metanol deuterado
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
CH ₃ COOH	Ácido acético
Cl ₅₀	Concentración inhibitoria media
CLAE	Cromatografía de líquidos de alta eficiencia
cm	Centímetro
CO ₂	Dióxido de carbono
DMSO	Dimetilsulfóxido
Hex	Hexano
Farnesil difosfato	FPP
Geranilgeranilpifosfato	GGPF
g	Gramo
Isopentenil difosfato	IPP
iBuOH	Isobutanol
MHz	MegaHertz
MeOH	Metanol
μg	Microgramo
μL	Microlitro
mg	Miligramo
mL	Mililitro
mm	Milímetro
min	Minuto
RMN	Resonancia magnética nuclear
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de hidrógeno
RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono
PBS	Solución amortiguadora de fosfatos
ppm	Partes por millón
TCA	Ácido tricloroacético
TRIS	Hidroximetilaminometano
UV	Luz ultravioleta
TMS	Tetrametilsilano

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1. Generalidades de la familia Lamiaceae.....	5
2.2. Características del género <i>Hyptis</i>	7
2.3. Metabolismo de <i>Hyptis</i>	10
2.3.1. Terpenos.....	10
2.3.1.1. Triterpenos	10
2.3.1.2. Diterpenos.....	11
2.3.1.3. Monoterpenos	13
2.3.1.4. Sesquiterpenos	14
2.3.2. Flavonoides	17
2.3.3. Lignanos	19
2.3.4. 5,6-dihidro- α -pironas.....	21
2.4. Generalidades de <i>Hyptis urticoides</i>	22
3. HIPÓTESIS	24
4. OBJETIVOS.....	25
4.1. Objetivo general	25
4.2. Objetivos específicos.....	25
5. PARTE EXPERIMENTAL	26
5.1. Materiales y equipos.....	26
5.1.1. Material vegetal.....	26
5.1.3. Cromatografía en capa fina	27
5.1.4. Cromatografía en columna abierta.....	27
5.1.5. Cromatografía de líquidos de alta eficiencia (CLAE)	27
5.1.6. Ensayo de citotoxicidad	28
5.1.6.1. Compuestos de prueba	28
5.1.6.2. Línea celular.....	28
5.1.6.3. Soluciones utilizadas.....	28
5.2. Metodología.....	29
5.2.1. Obtención de aceites esenciales	29
5.2.2. Obtención del extracto	29
5.2.3. Eliminación de triterpenos del extracto	29
5.2.4. Fraccionamiento secundario.....	30
5.2.5. Fraccionamiento en columna abierta.....	30
5.2.5.1. Fraccionamiento de la fracción de AcOEt.	30
5.2.5.2. Fraccionamiento de la fracción F ₆₋₇	31
5.2.6. Decoloración.....	32
5.2.7. Análisis por CLAE de la fracción VII	32
5.2.8. Ensayo de citotoxicidad	33
5.2.8.1. Diluciones.....	33
5.2.8.1.1. Preparación de controles.....	33
5.2.8.1.2. Preparación de muestras.....	33
5.2.8.2. Bioensayo.....	34

5.2.8.2.1. Suspensión celular	34
5.2.8.2.2. Fijación celular	34
5.2.8.2.3. Tinción celular.....	34
5.2.8.2.4. Determinación de Cl_{50}	34
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
6.1. Estudio químico de los aceites esenciales de tres especies de <i>Hyptis</i>	36
6.1.1. Composición química del aceite esencial de hojas y flores de <i>Hyptis atrorubens</i>	36
6.1.2. Composición química del aceite esencial de hojas y flores de <i>Hyptis pectinata</i>	37
6.1.3. Composición química del aceite esencial de hojas y flores de <i>Hyptis spicigera</i>	37
6.2. Estudio químico del extracto orgánico de <i>Hyptis urticoides</i>	39
6.2.1. Obtención del extracto y fracciones	39
6.2.2. Estudio de citotoxicidad	40
6.2.3. Separación de los compuestos.....	41
6.2.4. Análisis de espectros	42
7. CONCLUSIONES	47
8. PERSPECTIVAS	48
9. BIBLIOGRAFÍA.....	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Algunos géneros representativos de Lamiaceae en la flora mexicana.	7
Figura 2. Flor(A) y ramas (B) de <i>Hyptis urticoides</i>	23
Figura 3. Cromatograma registrado por cromatografía de gases del aceite esencial de <i>Hyptis atrorubens</i>	36
Figura 4. Cromatograma registrado por cromatografía de gases del aceite esencial de <i>Hyptis pectinata</i>	37
Figura 5. Cromatograma registrado por cromatografía de gases del aceite esencial de <i>Hyptis spicigera</i>	37
Figura 6. Cromatograma de la fracción VII..	41
Figura 7. Cromatograma del reciclaje del pico 1 ($t_R=9.73$ min) de la fracción VII	42
Figura 8. Espectro en el UV correspondiente al pico 1 de la fracción VII.	42
Figura 9. Espectro en el UV correspondiente al pico 2 de la fracción VII.	43
Figura 10. Espectro en el IR del pico 1 de la fracción VII.	43
Figura 11. Espectro en el IR del pico 2 de la fracción VII	44
Figura 12. Espectro de ^1H -RMN del pico 1 de la fracción VII en CD_3OD a 400 MHz.	45
Figura 13. Espectro de ^1H -RMN del pico 2 de la fracción VII en CD_3OD a 400 MHz.	45
Figura 14. Espectro de ^{13}C -RMN del pico 1 de la fracción VII en CD_3OD a 100 MHz. ..	46
Figura 15. Espectro de ^{13}C -RMN del pico 2 de la fracción VII en CD_3OD a 100 MHz. ..	46

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Riqueza, endemismo y restricción de la familia Lamiaceae en México.....	6
Cuadro 2. Especies del género <i>Hyptis</i> en México.....	8
Cuadro 3. Usos etnofarmacológicos y farmacológicos de cinco especies de <i>Hyptis</i> nativas de México	9
Cuadro 4. Triterpenos de las especies de <i>Hyptis</i>	12
Cuadro 5. Diterpenos de especies de <i>Hyptis</i>	13
Cuadro 6. Monoterpenos del aceite esencial de las especies de <i>Hyptis</i>	15
Cuadro 7. Sesquiterpenos del aceite esencial de especies de <i>Hyptis</i>	16
Cuadro 8. Flavonoides de las especies de <i>Hyptis</i>	18
Cuadro 9. Lignanos de las especies de <i>Hyptis</i>	20
Cuadro 10. Lactonas de las especies de <i>Hyptis</i>	22
Cuadro 11. Clasificación taxonómica de <i>Hyptis urticoides</i>	22
Cuadro 12. Datos de las colectas de <i>Hyptis</i>	26
Cuadro 13. Características de las columnas utilizadas en CLAE	27
Cuadro 14. Condiciones para la eliminación de triterpenos en el extracto total.....	30
Cuadro 15. Fraccionamiento de la fracción de AcOEt.	31
Cuadro 16. Fraccionamiento de la fracción F ₆₋₇	32
Cuadro 17. Condiciones de análisis por CLAE.	33
Cuadro 18. Análisis por CG-EM de los compuestos identificados en el aceite esencial de <i>Hyptis atrorubens</i>	36
Cuadro 19. Análisis por CG-EM de los compuestos identificados en el aceite esencial de <i>Hyptis pectinata</i>	37
Cuadro 20. Análisis por CG-EM de los compuestos identificados en el aceite esencial de <i>Hyptis spicigera</i>	38
Cuadro 21. Cantidad de fracciones provenientes del extracto de acetona.	40
Cuadro 22. Actividad citotóxica de las fracciones obtenidas del extracto de acetona....	40

1. INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional tiene un lugar muy importante en la salud de muchos mexicanos siendo un componente esencial del patrimonio tangible e intangible de las culturas del mundo, a pesar de esto, la posible actividad biológica de muchas plantas medicinales aún no se ha estudiado y la falta de conocimiento sobre el tema ha provocado el uso indiscriminado o mal uso de estas con la falsa idea de que al ser un tratamiento alternativo proveniente de una fuente natural no genera riesgos o reacciones adversas en el organismo, por lo tanto el estudio de los productos naturales mexicanos cobra gran importancia ya que de esta forma se puede, analizar y probar la eficacia de las plantas medicinales, así como sugerir un uso adecuado, como tratamiento alternativo o como posibles fuentes para obtener o desarrollar nuevos fármacos (Cruz-Martínez et al., 2017).

El conocimiento histórico de la medicina tradicional es esencial para tener claridad y sustento de lo que se investiga. En México, fueron elaborados durante el siglo XV y XVI manuscritos sobre las poblaciones indígenas destacando la importancia de la medicina herbolaria en la historia de México. Uno de los ejemplos más importantes es el manuscrito Cruz-Badiano (*Libelus de medicinabilus indorum herbis*) escrito por Martín de la Cruz, un médico indígena mexicano, y traducido por Juan Badiano del náhuatl al latín, aunque mantiene conceptos en náhuatl para referirse a las plantas como se conocían en la cultura indígena. Contiene descripciones de las propiedades y aplicaciones de las plantas, animales y minerales autóctonos, junto con ilustraciones a color de plantas medicinales, que cubren muchas de las enfermedades del cuerpo humano comenzando por la cabeza y terminando con los signos de la muerte (Cruz-Martínez et al., 2017; Valdivia-Correa et al., 2016). Otro escrito muy importante en la historia de la medicina tradicional mexicana es el códice Florentino, en náhuatl, o su versión en español conocida como *Historia General de las cosas de la Nueva España* escrito por el franciscano español Bernardino de Sahagún en el cual se recopiló información de nombres y usos de plantas medicinales que eran utilizados por los indígenas aztecas para tratar diversos padecimientos, en este escrito no solo se recopiló información sobre plantas medicinales, sino también sobre los

animales y minerales del Nuevo Mundo. A pesar de que se tiene mayor información sobre la historia medicinal de la cultura azteca no son menos importante las prácticas médicas de la cultura maya que contribuyeron al avance de la medicina tradicional mexicana, entre los escritos más destacados de esta cultura se encuentra el documento llamado “Relaciones de los Mayas” en el cual existe información de las fuentes vegetales y animales que usaban los mayas para tratar sus padecimientos, contribuyendo así al desarrollo de la medicina (Cortez-Gallardo et al., 2004).

Al analizar los antecedentes históricos de la medicina tradicional en México es claro que el uso empírico de los productos naturales dio la base para la investigación de la etnofarmacología término que se refiere a “la exploración científica interdisciplinaria de agentes biológicamente activos tradicionalmente empleados u observados por el hombre” (Cortez-Gallardo et al., 2004) que comenzó a desarrollarse en los años noventas combinada con la etnobotánica, así creció el interés por explorar el uso de plantas medicinales en las poblaciones modernas expandiendo su aplicación por todo México sin tener limitantes de zonas geográficas o clases sociales. En 1994 se creó el primer herbario mexicano por Abigaíl Aguilar y colaboradores albergado en el Instituto Mexicano del Seguro Social que ha sido utilizado como base de numerosas investigaciones, sin embargo, es importante destacar que la investigación y recolección de datos de plantas medicinales ha cobrado gran interés no solo por los científicos del área sino también por las industrias farmacéuticas (Valdivia-Correa et al., 2016).

A pesar de que el género *Hyptis* comprende una gran variedad de especies, la especie *Hyptis urticoides* no ha sido muy estudiada en comparación con otras del mismo género pero resulta ser una especie muy interesante ya que se han descubierto metabolitos diversos en esta planta; una lactona insaturada de tipo 5,6-dihidro- α -pirona (hipurticina), una flavona (salvigenina) y un triterpenoide (ácido ursólico) (De Vivar et al., 1991). En el presente trabajo se describe la composición química del aceite esencial de tres especies de *Hyptis* así como la extracción y el aislamiento de dos flavonoides del extracto orgánico de las partes aéreas de *Hyptis urticoides*.

2. ANTECEDENTES

El desarrollo de aproximadamente la mitad de nuevos medicamentos desde 1994 se han originado de productos naturales. La producción de nuevos fármacos es un proceso complejo y costoso por lo que se han buscado alternativas para su elaboración siendo la síntesis química una alternativa muy usada pero debido al tiempo y dinero que esto conlleva se ha demostrado que es poco efectiva (Katiyar et al., 2012). Sin embargo, el uso de esta técnica en conjunto con los productos naturales hace más exitoso el proceso de desarrollo de un nuevo fármaco al contar con una fuente valiosa de moléculas con probable actividad biológica por parte de los productos naturales que puedan ser modificadas por síntesis química (Orhan, 2014).

Existen muchos ejemplos de desarrollo de nuevos fármacos a partir de fuentes vegetales. La morfina es un ejemplo del descubrimiento de moléculas químicas con uso potencial en la farmacéutica, se aisló del opio a partir de las vainas de semillas cortadas de la planta de adormidera (*Papaver somniferum*) hace aproximadamente 200 años esta y otras moléculas como la atropina y galantamina se han originado a partir de fuentes naturales que continúan siendo buenas moléculas modelo en el descubrimiento de fármacos (Katiyar et al., 2012).

Para que un nuevo medicamento llegue al mercado debe pasar por muchas etapas, en un inicio se incluye la identificación de nuevas moléculas que se pueden obtener mediante síntesis química o aislarse como metabolitos secundarios a partir de diversas fuentes naturales monitoreando la actividad biológica identificar a la entidad química. El fraccionamiento de una planta monitoreado por bioensayos adecuados puede dar como resultado un compuesto bioactivo aislado como un nuevo fármaco (Katiyar et al., 2012).

La extracción de los principios activos es un paso esencial en la evaluación de su bioactividad y caracterización química. Existen muchas técnicas de extracción, entre las que se incluyen, la percolación, infusión, maceración, entre otras. Siendo esta última una técnica ampliamente utilizada y adecuada para la extracción de pequeñas cantidades de material vegetal en el laboratorio; con la maceración se pueden extraer los metabolitos

secundarios del material vegetal, los cuales, no son esenciales para las funciones vitales de las plantas pues son el resultado del metabolismo secundario produciéndose bajo condiciones particulares, algunos de ellos, tienen la función de defender a las plantas del ataque de herbívoros, bacterias, virus, hongos y otros enemigos potenciales. Al dirigirse a diferentes receptores y enzimas de los depredadores por diferentes mecanismos de acción, los alcaloides, por ejemplo, pueden tener actividad agonista o antagonista de neurotransmisores, mientras que los isoflavonoides son fitoestrógenos, debido a la similitud estructural con las hormonas de estrógeno en los animales. Además de tener la función de defensa en las plantas poseen otras actividades biológicas. Los flavonoides y los ácidos fenólicos de *Chaerophyllum bulbosum* (Apiaceae) exhiben efectos inmunomoduladores, anticancerígenos y hepatoprotectores (Alfonso, 2003).

En México, debido a su biodiversidad se pueden encontrar una gran variedad de plantas capaces de producir metabolitos secundarios con actividad biológica, tal es el caso de la familia Lamiaceae una de las más importantes y ampliamente distribuidas en el país, que ocupa el sexto lugar por su riqueza a nivel mundial (Martínez-Gordillo et al., 2017); dentro de esta familia se encuentra el género *Hyptis* con un gran número de especies que son importantes en la medicina popular mexicana. Si bien este género tiene una considerable variedad de usos tradicionales, cabe destacar que casi todas las especies de *Hyptis* mexicanas se utilizan como remedios de uso múltiple en el tratamiento de alteraciones gastrointestinales e infecciones de la piel, así como para tratar el reumatismo, calambres y dolores musculares. Además, constituye una fuente de principios citotóxicos novedosos que incluyen flavonoides, lignanos y C6-alquenil-5,6-dihidro-alfa-pironas (Pereda-Miranda, 1995).

La investigación científica ha evidenciado el potencial farmacológico que tienen algunos productos aislados de *Hyptis* como son actividad antimicrobiana, citotóxica, antiinflamatoria, insecticida, por citar algunas (Falcão y Menezes, 2003).

2.1. Generalidades de la familia Lamiaceae

La familia Lamiaceae es una de las más grandes e importantes en el mundo, en México se han encontrado 33 géneros con 598 especies nativas de las cuales 396 son endémicas y agrupados en 20 géneros, los más representativos por su gran riqueza de especies endémicas son *Salvia*, *Scutellaria*, *Stachys*, *Hedeoma* e *Hyptis* (Martínez-Gordillo et al., 2017). En cuanto a la distribución geográfica el estado de Oaxaca posee la mayor cantidad de géneros (25) y especies (125) nativas, seguido de los estados de Puebla, Chiapas y Veracruz, con más de 20 géneros cada uno (Cuadro 1).

La morfología de la familia Lamiaceae es muy diversa, entre los principales miembros de esta familia se tienen árboles, arbustos y plantas herbáceas. Sus raíces son escasamente tupidas, tallos casi siempre rectangulares, erectos, grandes y delgados. Indumentum presente en la mayoría de las especies con tricomas por lo general parecidos a vellosidades y raramente escamosos. Hojas opuestas decusadas en su mayoría, aunque a veces pueden ser verticuladas. Inflorescencia bracteada compuesta de cimbras (Figura2) (Harley *et al.* 2004).

Además las especies de esta familia se caracterizan por producir grandes cantidades de aceites esenciales en sus tejidos vegetales (Roldán et al., 2010). A pesar de los múltiples usos que pueden tener los componentes bioactivos de estas plantas la OMS reporta que entre el 70% y 80 % de la población mundial los utiliza con fines terapéutico-medicinales pues se ha descubierto que estos pueden ser antimicrobianos, antifúngicos, antioxidantes, etc. Los metabolitos secundarios que se encuentran en estas plantas son los alcaloides, los flavonoides, los taninos y otros compuestos fenólicos (Rama-Rao et al., 2015).

Cuadro 1. Riqueza, endemismo y restricción de la familia Lamiaceae en México.

Estados (km ²)	Géneros	Especies	Géneros / Log	Especies / Log	Endémicas	Microendémicas	Exclusivas
AGS (5,616)	13	46	1.51	5.33	18	0	0
BC (71,450)	15	53	1.34	4.74	13	9	40
BCS (73,909)	9	24	0.8	2.14	15	8	8
CAM (57,508)	11	24	1	2.19	0	0	1
CHIH (247,413)	17	81	1.37	6.52	31	2	3
CHIS (73,311)	21	133	1.87	11.87	31	8	32
CDMX (1,495)	12	38	1.64	5.2	22	0	0
COAH (151,595)	15	87	1.26	7.29	41	15	19
COL (5,627)	10	47	1.16	5.44	19	1	1
DGO (123,364)	18	102	1.54	8.62	63	9	9
GRO (63,596)	13	127	1.18	11.48	85	22	23
GTO (30,607)	16	71	1.55	6.87	41	3	3
HGO (20,821)	15	95	1.51	9.55	54	7	7
JAL (78,596)	19	151	1.69	13.4	103	26	26
MÉX (22,352)	15	98	1.5	9.79	62	5	5
MICH (58,599)	17	119	1.55	10.84	75	6	6
MOR (4,879)	10	52	1.18	6.12	31	0	0
NAY (27,857)	14	74	1.37	7.23	42	2	2
NL (64,156)	18	103	1.63	9.31	56	13	14
OAX (93,757)	25	161	2.18	14.06	89	17	15
PUE (34,309)	23	139	2.2	13.31	77	7	7
QRO (11,691)	15	78	1.6	8.33	42	1	1
QROO (44,706)	13	24	1.21	2.24	0	0	1
SIN (57,365)	13	61	1.19	5.57	37	3	4
SLP (61,138)	16	89	1.45	8.08	47	5	5
SON (179,355)	19	81	1.57	6.7	31	4	6
TAB (24,731)	14	33	1.38	3.26	1	0	0
TAM (80,249)	16	73	1.42	6.46	31	2	2
TLX (3,997)	8	17	0.96	2.05	9	0	0
VER (71,824)	23	124	2.06	11.09	47	4	4
YUC (39,524)	13	26	1.23	2.46	1	0	0
ZAC (75,275)	14	64	1.25	5.7	31	0	0
TOTAL (1,960,672)	33	598	2.28	41.27	396	179	244

Géneros/Log. (riqueza de géneros/ logaritmo natural del área), Especies/ Log. (riqueza de especies/ logaritmo natural del área (índice de diversidad taxonómica)). Las especies exclusivas se restringen a un estado, aunque no son necesariamente endémicas de éste o del país. El área de las entidades se basa en INEGI (2015) (Martínez Gordillo et al., 2017).

Abreviaturas: Aguascalientes (AGS), Baja California (BC), Baja California Sur (BCS), Campeche (CAM), Ciudad de México (CDM), Chiapas (CHIS), Chihuahua (CHIH), Coahuila (COAH), Colima (COL), Durango (DGO), Estado de México (MÉX), Guanajuato (GTO), Guerrero (GRO), Hidalgo (HGO), Jalisco (JAL), Michoacán (MICH), Morelos (MOR), Nayarit (NAY), Nuevo León (NL), Oaxaca (OAX), Puebla (PUE), Querétaro (QRO), Quintana Roo (QROO), San Luis Potosí (SLP), Sinaloa (SIN), Sonora (SON), Tabasco (TAB), Tamaulipas (TAM), Tlaxcala (TLX), Veracruz (VER), Yucatán (Yuc), Zacatecas (ZAC).

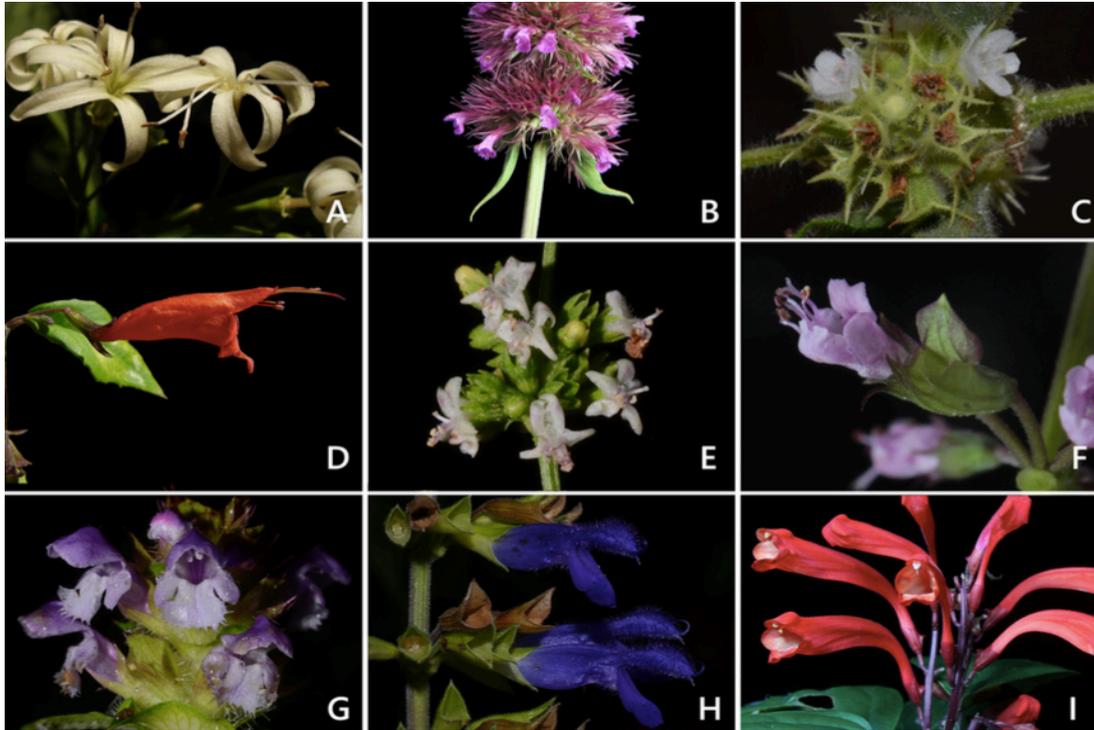


Figura 1. Algunos géneros representativos de Lamiaceae en la flora mexicana.

A) *Aegiphila* (*A. costaricensis* Moldenke), **B)** *Agastache* (*A. palmeri* (B.L.Rob.) Standl.), **C)** *Asterohyptis* (*A. stellulata* (Benth.) Epling), **D)** *Clinopodium* (*C. macrostemum* (Moc. & Sessé ex Benth.) Kuntze), **E)** *Hyptis* (*H. verticillata* Jacq.), **F)** *Ocimum* (*O. carnosum* (Spreng.) Link & Otto ex Benth.), **G)** *Prunella* (*P. vulgaris* L.), **H)** *Salvia* (*S. mexicana* L.), **I)** *Scutellaria* (*S. formosa* Leonard) (Martínez Gordillo et al., 2017).

2.2. Características del género *Hyptis*

El género *Hyptis* perteneciente a la familia Lamiaceae cuenta con 35 especies nativas en México de las cuales 17 son endémicas, se caracteriza por tener flores sin bractéolas en la base del cáliz, compuesta por hierbas, arbustos o pequeños árboles. Se distribuye en el país principalmente en las zonas tropicales del sur y a lo largo de ambas costas (Cuadro 2) pero se pueden encontrar algunas especies por toda la República Mexicana.

Cuadro 2. Especies del género *Hyptis* en México (marcadas con * endémicas, para abreviaturas ver Cuadro 1) (Martínez-Gordillo et al., 2017).

Especies de <i>Hyptis</i>	Ubicación en México
<i>Hyptis albida</i>	AGS, BC, BCS, CHIH, COL, DGO, GTO, HGO, JAL, MICH, NAY, OAX, PUE, QRO, SIN, SLP, SON, TAM, VER, ZAC.
* <i>Hyptis anitae</i>	BC, BCS.
<i>Hyptis atrorubens</i>	CHIS, OAX, PUE, TAB, VER.
* <i>Hyptis collina</i>	BCS.
<i>Hyptis brevipes</i>	CHIS, GRO, OAX, PUE, TAB, VER.
<i>Hyptis capitata</i>	CAM, CHIS, COL, DGO, GRO, JAL, MICH, NAY, OAX, PUE, QROO, SIN, SLP, TAB, VER, YUC.
<i>Hyptis confertal</i>	CHIS, OAX, TAB, VER.
* <i>Hyptis cualensis</i>	JAL.
* <i>Hyptis decipiens</i>	BCS.
<i>Hyptis emoryi</i>	BC, BCS, SON.
<i>Hyptis intermedia</i>	CHIS.
* <i>Hyptis involucrata</i>	MÉX.
* <i>Hyptis iodantha</i>	GRO.
* <i>Hyptis laniflora</i>	BCS, SON.
<i>Hyptis lantanifolia</i>	CHIS, NAY, VER.
* <i>Hyptis macvaughii</i>	JAL, NAY.
* <i>Hyptis mixta</i>	OAX.
<i>Hyptis mutabilis</i>	AGS, CAM, CHIH, CHIS, COL, DGO, GRO, GTO, HGO, JAL, MÉX, MICH, MOR, NAY, NL, OAX, PUE, QRO, QROO, SIN, SLP, SON, TAB, TAM, VER, YUC, ZAC.
<i>Hyptis oblongifolia</i>	COL, GRO, JAL, MÉX, MICH, NAY, OAX, SIN, TAB, ZAC.
<i>Hyptis pectinata.</i>	CAM, CHIS, COL, GRO, HGO, JAL, MÉX, MICH, NAY, OAX, PUE, QROO, SLP, SON, TAB, TAM, VER, YUC.
* <i>Hyptis pinetorum</i>	JAL.
* <i>Hyptis pseudolantana</i>	GRO, JAL, MICH.
<i>Hyptis pulegioides</i>	CHIS.
<i>Hyptis recurvata.</i>	CHIS, VER.
* <i>Hyptis rhytidea</i>	DGO, JAL, NAY, SIN.
<i>Hyptis scandens</i>	CAM.
* <i>Hyptis septentrionalis</i>	DGO, SIN, SON.
<i>Hyptis sinuata</i>	CHIS, TAB.
<i>Hyptis spicigera</i>	CAM, CHIS, COL, GRO, JAL, MÉX, MICH, MOR, NAY, OAX, QROO, VER, YUC.
<i>Hyptis suaveolens</i>	CAM, CHIH, CHIS, COL, GRO, JAL, MÉX, MICH, MOR, NAY, OAX, PUE, QRO, QROO, SIN, SLP, SON, TAB, TAM, VER, YUC.
* <i>Hyptis subtilis</i>	COL, GRO, JAL, MÉX, MICH, NAY, OAX, SIN.
* <i>Hyptis tephrodes</i>	BCS, NAY, SIN, SON.
* <i>Hyptis tomentosa</i>	CHIS, GRO, OAX, PUE, VER.
<i>Hyptis urticoides</i>	BCS, CHIS, COL, DGO, GRO, JAL, MÉX, MICH, NAY, OAX, PUE, SON, VER, ZAC.
<i>Hyptis verticillata</i>	CAM, CHIS, HGO, MICH, NAY, OAX, PUE, QRO, QROO, SLP, TAB, TAM, VER, YUC.

Hyptis es un género rico en especies de gran importancia económica debido a las aplicaciones que puede tener en diversas industrias, muchas investigaciones han podido probar la presencia de moléculas con potencial farmacológico en sus diversas especies, principalmente con actividad antimicrobiana, antifúngica, citotóxica, antiinflamatoria, entre otras. La actividad de las moléculas encontradas en las especies de *Hyptis* son tan interesantes que se han estudiado por separado los extractos orgánicos de algunas de ellas, encontrando diversos metabolitos con aplicación farmacológica y etnofarmacológica (Cuadro 3) (Falcão y Menezes, 2003).

Cuadro 3. Usos etnofarmacológicos y farmacológicos de cinco especies de <i>Hyptis</i> nativas de México (Falcão y Menezes, 2003).		
Especie	Usos etnofarmacológicos	Usos farmacológicos
<i>H. suaveolens</i>	Propiedades antisépticas comprobadas.	Actividades micotóxica, metacida por la presencia de D-limoneno y mentol; a potencial antibacteriano contra bacterias Gram(+) y Gram(-).
<i>H. verticillata</i>	Propiedades para combatir infecciones comprobada; vía oral para dolores de cabeza, estómago y desórdenes gastrointestinales e infecciones cutáneas.	Usado en cosméticos como blanqueadores de la piel, actividad citotóxica en células KB y HT29, cáncer de mama, colon, pulmón, próstata, fibrosarcoma, actividad similar a la podofilotoxina
<i>H. pectinata</i>	Utilizada en infecciones, fiebres, enfermedades de la piel, trastornos gástricos, rinofaringitis y congestión pulmonar.	Significante actividad citotóxica en diferentes líneas celulares cancerígenas; efecto antinociceptivo y antiedematogénico.
<i>H. mutabilis</i>	Desórdenes gastrointestinales y malaria.	Actividad anti-ulcerogénica proveniente del aceite esencial
<i>H. albida</i>	En el tratamiento de desórdenes del tracto gastrointestinal y como repelente de insectos; utilizada en la medicina popular por sus propiedades antisépticas.	El extracto metanólico es un antimicrobiano contra <i>C. albicans</i> y otras bacterias Gram(+) y Gram(-)

2.3. Metabolismo de *Hyptis*

El metabolismo del género *Hyptis* es de gran interés dentro de la medicina tradicional debido a las diferentes aplicaciones que tienen los compuestos aislados. El primer estudio químico que se realizó en 1952 a *Hyptis suaveolens* mostró que el aceite esencial de esta planta presenta actividad contra varias infecciones (Nayak y Guha, 1952), desde entonces los investigadores se han interesado en estudiar este género descubriendo componentes químicos como triterpenos y flavonoides (Pereda-Miranda y Delgado, 1990). Actualmente se han descubierto una gran variedad de moléculas en las especies de *Hyptis*, incluidos a los terpenoides como triterpenos, diterpenos con un esqueleto de tipo labdano y abietano, así como monoterpenos y sesquiterpenos; además de derivados de lignanos, alfa-pironas, alcaloides, taninos, saponinas y flavonoides principalmente (Falcão y Menezes, 2003; Pereira et al., 2018). Las rutas de síntesis de los metabolitos secundarios más representativos de este género son principalmente la vía del acetato-mevalonato, vía del ácido siquímico y biosíntesis mixta (Pereira et al., 2018).

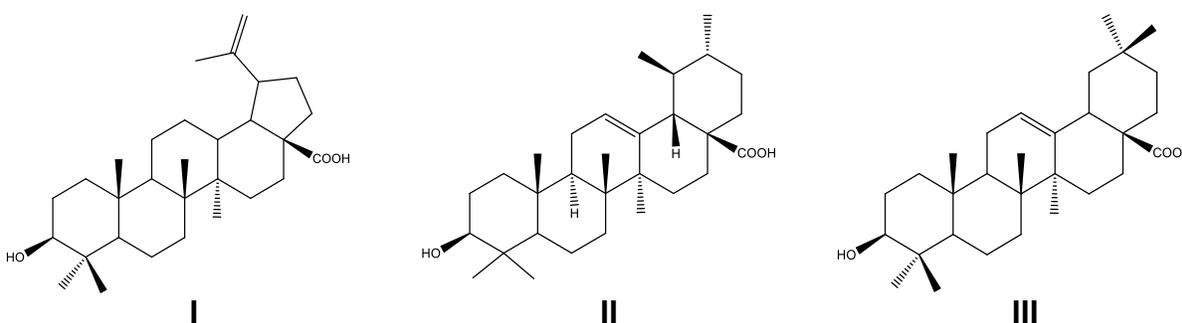
2.3.1. Terpenos

Los terpenos representan la clase más grande y diversa de sustancias químicas producidas por las plantas, algunas de estas moléculas son utilizadas en funciones vitales como crecimiento y desarrollo, pero la mayoría se usan para interacciones químicas más especializadas como lo es la protección del ambiente biótico y abiótico. Los aceites esenciales del género *Hyptis* son ricos en terpenos volátiles y no volátiles destacando monoterpenos y sesquiterpenos, estas son algunas de las moléculas responsables de las múltiples actividades biológicas que pueden tener los aceites esenciales, además de muchas aplicaciones en la medicina tradicional mexicana (Ríos-Tesch et al., 2015; Tholl, 2015).

2.3.1.1. Triterpenos

Los triterpenos están constituidos por 30 átomos de carbono formados por la condensación de dos moléculas de Farnesil difosfato (FPP) y producir el escualeno que

es el precursor de los triterpenos (Dewick, 2009), estos son el grupo de metabolitos secundarios más abundantes en las especies del género *Hyptis* entre los que destacan el ácido betulínico (I), ácido ursólico (II) y ácido oleanólico (III) por su amplia distribución (Cuadro 4) (Falcão y Menezes, 2003). Se reportan como polvos blancos y casi siempre como los compuestos mayoritarios de muchas plantas; en *Hyptis verticillata* se han encontrado el ácido oleanólico y ácido ursólico (Picking et al., 2013) con actividad anticancerígena-antiproliferativa (apoptosis e inhibición de la síntesis de ADN) en células de cáncer de hígado, mama y colon (He X y Liu R, 2007).



2.3.1.2. Diterpenos

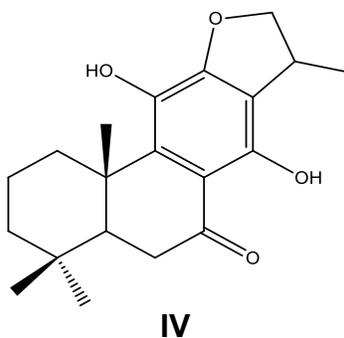
Los diterpenos están constituidos por 20 átomos de carbono biosintetizados por ciclaciones progresivas del geranilgeranilpirofosfato (GGPF) (Marcano D y Hasegawa M, 2002). *Hyptis spicigera* es una de las especies de *Hyptis* con la mayor cantidad de diterpenos identificados (Falcão y Menezes, 2003) y se han aislado de las partes aéreas siete diterpenos de tipo labdano (Cuadro 5) algunos de ellos con propiedades insecticidas que demostraron inhibir significativamente el crecimiento de insectos en granos almacenados (Fragoso-Serrano, et al., 1999).

Cuadro 4. Triterpenos de las especies de *Hyptis* (Falcão y Menezes, 2003).

Especie	Triterpenos
<i>H. suaveolens</i>	Ácido urs-12-en-3 β -ol-29-oico, ácido ursólico; ácido betulínico; ácido 3 β -hidroxilup-12-en-27-óico; ácido 3 β -hidroxilup-12-en-28-óico; ácido hiptadienico; ácido suaveólico; ácido suaveolol; ácido oleanólico; ácido α -peltoboy quinólico; friedelina; lupeol; acetato de lupeol; α -amirina; β -amirina.
<i>H. capitata</i>	Ácido oleanólico; ácido ursólico; ácido pomólico; ácido betulínico; ácido oleanólico 3-O-(3', 3'-dimetil) succinato; ácido 2 α -hidroxiursólico; ácido tormentico; ácido maslínico; ácido hiptático A; ácido hiptático B.
<i>H. verticillata</i>	Ácido ursólico; ácido maslínico; ácido 2 α -hidroxiursólico; ácido oleanólico.
<i>H. emoryi</i>	Ácido betulínico.
<i>H. oblongifolia</i>	Ácido Ursólico; ácido maslínico; ácido 2 α -hidroxiursólico; ácido pomólico; ácido 2 α , 3 α - dihidroxioleanólico.
<i>H. mutabilis</i>	Metil betulinato; acetato de ácido oleanólico; ácido ursólico; ácido Oleanólico; ácido maslínico; ácido 3 α -19 α -dihidroxiurs-12en-28-óico; 3 β acetóxi-oleanan-13 β , 28 olídeo.
<i>H. rombóides</i>	Ácido betulínico; ácido ursólico; ácido 2 α -hidroxiursólico; ácido 2 α , 3 α , 24-trihidroxi olean-12en- 28 óico; 6-desidroleanona.
<i>H. albida</i>	Ácido betulínico; ácido ursólico; ácido oleanólico; ácido 3 β -acetil oleanólico; 3 β -hidroxiolean-28, 13 β - ólido; 3 β -hidroxi-11 α , 12 α -epoxiolean-28, 13 β -ólido; 3 β -hidroxiolean-11-en-28, 13 β -ólido.
<i>H. urticoides</i>	Ácido ursólico.

Cuadro 5. Diterpenos de especies de *Hyptis* (Falcão y Menezes, 2003).

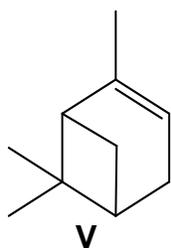
Espece	Diterpenos
<i>H. spicigera</i>	19-acetoxi-2 α , 7 α , 15-trihidroxiabda-8(17),(13Z)-dieno; 15,19-diacetoxi-2 α , 7 α -dihidroxiabda-8(17),(13Z)-dieno; 7 α , 15,19-triacetoxi-2 α -hidroxiabda-8(17),(13Z)-dieno; 19-acetoxi-2 α , 7 α -dihidroxiabda-8(17),(13Z)-dien-15- al; 19-acetoxi-7 α ,15-dihidroxiabda-8(17),(13Z)-dien-2-ona; 19-acetoxi-2 α , 7 α -dihidroxiabda-14,15-dinorlabd-8(17)- en-13-ona; 2 α ,7 α ,15,19-tetrahidroxi-ent-labda- 8(17),(13Z)-dieno.
<i>H. dilatata</i>	Epimetil rosmanol; epietil rosmanol; esquirolim B.
<i>H. salzmanii</i>	(-) salzol.
<i>H. fructicosa</i>	Horminona;14-metoxi taxodiona; hyptol (IV) .
<i>H. umbrosa</i>	Umbrosona.



2.3.1.3. Monoterpenos

Los monoterpenos constan de 2 unidades de isopreno (10 carbonos) (De Vivar, 2006) son sustancias lipofílicas, volátiles, responsables del olor característico de muchas plantas como el pineno, presente en los aceites esenciales de algunas plantas medicinales incluyendo a especies de *Hyptis* como *H. spicigera* que contiene los dos isómeros (α , β) y *H. pectinata* que solo contiene el isómero α (**V**), por citar algunas especies (Cuadro 6). Debido a su olor característico el pineno puede ser encontrado en perfumes finos, productos de higiene y cosméticos; además se ha descrito en la literatura

que el β -pineno tiene efectos farmacológicos; como antibacterial, anticonvulsivante, miorrelajante e hipotensor (Alves et al., 2013). Otro monoterpeno encontrado en algunas especies de *Hyptis* (*H. suaveolens*, *H. spicigera*, *H. emoryi*, *H. recurvata*, *H. crenata* e *H. goyazensis*) (Falcão y Menezes, 2003) es el 1,8-cineol (VI) al cual se le atribuyen propiedades antiinflamatorias y como agente mucolítico en enfermedades de vías respiratorias; utilizado en la medicina tradicional como agente secretolítico para la bronquitis, sinusitis y resfriados (Juergens et al., 2003). Es un metabolito abundante en *Hyptis suaveolens* donde se encontró recientemente como el componente mayoritario del aceite esencial obtenido de las hojas (Ríos-Tesch et al., 2015) cabe mencionar que esta planta es una de las especies de *Hyptis* de la que mayor cantidad de monoterpenos se han aislado (Cuadro 6).



2.3.1.4. Sesquiterpenos

Los sesquiterpenos contienen 15 átomos de carbono formados de 3 unidades C_5 Isopentenil difosfato (IPP), generalmente sintetizados a través de la vía mevalonato; el precursor fundamental de los sesquiterpenos es el FPP (Dewick, 2009). Se han podido identificar algunos sesquiterpenos en el género *Hyptis* (Cuadro 7) (Falcão y Menezes, 2003). El β -cariofileno (VII) es uno de los sesquiterpenos más abundantes entre las especies de *Hyptis* siendo un metabolito con gran importancia dentro de la medicina tradicional por su potencial actividad antiparasitaria contra *Leishmania braziliensis*, además de tener efecto analgésico en dolor neuropático e inflamatorio (Leite-Nadghia et al, 2013).

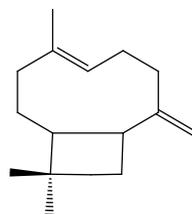
En un estudio reciente del aceite esencial de *H. atrorubens* se encontró que el óxido de cariofileno fue el componente mayoritario, este metabolito destaca por su actividad antiinflamatoria, analgésica y larvicida contra *Aedes albopictus* con una $CL_{50} = 65.6 \mu\text{g/mL}$ en 24h y $CL_{50} = 58.3 \mu\text{g/mL}$ en 48 h (Kerdudo et al., 2016).

Cuadro 6. Monoterpenos del aceite esencial de las especies de *Hyptis* (Falcão y Menezes, 2003).

Especie	Monoterpenos del aceite esencial
<i>H. suaveolens</i>	Canfeno ; p-cymeno; fenchol; fenchona; mentol; β -felandreno; p-menta- 2, 4 (8) – dieno; α - felandreno; linalool; acetato de citronelilo; óxido de piperitona; acetato de geranilo; tujano; felandreno; α -pineno; mircenol; γ - terpineno; β -pineno; limoneno; sabineno; 1,8 – cineol; terpinen-4-ol; terpinoleno; α -terpineol; cineol; l-sabineno; D-limoneno; α -terpineno.
<i>H. capitata</i>	Acetato de citronelila; óxido de piperitona; acetato de geranilo.
<i>H. verticillata</i>	α -pineno; β -pineno; timol
<i>H. spicigera</i>	α -pineno; β -pineno; sabineno; 1,8 – cineol; terpinoleno; α -tujeno; limoneno; terpinen-4-ol.
<i>H. pectinata</i>	Mirceno; timol; α -pineno; α -tujeno; γ -terpineno; p-cimeno.
<i>H. emoryi</i>	Neral; citronelal; borneol; geraniol; carveol; piperitenol; acetato de bornilo; geranial; l-carvona; β -felandreno; piperitenona; canfeno; piperitona; camfora; linalool; α -felandreno; γ -terpineno; mircenol; terpinen-4-ol; β -pineno; limoneno; α -pineno; 1,8 – cineol; α -tujeno; sabineno; terpinoleno
<i>H. polyantha</i>	Sabineno; 1-mentol.
<i>H. crenata</i>	β -pineno; α -pineno; 1,8 – cineol; limoneno; terpinoleno; Borneol; alcanfor
<i>H. recurvata</i>	1,8 – cineol .
<i>H. mutabilis</i>	Alcanfor; mircenona; cis-dihidrocarvona; trans- dihidrocarvona.
<i>H. goyazensis</i>	β -pineno; alcanfor; α -pineno; 1,8 – cineol.

Cuadro 7. Sesquiterpenos del aceite esencial de especies de *Hyptis* (Falcão y Menezes, 2003).

Especie	Sesquiterpenos del aceite esencial
<i>H. suaveolens</i>	α -humuleno; α -cariofileno; óxido de cariofileno; Bicyclogermacreno; germacreno D; β -cariofileno; germacreno B; elemeno; β -elemeno; Guaia – 1(5) – en – 11 – ol; (E) – cariofileno; trans-a-bergamoteno; Cis-a-bergamoteno; α -copaeno; α -bergamoteno; espatulenol; β -bourboneno; α -bulneseno; δ -cadineno; γ -cadineno.
<i>H. capitata</i>	β -cariofileno.
<i>H. spicigera</i>	β -cariofileno; óxido de cariofileno.
<i>H. pectinata</i>	β -cariofileno; óxido de cariofileno; germacreno D; bicyclogermacreno; β -elemeno.
<i>H. atrorubens</i>	Óxido de cariofileno; β -cariofileno
<i>H. emoryi</i>	β -cariofileno; α -humuleno; trans- β -farneseno; δ -cadineno; γ -cadineno; elemol; acetato de linacilo.
<i>H. crenata</i>	β -cariofileno.
<i>H. glomerata</i>	β -cariofileno; γ -cadineno; guaiol; Cis-calameneno.
<i>H. mutabilis</i>	β -cariofileno; germacreno D; bicyclogermacreno; β -humuleno; α -cubebeno; α -copaeno; β -burbureno; β -elemeno; α -cubebeno; calameneno.
<i>H. floribunda</i>	α -copaeno.



VII

2.3.2. Flavonoides

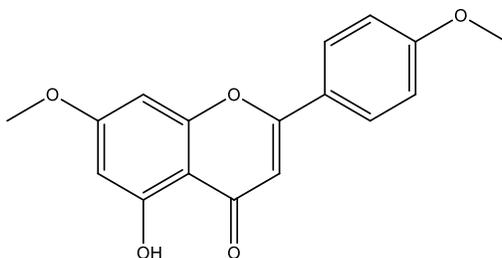
Los flavonoides forman un grupo muy grande de productos naturales formados por un núcleo de difenilpropano, compuesto de dos anillos bencénicos (anillos A y B) unidos por una cadena de tres carbonos (C6-C3-C6), la cual normalmente forma un centro heterocíclico oxigenado (anillo C) (Scalbert et al. 2005).

Algunas de las actividades más importantes de los flavonoides son antioxidantes, antiinflamatorias, antivirales, antimutagénicas, anticancerígenas, antialérgicas y un papel protector frente a enfermedades cardiovasculares, cáncer y diversas patologías.

Existen varios subgrupos de flavonoides que incluyen chalconas, flavonas, flavonoles e isoflavonas que tienen fuentes principales únicas, por ejemplo, las cebollas y el té son ricos en flavonoles y flavonas (Panche et al., 2016). Estos metabolitos se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas en varias partes incluyendo las partes aéreas como es el caso de *Hyptis albida* de donde se han aislado flavonas como la 5-hidroxi-3,7,4'-trimetoxiflavona, 5,7-dihidroxi-3,4'-dimetoxiflavona (ermanina), 5,7-dihidroxi-6,8,4'-trimetoxi-flavona (nevadensina A), 5-hidroxi-6,7,8,4'-tetrametoxiflavona (gardenina B) y 5-hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona (**VIII**) (Pereda-Miranda y Delgado, 1990) de esta última se sabe que tiene un efecto contra enzimas α -glucosidasa y α -amilasa (Krishna et al., 2015), efecto inhibitorio de citotoxicidad inducida con D-GaLN en hepatocitos de ratón (Chaipech et al., 2012), además de actividad antioxidante (Ben et al., 2011). De las especies de *Hyptis*, de *H. capitata* se han aislado más flavonoides (Cuadro 8) (Falcão y Menezes, 2003)

Cuadro 8. Flavonoides de las especies de *Hyptis* (Falcão y Menezes, 2003).

Especie	Flavonoides
<i>H. capitata</i>	Apigenina - 4', 7-dimetil éter; kaempferol-3- ramnoglicosido; 5, 7, 4'- trimetil kaempferol; 4'- hidroxí -3, 5, 7 - trimetoxiflavona; 4'- benziloxi - 3 - metoxi - 5, 7 -dihidroxiflavona; 3, 5, 7 - trimetoxi derivado de 4'- benziloxi - 3 - metoxi - 5, 7 - dihidroxiflavona.
<i>H. verticillata</i>	Sideritoflavona.
<i>H. tomentosa</i>	5-hidroxi-4', 6, 7, 8 - tetrametoxiflavona; 5-hidroxi-3', 4', 6, 7 - tetrametoxiflavona; eupatorina.
<i>H. romboides</i>	Kaempferol; Kaempferol-3-O-rutinósido.
<i>H. albida</i>	Apigenina- 7, 4'- dimetil éter; kaempferol 3, 7, 4'- trimetil éter; ermanina; nevadensina A; gardeningina B .
<i>H. urticoides</i>	Salvigenina.
<i>H. salzmanii</i>	4, 2', 6', trihidroxí- 4'- metoxichalcona; (+) - naringenina - 7, 4'- dimetil éter.

**VIII**

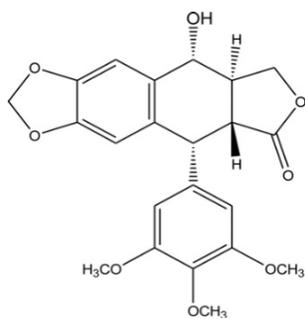
2.3.3. Lignanos

Los lignanos son un grupo de metabolitos secundarios ampliamente distribuido entre las especies vegetales, estos son biosintetizados a través de la ruta del ácido siquímico cuya estructura base está formada por dos unidades de fenilpropano unidas por el átomo central de sus cadenas laterales. Estas moléculas desempeñan funciones muy importantes en las plantas, pero principalmente son sintetizados para su defensa lo que convierte a estos metabolitos en moléculas con importante actividad biológica que en los últimos años se han seguido estudiando y descubriendo nuevas aplicaciones (Boluda et al., 2005; Drago-Serrano et al., 2006).

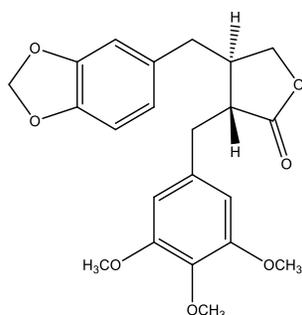
Hyptis verticillata es la especie con el mayor número de lignanos aislados dentro del género *Hyptis* (Cuadro 9) y cabe señalar que son los metabolitos más abundantes con actividad biológica encontrados en esta planta (Falcão y Menezes, 2003; Picking et al., 2013). Del estudio biodirigido del extracto de *Hyptis verticillata* se aislaron diez lignanos del tipo podofilotoxina con actividades citotóxicas no específicas ($CI_{50} < 0.01 \mu\text{g/mL}$) y algunos de ellos fueron inhibidores de *Candida albicans* ($CI_{50} 0.2-1.0 \mu\text{g/mL}$) (Novelo et al., 1993). En 1994 se aisló la podofilotoxina (**IX**) y sus derivados del extracto orgánico de *H. verticillata* (Kuhnt et al., 1994), este lignano es de gran interés por su actividad citotóxica, antiviral y como precursor de los fármacos antineoplásicos que se obtienen principalmente de las especies *Podophyllum*. *H. verticillata* representa una alternativa para la obtención de lignanos análogos a la podofilotoxina (Farkya, 2004). Recientemente, se reportó la presencia de seis lignanos mayoritarios de esta especie, podofilotoxina, deshidropodofilotoxina, desoxipodofilotoxina, yateína (**X**), 5-metoxideshidropodofilotoxina y la β -peltantina (**XI**) (Orendain, 2016).

Cuadro 9. Lignanos de las especies de *Hyptis* (Falcão y Menezes, 2003).

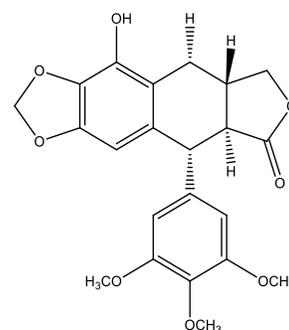
Especie	Lignanos
<i>H.capitata</i>	2, 3 – di (3', 4'- metilenedioxibencil) 2-buten-4-ólido;
<i>H.verticillata</i>	Dehidropodofilotoxina; Hyptinina; Desidrodesoxipodofilotoxina; 4'- demetil desoxi podofilotoxina; Podofilotoxina; Podorhizol; Epipodorhizol; 5-metoxi desidropodofilotoxina; Desidro-β- peltatin metil éter; iso desoxipodofilotoxina; (-) – yateína; Desoxipicropodofilina; α-apopicropodofilina; β-peltantina.
<i>H.tomentosa</i>	Sesamina; Desoxipodofilotoxina.
<i>H.salzmanii</i>	(+) – sesamina; (-) – cubebina; (-) – hinokinina; (-)



IX



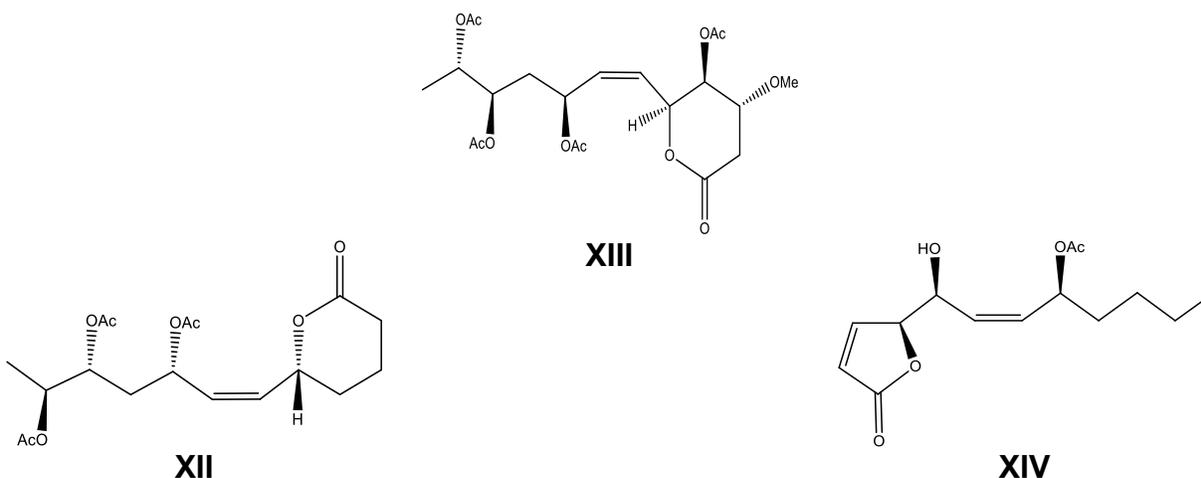
X



XI

2.3.4. 5,6-dihidro- α -pironas

Se sabe que una serie de productos naturales con actividad citotóxica tienen en común en su estructura química la unidad 5,6-dihidro- α -pirona como la sinargentólida B aislada de *Syncolostemon* (Lamiaceae) en 1998 (Kavirayani et al., 2013). De igual forma, en otros géneros de la familia Lamiaceae se han encontrado metabolitos con esta estructura, la primera fue la hiptólida (XII) aislada de *H. pectinata* (Achmad et al., 1987). Posteriormente, Pereda Miranda y colaboradores (1993) aislaron de esta planta tres moléculas más, pectinólida A, pectinólida B y pectinólida C (Cuadro 10) que resultaron tener actividad citotóxica con $CI_{50} < 4$ ug/mL, además, la pectinólida A mostró una actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*. En los últimos años, se han aislado cinco nuevas lactonas en esta especie, cuatro de ellas fueron reportadas en 2003 y se conocen como pectinólida D, pectinólida E, pectinólida F (XIII) y pectinólida G (Boalino et al., 2003). Y la última reportada en 2005 por Fragoso-Serrano y colaboradores designada como pectinólida H (XIV). Debido a la actividad antimicrobiana tan significativa y la necesidad por encontrar agentes antimicrobianos para combatir cepas multiresistentes se ha reportado la síntesis de esta molécula (Ramesh y Nitin, 2015).



Cuadro 10. Lactonas de las especies de <i>Hyptis</i> (Falcão y Menezes, 2003).	
Especie	Lactonas
<i>H. spicigera</i>	Espicigera – δ – lactona; espicigerólida
<i>H. pectinata</i>	Hiptolida ; pectinólida A; pectinólida B; pectinólida C, pectinólida D, pectinólida E, pectinólida F, pectinólida G, pectinólida H.
<i>H. oblongifolia</i>	4-desacetoxi-10-epi-olguina ; Derivado del 4-desacetoxi-10-epi-olguina con R ₁ =OH, R ₂ =OMe; derivado del 4-desacetoxi-10-epi-olguina con R ₁ =R ₂ =OH
<i>H. urticoides</i>	Hipurcina

2.4. Generalidades de *Hyptis urticoides*.

Cuadro 11. Clasificación taxonómica de <i>Hyptis urticoides</i> .	
Reino	Plantae
Clase	Magnoliopsida
Orden	Lamiales
Familia	Lamiaceae
Genero	<i>Hyptis</i>
Epíteto específico	<i>urticoides</i>
Nombre científico	<i>Hyptis urticoides</i> Kunth
Autor del nombre	Kunth

Hyptis urticoides (Figura 2) es una especie de la que se tiene poca información, sin embargo, se han aislado sustancias de gran interés del extracto alcohólico de las partes aéreas como el ácido ursólico metabolito encontrado en otras especies del género *Hyptis*, es una sustancia de gran importancia por sus múltiples aplicaciones que van desde preparados farmacéuticos hasta alimentos y cosméticos además se ha comprobado su potencial como anticancerígeno, antiinflamatorio, antimicrobiano y antiviral (Ferrer-Hernández et al., 2007).

La salvigenina es una flavona encontrada en *H. urticoides* e *H. pectinata*, este metabolito en conjunto con la doxorrubicina (fármaco utilizado en la quimioterapia) induce la apoptosis y aumenta el efecto del fármaco sobre las células cancerosas, mejorando los efectos secundarios al disminuir la dosis del fármaco (Namazi-Sarvestani et al., 2018). Otro metabolito aislado de esta especie es la hipurticina una lactona insaturada identificada por métodos espectroscópicos en 1991 sin embargo la estructura propuesta (XV) fue incorrecta (De Vivar et al., 1991) y más tarde se hizo una reasignación estructural (XVI) por medio de un protocolo de modelado molecular (Mendoza-Espinoza et al., 2009).

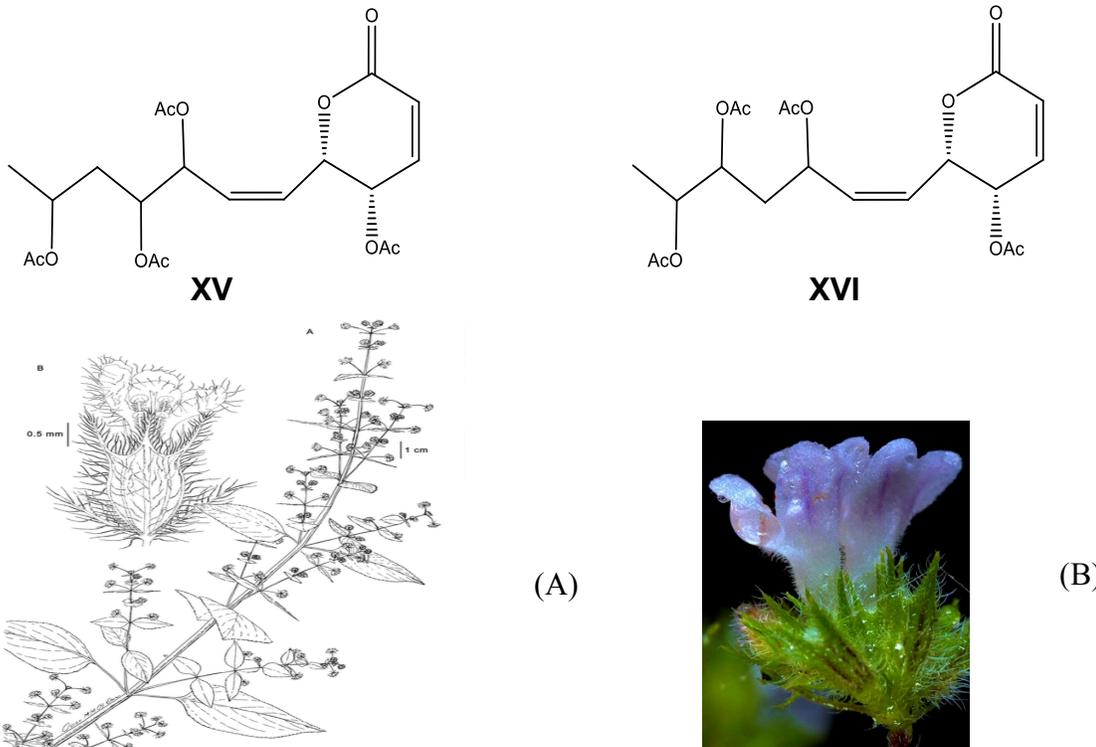


Figura 2. Flor(A) y ramas (B) de *Hyptis urticoides* Kunth.

3. HIPÓTESIS

Estudios previos de los extractos orgánicos, así como de los aceites esenciales de las plantas del género *Hyptis* han demostrado que la mayoría de sus especies poseen propiedades biológicas como actividad citotóxica, antimicrobiana, antifúngica y antiinflamatoria por citar algunas con aplicaciones en la medicina tradicional. Si se han aislado metabolitos secundarios de *H. urticoides*, *H. arborea*, *H. spicigera*, *H. pectinata* e *H. atrorubens* a los cuales se les atribuyen dichas propiedades, entonces se espera que del extracto orgánico de la especie *Hyptis urticoides* se puedan aislar algunas moléculas novedosas y que el estudio químico de los aceites esenciales ponga en evidencia la importancia y uso de éstos en la medicina tradicional de acuerdo con el contenido metabólico que se encuentre en cada colecta.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

El objetivo general de este trabajo de investigación consistió en el aislamiento de los metabolitos secundarios novedosos presentes en el extracto orgánico de las partes aéreas de *H. urticoides* y describir la composición química del aceite esencial de *H. arbores*, *H. spicigera*, *H. pectinata* e *H. atrorubens* para poner en evidencia sus aplicaciones en la medicina tradicional para contribuir con el conocimiento científico de estas plantas.

4.2. Objetivos específicos

4.2.1. Estudiar la composición química de los aceites esenciales de tres especies de *Hyptis* por medio de los análisis de los mismos por cromatografía de gases acoplado a la espectrometría de masas.

4.2.2. Obtener el extracto orgánico total de acetona de *H. urticoides*.

4.2.3. Realizar el fraccionamiento preliminar del extracto orgánico de *H. urticoides* por particiones líquido-líquido.

4.2.4. Estudiar las fracciones secundarias de interés por métodos cromatográficos convencionales y cromatografía de líquidos de alta eficiencia (CLAE).

4.2.5. Elucidar las estructuras químicas utilizando las técnicas de resonancia magnética nuclear (RMN ¹H, RMN ¹³C), IR y UV.

4.2.6. Evaluar el potencial citotóxico de las fracciones utilizando líneas celulares provenientes de carcinomas humanos.

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Materiales y equipos

5.1.1. Material vegetal

Se trabajó con cuatro colectas de las partes aéreas de diferentes especies de *Hyptis*, cuatro de ellas provenientes de diversas zonas del estado de Veracruz, la identificación y la recolección del material vegetal se realizó por la bióloga Adriana Hernández Rojas. Los ejemplares de las especies se depositaron en el Herbario del Instituto de Ecología en Xalapa, Veracruz. Los datos de cada colecta se presentan en el Cuadro 12.

Cuadro 12. Datos de las colectas de <i>Hyptis</i>.			
Especie	Lugar de colecta	Fecha de colecta	Voucher
<i>H. atrorubens</i>	El Castillo, Xalapa.	21-Nov-2010	XAL 0001414
<i>H. pectinata</i>	Carretera a la Tinaja, E. Zapata	22-Oct-2009	XAL 0000285
<i>H. spicigera</i>	Pinoltepec, E. Zapata	12-Oct-2009	XAL0000288
<i>H. urticoides</i>	El Castillo, Xalapa	21-Nov-2010	XAL0001004

5.1.2. Equipos

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear Protónica (^1H -RMN) y de carbono 13 (^{13}C -RMN) fueron registrados en un equipo Varian a 400 MHz y 100 MHz en CD_3OD , los desplazamientos químicos se designan en partes por millón (ppm), con referencia al tetrametilsilano (TMS).

5.1.3. Cromatografía en capa fina

En esta técnica se utilizaron placas de aluminio con gel de sílice 60 F₂₅₄ marca Merck. El revelado de las placas se hizo primero con una lámpara de UV (365 y 245 nm) y posteriormente utilizando una mezcla de ácido sulfúrico con sulfato cérico (agente cromógeno) que se aspersó en las placas y se calentó en una parrilla para favorecer la visualización de los componentes presentes.

5.1.4. Cromatografía en columna abierta

Se utilizaron columnas de vidrio empacadas con gel de sílice 60 (tamaño de partícula de 0.063- 0.200 mm), algodón desengrasado y disolventes grado químicamente puro (Q.P).

5.1.5. Cromatografía de líquidos de alta eficiencia (CLAE)

Las fracciones de interés se analizaron utilizando un equipo de la marca Waters (Millipore Corporation, Waters Chromatography Division Milford, MA, EEUU) que contaba con una bomba modelo 600E, un detector de arreglo de diodos modelo 2996 y una válvula de recirculación de muestra. Para el control del cromatógrafo y procesamiento de datos se utilizó el software Empower 2 (Waters). Las columnas que se utilizaron se describen en el Cuadro 13.

Cuadro 13. Características de las columnas utilizadas en CLAE.				
Tipo de columna	Tamaño de partícula	Dimensiones	Marca	Loop
Analítica	5 µm	4.6 x 250 mm	Waters Symmetry® C18	20µL
Preparativa	7 µm	19 x 300 mm	Waters Symmetry® C18	500µL

Para hacer el escalamiento del método analítico a nivel preparativo se utilizó la siguiente ecuación:

$$F_p = F_a \left(\frac{l_p}{l_a} \right) \left(\frac{d_p^2}{d_a^2} \right)$$

F_p = Flujo de la columna preparativa

F_a = Flujo columna analítica

l_p = longitud columna preparativa

l_a = longitud columna analítica

d_p = Diámetro de la columna preparativa

d_a = Diámetro de la columna analítica

5.1.6. Ensayo de citotoxicidad

El ensayo se realizó en microplacas de 96 pozos de poliestireno estériles con una capacidad de 200 μ L c/u.

5.1.6.1. Compuestos de prueba

Acuosa

Hexano

AcOEt

Isobutanol

5.1.6.2. Línea celular

La línea celular que se utilizó en este ensayo fue HeLa (carcinoma de cérvix humano).

5.1.6.3. Soluciones utilizadas

Solución PBS

Sulforodamida B al 0.4% (SRB)

Solución de ácido tricloroacético (TCA) 20% p/v

Solución de ácido acético al 1%

TRIS-base (pH 10) 10 mM

5.2. Metodología

5.2.1. Obtención de aceites esenciales

Los aceites esenciales de las diferentes especies de *Hyptis* se obtuvieron mediante una hidrodestilación. En un matraz de 500 mL se colocaron 20 g de material fresco fragmentado y se adicionaron 250 mL de agua destilada, la mezcla se calentó a ebullición y el calentamiento se suspendió cuando las gotas de destilado ya no lucían turbias.

Posteriormente, el destilado se sometió a un proceso de partición con CH_2Cl_2 (3 x 50 mL) para llevar casi a sequedad la fase orgánica en rotaevaporador.

Las esencias obtenidas se analizaron por CG-EM. Los espectros de masas de cada componente se compararon con los espectros de muestras auténticas incluidos en la librería del equipo permitiendo determinar la identidad de los compuestos mayoritarios.

5.2.2. Obtención del extracto

Las partes aéreas de *Hyptis urticoides* se secaron al aire libre a temperatura ambiente y se fragmentaron en un molino de cuchillas modelo Wiley 4, obteniéndose un total de 2.54 kg. La droga cruda se extrajo por la técnica de maceración a temperatura ambiente por periodos de 48 a 72 horas, usando acetona como disolvente, pasando el periodo de extracción el extracto se filtró y concentró a presión reducida. El proceso se repitió seis veces obteniéndose 63.5 g de un extracto verdoso.

5.2.3. Eliminación de triterpenos del extracto

Los triterpenos presentes en el extracto orgánico total se eliminaron precipitándolos con metanol. El proceso se realizó en dos etapas; primero se disolvió el extracto (63.5 g) en metanol al 80% (3.1L) en una proporción de 50 mL MeOH (80%) por cada gramo de extracto (Cuadro 14). La solución se dejó en reposo 48 horas a 0 °C y se filtró al vacío

para eliminar los triterpenos que precipitaron, la fracción resultante se concentró a la mitad de su volumen (1.5 L) y se dejó reposar nuevamente 48 horas a 0 °C, posteriormente la fracción se concentró hasta dejar 1/5 del volumen (300 mL).

Cuadro14. Condiciones para la eliminación de triterpenos en el extracto total.			
Cantidad de muestra	Volumen de MeOH (80%) primera etapa	Volumen de MeOH (80%) segunda etapa	Volumen Final
63.5 g	3.1 L	1.5 L	300 mL

5.2.4. Fraccionamiento secundario

La fracción obtenida después de eliminar a los triterpenos se fraccionó mediante extracciones simples por triplicado en una relación 1:1 con Hex, AcOEt e iBuOH, cada fracción obtenida se concentró a presión reducida hasta sequedad para su posterior análisis por CCF.

5.2.5. Fraccionamiento en columna abierta

5.2.5.1. Fraccionamiento de la fracción de AcOEt.

El punto de aplicación se preparó disolviendo 24.9 g de la muestra en MeOH y adsorbiéndola en 24.9 g de gel de sílice. La columna se empaco con sílice en una proporción 1:15 (374 g de sílice) respecto al peso de la muestra y una mezcla de Hex:AcOEt (70:30). La elución se hizo con volúmenes de 50 a 100 mL y se comenzó con Hex:AcOEt (70:30), la polaridad se fue incrementando. Los eluatos se analizaron por CCF para reunir aquellos con similitud cromatográfica (Cuadro 15).

Cuadro 15. Fraccionamiento de la fracción de AcOEt.

Sistema de elución	Eluatos colectados	Eluatos reunidos	Cantidad de extracto
Hex:AcOEt (70:30)	1-4 c/u de 50mL	1-10 (F1)	2.9415 g
Hex:AcOEt (50:50)	5-8 c/u de 50mL	11-16 (F2)	6.7439 g
Hex:AcOEt (30:70)	9-12 c/u de 50mL	17-20 (F3)	7.2850 g
Hex:AcOEt (10:90)	13-16 c/u de 50mL	21-24 (F4)	0.4887 g
AcOEt (100)	17-20 c/u de 50mL	25-26 (F5)	1.2760 g
AcOEt:MeOH (90:10)	21-24 c/u de 50mL	27-37 (F6)	1.8310 g
AcOEt:MeOH (80:20)	25-28 c/u de 50mL	38-48 (F7)	1.8820 g
AcOEt:MeOH (70:30)	29-32 c/u de 50mL		
AcOEt:MeOH (60:40)	33-36 c/u de 50mL		
AcOEt:MeOH (50:50)	37-40 c/u de 50mL		
AcOEt:MeOH (30:70)	41-44 c/u de 50mL		
AcOEt:MeOH (20:80)	45-46 c/u de 100mL		
MeOH (100)	47-48 c/u de 100mL		

5.2.5.2. Fraccionamiento de la fracción F₆₋₇.

Después de analizar los espectros de RMN se decidió seguir trabajando con las fracciones 6 (1.83 g) y 7 (1.88 g) estas se reunieron y se disolvieron en MeOH para adsorberlas en sílice (3.72 g) relación 1:1, la columna se empaco con sílice (74 g) en una relación 1:20 respecto al peso de la muestra (3.71 g) y AcOEt. La elución comenzó con AcOEt (100%) y se aumentó la polaridad con MeOH recolectándose fracciones de 50 mL cada una (Cuadro 16) y se analizaron por CCF para reunir aquellos con similitud cromatográfica.

5.2.6. Decoloración

Después de analizar los espectros de RMN de las fracciones obtenidas del fraccionamiento de la muestra F₆₋₇ se decidió seguir trabajando con la fracción VII (830.1 mg) (Cuadro 16), la muestra se decoloró antes de ser analizada por CLAE, disolviéndola en la mínima cantidad de MeOH; a continuación, se agregó carbón vegetal y se agitó por 20 minutos. La solución se filtró en un embudo Büchner con una cama de celita; la muestra fue nuevamente decolorada cuatro veces más y se analizó por CCF

Cuadro 16. Fraccionamiento de la fracción F₆₋₇.			
Sistema de elución	Eluatos colectados	Eluatos reunidos	Cantidad de extracto
AcOEt (100)	1-5 c/u de 10mL	1-10 (I)	32.4 mg
AcOEt:MeOH (95:5)	6-10 c/u de 10mL	11-16 (II)	39.2 mg
AcOEt:MeOH (90:10)	11-15 c/u de 10mL	17-20 (III)	335.4 mg
AcOEt:MeOH (85:15)	16-20 c/u de 10mL	21-24 (IV)	194.9 mg
AcOEt:MeOH (80:20)	21-25 c/u de 10mL	25-26 (V)	462.9 mg
AcOEt:MeOH (75:25)	26-30 c/u de 10mL	27-37 (VI)	567.8 mg
AcOEt:MeOH (70:30)	31-35 c/u de 10mL	38-50 (VII)	830.1 mg
AcOEt:MeOH (50:50)	36-40 c/u de 10mL		
AcOEt:MeOH (30:70)	41-45 c/u de 10mL		
MeOH (100)	46-52 c/u de 50 mL		

5.2.7. Análisis por CLAE de la fracción VII

La fracción FVII decolorada se analizó por CLAE (Cuadro 17), determinando las condiciones adecuadas de separación primero a nivel analítico con volúmenes de inyección de 20 μ L y una vez encontradas estas condiciones se escalaron a nivel preparativo, inyectando 10 mg de la muestra en 500 μ L con un flujo de 4.0 mL/min en fase reversa con elución isocrática a una concentración de 20 μ g/ μ L. La muestra se separó por las técnicas de corte de núcleo y reciclaje de muestra.

Cuadro 17. Condiciones de análisis por CLAE.

Condiciones	Fracción VII	Pico 1 de la fracción VII
Fase	Reversa	Reversa
Elución	ACN:H ₂ O (3:2)	ACN:H ₂ O (3:2)
Flujo nivel analítico	0.2 mL/min	0.2 mL/min
Flujo nivel preparativo	4.0 mL/min	4.0 mL/min

5.2.8. Ensayo de citotoxicidad

5.2.8.1. Diluciones

5.2.8.1.1. Preparación de controles

Cada control se preparó disolviendo 4 mg del control en 1 mL de DMSO a partir de esta concentración se tomó una alícuota de 10 µL y se depositaron en un primer pozo con 190 µL de agua estéril obteniendo una concentración de 10 µL/mL a partir de esta se hicieron 7 diluciones seriadas tomando 40 µL y depositándola en los pozos con 160 µL de DMSO al 10%.

5.2.8.1.2. Preparación de muestras

Se disolvió 4 mg de extracto en 1 mL de DMSO y se tomó de esta concentración una alícuota de 25 µL que se depositó en un pozo con 175 µL de agua estéril a partir de esta concentración se hicieron 3 diluciones más tomando alícuotas de 40 µL en pocillos con 160 µL de DMSO al 10%.

5.2.8.2. Bioensayo

5.2.8.2.1. Suspensión celular

Las líneas celulares se cultivaron en medio de RPMI utilizando las células en fase logarítmica de crecimiento hasta el 60-70% de confluencia.

Las células se despegaron para proceder al conteo y se diluyeron para tener una suspensión de aproximadamente 10^4 células/mL. De esta suspensión se tomaron alícuotas de 190 μ L para adicionar en los pozos que previamente contenían 10 μ L de las diferentes concentraciones de las muestras a analizar y los controles, cada uno por triplicado. Se homogeneizaron y se incubaron a 37 °C por 3 días en atmósfera del 100% humedad y 5% de CO₂.

5.2.8.2.2. Fijación celular

Transcurrido el tiempo de incubación se fijaron las células con TCA al 20%.

5.2.8.2.3. Tinción celular

El desarrollo de color se realizó con SRB y se solubilizó el colorante enlazado con TRIS-base para realizar la lectura de absorbancia a una longitud de onda de 545 nm.

5.2.8.2.4. Determinación de CI₅₀

Los resultados obtenidos se expresan como la concentración que inhibe el 50% del control de crecimiento después del periodo de incubación (CI₅₀). El porcentaje de crecimiento se determinó promediando los valores obtenidos de las diferentes concentraciones de los controles y las muestras con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Crecimiento} = \frac{Abs_{células+muestra} + Abs_{células tiempo inicial}}{Abs_{células+DMSO10\%} + Abs_{células tiempo inicial}} \times 100$$

Se graficó el porcentaje de crecimiento contra sus respectivas concentraciones en el programa Table Curve 2D v5.01. Se consideraron con actividad citotóxica las fracciones con una $CI_{50} \leq 20 \mu\text{g/mL}$.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Estudio químico de los aceites esenciales de tres especies de *Hyptis*

El análisis de los aceites esenciales mediante cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas se realizó a través de la comparación de los espectros de masas generados para cada uno de los picos en cada muestra con aquellos de muestras auténticas, obteniendo los cromatogramas y compuestos listados en las Figuras 3-5, Cuadros 18-20.

6.1.1. Composición química del aceite esencial de hojas y flores de *Hyptis atrorubens*

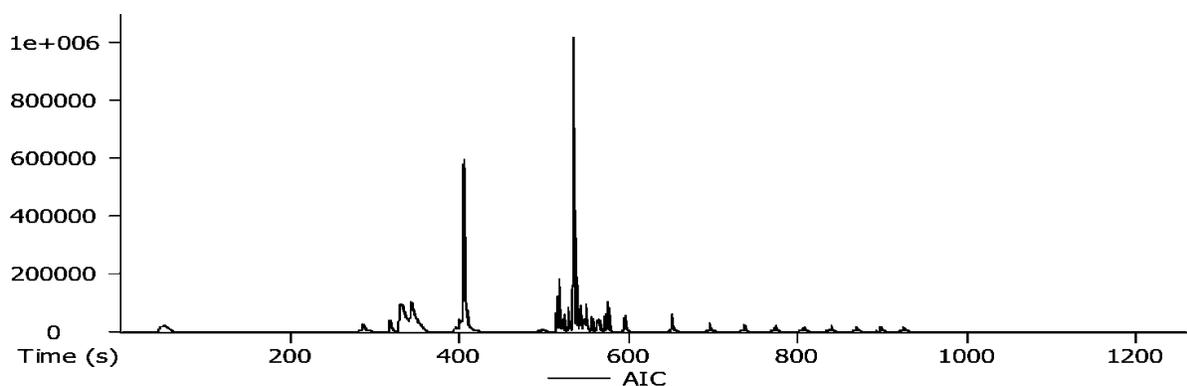


Figura 3. Cromatograma registrado por cromatografía de gases del aceite esencial de *Hyptis atrorubens*.

Cuadro 18. Análisis por CG-EM de los compuestos identificados en el aceite esencial de <i>Hyptis atrorubens</i> .			
Nombre	Area %	t_R (s)	Similitud
3-octanona	9.5	331.6	889
Camfeno	2.0	399.8	906
Biciclo[3.1.1]hept-2-ano, 2,6,6-trimetil	13.5	343.2	923
3,6-Dimetil-4-octanona	6.7	404.6	786
Copaeno	1.5	517.1	884
Cariofileno	22.1	535.3	955
Aromadendreno	3.9	549.7	892
Óxido de cariofileno	1.2	567.2	892

6.1.2. Composición química del aceite esencial de hojas y flores de *Hyptis pectinata*

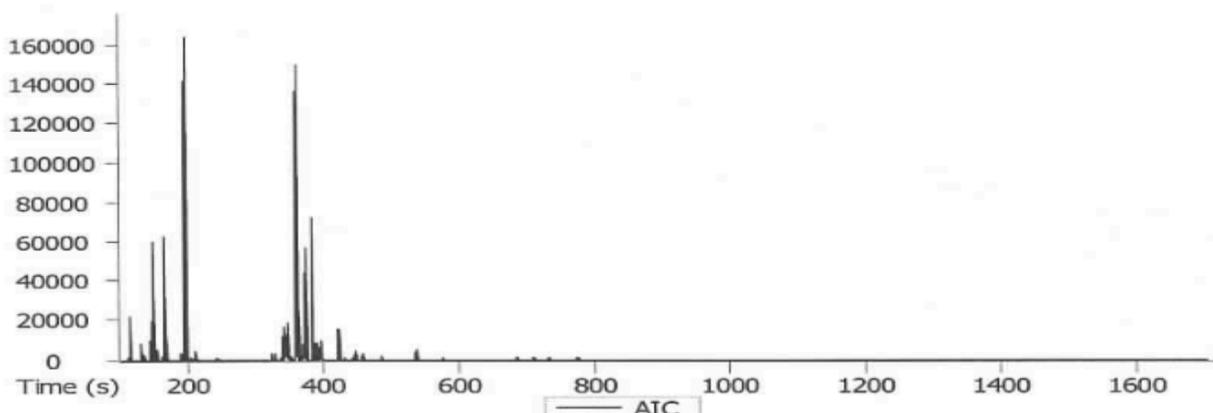


Figura 4. Cromatograma registrado por cromatografía de gases del aceite esencial de *Hyptis pectinata*

Cuadro 19. Análisis por CG-EM de los compuestos identificados en el aceite esencial de *Hyptis pectinata*.

Nombre	Area %	t _R (s)	Similitud
α-Pineno	3.3	167.4	965
Fenol, 2-metoxi-3(2-propenil)	1.6	338.8	847
α-Cubebeno	2.3	343.3	855
α-Bourboneno	1.7	346.7	897
Cariofileno	20.6	362.0	964
1,3,7-Octatrieno, 3,7- dimetil-	3.1	375.3	879
Germacreno D	14.6	385.6	940
Camfeno	1.2	390.3	855
Óxido de Cariofileno	3.2	423.4	921
α-Cadinol	1.6	445.6	866

6.1.3. Composición química del aceite esencial de hojas y flores de *Hyptis spicigera*

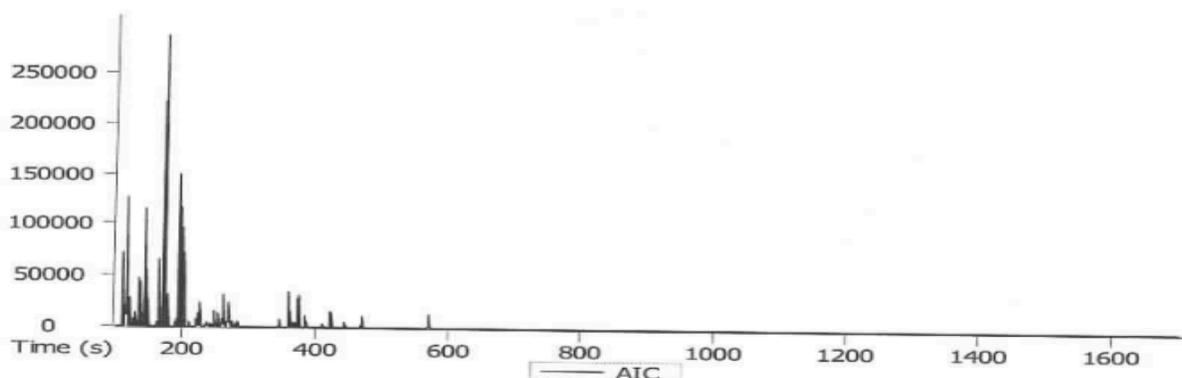


Figura 5. Cromatograma registrado por cromatografía de gases del aceite esencial de *Hyptis spicigera*.

Cuadro 20. Análisis por CG-EM de los compuestos identificados en el aceite esencial de *Hyptis spicigera*.

Nombre	Area %	t _R (s)	Similitud
2-Hexenal	6.0	113.3	959
3-Hexen-1-ol, (Z)-	5.7	117.7	958
Acetato de isoamilo	1.9	137.7	904
α-Pinene	3.1	166.7	961
2,3-Dihidro-1,8-cineol	6.7	172.7	744
1-Nonen-3-ol	6.7	173.0	936
Linalool	4.5	227.0	887
Biciclo[3.1.1]hept-3-en-2-ol, 4,6,6-trimetil-, [1S-(1α,2α,5α)]-	3.1	249.2	902
p-menth-1-en-8-ol	1.7	270.8	903
2,3-Epoxicarano, (E)-	1.2	283.7	806
α-Bourboneno	1.3	346.6	906
Cariofileno	6.7	361.4	947
Germacreno D	1.4	372.1	843
1,3,7-Octatrieno, 3,7- dimetil-	2.3	375.2	881
Óxido de cariofileno	3.2	423.2	920
Tunbergol	4.7	570.3	853

Se encontró que el componente mayoritario de *H. atrorubens* fue el cariofileno (22 %) el cual es diferente con otros estudios que reportan al germacreno D, limoneno y óxido de cariofileno como los más abundantes, los dos primeros no se encontraron en este estudio pero el óxido de cariofileno estuvo presente en 1.2% (Cuadro 18) este metabolito tiene gran importancia en la medicina tradicional, se ha encontrado en los aceites de otras plantas de la familia Lamiaceae y tiene aplicaciones como analgésico, antiinflamatorio y antifúngico, además se sabe que el aceite esencial de esta planta tiene actividad antimicrobiana lo que convierte al aceite de esta planta en uno de gran valor para la medicina tradicional (Kerdudo et al., 2016).

Los estudios previos del aceite esencial de *H. pectinata* han dado información de aplicaciones muy importantes, se ha propuesto como una alternativa para el control bactericida relacionado con la higiene bucal debido a su gran actividad antibacteriana (Nascimento et al., 2008), también se describe en la literatura que más del 90% de los compuestos encontrados en el aceite de esta planta son identificados como sesquiterpenos los cuales le confieren una gran actividad antibacteriana entre los que

destacan: alfa-bergamoteno, óxido de cariofileno, alfa-copaeno, alfa humuleno, selina-4(11)-dieno, beta-salina y cariofileno, este último se encontró en este estudio como el componente más abundante 20.6% (Cuadro 19) con actividades biológicas importantes como analgésico en dolor neuropático en ratones, además de actuar como antiinflamatorio en la inflamación inducida por *Mycobacterium bovis* y actividad citotóxica en líneas celulares de cáncer de mama y colon (El Hadri et al., 2016).

El tercer aceite estudiado fue de la especie *H. spicigera* en el que se encontraron como principales componentes el cariofileno, 1-nonen-3-ol y 2,3-dihidro-1,8-cineol (Cuadro 20) Estos resultados coinciden con algunos encontrados en la literatura donde se describe al cariofileno como el componente principal del aceite esencial (Onayade et al., 1990). entre otros terpenoides que le confieren propiedades biológicas importantes como el encontrado en un estudio reciente donde se comprobó el efecto analgésico que tiene el aceite esencial en padecimientos dentales (Rodrigues Simões et al., 2017). Otro metabolito encontrado fue el 2,3-dihidro-1,8-cineol que se ha reportado en otras plantas como *Laurus nobilis* y es un monoterpeno bicíclico; por otra parte, los usos de los metabolitos encontrados en esta planta no solo son biológicos también se aplican en otras industrias como la alimentaria donde se ocupa al 1-nonen-3-ol como aditivo.

En algunos casos se notó que la composición obtenida en este estudio difiere a la reportada en la literatura quizá por el lugar de colecta, así como la fecha de recolección que influye en la producción de metabolitos (Ávalos-García et al., 2009).

6.2. Estudio químico del extracto orgánico de *Hyptis urticoides*

6.2.1. Obtención del extracto y fracciones

A partir de la maceración exhaustiva de las partes aéreas de *H. urticoides* con acetona, se obtuvo un extracto total de 63.5 g, el cual se procesó primero para eliminar a los triterpenos presentes y se realizó un fraccionamiento por partición para obtener cuatro fracciones (Cuadro 21).

Cuadro 21. Cantidad de fracciones provenientes del extracto de acetona.	
Fracción	Peso
Hex	9.25 g
AcOEt	24.94 g
iBuOH	0.92 g
Acuosa	1.42 g

6.2.2. Estudio de citotoxicidad

Las fracciones obtenidas del fraccionamiento preliminar se sometieron a una evaluación citotóxica empleando a la línea celular HeLa (Cuadro 22).

Cuadro 22. Actividad citotóxica de las fracciones obtenidas del extracto de acetona.	
Fracción	Cl₅₀ (µg/mL)
Hexano	3.43
AcOEt	1.96
Acuosa	>20
iBuOH C-1	>20

Se describe en la literatura que el fraccionamiento del extracto de una planta monitoreado por su actividad biológica permite aislar o identificar a los compuestos bioactivos (Katiyar et al., 2012) así con este estudio se pudo evaluar la actividad citotóxica que presentaron las diferentes fracciones provenientes del extracto total frente a la línea celular HeLa y los resultados obtenidos permitieron la selección de la fracción y seguir trabajando en ella.

De la evaluación citotóxica la mayor actividad se presentó con la fracción de AcOEt (Cuadro 22), este resultado fue lo que hizo suponer que en esta fracción se encontraba algún metabolito de interés responsable de la actividad biológica. Debido a que en la CCF de estas fracciones se observó que contenían compuestos que absorbían en el UV a 245 y 365 nm, se tomó como segundo criterio para elegirla. Se sabe que los compuestos naturales con estructuras aromáticas absorben en el UV a estas longitudes de onda y

algunos de estos como los terpenoides no absorben en el UV a 230 nm (Bagué-Serrano et al., 2012).

Se trabajó con la fracción de AcOEt que se sometió a un fraccionamiento por cromatografía en columna abierta obteniendo 7 conjuntos de fracciones, éstas se analizaron por CCF y RMN (^1H y ^{13}C).

Se decidió seguir trabajando con la fracción F_{6-7} (Cuadro 15) , la cual fue recromatografiada en columna abierta obteniéndose 7 conjuntos de fracciones (Cuadro 16) éstas se analizaron nuevamente por CCF y RMN (^1H y ^{13}C) y se observó en las cromatoplasmas que habían compuestos en la fracción VII (Cuadro 16) que absorbían a 254 y 365 nm y que podría tratarse de algún flavonoide por las señales encontradas en los espectros de RMN.

6.2.3. Separación de los compuestos

La fracción VII se analizó por CLAE y se observaron dos picos principales (Figura 6) a nivel analítico, pero cuando se intentó separar los picos a nivel preparativo no fue posible y la muestra se resolvió mediante la técnica de reciclaje durante 14 ciclos (Figura 7)

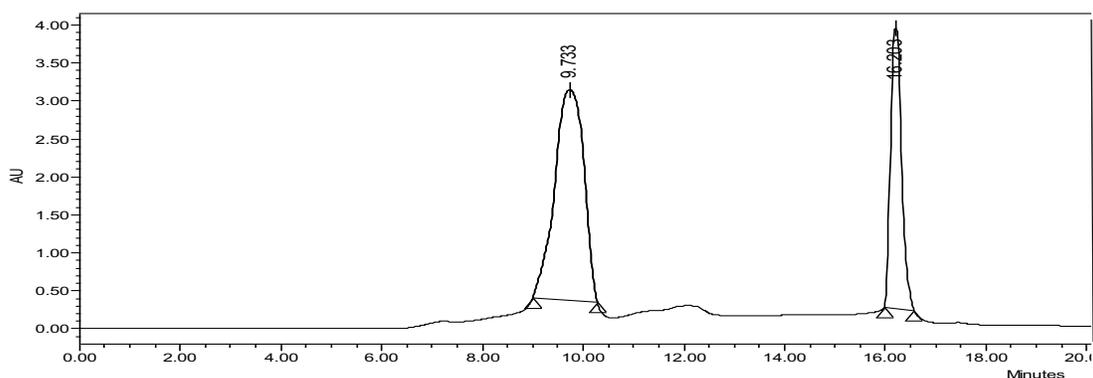


Figura 6. Cromatograma de la fracción VII. Técnica: Corte de núcleo, nivel analítico. Condiciones cromatográficas: columna Symmetry C-18 ($5\ \mu\text{m}$ $4.6 \times 250\ \text{mm}$); detector de arreglo de diodos (254 nm), fase móvil ACN:H₂O (6:4), flujo de elución: 0.2 mL/min.

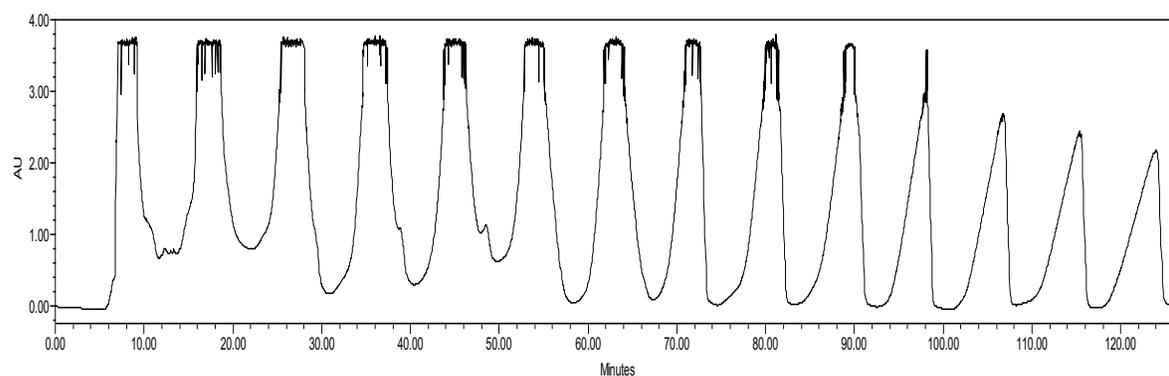


Figura 7. Cromatograma del reciclaje del pico 1 ($t_R=9.73$ min) de la fracción VII. Técnica: reciclaje de muestra. Condiciones cromatograficas: Columna Symmetry C-18 ($7 \mu\text{m}$, 19×300 mm); detector de arreglo de diodos (254 nm); fase móvil ACN:H₂O (6:4); flujo de elución: 4.0 mL/min.

6.2.4. Análisis de espectros

Se registraron los espectros en el UV, IR y de RMN ¹H y ¹³C de los dos picos reciclados de la fracción VII, logrando identificar que se trata de dos flavonoides, uno glicosilado y el otro no, pero no se logró establecer su estructura completa con la información registrada hasta el momento.

En el espectro en el UV se observan bandas de absorción a 260 y 310 nm (Figuras 8 y 9) características para la banda II del anillo aromático A (benzoilo) y banda I del cinamoilo de un flavonoide.

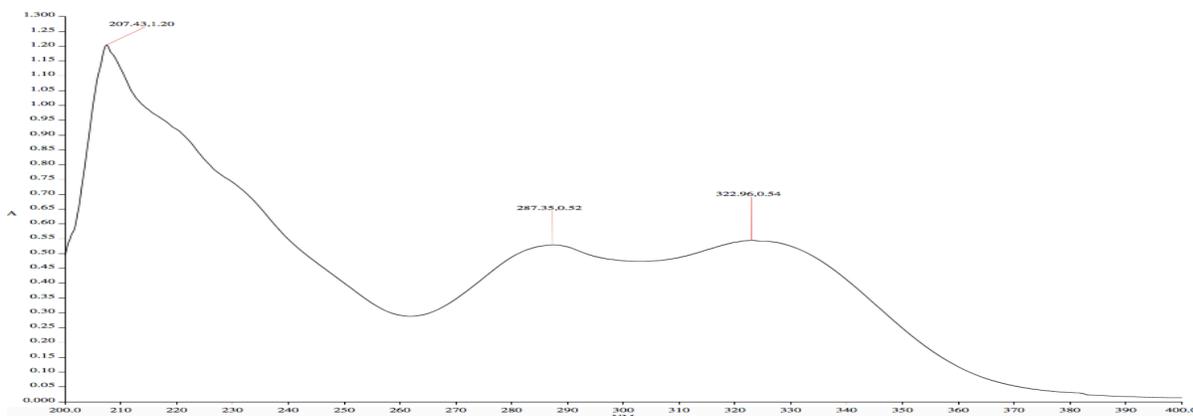


Figura 8. Espectro en el UV correspondiente al pico 1 de la fracción VII.

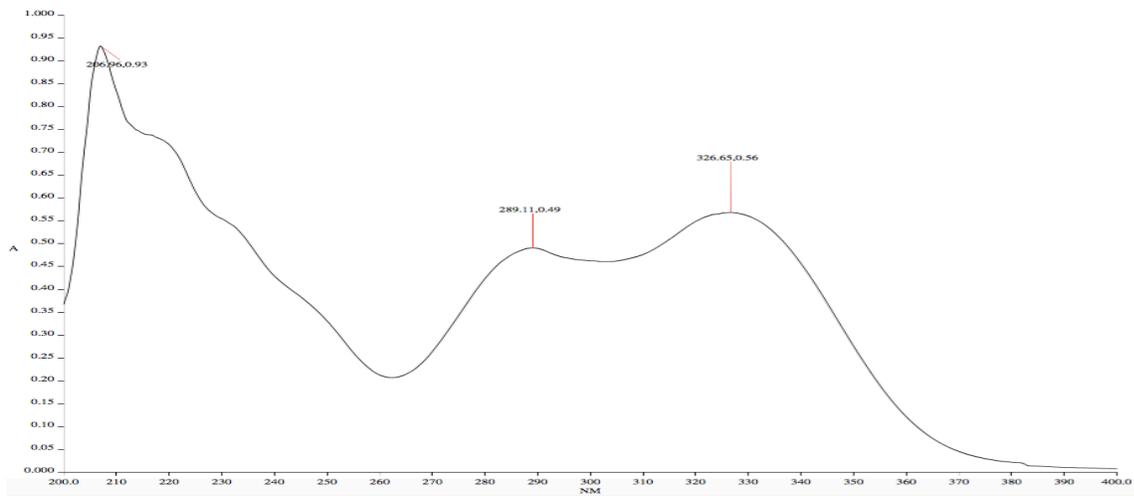


Figura 9. Espectro en el UV correspondiente al pico 2 de la fracción VII.

El análisis de los espectros en el IR presenta bandas características para grupos hidroxilo, alquílico, carbonilo y anillos aromáticos por la presencia de bandas en 3228, 2969, 1692, 1587 y 1519 cm^{-1} (Figuras 10 y 11).

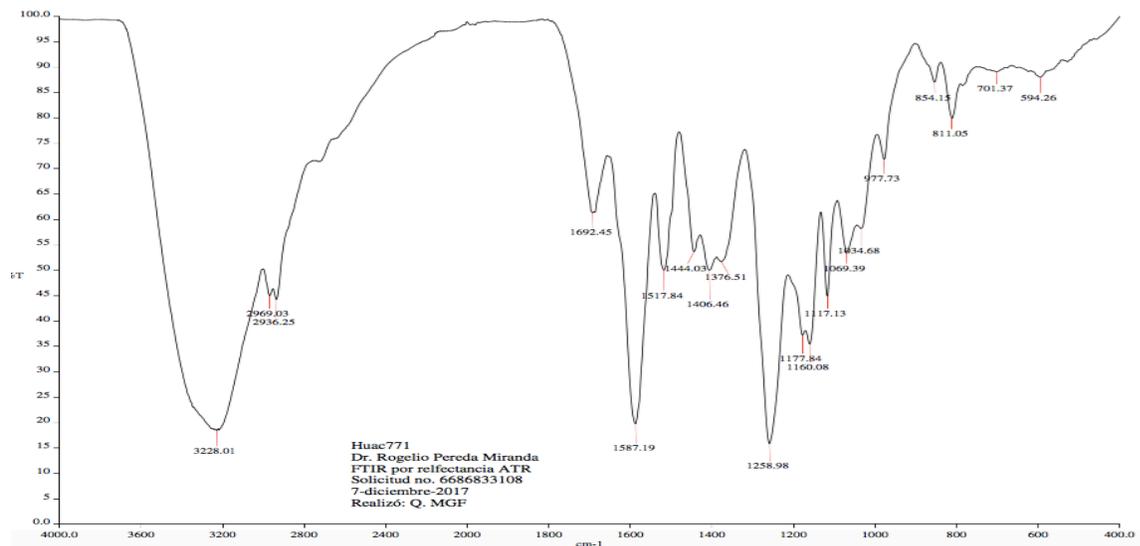


Figura 10. Espectro en el IR del pico 1 de la fracción VII.

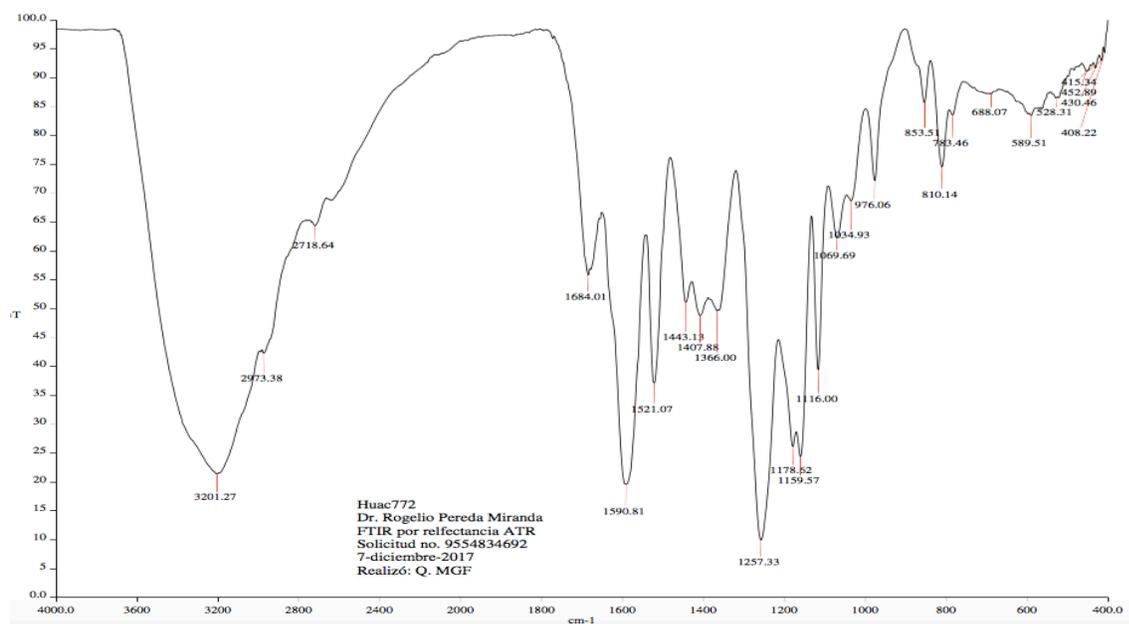


Figura 11. Espectro en el IR del pico 2 de la fracción VII.

En los espectros de RMN ^1H (Figuras 12 y 13) se analizaron las constantes de acoplamiento de los protones aromáticos, lo que permitió establecer que el anillo A se encuentra sustituido en la posición 7, al observarse los siguientes desplazamientos y constantes de acoplamiento: 7.06 d (J 2.1 Hz), 6.79 d (J 8.2 Hz) y 6.95 dd (J 8.2 y 2.1 Hz), cuyas constantes corresponden a una sustitución *orto* y *para*. También se observa un doble enlace trans de acuerdo con los dobletes localizados en 7.50 y 6.27 ppm con una constante de acoplamiento de 15.9 Hz.

Esta información permitió establecer que el producto puede ser una chalcona aunque deben de realizarse los experimentos bidimensionales para establecer la estructura correcta

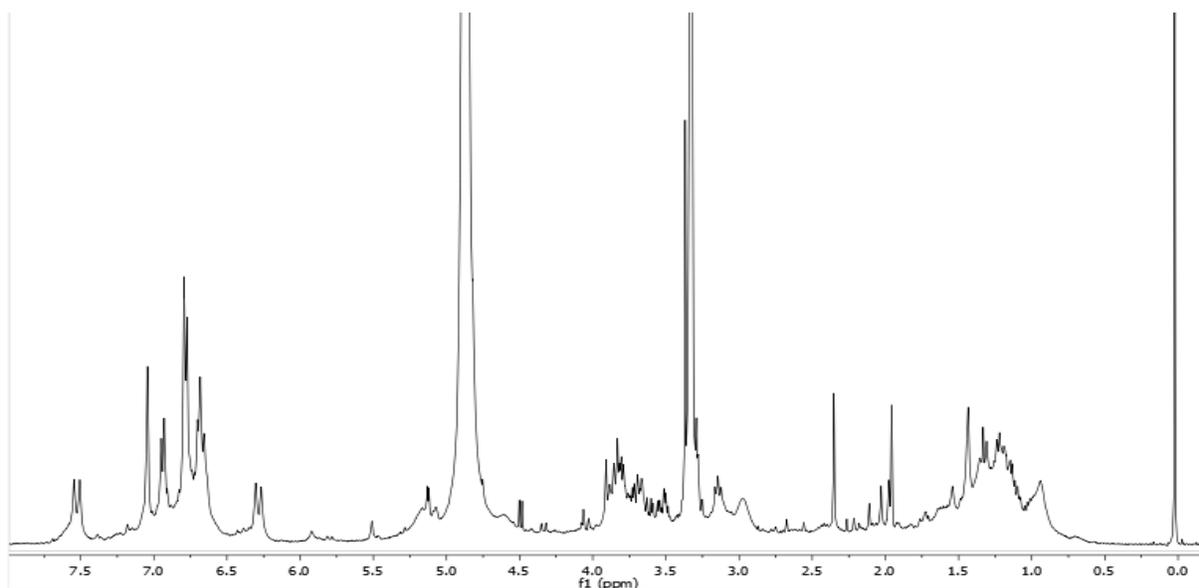


Figura 12. Espectro de ^1H -RMN del pico 1 de la fracción VII en CD_3OD a 400 MHz.

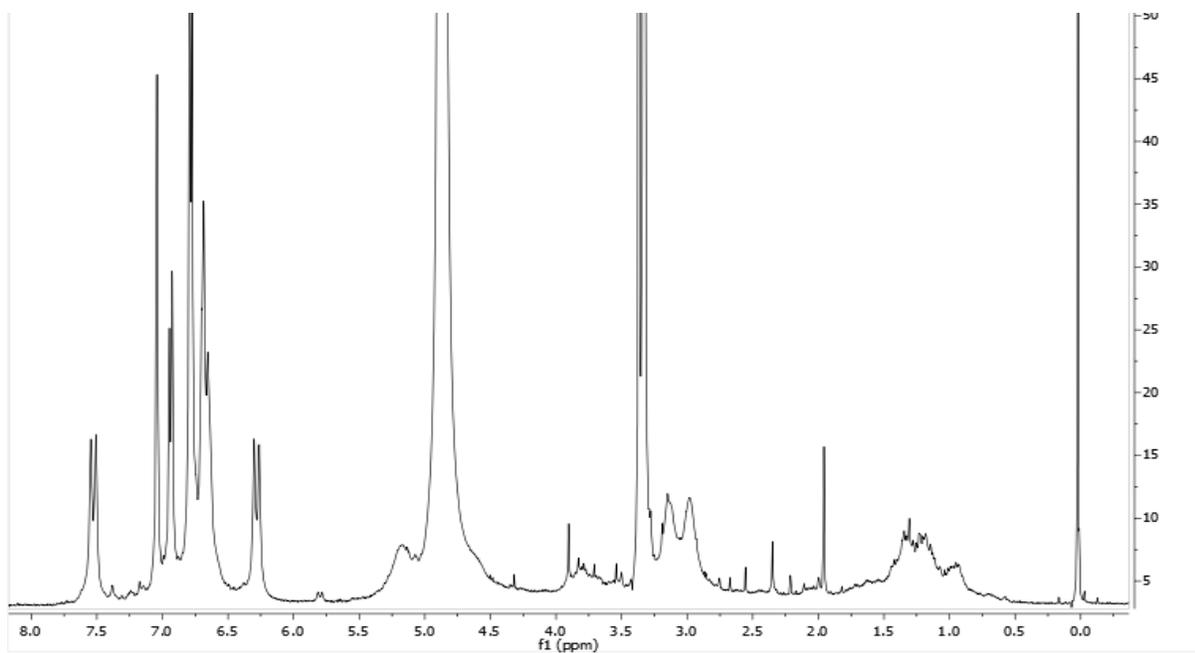


Figura 13. Espectro de ^1H -RMN del pico 2 de la fracción VII en CD_3OD a 400 MHz.

En los espectros de RMN ^{13}C (Figuras 14 y 15) se observan señales correspondientes a los protones aromáticos de un flavonoide.

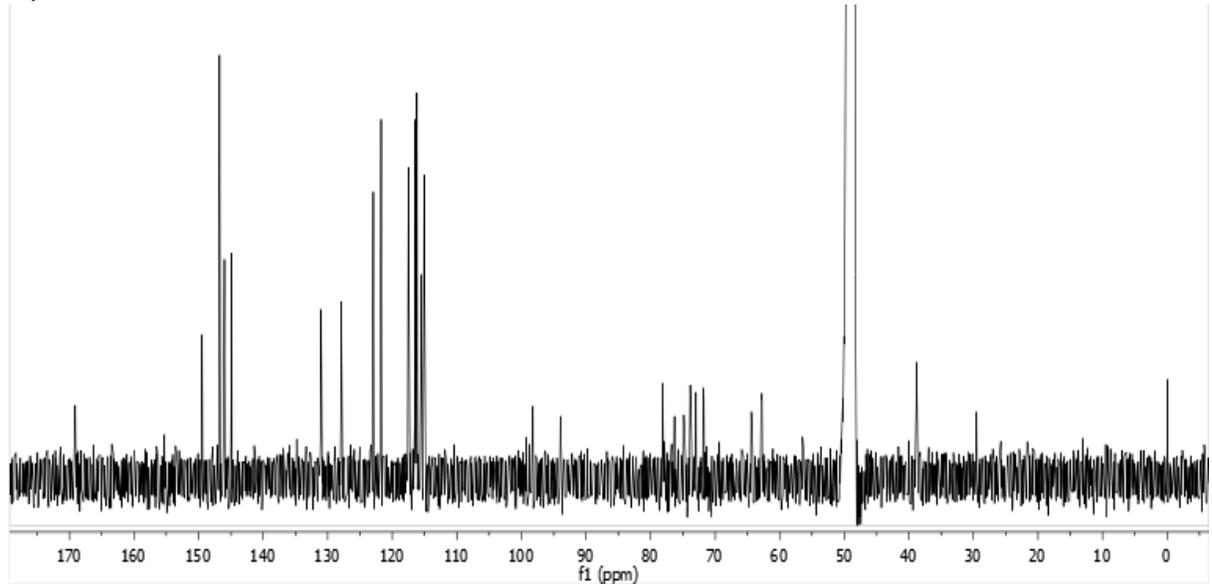


Figura 14. Espectro de ^{13}C -RMN del pico 1 de la fracción VII en CD_3OD a 100 MHz.

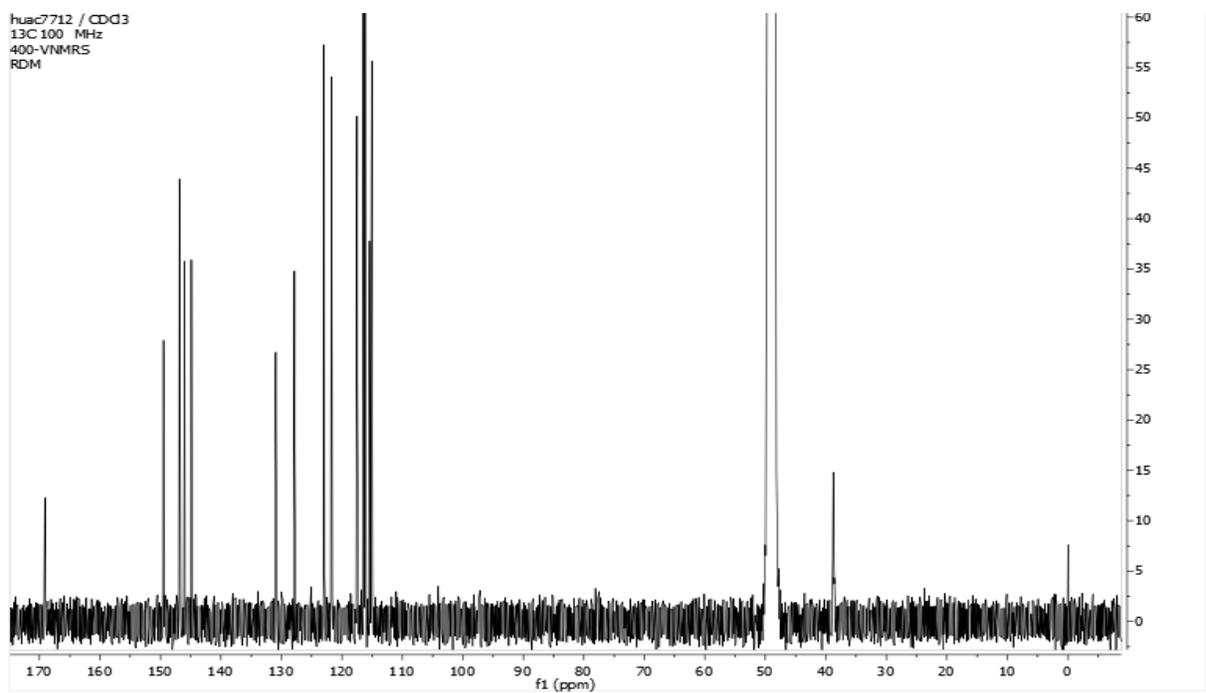


Figura 15. Espectro de ^{13}C -RMN del pico 2 de la fracción VII en CD_3OD a 100 MHz.

7. CONCLUSIONES

Se realizó el análisis químico de la composición del aceite esencial de las partes aéreas de tres especies de *Hyptis* utilizando CG-EM, se identificaron metabolitos de gran importancia en los aceites esenciales poniendo en evidencia el uso de estas plantas en la medicina tradicional. También se observaron diferencias en la concentración y composición metabólica de las colectas comparadas con lo reportado por otros autores poniendo en evidencia el metabolismo de las plantas según el área geográfica y condiciones de colecta.

Se lograron aislar dos flavonoides no reportados previamente en la especie *Hyptis urticoides*, ya que únicamente se ha reportado la flavona conocida como salvigenina en esta especie.

El estudio fue biodirigido monitoreando la actividad con un ensayo de citotoxicidad del fraccionamiento del extracto de acetona de las partes aéreas de *Hyptis urticoides*. De esta forma se seleccionó la fracción activa para su análisis mediante CLAE donde se usó la técnica de corte de núcleo y reciclaje de muestra en fase reversa.

La información espectroscópica registrada hasta el momento no permitió establecer la estructura de los compuestos de tipo flavonoide.

8. PERSPECTIVAS

Realizar la purificación de una mayor cantidad de muestra mediante CLAE para que se tengan cantidades suficientes para el registro de espectros de RMN y EM para poder llegar a la estructura de los flavonoides encontrados.

Evaluar la actividad citotóxica de las muestras provenientes del fraccionamiento de la fracción AcOEt para concluir el estudio biodirigido.

9. BIBLIOGRAFÍA

Achman S., Hoyer T., Kjaer S., Makmur L., Norrestam R. (1987) Molecular and crystal structure of Hyptolide, a natural occurring α,β -unsaturated γ -lactone. *Acta Chemica Scandinavica*. **B41**, 599-609.

Alfonso R. G, Remington, (2003) *Farmacía*. Tomo 1, Ed. Médica Panamericana, 20^a, Buenos Aires, 872.

Ávalos-García A., Pérez-Urria C.E. (2009) Metabolismo secundario de plantas. *Reduca*. **2**(3), 119-145.

Alves M. J. I., Russo S. M., Lucca J. W., Nogueira R. A. E., Santana F. J. V., Badaue-Passos D., Souza A. A. A., Quintans J. J. L., Viana S. R. M. (2013) Prospecção tecnológica da utilização do beta-pineno. *Geintec*. **3**(2), 186-194.

Bagué-Serrano J. A., Álvarez-Cruz S.N. (2012) *Tecnología Farmacéutica*. Ed. Club Universitario. México, 345.

Ben S. M., Skandrani I., Nasr N., Franca M. G. D., Chekir-Ghedira L., Ghedira K. (2011) Flavonoids and sesquiterpenes from *Teucrium ramosissimum* promote antiproliferation of human cancer cells and enhance antioxidant activity: a structure-activity relationship study. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. **32**(3), 336-348.

Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana. UNAM. 2009. <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/presenta.html> (Consultado el 3 de Diciembre del 2017 a las 10:45 pm)

Boalino, D. M., Connolly, J. D., McLean, S., Reynolds, W. F., Tinto, W. F. (2003) Alpha-pyrone and a 2(5H)-furarone from *Hyptis pectinata*. *Phytochemistry*. **64**(7), 1303-1307.

Boluda J. C., Duque B., Aragón Z. (2005) Lignanos (I) estructura y funciones en las plantas. *Revista de Fitoterapia*. **5**(1), 55-68.

Chaipech S., Morikawa T., Ninomiya K., Yoshikawa M., Pongpiriyadacha Y., Hayakawa T., Muraoka O. (2012) Structures of two new phenolic glycosides, kaempferiaosides A and B, and hepatoprotective constituents from the rhizomes of *Kaempferia parviflora*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. **60**(1), 62-90.

Cortez-Gallardo V., Macedo-Ceja J. P., Hernandez-Arrollo M., Arteaga-Aureoles G., Espinosa-Galvan D., Rodriguez-Landa J. F. (2004) Farmacognosia: breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas. *Revista Biomédica*. **15**(1), 130-133.

Cruz - Martinez C., Diaz M. (2017) Use of traditional herbal medicine as an alternative in dental treatment in Mexican dentistry. *Pharmaceutical Biology*. **55**(1), 1992-1998.

Drago-Serrano M., López-López M., Sainz-Espuñes T. (2006) Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. **37**(4), 58-68.

De Vivar R. A., Vidales P., Pérez L. (1991) An aliphatic d-Lactone from *Hyptis urticoides*. *Phytochemistry*. **30**(7), 2417-2418.

De Vivar R. A. (2006) Química de la flora mexicana Investigaciones en el Instituto de Química de la UNAM. 264.

Dewick, M. P. (2009) Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach. 3^a, Ed. John Wiley & Sons, UK, 546.

El Hadri A., Gómez del Rio M. A., Sanz J., Coloma A. G., Idaomar M., Ozonas B. R., Gonzalez J. B., Sánchez-Reus M. I. (2010) Actividad citotóxica del α -humuleno y del tras-

cariofileno de *Salvia officinalis* en dos líneas celulares tumorales animal y humana. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*. **76**(3), 343–356.

Falcão D., Menezes F. (2003) Revisão etnofarmacológica, farmacológica e química do gênero *Hyptis*. *Revista Brasileira de Farmácia*. **84**(3), 69-74.

Farkya S, Bisaria V. S., Srivastava A. K. (2004) Biotechnological aspects of the production of the anticancer drug podophyllotoxin. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **65**(5), 504-519.

Ferrer-Hernández E. A., Hernández-Escalona M., Pérez-Martínez S. C., Basterrechea R. M., Fuentes F. V. R., Torres-Ferrer M. (2007) Aislamiento de ácido ursólico de las hojas de *Cestrum laurifolium* L'Herit. *CENIC Ciencias Químicas*. **38**(1), 243-247.

Fragoso-Serrano M., Gibbons S., Pereda-Miranda R. (2005) Anti-Staphylococcal and cytotoxic compounds from *Hyptis pectinata*. *Planta Medica*. **71**(3), 278-280.

Fragoso-Serrano M., Gonzalez-Chimeo E., Pereda-Miranda R. (1999) Novel Labdane Diterpenes from the Insecticidal Plant *Hyptis spicigera*. *Journal of Natural Products*. **62**(1), 45-50.

Harley R. M., Atkins S., Budantsev A. L., Cantino P. D., Conn B. J., Grayer R., Harley M. M., de Kok R., Krestovska- ya T., Morales R., Paton A. J., Ryding O., Upson T. (2004) Labiatae. In: Kubitzki J. W, Ed. *The Families and Genera of Vascular Plants 7. Flowering Plants. Dicotyledons. Lamiales (Except Acanthaceae including Avicenniaceae)*. Springer. 167-275.

He X., Liu R. (2007) Triterpenoids isolated from apple peels have potent antiproliferative activity and may be partially responsible for apple's anticancer activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. (55), 4366–4370.

Juergens U. R., Dethlefsen U., Steinkamp G., Gillissen A., Reppes R., Vetter H. (2003) Anti-inflammatory activity of 1.8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial. *Respiratory Medicine*. **97**(3), 250-256

Katiyar C., Gupta A., Kanjilal S., Katiyar S. (2012) Drug discovery from plant sources: An integrated approach. *Ayu*. **33**(1), 10–19. <http://doi.org/10.4103/0974-8520.100295>

Kavirayani R. P., Gutala P. (2013) Total Synthesis and Determination of the Absolute Configuration of 5,6-Dihydro- α -pyrone Natural Product Synargentolide B. *Journal of Organic Chemistry*. **78**(7), 3313-3322.

Kerdudo A., Njoh Ellong E., Gonnot V., Boyer L., Michel T., Adenet S., Rochefort K., Fernandez X. (2016) Essential oil composition and antimicrobial activity of *Hyptis atrorubens* Poit. from Martinique (F.W.I.). *Journal of Essential Oil Research*. **28**, 436-444.

Krishna M.S., Joy B., Sundaresan A. (2015) Effect on oxidative stress, glucose uptake level and lípido droplet content by apigenin 7,4'-dimethyl ether isolated from *Piper longum* L. *Journal of Food Science and Technology*. **52**(6), 3561-3570.

Kuhnt M., Rimpler H., Heinrich M. (1994) Lignans and other compounds from the mixe indian medicinal plant *Hyptis verticillata*. *Phytochemistry*. **36**, 485–489.

Leite-Nadghia F., Sobral-Souza C. E., Albuquerque-Rosimeire S., Brito-Dara I. V., Lavor-Anne K. L. S., Alencar-Liscássia B. B., Tintino-Saulo R., Ferreira-João V. A., Figueredo F. G., Lima-Luciene F., Cunha-Francisco A. B., Pinho A. I., Coutinho-Henrique D. M. (2013) Atividade antiparasitária in vitro e citotóxica de cariofileno e eugenol contra *Trypanossoma cruzi* e *Leishmania brasiliensis*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, **18**(4), 522-528. Consultado el 29 de febrero de 2018, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000400003&lng=es&tlng=pt.

Marcano D., Hasegawa M. (2002) Fitoquímica Orgánica. Ed.Torino. Venezuela. 229.

Martínez-Gordillo M., Bedolla-García B., Cornejo-Tenorio, G., Fragoso-Martínez I., García-Peña M. R., González-Gallegos J. G., Lara-Cabrera S. I., Zamudio S. (2017) Lamiaceae de México. Botanical Sciences. **95**(4), 780-806.

Martínez-Gordillo M., Fragoso-Martínez I., García-Peña M. R., Montiel O. (2013) Géneros de Lamiaceae de México, diversidad y endemismo. Revista Mexicana de Biodiversidad. **84**, 30-36.

Mendoza-Espinoza J. A., López-Vallejo F., Fragoso-Serrano M., Pereda-Miranda R., Cerda-García-Rojas CM. (2009) Structural Reassignment, Absolute Configuration, and Conformation of Hypurticin, a Highly Flexible Polyacyloxy-6-heptenyl-5,6-dihydro-2H-pyran-2-one. Journal of Natural Products. **72**, 700-708.

Namazi-Sarvestani N., Sepehri H., Delphi L., Moridi-Farimani M. (2018) Eupatorin and Salvigenin Potentiate Doxorubicin-Induced Apoptosis and Cell Cycle Arrest in HT-29 and SW948 Human Colon Cancer Cells. Asian Pacific. Journal of Cancer Prevention. **19**(1). 131-139. Doi: 10.22034/APJCP.2018.19.1.131

Nascimento P. F. C., Alviano W. S., Nascimento A. L. C., Santos, P. O., Arrigoni-Blank M. F., De Jesus R. A., Azevedo V. G., Alviano D. S., Bolognese, A. M., Trindade R. C. (2008) *Hyptis pectinata* essential oil: chemical composition and anti-*Streptococcus mutans* activity. Oral Diseases. **14**(6). 48-489.

Nayak U. G., Guha P. C. (1952) Essential oil from *Hyptis suaveolens*. Indian Chemical Society. **29**, 183–186.

Novelo M., Cruz J. C., Hernández L., Pereda-Miranda R., Chai H., Mar W., Pezzuto J. M. (1993) Cytotoxic Constituents from *Hyptis verticillate*. Journal of Natural Products. **56**(10), 1728-1736. DOI: 10.1021/np50100a011

Onayade A. O., Looman A., Scheffer C. J. J., Svendsen B. A. (1990) Composition of the herb essential oil of *Hyptis spicigera* Lam. Flavour and Fragrance Journal. **5**(2), 101-105.

Orendain Adalid E.A. (2016) Monitoreo de la actividad citotóxica de los extractos obtenidos de las partes aéreas de la planta *Hyptis verticillata*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México.

Organización mundial de la salud. Temas de salud. Medicina tradicional. 2017 http://www.who.int/topics/traditional_medicine/es/ (Consultado el 29 de Octubre del 2017).

Orhan I. E. (2014) Pharmacognosy: Science of natural products in drug discovery. BiolImpacts : BI, **4**(3), 109–110. <http://doi.org/10.15171/bi.2014.001>

Panche A. N., Diwan A. D., Chandra S. R. (2016) Flavonoids: an overview. Journal of Nutritional Science, **5**, e47. <http://doi.org/10.1017/jns.2016.4>

Pereda-Miranda R., Hernández L., Villavicencio M. J., Novelo, M., Ibarra, P., Chai H., Pezzuto M. J. (1993) Structure and stereochemistry of pectinolides A-C, novel antimicrobial and cytotoxic 5,6-dihidro- α -pyrones from *Hyptis pectinata*. Journal of Natural Products. **56**, 583-593.

Pereda-Miranda R. (1995) Bioactive Natural products from traditionally used mexican plants. Phytochemistry of Medicinal Plants. (Eds) J. T Arnason, R. Mata, J. T. Romeo. Plenum Press. New York. **29**, 83-112.

Pereda-Miranda R., Delgado G. (1990) Triterpenoids and flavonoids from *Hyptis albida*. Journal of Natural Products. **53**, 182-185. <http://dx.doi.org/10.1021/np50067a028>.

Pereira dos S. K., Sedano-Partida D. M., Sala-Carvalho R. W., Ortega S. J. L., Da Silva-Luz L. C., Furlan M. C. (2018). Biological activity of *Hyptis Jacq.* (Lamiaceae) is determined by the environment. *Industrial Crops and Products*. **112**, 705-715.

Picking D., Delgoda R., Boulogne I., Mitchell S. (2013) *Hyptis Verticillata Jacq.*: A review of its traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology. *Journal of Ethnopharmacology*. (147), 16-41.

Rama Rao V., Shiddamallayya N., Kavya N., Kavya B., Venkateshwarlu G. (2015) Diversity and therapeutic potentiality of the family Lamiaceae in Karnataka State, India: An overview, **13**(37), 6-14. https://www.researchgate.net/publication/318463355_Diversity_and_therapeutic_potentiality_of_the_family_Lamiaceae_in_Karnataka_State_India_An_overview [acceso 16 Enero 2018].

Ramesh P., Nitin W. F. (2015) Stereoselective total synthesis of pectinolide H and 4'-epi-pectinolide H. *European Journal of Chemistry*. **6**(1), 93-97.

Ríos-Tesch N., Márquez-Yáñez R., Mendoza-Rojas X., Rojas-Fermín L., Velasco-Carrillo J., Díaz T., Mora-Vivas F., Yáñez-Colmenares C., Meléndez-González P. (2015) Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae) de los Llanos venezolanos. *Revista Peruana de Biología*. **22**(1), 103-107. Consultado el 28 de febrero de 2018, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332015000100007&lng=es&tlng=es.

Rodrigues-Simões R., Dos Santos-Coelho I., Célio-Junqueira S., Regina-Pigatto G., José-Salvador M., Santos A. R., de Faria F. M. (2017) Oral treatment with essential oil of *Hyptis spicigera* Lam. (Lamiaceae) reduces acute pain and inflammation in mice: Potential interactions with transient receptor potential (TRP) ion channels. *Journal of Ethnopharmacology*. **200**, 8–15.

Roldán L. P., Díaz G. J., Durringer J. M. (2010) Composition and antibacterial activity of essential oils obtained from plants of the Lamiaceae family against pathogenic and beneficial bacteria. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. **23**(4), 451-461.

Scalbert A., Manacg C,m Nirabd C, Révész C. (2005). Dietary polyphenols and the protection of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **45**, 287-306.

Tholl D. (2015) Biosynthesis and Biological Functions of Terpenoids in Plants. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. (Eds) Schrader J., Bohlmann J. **148**, 63-106.

Valdivia-Correa B., Gómez-Gutiérrez C., Uribe M., Méndez-Sánchez N. (2016) Herbal Medicine in Mexico: A Cause of Hepatotoxicity. A Critical Review. *International Journal of Molecular Sciences*. **17**(2), 235. <http://doi.org/10.3390/ijms17020235>