

4
2e



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**ESTUDIO DE ALGUNAS ACTIVIDADES
BIOLOGICAS DE UNA FLAVONA AISLADA DE
Gnaphalium semiamplexicaule DC.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A

GRACIELA ALCANTARA SALINAS



DIRECTOR DE TESIS DR. JOSE SERAFIN CALDERON PARDO



1997

FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
P r e s e n t e

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:
Estudio de algunas actividades biológicas de una flavona
aislada de Gnaphalium semiamplexicaule DC.

realizado por Graciela Alcántara Salinas

con número de cuenta 8712217-6 , pasante de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario
Propietario
Propietario
Suplente
Suplente

Dr. José Serafín Calderón Pardo
M. en C. Eugenio Alejandro Flores Oropeza
M. en C. Javier Antonio Taboada Ramírez
M. en C. Ana Adela Sánchez Mendoc
M. en C. Emma Maldonado Jiménez

[Firma manuscrita]
FACULTAD DE CIENCIAS

Consejo Departamental de Biología
[Firma manuscrita]
M. en C. ALEJANDRO MARTINEZ MENA
DEPARTAMENTO DE BIOLÓGICAS

**“Las condiciones del pájaro solitario son 5 :
la primera, que se va a lo más alto ; la segunda,
que no sufre compañía aunque sea de su naturaleza;
la tercera, que pone el pico al aire ; la cuarta
que no tiene determinado color ; la quinta
que canta suavemente”**

San Juan de la Cruz
Dichos de luz y amor.

**“El hombre es parte integrante e indisoluble
del cosmos y su realización plena consiste en
ajustarse armónicamente al orden universal
de la naturaleza. El hombre es naturaleza,
no domina, ni pretende dominar, **convive**.
Estos planteamientos se contrastan con aquellos
de Occidente que ha hecho suyos durante siglos.
El hombre es la cúspide de la escala universal, más
alta, cuanto más “desnaturalizada” sea la sociedad.
El hombre es el amo, el maestro quién domina a la
naturaleza igual que domina a otros hombres
y otros pueblos”.**

Guillermo Bonfil Batalla.

**Este trabajo está dedicado principalmente a todos
aquellos seres que siguen luchando, por mantener
su **convivencia** con la naturaleza,
aunque eso les cueste el derrame de su sangre,
como a tantos hombres, mujeres y niños del campo mexicano
y de América Latina.**

DEDICATORIAS

A TI PAPÁ Por tú constante apoyo, por tú gran ejemplo, pero sobre todo por enseñarnos el significado de “humanidad” en toda su extensión.

A TI MAMÁ Por tú Amor, tú comprensión y por compartir conmigo la sabiduría acumulada en tus años de vida.

A MIS HERMANOS :Alfredo, Mary, Lily, Juan, Ale, Andrés ; porque cada uno de ustedes ha contribuido significativamente en mi formación personal. De manera muy especial a **Rita** por todo lo que te debo, por tú gran fortaleza y por tú manera de enfrentar la vida.

A MIS SOBRINOS :Jonathán, Arely, Adriana, Said, Coral, Alfredo, Ana Sol, Miguel, Carolina y Evelyn, quienes han llenado un mundo de sueños en mi vida.

De manera especial A Lupe, Soledad, Franciso y Pedro, que han llevado la felicidad a mis hermanos, por compartir grandes momentos y por ser parte indisoluble de la Familia.

A TI porqué también entiendes, que la Libertad es parte medular del amor. Por todo lo compartido y porque los dos somos nada más uno.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. José Calderón por ser mi asesor de tesis, por permitirme trabajar en su laboratorio y por su gran paciencia.

A todos los Investigadores que revisaron el manuscrito y que hicieron valiosas aportaciones para mejorar el presente trabajo :

M. en C. Eugenio Alejandro Flores Oropeza, quien además de fungir como asesor de mi Trabajo, siempre mostró una gran calidad humana. Ins. Quím. UNAM :

M. en C. Javier Antonio Taboada Ramírez , por el apoyo técnico en la realización de pruebas de actividad biológica y por la alegría siempre compartida. Ins. Quím. UNAM.

M. en C. Emma Maldonado Jiménez quien siempre mostró gran disponibilidad de tiempo y sobre todo por las valiosas sugerencias que mejoraron substancialmente el trabajo. Ins. Quím. UNAM

M en C. Ana Adela Sánchez Mendoza quien acepto formar parte del comité evaluador y por las sugerencias, realizadas. Ins. Quím. UNAM.

A la Biol. Carmen Gutiérrez Cotiño y a la M. en C. Teresa Ramírez Apan, por su asesoramiento y colaboración en las técnicas de actividad Biológica. Ins. Quím. UNAM.

Al Biol. Enrique Guilbert, por su gran disponibilidad para mejorar el trabajo y por su amistad.

Al Dr. Oswaldo Tellez por su magnífica colaboración y por su amabilidad intachable.

Al Dr. José Luis Villaseñor, por efectuar la determinación taxonómica del material vegetal.

A mi amiga Lupis por tú constante apoyo, por tú amistad incondicional, por todo lo vivido, por los pesares que hemos enfrentado juntas y por los miles que nos falta enfrentar.

De manera especial a Angélica Flores Pérez, por la excelente compañía durante toda la carrera de Biología, por su amistad su apoyo, pero principalmente porque sabe y entiende quién soy.

A Marita y Claus quienes me han demostrado que la amistad traspasa y supera todo aquello que llena los malditos esquemas cotidianos de la vida.

A todos los amigos de buceo y montañismo, con quienes he experimentado un mundo de aventuras, que son indescriptibles.

De manera muy especial a todos los amigos de SERBO. A.C. (Sociedad para el estudio de los recursos bióticos de Oaxaca. A.C.). Por todo el apoyo brindado, por la comprensión, por las mil y una experiencias compartidas, sobre todo por darme la oportunidad de realizar uno de mis mayores sueños, y finalmente por ser el principal catalizador para el término de este trabajo , nuevamente ¡Gracias !

Particularmente al Biol. Donato Acuca Vázquez, que también como yo cree, fielmente en la importancia de entender y mantener nuestras raíces indígenas..

A mi amiga Maria Luisa Córdoba por su amistad, apoyo y comprensión.

A todas las personas que de una u otra forma han contribuido en mi formación personal y profesional.

INDICE

1. INTRODUCCION.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
3. GENERALIDADES.....	5
3.1. Metabolitos secundarios.....	5
3.1.1. Terpenos.....	7
3.1.2. Compuestos que contienen Nitrógeno.....	9
3.1.3. Compuestos fenólicos.....	12
3.2. Actividad Biológica de los flavonoides.....	20
3.3. Ubicación Taxonómica de <i>G. semiamplexicaule</i>	23
3.4. Familia Compositae.....	23
3.5. Tribu Inulae.....	26
3.6. Género <i>Gnaphalium</i>	27
3.7. <i>Gnaphalium semiamplexicaule</i>	31
3.8. Propiedades medicinales que se le atribuyen a la especie...	33
3.9. Descripción del área de colecta de <i>G. semiamplexicaule</i>	35
4. MATERIAL Y METODOS.....	36
4.1. Análisis fitoquímico.....	36
4.2. Pruebas preliminares de actividad biológica.....	40
5. RESULTADOS	43
5.1. Análisis fitoquímico.....	43
5.2. Pruebas preliminares de actividad biológica.....	43
6. DISCUSION.....	48
6.1. Análisis fitoquímico.....	48
6.2. Pruebas preliminares de actividad biológica.....	49
7. CONCLUSIONES.....	52
8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	53
9. APENDICE A : ESPECTROS.....	62

1. INTRODUCCION

México es considerado en el mundo como uno de los países que poseen megadiversidad; de las 200,000 y hasta 500,000 especies de animales y plantas estimadas en el mundo, entre el 8 y el 10 % se encuentran en el país. ^{1,2}

La flora Fanerogámica se estima en 220 familias, 2,410 géneros y 22,000 especies. De esto aproximadamente el 10% de los géneros y 52% de las especies son endémicas y habitan los 32 tipos de vegetación que hasta el momento se ha descrito para el territorio mexicano. ^{3,4}

A esta riqueza biológica existente, se suma la riqueza cultural de México, donde 59 grupos étnicos prevalecen aún en diversas regiones, manteniendo un uso y aprovechamiento muy particular de los recursos naturales.

Estos hechos se reflejan en los estudios etnobotánicos realizados en algunas comunidades indígenas, donde se conoce, que la tradición oral ha logrado mantener la herencia, acerca del significado y el papel primordial que juega cada elemento constituyente de su entorno natural, del que las plantas forman parte, de esa tradición utilitaria y curativa para los mismos.

Actualmente se tienen reportadas 3,350 especies de plantas medicinales en nuestro país⁵ a las cuales se atribuyen un sinnúmero de propiedades curativas y terapéuticas.

El conocimiento de la estructura de los principios activos de las plantas es bastante reciente. Fue hasta fines del siglo XVII cuando Lavoisier elaboró un método de análisis por medio del cual podía medir las proporciones en que el carbono y el hidrógeno participaban en la composición de una sustancia orgánica. A partir de éste punto, la investigación en química orgánica de productos naturales se aceleró notablemente. Sin embargo, las armas con las que contaba el químico eran escasas todavía. A pesar de que se podía determinar, el número y

proporción de los elementos que formaban parte de una sustancia, todavía resultaba difícil llegar a conocer su estructura. ⁶

La historia de la Química abunda en la separación de sustancias puras de los vegetales por ejemplo tenemos el aislamiento de la sacarosa por Margraff en 1747 y la obtención de los ácidos láctico, cítrico, oxálico, málico, gálico y tartárico por Scheele entre 1769 y 1786. Así también Sertuner aisló el primer alcaloide, la morfina, años después Pelleter y Caventov separan la quinina, estricnina y otros alcaloides, y no es sino hasta la propuesta de la teoría estructural de la química orgánica, en 1858, que se empezó a visualizar como estaban dispuestos los átomos en las moléculas, con lo que se inspiró la búsqueda de la estructura y síntesis de los productos naturales. Así, en 1868 Liberman y Graebe determinaron la estructura de la alizarina y en 1873 lograron su síntesis total. En 1923 Willstetter sintetizó la cocaína, aislada por Niemann en 1860. Actualmente se sabe que muchos de los 11 000 compuestos aislados de fuentes naturales, son productos de la degradación o transposición que ocurren durante el aislamiento y se debe a la influencia de enzimas o agentes químicos extraños. ⁷

Actualmente se conocen miles de metabolitos secundarios, muchos de los cuales constituyen el material base en la manufactura de medicinas y drogas. En los E.U.A., el 25 % de las prescripciones médicas están basadas en drogas cuyos ingredientes activos son aislados de plantas.⁸ A su vez, la Organización Mundial de la Salud estima que el 80% de la gente en el mundo recurre a la medicina tradicional, básicamente al uso de plantas medicinales. ⁸

La Biodiversidad presente en el mundo es un acervo genético, resultado de procesos irrepetibles ocurridos durante millones de años de evolución y de gran importancia en la función y mantenimiento de los ecosistemas existentes en el planeta, por ello las Investigaciones que puedan contribuir al conocimiento de la Biodiversidad y su utilidad en el contexto

cultural indígena de nuestro país, significan aportes invaluable de gran utilidad al conocimiento del hombre.

A este respecto, la especie *Gnaphalium semiamplexicaule* conocida popularmente como "gordolobo" ha sido reportada en estudios Etnobotánicos como una planta utilizada en la medicina tradicional, principalmente en el tratamiento de padecimientos tales como bronquitis, asma, tos e irritación en la garganta.

En lo que concierne a las plantas medicinales que se han utilizado en nuestro país, es necesario conocer los principales metabolitos secundarios existentes en ellas, así como la posible actividad que puedan presentar. Las Investigaciones deben continuar y encaminarse al diseño de procesos accesibles, que permitan la producción masiva de sustancias, que sean disponibles para la población en forma de medicamentos para controlar las diversas enfermedades que atacan al hombre.

2.OBJETIVOS

GENERAL.

Realizar el estudio fitoquímico de la especie *Gnaphalium semiamplexicaule* DC. y conocer, por medio de pruebas preliminares, la posible actividad de los metabolitos secundarios que puedan ser aislados de sus hojas y flores.

PARTICULARES

1. Contribuir al estudio del Género *Gnaphalium*, con el análisis fitoquímico de esta especie.
2. Aislar, purificar e identificar los metabolitos secundarios principales de *Gnaphalium semiamplexicaule*.
3. Determinar la actividad de los metabolitos secundarios principales, aislados de *Gnaphalium semiamplexicaule*, mediante la realización de los siguientes bioensayos :
 - a) Toxicidad en *Artemia salina* Leach.
 - b) Citotoxicidad en las líneas celulares MK2 y C6.
 - c) Actividad antiinflamatoria, mediante la inducción de edema con carragenina, en ratas.
 - d) Actividad antimicrobiana, mediante el método de difusión de disco. Con las bacterias : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Mycobacterium smegmatis*

3.GENERALIDADES

3.1.METABOLITOS SECUNDARIOS

Las plantas producen diversos compuestos orgánicos, que al parecer, no tienen una función directa con su crecimiento y desarrollo, estas sustancias son conocidas como metabolitos secundarios, los cuales pueden dividirse en tres grupos principales:⁹

3.1.1.Terpenos

3.1.2.Compuestos que contienen nitrógeno

3.1.3.Compuestos fenólicos

En la Figura 1. se muestra un esquema muy general de la biosíntesis de metabolitos secundarios en plantas vasculares

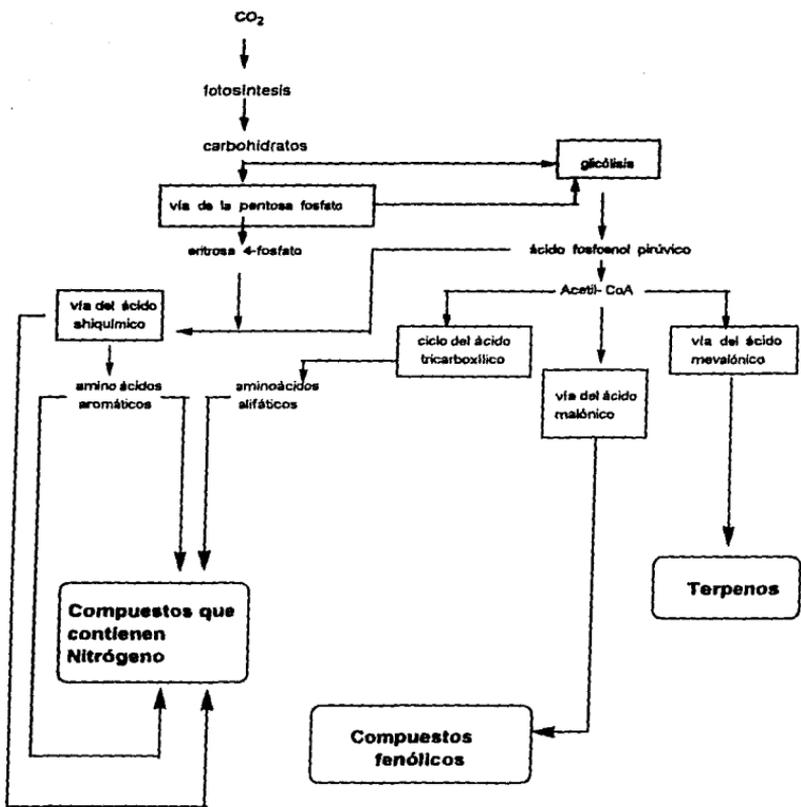
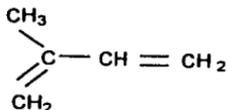


Fig. 1 Biosíntesis general de metabolitos secundarios y su interconexión con el metabolismo primario de las plantas vasculares.⁰

3.1.1. Terpenos

Los terpenos son compuestos naturales, que se forman a partir de Acetil CoA, por la ruta del ácido mevalónico. Los terpenos están formados por unidades de 5 átomos de carbono, denominado isopreno ó 2-metil 1,3-butadieno.

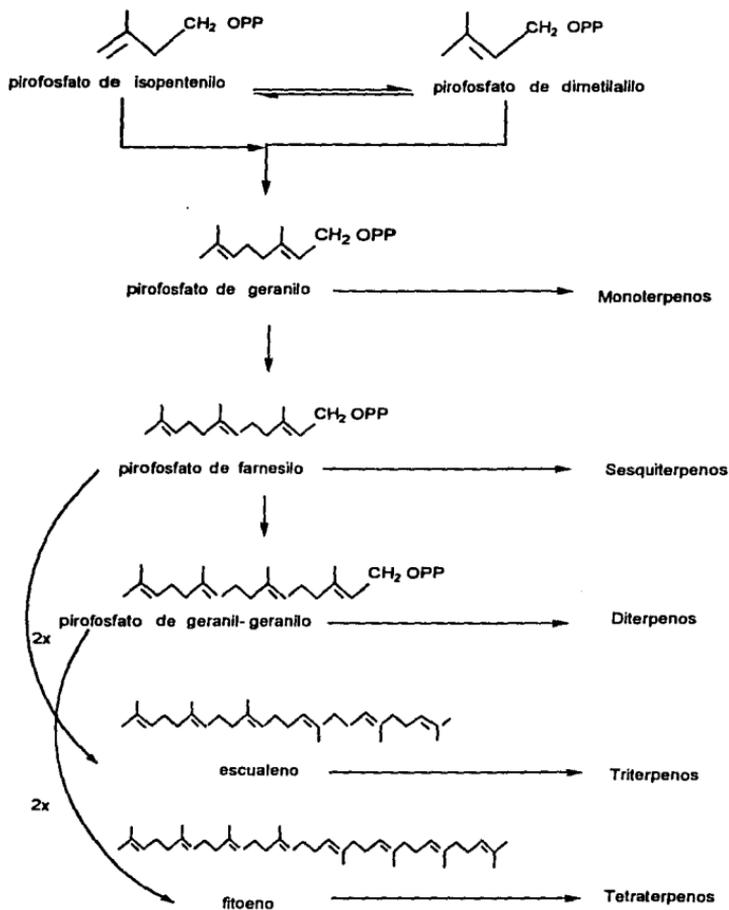


Los terpenos están clasificados de acuerdo al número de unidades de isopreno que contengan. Como se muestra en la Tabla 1.

Nombre	Unidades de isopreno	Número de carbonos en el esqueleto.
Monoterpenos	2	10
Sesquiterpenos	3	15
Diterpenos	4	20
Sesterterpenos	5	25
Triterpenos	6	30
Politerpenos	n	n

Tabla 1. Clasificación de los terpenos.

Ruta simplificada de terpenos por la vía del ácido mevalónico



3.1.2. Compuestos que contienen nitrógeno.

Una gran variedad de metabolitos secundarios contienen nitrógeno en sus estructuras. Incluidos en ésta categoría se encuentran los compuestos que las plantas sintetizan contra herbívoros, llamados alcaloides, que constituyen un grupo importante por la gran variedad de actividades que presentan. Se encuentra además el grupo de los glicósidos cianogénicos, los cuales son de gran interés debido a su toxicidad para los humanos y sus propiedades medicinales. La mayor parte de los compuestos nitrogenados son producto de biosíntesis de aminoácidos comunes.⁹

Alcaloides.

Son compuestos orgánicos que contienen nitrógeno y se encuentran presentes en un 20 a 30 % del total de plantas vasculares existentes. El átomo de nitrógeno en éstos compuestos se encuentra generalmente formando parte de un anillo heterocíclico. Dicho anillo contiene tanto átomos de carbono como de nitrógeno. La mayor parte de los alcaloides son de naturaleza alcalina, de la cual deriva su nombre.⁹

Los alcaloides son sintetizados a partir de pocos aminoácidos, particularmente, ácido aspártico, lisina, ornitina, tirosina y triptofano. Sin embargo, una gran parte del esqueleto carbonado de algunos alcaloides proviene de la ruta del ácido mevalónico. Los principales tipos de alcaloides y sus aminoácidos precursores se muestran en la Tabla 2.

Muchos alcaloides son tóxicos para los herbívoros, de tal manera que actúan como defensa de las plantas contra sus depredadores, especialmente los mamíferos herbívoros.

Un gran número de muertes en el ganado son causados por la ingestión de plantas que contienen alcaloides. En los E.U., un gran porcentaje del ganado de pastoreo se envenena cada año por alimentarse de plantas que contienen alcaloides que pertenecen a los Géneros *Lupinus*, *Delphinium* y *Senecio*. Esto se debe al hecho de que los animales domésticos, a diferencia de los silvestres, no han sido sujetos a la selección natural para evitar comer las plantas tóxicas.⁹

Todos los alcaloides, producen efectos tóxicos, por ejemplo la stricnina y coniina son los alcaloides más venenosos que se conocen. Sin embargo muchos de ellos, como la codeína, atropina, morfina y efedrina utilizados en dosis pequeñas son materia prima en la farmacología.

Otros alcaloides como la cocaína, nicotina y cafeína, son usados con fines no médicos como estimulantes o sedativos.⁹

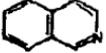
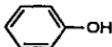
Tipo de alcaloide	estructura	aminoácido precursor	ejemplo
pirrolidina		ornitina	nicotina
tropano		ornitina	atropina cocaína
piperidina		lisina	conina
pirrolizidina		ornitina	retrosina
quinolizidina		lisina	lupinina
isoquinolina		tirosina	codeína morfina
indol		triptofano	psilocibina reserpina stricnina

Tabla. 2. Diferentes tipos de alcaloides, su aminoácido precursor y ejemplos de cada tipo.

3.1.3. Compuestos fenólicos

Las plantas producen una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo fenólico (un hidróxilo unido a un anillo aromático).



Estas sustancias se clasifican como compuestos fenólicos, los cuales son un grupo químicamente heterogéneo, algunos de ellos son solubles solamente en disolventes orgánicos, otros son solubles en agua, mientras que otros son polímeros insolubles tanto en agua como en disolventes orgánicos.

Los compuestos fenólicos juegan un papel muy importante en las plantas, muchos de ellos actúan como defensa contra los herbívoros y patógenos; algunos tienen una función como soporte mecánico, otros como atrayentes de los insectos polinizadores y como alelopáticos.⁹

Los compuestos fenólicos son biosintetizados básicamente por 2 rutas: La vía del ácido shiquímico y la vía del ácido malónico como se muestra en la Figura 2.

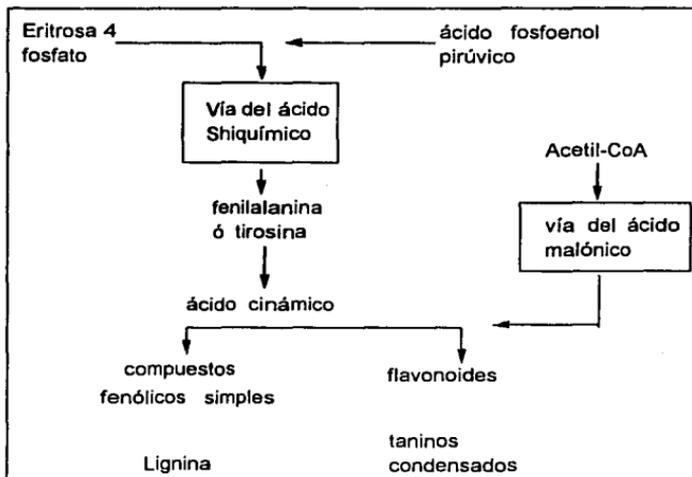


Figura.2. Rutas de biosíntesis de los compuestos fenólicos

La mayoría de los compuestos fenólicos son derivados de la fenilalanina y tirosina ; el paso clave en esta biosíntesis es la conversión de fenilalanina en ácido trans-cinámico por la eliminación de una molécula de amoníaco, catalizada por la enzima fenilalanina amonialiase (PAL).⁹ Proceso que se muestra en la Figura 3.

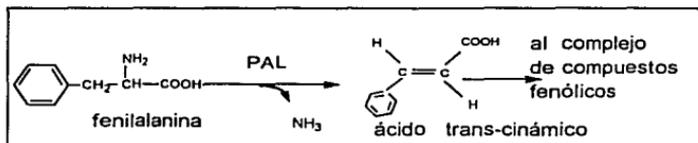


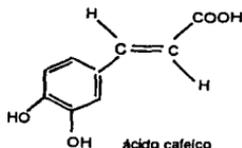
Figura 3. Desaminación de fenilalanina a ácido-trans-cinámico

División de los compuestos fenólicos.

a) Compuestos fenólicos simples

Estos compuestos se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas vasculares, y pueden ser:

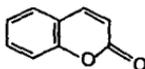
1. Fenilpropanos simples, derivados del ácido trans-cinámico



con un esqueleto de carbono básico



2. Lactonas de fenilpropano (ésteres cíclicos) llamadas cumarinas

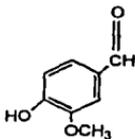


Umbelliferona

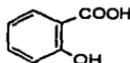
con un esqueleto de carbono básico



3. Derivados del ácido benzoico



vainillina



ácido salicílico

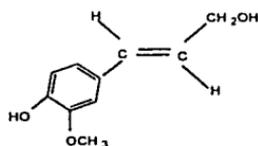
con un esqueleto de carbono básico



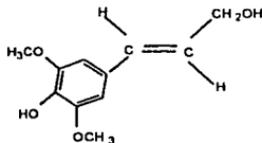
Muchos compuestos fenólicos simples juegan papeles importantes en las plantas, como defensa contra insectos, bacterias y hongos. De especial interés es la fototoxicidad de ciertas cumarinas llamadas furanocumarinas, las cuales tienen un anillo de furano extra. Estos compuestos no son tóxicos, hasta que son activados por efecto de la luz. Las furanocumarinas activadas por este proceso pueden reaccionar con la doble hélice del DNA y unirse a las bases pirimídicas, citosina y timina, bloqueando así la transcripción, y provocando la muerte de la célula.⁹

b) Ligninas

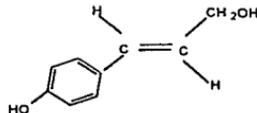
Las ligninas, después de la celulosa, son los compuestos orgánicos más abundantes en las plantas. Estos compuestos son polímeros altamente ramificados de grupos fenil propanoides, como son los alcoholes p-cumarílico, coniferílico y sinapílico, los cuales son sintetizados de fenilalanina vía los derivados del ácido cinámico, unidos de manera compleja en una estructura en tres dimensiones.⁹ Las estructuras de estos alcoholes se muestran a continuación:



alcohol coniferílico



alcohol sinapílico



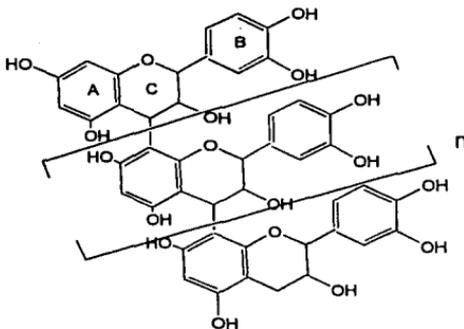
alcohol p-cumarílico

c) Taninos.

Los taninos son polímeros fenólicos que junto con las ligninas actúan en los herbívoros como disuasivos de la alimentación. Los taninos son utilizados industrialmente en el curtido de pieles. En este proceso los taninos se unen al colágeno de la piel de los animales, incrementando su

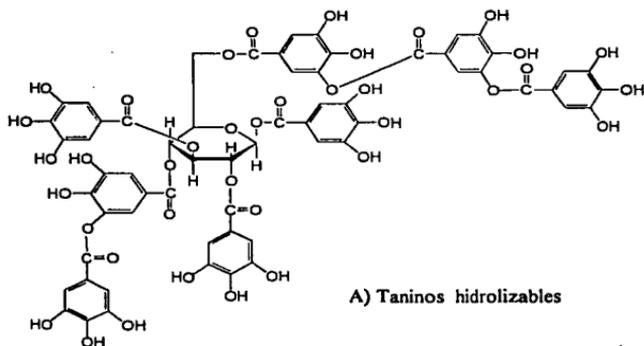
resistencia al calor, agua y patógenos. Existen dos categorías de taninos ; condensados e hidrolizables.⁹

1. Taninos condensados, son compuestos formados por la unión de unidades de flavonoides y son los principales constituyentes de las plantas leñosas. Los taninos condensados se hidrolizan para formar antocianidinas por tratamiento con ácidos fuertes.⁹



2. Taninos hidrolizables, son polímeros heterogéneos que contienen ácidos fenólicos, especialmente ácido gálico y azúcares simples. Éstos son más pequeños que los taninos condensados y pueden ser hidrolizados más fácilmente, usando ácido diluido. Su peso molecular fluctúa entre 600 y 3000 unidades de masa.

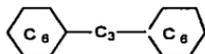
El ganado, los venados y los simios, son los principales mamíferos que evitan la ingestión de las plantas o parte de las plantas con alto contenido de taninos. Además los taninos actúan en las plantas como defensa contra microorganismos tales como hongos y bacterias, evitando la descomposición de los tejidos.⁹



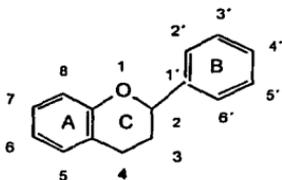
d) Flavonoides

Los flavonoides constituyen uno de los grupos más abundantes de compuestos fenólicos en las plantas.

El esqueleto básico de este grupo está constituido por dos anillos aromáticos y un puente de 3 átomos de carbono, haciendo un total de 15 carbonos.



Esta estructura resulta de 2 diferentes rutas biosintéticas, el puente y uno de los anillos aromáticos (anillo B) son una unidad de fenilpropano sintetizada de fenilalanina producto de la ruta del ácido shiquímico. El otro anillo aromático (anillo A) es originado de 3 unidades de acetato por la vía del ácido malónico.⁹



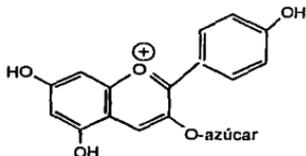
Clasificación de los flavonoides

Los flavonoides se clasifican en tres grupos principales, basados en el grado de oxidación del anillo C : 1) Antocianinas, 2) Isoflavonas, 3) Flavonas y flavonoles.⁹

1) Antocianinas

Las antocianinas son pigmentos flavonoides muy abundantes en las plantas, responsables de la coloración roja, rosa, púrpura y azul, tanto de las flores como de los frutos. Además juegan un papel importante en la atracción de polinizadores y dispersores de semillas.

Las antocianinas son flavonoides oxigenados principalmente en las posiciones 3,5,7 y 4' y con un azúcar unido generalmente en la posición 3.⁹

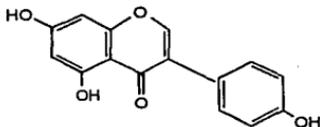


2) Isoflavonas.

Las isoflavonas son un grupo de flavonoides en los cuales el anillo B se cambia de la posición 2 a la posición 3 del núcleo flavonoide. Éstas se encuentran principalmente en legumbres y

tienen diferentes funciones. Algunos como los rotenoides, muestran actividad insecticida muy fuerte, mientras que otros tienen efectos antiestrogénicos y causan infertilidad en mamíferos.⁹

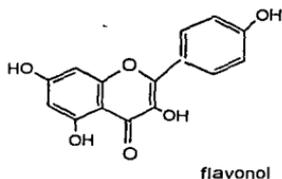
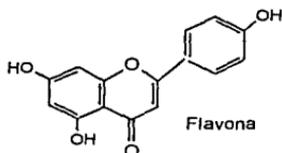
Hace algún tiempo, los isoflavonoides fueron mejor conocidos por su papel como fitoalexinas, compuestos antimicrobianos que se acumulan en altas concentraciones en las plantas después de haber sido infectadas por hongos o bacterias. Algunos investigadores han sugerido que las fitoalexinas son metabolitos formados en la planta en estado de estrés, como : heridas, bajas temperaturas, altos niveles de luz U.V. y la aplicación de fungicidas o sales de átomos pesados.⁹



3) Flavonas y Flavonoles.

Estos flavonoides se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas, absorben luz a longitudes de onda más cortas que las antocianinas, por lo que los insectos como las abejas pueden detectar las señales atrayentes de las flavonas y flavonoles. Investigadores de la Universidad de Purdue han mostrado que los flavonoles en las flores frecuentemente forman patrones simétricos, llamados guías de néctar. Estos patrones son conspicuos para los insectos y le ayudan a localizar el polen y néctar en las plantas. Las flavonas y flavonoles no solamente se encuentran en las flores, también están presentes en las hojas de todas las plantas. Se ha sugerido que estos flavonoides protegen a las células de una excesiva radiación ultravioleta, debido a que ellos absorben luz fuertemente en la región U.V., dejando pasar la visible. Se ha demostrado también que cuando se exponen las plantas a un exceso de luz U.V. ¹⁰, se aumenta considerablemente la síntesis de flavonas y flavonoles. El flavonol quercitina y la flavona apigenina han sido implicados

como reguladores endógenos del transporte polar de las auxinas.⁹



3.2.2. Actividad Biológica de flavonoides.

Las investigaciones realizadas sobre las actividades biológicas de los flavonoides han demostrado que poseen diferentes efectos farmacológicos. En la Tabla. 3. Se muestran algunos flavonoides aislados de plantas medicinales, que han mostrado actividad en diferentes bioensayos.

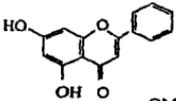
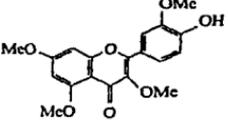
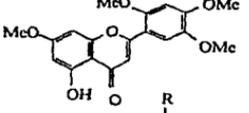
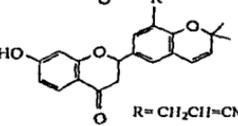
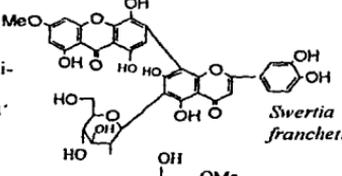
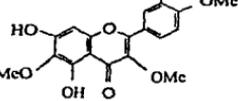
Tabla 3. Flavonoides con actividad biológica.

Nombre	Estructura	aislada de	Actividad	Referencia
1) 3,3',4',5,7-pentahidroxiflavona (quercetina)		comercial	Inhibe el crecimiento de la fase larvaria de <i>Ostrinia nubilalis</i> (Lepidoptera) la cual afecta los cultivos de maíz	11
2) 4'-hidroxiflavona 3,3',5,6,7-pentametoxiflavona		<i>Chrysosplenium</i>	efecto antiviral	12
3) 5,4'-dihidroxiflavona 6,7-dimetoxiflavona		<i>Artemisia judaica</i>	modificación en el tono de las contracciones del ileon de cerdo	13

Tabla 3. Flavonoides con actividad biológica.

Nombre	Estructura	aislada de	Actividad	Referencia
4) 5,3'-dihidroxi-3,6,7,8,4'-penta-metoxiflavona		<i>Zieridium pseudobtusifolium</i>	citotoxicidad en celulas KB inhibe la unión de la tubulina durante la mitosis	14
5) 3,5-dihidroxi-6,7,8-trimetoxi-3',4'-metilen dioxiflavona		<i>Melicope triphylla</i>	citotoxicidad en A-549 (adenocarcinoma de pulmón) HT-29 (adenocarcinoma de colon) KB (carcinoma epidermoide y P-388 (leucemia linfocítica de ratón)	15
6) 4' hidroxii-3,5,7,3'-tetra-metoxiflavona		<i>Melicope triphylla</i>	citotoxicidad en A-549 (adenocarcinoma de pulmón) HT-29 (adenocarcinoma de colon) KB (carcinoma epidermoide y P-388 (leucemia linfocítica de ratón)	15
7) quercetagina		<i>Artemisia annua</i>	citotoxicidad en las lineas celulares P-388, A-549, HT-29, MCF-7 y KB	16
8) 5,7,3'-trihidroxi-3,6,4'-trimetoxi-flavona		<i>Tanacetum microphyllum</i>	actividad antiinflamatoria y antiulcerosa en ratas	17
9) 5,5'-dihidroxi-3,7,2',4'-tetrametoxiflavona		<i>Chrysosplenium grayanum</i>	citotoxicidad en células KB	18

Tabla 3. Flavonoides con actividad biológica.

Nombre	Estructura	aislada de	Actividad	Referencia
10)crisina		<i>Chrysanthemum morifolium</i>	efecto anti-VIH	19
11)4'-hidroxi-3,5,7,3'-tetrame toxiflavona		<i>Melicope triphylla</i>	citotoxicidad línea celular P-388(leucemia linfocítica de ratón)	20
12)5- hidroxi-7,2',4',5'-tetrametoxi-flavona		<i>Calliandra californica</i>	bactericida <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	21
13)abyssinona V		<i>Bersama abyssinica</i>	bactericida Gram +	22
14)1,5,8-trihidroxi-3-metoxi-7(5',7',3'',4''-tetrahidroxi-6'-β-D glucopiranosil-4'-oxi-8'-flavil) Xanthona		<i>Svertia franchetiana</i>	acción inhibitoria de la transcriptasa inversa de VIH	23
15)centaureidina		<i>Tanacetum microphyllum</i>	acción antiinflamatoria	24

3.3.Ubicación Taxonómica de la especie :

Este estudio se realizó en la especie *Gnaphalium semiamplexicaule* cuya ubicación Taxonómica es la siguiente²⁵ :

División : Magnoleophyta.

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Asterales

Familia: Compositae

Tribu: Inuleae

Subtribu : *Gnaphalinae*

Género : *Gnaphalium*

Epíteto Específico : *Gnaphalium semiamplexicaule* D.C.

3.4.FAMILIA COMPOSITAE

La familia Compositae es una de las familias más numerosas de Angiospermas: comprende unos 1100 géneros y 25000 especies, la mayoría de sus miembros son arbustos o hierbas de hojas persistentes, plantas herbáceas vivaces con raíces tuberosas, anuales o bianuales ; son poco abundantes los árboles, son raras las epífitas y las verdaderamente acuáticas.

Algunas especies montanas y de islas tropicales, son herbáceas gigantes, muchas son rupícolas, otras verdaderas lianas, la mayor parte tienen tallos y hojas carnosas, pertenecen a ésta familia : lechugas, alcachofas, girasoles, margaritas, crisantemos, dalias, dientes de león, malas hierbas y los cardos.

Las compuestas se distribuyen por todo el mundo, a excepción de los territorios antárticos. Están bien representadas en las regiones semiáridas de los trópicos y subtropicos, como la región mediterránea, México, región del Cabo en Africa del

sur y formaciones de sabanas arboladas, arbustivas y herbáceas de Africa, Sudamérica y Australia.

Las plantas de la familia Compositae tienen hojas alternas u opuestas, rara vez verticiladas, sin estipulas, simples (raramente opuestas), con nervaduras pinnadas o palmeadas, sentadas o pecioladas, en su mayoría con base auriculada o envainadora, aunque bien pueden ser dentadas. Esta familia se caracteriza por tener canales resiníferos o vasos laticíferos.
26,27

Una gran parte de las plantas medicinales utilizadas en nuestro país se encuentran dentro de esta Familia. En la Tabla 4, se muestran algunas de las más representativas.

Como resultado de los estudios fitoquímicos realizados a éstas especies, se han aislado diferentes compuestos, tales como flavonoides, terpenos, alcaloides y glicósidos. 28, 29

Entre los compuestos aislados de la Familia Compositae y que son de gran importancia alimentaria están la absinthina (lactona sesquiterpénica) y el steviósido, la absinthina es una substancia amarga, que ha mostrado actividad protectora contra el ataque de insectos (aislada de *Artemisa absinthium*). Mientras que el steviósido es un glucósido diterpénico (aislado de *Stevia rebaudiana*), con una acción edulcorante que es 300 veces mayor que la de la sacarosa y 20 veces mayor que la sacarina, por lo que ha reemplazado a la sacarosa y a muchos de sus sustitutos sintéticos 30

Tabla. 4. Plantas medicinales utilizadas en nuestro país que pertenecen a la Familia Compositae

Nombre Científico	Nombre vulgar	Uso tradicional
1. <i>Heterotheca inuloides</i> Cass.	árnica mexicana	contusiones
2. <i>Tagetes erecta</i> L.	compazúchil	empacho, cólicos, emenagoga y antihelmíntica
3. <i>Artemisa mexicana</i> Willd.	estafiate	antihelmíntica, estomáquico, reumatismo
4. <i>Calendula officinalis</i> L.	mercadera	cicatrizante con propiedades antiinflamatorias y antisépticas ; antiespasmódico
5. <i>Brickellia squarrosa</i> Cav.	Prodigiosa	para combatir la atonía secretora y motriz del Ap. digestivo.
6. <i>Selloa glutinosa</i> Spreng.	pericón, tatalencho	antirreumático, analgésico y antidiarreico
7. <i>Calea zacatechichi</i> Schldl.	zacatechichi	combatir la temperatura, diarrea, enfermedades hepáticas
8. <i>Montanoa tomentosa</i> Cerv.	Zoapatle	facilita el parto, secreción de leche, abortivo
9. <i>Artemisa absinthium</i> L.	ajeno	enojos, dolor de estómago, bilis
10. <i>Cirsium conspicuum</i> (Don) Sxh. Bip.	cardo santo	calentura , diabetes
11. <i>Chrysanthemum parhenium</i>	Santa María	dolor de huesos y de estómago, susto
12. <i>Matricaria recutita</i> L.	manzanilla	conjuntivitis, cólicos, diarrea
13. <i>Tagetes micrantha</i> Cav.	Anís	calmante, vómito, susto
14. <i>Letuca sativa</i> L.	lechuga	dolor de riñones
15. <i>Zaluzania robinsonii</i> Sharp.	Limpia tuna	diarrea, susto, vómito
16. <i>Verbesina persifolia</i> DC.	Huichin	heridas
17. <i>Eupatorium petiolare</i> (Moc.) DC	cofesada, pestón	reumatismo, diarrea
18. <i>Senecio salignus</i> .	Jara	dolor de espalda
19. <i>Bidens pilosa</i> L.	acahual	problemas en los riñones
20. <i>Gnaphalium semitplexicaule</i> DC.	Gordolobo	irritación en la garganta, asma

3.5. Tribu Inuleae

La tribu Inuleae es cosmopolita y se encuentra bien representada en la flora Europea, con 27 Géneros y 116 especies, siendo especialmente abundante en Sudáfrica, Australia y el Continente americano. Existen en el mundo aproximadamente 200 Géneros y 2000 especies. Esta Tribu incluye una selección de plantas que han sido apreciadas por el hombre, debido a sus propiedades medicinales. Tres de las mejor conocidas como medicinales son: *Inula helenium*, *Pulicaria dysenterica* y *Antennaria dioica*, algunas de las raíces de *Inula helenium* han sido utilizadas como golosinas, (debido a que las compuestas también se caracterizan por almacenar polisacáridos basados principalmente en fructosa), así mismo las hojas de *Inula* y *Pulicaria* han sido empleadas por su propiedad insecticida.

De la tribu Inuleae se ha estudiado la composición química del 5 al 10% de las 2000 especies comprendidas en ella.

Investigaciones químicas detalladas de los géneros *Blumea*, *Gnaphalium*, *Helichrysum* e *Inula*, han permitido obtener 16 lactonas sesquiterpénicas. Se han aislado también algunos flavonoides del Género *Gnaphalium*. Así mismo se encuentran datos en la literatura referentes a la obtención de alcaloides, polioles, ciclitoles, lípidos y poliacetilenos para dicha tribu.

Los flavonoides han sido estudiados en gran detalle en *Helichrysum*. De la misma manera se han realizado estudios de terpenos simples en *Blumea balsamifera* y *Sphaeranthus indicus*

También se han encontrado 19 diterpenos en *Inula* y *Royleana*

En general, los patrones de lactonas, en la Tribu Inulae son similares a los encontrados en la Tribu Heliantheace.

Los patrones de triterpenoides en esta tribu pueden ser de interés sistemático³¹ aunque los datos acumulados hasta ahora son bastante escasos

En lo que respecta a los flavonoides, parece ser que no hay información de antocianinas en la tribu, esto es, quizá porque el color amarillo es predominante en las flores.

Se han realizado estudios de flavonoides de ésta Tribu, principalmente de los Géneros *Gnaphalium* y *Helichrysum*. Las especies de *Gnaphalium* analizadas son, *G. affine*, *G. multiceps* y *G. obtusifolium*,³²

3.6. Género *Gnaphalium*

El Género *Gnaphalium* L. comprende 230 especies dispersas por todo el mundo.³³ Estas se caracterizan por la ausencia de lígulas, cabezuelas con más de 10 flores, con varias series de ellas femeninas y filiformes y algunas o varias flores hermafroditas centrales; brácteas involucrales escariosas o papiráceas, y la ausencia de páleas.

En nuestro país se le encuentra predominantemente en sitios montañosos, alpinos ó en zonas semisecas, frecuentemente como elementos de vegetación secundaria o francamente como malezas, encontrándose la mayor diversidad en las zonas montañosas, en coincidencia con los patrones generales de distribución y diversidad de las compuestas³⁴

El trabajo que se ha realizado sobre *Gnaphalium* de México se concentra mayormente en la descripción de especies nuevas en su tiempo, a la enumeración de las especies presentes en determinadas regiones del país y en mucho menor medida en la elaboración de tratamientos taxonómicos requeridos en floras regionales. En éstos estudios son frecuentes los registros incompletos, identificaciones equivocadas y la aplicación de sinonimias.³⁵

En la antigüedad, al parecer los aztecas en el Valle de México, conocían y usaban una o varias especies del género, pues Hernández⁴⁵ menciona una planta llamada "Popotli", de la que escribe lo siguiente "Es una especie extranjera de *Gnaphalium* con flor blanca, espigada y que al fin se deshace en

vilanos. Es una hierba vellosa y buena contra las diarreas y úlceras . Es de naturaleza fría y salivosa, algo astringente . Nace junto al volcán” (Historia Natural de la Nueva España, Libro XV, cap. LXVII). Otra mención probable de *Gnaphalium* se encuentra en el Libro I, cap. CLX, donde se encuentra una ilustración del Segundo “Tzonpotonic”, similar a las plantas del género, cuya descripción dice “Así llaman los Quauhquechullenses a cierta especie extranjera de helicriso de raíz ramosa y fibrosa, hojas de sauce o de coniza, ásperas y vellosas, flores de helicriso blanco con amarillo y con el centro rojo, naturaleza caliente y olorosa y mucilaginoso.....Hay otras plantas del mismo nombre y poco diferentes en forma que no cuidamos de pintar ni describir porque tienen las mismas propiedades”.

Quiénes más han aportado a la descripción de especies nuevas al género han sido : Humboldt , Bonpland y Kunth ³⁶ ; De Candolle, ³⁷ Cabrera ³⁸, D´Arcy³⁹ y Goodfrey.⁴⁰ Las listas sobre la presencia de *Gnaphalium* en la vegetación de México, son obra de: Sessé y Mociño ³⁵, Hamsley⁴¹, Urbina ⁴², Shreve, Wiggins ⁴³, y McVaugh. ⁴⁴

Entre los numerosos colectores botánicos que han explorado la cuenca de México y que han contribuido con ejemplares de *Gnaphalium* se encuentra Bourgeau, que a través de sus colectas (1865-1866) adiciona las siguientes especies al conocimiento del género en la región :*G.luteo-album*, *G. americanum*, *G. roseum*, *G.semiamplexicaule* y *G.spicatum*.³⁵

En los estudios Etnobotánicos realizados de *Gnaphalium* en México se describen, las siguientes especies como medicinales²⁹

Gnaphalium conoideum H.B.K.conocida como “gordolobo” en el estado de Sinaloa es usada contra dolor de garganta , diarrea y tos.

Gnaphalium inornatum D.C. conocida como “gordolobo” en Villa Hidalgo y Yarg lao (zapoteca) en Oaxaca es utilizada para el dolor en general .

Gnaphalium oxyphyllum y *G. viscosum* H.B.K. son utilizados contra las úlceras en Quimixtlan, Puebla y se les conoce como canelilla.

Existe un *Gnaphalium sp* que es utilizado en Misantla, Veracruz contra granos.

Gnaphalium semiamplexicaule es utilizado contra la tos principalmente en el centro del país ²⁹ (D.F., Hidalgo, Tlaxcala y Edo. De México).

En lo referente a estudios realizados sobre *Gnaphalium* en otros países se tiene la siguiente información:

Gnaphalium arenarium que se distribuye en Dinamarca, Inglaterra y Japón, se describe como planta medicinal. Se usa contra la disentería y también para la preservación de ropa de lana evitando la polilla. En Japón se emplea como sustituto del tabaco. ⁴⁶

Gnaphalium cymosum es utilizada en los países antes mencionados como aromatizante de ambientes. ⁴⁶

Gnaphalium stoechas que se distribuye en Inglaterra, España, Italia y Francia, se emplea como expectorante, las flores son usadas como atenuantes de cualquier dolor. ⁴⁶

Gnaphalium polycephalum es utilizado contra algunas formas de artritis. ⁴⁶

Gnaphalium uliginosum se distribuye en muchos países de Europa y se usa para evitar el crecimiento de las anginas y como infusión astringente ⁴⁶.

Algunas especies se han estudiado fitoquímicamente y los resultados se muestran en la tabla. 5.

Tabla 5. Compuestos aislados de algunas especies pertenecientes al Género *Gnaphalium*

Epiteto Específico	compuesto aislado	Estructura	Actividad Biológica	Referencia
<i>Gnaphalium antemarioides</i>	GA-1=5,7,4'-trihidroxy-6-metoxiflavona (hispidulina) Ga-2=7-glucósido de hispidulina		no se realizaron pruebas de actividad biológica.	47
<i>Gnaphalium undulatum</i>	*2 Flavonas 1. R=R'=H 2. R=OMe; R'=Me *1 diterpeno		no se realizaron pruebas de actividad biológica.	48
<i>Gnaphalium elegans</i>	*5,7-Dihidroxy-3,6,8-Trimetoxiflavona		no se realizaron pruebas de actividad biológica.	49
<i>Gnaphalium graveolens</i> y <i>Gnaphalium pellitum</i>	Diterpenos		no se realizaron pruebas de actividad biológica.	50
<i>Gnaphalium robustum</i>	* 5 Hidroxy-3,7,8 trimetoxiflavona		no se realizaron pruebas de actividad biológica.	51
<i>Gnaphalium obtusifolium</i>	Gnaphaliina		no se realizaron pruebas de actividad biológica.	52

3.7. Descripción de *Gnaphalium semiamplexicaule*

Gnaphalium semiamplexicaule D.C. Hierba perenne, erecta, de 40 a 50 cm. de altura, con ramificación profusa por lo general; tallos cubiertos con indumento lanoso-aracnoideo denso y adpreso o aracnoideo laxo y flocoso; hojas sésiles, oblongo-lanceoladas a lanceoladas, de 12 a 90 mm. de largo y 3 a 20 mm. de ancho, con el ápice agudo a acuminado, margen liso o repando, base auriculada, semiamplexicaule, en ocasiones muy brevemente decurrente, conspicuamente bicoloras por lo general, con indumento escaso a densamente hirsuto en el haz, donde también puede o no haber lana aracnoidea en extremo laxa, envés densamente lanoso o lanoso-aracnoideo laxo y flocoso; inflorescencia corimbosa, paniculada o paniculado-corimbosa; cabezuelas estrechamente cilíndricas a cilíndricas, de 3 a 5 mm. de largo y 2 a 4 mm. de diámetro, lanosas en la base, con 3 a 4 series de brácteas cuyo número varía entre 16 y 24, las exteriores ovado-lanceoladas a elípticas con ápice agudo a acuminado, lanosas, las anteriores linear-lanceoladas a oblongo-lanceoladas, de ápice agudo a caudado, glabras, todas las brácteas tienen color blanquecino la mayoría de las veces o amarillo limón muy claro y en ambos casos son lustrosas; con (2) 3 a 5 (8) flores hermafroditas y 15 a 36 femeninas ambos tipos de flores de 2.8 a 4.2 mm. de largo y con el ápice de la corola café o amarillo y el resto blanco-verdoso o toda la corola blanca; aquenios oblongos u obovados, de 0.6 a 0.8 mm. de largo y aproximadamente 0.3 mm de ancho, de color café ambarino, mediante comprimidos, papilados y finamente estriados, cerdas del vilano blancas desprendiéndose del aquenio libres entre sí. Especie extremadamente variable y estrechamente relacionada con *G. oxyphyllum*. Es muy probable que *G. bicolor* Bioletti, *G. pringlei* Gray, *G. semilanatum* (DC) McV. Y *G. semiamplexicaule* pertenezcan a un mismo taxón o formen parte de un complejo²⁵ Habita en clima templado entre los 2000 y los 3000 msnm, asociada a vegetación perturbada de pastizal, bosques de encino, de pino y mixto de pino-encino.

En la Figura 4. Se muestra un aspecto general de la especie.



732713

HERBARIO DE LA DIVISION DE CIENCIAS FORESTALES
UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAMPAMELO (CHAP)

PLANTAS DE MEXICO, MUESTREO DE HIDALGO

Gnaphalium semiamplexicaule DC.
COMPOSITAE



Paraje Cumero de Tlanahuatla,
2 km al SE del ejido de Tlanahuatla,
municipio de Zacualtlan, Estado de Hidalgo
con dominancia de Quercus, topografía
decendente, exposición N, suelos de
textura fina, color obscuro. Rocas
calizas e igneas.

Herbario de 80 cm de alto, tallo
y hojas pubescentes, floras de color
amarillo oro.

20 de 1992

Col. José Luis López García # 303
Det. Francisco Ramos Marcano

Figura 4. Aspecto general de *Gnaphalium semiamplexicaule*

3.8. Propiedades medicinales que se le atribuyen *G. semiamplexicaule* :

Las propiedades medicinales que se le atribuyen popularmente a esta planta se relacionan con la cura de padecimientos respiratorios como bronquitis, asma e irritación de la garganta (Veracruz), pero su uso más frecuente, es contra la tos, (D.F., Hidalgo, Tlaxcala y Edo. de Méx.).²⁹

En el tratamiento de estos padecimientos se emplea la parte aérea preparada en infusión y administrada por vía oral. Así mismo se le ocupa para lavar heridas, granos y para estimular la circulación sanguínea en várices y hemorroides. Sus aplicaciones terapéuticas no se han validado experimentalmente.^{53,54}

Cabe mencionar que Meckes-Lozoya, describen un estudio donde se utiliza la infusión del extracto acuoso de *Gnaphalium semiamplexicaule*, la cual mostró actividad en relajación de musculo liso en ileum de cobayo y estimulante uterino ; ambos ensayos se aplicaron en perro. El extracto se probó a la concentración de 40 µl de extracto/ml de solución buffer.⁵⁵

En la Figura 5. Se ubican los principales estados de la República donde se describe a esta planta como medicinal.



Figura 5. ■ Estados de la República donde se reporta a *Gnaphalium semiamplexicaule* como planta medicinal

3.9.Descripción del área de colecta de *G. semiamplexicaule*.

Gnaphalium semiamplexicaule se colectó en la Ciudad Universitaria, D.F. en el mes de noviembre de 1995, zona geográfica que pertenece a la cuenca de México.

La cuenca de México, mal llamada "Valle de México" es una cuenca hidrológica, endorréica situada en el extremo sur de la altiplanicie mexicana. De los aproximadamente 7500 kilómetros cuadrados que posee, 5/8 lo son de terrenos planos y 3/8 de zonas montañosas

Geográficamente la cuenca de México forma parte del eje volcánico transversal. Muestra altitudes que oscilan entre 2200 y 5450 msnm y las coordenadas correspondientes a sus puntos extremos son: 19 02' y 20 12' de latitud norte, 98 28' y 93 32' de longitud oeste .

La región posee climas semisecos (BS) o templados (C) en la mayor parte de su extensión y fríos (E) en los lugares con altitudes mayores de 4000 m. ⁵⁶ En cuanto a la vegetación, los principales tipos son los siguientes: bosques de coníferas (*Abies*, de *Pinus*, de *Juniperus*), bosque mesófilo de montaña, bosque de *Quercus*; matorrales de *Quercus* o xerófilos, pastizales, vegetación halófila y vegetación acuática. Todos estos tipos de vegetación, excepto la acuática, poseen representantes de *Gnaphalium* ³⁵

4.MATERIAL Y METODOS:

Al inicio de este trabajo se realizó una revisión bibliográfica de la especie a estudiar así como de otros antecedentes relacionados con este estudio.

Para cumplir con los objetivos planteados en este trabajo, el estudio se dividió en dos partes :4.1.análisis fitoquímico, el cual consistió principalmente en el aislamiento de los metabolitos secundarios de *G. semiamplexicaule*, mediante la técnica de cromatografía en columna y 4.2.Pruebas preliminares donde se probó la actividad de los metabolitos aislados en los diferentes bioensayos.

4.1.Análisis fitoquímico

Para la realización de este análisis , primero se efectuó la colecta del material vegetal en la Ciudad Universitaria, el 17 de noviembre de 1995. Para confirmar la ubicación taxonómica de la especie, se consultó al Dr. José Luis Villaseñor quien efectuó la determinación del ejemplar como *Gnaphalium semiamplexicaule* DC., en el Instituto de Biología de la UNAM.

El proceso se inició con el secado de la planta, dejando la misma en un lugar ventilado y seco por 7 días, las flores y hojas una vez secas se trituraron y pesaron.⁷

Un total de 265 g. de hojas y flores trituradas se colocaron en un frasco Pyrex con capacidad de 20 litros aproximadamente, para adicionarles 8 litros de éter de petróleo utilizado como disolvente, este material se dejó macerar durante 72 horas, a temperatura ambiente, debidamente cubierto para evitar la evaporación del disolvente utilizado. Después de este lapso el extracto fué separado del material vegetal y el disolvente fué eliminado, mediante destilación a presión reducida en un rotavapor Büchi waterbath B-480.

Este extracto se separó en sus componentes, mediante una cromatografía en columna, utilizando una columna de 60 cm. de largo \times $\varnothing=7.0$ cm, empacada con sílica gel de tipo 60 de tamaño de partícula 0.063-0.200 mm, la cual fué denominada columna A. Ésta fue eluida con éter de petróleo, mezclas de éter de petróleo-acetato de etilo y de acetato de etilo-metanol, aumentando gradualmente la polaridad. Se obtuvieron 36 fracciones de 20 ml cada una, que fueron monitoreadas por cromatografía en capa fina, utilizando cromatofolios de aluminio con sílica gel 60 de 0.25 mm. de espesor con indicador fluorescente UV 254 y usando como revelador una solución de sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N o con lámpara de luz UV.

Las fracciones 17 a 20 eluidas con mezclas de éter de petróleo-acetato de etilo (7:3) y (1:1) se reunieron dando un peso de 5.2 g. los cuales se disolvieron en metanol caliente y se percolaron a través de una columna de celita-carbón activado (1:1) para eliminar las clorofilas que se encontraban presentes.

El residuo obtenido (4.6 g). se purificó por cromatografía en columna de sílica gel de 40 cm de largo \times $\varnothing=4.5$ cm, la cual se denominó columna B. Se usaron los mismos eluyentes que en la columna A. De esta columna se colectaron 100 fracciones, las cuales fueron monitoreadas por cromatografía en capa fina. De las fracciones 33-35 se obtuvieron 1.8 g de cristales amarillos por cristalización con éter de petróleo; a éstos se les determinó su punto de fusión, en un aparato de Fisher-Johns. El punto de fusión de estos cristales fué de 151-154 °C.

Este compuesto fué denominado GA 33-35 y se le realizaron los siguientes análisis :

1. Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (RMN¹H) y 2. Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13 (RMN¹³C), en un espectrómetro Varian Gemini 200 (200 MHz) y en un Varian Unity 300 (300 MHz) 3. Espectrometría de Masas de Impacto Electrónico (EMIE) determinado en un espectrómetro de masas Hewlett Packard Mod. 5985-B, a una temperatura de 250 °C y 4.

Espectrofotometría en el Infrarrojo. En un espectrofotómetro Perkin-Elmer Mod. 283-B y en un Nicolet FTIR Mod. DIP-360 ⁷

Posteriormente una muestra del compuesto GA 33-35 (87.3 mg) se disolvió en 1 ml. de piridina y se le adicionó 1 ml. de anhídrido acético. Se dejó reaccionar por un periodo de 12 horas, al cabo de las cuales los reactivos fueron eliminados a presión reducida y el residuo fué purificado por cromatografía en capa delgada preparativa obteniéndose 52.5 mg del acetato.

Al que se le determinó un análisis de RMN¹H (Espectro 1), mediante el cual, se dedujo su estructura Química.

El proceso de aislamiento se esquematiza en la Figura 6.

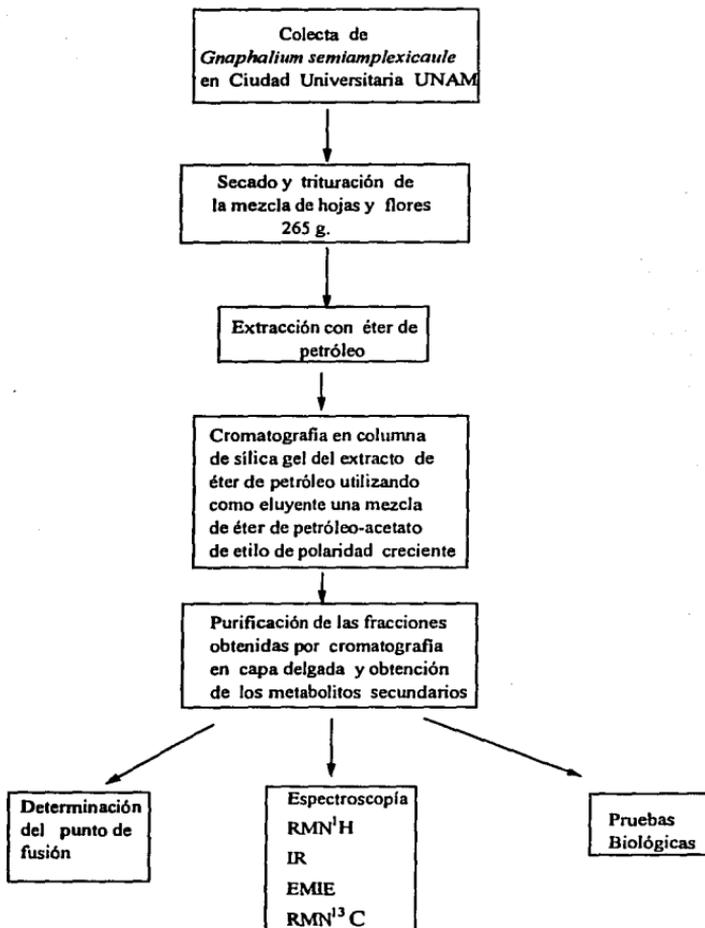


Figura. 6. Procedimiento de extracción, aislamiento, purificación e identificación de los metabolitos aislados.

4.2. Pruebas preliminares.

El metabolito aislado se sometió a los siguientes ensayos biológicos :

- a) Toxicidad en *Artemia salina* Leach.
- b) Citotoxicidad en las líneas celulares MK2 y C6.
- c) Actividad antiinflamatoria mediante la inducción de edema con Carragenina, en ratas.
- d) Actividad antimicrobiana mediante la prueba de sensibilización con las bacterias : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Mycobacterium smegmatis*

a). TOXICIDAD EN *Artemia salina* Leach.

Este bioensayo emplea como modelo al crustáceo *Artemia salina* para inferir acerca de la actividad citotóxica de las sustancias, por lo que puede tener diferentes aplicaciones tales como : análisis de residuos de pesticidas, micotoxinas, ríos contaminados, anestésicos, toxinas de dinoflagelados, cocarcinogenicidad de ésteres de ferbol (anticancerígeno) y tóxicos en el medio marino.

Para obtener las larvas del crustáceo *Artemia salina* Se preparan 500 ml de una solución de agua salada que contiene todos los componentes del agua de mar (preparada con Instant Ocean marca Acuatric Systems), a una concentración de 37.5 g/l ; de la que se vertieron 250 ml a un estanque (ó recipiente de incubación) previamente dividido en una parte oscura y otra iluminada.

Los huevos de *A. salina* se colocaron en la parte oscura del recipiente y se incubaron a una temperatura de 24-25 °C, por un periodo de 48 horas (transcurrido este lapso las larvas de *A. salina* eclosionan).

Posteriormente se preparó una solución madre (stock) de 5mg del metabolito aislado/5 ml de agua salada.

De esta solución se tomó con una micropipeta la cantidad necesaria para obtener las concentraciones de 10, 25, 50 y 100 ppm. en un volumen final de 5 ml. A cada una de las diferentes concentraciones se les adicionó 0.02 ml de DMSO, para facilitar la disolución del metabolito en el agua salada, así mismo se emplearon 2 testigos el de agua salada y agua salada-DMSO.

A cada concentración se le agregaron 10 larvas de *A. salina* capturadas previamente de la parte iluminada del recipiente de incubación (las larvas de *A. salina* presentan fototropismo positivo). Se mantuvieron a una temperatura de 24-25 ° C durante 24 horas. Después de este lapso se cuantifico la mortalidad de las larvas. Para cada solución se realizaron tres repeticiones y los resultados se analizaron con el programa de computo Finney- Purde ⁵⁷

b) CITOTOXICIDAD EN CELULAS MK2 Y C6.

En una placa con 96 pozos se colocaron 5×10^3 (células MK2 y C6) por pozo en 100 μ l de medio, 100 μ l de la sustancia a probar en solución del mismo medio de cultivo al que se le agregaron 3% de PG (0.3% de DMSO) lo que quedó a la concentración final de 1.5% de PG . De cada concentración de la sustancia a probar se hicieron 3 repeticiones y el control.

Se incubaron a 37 °C (en 5% de CO₂) por 24 horas y subsecuentemente se les añadieron 1 μ Ci (50 μ l) de 3H-timidina en el mismo medio y se incubó por 18 hrs a 37 °C. Los cultivos se cosecharon usando un equipo automático que lisa, aspira a las células y transfiere el DNA a papel filtro que se transfiere a la vez, a viales con líquido de cintilación para medir la radiactividad de cada uno de ellos.

c) ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

La actividad antiinflamatoria se determinó en ratas macho Wister, usando la prueba de edema inducido con carragenina, descrita por Winter y Col. ⁵⁸

La inflamación fué inducida por inyección subcutánea de carragenina (1%) en la pata trasera derecha de la rata y el incremento de volumen de ésta, se registró con un Pletismómetro (Ugo Basile).

Antes de cualquier tratamiento, el volumen promedio de la pata (V_0), fué determinado después de 3 o 4 mediciones y no difería por más del 4% (precisión del aparato) .

El metabolito disuelto en DMSO (1%), fué mezclado con aceite de maíz y administrado en dosis de 100mg/Kg. El testigo también conservó la misma proporción de DMSO y aceite de maíz.

Tanto el metabolito como el testigo se administraron por vía oral 60 minutos antes de la inyección de carragenina y a partir de este tiempo se tomaron las lecturas de los cambios de volumen (V_f) a la 1a, 2a, 3a, 4a y 5a horas siguientes.

EL porcentaje de edema se calculó de acuerdo a la siguiente expresión :

$$\% \text{ Edema} = (V_i - V_0) 100$$

El porcentaje (I) de inhibición se calculó usando la siguiente proporción :

$$\% I = \frac{[(V_i - V_0)_{\text{control}} - (V_i - V_0)_{\text{tratamiento}}]}{(V_i - V_0)_{\text{control}}} \times 100$$

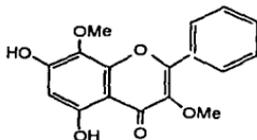
d) ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

Para determinar la actividad antimicrobiana se utilizó el método de difusión del disco en agar,⁵⁹ empleando discos de papel filtro de 7 mm de diámetro. Los discos se impregnaron con el compuesto previamente disuelto en DMSO a la concentración deseada. Se dejaron secar y se colocaron en la superficie de medio de cultivo. Se utilizó medio No.1 para antibióticos (marca Bixon) para las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Para *Mycobacterium smegmatis* se usó agar Micobacteria (Bioxon). Los discos se incubaron durante 24 horas a 37°C.

5.RESULTADOS

5.1.Análisis fitoquímico

Se aisló un compuesto que de acuerdo al análisis obtenido de los espectros de RMN¹H, IR, EMIE y RMN¹³C, se puede concluir que se trata de un flavonol. Con base en los datos descritos en la literatura y punto de fusión se puede deducir que éste compuesto es idéntico tanto en sus propiedades físicas como espectroscópicas a la que presenta la Gnaphaliina y se le asigna la estructura correspondiente a la 5,7-Dihidroxy-3,8 dimetoxiflavona que se representa enseguida:



Gnaphaliina

Este compuesto presenta un punto de fusión 151-154°C y peso molecular de 314, al cual se le puede asignar la formula molecular C₁₇H₁₄O₆.

5.2.Pruebas preliminares

a). TOXICIDAD EN *Artemia salina* Leach.

Los datos del efecto que tiene éste compuesto sobre las larvas de *Artemia salina* se muestra en la Tabla 6, donde se puede observar que no presenta actividad citotóxica sobre el crustáceo.

Tabla 6. Total de Artemias muertas a las 24 horas del tratamiento con Gnaphaliina.

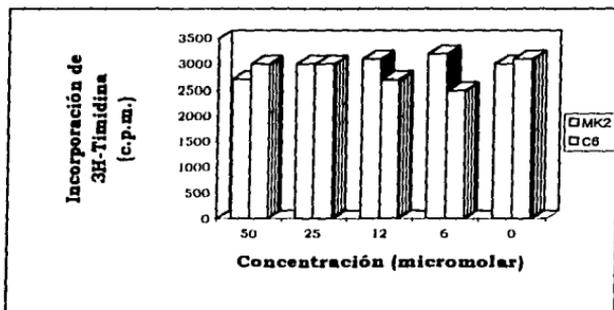
No. de muertes a las 24 horas.				
Concentración	tubo 1	tubo 2	tubo 3	total
H ₂ O salada	0	0	0	0
DMSO	0	0	0	0
10 ppm	0	0	0	0
25 ppm	0	0	0	0
50 ppm	0	0	0	0
100 ppm	0	0	1	1

Como resultado de éste bioensayo se observó sólo una muerte a la máxima concentración probada de 100 ppm.

b) CITOTOXICIDAD EN CELULAS MK2 Y C6

Los resultados obtenidos para éste bioensayo se muestran en la gráfica 1. A las concentraciones probadas de 6,12,25 y 50 μ M.

Gráfica 1. Efecto citotóxico del flavonol en las líneas celulares MK2 y C6.



c) ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA .

Se usó la técnica de Winter ³⁷ para determinar la actividad antiinflamatoria del metabolito, se obtiene como resultado un porcentaje de inhibición del edema del 58.4 % con respecto al grupo control utilizado, a la dosis de 100 µg/Kg

La tabla 7 , 8 y la gráfica 2 representan la determinación del volumen del edema de las ratas tratadas con el compuesto respecto al grupo control durante las 5 horas de seguimiento de la técnica.

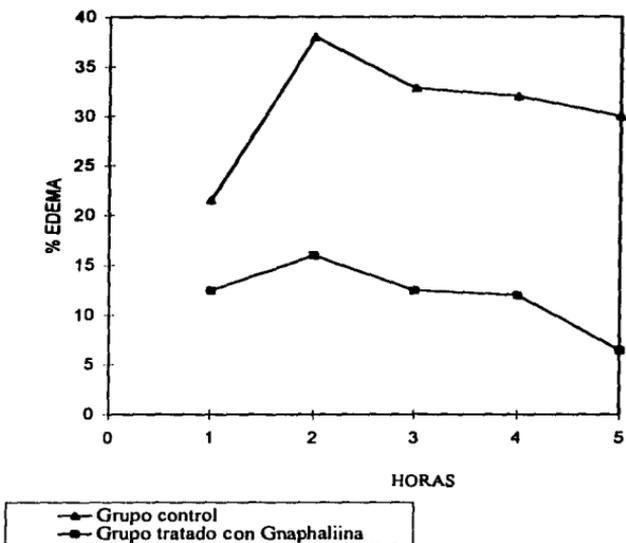
Tabla 7. Volumen de edema del grupo control.

GRUPO CONTROL					
Tiempo (hrs)	1	2	3	4	5
Volumen promedio de edema (ml)	21.5	38.0	32.8	32.0	30.0

Tabla 8. Volumen de edema del grupo tratado.

GRUPO TRATADO CON EL FLAVONOL					
Tiempo (hrs.)	1	2	3	4	5
Volumen promedio de edema (ml)	12.5	16.0	12.5	12.0	6.5

Grafica 2. CURSO TEMPORAL DEL EDEMA INDUCIDO CON CARRAGENINA



d) ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

En la siguiente Tabla se muestran los resultados obtenidos de este bioensayo.

Tabla 9. Actividad que mostró el flavonol en el crecimiento de las bacterias ensayadas a una concentración de (100 $\mu\text{g/ml}$).

Bacterias ensayadas	Inhibición de crecimiento
<i>Staphylococcus aureus</i>	Negativo
<i>Escherichia coli</i>	Negativo
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	Negativo

6. DISCUSION

6.1. Análisis fitoquímico

En este trabajo se aisló sólo uno de los metabolitos secundarios, el cual pertenece al grupo de compuestos fenólicos que incluye a los flavonoides.

Este compuesto fué aislado de las fracciones 33-35 de la cromatografía B del extracto de éter de petróleo de *Gnaphalium semiamplexicaule*, como un sólido cristalino de color amarillo y con un punto de fusión de 151-154 °C.

El espectro de infrarrojo de este compuesto (Espectro 2.) mostró una serie de bandas características ; en 3500-2800 cm^{-1} una banda ancha, característica para un grupo funcional OH, una banda en 3019 cm^{-1} que corresponde a enlaces C-H aromáticos y una banda afilada en 1653 para un grupo carbonilo (C=O) de una flavona. En el espectro de RMN¹H (Espectro 3.) se observan señales múltiples para 5 protones aromáticos en 8.09 y 7.52 ppm, características de un grupo fenilo, en 6.42 ppm una señal simple asignada al protón aromático número 6, en 3.97 y 3.85 ppm dos señales simples para grupos metoxilo. El espectro de masas (Espectro 4.) dió un peso molecular de 314, al cual se le puede asignar la formula molecular C₁₇H₁₄O₆ y que fué confirmada al observar señales en el espectro de RMN¹³C para 17 carbonos (Espectro 5.)

Con los datos anteriores podemos proponer una estructura flavonoide con 2 metoxilos, 2 grupos hidróxilo, un anillo aromático (B) no substituido y un protón aromático.

El nombre de este flavonol corresponde a Gnaphaliina 5,7-Dihidroxy-3,8 dimetoxiflavona.

6.2.Pruebas preliminares de actividad biológica

a)TOXICIDAD EN *Artemia salina* Leach.

De los resultados mostrados en la Tabla 6. Se observa que la Gnaphaliina no mostró actividad citotóxica frente a *Artemia salina* a una concentración de 100 ppm.

b)CITOTOXICIDAD EN CELULAS MK2 Y C6

De acuerdo a la gráfica 1, se observa que el flavonol muestra actividad mínima en la línea celular MK2, ya que la incorporación de 3Htimidina a la concentración de 50 μ M es menor con respecto al grupo control.

Dado que el cáncer es una de las enfermedades mortales que tiende a aumentar (el 18 % de 1973 a 1990 en E.U.).⁶⁰ Los bioensayos a) y b) son importantes, ya que cuando los resultados son positivos, los compuestos ensayados pueden ser usados en contra de algunas líneas celulares cancerígenas para el hombre.⁶¹

Como en éste caso los resultados fueron negativos, se puede inferir que la Gnaphaliina es un flavonol que probablemente exhiba una baja toxicidad y por lo tanto se decidió probar ésta flavona como antiinflamatoria.

c) ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA .

Como se muestra en la Gráfica 2, la máxima actividad antiinflamatoria se registró a la tercera hora de la lectura del volumen promedio manteniéndose hasta la cuarta hora . Lo que de acuerdo al porcentaje de inhibición calculado representa un 58.4% de actividad antiinflamatoria del flavonol aislado con respecto al grupo control, a la concentración de 100 μ g/Kg.

Como la Gnaphaliina presentó una actividad antiinflamatoria de 58.4 % a una concentración de 100 μ g/Kg, es probable que a concentraciones mayores como 200,400 y 600 μ g/Kg la actividad antiinflamatoria también será mayor, como se ha observado en otros flavonoides descritos en la literatura^{62,17}

Los bioensayos con estas concentraciones no se hicieron ya que no se dispone de los recursos económicos para llevarlos a cabo.

En el caso de los atributos medicinales de *Gnaphalium semiamplexicaule*, el bioensayo de actividad antiinflamatoria, puede sugerir que muy probablemente, la planta ejerza éste efecto, ante algún cuadro de enfermedad en las vías respiratorias superiores.: traqueo bronquitis, neumonía, faringitis, faringitis estreptocócica, etc.^{63,64}

Aunque como menciona (Lara, 1996)²⁸ En muchos casos los atributos medicinales de las plantas, probablemente se deban a la presencia en la misma planta de varios principios activos con interacciones sinérgicas potencializadas o incluso antagónicas. De cualquier forma el hombre seguirá encontrando en las investigaciones de los productos naturales, una gran cantidad de almacenes químicos, que sean farmacológicamente activos, ante un sinnúmero de enfermedades que lo aquejan.

d) ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

El resultado de este bioensayo como se muestra en la Tabla 9. Resultó negativo frente a las bacterias *Escherichia coli*, *Mycobacterium smegmatis* y *Staphylococcus aureus*

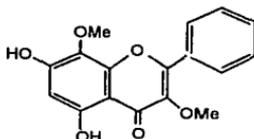
Aun cuando estos resultados parezcan desalentadores; se propone como una continuación de éste estudio la posibilidad de ensayar el flavonol con otro tipo de bacterias tales como *Hemophilus influenzae*, *Candida albicans*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Staphylococcus pneumoniae*, *Mycobacterium tuberculosis* y *Corynebacterium diphtheriae*, que son algunos de los agentes causales de enfermedades de las vías respiratorias superiores, como: traqueo bronquitis, neumonía, faringitis, faringitis estreptocócica, etc.^{63,64}

Estas enfermedades muy probablemente forman parte del cuadro principal de afecciones para las cuales se utilizan las propiedades medicinales al "gordolobo" *Gnaphalium semiamplexicaule*. Sin embargo fue imposible ensayar éste tipo de bacterias puesto que, son cepas de difícil obtención.

7.CONCLUSIONES

- Del estudio de *Gnaphalium semiamplexicaule* se puede concluir lo siguiente :

- Se aisló e identificó un flavonol denominado Gnaphaliina (5,7-dihidroxi-3,8 dimetoxiflavona).



Gnaphaliina

-La Gnaphaliina no presentó actividad citotóxica en *Artemia salina* Leach, ni en las líneas celulares MK2 y C6. Tampoco inhibe el crecimiento de las bacterias :*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Mycobacterium smegmatis* a las concentraciones probadas.

-Este estudio presenta una aportación al conocimiento de la composición química de *Gnaphalium semiamplexicaule* así como el resultado de algunas pruebas preliminares biológicas ensayadas con el flavonol.

-El flavonol administrado por vía oral en ratas, a las que se indujo inflamación con carragenina, presentó un efecto antiinflamatorio de 58.4% con respecto al grupo control, a la concentración de 100 µg/Kg.

8.REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. Soberon, J. (1991). Una panorámica de la Ecología en México. Cuadernos de conservación no. 1 Pronatura A.C. México, D.F.
2. Sedue (1992). Acuerdo de creación de la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. **Diario Oficial** de la Federación. 16 Marzo 1992.
3. Miranda. ; Hernández, X . (1964). Los tipos de vegetación de México y su clasificación *Bol. Soc. Bot.* **28** 29-179.
4. Rzedowski . J ; (1993). Diversity and Origins of the Phanerogamic Flora of México In : Biological Diversity of México. (Ramamoorthy, T.P ; Bye, R. ; Lot, A. ; Fa, J. Eds.) Pp 100-125. Oxford Univ. Press.
5. Bye, R ;Linares, E. ;Estrada. (1975) Biological diversity of medicinal plants in México. In: Phytochemistry of medicinal plants. Recent advances in Phytochemistry V.29. Cap. 4. (Arnason, J.T. ; Mata. R. ; Romeo. T. eds.) pp 65-83. *Plenium Press*, New York and London.
6. Romo de Vivar, A. (1981) La Química de productos naturales en México: lactonas sesquiterpénicas. *Ciencia*, **32** 163-189.
7. Dominguez, A. X. (1985). Métodos de Investigación Fitoquímica Ed. Limusa 3a reimpresión, México, D.F.

8. World Resources Institute 1993. 1709 New York Avenue, NW, Washington, DC 20006 (202/638-6300 ; fax : 202/638-0036. (internet).
9. Taiz, L ; Zeiger, E. (1991). Surface protection and secondary defense compounds. In: Plant Physiology. (Taiz, L ; Zeiger, E. Eds.) Pp. 318-344. The Benjamin/ Cummings Publishing Company, Inc. Ca. Oxford Press.
10. Caldwell, M.M.; Roberecht, R ; and Flint S. D. (1993). Internal filters: Prospects for UV-acclimation in higher plants *Physiol. Plant.* **58** 445-450.
11. Abud- Zaid, M.M Et al.(1993). The effect of one Flavone,two catechins and four flavonols on Mortality and growht of the european corn borer (*Ostrinia nubialis* Hubner). *Biochem. Syst. and Ecol.* **21** 415-420
12. Tsuchiya, Y. Et al. (1985). Antiviral activity of natural occurring flavonoids *in Vitro*. *Chem. Pharm. Bull.* **33** 3881-3886 .
13. Abdalla S.S. and M.H. Abu Zarga. (1987). Effects of Circimaritin, a flavone isolated from *Artemisia judaica*, on isolated Guinea-pig Ileum. *Planta Medica.* **53**. 322-324 .
14. Lichius, J.J. Et al. (1994). Antimicotic and cytotoxic-flavonols from. *Zieridium pseudobtusifolium* and *Acronychia Porteri*. *J. Nat. Prod.* **57** 1012-1016.

15. Hou, R-S. Et al. (1994). Cytotoxic flavonoids from leaves of *Melicope triphylla*.
Phytochemistry. **35** 271-272 .
16. Zheng, Guo-Qiang. (1994). Cytotoxic Terpenoids and Flavonoids from *Artemisia annua*.
Planta Medica. **60** 54-57.
17. Abad, M.J. ; Bermejo, P y Villar, A. (1993). Anti-inflammatory activity of two flavonoids from *Tanacetum microphyllum*.
J. Nat, Prod. **6** 1164-1167.
18. Arisawa, M. Et al. (1991). Isolation and cytotoxicity of two new flavonoids from *Chrysosplenium grayanum* and related flavonols.
J. Nat. Prod. **54** 898-901.
19. Hu C.Q., Chen. Et al. (1994). Anti-Aids agents Acacetin -7-O- β -D-Galactopyranoside, an anti-HIV principle from *Chrysanthemum morifolium* and a structure-activity correlation with some related flavonoids.
J. Nat Prod. **57** 42-51.
20. Rei-Sheu, H. Et al. (1994). Cytotoxic Flavonoids from the leaves of *Melicope triphylla*.
Phytochemistry. **35** 271-272.
21. Encarnación, R. Et al. 1994. Two new flavonoids from *Calliandra californica* .
J. Nat. Prod. **57** 1307-1309.

22. Taniguchi, M.; Kubo, I. (1993). Ethnobotanical drug discovery based on medicine men's trials in the African Savanna :screening of east african plants for antimicrobial activity II.
J. Nat. Prod. **56** 1539-1546.

23. Wang, J.V. Et al. (1994). 1,5,8 thrihydroxy-3-methoxy-7-(5',7',3'',4''-tetrahydroxy-6'- C, β -D-glucopyranosyl 1-4'-oxy-8'flavyl)-xanthone.
J. Nat. Prod. **57** 211-217.

24. Abad, M.J. Et al. (1993). Anti-inflammatory activity of two flavonoids from *Tanacetum microphyllum*.
J. Nat. Prod. **56** 1164-1167.

25. De Candolle, A. 1873. *Prodromus Systemae Naturae* VI. Paris. 221-245.

26. Heywood, V.H. (1985). Las plantas con flores. Ed. Reverté, Barcelona España.

27. Cronquist, A. (1977). Introducción a la Botánica 2a, Edición, Compañía Editorial Continental, S.A. México, D.F.

28. Lara, O,F. (1996). Plantas Medicinales de México, composición, usos y actividad biológica. Ins. Química UNAM. México, D.F.

29. Aguilar A ;Camacho .JR ; Chino, S ; Jaquez. P ; López M.E. (1994). Herbario medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. Información etnobotánica. IMSS. México, D.F.
30. Heywood, H ; Harborne, J. and Turner, B. (1977) The Biology and the Chemistry of the Compositae Vol. I Academic Press, New York.
31. Pal, R, Mortra, K ; Chakravarti, N.M., and Adhyra, R.N.(1972). Campesterol from *Blumea lacera*. *Phytochemistry* **11** . 1855.
32. Merxmüler, H ; Lenis, P ; Roesler, H. (1977). Inulae Systematic Review In : The Biology and Chemistry of the Compositae (Heywood, V.H. ; Harborne, J.B. and Turner, B.L. Eds.) pp. 577-602. Academic Press London.
33. Drury, D.G. (1970). A fresh Approach to the classification of the genus *Gnaphalium* with particular reference to the species present in New Zealand Inuleae. Compositae. *New Zealand Jour. Bot.* **9** 157-185.
34. Rzedowski, J. (1972). Contribución a la fitogeografía florística e histórica de México, III Algunas tendencias en la distribución geográfica y ecológica de las Compositae mexicanas. *Ciencia* **27** 123-132.
35. Espinosa G. J. 1985. El Género *Gnaphalium* L. (Compositae :Inulae) en el Valle de México. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias.

37. De Candolle, A 1837. *Prodromus Systemae Nature* VI. Paris pp 221-245.
38. Cabrera, A. L. (1961). Observaciones sobre las Inuleae - Gnaphaliinae (Compositae) de América del Sur. *Rev. Soc. Arg. Bot.* **9** 359- 386.
39. D'arcy, W.G. (1975). Gnaphalium. En Woodson, R.E. ; R.W. ; Scherry & Col. (Eds) *Flora of Panamá*. Part IX . *Ann. Missouri Bot. Gard.* **62** 835-1322.
40. Goodfrey, R.K. (1958). A synopsis of Gnaphalium (Compositae) in the southeastern United States. *Quart. Journ. Florida Acad. Sci.* **21** 177-184.
41. Hemsley. 1881, Botany In: *Biología Centrali-americana* V. II. 134-139.
42. Urbina, M (1897). Catálogo de plantas Mexicanas Fanerógamas. Museo Nacional; México, D.F.
43. Shreve, F ; Wiggins, I.L. (1964). Vegetation and Flora of the Sonoran Desert. Vol. II. Pp. 1511-1515. Standford Univ. Press. California.
44. Macvaugh, R.L. (1984). Flora Novogaliciana. Compositae Univ. of Michigan Press. Ann Arbor, Michigan. pp 446-468.

45. Hernández, F. (1969). Historia Natural de la Nueva España 2 V. En obras completas de Fco. Hdz. U.N.A.M, México. D.F.
46. Grieve. M. Botanical. com A Modern Herbal Home page 1995 Electric Newt (internet)
47. Torrenegra. R. B.; Et al. (1987). Plantas colombianas del Género *Gnaphalium*. *G. rufescens* and *G. antennarioides* . *Rev. Latinoam. Quim.* **18** 116-118.
48. Bohlman, F. Et al. (1980) Neue diterpene aus *Gnaphalium*-Arten. *Phytochemistry.* **9** 71-74.
49. Torrenegra, R.B. Et al. (1980). 5,7-Dihidroxy-3,6,8-Trimethoxyflavone from the flower of *Gnaphalium elegans*. *Phytochemistry.* **19** 2795-2796.
50. Torrenegra, R. B. Et al. (1992). Diterpenes from *Gnaphalium pellitum* and *Gnaphalium graveolens*. *Phytochemistry.* **31** 2415-18.
51. Aurzua, Cuadra, P. (1990) Flavonoids from the resinus exudate of *Gnaphalium robustum*. *Bol. Soc. Chil. Quim.* **34** 247-251.
52. Hänsel R and Ohlendorf, D. (1969). Im B-ring unsubstituierte flavone aus *Gnaphalium obtusifolium* . *Tetrahedron Letters.* **6** 431-432.

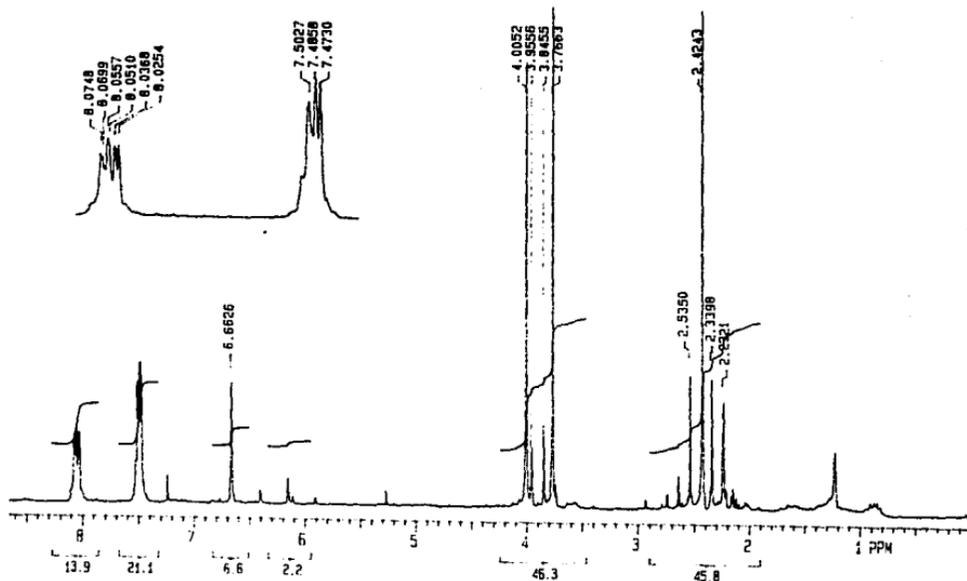
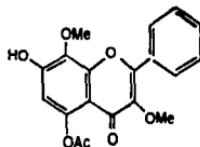
ESTÁ RESERVADO
SALVO DE LA BIBLIOTECA

53. Argueta A. (1994) . Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. INI, México D. F.
54. Argueta. A ; Zolla. C. (Coords.) (1994). Nueva bibliografía de la medicina tradicional mexicana. INI México D.F.
55. Meckes-Lozoya, M , Mellado. C. (1986). Pharmacological screening of mexican plants, Populary Used for tratment of Cough.
Fitoterapia. LXII 365-370.
56. García, E. (1968). Los climas del Valle de México. Colegio de Posgraduados. Escuela Nac de Agricultura. Chapingo Mex. *Serie de sobretiros* **6**: 1-34
57. Meyer, B. N; N. R. Ferrigni, J. E. Putnam M, L. B. Jacobsen , D. E. Nicholson Y J. L. Mclaughlin. (1982). Brine Shrimp: A convenient General Bioassay for Active Plant Constituents.
Planta Medica. 45 31-34.
58. Winter. C.A.; Risley E. A.; Nuss G. W. (1962). Carragennin induced edema in hindpaw of the rat as assay for antiinflammatory drugs.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 111 544-547.
59. Stanford. T. (1978). Diagnóstico clínico por el laboratorio 6a. Edición, Editorial Salvat, México D.F.

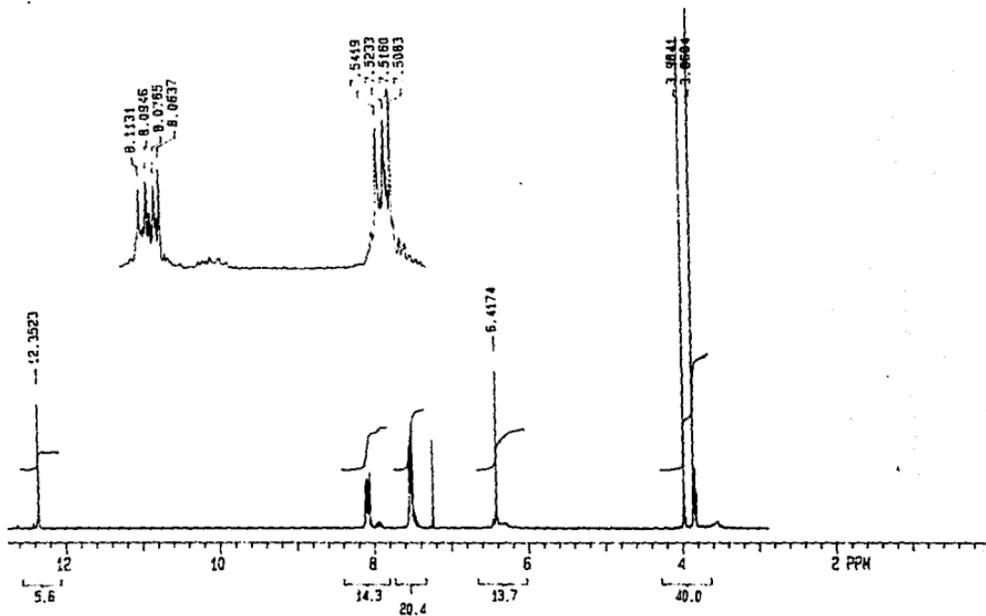
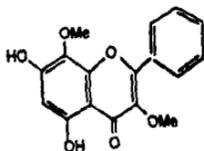
60. Pereda-Miranda, R. (1995). Bioactive natural products from traditionally used mexican plants. In : Phytochemistry of medicinal plants. Recent advances in Phytochemistry V.29. (Arnason J.T ;Mata. R ; Romeo.T J. Eds) pp. 65-83. Plenium Press, New York and London.
- 61 Scharz, L. (1996). El cáncer se resiste a la ciencia. Mundo Científico.
Le recherché **167** 340-346.
62. Lanhers M-C, Et. al. (1992). Anti-inflammatory and analgesic effects of an aqueous extract of *Harpagophytum procumbens*.
Planta Médica **58** 117-123.
63. Kelley, W. N. (1990). Medicina Interna. Ed. Medica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
64. Harvey Mcgehee, Et. al (1978) Tratado de Medicina Interna 19a ed. Nueva Editorial Interamericana. México, D.F.

9. APENDICE A : ESPECTROS

acetato.



Espectro 1. RMN¹H de la Gnapthaliina (acetato)



Espectro 3. RMN¹H de la Gnapthaliina.

1 Mass Spectrum 1

Date : 09-03-2002

Date : 29-Feb-95 11:19

Sample :

Note : Dr. Jose Calderin PGRS

Instr : Direct

Ion Mode : E1+

Spectrum Type : Regular (MS-Scan)

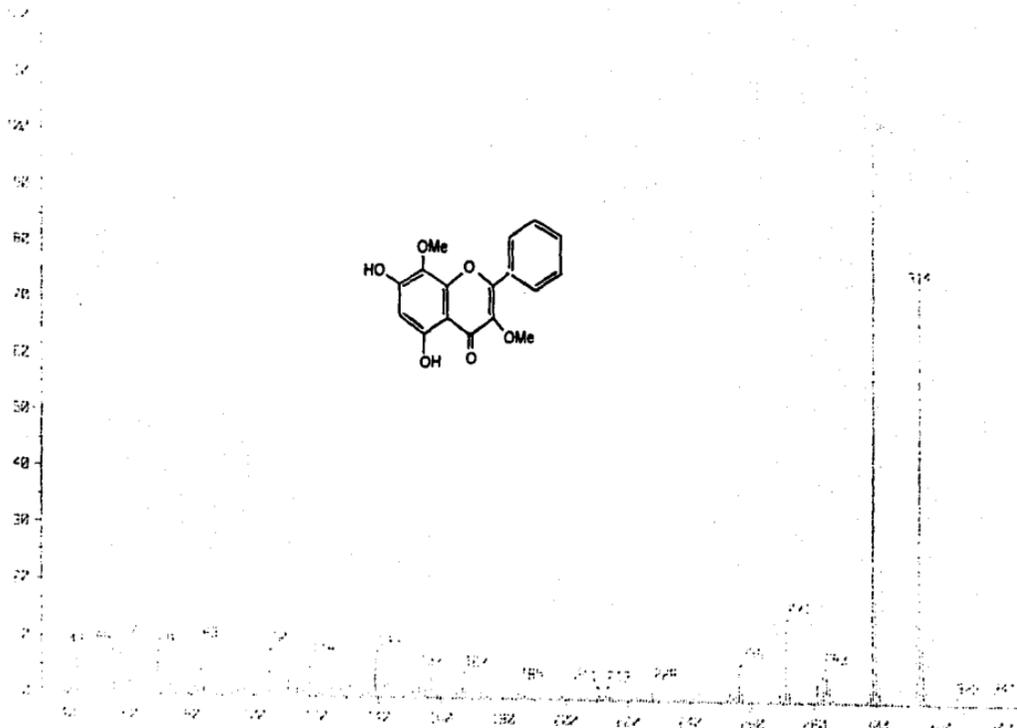
RT : 1.00 min Scan# : 125, 141

Temp : 41.1 deg.C

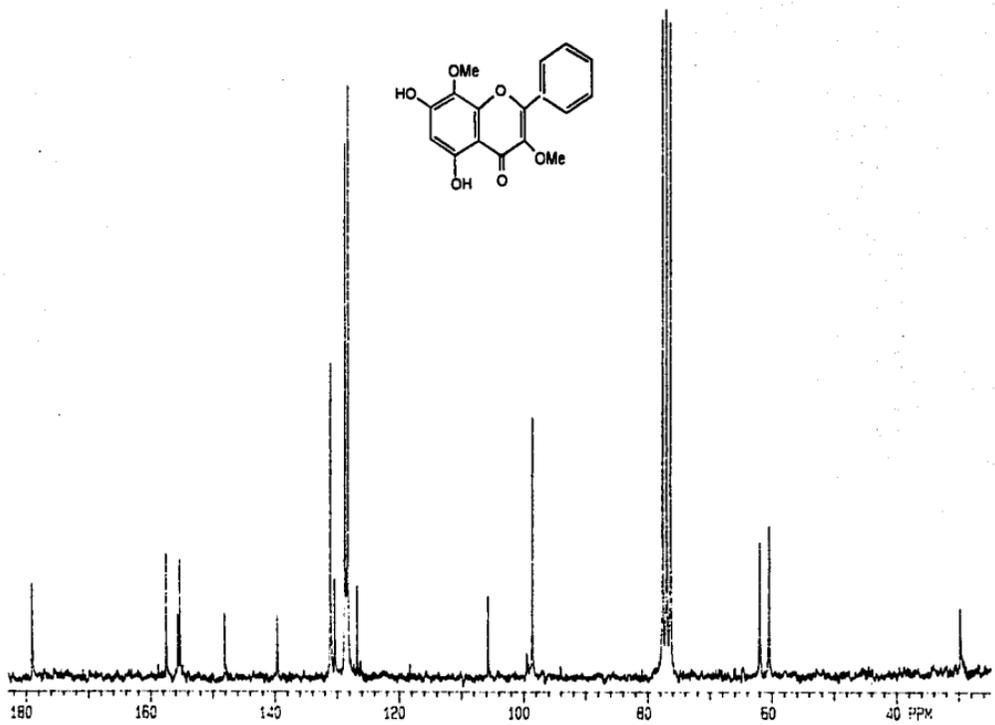
RF : 2000.0000 Int. : 1000.00

Gate Mass Range : 1.0000 to 450.0000

MS(Scan)



Espectro 4. EMIE de la Gnapthaliina



Espectro 5. RMN¹³C de la Gnaphaliina