

1
2^o

302927

UNIVERSIDAD FEMENINA DE MEXICO
INCORPORADA A LA UNAM

**ESTUDIO FITOQUIMICO DEL EXTRACTO CLOROFORMICO DE UNA PLANTA MEDICINAL
DE LOS ALTOS DE CHIAPAS (*Sisyrinchium scabrum*).**

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTA:

MARCIA MARISOL ALCIBAR MUÑOZ

MÉXICO D.F.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**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.

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Q. F. B. Santiago Salazar López
Vocal: M en C. Alma Miriam Novelo Torres
Secretario: M en C. Angélica Calderón Villagómez
Suplente: Q. F. B. Esperanza Hernández Koellig
Suplente: Q. F. B. Virginia Tamez Y Sotomayor

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA

*Laboratorio de Fitoquímica, Departamento de Farmacia
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas I. P. N.*

DIRECTOR DE LA TESIS

*M en C. Angélica Calderón (Asesora Interna)
M en C. Lourdes Hernández De Jesús (Asesora Externa)*

SUSTENTANTE:

Marcia Marisol Alcibar Muñoz

El presente trabajo, fue realizado en el Laboratorio de Fitoquímica del Departamento de Farmacia de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, bajo el Asesoramiento de la M en C María de Lourdes Hernández De Jesús.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que colaboraron con la realización del presente estudio:

A la OMIECH (Organización de Médicos Indígenas del Estado de Chiapas) y al Dr. Rafael Alarcón, por proporcionar la planta para realización del presente estudio.

Agradezco a la Dirección de Estudios Profesionales DEPI por el apoyo financiero en el desarrollo de esta investigación. Clave del proyecto 393392 y 952842.

A la Dra. Concepción Rodríguez Jiménez del departamento de Botánica de la E.N.C.B por haber realizado la clasificación botánica de la planta.

Al Dr. Rogelio Pereda Miranda por su valioso punto de vista que dio sobre este trabajo que por algún momento se pudo ver obstaculizado muchas gracias.

Al Dr. Everardo Escamilla jefe del laboratorio de Bacteriología Médica del departamento de Microbiología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas por su asesoramiento y por haber proporcionado las cepas microbianas, en las evaluaciones biológicas.

Al Dr. Joaquín Tamariz, al Dr. Gerardo Zepeda y a la M en C Beatriz Hernández Carro por su colaboración en el análisis espectroscópicos e interpretación.

Al Biólogo, Juan Carlos García Castro por su ayuda en la toma de fotos y por sus valiosos consejos para mi superación personal, así como también por haberme brindado su amistad y apoyo incondicional.

Al Ing. Marco Antonio Moreno Alfaro y a la Lic. Alma Delia Martínez Muñoz jefes del Departamento de Manufactura y Robótica del Tecnológico de Monterrey Campus Hidalgo por haberme brindado una gran parte de su tiempo en la búsqueda de información así como también por las facilidades dadas para la utilización del equipo de computo en el escáner de los espectros.

A la M en C Verónica Rodríguez López por la amistad y el apoyo académico durante mi carrera.

Al Arq. Benito Muñoz Patlán por el tiempo y dedicación a la elaboración de las estructuras presentadas en este trabajo.

A Eduardo Lona por haberme brindado su amistad y optimismo en los momentos más difíciles de mi carrera.

A Tania y Patricia por haberme brindado su amistad y por estar juntas en los momentos difíciles de esta carrera.

A mis compañeras de laboratorio: Luz María, Norma Obando, Dora, Leobardo y David por su apoyo en el trabajo experimental.

A Irma, Gaby, Adriana, Ana, Tere, Lupis, Luz María, Norma, Armida, Pedro, David, Jair, Leivert y Leobardo por darme la oportunidad de poderlos conocer y compartir momentos agradables dentro y fuera de la escuela. Volviendo así a encontrar la amistad pura y desinteresada que estos tiempos es muy difícil de encontrar, esperando que cada uno luche por un ideal y que todo lo que se propongan lo consigan muchas gracias*.*

A mis compañeros de los Laboratorios Química por darme consejos y ánimo para que este trabajo pudiera realizarse satisfactoriamente.

Deseo expresar de manera más profunda y sincera a la Profesora e investigadora de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional Asesora externa M en C Lourdes Hernández De Jesús por su gran apoyo como profesora y amiga, lo que me ha servido como aliento para ver cumplido lo que en cierto momento parecía imposible realizar.

Agradezco sinceramente a la M en C Angélica Calderón Asesora Interna de la Universidad Femenina de México por el apoyo que me ha brindado durante la realización de mi trabajo de Titulación Profesional.

D E D I C A T O R I A S

Esta Tesis quiero dedicarla de manera especial a la única persona que ha sacrificado una gran parte de su vida para que uno sea una persona preparada en este mundo tan difícil en el que nos toca vivir. Para ti mamá.

Que con Tu confianza y comprensión me dejaste la libertad de escoger el camino del conocimiento para obtener la herencia que perdura por siempre.

Que a través de todo este camino recorrido hemos ido juntas siempre de la mano llegando a la meta mas importante de toda persona el terminar una carrera y ser alguien en la vida. Por lo que es el momento en el cual empieza para mi una nueva vida por la que ahora me toca demostrarte que todo estos esfuerzos no fueron infructuosos.

Que has sido la Madre y Padre digno de mi admiración y respeto y por lo cual me impulsa a seguir adelante para que siempre estés orgullosa de mi.

Que con tu cariño y amor me has ayudado a crecer como ser humano.

Que has forjado en mi un carácter triunfador.

Que con tus consejos me has ayudado a tomar decisiones en los momentos más críticos de mi vida.

Que te quiero mucho aunque mi forma de ser no lo demuestra demasiado y que eres todo mi mundo siempre serás tu GRACIAS por ser mi madre.

A MIS PROFESORES:

Porque gracias a ellos somos profesionales y mediante esto tenemos una forma de vida digna, Ser maestro es lo más hermoso, porque con sus cátedras y sus consejos nos formamos como personas de bien, sin olvidarnos del gran maestro: "Jesús".

A MIS ABUELTOS JOSEFINA Y BENITO:

Porque gracias a Dios están conmigo, siendo mis segundos padres y por ser la base fundamental de la honestidad, trabajo y desempeño que siempre han heredado de generación en generación para hacer de toda esta familia personas de provecho esperando estén orgullosos de que todos estos valores dados hallan fructificado en mi muchas gracias.

A MIS TÍAS GRACIELA, ANTONIA, ANGELA, ROSA, LUCIA Y ESPERANZA.

Por brindarle todo su apoyo a mi madre, dando lo mejor de cada una demostrando además que estando siempre juntos saldremos adelante en los momentos buenos y difíciles de esta vida.

A MIS TÍOS FERNANDO Y CARLOS:

Por ser cada uno el padre que no tuve, dándole las gracias por toda la ayuda y el apoyo que siempre le han brindado a mi madre para que mi vida no tomara otro camino y sentir que siempre tendré a ustedes en cualquier problema. Gracias.

A TITO, GISELA, JESSICA Y OSCAR:

Para que sigan adelante en todos sus estudios y este sea un ejemplo que los motive a ser alguien en la vida y no ser unos mediocres que nunca lucharon por un ideal, espero que más adelante este consejo les sirva para su superación.

A TODOS MIS PRAMOS:

Ya que todos hemos juntos luchado por seguir adelante y ser gente triunfadora apoyándonos y ayudándonos en los momentos en que mas nos hemos necesitado y por tener en mente una misma meta ser el orgullo de nuestros padres, gracias por estar conmigo.

A MI ABUJINA LUPITA:

Porque a través de todo este tiempo me dio su valiosos consejos para seguir adelante y estar siempre conmigo en los momentos más importantes de mi vida.

A MARCELA Y GUADALUPE:

Por ser las amigas incondicionales que siempre están dispuesta a brindarme su apoyo, y porque aunque cada una tomo diferentes caminos nuestra amistad ha perdurado esperando que siempre sigamos juntas.

INDICE

PAGINA

INTRODUCCION

Justificación.....	4
--------------------	---

OBJETIVOS

Objetivo General.....	6
Objetivos particulares.....	6

1. ANTECEDENTES

1.1. LOS ALTOS DE CHIAPAS.....	7
1.1.1 Ubicación Geográfica.....	7
1.1.2 Los Indios Tzotziles de Chiapas.....	8
1.1.3 La Medicina Tradicional en el Estado de Chiapas.....	8
1.1.4 Las Plantas Medicinales.....	11
1.1.5 Descripción de los microorganismos utilizados en los bioensayos.....	13

1.2 GENERALIDADES DE LA FAMILIA IRIDACEAE

1.2.1 Aspectos Botánicos de la Familia.....	15
1.2.2 Perfil Fitoquímico de la Familia.....	16
1.2.3 Actividad Biológica de la Familia.....	26

1.3 GENERALIDADES DE LA ESPECIE <i>Sisyrinchium scabrum</i>	27
---	----

2. METODOLOGIA

2.1 Material vegetal.....	28
2.2 Extracción y purificación del constituyente mayoritario de la raíz de <i>Sisyrinchium scabrum</i>	28
2.2.1 Análisis preliminar.....	28

2.3 ANALISIS FITOQUIMICO PRELIMINAR DEL EXTRACTO CLOROFÓRMICO

2.3.1 Alcaloides.....	30
2.3.2 Taninos y Fenoles.....	30
2.3.3 Azúcares.....	31
2.3.4 Saponinas.....	31
2.3.5 Glicósidos cianogenéticos.....	31
2.3.6 Lignanos.....	31
2.3.7 Triterpenos y esteroides.....	31
2.3.8 Flavonoides.....	32
2.3.9 Cumarinas.....	32
2.3.10 Glicósidos cardíacos.....	32
2.3.11 Quinonas.....	32

2.4 EVALUACIONES BIOLÓGICAS DE LOS EXTRACTOS DE LA RAÍZ DE <i>Sisyrinchium scabrum</i>.	
2.4.1 Monitoreo de la actividad antimicrobiana.....	33
2.4.2 Microorganismos de prueba.....	33
2.4.3 Preparación de las muestras de prueba.....	33
2.4.4 Análisis cualitativo antimicrobiano.....	34
2.4.5 Análisis cuantitativo antimicrobiano.....	34
2.5 EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DEL CONSTITUYENTE ANTIMICROBIANO	
2.5.1 Extracción y fraccionamiento biodirigido.....	35
2.5.2 Purificación de la 7-hidroxi (3H)isobenzofurona.....	35
3. DISCUSIÓN Y RESULTADOS.....	36
4. CONCLUSIONES.....	44
5. ESPECTROS.....	45
6. LITERATURA CITADA.....	62

INTRODUCCION

JUSTIFICACION

La Medicina Tradicional ocupa un importante lugar en la realidad médica del país. Mientras la medicina científica cubre el 40% de los servicios de salud, cerca de 20 millones de habitantes recurren a las plantas medicinales o a otros recursos de la Medicina Tradicional para poder curarse. A través de su historia, el pueblo mexicano ha acumulado una gran experiencia, respecto al uso de los recursos naturales a su alcance para combatir las enfermedades.

La Medicina Tradicional Mexicana cumple una función social trascendente dentro de cada comunidad. Sus conocimientos han sido transmitidos generalmente de padres a hijos mediante la tradición. Este fenómeno de cultura médica popular esta presente en casi todos los pueblos en desarrollo, como respuesta a una necesidad de salud que han fincado sus bases en la realidad social, económica y cultural de la comunidad.

Gran parte de la Medicina Tradicional Mexicana es aún rescatable y puede ser un importante campo para implementar nuevos planes de salud, que combinen el conocimiento popular con el conocimiento científico. Por lo tanto, todo esfuerzo encaminado a conocer y apoyar la Medicina Tradicional en sus diversas manifestaciones, permitirá que ésta siga cumpliendo su objetivo en la salud de la comunidad. Mediante el apoyo científico que compruebe y amplíe su efectividad, la cual ocupará la justa y valiosa dimensión que le corresponda.

Según investigaciones oficiales " Las principales causas de muerte en México, son en general, resultado de enfermedades que en la mayoría de los casos, se pueden curar recurriendo a los medicamentos y conocimientos científicos disponibles" (CONACYT. 1976). De todos los estados de la República Mexicana, Chiapas ocupa el penúltimo lugar en cuanto a la disponibilidad de recursos socioeconómicos; la incidencia de enfermedades es muy alta debido precisamente a las carencias de su población (INEGI 1975). Sin embargo por su situación geográfica, el estado posee una gran variedad de vegetación, con lo que el hombre tiene una mayor disponibilidad de recursos naturales tanto para su alimentación como para el manejo de su salud.

Por el poco intercambio cultural del indígena con otros grupos étnicos, es factible pensar que los conocimientos médicos que posee éste, han sido poco transformados (o deformados), hecho que les confiere una gran importancia por permanecer poco alterados a pesar del paso del tiempo. Ahora bien, si el indígena hace uso de los recursos vegetales para curarse, podemos decir que a través del tiempo ha reafirmado, mediante su experiencia, las propiedades curativas o nocivas de las plantas.

En la actualidad se evalúan las plantas como poseedoras de compuestos biológicamente activos y desde 1966 hasta la fecha, son cada vez más los estudios de la actividad biológica de extractos de plantas, de las cuales un gran número ha sido identificado llegando a determinar las estructuras de los principios activos que inclusive han sido sintetizados. Por lo tanto la medicina moderna y la industria farmacéutica investigan las plantas utilizadas en la medicina tradicional, con el fin de transformarlas en medicamentos.

Por lo que México no está exento de la influencia de los cambios ocurridos en el desarrollo y comercialización de este nuevo tipo de medicamentos. Por el contrario, siendo su población heredera de una rica tradición en el uso de las plantas medicinales, responde ante la propuesta comercial que se representa, con la convicción cultural que le ha proporcionado su propia medicina tradicional.

Pero además, porque comparte los problemas socio - económicos del área y a los que me he referido antes. Es por eso que el interés por el consumo de medicamentos herbolarios es un fenómeno particularmente notorio en las áreas urbanas, donde la población busca los productos medicinales " naturales " por los altos costos de los medicamentos.

En el país ha surgido compañías que procuran competir en la producción de medicamentos herbolarios, diseñando productos cuya presentación comercial depende del grado de acceso que se tenga a la tecnología moderna y a la información, a nivel nacional. Estos medicamentos herbolarios se fundamentan en el uso tradicional que los mexicanos hacen de la herbolaria prehispánica y colonial y, apoyados en una anticuada bibliografía sobre plantas medicinales que sobrevive de épocas pasadas y se enfrentan a la dificultad de obtener los registros legales correspondientes que permitan su libre acceso al mercado moderno. La gran mayoría de las plantas que se emplean para la elaboración de estos productos se colectan en zonas del país donde crecen en forma silvestre ya que prácticamente ninguna planta medicinal se cultiva en México con fines agro industriales.

De ahí que las empresas nacionales procuran proveer con "novedades" que tengan repercusión comercial, introduciendo, por ejemplo plantas con efectos diuréticos y ricas en fibras, para quienes buscan bajar de peso o bien, elaborar antitúrgenos, anti-diarréicos y espasmolíticos en base a las recetas de las farmacopeas mexicanas de tiempos pasados. Estas circunstancias determinan el cuadro general que tiene el consumo de plantas medicinales en el México actual y que va desde el ancestral puesto de hierbas frescas en miles de mercados del país, hasta el consumo de productos procesados industrialmente con muy diversos niveles de calidad que se distribuyen en los mercados urbanos. En los últimos años y ante la carencia de una legislación adecuada, han ingresado al país cientos de medicamentos herbolarios de origen extranjero que, de igual manera, dependiendo de la capacidad tecnológica y económica de las industrias que lo fabrican, ofrecen multitud de alternativas para el manejo de los problemas de salud más comunes, pero cuya validez científica es igualmente dudosa.

Creo que la discusión debe abrirse, en nuestro país, en el terreno de la valoración clínica de los remedios herbolarios en uso actual por la población mexicana. Así como específicamente me refiero a la necesidad de reconsiderar la posibilidad de que ciertas plantas medicinales mexicanas, de ancestral uso en la medicina tradicional y que cuenta con documentada información médico - antropológica y etnobotánica, aunque carezcan de la suficiente información química farmacológica básica por lo que necesitan y podrían ser directamente evaluadas en la clínica por investigadores, médicos, en las instituciones de salud que cuentan con la experiencia y los recursos metodológicos para llevar a cabo una adecuada investigación clínica. Mientras las plantas medicinales no sean materia de investigación clínica seguiremos dependiendo de un modelo de investigación que si bien pudo haber sido concebido para regular las necesidades y circunstancias de una época que hoy se ha convertido en una limitante para el desarrollo de la investigación (Meckes Marianna, 1993)

El estudio que se realizó en el presente trabajo es un estudio fitoquímico biodirigido utilizando a una planta proveniente de los Altos de Chiapas esta planta comúnmente es llamada por los indígenas tzotziles como Thuis jovet o Thuis vomol su nombre científico es *Sisyrinchium scabrum* y la parte utilizada de la planta es la raíz a la cual se le atribuyen propiedades analgésicas, anti-hemorragicas y para prevenir infecciones después del parto.

La forma de preparación del té es hirviendo en un litro de agua un puño de la raíz aproximadamente (150g), dándole así a la paciente un vaso del té después del parto únicamente.

Por sus características botánicas, la planta se clasifica dentro de la Familia IRIDACEAE género *Sisyrinchium* especie *scabrum*.

La revisión bibliográfica realizada en torno a esta planta medicinal demostró que no hay ningún tipo de estudio efectuado sobre la misma, por lo que es de gran importancia el poder aislar un compuesto que pueda ser un antecedente a posteriores estudios que se realicen sobre esta planta.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

El objetivo fundamental de la presente investigación es realizar el estudio fitoquímico biodirigido de la actividad antimicrobiana del extracto clorofórmico de la raíz de *Sisyrinchium scabrum*

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- A. Recopilar la información botánica, etnobotánica, química y farmacológica de la planta *Sisyrinchium scabrum*.
- B. Realizar las operaciones preliminares propias de la preparación de extractos vegetales y realizar su evaluación biológica.
- C. Preparar el extracto vegetal de acuerdo a las técnicas fitoquímicas convencionales.
- D. Evaluar el efecto antimicrobiano de los diferentes extractos orgánicos preparados de la raíz de *Sisyrinchium scabrum*.
- E. Realizar el estudio fitoquímico del extracto activo mediante el empleo de un fraccionamiento biodirigido para la detención de los principios activos.
- F. Separar y purificar los constituyentes de cada una de las fracciones activas
- G. Evaluación cuantitativa de la actividad antimicrobiana del compuesto aislado
- H. Establecer la estructura de los metabolitos activos mediante la aplicación de las técnicas analíticas modernas.

1. ANTECEDENTES

1.1 LOS ALTOS DE CHIAPAS

1.1.1 UBICACION GEOGRAFICA

El Estado de Chiapas, localizado en la parte sur de la República Mexicana, ocupa 73,887 km. del territorio nacional y se sitúa entre el Istmo de Tehuantepec y la república de Guatemala. Al sur limita con el Océano Pacífico y al norte con el estado de Tabasco; al este con la República de Guatemala y al oeste con los estados de Veracruz y Oaxaca. El estado se divide en las siguientes zonas: Altos, Centro, Frontera, Istmo, Norte, Selva y Sierra madre (Mapa No. 1). Es un territorio montañoso de exuberante vegetación, bañado por caudalosos ríos. Cuenta con el 9.6% de precipitación pluvial de la República Mexicana y posee el 33% del potencial hidrológico del país. La mayoría de sus ríos no llegan al mar; vierte sus aguas en ciénagas a lo largo de la costa. Cuenta además con la mayores presas: Malpaso, La Angostura y Chicoasén, en el Río Grijalva. Debido a las grandes diferencias en cuanto a altura, Chiapas cuenta con varias zonas climáticas, que van desde el clima templado, sabanas áridas y húmedas hasta selvas tropicales (Helbing, C.M.A,1976 ; Plan Chiapas,1979-1982; Ulrich, K.1975).

Las ramas económicas más importantes son: la agricultura (que en su mayor parte está en manos de los indígenas, quienes además constituyen mano de obra barata para las ciudades) y, en menor escala, la ganadería. El principal producto de exportación en el estado es el café (Ulrich, K, 1975).

Las vías terrestres de comunicación más importantes del estado son : la carretera Panamericana, que en la década de los 50's se amplió hasta la frontera guatemalteca, y el ferrocarril, que sigue la costa del Pacifico y comunica el área de cultivo de café que circunda Tapachula con la capital y los pueblos ubicados a ambos lados del Istmo (Programa de desarrollo social en los Altos de Chiapas, 1960 - 1970; Ulrich, K, 1975; Viabilidad de los Altos de Chiapas , Doc. 1).

En la planicie, que se extiende aproximadamente 80 km., hay un gran número de valles separados por crestas escarpadas. Esta región, la más alta y fría, es habitada por los grupos indígenas tzetzales, tzotziles y otros. En las partes de esta Meseta Central, que se elevan a más de 2,000 metros sobre el nivel del mar, predominan los bosques de coníferas con escaso monte bajo, donde las corrientes de aire que parten de las zonas bajas, determinan las diferentes zonas de vegetación. Así, por ejemplo, la vegetación tropical que prevalece generalmente en las zonas cuya elevación no pasa de los 1,000 m, está presente en algunos valles de la parte norte de la montaña, a una altura de 1,100 m (Programa de desarrollo social en los Altos de Chiapas 1960-1970; Silverts, H , 1969; Ulrich, K, 1975).

En Chiapas se considera tierra fría a todas las región que sobre pasa los 2,000 m de altura; entre los 2,000 y 1,000 es clasificada como tierra templada, y el resto como tierra caliente (Silverts, H, 1969; Ulrich, K, 1975).

El cultivo básico en la región es el maíz. Sin embargo, las diferentes zonas climáticas permiten una gran variación de cultivos, tanto de hortalizas y frutales de clima mediterráneo, como de productos tropicales.

La zona conocida como " Los Altos de Chiapas ", se localiza en la parte central del estado, en un macizo montañoso de accidentado relieve cuya altitud varía entre los 1,500 a 2,500 m sobre el nivel del mar. Tomando como punto de referencia al municipio de San Cristóbal de las Casas, el área de los " Altos de Chiapas" se divide como sigue (ver mapa No 2) (Programa de desarrollo de la economía campesina ,1960-1970; Viabilidad en los Altos de Chiapas Doc. 1).

La parte norte la integran los municipios de Chalchihuitán, Huitupán, Mitontic, Pantelló, Pueblo Nuevo, Salistahuacan, Simojovel de Allende, Tenejapa y Yajalón.

Al noroeste se localizan Huixtán, Oxchuc y Sitalá.

Al este, Chanal.

Al sureste, Amatenango del Valle

Al sur, Teopisca.

Al oeste, Zinacatan.

Al noroeste, Bochil, El Bosque, Chamula, Chenalhó, Ixtapa, Jicotel, Larrainzar y Soya

1.1.2 LOS INDIOS TZOTZILES DE CHIAPAS

Los 182,815 indígenas tzotziles habitantes de los Altos de Chiapas, forman uno de los 21 grupos mayas que pueblan la Península de Yucatán, el estado de Chiapas y Guatemala (mapa 1). Todos estos grupos tienen una población total de 2 000 000 de individuos (Morley, 1956). El nombre Tzotzil tiene el significado literal de " hombres murciélagos. " (Selser, 1904)

Los tzotziles forman uno de los grupos indígenas menos asimilados en México; de ellos muy pocos individuos dominan suficientemente el español para poder ser considerados como bilingües. Su forma de vida no ha cambiado mucho desde la Conquista y son relativamente pocos los rasgos de la cultura europea que se ha añadido a su vida, fundamentalmente prehispánica.

1.1.3 LA MEDICINA TRADICIONAL EN EL ESTADO DE CHIAPAS

La medicina tradicional es un conjunto de conocimientos y prácticas generados en el seno de la comunidad, transmitidos de generación en generación y que, basada en un saber fundamentalmente empírico, ofrece e intenta ofrecer soluciones a las diversas manifestaciones de la enfermedad, buscando propiciar la salud de la comunidad (Holland R.W. 1989).

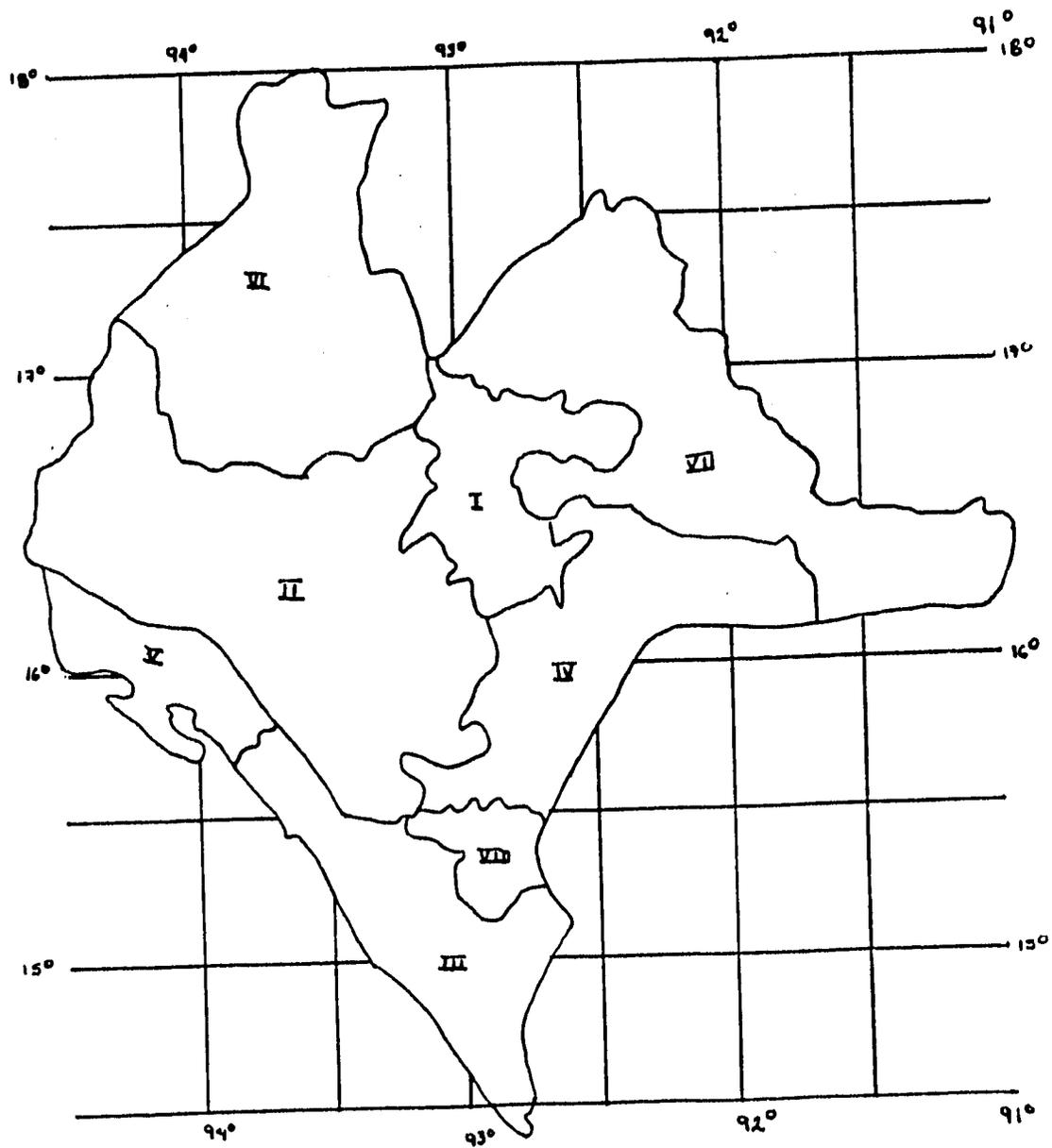
Este acervo de conocimientos, forma parte de la cultura popular y por lo tanto está sujeto a los cambios y desarrollo de la misma. En muchas ocasiones se ha creído que la medicina tradicional es un fenómeno positivo, un legado antiguo que proviene de culturas indígenas (particularmente maya y azteca) y permanece como patrimonio cultural de la comunidad sin alteraciones, dándole a esta idea la connotación de antigüedad o de reliquia. Sin embargo, la realidad nos muestra que, por el contrario, la medicina tradicional o popular se ha ido modificando bajo la influencia de los cambios que la propia cultura popular ha sufrido en los distintos periodos históricos. Así, en la actualidad, las prácticas curativas que ejercen las comunidades en el estado de Chiapas son el resultado de la combinación de conceptos y recursos de origen muy remoto con otros heredados del periodo colonial y otros más procedentes de la medicina contemporánea (Estrada. L.E, 1992).

La cultura indígena posee una visión propia del mundo de la vida y de la naturaleza; interpretación que se fundamenta en antiguísimos principios filosóficos concebidos por sociedades autóctonas de Mesoamérica y posteriormente influenciados por la cultura occidental a partir de la conquista española. Los tzotziles, por ejemplo, conciben, en la actualidad, su vida como " una lucha constante entre las fuerzas del bien, representadas por los benevolentes dioses del cielo, y las fuerzas del mal, encarnadas en los dioses o seres sobre naturales del mundo inferior: mensajeros de la muerte y la destrucción (Holland 1978).

El concepto de naturaleza Humana para el pueblo Tzotzil tiene dos componentes al primero lo integran los elementos materiales (carne, hueso, vísceras, etc.) y al segundo (elemento no material) el espíritu (chu'ulel) : estos dos componentes están dinámicamente relacionados en todo individuo.

Para el tzotzil, el espíritu (chu'ulel) es la fuerza vital de la naturaleza, la energía dinámica presente en el hombre, animales y plantas. Atribuyen a la sangre el carácter de sustancia vital, básica y reconocen en el pulso arterial la expresión material y tangible del espíritu humano. Los indígenas consideran que la relación entre carne y espíritu es dinámica y que muchas cosas que afectan al chu'ulel existe antes del nacimiento de la persona y después de la muerte (Estrada, 1992).

Mapa 1
Regiones en que se divide el Estado de Chiapas

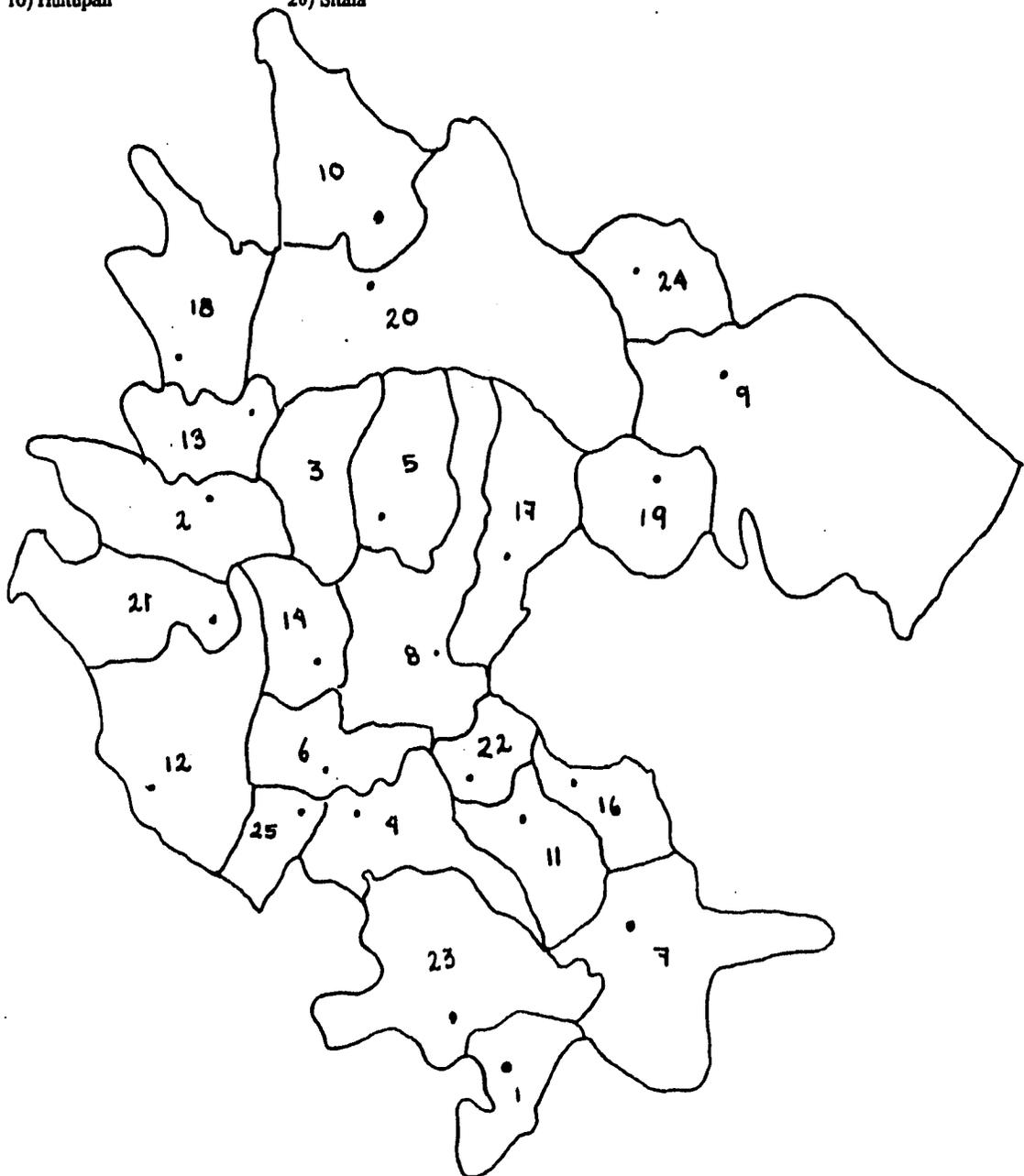


I ALTOS
II CENTRO
III COSTA
IV FRONTERA

V ISTMO
VI NORTE
VII SELVA
VIII SIERRA

Mapa 2
 (Municipios que integran la región denominada Los Altos, Estado de Chiapas)

- | | | |
|-------------------------|--------------------------------|----------------|
| 1) Amatenango del Valle | 11) Huixtán | 21) Soyala |
| 2) Bochil | 12) Ixtapa | 22) Tenejapa |
| 3) El bosque | 13) Jitotel | 23) Teopisca |
| 4) Ciudad de las Casas | 14) Larrainzar | 24) yajalón |
| 5) Chalchihuitán | 15) Mitontic | 25) Zinacantan |
| 6) Chamula | 16) Oxchuc | |
| 7) Chanal | 17) Pantelhó | |
| 8) Chenalhó | 18) Pueblo Nuevo Solistahuacan | |
| 9) Chilón | 19) Simojovel | |
| 10) Huitupan | 20) Sitala | |



1.1.4 LAS PLANTAS MEDICINALES

El interés por las plantas medicinales ha resurgido una vez más en el ámbito de la ciencia y de la economía. es frecuente en la literatura científica la inclusión de especies vegetales como uno de los recursos importantes a considerar en la búsqueda de nuevos medicamentos.

Este fenómeno también ha cobrado fuerza en México y esa medicina empírica a la que recurre un porcentaje elevado de la población Mexicana, es en la actualidad analizada con menos rigurosidad y aumenta el número de especialistas de las Ciencias de la Salud que se inclinan por considerar que la permanencia del uso de ciertos vegetales con propósitos medicinales, es un parámetro que valida su eficacia terapéutica.

México posee una flora medicinal muy extensa y las características socioeconómicas del país, han contribuido a la continuidad de un fenómeno cultural médico muy dinámico y que ha sido objeto de estudio de manera interrumpida. A partir de la segunda mitad del siglo, la fitoquímica fue disciplina que impulsó un avance sustancial en el conocimiento de las plantas medicinales del país y posteriormente, con el surgimiento de una sólida y prometedora tecnología basada en la química de síntesis, siguiendo un largo periodo en el cual, si bien las plantas no cayeron en el recurso utilizado por un porcentaje elevado de mexicanos dio sustento a los estudios etnobotánicos que aportaron el registro de un gran número de las especies medicinales actualmente en uso.

Más adelante, hacia la década de los ochenta se dio un nuevo impulso a los estudios de los recursos herbolarios de la medicina tradicional de México buscando en la farmacología la respuesta científica que avalara ese conocimiento médico popular. La investigación básica de las plantas medicinales se enfocó fundamentalmente a la corroboración de las propiedades biológicas atribuidas y se implementó para ello la metodología experimental utilizando el modelo animal y modernas pruebas in vitro. Así mismo, se adoptó necesariamente el esquema de trabajo interdisciplinario con la participación de fitoquímicos y de farmacólogos, los cuales basaron sus diseños metodológicos de acuerdo a la información que proporcionaban los estudios de antropología médica, etnobotánica y etnomedicina.

Siguiendo este procedimiento se iniciaron los primeros programas de rastreo farmacológico, detectando en los extractos crudos la actividad biológica atribuida a las plantas. Por otra parte, el elevado costo que implica un estudio experimental, obliga a establecer una rigurosa selección de las especies botánicas los efectos biológicos esperados. La sistematización de la información etnobotánica y etnomédica era un factor crucial para lograr los objetivos y de esta forma comenzaron a organizarse los primeros bancos de datos.

Los extractos íntegros, denominados también extractos crudos, son la forma de preparado más cercana al producto usado habitualmente por la población. La detección de sus efectos biológicos permite, en cierta medida, explicar y sustentar el uso medicinal atribuido al recurso herbolario, y encontrar un cierto grado de toxicidad en algunos casos, o bien detectar un efecto biológico no esperado, pero de relevancia.

La fase ulterior en el proceso de investigación de un planta, es el aislamiento e identificación del compuesto responsable de la actividad. Y por otro lado es el de encontrar una nueva molécula biológicamente activa, o descubrir una novedosa estructura que sirva de modelo para la síntesis de compuestos con efecto biológico, lo que permitiera ahondar en el conocimiento de los mecanismos de acción de estos principios activos y a efectuar una correcta evaluación farmacológica de ellos, para definir luego sus potenciales como medicamento

Se ha establecido que la obtención de compuestos puros es un mito en la investigación de las plantas medicinales; sin embargo, es importante prestar atención a ciertos procesos bioquímicos y a mecanismos que se detectan en el estudio con extractos crudos y que aún no han sido suficientemente abordados los efectos biológicos que resultan de la acción sinérgica de diferentes compuestos contenidos en un extracto íntegro, o bien la evidencia de que en ciertos extractos se manifiestan efectos antagónicos entre los compuestos de una misma muestra, o extractos en los cuales se presume que la acción biológica es la resultante de los diferentes efectos biológicos inducidos por compuestos distintos. Todos éstos son procesos necesarios de considerar, ya que su interpretación podría conducir a interesantes propuestas y alternativas en el campo de los fármacos.

La investigación experimental de plantas medicinales en México se ha destacado por un notable y sostenido avance en el estudio fitoquímico de las especies botánicas del país. La literatura científica internacional refleja claramente el trabajo de excelencia y alta tecnología que desarrollan los expertos nacionales. Es significativa la información existente sobre la composición química de las plantas usadas con fines terapéuticos; sin embargo, un escaso número de estas estructuras aisladas e identificadas han sido evaluadas en sus propiedades biológicas y sus potencialidades como medicamentos. Hoy en día, la mayoría de los fitoquímicos ya no están sólo interesados en el descubrimiento de nuevas estructuras, sino en la búsqueda en el estudio de productos naturales con novedosos compuestos biológicamente activos.

Los avances de la tecnología moderna, que incorpora procesos biotecnológicos, ha sido una importante herramienta aplicada al estudio fitoquímico y farmacológico de las plantas medicinales. La biotecnología provee nuevos métodos para el desarrollo de mejores variedades de plantas con actividad biológica y la implementación de metodologías para cultivos de tejidos constituye en la actualidad una herramienta fundamental para la producción masiva de las especies que se desean cultivar. Ya que el cultivo de algunas plantas medicinales en México tiene como propósito de comercialización de la planta como recurso alternativo para tratar padecimientos comunes.

Según las cifras recientemente publicadas, el consumo de fármacos ha crecido en el mundo, siendo notorio este incremento en los países industrializados, en tanto que el 50 - 80% de la población que habita en los llamados « países en desarrollo » y que constituye el 75% de la población mundial, aún depende de manera parcial o totalmente de los remedios herbolarios tradicionales. En México la situación no es diferente y se estima que aproximadamente 60% de los habitantes, utiliza plantas medicinales para tratar diversos padecimientos. La importancia que reviste desarrollar la industria de plantas medicinales en el país, no obedece a tan sólo a la necesidad de resolver los problemas de salud; desde un punto de vista comercial, por lo que es evidente la potencialidad del recurso. Sin embargo, para satisfacer las demandas de un mercado de plantas medicinales, no es posible imaginar la obtención de un recurso que hasta la fecha se propaga de manera silvestre.

El sustentar con bases científicas el uso de los recursos herbolarios de la medicina tradicional de México, ha sido el objeto y ha marcado el que hacer de muchos especialistas en estas dos últimas décadas. También es importante subrayar que, ajeno a los intereses del científico, de la industria farmacéutica o de los intereses del comercio de mercados, subyace un conocimiento médico empírico que se practica y se transmite. En este sentido, la realidad del momento histórico, ha caracterizado los profundos cambios en la estructura de nuestra sociedad actual, la cual ha llevado a considerar como fundamentales las estrategias que permitan proteger este legado médico ancestral. Y en este sentido fomentar la creación de jardines botánicos sobre la herbolaria medicinal y las actividades dirigidas a difundir los conocimientos sobre la medicina tradicional, ha sido una labor sobresaliente que ha permitido crear una importante espacio a estos valores de la cultura nacional.

Los programas de trabajo en conjunto con parteras empíricas o la incorporación de médicos tradicionales en algunos de los centros de salud del país, no han alcanzado logros visibles ya que es una tarea ardua por conquistar para la medicina tradicional del país, así como su reconocimiento oficial (Meckes M. 1993).

1.1.5 DESCRIPCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS UTILIZADOS EN LOS BIOENSAYOS

Listeria monocytogenes

Es un bacilo gram positivo corto, que no forma esporas. La listeriosis humana perinatal (granulomatosis infantiséptica), puede ser una infección intrauterina. El comienzo temprano del síndrome causa sepsis intrauterina y muertes antes y después del nacimiento. El síndrome de comienzo tardío, conduce al desarrollo de meningitis entre el nacimiento y la tercera semana de vida.

Numerosos agentes antimicrobianos inhiben *Listeria monocytogenes* in vitro. En la clínica se han logrado curaciones con penicilina y un aminoglucósido; como la eritromicina; y trimetoprim - sulfametoxazol IV (Jawetz, 1992).

Pseudomona aeruginosa

Se encuentra distribuida con amplitud en la naturaleza y es frecuente descubrirlas en los ambientes húmedos de los hospitales. Pueden colonizar al ser humano normal, en el cual es un microorganismo saprófito. Produce enfermedad en la persona que tiene defensas anormales.

La *Pseudomona aeruginosa* es mótil y tiene forma de bastoncillos, es una bacteria gramnegativa y se encuentra de manera aislada y ocasionalmente en cadenas cortas. Produce infecciones en las heridas y las quemaduras, origina pus de color azul verdoso, meningitis cuando se introduce por punción lumbar e infecciones urinarias cuando se introduce por catéteres e instrumentos o en las soluciones de lavado de vías urinarias.

Las infecciones clínicamente importantes por *Pseudomona aeruginosa* no deben tratarse con un sólo fármaco antimicrobiano, porque la porción de éxitos es baja de esta manera y las bacterias pueden desarrollar con rapidez resistencia cuando se usan fármacos únicos, se utiliza una penicilina activa contra *Pseudomona aeruginosa* - ticarcilina, mezlocilina y piperacilina - combinada con un aminoglucósido, por lo general gentamicina, tobramicina o amikacina. (Jawetz, 1992).

Escherichia coli

Son bastoncillos gramnegativos cortos que pueden formar cadenas, la *E. Coli* y los estreptococos del grupo B, son las causas principales de meningitis en los lactantes. *E. coli* produce cerca del 40% de los casos de meningitis.

No se dispone de ningún tratamiento específico único, Sulfonamidas, ampicilinas, cefalosporinas, clorafenicol y tetraciclinas y aminoglucósidos tienen efecto antibacteriano notables contra los microorganismos intestinales. (Jawetz, 1992).

Streptococcus agalactiae

Son bacterias esféricas gram positivas que forman, de modo característico, pares o cadenas durante el crecimiento.

Son *estreptococos* grupo B, miembros de la flora normal de las vías genitales femeninas y una causa importante de sepsis neonatal y meningitis, o síndrome de insuficiencia respiratoria. Al parecer la ampicilina intravenosa intraparto evita la colonización de lactantes cuyas madres transportan *estreptococos* grupo B. (Jawetz, 1992).

Staphylococcus aureus

Los estafilococos son células esféricas gram positivos que suelen estar distribuidas en grupos irregulares a manera de racimo de uvas, es un microorganismo positivo a la coagulasa y patógeno de gran importancia para el ser humano, y es el causante de muchas infecciones graves.

Se puede producir infecciones por *S. aureus* por contaminación directa de una herida, por ejemplo, infección estafilocócica posoperatoria de la herida o infección después de traumatismo. Si *S. aureus* se disemina y sobreviene bacteremia sobreviene bacteriemia habrá peligro de que ocurra endocarditis, osteomielitis hematogena aguda, meningitis o infección pulmonar. En vista de la aparición rápida de resistencia farmacológica entre los estafilococos, en los hospitales se han restringido a veces el uso de antiestafilocócico para el tratamiento de pacientes graves. Esta restricción podría prolongar el periodo de utilidad de un fármaco nuevo. La vancomicina sigue siendo el fármaco más ampliamente eficaz contra los estafilococos. (Jawetz, 1992).

Candida albicans

Candida albicans es una levadura oval que produce un pseudomicelio en cultivo, en los tejidos y exudados. Es miembro de la flora normal de las mucosas en los aparatos respiratorio, digestivo y genital femenino. En tales lugares puede ganar dominio y relacionarse con otras enfermedades.

Algunas veces produce enfermedad progresiva en enfermos debilitados o con inmunosupresión, especialmente si hay trastornos en la sangre, tromboflebitis, endocarditis, o infección en los ojos y otros órganos cuando es introducida por vía intravenosa. En el tratamiento tenemos el ketoconazol, el cual ha producido una notable mejoría en algunas infecciones sistémicas de este tipo, en especial en la candidiasis mucocutánea. Un tratamiento eficaz ampliamente aceptado es la anfotericina B por vía intravenosa. (Jawetz, 1992).

Aeromonas sobria

Son bacilos gramnegativos de vida libre que se encuentran en agua dulce, y en ocasiones, en reptiles, anfibios, peces y en el suelo o los alimentos. Su presencia se relaciona con diarrea y a veces causan infecciones en heridas expuestas a agua dulce o en personas inmunodeficientes y, rara vez, otro tipo de infecciones no intestinales.

Aeromonas sobria en ocasiones causa enfermedad. (Ballows, A., 1991)

Mycobacterium smegmatis

Las micobacterias se han definido en relación con una propiedad tintórea característica, que depende de la riqueza en lípidos de sus paredes celulares., resisten a la decoloración con disolventes orgánicos acidificados, por lo cual se han denominado ácidosresistentes.

El *Mycobacterium smegmatis* se considera una micobacteria saprófita, en plantas, suelo y agua .Su papel en la naturaleza concierne fundamentalmente a la degradación de lípidos.

Es un bacilo de la mantequilla encontrado en el esmegma . (Davis, 1978).

1.2 GENERALIDADES DE LA FAMILIA IRIDACEAE

1.2.1. ASPECTOS BOTANICOS DE LA FAMILIA

Hierbas perennes, rara vez arbustos, provistas de bulbos o rizomas, con las hojas lineares, dísticas o fasciculadas y básales. Flores en inflorescencias con espatas, actinomorfas o cigomorfas, hermafroditas, con perigonio coroulo, de 6 tépalos prolongados hacia abajo en un tubo más o menos largo. Estambre 3, con los filamentos libres o formando una columna en torno del estilo; anteras biloculares, extrorsas y dehiscetes por líneas verticales gigeceo sineárpico, de ovario inferotricarpelar, pluriovulado; estilo único, filiforme, con el estigma trifido, cuyas ramas puedan permanecer indivisas o bifurcarse. Cápsula loculicida, dehiscete en valvas (Sánchez, 1985).

Esta familia comprende 58 géneros y unas 1,500 especies, distribuidas en todo el mundo. Muchas son plantas de cultivo, como el " gladiolo " (*Gladiolus* L), y el " Lirio " (*Iris* germánica).

En el valle de México hay 4 géneros:

- 1a. Tubo del perigonio alargado.....**ORTHOROSANTHUS**
 1b. Perigonio sin tubo o con el tubo muy corto.
 2a. Plantas provistas de bulbo.
 2b. Plantas con raíces carnosas.....**SISYRINCHIUM**
 3a. Todas las piezas del perigonio semejantes.....**NEMASTYLIS**
 3b. Los tépalos exteriores más largos.....**TIGRIDIA**

ORTHOROSANTHUS Sweet

Perigonio con el tubo alargado. Estambres de filamentos libres. Ovario oblongo, trilocular, con el estilo filiforme y el estigma trifido. Cápsula oblonga, loculicida, trivalva, con varias semillas angulosas. Hierbas robustas, de rizoma leñoso, corto, con las hojas lineares y plegadas. Inflorescencia ramoso - racimosa, de brácteas sésiles, con las flores cortamento pediceladas.

ejemplo:

Orthrosanthus chimboracensis Baker

NEMASTYLIS Nutt

Perigonio estrellado, sin tubo, con todos los segmentos semejantes, estambres con los filamentos soldados en un tubo que rodea al estilo; anteras erguidas. Ovario trilocular, con varios óvulos en cada cavidad; entre las anteras. Cápsula saliente, hierbas bulbosas, delgadas con las hojas lineares y plegadas. Flores indefinidas en las espatas, largamente pediceladas.

Más de 15 especies, distribuidas en América.

ejemplo:

Tigridia Van Houttei Roetzl

SISYRINCHIUM L.

Perigomios actinomorfos, con el tubo casi nulo y los estambres fijos a su base; filamentos más o menos unidos entre sí, las anteras erectas o versátiles. Ovario trilocular, pluriovulado, con el estilo filiforme y trifido. Cápsula globulosa o subglobulosa, dehiscete. Hierbas con las raíces fasciculadas, fibrosas o carnosas, tallos redondeados o aplanados. Hojas radicales o amontonadas en la parte basal del tallo, lineares y agudas. Brácteas florales terminales, con varias flores. Vulgarmente se les llama " Zacate de mula " En México se han reportado unas 15 especies entre las cuales tiene

Sisyrinchium angustifolium Mill

Sisyrinchium angustissimum

Sisyrinchium bracteatum Greenm

Sisyrinchium convolutum NoCCA

Sisyrinchium shaffneri Wats

Sisyrinchium tenuifolium Humb. et B

1.2.2 PERFIL FITOQUIMICO DE LA FAMILIA IRIDACEAE

Como parte de una continuación del estudio quimiotaxonómico de flavonoides y relativamente fenoles en la familia de monocotiledóneas se investiga la importancia de la familia ornamental, de Iridaceae. (A.Christine, *et al.*, 1985).

En algunos estudios de Iridaceae se tiene reportado alrededor de una de las primeras identificaciones de 6 - hidróxiflavonas en la familia en 3 especies de *crocus*, un rango de otras *crocus*, flavonoides donde también es identificada (Harbone, J.B., *et al.*, 1984). Ahora se reporta el descubrimiento de una nueva amentoflavona, en la familia Patersonia, también se descubrió el resultado de topografía de esa planta para quinonas y xantonas.

Este descubrimiento de Amentoflavonas en las Iridaceae representan los primeros reportes de un biflavonoide en las monocotiledóneas como una biflavonona desde el tallo de *Laphiola americana* (X.Xue *et al.*, 1980).

También se reporta la hidroxinaftoquinona y la plumbagina en las Iridaceae que es también inexplicable. Sin embargo estas características constituyen de los tres cuartos de familias relacionadas en las Dicotiledóneas, Drosaraceae, Ebanaceae y Plumbaginaceae (Thomson, R.H., 1976).

Durante un estudio en 47 géneros y cerca de 200 taxones de las Iridaceae, la plumbagina puede encontrarse únicamente en los dos géneros de *Sparaxis* (en gladiola) y *Sisyrinchium* (tribu *Sisyrichaeae*), la plumbagina es identificada en las hojas de únicamente 2 de 22 especies de *Sisyrinchium*, las especies examinadas son *S. brachypus* y *S. californicum*, también detectada en las flores de *S. brachypus* y en las flores de *S. tricolorium* (pero no en las hojas), las flores de *S. tenuifolium* contiene otro pigmento quinónico no identificado. La plumbagina algunas veces ocurre naturalmente en un límite de colores como un glucósido quinol y esto generalmente se presenta en raíz y hojas de las plumbaginaceae (Harbone, J.B., 1967).

En las Iridaceae, este parece ser libre en la hoja y flor. Esto contribuye al color amarillo de la flor en 2 *Sisyrinchium* especies poco comunes. Sin embargo las quinonas no son pigmentos desconocidos de flores. En *S. tinctorium*, la plumbagina no es el único pigmento que puede ser detectado, si no que también se pueden encontrar algunos carotenoides.

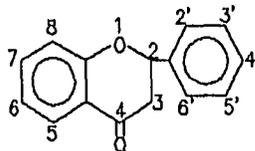
Acerca del descubrimiento de plumbagina en las Iridaceae fue confirmado independientemente por Kumar (Kumar *et al.*, 1985). Quien tiene un reporte en las hojas y rizomas de unas seis especies de *Aristea*, *A. ecklonii* Baker, donde encontró dos dímeros de la plumbagina.

Otro reporte de una fuente de antraquinonas en las Iridaceae es al sur de América *Libertia coerulescens*, en donde se reporta que contiene algunos pigmentos de antraquinonas en las hojas (Williams C.A 1983).

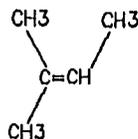
Otros sistema fenólico interesante encontrado en la familia Iridaceae es el C-glucosilxantona magniferina, el cual es muy fácil de identificar en los extractos de plantas por su sorprendente fluorescencia en luz U.V. Algunos géneros en los que se encuentra tenemos la *Iris gynandiris* y *pardatopsis* (Bate *et al.*, 1983).

A fin de presentar un panorama general que sea útil para establecer un perfil quimiosistemático de la familia Iridaceae, a continuación se resumen las investigaciones fitoquímicas que sobre la distribución de los metabolitos secundarios que en esta familia se han realizado:

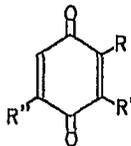
a) **Flavonoides:** Son pigmentos vegetales que poseen un esqueleto de carbonos C₆-C₃-C₆ (Domínguez ,1988) estructuralmente derivados de la flavona (1) (Harbone, 1973), chalcona, flavonona, flavanonol, flavonol, flavonodiol-3,4 (leucoantocianidina), antocianidina, catequina, isoflavona y neoflavona. Los estudios fitoquímicos realizados acerca de la distribución de estos compuestos se resumen en el cuadro 1 el cual muestra los flavonoides aislados de esta familia.



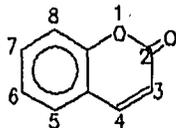
b) **Terpenoides:** Este Término se utiliza para señalar una gran cantidad de compuestos hidrocarbonados que tienen un origen biosintético común fundamentado en la molécula del isopreno, $\text{CH}_2 = \text{C}(\text{CH}_3) - \text{CH} = \text{CH}_2$ y de esta forma, se clasifican de acuerdo al número de unidades C₅ que contengan en: monoterpenos, C₁₀; sesquiterpenos, C₁₅; diterpenos, C₂₀; sesquiterpenos, C₂₅; triterpenos, C₃₀ y tetraterpenos, C₄₀. Cabe señalar que aunque el esqueleto básico de los terpenoides se deriva estructuralmente del isopreno, este no es el precursor *in vivo* (Harbone, 1973), sino que son derivados del ácido mevalónico (Domínguez, 1979). Los estudios fitoquímicos realizados acerca de la distribución de estos compuestos se resumen en el cuadro 1, el cual muestra los Terpenoides aislados de esta Familia.



c) **Quinonas:** Las quinonas son dicetonas insaturadas, que por reducción, se convierten en polifenoles los que fácilmente las regeneran por oxidación. Por sus colores, amarillo a violeta contribuyen a la pigmentación de numerosos vegetales y de algunos animales. Alrededor de la mitad de hongos y vegetales unicelulares; pero casi no se han localizado quinonas en las monocotiledóneas. Por el sistema aromático que dan al reducirse, se le puede dividir en benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas, y fenantroquinonas (Domínguez, X. 1979). Los estudios realizados sobre estos metabolitos en la familia Iridaceae se resume en el cuadro 1.



D) **Cumarinas:** Las cumarinas constituyen un grupo importante de compuestos naturales; se les considera derivados de la lactona del ácido o- hidroxicinámico, usualmente llamada cumarina la mayoría de las cumarinas conocidas se encuentran libres en las plantas pero se conocen glicósidos del soraleno y otras cumarinas. Los estudios fitoquímicos realizados acerca de la distribución de estos compuestos es sumamente escasa en la Familia Iridaceae el cuadro 1, muestra la única cumarina aislada de esta Familia.



Cuadro 1. COMPUESTOS AISLADOS DE LA FAMILIA IRIDACEAE

ESPECIE VEGETAL	COMPUESTOS AISLADOS	PARTE DE LA PLANTA ESTUDIADA	REFERENCIAS
<i>Iris florentina</i>	I. 1,3,5,6 - tetrahidroxixantona-2-C-glucósido (2) II. Isomagniferina (3) III. Magniferina (4) IV. 1,3,6-trihidroxi-7-metoxixantona-2-2-C-β-D-glucopiranosido (7 - O - metilmagniferina). (5) V. 1,3,6 - trihidróxi-7-metoxixantona-4-C-β(7-O-metilisomagniferina) (6)	Epigeo	Blinova, <i>et al</i> , 1977.
<i>Iris germánica</i>	I. 5,3' - dihidroxi-4'-5'-dimetoxi-6,7-metilendioxi-isoflavona. (7) II. 5-hidroxi-6,4'-dimetoxi-isoflavona-7-glucosido. (8) III. 5,3'-dihidroxi-4',5'-dimetoxi-isoflavona-7 glucosido. (9)	Raiz	A.A. Ali, <i>et al</i> , 1983.
<i>Iris lactea</i>	I. 5-Hidroxi-4',7-dimetoxiflavona 6-C-[o-(2 acetil-α-L-rhamnopiranosil)-(1-2)-x-acetil-β-D-glicopiranosido] (diacetilembinina). (10) II. 5-Hidroxi-4',7-dimetoxiflavona 6-C- [o-(2-acetil-α -L-rhamnopiranosil) -(1,2)-D-glicopiranosido](acetlembinina). (11)	Partes aereas	N. L. Pyakhina,, <i>et al</i> , 1984.

Cuadro 1. COMPUESTOS AISLADOS DE LA FAMILIA IRIDACEAE (CONTINUACION)

<i>Iris milesii</i>	I.5,6,7,4'-tetrahidroxi-8-metoxi-isoflavona. (12)	Raíz	V. K, Agarwal, <i>et al</i> , 1984.
<i>Iris missouriensis</i>	I. 6 α - acetoxil - 21 β -hidroxil ó 22-eno. (13)	Raíz	Sui Ming., Wong, <i>et al</i> , 1986.
<i>Iris nepalensis D.</i>	I.4'-hidroxi-5-metoxi-6,7-metilendioxi-oxi-isoflavona. (14)	Raíz	Fukui, Matsumato, 1965.
<i>Iris tingitana</i>	I.5,4'-dimetoxi-6-7-metilendioxi-isoflavona. (15) II.5,4-Dimetoxi-3'-hidroxi6,7-metilendioxi-isoflavona. (16)	Bulbo fresco	El-Emary, Nasr A., <i>et al</i> , 1980.
<i>Iris unguicularis</i>	5,8-dihidroxi-4'-metoxi-6,7-metilendioxiiflavona. (17)	Raíz	Arisawa M., <i>et al</i> , 1976.
<i>Belamcada china</i> <i>Iris tectorum</i>	I. Tectoridina (18) II. Tectorigenina (19) III. Irogenina (20)	Raíz y rizoma	Wu, y. X., <i>et al</i> , 1992.
<i>Belamcada China</i> D. C <i>Iris japonica</i>	I.28-acetoxi-14.15-dihidro-26-hidroxi-19 metilidenespiroirida-15,17-dienal (21) II. 16- O- acetiliso- iridogermanal (22)	Rizoma fresco y rizoma seco	Abe, Fumiko., <i>et al</i> , 1991.

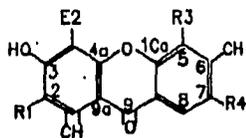
Cuadro 1. COMPUESTOS AISLADOS DE LA FAMILIA IRIDACEAE (CONTINUACION)

<i>Iris Nigricans</i>	<p>I. 4' - hidroxí-5-metoxi-6,7-metilen dioxisoflavona (Nigricina) (23)</p> <p>II. 4'-Hidroxí-5,3- dimetoxi-6,7-metilendioxisoflavona (nigricamina) (24)</p>	Rizoma	Al-Kahalil S., <i>et al</i> , 1994.
<i>Iris Pseudacorus</i>	<p>Flavonas</p> <p>I. Apigenina (25)</p> <p>II. Hespídalina (26)</p> <p>Flavononoles</p> <p>I. Alpinona (27)</p> <p>II. 7- O- metildihidrokaempferol (28)</p> <p>Flavonona</p> <p>I. 5,7,2'-Trihidroxiflavonona (29)</p>	Hoja	Fujinori Hanawa., <i>et al</i> , 1991.
<i>Iris germanica</i>	<p>Triterpenoides</p> <p>I. α- Iriermanal (1a)</p> <p>γ- Iriermanal (1b) (30)</p> <p>II. Iridogermanal (31)</p>	Rafz	Marnier F.J., <i>et al</i> , 1982.
<i>Illicium dunnianum</i>	<p>I. Macranthol (31)</p> <p>II. Dunnianol (32)</p> <p>III. Honokiol (33)</p>	Corteza	Kouno Isao., <i>et al</i> , 1991.

Cuadro 1. COMPUESTOS AISLADOS DE LA FAMILIA IRIDACEAE (CONTINUACION)

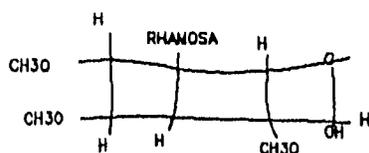
<p>Eleuterine americana</p>	<p>Antraquinonas: I. Metilester del ácido 3,4,8-trihidroxil-1-metil-antra,9,10-quinon-2-carboxílico. (34) Tres compuestos aromáticos: 1. Eleuterol (35) 2. Eleuterina (36) 3. Isoeleuterina (37)</p>	<p>Bulbos</p>	<p>Kamura Hajime ., <i>et al</i>, 1983.</p>
<p>Iris pseudocorus</p>	<p>Cumarina I. Cumzronacromona (Ayamenina E) (38)</p>	<p>Hoja</p>	<p>Hanawa Fujinori ., <i>et al</i>, 1991.</p>
<p>Crocus sativa L.</p>	<p>I. 8,8'-Diapo-ψ,ψ, ácido carotenódico. (39) II. Picrocrocina (40) III. Crocetina bis (β-D-glucopyranosil éster (41) IV. Safranól (42) V. Isoforona (43) VI. Mangicrocina (44)</p>	<p>Estigma</p>	<p>W.tang., <i>et al</i>, 1992.</p>

Figura 2. Estructuras químicas de los compuestos químicos aislados de la familia Iridaceae

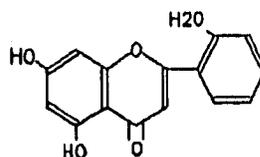


	R1	R2	R3	R4
(2)	Glc	H	OH	H
(3)	H	Glc	H	OH
(4)	Glc	H	H	OH
(5)	Glc	H	H	OCH3
(6)	H	Glc	H	OCH3

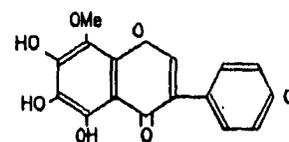
	R1	R2	R3	R4	R5	R6
(7)	OH	OCH	O	OH	OMe	OMe
(8)	OH	OMe	OGlc	H	OMe	OMe
(9)	OH	H	OGlc	OH	OMe	OMe



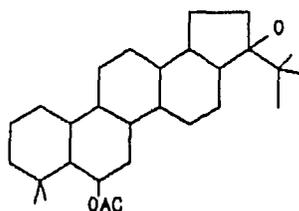
(10)



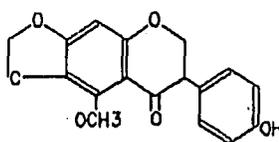
(11)



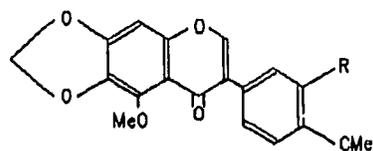
(12)



(13)



(14)



(15) R=H
(16) R=OH

Figura 2. Estructuras químicas de los compuestos químicos aislados de la familia Iridaceae (Continuación)

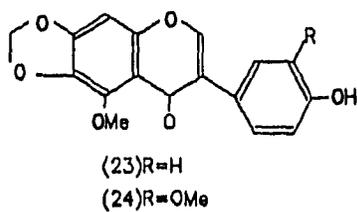
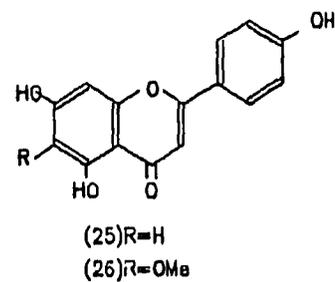
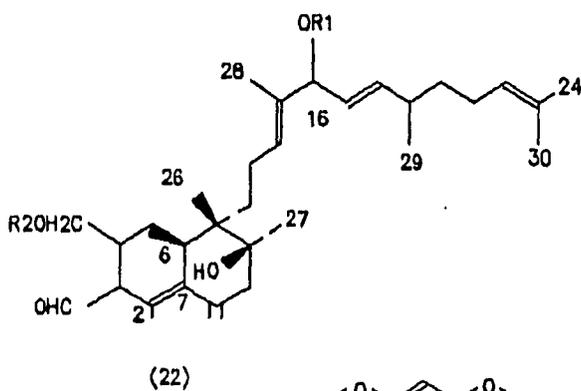
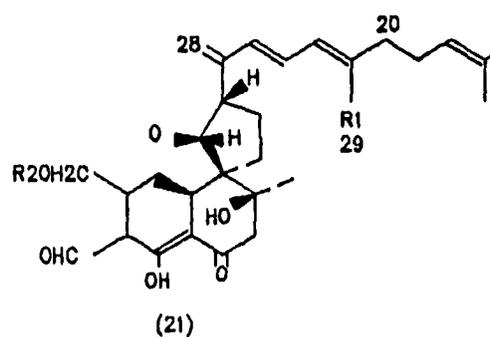
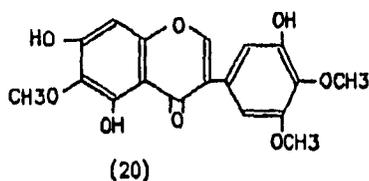
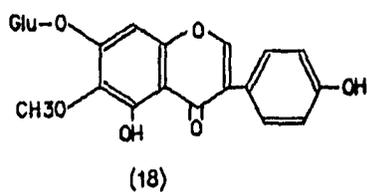
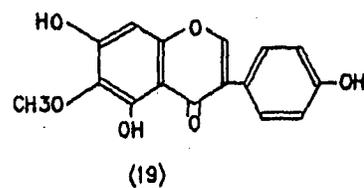
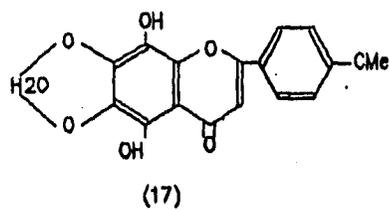


Figura 2. Estructuras químicas de los compuestos químicos aislados de la familia Iridaceae (Continuación)

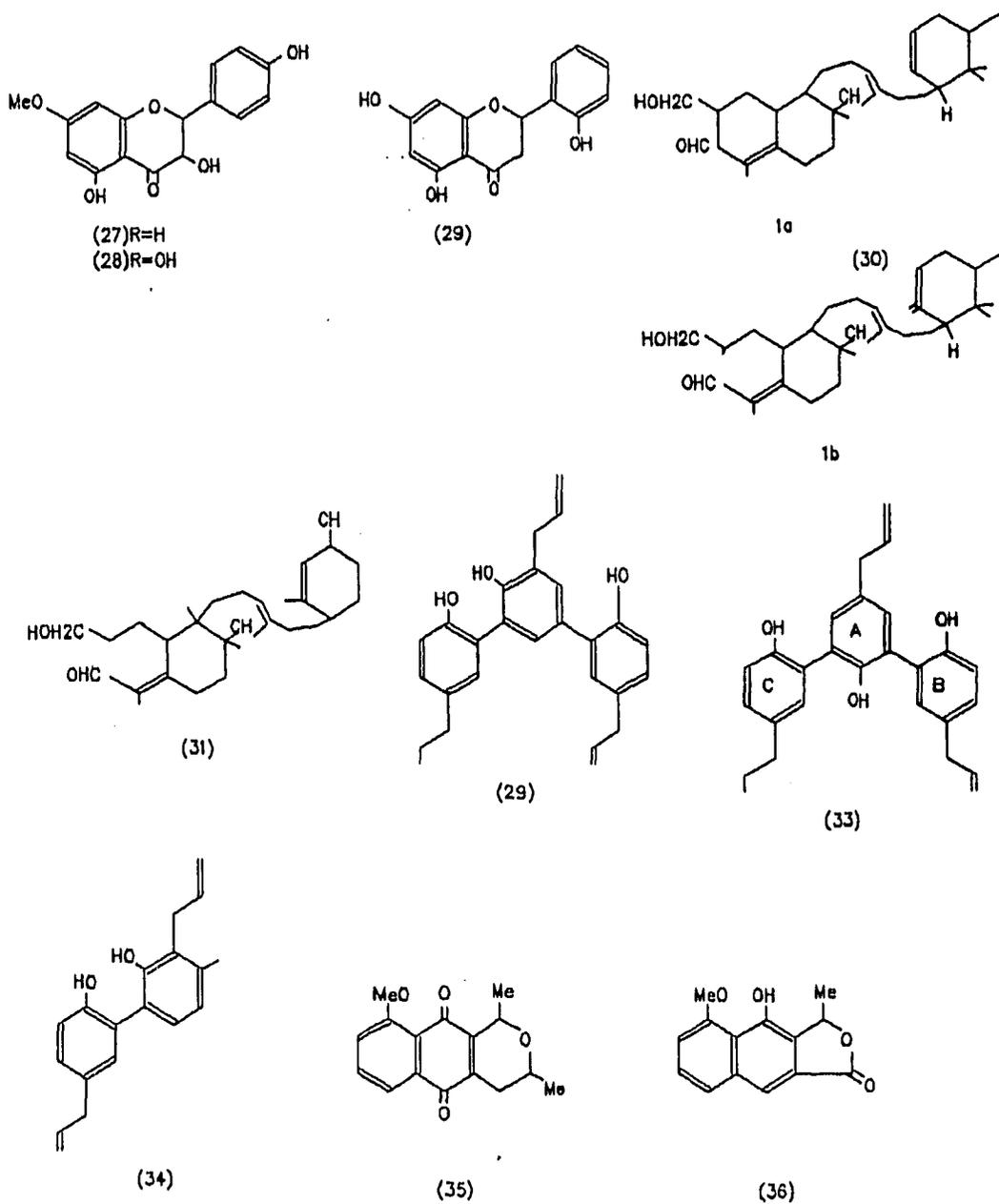
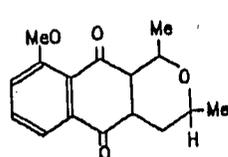
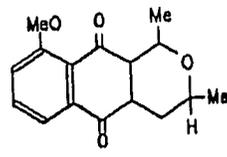


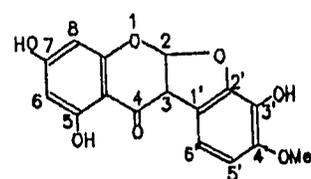
Figura 2. Estructuras químicas de los compuestos químicos aislados de la familia Iridaceae (Continuación)



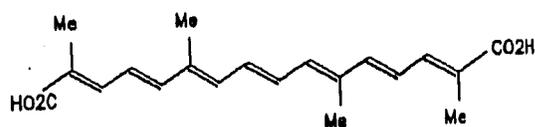
(37)



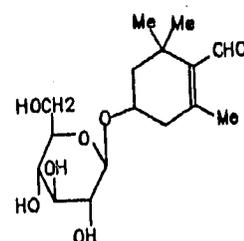
(38)



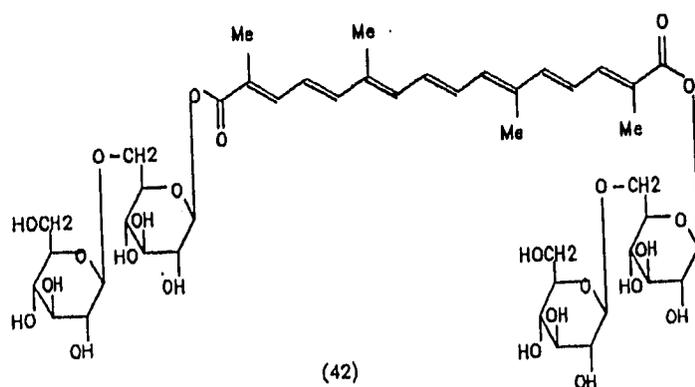
(39)



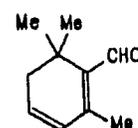
(40)



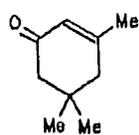
(41)



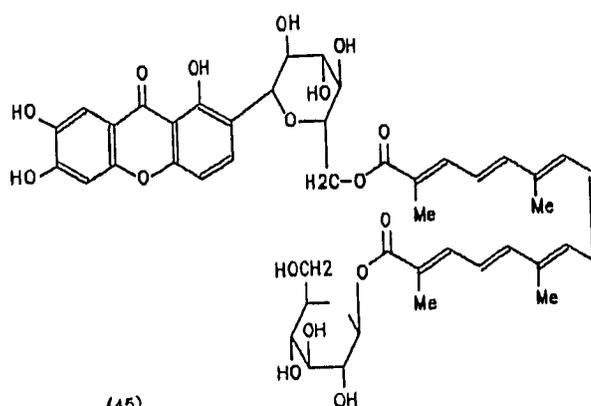
(42)



(43)



(44)



(45)

1.2.3 ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LA FAMILIA

El aislamiento de diversos compuestos asociados con una actividad biológica de interés terapéutico, de algunas plantas de la Familia Iridaceae, ha marcado la pauta a seguir realizando investigaciones fitoquímicas.

Belamcanda chinensis DC e *Iris Japonica*. Es utilizada por los indígenas del este de Asia. El rizoma seco de *Belamcanda chinensis* es utilizado para el tratamiento de la garganta y el rizoma fresco sin embargo es un estimulante para la mucosa membranal de la garganta. El rizoma fresco, de la raíz y tallo de *Iris Japonica* tienen los mismos efectos que la *Belamcanda chinensis* DC. (Abe, Fumiko, *et al.*, 1991)

Crocus sativus L. Esta es utilizada en Medicina Tradicional de China. El estigma seco es empleado para el tratamiento de hematoma, menostasis, melancolía, convulsiones y como sedativo (Tang, W, *et al.*, 1992)

Eleutherine americana. Esta es una planta de uso ornamental y medicinal, sus bulbos rojos se usan para el tratamiento de enfermedades cardíacas, especialmente en desordenes coronarios; también se reportan tres compuestos aromáticos aislados de esta especie denominados eleuterol, eleuterina e isoeleuterina los cuales actúan como vasodiladores en el corazón del cerdo de Guinea. (Tang, W, *et al.*, 1992)

Iris missouriensis. Es cultivada en norte de América y es utilizada por los indios americanos con propósitos medicinales no especificados, Sin embargo, existen reportes de que la planta tiene potencial antitumoral y anticancerígeno. (Wong S, *et al.*, 1986)

Iris hookeriana. Esta es usada en la medicina Tradicional de la India, se reporta que desde el rizoma de esta planta se aisló recientemente el 4'-O - metil Piceid, el cual muestra una α -glucosidasa en la actividad inhibitoria. (Shawl A.S, 1993)

También se reportan otra especie que no tienen alguna actividad biológica pero si es utilizada en la Industria del perfume.

Iris germánica. En la raíz se obtienen principios aromáticos utilizados en la preparación de perfumes y cosméticos con fragancia de violetas dulces. (Marner F, *et al.*, 1981)

1.3 GENERALIDADES DE LA ESPECIE *Sisyrinchium scabrum*

Sisyrinchium scabrum pertenece a la familia Iridaceae y se le conoce comúnmente con el nombre de Thuis jovel en la región de los Altos de Chiapas y es empleada en la Medicina Tradicional chiapaneca como un remedio en casos de dolor, hemorragia y para prevenir infecciones después del parto y es utilizada en forma de infusión una sola vez.

Es una planta herbácea perenne, por lo general escabrosa, de 10 a 20 cm de alto; tiene raicillas numerosas, fibrosas, delgadas, en la base del tallo se aprecian fibrillas dirigidas hacia la parte superior; tallos por lo general saliendo estrechamente lanceolado - ensiformes, desiguales entre sí, de 4 o dos por tallo, conteniendo 1 a 4 flores, de 1 a 1.5 cm de largo; alargándose en el fruto; perianto azul a morado, a veces blanquecino, de 1.5 a 2 cm de diámetro, con una mancha amarilla alargada en la parte basal media de cada pétalo, éstos unidos bidentado y con un apículo de \pm 1mm de largo; filamentos de unos 2.5 mm de largo, unidos en toda su longitud, anteras amarillas, oblongas, de \pm 1mm de largo; ovario pubescente; fruto piloso, globoso o subgloboso, algo anguloso, de unos 3 o 4 mm de largo por \pm 3 mm de grosor; semillas negras, subhemisféricas, cóncavo - convexas, de \pm 1 mm de diámetro.

Es una planta que se encuentra ampliamente distribuida en las elevaciones del Valle de México, en altitudes que varían entre 2450 y 3350 m; en variados hábitats, desde matorrales y pastizales hasta bosques de encino y de coníferas, con frecuencia en lugares perturbados, a veces como maleza. Centro de México, de San Luis Potosí, Guanajuato, Michoacán, Puebla, Veracruz, Oaxaca y Chiapas.

A esta especie se le ha venido llamando con frecuencia *S. angustifolium* Mill., taxón diferente que habita en el sureste de Canadá, centro y Estados Unidos. De cualquier manera, no queda aún clara la separación de *S. scabrum* de otros miembros del complejo "angustifolium", por lo que se requiere de un estudio más profundo en este grupo (Rzedowski, J. 1990).

2. METODOLOGIA

En la Figura 3 se resume la estrategia general utilizada para el estudio fitoquímico desarrollado en el presente trabajo experimental.

2.1 MATERIAL VEGETAL

Para la realización del presente trabajo se utilizó la raíz de *Sisyrinchium scabrum* la cual fue recolectada de una región conocida con el nombre de Los Altos de Chiapas localizada cerca de San Cristóbal de las Casas, en el Estado de Chiapas.

La planta se recolectó a una altura de 2210 metros, el 26 de agosto de 1991. La raíz de *Sisyrinchium scabrum*, fue enviada a la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, por la Organización de Médicos Indígenas del Estado de Chiapas (OMIECH) para su identificación y clasificación, lo cual fue realizado por la Dra. Concepción Rodríguez Jiménez, investigadora del departamento de Botánica de la E. N. C. B. , y posteriormente enviada a la sección de fitoquímica (Departamento de Farmacia) a cargo de la M. en C. María de Lourdes Hernández De Jesús para su análisis. Una muestra de Herbario se encuentra depositada en el Herbario de la E. N. C. B. del Instituto Politécnico Nacional y en el Jardín Botánico de la Universidad Autónoma de México.

2.2 EXTRACCION Y PURIFICACION DEL CONSTITUYENTE MAYORITARIO DE LA RAIZ DE *Sisyrinchium scabrum*

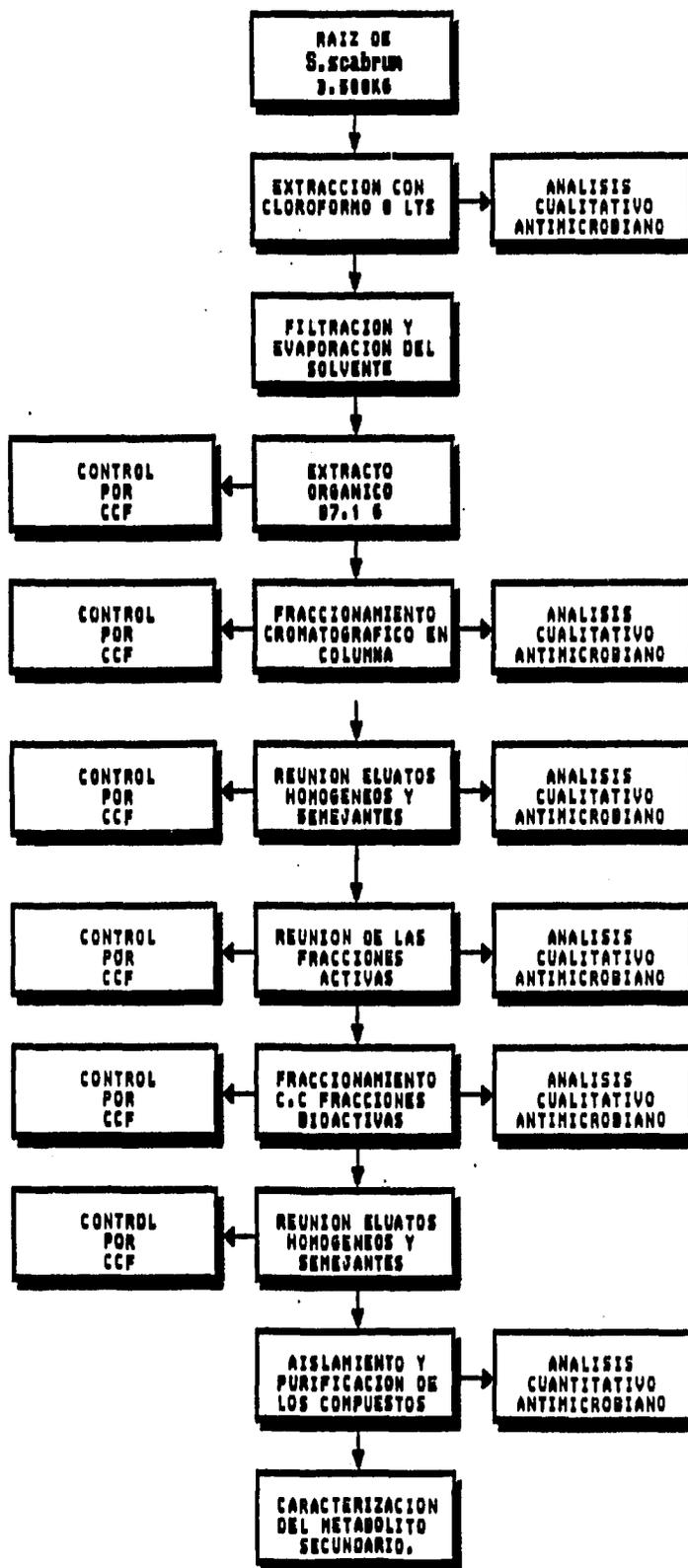
2.2.1 Análisis preliminar.

Aproximadamente 10 g de raíces secas y previamente molidas en un molino de cuchillas, modelo Willey No 4; se colocaron en matraces de fondo plano, uno por cada disolvente a utilizar hexano, cloroformo, metanol y agua a temperatura ambiente durante tres días. Posteriormente el disolvente de extracción se decanto y filtro para ser concentrada por destilación a presión reducida proporcionando un extracto por cada disolvente.

A cada uno de los extractos obtenidos se les realizó la evaluación cualitativa antimicrobiana mediante el método de estría y difusión en agar (Mitscher , 1971), (Linton A.H., 1983) , (Hufford, C,*et al.*, 1975), así como el desarrollo cromatográfico en capa fina de los residuos orgánicos obtenidos tabla 1. Observándose que el extracto clorofórmico presentó un efecto significativo sobre los microorganismos de prueba.

Posteriormente se procedió a realizar el análisis Fitoquímico preliminar tabla 4 del extracto Clorofórmico, para poder saber que tipo de compuestos se encuentran presentes en esta planta.

FIGURA 3. DIAGRAMA DE BLOQUES DE LA SECUENCIA DE TRABAJO



2.3 ANALISIS FITOQUIMICO PRELIMINAR

Pesar 20 g. de muestra vegetal molida y colocarla en un vaso de precipitado con 50 ml de agua destilada, calentar a ebullición por 10 minutos. Dividir el extracto en cinco partes para la realización de las pruebas de Alcaloides, Taninos y Fenoles, Azúcares, Saponinas y Glicósidos cianogénicos.

2.3.1 Alcaloides

A una porción del extracto acuoso, acidular de 5 a 10 ml de ácido clorhídrico al 10 %, calentar a ebullición por 5 minutos, enfriar y filtrar hasta tener una solución transparente (no incolora). Dividir el filtrado en 6 tubos de ensayo, uno de los cuales servirá para comparar los cambios que se presenten entre el extracto original y los tubos en los que se realicen reacciones.

1.- Reacción de Dragendorff: Añadirle a uno de los tubos el extracto, una gota del reactivo. Si el extracto contiene alcaloides, se presenta un precipitado anaranjado.

2. Reacción de Mayer: Adicionarle al tubo con extracto una gota del reactivo. Se formará un precipitado blanco o amarillento si el extracto contiene alcaloides.

3. Reacción de ácido silicotúngstico: Adicionar una gota de reactivo a un tubo con extracto. Si hay alcaloides se formará un precipitado blanco- amarillento.

4. Reactivo de Sonneschajn: La adición de una gota de reactivo al tubo de prueba, da un precipitado amarillo.

5. Reactivo de Wagner: añadir una gota del reactivo al tubo, si los alcaloides se encuentran presentes se formará un precipitado café - naranja.

2.3.2 Taninos y Fenoles

A una porción del extracto acuoso se adicionan de 5 a 10 ml de cloruro de sodio al 2% , calentar a ebullición por un minuto enfriar y filtrar hasta una solución transparente.

Al filtrado resultante, dividirlo en tres tubos de ensayo para la realización de las siguientes pruebas:

1. Reacción con gelatina: Adicionar al tubo que contiene el extracto de 1 a 2 gotas del reactivo. La formación de un precipitado blanco, indicará la presencia de taninos.

2. Reacción con cloruro férrico al 1%: A otra porción de extracto adicionarle una gota de cloruro férrico al 1% . La formación de coloraciones de azul a negro, indica la presencia de derivados de ácido gálico. Si la coloración es verde se deberá a la presencia de derivados del catecol.

2.3.3 Azúcares

A una porción del extracto acuoso, medir pH, si es menor de 10 alcalinizar con hidróxido de sodio al 5%. Dividir el extracto en dos tubos.

1.- Reacción de Fehling: A 0.5 ml del extracto alcalino se le adicionan 0.5 ml de la solución A y 0.5 ml de la solución B de Fehling.

2.- Reacción de Benedict: 0.5 ml del extracto alcalino se mezclan con 0.5 ml de reactivo y 1 ml de agua.

3.- Preparar un blanco para cada reactivo. Colocar los tres tubos en un baño maría por 15 minutos. Si los azúcares se encuentran presentes, se forman en ambas pruebas un precipitado de color naranja a rojo ladrillo.

2.3.4 Saponinas

A una porción del extracto acuoso caliente se filtra y se agita vigorosamente. Medir la altura de la espuma, si mide 8 a 10 mm y es estable por 15 minutos, se le considera prueba positiva para saponinas.

Reacción de Rosenthaler: Una pequeña porción del extracto se evapora y se le agrega 2 gotas del reactivo, añadir una gota del ácido sulfúrico concentrado. Si se encuentran presentes saponinas de tipo triterpenoide se forma una coloración violeta.

2.3.5 Glicósidos cianogenéticos

Reacción de Grignard: Colocar en un tubo el extracto y calentar a ebullición colocando en la boca del tubo una tira de papel filtro impregnado con reactivo de picrato de sodio. La formación de una mancha color rosa al rojo será indicativa de la presencia de esos glicósidos.

2.3.6 Triterpenos y esteroides

Pesar 5g de muestra vegetal molida y colocar en un vaso de precipitados con 10 ml de cloroformo y calentar a ebullición por 2 minutos.

1. Reacción de Liebermann - Burchard: Añadir en uno de los tubos con extracto dos gotas de anhídrido acético. Estratificar (resbalando por las paredes) una gota de ácido sulfúrico concentrado y sin agitar, observar si se encuentran presentes saponinas esteroidales, se forma una interface en anillo de color azul o verde. las saponinas triterpenoides dan coloración rosa, rojo, magenta o violeta.

2. Reacción de Rosenthaler: Una pequeña porción del extracto se evapora y se le agrega 2 gotas del reactivo, añadir una gota del ácido sulfúrico concentrado. Si se encuentran presentes saponinas de tipo triterpenoide se forma una coloración violeta.

2.3.7 Lignanos

1. Reacción con formol: Una pequeña porción del extracto cloroformico se le adiciona 1 gota de formol y se estratifica con una gota de ácido sulfúrico concentrado y calentar suavemente. La formación de una coloración roja indica la presencia del anillo aromático de los lignanos.

Pesar 20g de la muestra molida y colocarla en un vaso de precipitados con 50 ml de etanol, calentar a ebullición por 5 minutos, dividir el extracto en seis partes para la realización de las pruebas de sesquiterpenlactonas, flavonoides, glucósidos cardiacos, cumarinas, quinonas y alcaloides.

2.3.8 Flavonoides

A una porción del extracto etanólico se filtra y se divide en tres tubos de ensayo, uno de los cuales servirá como testigo para realizar las siguientes reacciones.

1.- Reacción de Shinoda: Adicionar dos gotas de ácido clorhídrico concentrado a uno de los tubos que contenga 0.5 ml del extracto observar si se presenta algún cambio de coloración comparando con el tubo testigo. Si se observa una coloración roja será indicación de que se encuentran presentes auronas o chalconas, si no hay cambio, adicionar un trocito de magnesio metálico si se forma una coloración de naranja a rojo se trata de flavonas, rojo si son flavonoles y magenta si son flavononas.

2.- Reacción con hidróxido de sodio al 10%: Al otro tubo con extracto, adicionarle 3 gotas de hidróxido de sodio al 10%, si se forma una coloración de amarillo a rojo, se considera positiva para xantonas y flavonas, de café a naranja para flavonoles, de púrpura a rojizo para chalconas y azul para antocianinas.

2.3.9 Cumarinas

1.- Reacción de Erlich: A una pequeña porción del extracto se coloca en una placa de muesca, añadirle dos gotas del reactivo y una gota de ácido clorhídrico concentrado. Si se encuentran presentes la cumarinas, se forma una coloración naranja.

2. Reacción con hidróxido de amonio: A una porción del extracto se le adicionan dos gotas de hidróxido de amonio concentrado. Se presenta una fluorescencia azul - violeta si se encuentran presentes las cumarinas.

2.3.10 Glicósidos cardiacos

Transferir a una cápsula de porcelana una porción del extracto y evaporar, adicionar 3 ml de una mezcla Cloroformo - metanol (1:1), , dividir en dos fracciones para la realización de las siguientes pruebas.

1.- Reacción Legal: Colocar dos gotas del extracto en una placa muesca, dejar que se evapore completamente el disolvente y adicionar 2 o 3 gotas de piridina, agregar una gota de nitroprusiato de sodio al 0.5% y cuatro gotas de hidróxido de potasio. Si se encuentran presentes los glicósidos cardiacos, se formará una coloración roja poco estable.

2.- Reacción de Baljet: Colocar dos gotas del extracto en una placa muesca, adicionar 3 gotas del reactivo de Baljet. Mezclar con tres gotas de la solución A y 3 gotas de la solución B al momento de usarse. Se formará coloraciones que varían del naranja al rojo oscuro, si los glicósidos están presentes.

2.3.11 Quinonas

1.- Reacción con hidróxido de amonio: A una pequeña porción de extracto se evapora y se adiciona una gota de hidróxido de amonio concentrado, la formación de una coloración roja que aparece en los primeros minutos, se considera positiva para antraquinonas.

2.4 EVALUACIONES BIOLÓGICAS DE LOS EXTRACTOS DE LA RAÍZ DE *Sisyrinchium scabrum*.

2.4.1 Monitoreo de la actividad antimicrobiana.

La evaluación preliminar de la potencialidad antimicrobiana del extracto original, así como de cada una de las fracciones y compuestos puros obtenidos durante los procedimientos de separación, se realizó utilizando las técnicas microbiológicas cualitativas de difusión en agar y en estría (Mitscher, 1971), (Linton A.H., 1983), (Hufford, C, *et al.*, 1975).

2.4.2 Microorganismos de prueba.

Los siguientes cepas se utilizaron como microorganismos de prueba en las evaluaciones

Microorganismos	ATCC / ml
<i>Candida albicans</i>	10231
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	(AM - 93-10)
<i>Staphylococcus aureus</i>	6538
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0579
<i>Escherichia coli</i>	25922
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	27853
<i>Listeria monocytogenes</i>	Patógena
<i>Aeromona sobria</i>	Patógena

2.4.3 . Preparación de la muestra de prueba.

Las muestras a evaluar se suspendieron en una solución acuosa de tween 80 al 1%.

Los extractos y fracciones se evaluaron a una concentración de 100 y 20 mg ml⁻¹, respectivamente. En tanto que los compuestos puros a una concentración de 4mg ml⁻¹.

Los controles positivos se prepararon utilizando 1 mg ml⁻¹ de sulfato de estreptomycinina y 30 mg ml⁻¹ de nistatina en solución acuosa.

2.4.4. Análisis cualitativo antimicrobiano.

La evaluación de la potencialidad antimicrobiana del extracto y las fracciones obtenidas se realizó utilizando los siguientes métodos:

Método de disco:

Se emplean discos de papel filtro estériles con determinadas características y medidas de diámetro, estos discos se impregnan de la sustancia antimicrobiana a probar y se preparan de acuerdo a las características de la muestra. Posteriormente se colocan en la superficie del agar inoculado con el microorganismo de prueba y se observa el material a evaluar así como el control.

Después de haber sido incubadas a temperatura correspondiente (Kartnig *et al.*, 1991). Se determina en milímetros, el halo de inhibición representado por una zona clara. La prueba se realiza por triplicado para que los resultados sean confiables (Linton A.H, 1983).

Método de halo de placas:

Consiste en realizar una horadación sobre la placa de agar inoculado, este es removido para colocar en la perforación la muestra a evaluar. Esta técnica si depende del grado de difusión de la muestra. Observándose un halo claro alrededor donde se coloca la muestra, lo cual es indicativo de la inhibición del crecimiento del microorganismo. (Hufford, C, *et al.*, 1975)

Método de estrías:

Este método consiste en colocar nuestra muestra con el agaren las placas a probar, se realiza una agitación para que se mezclen bien, una vez realizado este paso se procede a inocular el microorganismo en forma radial, a manera que no halla una contaminación cruzada y altere los resultados en este método sólo se observa la inhibición del microorganismo sin medición. (Mitscher *et al.*, 1971).

2.4.5. Análisis cuantitativo antimicrobiano

Para cada una de las determinaciones de la concentración mínima inhibitoria (MIC) se preparó una serie de 10 tubos conteniendo caldo nutritivo estéril el primer tubo de esta serie contenía 4.5 ml de caldo nutritivo y los restantes de 2.5 ml cada uno. Los extractos de prueba se disolvieron a una concentración de 100 mg ml^{-1} en una mezcla de 0.2 ml de tween 80 con 1.8 ml de agua destilada y estéril.

Se transfirieron 0.5 ml de la muestra disuelta al primer tubo con agitación (Vortex) 2.5 ml de esta suspensión se transfirieron del primer tubo al segundo tubo mezclándolo cuidadosamente. Esta misma operación se realizó con los tubos siguientes. Que dando las concentraciones siguientes a partir del primer tubo:

25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.5, 0.78, 0.39, 0.19, 0.095, 0.047 mg/ml

Cada tubo se inoculo con 10 ml de la suspensión del microorganismo de prueba (10^6 células ml^{-1}) posteriormente se incubaron 24 hrs a 37°C cada evaluación se realizó por duplicado.

El sulfato de estreptomycin se utilizó como control positivo ($100 \mu\text{g ml}^{-1}$).

La concentración mínima que inhibió completamente el crecimiento del microorganismo de prueba se registro como la concentración mínima inhibitoria (MIC)

2.5 EXTRACCION Y PURIFICACION DEL CONSTITUYENTE ANTIMICROBIANO

2.5.1 Extracción y Fraccionamiento Biodirigido

A partir de 3.5 Kg. de raíces se fragmentaron en un molino de cuchillas (modelo Wiley No 4) y el polvo previamente desengrasado se procedió a extraer con cloroformo a temperatura ambiente durante tres días posteriormente el disolvente de extracción se decantó y filtro para ser concentrado por destilación a presión reducida, La concentración final proporcionó 87. Ig del extracto orgánico total.

El diagrama 3 resume la estrategia general utilizada para el estudio fitoquímico desarrollado en el presente trabajo experimental.

Se realizó la evaluación cualitativa de la actividad antimicrobiana del extracto original mediante el método de estría y el método de difusión en agar (ver parte experimental 2.4) . La resolución del extracto se efectuó por cromatografía en sílica gel de sílice (800g, sílica gel 60 Merck 70 - 230 mallas); el proceso de elución se llevó a cabo con hexano, cloroformo y metanol con diferentes proporciones. El volumen de los eluatos fue de 500 ml y cada uno se concentró al vacío hasta un volumen de 30 ml, aproximadamente. La semejanza y la homogeneidad de los constituyentes observados mediante un análisis en cromatografía en capa fina, permitió la reunión de cada uno de los eluatos obteniéndose fracciones concentradas, que se evaluaron de manera independiente mediante el análisis cualitativo antes mencionado para determinar su potencialidad antimicrobiana.

2.5.2. Purificación de la 7 - Hidroxi (3H) isobenzofuranona.

La fracción clorofórmica (4 - I fracción 4.11g) responsable de una significativa actividad biológica, se recromatografio sobre una columna en sílica gel de sílice (40g) utilizando n - hexano - cloroformo con diferentes proporciones. El total de los eluatos obtenidos de 150 ml cada uno se reunieron en 13 fracciones secundarias, a las cuales se les evaluó su actividad biológica.

La purificación de la fracción secundaria (3 - II 700 mg)se realizó mediante lavados con hexano y éter etílico proporcionando un sólido cristalino (203.3 mg) con $R_f = 0.31$ (Hexano : CHCl_3 60: 40) .

Cromatografías analíticas en capa fina de esta fracción permitió visualizar, con la ayuda de su absorción en U. V, a un sólo compuesto el cual desarrolló un color azul con $\text{CeSO}_4 / \text{H}_2\text{SO}_4$. Las principales características espectroscópicas del compuesto se presentan en la tabla 5.

Al compuesto obtenido fue sometido a una evaluación cualitativa antimicrobiana por el método de disco y a una evaluación cuantitativa antimicrobiana por el método de dilución en caldo para la obtención de la concentración mínima inhibitoria.

DISCUSION Y RESULTADOS

El aspecto más importante de la secuencia metodológica desarrollada en la presente investigación consistió en el empleo de un análisis cualitativo preliminar que permitió detectar la actividad antimicrobiana potencial de los extractos preparados a partir de la raíz de *Sisyrinchium scabrum* y, al mismo tiempo, realizar el monitoreo de esta actividad biológica a lo largo de todo el estudio fitoquímico. De esta manera, el plan de trabajo se dividió en dos etapas generales.

La primera consistió en la determinación cualitativa preliminar de la actividad antimicrobiana de los extractos totales de hexano, cloroformo, metanol y acuoso y de cada una de las eluciones resultantes del fraccionamiento por cromatografía en columna mediante la técnica de difusión en agar (Hufford C.D, *et al*, 1975) , y una segunda parte; cuyo objetivo fue la evaluación cuantitativa antimicrobiana, mediante las técnicas microbiológicas de dilución en agar (Clark A. M , *et al* , 1985) del compuesto activo aislado. Esta evaluación secundaria se realizó con el objetivo de determinar la concentración mínima inhibitoria del compuesto aislado.

A partir del material vegetal seco se procedió a preparar un extracto hexánico, cloroformico, metanólico y acuoso utilizando la metodología convencional de extracción. Posteriormente, se evaluó la actividad antimicrobiana por el método de estria de los extractos anteriormente mencionados observándose un efecto significativo del extracto cloroformico sobre las bacterias Gram positivas y Gram negativas utilizadas como organismos de prueba tabla 1 . Figura. 4a.

Tabla 1 . Evaluación de la actividad Antimicrobiana de los diferentes extractos obtenidos de la raíz de *Sisyrinchium scabrum*

Extracto	HEXANO	CLOROFORMO	METANOL	ACUOSO
<i>M. anisoplia</i>	-	+	-	-
<i>C. albicans</i>	±	-	±	±
<i>A. sobria</i>	±	+	±	±
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	±	±
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>S. agalactiae</i>	±	+	±	±
<i>S. aureus</i>	-	+	±	±
<i>E. coli</i>	-	+	-	-

- No actividad
 + Si hay actividad
 ± pocas colonias

El extracto clorofórmico activo se sometió a una separación mediante cromatografía en columna del gel de sílice y en este proceso de separación todos los eluatos resultantes se analizaron mediante cromatografía en capa fina. Las fracciones así obtenidas fueron sometidas de manera independiente a la evaluación de su actividad antimicrobiana mediante el ensayo ya mencionado. La tabla 2 resume el fraccionamiento biodirigido del extracto total de *Sisyrinchium scabrum*. Esta metodología permitió observar que la actividad se presentó en las fracciones correspondientes a la elución con hexano : cloroformo fracción 4 - I (70:30) hasta la fracción 11- I cloroformo : metanol (90: 10) los resultados de la evaluación antimicrobiana evidenciaron una significativa actividad biológica sobre las fracciones anteriormente mencionadas en contra de bacterias Gram positivas como en algunas Gram negativas, la inhibición que mostraron estas fracciones fueron comparadas con el estándar de estreptomycin. Figura 4b

Tabla 2. Fraccionamiento del extracto total de *Sisyrinchium scabrum* mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice

Eluatos combinados	Numero de fracción	Sistema de elución	proporción	Evaluación Antimicrobiana
1 - 6	1-I	C ₆ H ₁₄	C ₆ H ₁₄	Inactiva
7-144	2-I	C ₆ H ₁₄ - CHCl ₃	90 : 10	Inactiva
145 - 287	3-I	C ₆ H ₁₄ - CHCl ₃	80 : 20	Inactiva
288 - 389	4-I	C ₆ H ₁₄ - CHCl ₃	70 : 30	activa
390 - 411	5-I	C ₆ H ₁₄ - CHCl ₃	60 : 40	activa
412 - 438	6-I	C ₆ H ₁₄ - CHCl ₃	40 : 60	activa
439 - 457	7-I	C ₆ H ₁₄ - CHCl ₃	30 : 70	activa
458 - 481	8-I	C ₆ H ₁₄ - CHCl ₃	20 : 80	activa
482 - 509	9-I	C ₆ H ₁₄ - CHCl ₃	10 : 90	activa
510 - 527	10-I	CHCl ₃	CHCl ₃	activa
528 - 538	11-I	CHCl ₃ - MeOH	90 : 10	activa
539 - 564	12-I	CHCl ₃ - MeOH	80 : 20	Inactiva
565 - 574	13-I	CHCl ₃ - MeOH	70 : 30	Inactiva
575 - 592	14-I	CHCl ₃ - MeOH	60 : 40	Inactiva
593 - 601	15-I	CHCl ₃ - MeOH	50 : 50	Inactiva

La fracción activa (4 - I) se sometió a procedimientos de purificación adicionales mediante cromatografía en columna Tabla 3 , en la fracción 3 - II se permitió el aislamiento de un constituyente activo, como un polvo cristalino de p.f 135.6 - 135.8 . Figura 4c

Tabla 3. Cromatografía en columna de la fracción (4 - I) de la raíz de *Sisyrinchium scabrum*

Eluatos combinados	Numero de fracción	Sistema de elución	proporción	Evaluación Antimicrobiana
1-35	1-II	C ₆ H ₁₄	C ₆ H ₁₄	inactiva
36-99	2-II	C ₆ H ₁₄ - CHCl ₃	99 : 1	inactiva
100-170	3-II	C ₆ H ₁₄ - CHCl ₃	98 : 2	activa
171-291	4-II	C ₆ H ₁₄ - CHCl ₃	97 : 3	inactiva
292-300	5-II	C ₆ H ₁₄ - CHCl ₃	90 : 10	inactiva
301-337	6-II	C ₆ H ₁₄ - CHCl ₃	80 : 20	inactiva
338-364	7-II	C ₆ H ₁₄ - CHCl ₃	70 : 30	inactiva
365-372	8-II	C ₆ H ₁₄ - CHCl ₃	60 : 40	inactiva
373-380	9-II	C ₆ H ₁₄ - CHCl ₃	50 : 50	inactiva
381 - 384	10-II	CHCl ₃	CHCl ₃	inactiva
385 - 388	11-II	CHCl ₃ - MeOH	30 : 70	inactiva
389 - 393	12-II	CHCl ₃ - MeOH	20 : 80	inactiva
396-401	13-II	CHCl ₃ - MeOH	10 : 90	inactiva
402 - 410	14-II	CHCl ₃ - MeOH	MeOH	inactiva

Los resultados de la evaluación cualitativa antimicrobiana por el método de estría de los extractos hexano, cloroformo, metanol y acuoso de la raíz de *Sisyrinchium scabrum* (Mostrado en el cuadro 1) solamente el extracto cloroformico presentó actividad inhibitoria sobre *M. smegmatis*, *A. sobria*, *L. monocytogenes*, *S. agalactiae*, *S. aureus*, *E. coli*, por lo que se procedió al fraccionamiento del extracto cloroformico para la obtención del único constituyentes el cual presentó una significativa actividad inhibitoria sobre *A. sobria*, *L. monocytogenes* principalmente. Figura 4d.

El resto de las fracciones obtenidas de la columna original, así como subfracciones generadas durante el proceso de aislamiento de el constituyente activo, se pueden seguir realizando trabajos posteriores que puedan complementar este estudio con el objetivo de aislar más metabolitos mayoritarios adicionales presentes en el extracto cloroformico.

Se realizó un análisis cuantitativo antimicrobiano del extracto, fracciones y compuesto puro para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (MIC) observandose que el compuesto aislado mostró un mayor efecto inhibitorio con valores de MIC de $12.5 \mu\text{g ml}^{-1}$ para la *L. monocytogenes* y de $6.25 \mu\text{g ml}^{-1}$ para la *A. sobria*, mientras que para los demás microorganismos de prueba presentaron concentraciones mayores de 50 y $100 \mu\text{g ml}^{-1}$ tabla 4.

Tabla 4. Actividad antimicrobiana cualitativa y cuantitativa de las fracciones activas purificadas

Microorganismo	Muestra Cloroformo	Fracción I-II	Fracción III-IV	Compuesto puro	Estándar estreptomycin
<i>S. aureus</i>	+ (3.12)	+ > (50)	+ > (100)	+ > (100)	+ (1.56)
<i>S. agalactiae</i>	+ (6.25)	+ > (50)	+ > (100)	+ > (100)	+ (1.36)
<i>P. aeruginosa</i>	+ (25)	+ > (50)	+ > (100)	+ > (100)	+ (0.5)
<i>E. coli</i>	+ (12)	+ > (100)	+ > (100)	+ > (50)	+ (10)
<i>L. monocytogenes</i>	+ (12.5)	+ (25)	+ (12.5)	+ (6.25)	+ (0.156)
<i>A. sobria</i>	+ (25)	+ (25)	+ (6.25)	+ (3.12)	+ (6.26)
<i>C. albicans</i>	+ > (100)	+ > (100)	+ > (100)	+ > (100)	+ > (100)
<i>M. smegmatis</i>	+ (3.12)	+ (25)	+ (25)	+ (25)	+ (0.009)

() Concentración mínima inhibitoria mg/ ml

+ y - Evaluación cualitativa

Paralelamente se realizó el estudio fitoquímico del extracto cloroformico obteniendo resultados positivos para flavonoides (Chalconas) las chalconas se correlacionan a la presencia de estos metabolitos secundarios reportados en la literatura de plantas pertenecientes a la familia Iridaceae. Tabla 5.

Tabla 5. Análisis fitoquímico preliminar del extracto cloroformico de la raíz de *Sisyrinchium scabrum*.

(Continuación).

Saponinas	1. Espuma	Estable por 1 minuto forma de panal	café
	2. Lieberman-burchard	Anillo de color azul o verde. Saponinas esteroidales	
	3. Rosenthaler	Coloración rojo, rosa, magenta o violeta. Saponinas triterpenoides	
Alcaloides	1. Mayer	Precipitado blanco o amarillento.	café
	2. Dragendorff	Precipitado: anaranjado	
	3. Somerschaui	Precipitado: amarrillento	
	4. Wagner	Precipitado: café anaranjado	
Glicósidos cianogénicos	1. Guinard	Mancha de color rosa a rojo presencia de este glicósido	café

Estos resultados permitieron concluir que el alto rendimiento del agente antimicrobiano mayoritario, la 7-hidroxi (3H) isobenzofuranona, justifica en parte las propiedades antisépticas demostradas por las infusiones preparadas con *Thuis jovel* (*Sisyrinchium scabrum*) y, en especial, su tradicional empleo como agente antimicrobiano en contra *L. monocytogenes* y *A. sobria* microorganismos causantes de listeriosis humana perinatal, sepsias intrauterinas y meningitis.

Caracterización de la 7 - Hidroxi (3H) isobenzofuranona

El compuesto responsable de la actividad antimicrobiana se aisló como un sólido cristalino con un punto de fusión 135.5 - 135.8 °C y su fórmula molecular calculada mediante espectrometría de masas correspondió a $C_8H_6O_3$.

Las absorciones de U.V - Visible (λ_{max} 359,208 nm) apoyó la presencia de una lactona.

Su espectro de IR presentó una banda en 3508 y 3412 cm^{-1} correspondientes al oxhidrilo no quelatado con el carbonilo de la lactona 1738 cm^{-1} y otra señal en 1200 cm^{-1} correspondiente a las flexiones de los enlaces C - O. También se observaron varias señales que sugieren la presencia de dobles enlaces, cuyos máximos se obtuvieron en los 3052, 1624 y 786 cm^{-1} . (Espectro No 1)

El espectro de RMN 1H (Espectro No 2) presenta una señal en 5.33 ppm como un triplete, cuyo desplazamiento e integración sugiere un grupo metileno vecino a un oxígeno hacia campo bajo, en el área de los aromáticos se tiene un grupo de señales cada una integrando para un protón en 6.938, 7.0735 y 7.573 ppm y aproximadamente en 9 ppm se observa una señal muy ancha que debe corresponder a un hidrogeno ácido probablemente de un OH.

Estos datos junto con los de I.R sugieren una estructura de tipo isobenzofuranona y considerando el patron de multiplicidad como las constantes de acoplamiento se sugiere la siguiente asignación:

- El triplete que integra para dos protones en 5.33 ppm corresponde a un metileno de una γ lactona con una $^4J_{3,4} = 0.9$ Hz
- El protón en el C - 6 aparece como un doble de dobles en 6.938 ppm el cual presentó con los dos protones vecinales C-5 y C-4 los valores de las constantes de acoplamiento $^3J_{5,6} = 7.5$ Hz , $^4J_{6,4} = 0.9$ Hz.
- El protón en el C - 4 aparece como un doble de dobles en 7.0735 presentando los dos protones vecinales en C - 5 y C - 6 . Los valores de las constantes de acoplamiento son $^3J_{4,5} = 0.9$, $^3J_{5,6} = 7.5$ Hz
- El protón en C - 5 aparece en 7.5735 ppm debido al acoplamiento con los dos protones vecinales C - 6 y C - 4 el valor de la constante de acoplamiento es $^3J_{4,5} = ^3J_{5,6} = 7.5$ Hz.
- Cerca de 9 ppm se localiza una señal ancha poco visible pero detectada por el equipo y que es característica de protones ácidos como los alcoholes y que este grupo debe estar en el anillo aromático sin formar puentes de hidrógeno ya que los OH puenteados se presentan cerca de 11 a 12 ppm.

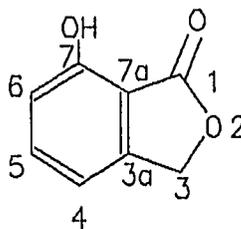
Las asignaciones de H - 6 y H - 4 estan sustentados con un experimento NOE (Efecto Nuclear Overhouse) que consiste en la irradiación de una señal determinada para observar el crecimiento de otras por una interacción a través del espacio, es decir que los protones cercanos en el espacio tendrán interacción.

Así se observa que la irradiación de la señal en 5.33 ppm produce incremento del 7.1 % de la señal localizada en 7.073 ppm que es la asignada en H - 4 por lo tanto la señal en 6.938 ppm debe corresponder al H - 6 .

Para confirmar la estructura anterior se obtuvo el espectro de RMN ^{13}C (Espectro 3) observando señales para ocho átomos de carbono encontrándose hacia campo alto la correspondiente al metileno en 70.49 ppm característica de carbonos vecinos a el oxígeno. Posteriormente en el área de los aromáticos se tiene en 112.07 ppm una señal pequeña de un carbono ipso que probablemente sea C - 7a la señal en 114.24 ppm y 116.024 ppm también de aromáticos deben ser de C - 4 y C - 6 respectivamente esto es por los fenomenos de protección y desprotección ocasionados por los sustituyentes en 137.2 ppm aparece una señal que se asigna al C - 5. Hacia campo mas bajo, en 149.5 ppm se presenta otra señal de un aromático ipso que debe corresponder al C - 3a y el C - 7 debido a la sustitución con el OH es la señal en 157.4 ppm. Finalmente se esperaba la señal del C=O en 171.2 ppm.

Estos resultados concuerdan con la estructura (phthalide) ya propuesta en la descripción del espectro de RMN 1H corroborandose también con el espectro de masas en donde se reporta un P.M de 150 (Espectro 4).

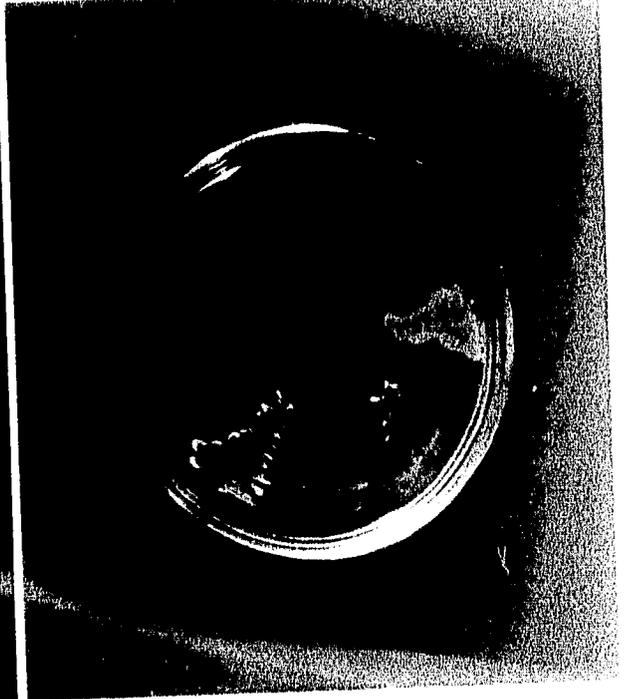
Constantes físicas y espectroscópicas de la 7-hidroxi (3H) isobenzofuranona.



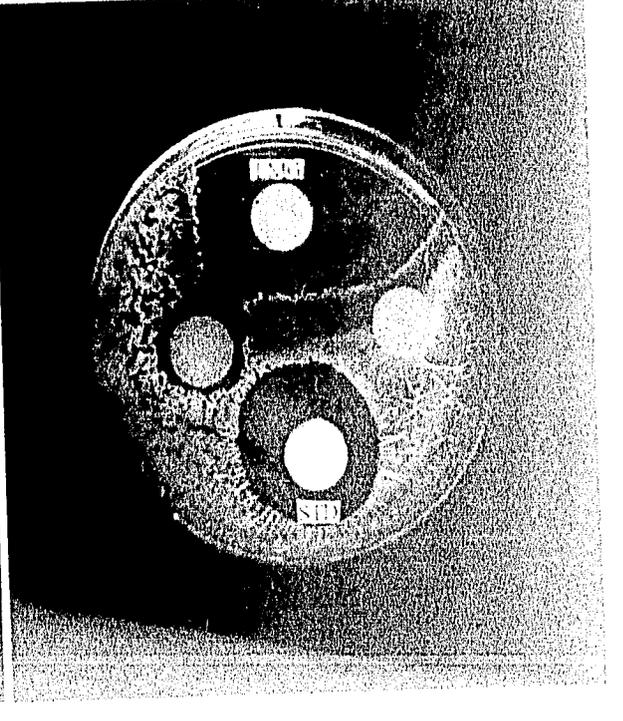
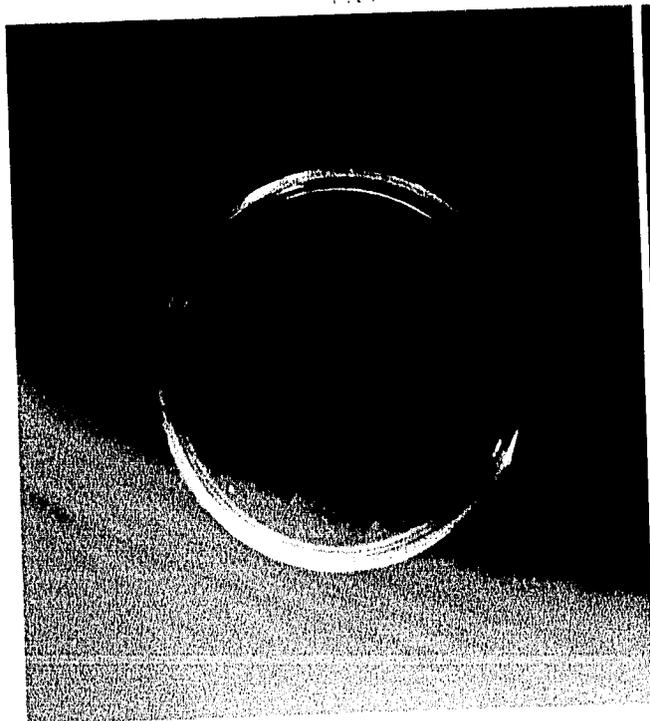
PF	135.5°C
U.V (EtOH) λ_{max}	359, 208 nm
IR (KBr) ν_{max}	3058, 3412, 1738, 1200, 3052, 1624, 780.
RMN ¹ H	δ 7.56 (1H, t, J=7.5 Hz) H-5, δ 7.09 (1H, dd, J=7.5, J=0.9 Hz) H-4, δ 6.95 (1H, dd, J=7.5, J=0.9 Hz) H-6, δ 5.33 (2H, s) H-3a,3b, δ 9.00 H-7.
RMN ¹³ C	δ 171.3 (s, C-1), δ 157.5 (s, C-7), δ 149.5 (s, C-3a), δ 137.2 (d, C-5), δ 116.0 (d, C-4), δ 114.2 (d, C-6), δ 112.1 (s, C-7a), δ 70.5 (t, C-3).
EM 70 eV M/z (% abundancia relativa)	150 (21.11%) M ⁺ , 121 (100%), 93 (30%), 77 (14.44%), 65 (95.5%), 51 (44.44%)



(a)



(b)

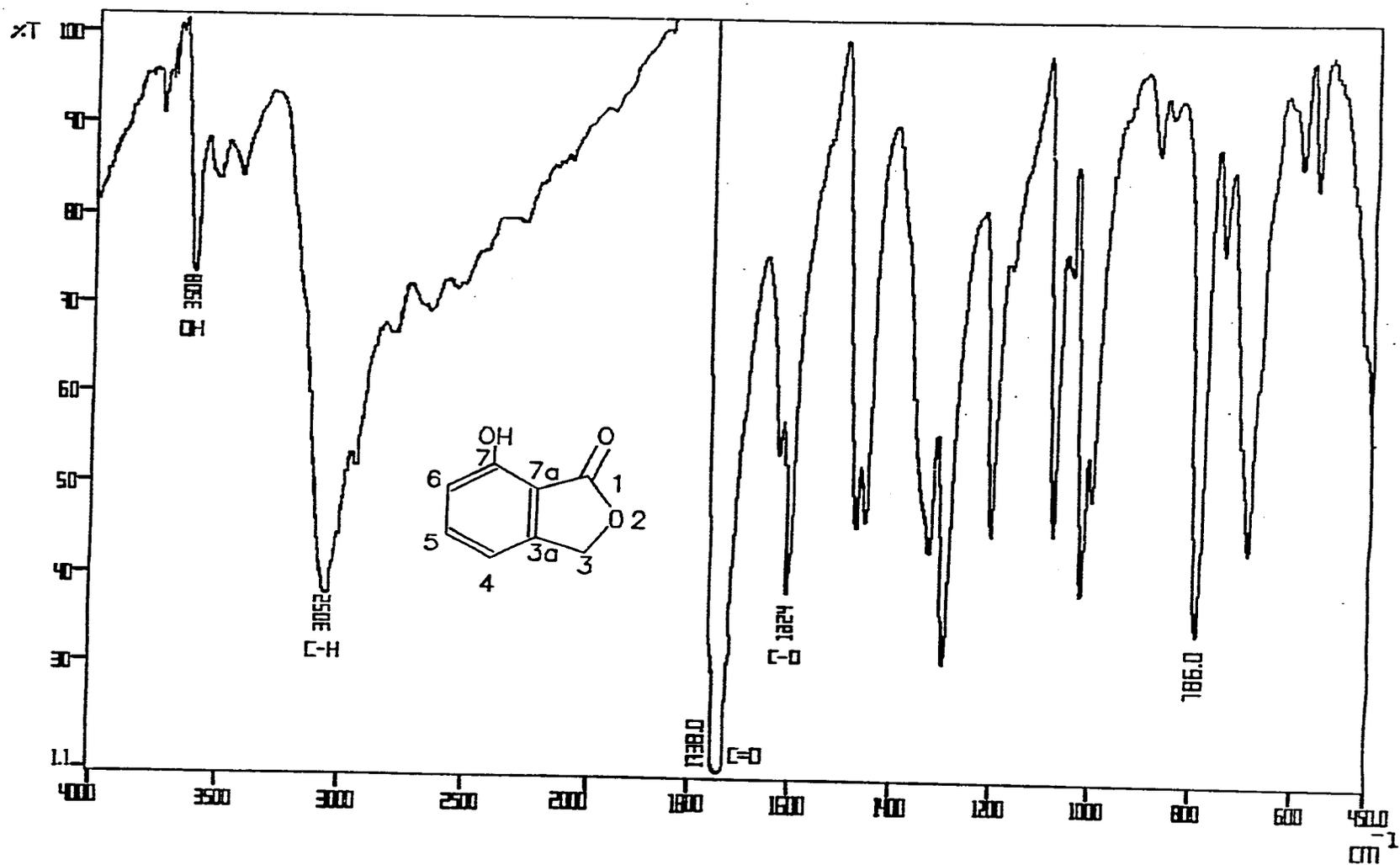


CONCLUSIONES

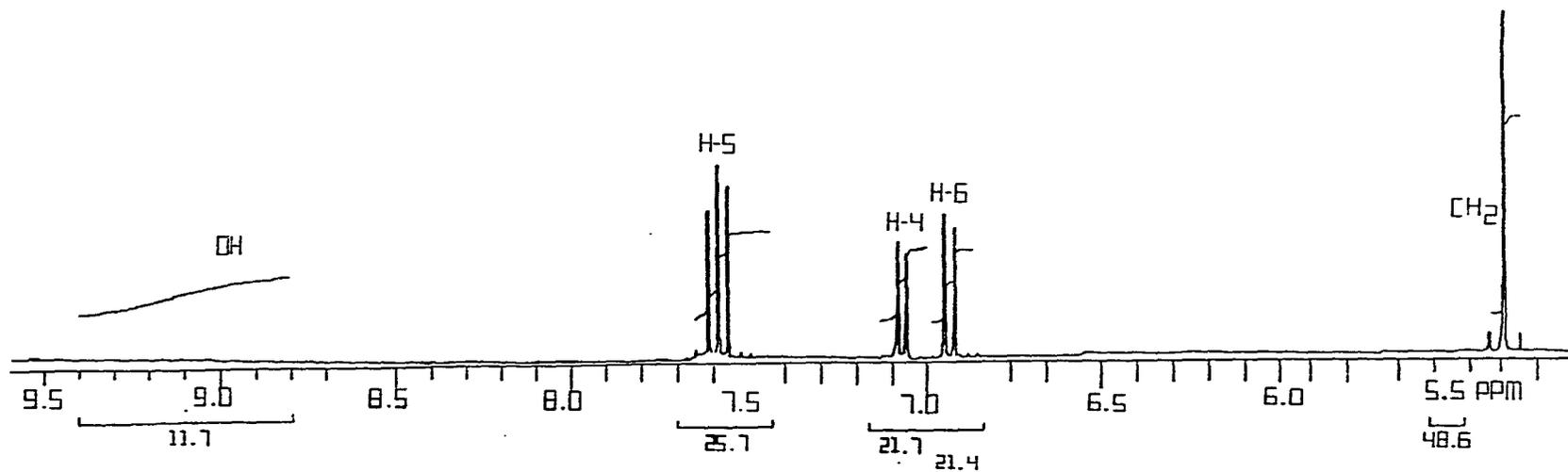
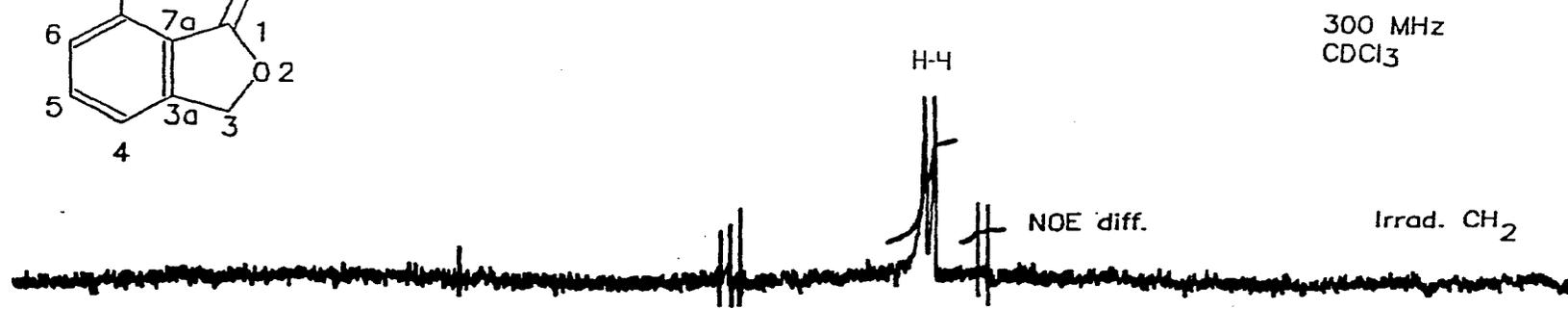
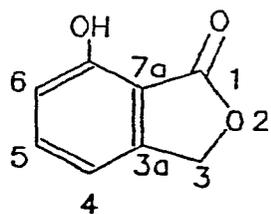
El estudio fitoquímico biodirigido de Thuis jovel (*Sisyrinchium scabrum*) propuesto como objetivo fundamental de la presente dicertación, permitiendo generar las siguientes conclusiones relacionadas con el metabolito secundario de esta planta medicinal.

- 1) La evaluación cualitativa de la actividad antimicrobiana del extracto clorofórmico de *Sisyrinchium scabrum* (Iridaceae) demostró una actividad inhibitoria significativa sobre bacterias gram positivas y gram negativas misma que se correlacionó mediante un procedimiento de aislamiento biodirigido del agente antimicrobiano de la 7 Hidroxi(3H) isobenzofuranona, el alto rendimiento de este metabolito secundario, justifica ampliamente las propiedades antisépticas demostradas por las infusiones con Thuis jovel (*Sisyrinchium scabrum*) en la medicina tradicional de nuestro país.
- 2) El fraccionamiento biodirigido del extracto total condujo al aislamiento y caracterización de la 7 Hidroxi(3H) isobenzofuranona como uno de los constituyentes mayoritarios responsables de la actividad antimicrobiana.
- 3) El bioensayo utilizado constituyó una metodología de fácil implementación que permitió obtener resultados en un tiempo relativamente corto y demostró una alta sensibilidad para el monitoreo del constituyente activo.

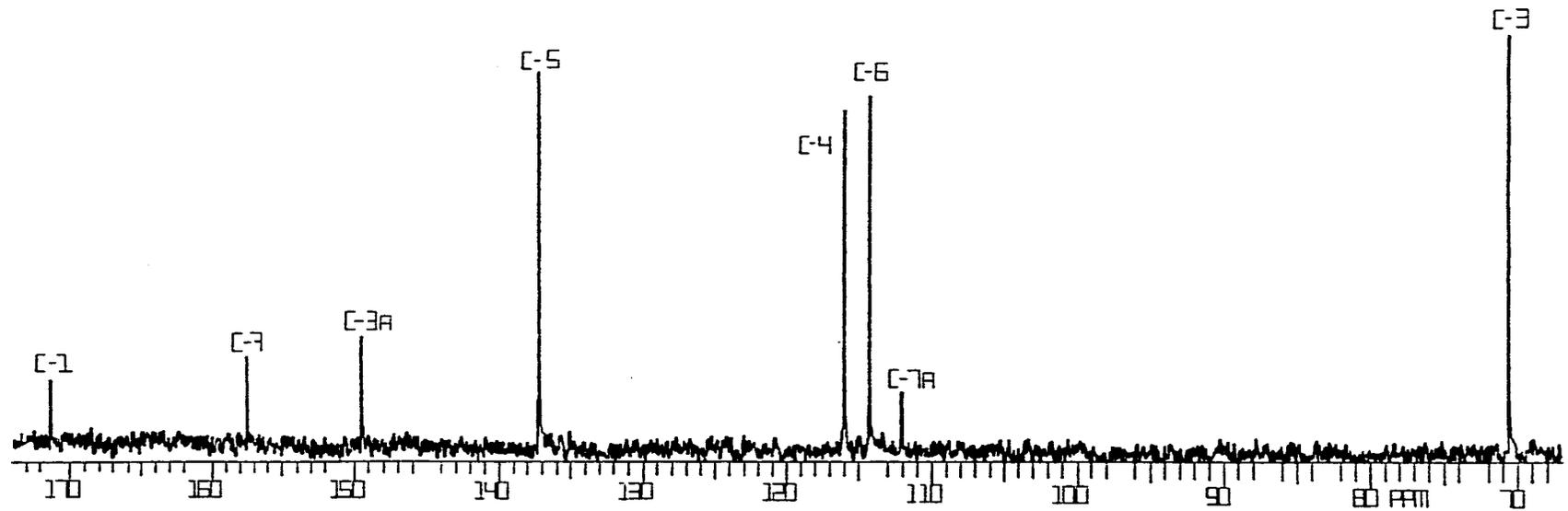
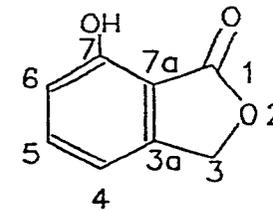
ESPECTROS



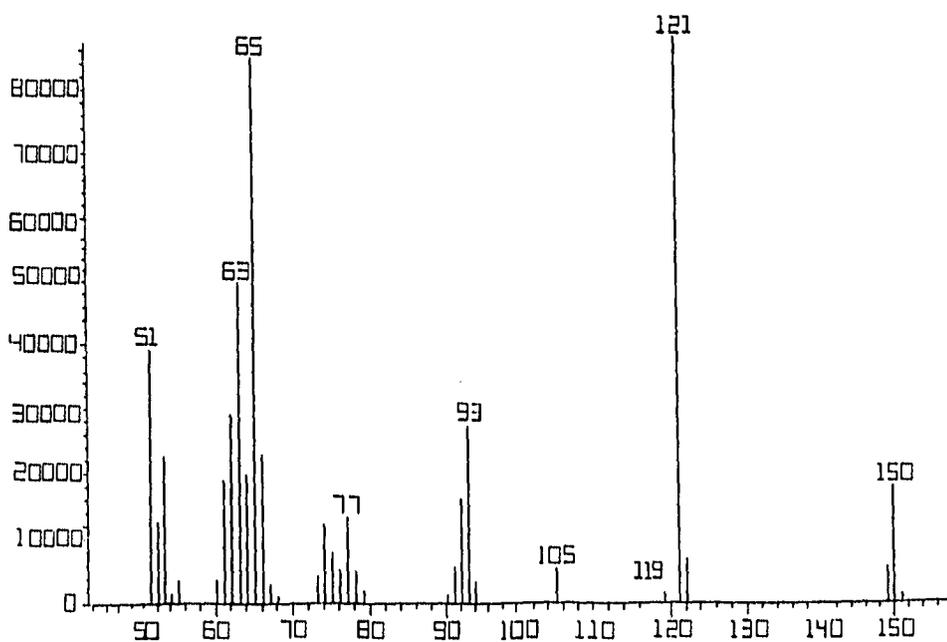
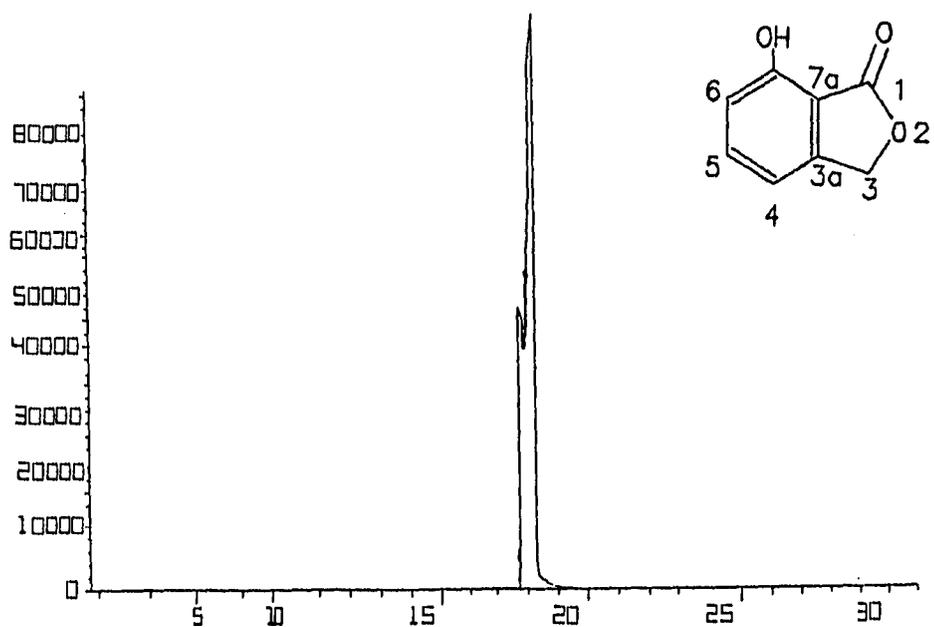
ESPECTRO 1: ESPECTRO DE INFRARROJO DE LA 7 HIDROXI (3H) ISOBENZOFURANONA



ESPECTRO 2: ESPECTRO DE RMN H DE LA 7 HIDROXI (3H) ISOBENZOFURANONA



ESPECTRO 3: ESPECTRO DE RMN ^{13}C DE LA 7 HIDROXI (3H) ISOBENZOFURANONA



ESPECTRO 4: ESPECTRO DE MASAS DE LA 7 HIDROXI (3H) ISOBENZOFURANONA

LITERATURA CITADA

Agarwal,U.K; Thapa, R.K; Agarwal, S.G; Dhar, K.L , 1984, Phenolic constituents of *Iris milessi* rhizomes. *Phytochemistry* 23 (6), p. 1342 -1343.

Ali A.A. El emary (1980) Two isoflavonoids from the fresh bulbs of *iris tingitana* p. 324 - 328

Arisawa, M; Morita N, 1976, Studies on constituents of genus *Iris*. The constituents of *Iris unguicularis* , *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 24 (4) , p.p 815 - 817.

Abe fumiko, Chen Rong Fu; Yamauchi tatsuo 1991, *Phytochemistry* vol .30 (10) 3379-3382 Iridals from *belamcada chinensis* and *Iris japonica* .

Ali A. A ; N.A; El emary M.a, El - moghazi; Fm Darwish and Aw Frahm 1983 , Three isoflavonoids from *Iris germanica*

Ballows Albert; *Manual of clinical microbiology*, quinta edición, 1991, p. 680 a 690 .

Blinova, K.F, Glyzin, U.I; Pryakhina, N.I, 1977, C- glicoside the from *Iris ensata*, *Khim. Prir. Soedin* 1, p.p 116.

Bate - Smith, E.C; J. Linn, Soc 1983 *Botánica*, p. 383.

Conacyt , 1976, Programa Nacional Indicativo de Ciencia y Tecnología., Conacyt , México, p.p 210.

C.A Williams , 1983, *Biochemistry, sistem ecol*, p.p 3229.

Clark, A.M; El - feraly F.S. and Wen - shyong L. 1981. Antimicrobial activity of phenolic constituents cof *Magnolia grandiflora* L. *J. Pharm, Sci* 70 p. 951

Davis , *Tratado de Microbiología* , 1978 Editorial : salvat p.p225,751,729,330,968,1018,891.

Dirección General de Estadística Sic. 1975. " Evaluación de la mortalidad infantil en la República Mexicana.

Domínguez , X.A (1979) , *Métodos de Investigación Fitoquímica*, De. Limusa, México, p. P 306 a 310.

Einary - EL N.A; Kobayashi; Og'hara (1980) Two isoflavonoids from the fresh bulbs of *Iris tingitana* p. 324 - 328

Emary- El , N.A, Ali, A.A, El - Moghazi, M.A parwish, F.M; Frahm, A.W, 1983 , Three isoflavonoids from *Iris germanica*, *Phytochemistry*, 22 (9) , p.p 2061- 2063.

Estrada Lugo E; *Plantas medicinales de México. Introducción a su estudio* Universidad Autónoma de Chapingo; cuarta edición.; 1992.

Fujinori Hawana; Tahare, Sattoxhi, Mizotani, Junya, 1991, Flavonoids produced by *Iris pseudocorus* leaves treated with cuoric chloride, *Phytochemistry* , 30 (7) , p.p 2197 - 2198.

Gujar G.T, *Fitoterapia* (1990) Vol. LXL. No 5 p.p 225 - 228.

Helbing, C.M.A, 1976, *Chiapas geografia de un Estado Mexicano* Tuxtla Gutiérrez Chiapas, Gobierno del estado de Chiapas, Tomo III.

Fujinori Hawana; Tahare, Sattoxhi, Mizotani, Junya, 1991, Flavonoids produced by *Iris pseudocorus* leaves treated with cuoric chloride, *Phytochemistry* , 30 (7) , p.p 2197 - 2198.

- Harbone J.B (1984) Phytochemical methods, De, John wiley, U.S.A, p.p 114.
- Harborne J.B, C.A. Williams, K. Wilson, 1985, Phytochemistry, 24, p.p 751.
- Harbone J.B, 1967 , Comparative Biochemistry of the flavonoids, Academic Press, London.
- Holland, R. William, 1989, Medicina Maya en los Altos de Chiapas un Estudio del cambio socio cultural, Instituto Nacional Indigenista (INI), 2a reimpression, México, D. F.
- Jawetz E; Melnick J; Adelberg 1992; Manual de Microbiología Médica; sexta edición; editorial: El manual moderno.
- Khalil - Als; Eisawi - Al ; Masaya Kato; Munkazo L; 1994 , New isoflavonoles from *Iris nigricans*; Nat, prod. 57(2), p. 201 a 205.
- Kumar V., K. M. Meepegala and S. Bala subramaniam, 1985, Phytochemistry , p.p 24.
- Kamura H; Mizukawa K; Minakata H; Huang Huizhu; Guowei Quin and Rensheng Xu, 1983 , chem, Pharm.Bull vol 31 (11) p.p 4206 - 4208 .
- Kartnig T., Still F; and Reinthaler F 1991; Antibacterial activity of the essential oils: a 1976 - 1986 literatura review. Aspects of the test methods. Planta Medica p. 395- 398.
- L.X.Xue and J.M. Edwards, 1980, Planta Med, 39, p.p 220.
- Linton A:H 1983; Theory of antibiotic, inhibition zone formation disc sensitivity methods and Min determinations of antibiotics assersment of antimicrobial activity and resistance, Editorial academic press N.Y, p. 19 - 31.
- Meckes Mariana ,1993, La investigación científica de la herbolaria mexicana, p.p 69 - 73.
- Mitscher A. L ;Ruey - PinLeu, Moahindar S; Bathala Wu - Nanwu and Jack L. Beal and Roger White (1972) Antibiotic agents from higher plants, introduction, rationale and methodology Lloydia, 35 (2) , p.p 157 - 166.
- Morley, Sylvanus., 1956, The ancient Maya, Stanford California, Stanford university press.
- Momer, F.J, Krick, W. Gellrich, B. Joenicke, L. Winter,, 1982, Irigermanal and iridogermanal, two news triterpenoids from rhizomes of *Iris germanica* L , Journal of organic chemistry 47 (13), p.p 2531 - 2536.
- Meyer, B:H, Ferringi, N.R, Putnam. J.E, Jacobsen L.B, Nichols. D.E, Mc Laughlin. J.L, 1982, A convenient general bioassay for active plant constituents, Plantas Médica, 45, p.p 31 - 34.
- Nasr A; Emary - El; Yoshimasa Kobaayashi and Yukio ogihara; two isoflavonoids from fresh bulbs of *Iris tingitana*, Phytochemistry 1980 vol. 19, p. 1878 - 1879.
- Pryakhina. N.I, Sheichenko, Blinova. K.F , 1984, Acylated C- glucosides of *Iris lactea* Kim., Prir. Soendins, p.p 589 - 595.
- Plan Chiapas, 1979 - 1982, Comite promotor del desarrollo económico del Estado.
- Programa de desarrollo social en los Altos de Chiapas, situación actual de los 21 municipios . Indicadores por municipio, 1960 - 1970.
- Programa de desarrollo de la economía campesina en los Altos de Chiapas, expediente técnico , 1960 - 1970.
- R.H.Thomson; Chemistry and biochemistry of plant pigments, segunda edición 1976.
- Rzedowski y Rzedowski. Flora fanerogámica del valle de México. Vol. III. Editado por jerzy Rzedowski y graciela C. De Rzedowski. Instituto de Ecología. Centro regional del bajo. Pátzcuaro Mich. 1990. 1a impresión.

- Sanchez. O, 1985, Flora del valle de México p.p 10 - 113.
- Silverts H. 1969 " Oxchuck una tribu Maya de México; bergan, Oslo University test- folaget.
- Shawl AS: 1993 Pieccid a Stilbene glucoside from the rizomes of *Iris hokeriana*, Indian Journal of pharmacology Sciences, p. 197-198.
- Ulrich. K, 1975, Cambio cultural dirigido en los Altos de Chiapas , un estudio sobre la antropología social aplicada, INI - Sep, la edición, México.
- Viabilidad en los Altos de Chiapas como región dentro del programa de inversiones públicas para el desarrollo rural, Secretaría de programación y presupuesto delegación en el estado de Chiapas (Doc 1 y 2).
- Wu, Y.Xu; Xu, L.X, 1992, Analysis of isoflavones in *Belamcanda Chinesis* and *Iris tectorum Maxim.*, Pharmaceutical Journal, vol. 27 (1) , p.p 64 - 68.
- Wong S.M, Pezzuto J.M, Harry, H.S, Farnsworth N.R, 1986, Isolation and characterization of new triterpene from *Iris missouriensis*, Journal of natural products 49 (2) p.p 330 - 333.
- WTang, G. Eisenbrand, 1992, Chinese Drugs of plant origin, p.p 395, 479.