



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS

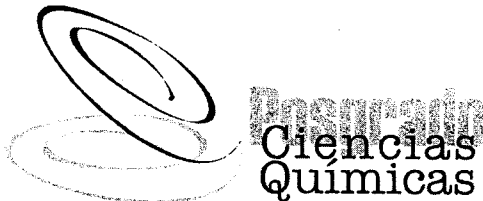
“ EFECTO ANTAGONISTA DE *Tanacetum parthenium* SOBRE LAS
CONTRACCIONES INDUCIDAS POR SEROTONINA Y FENILEFRINA EN
AORTA DE RATA E IDENTIFICACIÓN DE SUS COMPONENTES ACTIVOS ”

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.F.B. LETICIA GARCÍA DE LA CRUZ



TUTOR: DR. ANDRÉS NAVARRETE CASTRO AÑO: 2007



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: Dr. Alfonso Romo de Vivar Romo
Vocal: Dr. Enrique Hong Chong
Secretario: Dra. Rachel Mata Essayag
Primer Suplente: Dr. Marco Antonio Cerbón Cervantes
Segundo Suplente: Dr. Ricardo Reyes Chilpa

Sitio donde se desarrolló el trabajo:

Laboratorio 126 del conjunto "E". Departamento de Farmacia Facultad de Química. UNAM.

Asesor: Dr. Andrés Navarrete Castro.

Sustentante: Q.F.B. Leticia García de la Cruz.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través de la beca otorgada para la realización de mis estudios de maestría. Registro Número 195783.

Al CONACYT por el apoyo financiero a través del proyecto 4123-M, al Programa de Apoyo a la Investigación y al Posgrado (PAIP) por medio del proyecto 6390-18 y a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) con el proyecto IN201506.

A la Maestra Ernestina Cedillo Portugal, por la clasificación de la planta objeto este estudio.

A la Q. Georgina Lisci de la USAI, Facultad de Química de la UNAM, por el registro de los espectros de masas.

Al Dr. Andrés Navarrete Castro por su conocimiento y experiencia en la realización de este proyecto.

ÍNDICE

RESUMEN.....	I
ABSTRACT.....	III
LISTA DE ABREVIATURAS.....	IV
LISTA DE CUADROS.....	V
LISTA DE GRÁFICAS.....	VI
LISTA DE FIGURAS.....	VIII
INTRODUCCIÓN.....	1
I FUNDAMENTO TEÓRICO.....	3
1.1 Migraña.....	3
1.1.1 Características.....	3
1.1.2 Teorías de la migraña.....	4
1.1.3 Tratamiento.....	6
1.1.4 Tratamiento agudo.....	7
1.1.5 Tratamiento profiláctico.....	8
1.1.6 Uso de las plantas medicinales.....	11
1.2 Respuesta vascular y migraña.....	11
1.2.1 Mediadores químicos de los vasos cerebrales.....	11
1.2.2 Serotonina (5-hidroxitriptamina).....	13
2 Antecedentes sobre <i>Tanacetum parthenium</i>	15
2.1 Antecedentes botánicos y etnobotánicos.....	15
2.2 Composición química.....	17
2.3 Actividad biológica.....	30
2.3.1 Estudios clínicos.....	30
2.3.2 Inhibición de la síntesis de las prostaglandinas.....	31
2.3.3 Inhibición de la liberación de serotonina.....	31
2.3.4 Bloqueo de la corriente de potasio dependiente de voltaje.....	32
2.3.5 Inhibición de 5-lipo-oxigenasa y ciclo-oxigenasa en leucocitos.....	32
2.3.6 Actividad de compuestos aislados de <i>Tanacetum parthenium</i> en la liberación de liberación de histamina en células de rata.....	33

2.3.7 Otros estudios.....	33
II PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	35
III HIPOTESIS.....	36
IV OBJETIVOS.....	37
V MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
5.1 Material vegetal.....	38
5.2 Preparación del extracto de diclorometano.....	38
5.3 Obtención del aceite esencial.....	38
5.4 Animales.....	39
5.5 Fármacos y sustancias.....	39
5.6 Identificación de compuestos.....	39
5.7 Ensayo biológico.....	40
5.7.1 Disección de la aorta torácica y montaje de la preparación.....	40
5.7.2 Estabilidad de la preparación.....	41
5.7.3 Actividad inhibitoria de las contracciones inducidas por serotonina.....	41
5.7.4 Actividad inhibitoria de las contracciones inducidas por fenilefrina.....	43
5.7.5 Efecto de los compuestos α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno sobre la aorta contraída con serotonina.....	43
5.7.6 Efecto de los compuestos α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno sobre la aorta contraída con fenilefrina.....	44
5.7.7 Análisis estadístico y cálculo de pA_2	44
VI RESULTADOS	46
VII DISCUSION.....	69
VIII CONCLUSIONES.....	77
IX PERSPECTIVAS.....	78
X BIBLIOGRAFÍA.....	79
XI ANEXO.....	89

LISTA DE ABREVIATURAS

- ADP:** Adenosina difosfato.
- ATP:** Adenosina trifosfato.
- AMP:** Adenosina monofosfato.
- AMPc:** Adenosina monofosfato cíclico.
- ATP:** Adenina trifosfato.
- CGRP:** Péptido relacionado con el gen de la calcitonina.
- CCK:** Colecistoquinina.
- CG-EM:** Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.
- GMP:** Guanosina monofosfato.
- GMPc:** Guanosina monofosfato cíclico.
- COX:** Ciclooxygenasa.
- GTP:** Guanosina trifosfato.
- 5-HT:** 5-hidroxitriptamina.
- EEM:** Error estándar de la media.
- FRDE:** Factor de Relajación Derivado del Endotelio.
- LT:** Leucotrienos.
- m/z:** Relación masa/carga.
- NO:** Oxido nítrico.
- NPY:** Neuropeptido Y.
- PACAP:** Péptido activador pituitario adenilato-ciclase.
- PAF:** Factor activador de plaquetas.
- PGE:** Prostaglandina.
- PGI₂:** Prostaciclina.
- PHI:** Péptido histidina isoleucina.
- PKA:** Proteína cinasa A.
- PMN:** Polimorfonucleares.
- TR:** Tiempo de Retención.
- TX:** Tromboxano.
- VIP:** Peptido vasoactivo intestinal.
- VP:** Vasopresina.

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Lactonas sesquiterpénicas del tipo germacranólida presentes en <i>T. parthenium</i>	19
Cuadro 2. Lactonas sesquiterpénicas del tipo guayanólida presentes en <i>T. parthenium</i>	20
Cuadro 3. Lactonas sesquiterpénicas del tipo eudesmano presentes en <i>T. parthenium</i>	23
Cuadro 4. Cumarinas presentes en <i>T. parthenium</i>	23
Cuadro 5. Flavonoides presentes en <i>T. parthenium</i>	24
Cuadro 6. Terpenoides presentes en <i>T. parthenium</i>	25
Cuadro 7. Rendimientos en los extractos de diclorometano de <i>T. parthenium</i>	39
Cuadro 8. Composición del aceite esencial y del extracto de diclorometano de planta fresca de <i>T. parthenium</i> (en porcentaje).....	53
Cuadro 9. Parámetros de estudio por CG-EM de los compuestos de <i>T. parthenium</i>	55
Cuadro 10. Valores de potencia antagonista no competitivo (pA_2).....	64

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Curva concentración-respuesta de serotonina para evaluar la estabilidad de la preparación.....	47
Gráfica 2. Curva concentración-respuesta del efecto inhibitorio del extracto de diclorometano de diferentes localidades a la respuesta contráctil inducida por serotonina.....	48
Gráfica 3. Curva concentración-respuesta del efecto inhibitorio del extracto de diclorometano a la respuesta contráctil inducida por serotonina.....	48
Gráfica 4. Curva concentración-respuesta del efecto inhibitorio del aceite esencial a la respuesta contráctil inducida por serotonina.....	49
Gráfica 5. Curva concentración-respuesta de fenilefrina para evaluar la estabilidad de la preparación.....	50
Gráfica 6: Curva concentración-respuesta del efecto inhibitorio del aceite esencial y extracto de diclorometano a la respuesta contráctil producida por fenilefrina.....	52
Gráfica 7: Curva concentración-respuesta del efecto inhibitorio del extracto de diclorometano a la respuesta contráctil producida por fenilefrina.....	52
Gráfica 8: Curva concentración-respuesta del efecto inhibitorio del isoborneol, cariofileno, alcanfor y del extracto de diclorometano a la respuesta contráctil producida por serotonina.....	59
Gráfica 9: Curva concentración-respuesta del efecto inhibitorio del isoborneol, cariofileno, alcanfor y del extracto de diclorometano a la respuesta contráctil producida por fenilefrina.....	60
Gráfica 10: Curva concentración-respuesta del efecto inhibitorio del α -terpineno a la respuesta contráctil producida por serotonina.....	60
Gráfica 11: Curva concentración-respuesta del efecto inhibitorio del γ -terpineno a la respuesta contráctil producida por serotonina.....	61
Gráfica 12: Curva concentración-respuesta del efecto inhibitorio del α -pineno a la respuesta contráctil producida por serotonina.....	61
Gráfica 13: Curva concentración-respuesta del efecto inhibitorio del β -pineno	

a la respuesta contráctil producida por serotonina.....	62
Gráfica 14: Curva concentración–respuesta del efecto inhibitorio del α -terpineno a la respuesta contráctil producida por fenilefrina.....	62
Gráfica 15: Curva concentración–respuesta del efecto inhibitorio del γ -terpineno a la respuesta contráctil producida por fenilefrina.....	63
Gráfica 16: Curva concentración–respuesta del efecto inhibitorio del α -pineno y β -pineno a la respuesta contráctil producida por fenilefrina.....	63
Gráfica 17: Gráfica del cálculo de pA_2 . Agonista serotonina.....	65
Gráfica 18: Gráfica del cálculo de pA_2 . Agonista fenilefrina.....	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de <i>T. parthenium</i>	15
Figura 2. <i>T. parthenium</i> (Santa María).....	16
Figura 3. Registro de concentración-respuesta acumulativa de serotonina a concentraciones molares de 10^{-7} a 3×10^{-5} ; en la aorta de rata.....	42
Figura 4. Registro de concentración-respuesta acumulativa de fenilefrina a concentraciones molares de 10^{-11} a 10^{-5} , en la aorta de rata.....	43
Figura 5. Gráfica utilizada para el cálculo de pA_2	45
Figura 6. Registro de concentración-respuesta acumulativa de serotonina para evaluar la estabilidad de las preparaciones.....	46
Figura 7. Registro de concentración-respuesta acumulativa de fenilefrina para evaluar la estabilidad de las preparaciones.....	50
Figura 8. Cromatograma de gases del aceite esencial originario de Oaxaca.....	56
Figura 9. Cromatograma de gases del aceite esencial originario de Tulyehualco.....	56
Figura 10. Cromatograma de gases del extracto de diclorometano originario del mercado de Sonora.....	57
Figura 11. Cromatograma de gases del extracto de diclorometano originario de Oaxaca.....	57
Figura 12. Cromatograma de gases del extracto de diclorometano originario de Tulyehualco.....	58
Figura 13. Trazos del polígrafo, en donde se observa la contracción provocada por serotonina 3×10^{-5} M, en presencia de los compuestos α -pineno, β -pineno α -terpineno y γ -terpineno,	66
Figura 14. Trazos del polígrafo, en donde se observa la contracción provocada por 150 μ g/mL de los compuestos α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno, en presencia de serotonina 3×10^{-5} M.....	67
Figura 15. Trazos del polígrafo, en donde se observa la contracción provocada por fenilefrina 10^{-5} M, en presencia de los compuestos α -pineno, β -	

pineno, α -terpineno y γ -terpineno.....	67
Figura 16. Trazos del polígrafo, en donde se observa la contracción provocada por 150 μ g/mL de los compuestos α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno en presencia de fenilefrina 10^{-5} M.....	68
Figura 17. Trazos del polígrafo, en donde se observa el efecto del vehículo Tween 80 sobre las contracciones provocadas por serotonina 3×10^{-5} M y fenilefrina 10^{-5} M.....	68
Figura 18. Espectro de masas obtenido por impacto electrónico de los compuestos identificados en las muestras <i>T. parthenium</i> . Alcanfor y camfeno.....	90
Figura 19. Espectro de masas obtenido por impacto electrónico de los compuestos identificados en las muestras <i>T. parthenium</i> . α -pineno y β -pineno.....	91
Figura 20. Espectro de masas obtenido por impacto electrónico de los compuestos identificados en las muestras <i>T. parthenium</i> . Cariofileno e isoborneol.....	92
Figura 21. Espectro de masas obtenido por impacto electrónico de los compuestos identificados en las muestras <i>T. parthenium</i> . α -terpineno y γ -terpineno.....	93
Figura 22. Espectro de masas obtenido por impacto electrónico de los compuestos identificados en las muestras <i>T. parthenium</i> . Acetato de crisantenilo y triciclina.....	94
Figura 23. Espectro de masas obtenido por impacto electrónico de los compuestos identificados en las muestras <i>T. parthenium</i> . 4-terpineol y limoneno.....	95
Figura 24. Espectro de masas obtenido por impacto electrónico de los compuestos identificados en las muestras <i>T. parthenium</i> . o-cimeno y germacreno D.....	96

RESUMEN

Tanacetum parthenium (L.) Sch.Bip. (Asteraceae) es una planta medicinal que se emplea en varias partes del mundo como agente profiláctico de la migraña. En México se conoce como Santa María. Algunos investigadores sugieren que las poblaciones que crecen en México difieren en su composición química y en su actividad biológica, respecto de otras de la misma especie que crecen en otras regiones. Con el propósito de investigar los efectos sobre la función vascular de los ejemplares de México, en el presente trabajo se realizó el estudio del efecto antagonista del aceite esencial y del extracto de diclorometano de *T. parthenium* sobre las contracciones inducidas por serotonina y fenilefrina en aorta de rata, así como también la identificación de sus componentes activos. El extracto de diclorometano preparado con las partes aéreas frescas de *T. parthenium*, proveniente de distintas localidades, inhibió las contracciones inducidas tanto por serotonina como por fenilefrina, mientras que el aceite esencial sólo inhibió las contracciones inducidas por serotonina. La inhibición fue dependiente de la concentración y de tipo no competitivo. El alcanfor, el acetato de crisantenilo, el α -pineno, el β -pineno, el α -terpineno, el γ -terpineno, el cariofileno y el isoborneol, se identificaron por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, como compuestos comunes en el aceite esencial y en el extracto de diclorometano. La evaluación de algunos de estos compuestos, en el mismo modelo, permitió establecer que el α -terpineno y el γ -terpineno inhiben las contracciones inducidas por serotonina y por fenilefrina, en tanto que el α -pineno y el β -pineno, inhibieron únicamente las contracciones inducidas por serotonina. Los otros compuestos no presentaron actividad en este modelo. También se encontró que los compuestos α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno provocan una contracción adicional en la aorta pre-contraída con fenilefrina, pero no sobre la aorta pre-contraída con serotonina, lo cual indica que estos compuestos pueden estar actuando como agonistas parciales sobre los receptores serotoninérgicos, pero no sobre los receptores α -adrenérgicos. Cabe mencionar que este trabajo es la primera evidencia experimental de que los monoterpenos α -

pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno actúan como inhibidores de las contracciones inducidas por serotonina y por fenilefrina. También es el primer informe donde se reporta que en *T. parthenium* existen principios activos de naturaleza monoterpénica con la capacidad de inhibir las contracciones inducidas en el músculo liso vascular de la rata.

ABSTRACT

Tanacetum parthenium (L.) Sch.Bip. (Asteraceae) is a common garden plant that has been shown to be of value in migraine prophylaxis. In Mexico this plant is commonly known as Santa María. It has been reported that *T. parthenium* grown in Mexico possesses different physiological activity and chemical composition that species cultivated in other geographic region. In order to investigate the effects on the vascular function of the mexican specimens it was studied the antagonistic effect of dichloromethane extract and essential oil prepared from fresh aerial parts of *T. parthenium* on contractile responses of rat aortic rings stimulated by phenylephrine or 5-hydroxytryptamine (5-HT). The composition of the samples collected in different locations in Mexico was also investigated using CG-MS. A dichloromethane extract caused inhibition of the phenylephrine - or 5-HT -, induced contraction, but the essential oil only inhibited the contraction elicited by 5-HT. The inhibitory effects were concentration dependent in a non-competitive manner. Camphor, caryophyllene, Isoborneol, α -pinene, β -pinene, α -terpinene and γ -terpinene were identified as common compounds of the extract and essential oil, and were evaluated as inhibitors of the phenylephrine - and 5-HT - induced contractions. The monoterpenes α -terpinene and γ -terpinene inhibited the phenylephrine - and 5-HT -induced contractions while α -pinene and β -pinene only inhibited the 5-HT induced contractions. The other compounds did not show activity in rat aortic. Also these monoterpenes showed an additional contraction on aortic rings pre-contracted with phenylephrine but not those induced by 5-HT, suggesting that these compounds can be partial agonists on 5-HT receptors but not on adrenergic receptors. This work provides the first experimental evidence of antagonistic effects of these monoterpenes on the phenylephrine - and 5-HT - induced contractions in rat aortic rings. In addition, this work described for the first time that some active compounds of *T. parthenium* are monoterpenes.

INTRODUCCIÓN

La migraña es una enfermedad que tiene una prevalencia del 10 al 20 % de la población mundial (Lipton y Bigal, 2005), afectando principalmente a personas jóvenes. El tratamiento terapéutico de esta enfermedad incluye una serie de fármacos, así como también algunas plantas medicinales, entre las que destaca *T. parthenium*, conocida en México como Santa María. Otros usos que se le dan a esta planta medicinal son como antipirético, para aliviar los dolores menstruales, el asma y la artritis (Foster, 1991).

La serotonina, también llamada 5-hidroxitriptamina (5-HT) es una de las sustancias endógenas que esta a la vanguardia en la investigación de la migraña (Blau, 1992; Edvinsson y Uddman, 2005). El importante papel que juega la serotonina en la fisiopatología de la migraña, se hace evidente si se toma en consideración, que existe un incremento de sus metabolitos en la orina (ácido 5-hidroxiindolacético) de pacientes que sufren de migraña. Por otro lado, diversos fármacos que se utilizan para aliviar los síntomas característicos de la migraña, son activos sobre sistemas serotoninérgicos (Flórez, 2004).

Estudios realizados al extracto clorofórmico de hojas frescas de *T. parthenium* demostraron que inhibe las contracciones inducidas por fenilefrina, serotonina, tromboxano U46619 y angiotensina II en anillos de aorta de conejo. Esta inhibición es dependiente del tiempo y la concentración, y es de tipo no competitiva e irreversible en preparaciones con y sin endotelio. El extracto de igual forma causó una pérdida progresiva del tono en anillos de aorta contraídos (Barsby *et al.*, 1992).

La actividad biológica, la composición química y los efectos a nivel clínico de *T. parthenium* han sido ampliamente estudiados (Abad *et al.*, 1995; Knight 1995; Vogler *et al.*, 1998). El compuesto al que se le ha conferido la actividad biológica es la partenólida, una lactona sesquiterpénica, (Heptinstall *et al.*, 1987);

por otro lado la planta que crece en México no contiene este compuesto o lo contiene en concentraciones muy bajas (Avula *et al.*, 2006). Algunos autores postulan la existencia de otros compuestos que le confieren la actividad biológica a esta planta (Béjar, 1996; Weerdt *et al.*, 1996).

Otros estudios demuestran que el extracto de diclorometano de la planta fresca presenta actividad vasorelajante en anillos de aorta de rata (Mezquita, 2000) y que el extracto de diclorometano de la planta fresca y el aceite esencial de *T. parthenium* que crece en México, inhiben las contracciones inducidas por serotonina, este efecto es de tipo no competitivo y dependiente de la concentración (Medina, 2002). Sin embargo no se conoce que compuesto(s) le confiere(n) la actividad biológica a *T. parthenium* que crece en México, hecho que motivó la realización del presente trabajo.

I FUNDAMENTO TEÓRICO

1.1 Migraña

1.1.1 Características

El término *migraña* deriva del término hemicrania que Galeno utilizó para describir un trastorno periódico caracterizado por episodios de intenso dolor hemicraneal paroxístico, vómitos, fotofobia, recurrencia con intervalos regulares y alivio mediante la oscuridad ambiental y el sueño (Raskin, 1990). El término hemicrania se transformó al latín hemicraneia y migranea, finalmente, en el siglo XVIII ganó aceptación la palabra francesa migraine, generalizándose su uso hasta nuestros días (Aldrete, 2005).

La migraña es una enfermedad que afecta del 10 al 20 % de la población mundial y es de mayor frecuencia entre personas de 25 y 55 años de edad (Arulmozhi *et al.*, 2005). La migraña aparentemente es un desorden global, que se presenta en todas las razas y culturas. Actualmente se tienen reportes de que el 15-18% de las mujeres y el 6% de los hombres padecen esta enfermedad y este número esta en ascenso (Lipton y Bigal, 2005). Además existe una predisposición hereditaria para sufrir migrañas y los fenómenos circulatorios craneales que caracterizan las crisis de migraña parecen ser secundarios a un trastorno primario del sistema nervioso central (Arulmozhi *et al.*, 2005).

Siguiendo la clasificación de la Internacional Headache Society (IHS), la migraña se puede definir como un desorden caracterizado por dolores de cabeza recurrentes combinados con nauseas, fotofobia y/o fonofobia (Limmroth y Michel, 2001). Esta misma institución publicó la clasificación y los criterios para el diagnóstico de esta enfermedad (Internacional Headache Society, 2004).

La primera fase de la migraña es la prodrómica, la cual ocurre en aproximadamente el 60 % de los pacientes con migraña. En esta fase se manifiestan síntomas psicológicos, neurológicos o constitucionales, horas o días

antes de que se presente el dolor de cabeza (Saper, 1997). La segunda fase es el aura, anteriormente a la migraña con aura se le conocía bajo el nombre de migraña clásica (Internacional Headache Society, 2004). Se presenta en aproximadamente el 20% de los pacientes y se caracteriza por síntomas visuales, sensoriales o motores antes o durante el dolor de cabeza. Estos síntomas duran menos de una hora. La tercera fase es el dolor de cabeza como tal, el cual puede ser de moderado a severo y es frecuentemente unilateral y punzante. Puede estar acompañado por anorexia, vómito, fotofobia, fonofobia, osmofobia y síntomas constitucionales. El dolor se incrementa por el ejercicio físico, los pacientes suelen buscar un lugar tranquilo y oscuro. La última fase, la posdrómica, ocurre después del dolor de cabeza y está caracterizado por malestares gastrointestinales y cambios de humor (Saper, 1997; Lobo, 1999; Arulmani *et al.*, 2005).

Hay pocos factores causales que expliquen o que se puedan identificar como desencadenantes de la migraña, sin embargo, en un estudio realizado a 30 individuos reveló que en una tercera parte factores psicológicos desencadenaron el primer ataque, principalmente el estrés provocado por circunstancias personales o por factores ambientales. Otra tercera parte la atribuye a factores físicos que incluyen alimentos (chocolate, queso, café, frutas cítricas), cambios hormonales, alergias, entre otros. El 33% restante atribuyó los ataques a ambos (Blau, 1992; Arulmani *et al.*, 2005).

1.1.2 Teorías de la migraña

Existen teorías que intentan explicar los mecanismos que producen la migraña sin embargo no son convincentes, pues no explican exactamente los síntomas, su complejidad y en especial su lento desarrollo. Hay tres principales teorías que la pueden explicar: la vascular, la química y la neural (Blau, 1992).

La teoría vascular comienza con visiones diametrales opuesta, algunos trabajos favorecen la vasoconstricción y otros la vasodilatación. Se postula que los

ataques comienzan con la vasoconstricción, produciendo el aura, seguido por la vasodilatación para explicar las pulsaciones en el dolor de cabeza. Se ha demostrado que la administración de ergotamina, reduce la amplitud de la pulsación de la arteria temporal en los pacientes con cefalea y que este efecto a menudo, pero no constantemente se asociaba a una reducción del dolor. La medición del flujo de sangre en el cerebro podría explicar este hecho, sin embargo, después de 25 años los resultados permanecen contradictorios (Blau, 1992; Arulmozhi *et al.*, 2005).

La teoría neuronal plantea que la migraña es el resultado de la depresión difusa extensiva de la actividad eléctrica ("*depresión difusa de Leao*"). Se trata de un fenómeno eléctrico observado en animales de experimentación, que se produce en la corteza cerebral por acción ante estímulos nocivos. Ocurre reducción focal de la actividad eléctrica e incremento del flujo sanguíneo, y a continuación extensión (difusión) de estos fenómenos a través del hemisferio, a un ritmo de 2 a 3 mm/min (Blau, 1992; Arulmozhi *et al.*, 2005).

La teoría química plantea que de acuerdo a estudios realizados en las dos últimas décadas acerca de la regulación del tono de los vasos sanguíneos cerebrales, se ha encontrado que son una serie de mediadores químicos los que relajan, contraen o modifican la permeabilidad y funciones de los vasos cerebrales. Estos mediadores son derivados del sistema simpático, parasimpático y de nervios sensoriales que inervan los vasos cerebrales así como factores humorales (Feuerstein y Miller, 1997).

Hoy en día, para una mejor comprensión de los fenómenos implicados en la génesis de la migraña, es útil considerarla como una alteración primaria del cerebro que produce dilatación vascular, generando dolor (Arulmozhi *et al.*, 2005). La fisiopatología de la migraña involucra la activación del nervio trigémino, causando cambios en los vasos sanguíneos cerebrales. La activación del nervio trigémino, origina la liberación del péptido relacionado con el gen de la calcitonina

(CGRP), el cual provoca una potente vasorelajación (Edvisson, 2004; Arulmani *et al.*, 2005). La activación de los receptores CGRP va acompañado de la activación de la adenilato ciclasa, causando un incremento del AMPc intracelular. Este último activa a la proteína cinasa A (PKA), generando la apertura de canales de K⁺ y la disminución de Ca²⁺, y con ello produciendo una vasorelajación (Brain y Grat, 2004).

En cuanto al papel que juega la CGRP en la migraña, se tienen reportes de que existe un incremento de los niveles de este péptido, durante un ataque de migraña (Durham, 2004 a y b) y la vasorelajación que produce es dependiente de la concentración (Peterson *et al.*, 2005). Antagonistas de los receptores CGRP son una propuesta novedosa para el tratamiento de este padecimiento (Arulmozhi *et al.*, 2005).

1.1.3 Tratamiento

Los objetivos del tratamiento de la migraña son la disminución de los síntomas del ataque agudo y la prevención de ataques posteriores. Esta enfermedad se puede tratar por medios farmacológicos mediante un programa de medicación intensiva, profiláctico o combinado. La selección del método terapéutico apropiado debe basarse en una valoración detallada de la frecuencia y gravedad de la migraña (Arulmozhi *et al.*, 2005).

Si se padece de una migraña leve, se puede tratar con analgésicos leves, (AINES) dentro de los cuales se encuentran la aspirina, el paracetamol, el ibuprofeno y el naproxeno (Weel y Schuurmans, 2005). La migraña moderada se trata con los alcaloides provenientes de *Claviceps purpurea* (cornezuelo del centeno) o con sumatriptán. La forma más grave de migraña requiere del empleo de agentes profilácticos además de los fármacos para terapéutica aguda y antieméticos como la metoclopramida (Narbone *et al.*, 2004).

1.1.4 Tratamiento agudo

Durante muchas décadas se han utilizado los derivados alcaloides del cornezuelo del centeno para combatir la migraña y han sido fármacos de elección para tratar los ataques moderados a severos (Narbone *et al.*, 2004). Los alcaloides del ergot son fármacos no selectivos, ya que interactúan con una gran variedad de receptores: α -adrenérgicos (α_1 y α_2), serotoninérgicos (particularmente 5-HT_{1B/1D}, 5-HT₂, 5-HT_{1A}) y dopaminérgicos (D₂) (Narbone *et al.*, 2004).

Los alcaloides del cornezuelo de centeno y derivados más utilizados para el tratamiento de la migraña son: la ergotamina, el mesilato de dihidroergotamina y la ergonovina. Sus efectos indeseables incluyen náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea, vasoconstricción, frialdad, entumecimiento y hormigueo en los dedos de las manos y los pies (Smith, 1993).

Las dosis altas provocan sed, confusión, alucinaciones e inconsciencia; con el uso crónico se ha informado hipertensión, problemas renales la aparición de gangrena de las extremidades y valvulopatías cardíacas (Narbone *et al.*, 2004). Los alcaloides del cornezuelo de centeno, incluida la ergotamina, están contraindicados durante el embarazo y en los pacientes con hipertensión, enfermedad vascular oclusiva y enfermedad hepática o renal (Smith, 1993).

El sumatriptán pertenece al grupo de los triptanos. Es el primer análogo sintético de la 5-HT y estimula principalmente a los receptores 5-HT₁. En general, al activarse, los subtipos A-D de estos receptores pueden causar una vasodilatación o vasoconstricción, según estimulen o inhiban a la adenilato ciclasa o, bien que de manera indirecta aumenten o reduzcan la liberación de noradrenalina o acetilcolina (Kalant y Roschlau, 1998), aunque es más potente como agonista de los receptores 5-HT_{1B} y 5-HT_{1D}, y menos potente en los receptores 5-HT_{1A} (Narbone *et al.*, 2004). Esencialmente es inactivo en los receptores α_1 y α_2 , β -adrenérgicos, dopaminérgicos, muscarínicos, colinérgicos y receptores de las benzodiacepinas (Flórez, 2004; Ahn y Basbaum, 2005).

Los efectos adversos del sumatriptán incluyen náuseas, vómito, fatiga, mareo, somnolencia. Son raros los reportes de vasoespamos coronarios, angina de pecho e infarto al miocardio (Aldrete, 2005; Ahn y Basbaum, 2005). Algunos triptanos que también se utilizan para el tratamiento de la migraña son el zolmitriptán, el rizatriptán, el eletriptano, el naratriptán y el almotriptán (Flórez, 2004).

El uso de opiáceos despierta controversia, ya que no son comúnmente prescritos para la migraña, aún cuando hay datos que demuestran claramente su eficacia. Reducen en aproximadamente un 54.5% el dolor de cabeza una hora después de su administración. El mayor riesgo de estos compuesto es el abuso y dependencia, especialmente en pacientes con frecuentes dolores de cabeza (Lobo, 1999).

El uso de corticosteroides en pacientes con migraña es controversial y se han manejado con sumo cuidado. Existen relativamente pocos datos que den sustento a su uso. Con diagnóstico y tratamiento adecuados es raro que se necesite acudir a estos fármacos (Aldrete, 2005). Los corticosteroides pueden utilizarse para el ataque agudo cuando otros tratamientos han fallado o están contraindicados. Son efectivos en los casos de migraña prolongada. Su uso está restringido a un máximo de tres días al mes para evitar efectos secundarios (Lobo, 1999; Aldrete, 2005). Se ha utilizado prednisona y dexametasona, sobre todo cuando el tratamiento con dihidroergotamina ha fracasado (Lobo, 1999).

1.1.5 Tratamiento profiláctico

Cuando la frecuencia de la migraña no excede de tres crisis al mes, puede tratarse de manera profiláctica. El tratamiento profiláctico puede reducir la frecuencia de migraña hasta en un 50% o más (Modi y Lowder, 2006). Se han utilizado varios tipos de fármacos, incluyendo beta bloqueadores,

anticonvulsivantes, bloqueadores de canales de calcio, antidepresivos y otros (Modi y Lowder, 2006).

Antagonistas β -adrenérgicos, tales como el propranolol, el timolol, el atenolol, el nadolol y el metoprolol (Narbone, 2004; Arulmozhi *et al.*, 2005). Su eficacia esta comprobada (Linde y Rossnagel, 2004). Son considerados como el tratamiento de elección para la prevención de la migraña, especialmente en pacientes cuyos ataques se relacionan con el estrés. Son eficaces en 65% de los pacientes (Limmroth y Michel, 2001).

El propranolol es uno de los fármacos que resulta eficaz dentro del tratamiento profiláctico de la migraña en niños (Wasiewski, 2001; Ryan, 2003). En el año 2002 la American Academy of Family Physicians y la American Collage of Physicians-American Society of Internacional Medicine identifican al propranolol y al timolol como fármacos de primera-línea para la profilaxis de la migraña (Snow *et al.*, 2002). Existen pocas evidencias que avalen el uso de atenolol, metoprolol o nadolol para el tratamiento profiláctico de la migraña (Gray *et al.*, 1999; Silberstein y Goadsby, 2002).

Dentro de los efectos adversos asociados con beta bloqueadores, se encuentran la fatiga, tolerancia al ejercicio reducida, nauseas, vértigo, insomnio y depresión (Snow *et al.*, 2002). Están contraindicados en pacientes que padecen asma, hipoglicemia asociada con el tratamiento de la diabetes, hipotensión y problemas del corazón (Silberstein y Goadsby, 2002).

Anticonvulsivantes: dentro de los cuales se encuentran, el ácido valproico y sus derivados. El divalproex y el valproato de sodio cuentan con evidencia que sustenta su uso en la prevención de la migraña (Silberstein y Freitag, 2003). Estos fármacos reducen la frecuencia del padecimiento en un 50% o más. Algunos efectos colaterales son náuseas, fatiga, tremor, vértigo (Modi y Lowder, 2006).

El topiramato es otro fármaco de primera línea en la profilaxis de la migraña. En un estudio clínico doble ciego con placebo, donde participaron 937 personas, se administraron 200 mg por día de topiramato o placebo durante 26 semanas. Los pacientes que recibieron el tratamiento con el fármaco presentaron una disminución del 50% en la frecuencia de la migraña comparado con el placebo (Silberstein *et al.*, 2004; Brandes *et al.*, 2004). La isovaleramida, un derivado del ácido isovalerico, resulta eficaz para el tratamiento de la migraña (Artman, 2005).

Antidepresivos tricíclicos: tales como la amitriptilina y la nortriptilina, los cuales son bloqueadores de los transportadores de la 5-HT y antagonistas de múltiples neurotransmisores. Sus efectos colaterales están relacionados con sus propiedades anticolinérgicas: mareo, visión borrosa retención urinaria, arritmia cardiaca, etc. (Gary, 2005).

La amitriptilina es uno de los agentes de primera línea para la profilaxis de la migraña (Snow *et al.*, 2002) y es el único antidepresivo tricíclico que cuenta con estudios que sustentan este uso (Gray *et al.*, 1999).

Bloqueadores de los canales de calcio como la flunarazina, el diltiazem, la nifedipina y la nimopidina. En general estos fármacos pueden disminuir la frecuencia de los ataques, pero tienen poco efecto sobre la severidad de los mismos. Pueden tardar semanas o meses en hacer efecto. Los efectos colaterales son leves y consisten de constipación e hipotensión (Arulmozhi *et al.*, 2005).

Antagonistas serotoninérgico como la metisergina y la ciproheptadina, los cuales son derivados de la ergotamina: los efectos colaterales comunes al uso de estos son mareos y náuseas (Arulmozhi *et al.*, 2005).

Otros agentes: la administración de magnesio oral (dicitrato de trimagnesio) se puede usar a una dosis de 60 mg por día, aunque a estas dosis se presenta la diarrea (Silberstein y Goadsby, 2002). La administración de vitamina

B₁₂ (400 mg por día) provoca un cambio benéfico en un período de tres a cuatro meses después de iniciado el tratamiento, sin embargo, estos datos son poco confiables (Schoenen *et al.*, 1998). En un estudio con coenzima Q₁₀, donde se administran 100 mg tres veces al día se observó una disminución del 50% en la frecuencia de ataques de migraña (Sandor *et al.*, 2005). En un estudio reciente se evaluó a la N- α -metilhistamina, agonista de los receptores H₃, como agente profiláctico de la migraña. Milan *et al.*, observaron que su administración a dosis entre 1 y 3 mg, disminuía significativamente la frecuencia y la duración de los episodios de migraña en 18 pacientes (Milan *et al.*; 2003). Aunque el papel de estos fármacos para tratar la migraña se sigue investigando, estos representan indudablemente una alternativa novedosa para el tratamiento de este padecimiento (Arulmozhi *et al.*, 2005).

1.1.6 Uso de las plantas medicinales

El hombre a lo largo de su evolución ha utilizado a las plantas para satisfacer muchas de sus necesidades (Cox, 2000).

Los tratamientos fitoterapéuticos han ofrecido alternativas de terapia para quienes sufren de migraña, además han proporcionado información adicional acerca de su patogénesis (Kelly *et al.*, 2000). Algunos ejemplos de vegetales eficaces para el tratamiento de la migraña, son la raíz de jengibre, la valeriana, la escutelaria, la manzanilla (Aldrete, 2005) y la Santa María (*T. parthenium*) (Groenewegen *et al.*, 1986; Vogler *et al.*, 1998).

1.2 Respuesta vascular y migraña

1.2.1 Mediadores químicos de los vasos cerebrales

Entre las sustancias involucradas en la respuesta vascular se encuentran algunas aminas que incluyen a las catecolaminas noradrenalina, adrenalina y dopamina, a la serotonina, a la histamina y a la acetilcolina. También se

encuentran presentes algunos mediadores lipídicos como los eicosanoides prostaciclina (PGI_2), tromboxano A_2 (TXA_2), las prostaglandinas (PGD_2 , PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$), los cisteinil leucotrienos (LTC_4 y LTD_4), y el factor activador de plaquetas (PAF) (Feuerstein y Miller, 1997).

Dentro de los péptidos vasodiladores se encuentran: el péptido vasoactivo intestinal (VIP), el péptido histidina isoleucina (PHI), el péptido activador pituitario adenilato-ciclase (PACAP), el péptido gen relacionado con la calcitonina (CGRP), la adrenomedulina, la sustancia P, la bradiquina; mientras que algunos péptidos vasoconstrictores son: el neuropéptido Y (NPY), la angiotensina-II (ATII), la endotelina 1 (ET-1) y la vasopresina (VP) (Feuerstein y Miller, 1997).

Algunos nucleótidos son también agentes relajantes de vasos cerebrales: adenosina, adenosina trifosfato (ATP), adenosina difosfato (ADP), péptido relacionado con la gastrina (GRP), colecistoquinina (CCK), galanina, murtensina, somatostatina y dinorfina B. De igual forma existen reportes de algunos gases que tiene actividad vasorelajante como el óxido nítrico (NO) y el monóxido de carbono (CO) (Feuerstein y Miller, 1997).

Otras sustancias vasorelajantes que se han estudiado para explicar la patogenia de la migraña son los producidos por el endotelio: la prostaciclina (PGI_2 ; Moncada *et al.*, 1976) y el Factor de Relajación Derivado del Endotelio (FRDE; Furchgott y Zawadzki, 1980); identificado actualmente como óxido nítrico. La PGI_2 a través del AMPc y el FRDE a través del GMPc, ejercen no solo vasorelajación sino también una acción antiplaquetaria. La migraña ha sido tratada con un gran número de agentes inhibidores de la ciclooxigenasas, la cual suprime la biosíntesis vascular de PGI_2 y otras prostaglandinas (Gryglewski y Vane, 1990).

De los muchos factores fisiológicos, involucrados en la migraña, una de las sustancias que está en la mira de los investigadores es la serotonina (Arulmozhi *et al.*, 2005). El papel importante que juega la serotonina en la fisiopatología de la migraña, se hace evidente si se toma en cuenta, que existe un incremento de sus

metabolitos (ácido 5-hidroxiindolacético) en la orina de pacientes que sufren de migraña. Por otro lado, diversos fármacos que se utilizan para aliviar los síntomas característicos de la migraña, son activos sobre sistemas serotoninérgicos (Flórez, 2004).

1.2.2 Serotonina (5-hidroxitriptamina)

La 5-hidroxitriptamina (5-HT, serotonina) es una amina biógena compuesta por un anillo indólico y una cadena lateral etilamina, que fue aislada e identificada del plasma en 1948. Se localiza y sintetiza en las células enterocromafines del tracto gastrointestinal y en las neuronas serotoninérgicas del SNC, mientras que en las plaquetas sólo se almacena por un mecanismo de transporte activo (Barnes y Sharp, 1999; Flórez, 2004).

La acción que tiene la 5-HT sobre los vasos sanguíneos es verdaderamente compleja, ya que puede actuar en diversos sitios. En la gran mayoría de los regiones produce una vasoconstricción, tanto arterial como venosa: a nivel cerebral, visceral y cutáneo; no obstante, también produce vasodilatación arteriolar, por ejemplo en la circulación muscular y en la cutánea. Cuando se estudia la acción de la 5-HT sobre tejido vascular aislado, predomina la respuesta contráctil (Flórez, 2004).

En gran medida, la acción vasoconstrictora es debida a la activación de los receptores 5-HT_{2A}, puesto que es bloqueada específicamente por los antagonistas de estos receptores, como la ketanserina, pero en algunas regiones especialmente en ciertos vasos craneales, este efecto vasoconstrictor no está ligado a la activación de los receptores 5-HT_{2A} sino que depende de la unión de la 5-HT a sitios 5-HT₁ (Barnes y Sharp, 1999; Flórez, 2004).

En ciertas condiciones la serotonina puede ocasionar una acción vasodilatatoria, a través de la activación de receptores 5-HT_{1A} que median la

liberación de factores relajantes endoteliales, receptores 5-HT₇ ampliamente distribuidos en la zona vascular, o bien por inhibición de la liberación de noradrenalina, lo que genera una respuesta dilatadora (Flórez, 2004). Por otro lado, la 5-HT tiene la capacidad de potenciar la acción vasoconstrictora tanto de la noradrenalina como de otros agentes que contraen la fibra vascular, como la angiotensina II o la PGF_{2α}. Por último, esta amina tiene la capacidad de activar directamente los α-adrenoceptores (Flórez, 2004).

2 Antecedentes sobre *Tanacetum parthenium*

2.1 Antecedentes botánicos y etnobotánicos

Tanacetum parthenium (L.) Shultz-Bip pertenece a la familia Compositae o Asteraceae. Algunos de sus sinónimos son: *Chrysanthemum parthenium* (L.) Bernh., *Leucanthemum parthenium* (L.) Gren & Gordon, *Pyretrum parthenium* (L.) Sm., *Matricaria parthenium* (L.). Se considera originaria de Irán, Irak y de Europa, adaptada a climas cálidos, semicálidos y templados. Se cultiva en huertos familiares, crece a orillas de caminos o en terrenos de cultivo (INI, 1994).

En Estados Unidos y en Europa se conoce como feverfew (Foster, 1991) y en México como altamiza, hierba de Santa María, hierba santa, manzanilla grande, manzanilla romana, mastrazo, matlalí (tal vez matlalin del náhuatl: verde oscuro o azul) (INI, 1994). En la (Figura 1) se muestran los lugares donde crece *T. parthenium* alrededor del mundo (Bohlman y Zdero, 1982; Stefanovic *et al.*, 1985; Hamidi y Nady, 1989; Awang *et al.*, 1991; Heptinstall *et al.*, 1992; Kisiel y Stojakowska, 1997; INI, 1994; Béjar *et al.*, 2001; Long *et al.*, 2003; Cretnik *et al.*, 2005).

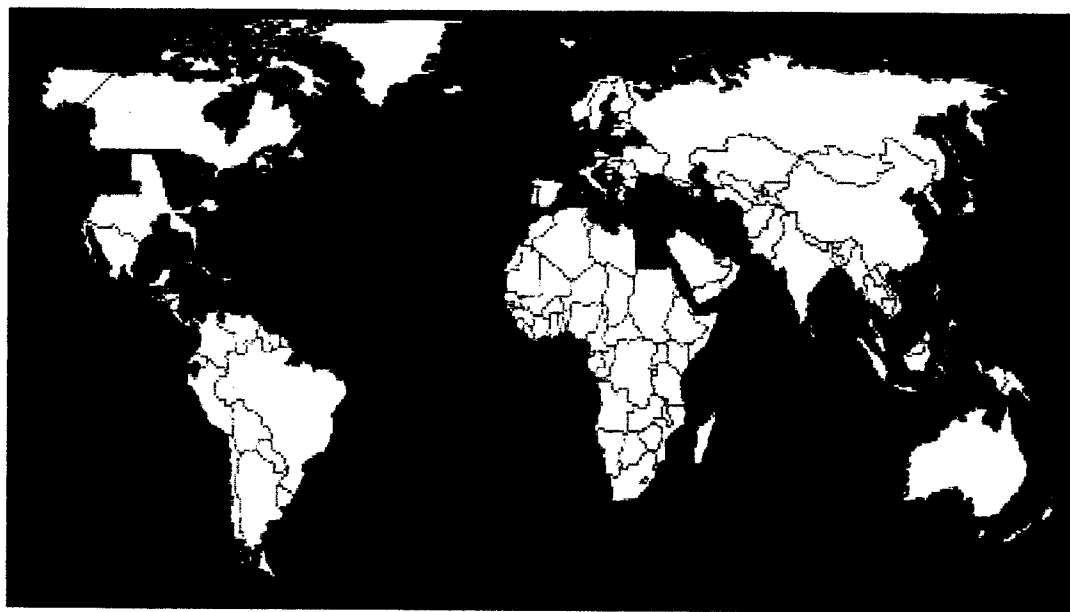


Figura 1. (■) Distribución de *T. parthenium* (Santa María).

T. parthenium (Figura 2) es una planta de 15 a 60 cm. de alto. Las hojas tienen un color verde amarillo, son alternas, percioladas, ovaladas y divididas pinadamente, tienen los bordes lisos o crenados. Las flores aparecen de Julio a Octubre, están dispuestas en corimbos de hasta 30 piezas, con algunas florecillas blancas alargadas y otras amarillas en forma de disco con brácteas involucradas, cubiertas de pelusa. Las flores se parecen a las de la manzanilla (*Matricaria chamomilla*) con la que algunas veces se confunde (INI, 1994).



Figura 2. *T. parthenium* (Santa María).

En estados como Chiapas, Oaxaca, Guerrero, Morelos, México, Tlaxcala y Veracruz, se utiliza para diversos tipos de cefalea, como analgésico, para la artritis, para aliviar trastornos de la menstruación (como emenagogo, contra la dismenorrea y cólicos menstruales), y para provocar el aborto. Se toma el conocimiento de las ramas o de las flores (INI, 1994).

En la medicina tradicional del Reino Unido y Europa ha sido utilizada para aliviar el dolor de cabeza, los dolores menstruales, el asma, la artritis y como antipirético. Las hojas son ingeridas frescas, en una dosis de 2 o 3 hojas (Foster,

1991). También ha tenido usos como plantas de ornamento y aromatizante debido a la belleza de sus flores y agradable olor. Funciona también como repelente de insectos (Foster, 1991).

2.2 Composición química

La lactona sesquiterpénica más importante presente en *T. parthenium* es la partenólida, la cual se ha tomado como compuesto marcador, para determinar la actividad biológica y para el control de calidad de preparaciones farmacéuticas y análisis de materia prima (Bohlamn y Zdero, 1982; USP 25, 2002).

Existen varios procedimientos para la obtención de la partenólida, los cuales utilizan métodos clásicos de extracción y las cromatografías en columna abierta, de gases y líquida de alta resolución (HPLC). Recientemente se ha aplicado la Extracción de Fluido Supercrítico (EFS), para su obtención (Cretnik *et al.*, 2005).

La partenólida fue identificada en 1982, en un extracto de éter de petróleo:diétil éter (2:1) de las parte aéreas provenientes de Alemania. Además este extracto también contenía alcanfor y acetato de crisantenilo (Bohlman y Zdero, 1982). Ambos son compuestos mayoritarios del aceite esencial de muestras provenientes de Bélgica y Egipto (Pooter *et al.*, 1989) y México (Medina, 2002). El contenido de la partenólida, varía en función del ciclo vegetativo y es máxima en el momento de la floración (Hendriks *et al.*, 1997). En muestras originarias del Reino Unido su contenido en flores (1.38%) y en la hojas (0.95%), es poco abundante en los tallos (0.08%) y casi ausente en las raíces (0.01%) (Heptinstall *et al.*, 1992; Cretnik *et al.*, 2005).

Las plantas que crecen en el valle de México (Romo de Vivar y Jiménez, 1965) y en Yugoslavia (Stefanovic *et al.*, 1985) carecen de partenólida. Sin embargo, en un estudio donde se compara el contenido de este compuesto entre las plantas de origen estadounidense y mexicana, se reporta que en los

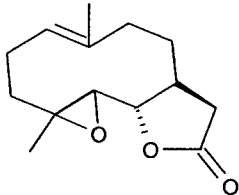
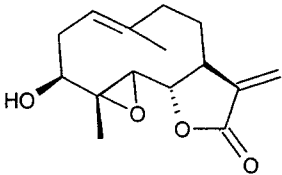
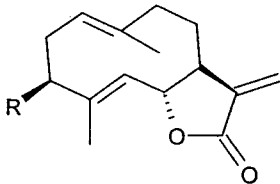
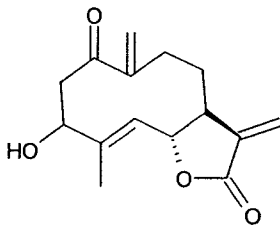
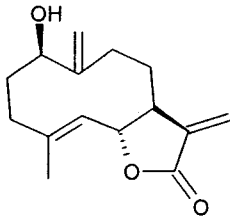
ejemplares del estado de Oaxaca y Puebla en México, contiene este metabolito (0.28% y 0.25% respectivamente) (Avula *et al.*, 2006).

Existe gran controversia al proponer a la partenólida como el único compuesto activo de *T. parthenium*. Béjar (1996), propone que no solo la partenólida le confiere la actividad biológica a esta planta, si no que existen otros compuestos, que pueden ser los responsables de la profilaxis de la migraña; quizás afectando el almacenamiento, liberación de la serotonina o interactuando con los receptores a serotonina. Uno de estos compuestos podría ser el acetato de crisantenilo, ya que se encuentra en gran proporción (~25%) en muestras provenientes de Bélgica, Egipto, Reino Unido (Pooter *et al.*, 1989; Hendriks *et al.*, 1996) y México (Medina, 2002). La presencia del acetato de crisantenilo es muy interesante, ya que en un estudio se encontró, que este compuesto inhibe la síntesis de prostaglandinas y posee actividad analgésica (Pugh y Sambo, 1988). Es posible que este compuesto también contribuya a la propiedad antimigraña de *T. parthenium*.

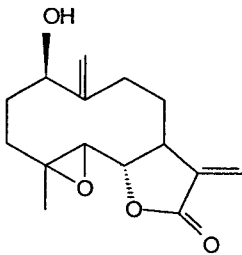
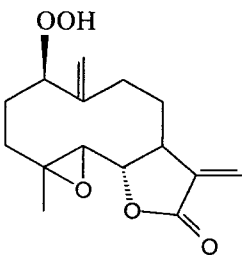
La planta que crece en México difiere en cuanto a su composición química, respecto a muestras provenientes de Europa (Romo de Vivar y Jiménez, 1965). En la literatura existen ejemplos de plantas que pertenece a la familia Compositae, como *Iva microcephala* (Herz *et al.*, 1964) y *Helenium mexicanum* (Domínguez y Romo, 1963), las cuales también tienen variaciones en su composición química dependiendo de la región donde crecen (Romo de Vivar y Jiménez, 1965).

Desde el punto de vista fitoquímico, *T. parthenium* contiene una gran variedad de constituyentes químicos, entre los que destacan flavonoides, terpenoides, lactonas sesquiterpénicas, entre otros. Algunos de estos compuestos se ilustran en los cuadros 1 al 6.

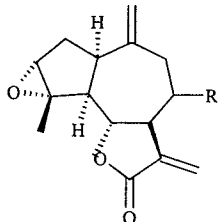
Cuadro 1. Lactonas sesquiterpénicas del tipo germacranólida presentes en *T. parthenium*.

Estructura	Parte estudiada	Origen de la muestra	Referencia
 <p>Partenólida</p>	Partes aéreas Flores, hojas, tallos y raíces Hojas y flores Hojas y semillas Partes aéreas	Alemania Reino Unido EUA EUA EUA	Bohlman y Zdero, 1982. Heptinstall <i>et al.</i> , 1992. Cretnik <i>et al.</i> , 2005. Heptinstall <i>et al.</i> , 1992. Awang <i>et al.</i> , 1991. Avula <i>et al.</i> , 2006.
 <p>3β-hidroxipartenólida</p>	Partes aéreas Partes aéreas	Alemania Reino Unido	Bohlman y Zdero, 1982. Groenewegen <i>et al.</i> , 1986. Cretnik <i>et al.</i> , 2005.
 <p>R=H Costunólida R=OH 3β-hidroxycostunólida</p>	Partes aéreas y semillas Hojas y semillas	Alemania Reino Unido	Bohlman y Zdero, 1982. Milbrodt <i>et al.</i> , 1996.
 <p>3β-hidroxianhidroverlotrina</p>	Semillas	Alemania	Bohlman y Zdero, 1982. Milbrodt <i>et al.</i> , 1996.
 <p>Artemorina</p>	Partes aéreas	Alemania	Bohlman y Zdero, 1982.

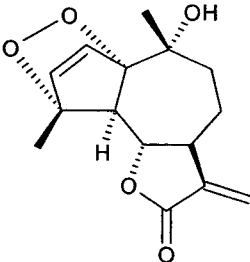
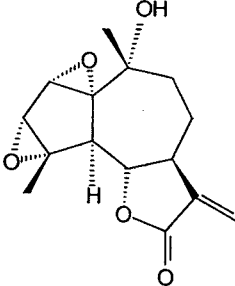
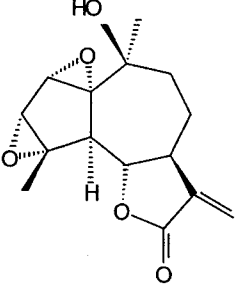
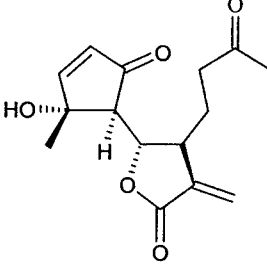
Cuadro 1. Lactonas sesquiterpénicas del tipo germacranólida presentes en *T. parthenium* (Cont).

Estructura	Parte estudiada	Origen de la muestra	Referencia
 <p>Epoxiartemorina</p>	Partes aéreas	Alemania	Bohlman y Zdero, 1982.
 <p>Peroxido de epoxiartemorina</p>	Partes aéreas	Alemania	Bohlman y Zdero, 1982.

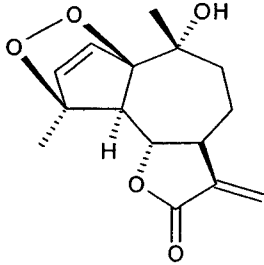
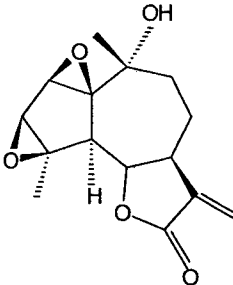
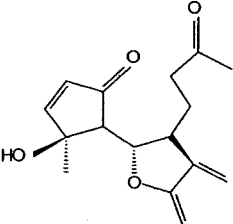
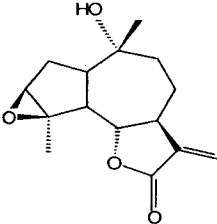
Cuadro 2. Lactonas sesquiterpénicas del tipo guayanólida presentes en *T. parthenium*.

Estructura	Parte estudiada	Origen de la muestra	Referencia
 <p>R=OH 8α-hidroxiestafiatina R=OBui 8α-isobutiloxiestafiatina R=OAng 8α-angeloiloxiestafiatina</p>	Partes aéreas	Alemania	Bohlman y Zdero, 1982. Milbrodt <i>et al.</i> , 1996.

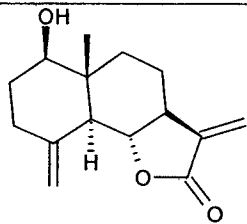
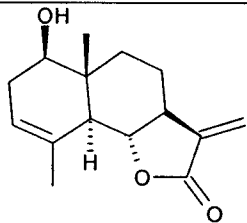
Cuadro 2. Lactonas sesquiterpénicas del tipo guayanólida presentes en *T. parthenium* (Cont).

Estructura	Parte estudiada	Origen de la muestra	Referencia
	Partes aéreas Hojas	Alemania Reino Unido	Bohlman y Zdero, 1982. Begley <i>et al.</i> , 1989.
Tanapartina- α -peróxido			
	Partes aéreas Hojas Partes aéreas	Alemania Reino Unido México	Bohlman y Zdero, 1982. Groenewegen <i>et al.</i> , 1986. Begley <i>et al.</i> , 1989. Romo <i>et al.</i> , 1970. Milbrodt <i>et al.</i> , 1996.
Canina			
	Partes aéreas	Alemania	Bohlman y Zdero, 1982.
10-epi-canina			
	Partes aéreas Hojas	Alemania Reino Unido	Bohlman y Zdero, 1982. Groenewegen <i>et al.</i> , 1986. Milbrodt <i>et al.</i> , 1996.
Secotanapartólida A			

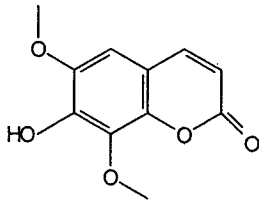
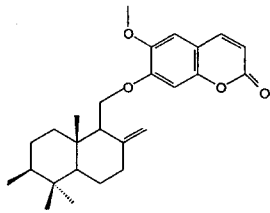
Cuadro 2. Lactonas sesquiterpénicas del tipo guayanólida presentes en *T. parthenium* (Cont).

Estructura	Parte estudiada	Origen de la muestra	Referencia
	Partes aéreas	Alemania	Bohlman y Zdero, 1982. Milbrodt <i>et al.</i> , 1996.
Tanapartina- β -peróxido	<hr/>		
	Partes aéreas	Alemania	Bohlman y Zdero, 1982. Groenewegem <i>et al.</i> , 1986.
Hojas	Reino Unido	Begley <i>et al.</i> , 1989.	
Hojas y semillas	EUA	Awang <i>et al.</i> , 1991.	
Artecanina	<hr/>		
	Partes aéreas	Alemania	Bohlman y Zdero, 1982.
Hojas	Reino Unido	Begley <i>et al.</i> , 1989.	
seco-tanapartólida B	<hr/>		
	Raíces	Sudamerica	Milbrodt <i>et al.</i> , 1996.
3,5-epoxi-8-desoxicumambrina B	<hr/>		

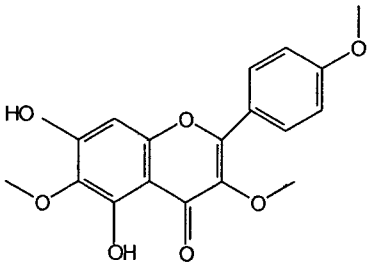
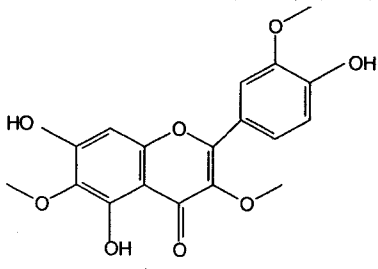
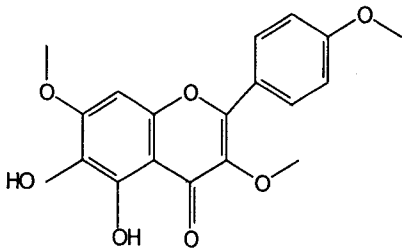
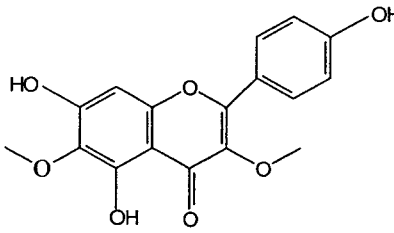
Cuadro 3. Lactonas sesquiterpénicas del tipo eudesmano presentes en *T. parthenium*.

Estructura	Parte estudiada	Origen de la muestra	Referencia
 <p>Reinosina</p>	Partes aéreas Partes aéreas Hojas y semillas	México Alemania EUA	Romo <i>et al.</i> , 1970. Bohlman y Zdero, 1982. Awang <i>et al.</i> , 1991.
 <p>Santamarina</p>	Planta seca Hojas y semillas	México EUA	Romo de Vivar y Jiménez, 1965. Awang <i>et al.</i> , 1991.

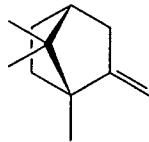
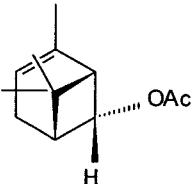
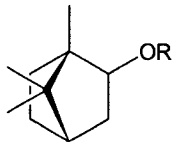
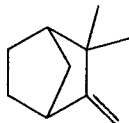
Cuadro 4. Cumarinas presentes en *T. parthenium*.

Estructura	Parte estudiada	Origen de la muestra	Referencia
 <p>Isofraxidina</p>	Raíces	Polonia	Kisiel y Stojakowska, 1997.
 <p>9-epipectacol B</p>	Raíces	Polonia	Kisiel y Stojakowska, 1997.

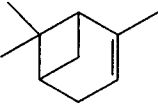
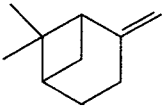
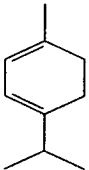
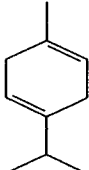
Cuadro 5. Flavonoides presentes en *T. parthenium*.

Estructura	Parte estudiada	Origen de la muestra	Referencia
 <p>Santina</p>	Partes aéreas Partes aéreas	México Francia	Rodríguez <i>et al.</i> , 1973. Long <i>et al.</i> , 2003.
 <p>Jaceidina</p>	Partes aéreas	Francia	Long <i>et al.</i> , 2003.
 <p>Tanetina</p>	Hojas, flores y semillas	Alemania	Williams <i>et al.</i> , 1994.
 <p>3,6,4'-trimetil éter del 6-hidroxicamferol</p>	Hojas, flores y semillas	Alemania	Williams <i>et al.</i> , 1994.

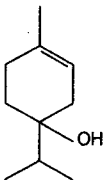
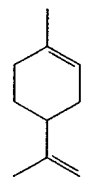
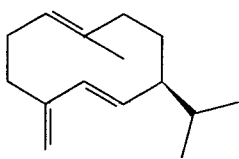
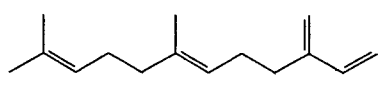
Cuadro 6. Terpenoides presentes en *T. parthenium*.

Estructura	Parte estudiada	Origen de la muestra	Referencia
 <p>Alcanfor</p>	Partes aéreas	Alemania Bélgica Egipto Reino Unido y Holanda Croacia México Turquía	Bohlman y Zdero, 1982. Hamidi y Nady, 1989. Hamidi y Nady, 1989 Hendriks <i>et al.</i> , 1996 Kalodera <i>et al.</i> , 1997. Medina, 2002. Akpulat <i>et al.</i> , 2005.
 <p>Acetato de crisantenilo</p>	Partes aéreas	Alemania Bélgica Egipto Reino Unido y Holanda Croacia México Turquía	Bohlman y Zdero, 1982. Hamidi y Nady, 1989. Hamidi y Nady, 1989. Hendriks <i>et al.</i> , 1996. Kalodera <i>et al.</i> , 1997. Medina, 2002. Akpulat <i>et al.</i> , 2005.
 <p>R=H Crisantenol R=Ac Crisantenol acetato R=Ang Crisantenol angelato R=Val Crisantenol isovalerato</p>	Partes aéreas	Alemania Reino Unido y Holanda	Bohlman y Zdero, 1982. Hendriks <i>et al.</i> , 1996.
 <p>Camfeno</p>	Partes aéreas	Alemania Reino Unido y Holanda Croacia Turquía	Bohlman y Zdero, 1982. Hendriks <i>et al.</i> , 1996. Kalodera <i>et al.</i> , 1997. Akpulat <i>et al.</i> , 2005.

Cuadro 6. Terpenoides presentes en *T. parthenium* (Cont).

Estructura	Parte estudiada	Origen de la muestra	Referencia
 <p>α-pineno</p>	Partes aéreas	Alemania Bélgica Egipto Reino Unido y Holanda Croacia México Turquía	Bohlman y Zdero, 1982. Hamidi y Nady, 1989. Hamidi y Nady, 1989. Hendriks <i>et al.</i> , 1996. Kalodera <i>et al.</i> , 1997. Medina, 2002. Akpulat <i>et al.</i> , 2005.
 <p>β-pineno</p>	Partes aéreas	Alemania Bélgica Egipto Reino Unido y Holanda México Turquía	Bohlman y Zdero, 1982. Hamidi y Nady, 1989. Hamidi y Nady, 1989. Hendriks <i>et al.</i> , 1996. Medina, 2002. Akpulat <i>et al.</i> , 2005.
 <p>α-terpineno</p>	Partes aéreas	Alemania Bélgica Egipto Reino Unido y Holanda México Turquía	Bohlman y Zdero, 1982. Hamidi y Nady, 1989. Hamidi y Nady, 1989. Hendriks <i>et al.</i> , 1996. Medina, 2002. Akpulat <i>et al.</i> , 2005.
 <p>γ-terpineno</p>	Partes aéreas	Alemania Bélgica Egipto Reino Unido y Holanda México Turquía	Bohlman y Zdero, 1982. Hamidi y Nady, 1989. Hamidi y Nady, 1989. Hendriks <i>et al.</i> , 1996. Medina, 2002. Akpulat <i>et al.</i> , 2005.

Cuadro 6. Terpenoides presentes en *T. parthenium* (Cont).

Estructura	Parte estudiada	Origen de la muestra	Referencia
 <p>4-terpineol</p>	Partes aéreas	Alemania Bélgica Egipto Reino Unido y Holanda México Turquía	Bohlman y Zdero, 1982. Hamidi y Nady, 1989. Hamidi y Nady, 1989. Hendriks <i>et al.</i> , 1996. Medina, 2002. Akpulat <i>et al.</i> , 2005.
 <p>Limoneno</p>	Partes aéreas	Alemania Bélgica Egipto Reino Unido y Holanda México Turquía	Bohlman y Zdero, 1982. Hamidi y Nady, 1989. Hamidi y Nady, 1989. Hendriks <i>et al.</i> , 1996. Medina, 2002. Akpulat <i>et al.</i> , 2005.
 <p>Germacreno D</p>	Partes aéreas	Alemania Reino Unido y Holanda México Turquía	Bohlman y Zdero, 1982. Hendriks <i>et al.</i> , 1996. Medina, 2002. Akpulat <i>et al.</i> , 2005.
 <p>β-farneseno</p>	Raíces Partes aéreas	Alemania Reino Unido y Holanda Alemania México	Bohlman y Zdero, 1982. Hendriks <i>et al.</i> , 1996. Bohlman y Zdero, 1982. Medina, 2002.

Algunas investigaciones han demostrado que la composición de *T. parthenium*, depende de la zona geográfica donde se desarrolla (Romo de Vivar y Jiménez, 1965; Bohlman y Zdero, 1982; Begley *et al.*, 1989; Awag *et al.*, 1991 y Hendriks *et al.*, 1992).

En estudios realizados a la planta seca de *T. parthenium*, originaria del valle de México, se encontraron crisartemina A, la crisartemina B y la santamarina, no así la partenólida (Romo de Vivar y Jiménez *et al.*, 1965; Romo *et al.*, 1970).

Los principales compuestos que constituyen el aceite esencial de las partes aéreas de *T. parthenium* provenientes de México (Medina 2002), Reino Unido, Holanda (Hendriks *et al.*, 1996), Turquía (Akpulat *et al.*, 2005), Bélgica, Egipto (Hamidi y Nady, 1989) y Croacia (Kalodera *et al.*, 1997) son el alcanfor (~24-48 %) y el acetato de crisantenilo (~22%). Otros terpenos que se encontraron en estas muestras son el α -pineno, el camfeno, el β -pineno, el α -terpineno, el p-cimeno, el γ -terpineno, el crisantenol, el acetato de bornilo, el β -cariofileno, el β -farneseno, el germacreno D y el epóxido del β -cariofileno (Hendriks, *et al.*, 1996).

En un estudio más reciente, se reporta la composición del aceite esencial de *T. argyrophyllum* (C. Koch) Tuzel. var. *argyrophyllum* y de *T. parthenium* (L.) Schultz. Bip. (Asteraceae), originarias de Turquía. Se identificaron 22 y 23 compuestos respectivamente, representando el 94.2% y el 90.1% para cada uno. Los componentes mayoritarios para *T. argyrophyllum* fueron cis-tujona (69.9%), trans-tujona (5.6%) y el 1-8,cineol (3.2%); mientras que el alcanfor (56.9%), camfeno (12.7%) y p-cimeno (5.2) fueron los componentes mayoritario para *T. parthenium* (Akpulat *et al.*, 2005).

Del extracto hexánico de las raíces de *T. parthenium*, proveniente de Polonia, se aislaron la cumarina isofraxidina y una nueva isofraxidina drimenil éter, llamada 9-epipectacol B (Kisiel y Stojakowska, 1997). Una serie no

terpenoide de éteres espirocetálicos esta presente en las raíces de las plantas provenientes de Alemania (Bohlman y Zdero, 1982) y México (Medina, 2002).

Del extracto de diclorometano de las flores secas de *T. parthenium* colectada en Sudamérica, se aislaron la guayanólida 3,4-epoxi-8-desoxicumambrina B y la eudesmanolida epoxisantamarina (Milbrodt *et al.*, 1996) este último compuesto ya se ha identificado en muestras provenientes de México (Romo y Jiménez, 1965).

Del extracto de diclorometano de las hojas, flores y semillas colectadas en Nymphenberg Alemania, se identificaron los siguientes flavonoides: el 3,7,4'-trimetil éter del 6-hidroxicamferol, conocido como tanetina y el 3,6-dimetil éter del 6-hidroxicamferol (Williams *et al.*, 1994). También se encontraron las siguientes flavonas: la apigenina, la luteolina, el crisoeriol, la apigenina 7-glucurónido y la luteolina 7-glucurónido (Williams, *et al.*, 1999).

El contenido de esteroides, varía en función del órgano de la planta (Wilkomirski y Dubielecka, 1996). En muestras originarias de Polonia su contenido es el siguiente en flores (0.079%), en la hojas (0.095%), en los tallos (0.081%) y en las raíces (0.051%). Los esteroides identificados en este estudio fueron: el estanol, el campesterol, el sitosterol, el estigmasterol, el fucosterol y el isofucosterol (Wilkomirski y Dubielecka, 1996). Hasta ahora este es el único reporte de esteroides presentes en *T. parthenium*.

2.3 Actividad biológica

2.3.1 Estudios clínicos

Las hojas de *T. parthenium* se han sometido a estudios clínicos para evaluar su actividad en la migraña. En uno de ellos se realizó un estudio doble ciego con placebo en el que participaron 20 pacientes. Se evaluó la eficacia de las hojas de esta planta como profiláctico para la migraña. Los 10 pacientes que recibieron el placebo tuvieron un incremento significativo en la frecuencia y severidad del dolor de cabeza, náuseas y vómito con la aparición de efectos indeseables severos, en los primeros meses de estudio. Los otros 10 pacientes que recibieron 100 mg de hojas secas de *T. parthenium*, presentaron cambios en frecuencia y severidad de los síntomas de la migraña. Esto proporciona bases para afirmar que la planta tomada previene los ataques de este padecimiento y por lo tanto constituye un buen agente profiláctico de la enfermedad (Jonson *et al.*, 1985).

En otro estudio clínico 72 pacientes voluntarios, recibieron al azar, una cápsula con 82 mg de hojas secas de *T. parthenium* o un placebo diariamente por un período de cuatro meses. Se registraron diariamente la frecuencia y severidad de los ataques de migraña en los pacientes participantes. Se comprobó que el tratamiento fue efectivo en el 59% de los pacientes, reduciendo la severidad, el número de ataques de migraña y la intensidad del vómito. También se concluyó que la planta no produce efectos colaterales de importancia (Murphy *et al.*, 1988).

Palevich *et al.*, realizaron un estudio doble ciego, donde participaron 57 pacientes (47 mujeres y 10 hombres), los cuales se dividieron en dos grupos al azar. Durante dos meses un grupo recibió una cápsula con 100 mg de *T. parthenium* proveniente de Israel y el otro grupo un placebo. Los pacientes que recibieron el tratamiento con la planta tuvieron una reducción significativa en la intensidad del dolor, así como, una disminución de los síntomas típicos usualmente relacionados con los ataques de migraña (vómito, náuseas,

sensibilidad a la luz y al ruido, etc.), en comparación con el tratamiento placebo (Palevitch *et al.*, 1997).

Los efectos secundarios negativos registrados en un grupo de 270 pacientes que tomaron 50 mg de hojas secas de *T. parthenium* fueron mínimos y poco frecuentes. El síntoma adverso más común que se registró fue la ulceración en la boca (6.4%), seguido de dolor abdominal e indigestión (3.96%), sabor desagradable (3.0%), sensación de cosquilleo (3.0%), problemas urinarios (0.9%), dolor de cabeza (0.9%) y diarrea (0.4%) (Jonson *et al.*, 1985).

2.3.2 Inhibición de la síntesis de las prostaglandinas

El extracto de las partes aéreas de *T. parthenium*, obtenido por maceración con solución amortiguadora de fosfatos 50 milimolar, a la concentración de 50 µg/mL inhibe la síntesis de prostaglandinas de un 86% a un 88%, pero no inhibe la cicloxigenación del ácido araquidónico (Collier *et al.*, 1980). Si el extracto se hierve por 10 minutos, se pierde la actividad inhibitoria. Un extracto clorofórmico preparado por maceración con las hojas de *T. parthenium* presenta el mismo efecto pero con mayor potencia para inhibir la síntesis de prostaglandinas (5 µg/mL), inhibe la síntesis de prostaglandinas en un 58 ± 5.5 %, pero inhibe la ciclooxigenación del ácido araquidónico (Collier *et al.*, 1980). Esta propiedad puede estar relacionada con la actividad antipirética de esta planta, ya que la aspirina también inhibe a la síntesis de las prostaglandinas pero a diferencia de *T. parthenium*, también inhibe a la ciclooxigenasa. Lo anterior indica que la inhibición de la síntesis de prostaglandinas por los extractos de *T. parthenium* difiere del mecanismo de inhibición de los salicilatos (Collier *et al.*, 1980).

2.3.3 Inhibición de la liberación de serotonina

En la migraña se ha implicado la participación de la serotonina y se sabe que en los ataques de migraña los niveles de serotonina se encuentran elevados

(Peroutka, 1997). Los extractos clorofórmicos de *T. parthenium* inhiben la liberación de serotonina de plaquetas, neutrofilos y leucocitos polimorfonucleares en seres humanos, lo cual es relevante para el valor terapéutico de esta planta en la migraña y otras enfermedades (Groenewegen *et al.*, 1986).

2.3.4 Bloqueo de la corriente de potasio dependiente de voltaje

El extracto clorofórmico de las hojas flores de *T. parthenium* reduce la inactivación de la corriente de potasio dependiente de voltaje a una concentraciones 56 µg/mL (CI₅₀). Se presenta un bloqueo completo de la corriente si se incrementa la concentración a 1 mg/mL. Este efecto puede sugerir que el extracto de *T. parthenium* bloquea los canales abiertos de potasio. Sólo en células aisladas de la arteria de la oreja de conejo, el extracto clorofórmico de la planta, reduce la corriente de potasio dependiente del voltaje, pero al mismo tiempo no tiene efecto en la corriente que surge como consecuencia de la activación de los canales de potasio dependientes de calcio. Esto sugiere que existe una sustancia no conocida capaz de ser selectiva, en el bloqueo de canales abiertos voltaje dependiente de los canales de potasio (Barsby *et al.*, 1993).

2.3.5 Inhibición de 5-lipo-oxigenasa y ciclo-oxigenasa en leucocitos

El extracto clorofórmico de las hojas frescas y de los productos comerciales de la hoja seca, producen la inhibición de la generación de tromboxano B₂ y leucotrieno B₄ en leucocitos de peritoneo de rata y leucocitos polimorfo-nucleares de seres humanos. Los valores de CI₅₀ están en el rango de 5-50 µg/mL. Los autores proponen que una mezcla de lactonas sesquiterpénicas inhiben la síntesis de eicosanoides y que puede ser relevante para la acción terapéutica de la planta (Summer *et al.*, 1992).

2.3.6 Actividad de compuestos aislados de *Tanacetum parthenium* en la liberación de histamina en células de rata

El extracto clorofórmico de las hojas secas, produce una inhibición dosis dependiente de la liberación de histamina de células estimuladas del peritoneo de rata con IgE o el ionóforo de calcio A23187. Esta inhibición de la histamina es diferente a la inhibición provocada por cromoglicato y quercetina (Hayes y Foreman, 1987).

2.3.7 Otros estudios

A la planta *T. parthenium* se le han atribuido otras propiedades como repelente de insectos, insecticida, así como inhibidor de la fagocitosis, inhibición de la agregación plaquetaria, tiene actividad antimicrobiana *in-vitro*, inhibe la liberación de histamina y tiene actividad citotóxica (Voyno-Yasenetskaya *et al.*, 1988).

En estudios farmacológicos del extracto clorofórmico de hojas frescas de *T. parthenium* se midió la respuesta de contracción y relajación en preparaciones de anillos de aorta de conejo y rata, donde se determinó que la respuesta vascular en aorta de rata es irreversible (Barsby *et al.*, 1992; Barsby *et al.*, 1993; Medina, 2002).

Estudios realizados al extracto clorofórmico de hojas frescas de *T. parthenium* demostraron que inhiben las contracciones inducidas por fenilefrina, serotonina, tromboxano U46619 y angiotensina II en anillos de aorta de conejo. Esta inhibición es dependiente del tiempo y la concentración, y es de tipo no competitiva e irreversible en preparaciones con y sin endotelio. Los extractos también causan una pérdida progresiva del tono en anillos de aorta precontraídos (Barsby *et al.*, 1992).

El género de *Tanacetum* contiene entre 150-200 especies (Abad *et al.*, 1995), extractos de algunas especies se han reportado con actividad antiinflamatoria (Abad *et al.*, 1994; Naveen y Shrinivas, 1999; Williams *et al.*, 1999).

El extracto acuoso de *T. parthenium* a concentraciones elevadas (50-200 mg/mL) inhibe a los productos metabólicos de la ciclo-oxigenasa y de la lipooxigenasa en leucocitos de peritoneo de rata (Capasso, 1986).

En un estudio se aisló un compuesto del extracto clorofórmico de las hojas, flores y semillas de *T. parthenium* conocido como tanetina. Las pruebas farmacológicas de este compuesto, podría contribuir a las propiedades antiinflamatorias atribuidas a *T. parthenium*. La tanetina inhibió la generación de eicosanoides pro-inflamatorios, empleando peritoneo de rata activado con leucocitos por el ionóforo de calcio 23183, a una concentración de 40 μ M. (Williams *et al.*, 1995). Además las hojas y las flores de la planta contienen algunos flavonoides lipofílicos, tales como 3,6-dimetil éter de la quercetagenina, 6-hidroxicamferol 3,6,4'-trimetil éter, llamada santina (Williams *et al.*, 1999). La santina se reporta con propiedades anti-inflamatorias, a través de la inhibición de la ciclo-oxigenasa y la 5-lipooxigena (Williams *et al.*, 1999).

II PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La migraña es una enfermedad que afecta del 10 al 20 % de la población mundial (Lipton y Bigal, 2005), afectando principalmente a personas entre 25 – 55 años, aunque también se dan casos en niños de 3 a 5 años. La Secretaria de Salud informa que esta enfermedad afecta en México aproximadamente a 12 millones de mujeres y a 4 millones de hombres (Secretaria de Salud, 2001).

El tratamiento terapéutico de esta enfermedad contempla una amplia variedad de fármacos (sumatriptán, acetaminofeno, alcaloides del ergot), así como de algunas plantas medicinales, entre las cuales se encuentra *T. parthenium*, comúnmente conocida en México como Santa María (Groenewegen *et al.*, 1986; Vogler *et al.*, 1998).

Aun cuando se conoce que *T. parthenium* de México no contiene partenólida, o la contiene en concentraciones muy bajas (Avula *et al.*, 2006). Estudios previos (Medina, 2002), han mostrado que el extracto de diclorometano obtenido de las partes aéreas de la planta fresca y del aceite esencial son capaces de inhibir las contracciones inducidas por serotonina en aorta de rata (Medina, 2002). También se conoce que el extracto de la planta fresca es capaz de inhibir las contracciones producidas por fenilefrina, serotonina, tromboxano U46619 y angiotensinogeno II, en aorta de conejo (Barsby, *et al.*, 1992). Sin embargo a la fecha se desconoce cual o cuales de los metabolitos presentes en *T. parthenium* de México son los responsables de dicha actividad. Por lo que en el presente trabajo se pretende identificar al o a los componentes responsables de la inhibición de las contracciones producidas por fenilefrina y serotonina en aorta de rata. Con lo que además de permitir conocer la naturaleza química de los componentes activos, permitirá postularlos como compuestos activos marcadores para el desarrollo de una metodología analítica para el control de calidad del *T. parthenium* de México.

III HIPOTESIS

En estudios previos se encontró que en el aceite esencial y el extracto de diclorometano preparado con planta fresca presentan la mayor actividad para inhibir las contracciones inducidas por serotonina en aorta de rata, por lo que se espera encontrar a los compuestos activos en el aceite esencial y en el extracto de diclorometano preparado con la planta fresca. Dichos compuestos presentarán un efecto selectivo para inhibir las contracciones inducidas por serotonina en aorta de rata.

IV OBJETIVOS

- ◆ Realizar el estudio farmacológico del aceite esencial y del extracto de diclorometano de *T. parthenium* de México, como inhibidor de las contracciones inducidas por serotonina y fenilefrina.

- ◆ Identificar a el o a los compuestos responsables de la actividad inhibitoria de las contracciones inducidas por serotonina en aorta de rata.

- ◆ Evaluar la actividad del aceite esencial y del extracto de diclorometano de tres colectas de *T. parthenium*, como inhibidores de las contracciones inducidas por serotonina y fenilefrina en aorta de rata.

- ◆ Determinar si la actividad biológica de *T. parthenium* depende del sitio de colecta.

- ◆ Determinar el valor de pA_2 del aceite esencial, del extracto de diclorometano y de los compuestos activos de *T. parthenium*

V MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Material vegetal

Las muestras de *T. parthenium*, fueron adquiridas en los siguientes lugares: en el mercado de Sonora (México D.F.), en el pueblo de Tulyehualco (México, D.F.), "predio las animas" y en el estado de Oaxaca. Los ejemplares fueron depositados en el Herbario de la División de Ciencias Forestales (CHAP) de la Universidad Autónoma Chapingo, con los siguientes números de registro: Ejemplar de Tulyehualco 59516; Ejemplares de Oaxaca y del mercado de Sonora 59517.

La planta fresca se utilizó recién adquirida para preparar el extracto de diclorometano y también para obtener el aceite esencial. Las partes aéreas de la planta fresca fueron fraccionadas manualmente antes de preparar extractos o aceites esenciales.

5.2 Preparación del extracto de diclorometano

Las diferentes muestras de la planta fresca fueron maceradas con diclorometano a temperatura ambiente durante 72 horas. Los extractos se filtraron y se concentraron a presión reducida en un evaporador rotatorio para eliminar el disolvente. Antes de concentrar el filtrado se secó con Na_2SO_4 anhidro. En el cuadro 7 se indican las cantidades de planta macerada, así como la cantidad de extracto obtenido.

5.3 Obtención del aceite esencial

El aceite esencial se obtuvo de las partes aéreas de la planta fresca provenientes de Tulyehualco (1500 g) y de Oaxaca (60.9 g) a través de una destilación por arrastre con vapor de agua. El tiempo de destilación fue 30 minutos. Se obtuvieron 2 mL de aceite esencial de la planta de Tulyehualco y 0.5 mL de aceite esencial de la planta de Oaxaca. Los aceites se guardaron en viales de color ámbar, manteniéndolos en refrigeración (FHEUM, 2001).

Cuadro 7. Rendimientos en los extractos de diclorometano de *T. parthenium*.

Origen de la muestra (g)	Planta Macerada (g)	Extracto Obtenido (g)	Rendimiento %
Mercado de Sonora	900	6.2	0.68
Tulyehualco	6500	44.2	0.68
Oaxaca	62	1	1.61

5.4 Animales

Se emplearon ratas Wistar machos con un peso corporal entre 175 y 220 g mantenidos en condiciones normales de alojamiento para esta especie con libre acceso al alimento y al agua. Los animales se trataron siguiendo los lineamientos de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, actualmente adoptada en nuestro laboratorio para el cuidado y experimentación con animales.

5.5 Fármacos y sustancias

El bitartrato de (-)-arterenol, clorhidrato de carbacol, serotonina, fenilefrina, isoborneol, cariofileno, alcanfor, α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno. Se adquirieron en Sigma Aldrich Co. (St. Louis MO, USA). Las soluciones se prepararon minutos antes de ser utilizados. Los fármacos no solubles y los extractos se suspendieron en agua destilada con trazas de Tween 80 (aproximadamente 0.1% v/v). El resto de las sustancias fueron de grado analítico.

5.6 Identificación de compuestos

El aceite esencial y el extracto de diclorometano de *T. parthenium* se analizaron usando un cromatógrafo de gases LECO Modelo Pegasus AD acoplado a un espectrómetro de masas marca Agilet modelo 6890N con inyector automático Agilet modelo T5606-01.

Se inyectaron 1.0 μL de la muestra en una columna Capilar Fase DB5 de Agilet (10m X 0.18 mm de diámetro interno espesor de película 0.18 μm). El gas acarreador fue Helio a una velocidad de flujo de 1.0 mL/min. La temperatura del inyector fue de 300 °C, con la temperatura de la línea de transferencias de 250 °C y la temperatura de la cámara de 200 °C. El retraso de encendido del filamento fue de 100 segundos.

El programa de calentamiento utilizado fue temperatura inicial de 40 °C durante 3 minutos, la velocidad de calentamiento de 50 °C por minuto hasta 280 °C durante 10 minutos. El intervalo de masa 45-550 U. La adquisición espectral 10 espectros por segundo. La inyección fue con división de flujo (split). La técnica utilizada fue de baja resolución por impacto electrónico y detección de iones positivos. Los componentes fueron identificados utilizando la Biblioteca NIST versión 2.0.

5.7 Ensayo biológico

5.7.1 Disección de la aorta torácica y montaje de la preparación

Los animales se sacrificaron por sobredosis de éter etílico, posteriormente se realizó la disección de la aorta torácica limpiándola de grasa y tejido conectivo. En cada uno de los experimentos se utilizaron 2 animales. Se cortaron 4 anillos de 2 mm de largo aproximadamente, los cuales se incubaron en cámaras verticales para tejidos aislados conteniendo solución Krebs con composición mM de NaCl 117, KCl 4.7; CaCl_2 2.5; MgSO_4 1.2; NaHCO_3 24.8, KH_2PO_4 1.2, EDTA 0.023 y glucosa 11.1. Cada uno de los anillos de aorta fue colocado en una cámara para tejido aislado con 10 mL de solución Krebs a 37 °C y con un burbujeo constante con gas carbógeno (95% O_2 y 5% CO_2). La preparación se colocó entre dos ganchos de alambre Nicromel, uno de los extremos se fija a la cámara y el otro al

transductor de fuerza (Grass FT 03E) conectado al polígrafo Biopack System. Los datos se obtuvieron mediante el programa Acknowledge MP100 versión 3.53.

La tensión inicial para los anillos fue de 4 g dejándolos estabilizar por un período de 30 minutos. Antes de realizar la evaluación de los diferentes compuestos, los anillos de aorta se estimularon con noradrenalina (bitartrato de (-)-arterenol, Sigma Co.) a una concentración de 10^{-8} M, tres veces a intervalos de 30 minutos. Después de cada estimulación, los tejidos fueron lavados tres veces con solución Krebs.

Para evaluar la integridad del endotelio, después de estimular con noradrenalina 10^{-6} M y alcanzar la meseta de contracción, se adicionó carbacol (Sigma Co.) a una concentración de 10^{-6} M. La respuesta vasorrelajante indicó la integridad del endotelio.

5.7.2 Estabilidad de la preparación

Para demostrar la estabilidad de la preparación en el tiempo en el que se realizaron los experimentos, se realizaron dos curvas acumulativas dosis-respuesta para serotonina (10^{-7} M - 3×10^{-5} M) o para fenilefrina (10^{-11} M - 10^{-5} M), dejando 60 minutos entre cada curva, con tres lavados cada 15 minutos en este intervalo.

5.7.3 Actividad inhibitoria de las contracciones inducidas por serotonina

Primero se realizó una curva acumulativa de serotonina, en el rango de concentraciones 10^{-7} M - 3×10^{-5} M (**Figura 3**). Después de lavar el tejido tres veces con solución Krebs, el tejido se dejó reposar durante 60 minutos, con tres lavados cada 15 minutos. Posteriormente se incubaron los anillos de aorta durante 10 minutos con diferentes concentraciones de los extractos de prueba y

posteriormente se volvieron a contraer los anillos de la aorta con serotonina a las concentraciones evaluadas inicialmente (10^{-7} M - 3×10^{-5} M).

El extracto de la muestra proveniente del mercado de Sonora, se evaluó a las concentraciones 75, 100, 150, 200 y 250 $\mu\text{g/mL}$. Para posteriormente calcular el valor de pA_2 . Los extractos evaluados se prepararon suspendiéndose en la cantidad necesaria de agua destilada con trazas de Tween 80 para obtener las concentraciones deseadas. En cada uno de los experimentos se utilizó uno o dos anillos de aorta como control, el cual consistió en una solución de agua destilada con trazas de Tween 80.

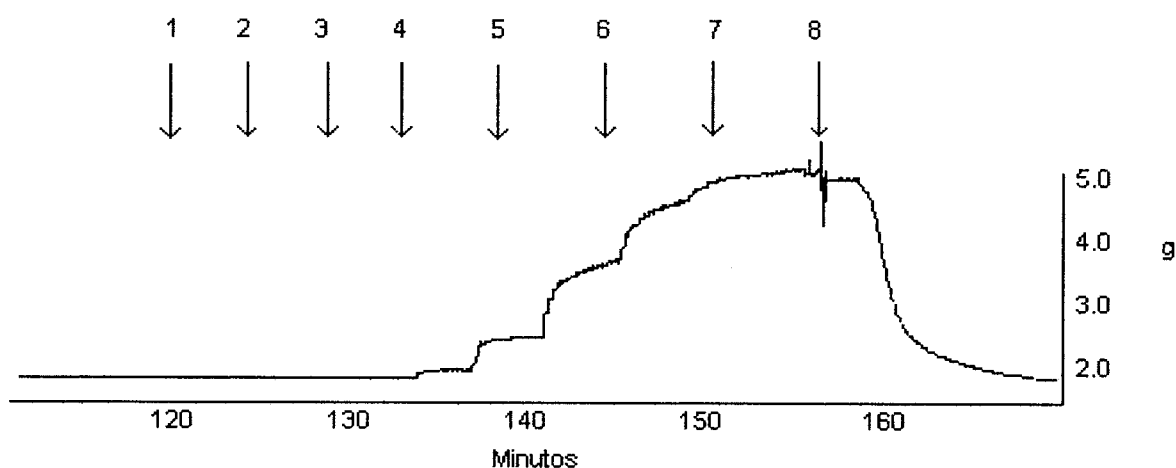


Figura 3. Registro de concentración-respuesta acumulativa de serotonina a concentraciones molares: 1 (10^{-7}), 2 (3×10^{-7}), 3 (10^{-6}), 4 (3×10^{-6}), 5 (10^{-5}), 6 (1.77×10^{-5}) y 7 (3×10^{-5}), 8 (lavado) en la aorta de rata.

El aceite esencial de la muestra proveniente de Tulyehualco se evaluó como inhibidor de las contracciones inducidas por serotonina, a las concentraciones 100, 150, 200, 250 y 300 $\mu\text{g/mL}$. De igual forma se evaluaron a los siguientes compuestos, isoborneol, cariofileno, alcanfor, α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno, a la concentración 150 $\mu\text{g/mL}$. Estos compuestos se identificaron tanto en el extracto como en el aceite. Aquellos compuestos que

resultaron activos, se evaluaron a las concentraciones 25, 50, 75, 100 y 150 $\mu\text{g/mL}$, para posteriormente calcular el valor de pA_2 . En el caso de los pinenos también se evaluó la concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$.

5.7.4 Actividad inhibitoria de las contracciones inducidas por fenilefrina

La metodología seguida para la evaluación del extracto de diclorometano, del aceite esencial y de los compuestos fue similar a la descrita en el apartado 5.7.3. Es decir se construyeron las curvas concentración-respuestas acumulativas de fenilefrina en el intervalo de concentraciones $10^{-11}\text{M} - 10^{-5}\text{M}$ (Figura 4) en presencia y en ausencia del extracto o compuesto de prueba

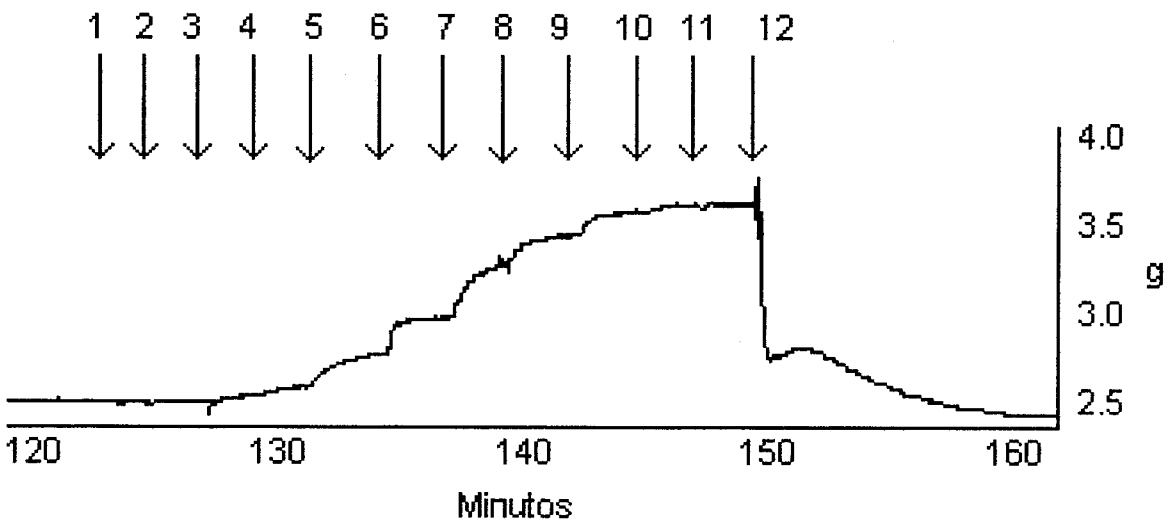


Figura 4. Registro de concentración-respuesta acumulativa de fenilefrina concentraciones molares: 1 (10^{-11}), 2 (10^{-10}), 3 (3×10^{-10}), 4 (10^{-9}), 5 (3×10^{-9}), 6 (10^{-8}), 7 (3×10^{-8}), 8 (10^{-7}), 9 (3×10^{-7}), 10 (10^{-6}), 11 (10^{-5}), 12 (lavado) en la aorta de rata.

5.7.5 Efecto de los compuestos α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno sobre la aorta contraída con serotonina.

La interacción de los compuestos α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno, fue analizada en aorta de rata pre-contraída con serotonina. La

serotonina en concentración (3×10^{-5} M) se adicionó al baño del tejido, hasta alcanzar la meseta de contracción, posteriormente los compuestos se adicionaron a la concentración de 150 $\mu\text{g/mL}$. En otro tipo de experimento se invirtió el orden de adición, incorporando primero los compuestos α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno (150 $\mu\text{g/mL}$) y después de 10 minutos la serotonina (3×10^{-5} M).

5.7.6 Efecto de los compuestos α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno sobre la aorta contraída con fenilefrina.

En el caso de la interacción con fenilefrina, se siguió la misma metodología del punto 5.7.5, la concentración máxima de fenilefrina fue 1×10^{-5} M.

5.7.7 Análisis estadístico y cálculo de pA_2 .

En el estudio de estabilidad de la preparación se realizó el análisis estadístico por medio de la prueba "t" de Student para datos pareados. Mientras que para los otros estudios se realizó un análisis de varianza de una vía, y en los casos donde se presentó una diferencia estadísticamente significativa, se procedió a realizar una prueba de t de Dunnett. Se consideraron diferencias significativas para una $p < 0.05$.

El valor de pA_2 , para antagonismo no competitivo, se calculó tomando los valores máximos de respuesta, producidos por los agonistas (fenilefrina y serotonina) en presencia de los compuestos evaluados.

Se tomó en cuenta la siguiente relación:

$$pA_2' = pB_x' + \text{Log} (x - 1) \quad (1)$$

En donde:

B_x = Concentración de antagonista no competitivo

Donde $x = \text{Efecto máximo en ausencia de } B_x / \text{Efecto máximo en presencia de } B_x$

Cuando $x = 2$ en la relación (1) el $\text{Log}(x - 1) = 0$

Entonces $pA_2' = pB_x'$ y $0 = b + m * \text{Log } B$, por lo que $-b / m = \text{Log } B$

En la figura 9 se muestra una gráfica utilizada en el cálculo de pA_2 .

Donde:

$x = \text{Efecto máximo en ausencia de } B_x / \text{Efecto máximo en presencia de } B_x$

$B = \text{concentración del antagonista no competitivo } (\mu\text{g/mL, M, mM})$.

$b = \text{Ordenada al origen y } m = \text{pendiente}$

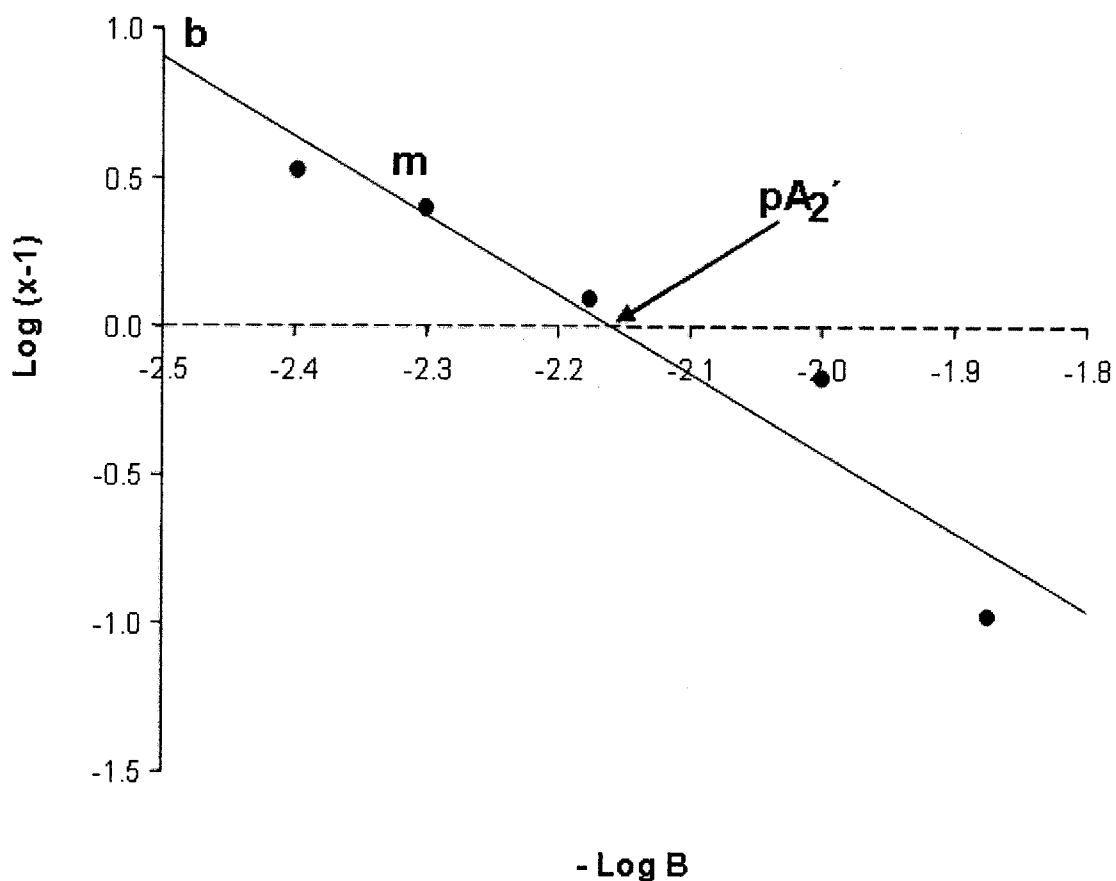


Figura 5. Gráfica utilizada para el cálculo de pA_2 .

VI RESULTADOS

6.1 Actividad inhibitoria a las contracciones inducidas por serotonina

6.1.1 Estabilidad de la preparación

Para determinar la estabilidad de la preparación se realizaron dos curvas concentración-respuesta, espaciadas cada una por 60 minutos, tiempo suficiente para la evaluación de los extractos de *T. parthenium*. La preparación fue estable y las curvas totalmente reproducibles en las condiciones experimentales evaluadas (Gráfica 1). No se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$).

Lo anterior indicó que el efecto inhibitor de los extractos o compuestos, sobre las contracciones inducidas por serotonina, no se debió a la pérdida del tono por agotamiento del tejido. Durante cada experimento se tomó un anillo de aorta como control, al cual se le adicionó el vehículo sin extracto, obteniéndose lo mismos resultados (Figura 6).

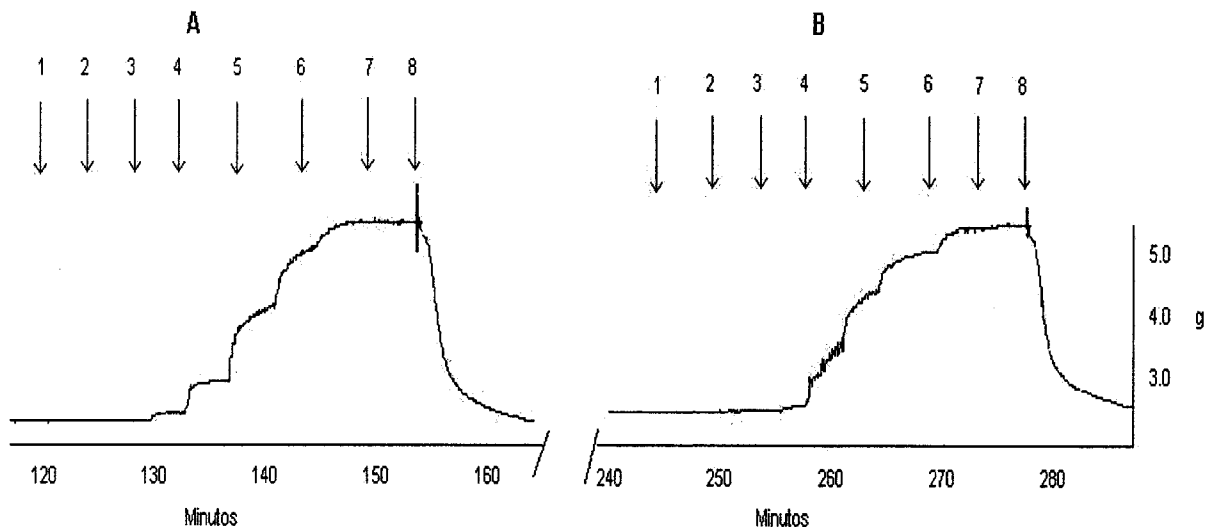
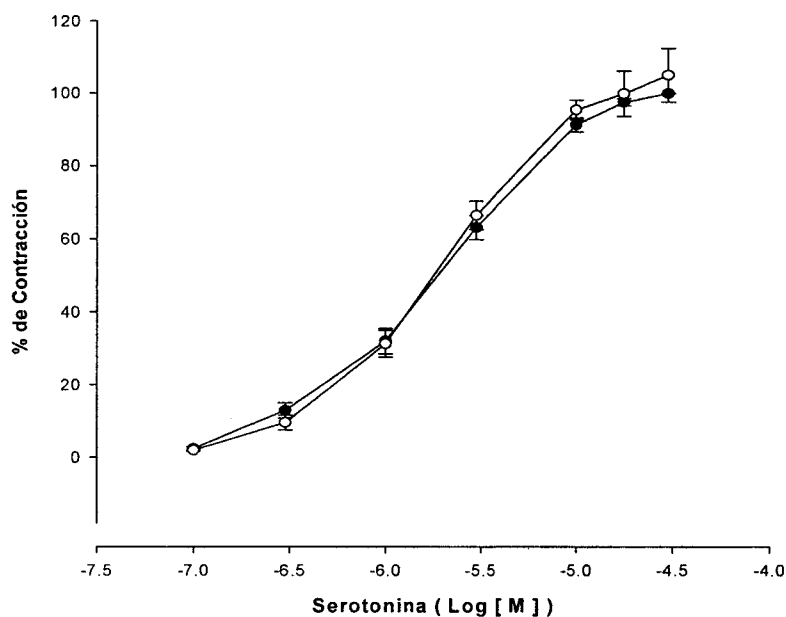


Figura 6. Registro de concentración-respuesta acumulativa de serotonina, pruebas control a concentraciones molares: 1 (10^{-7}), 2 (3×10^{-7}), 3 (10^{-6}), 4 (3×10^{-6}), 5 (10^{-5}), 6 (1.77×10^{-5}) y 7 (3×10^{-5}); 8 (Lavado). A (Tiempo 0 minutos) y B (Tiempo 60 minutos) en la aorta de rata.

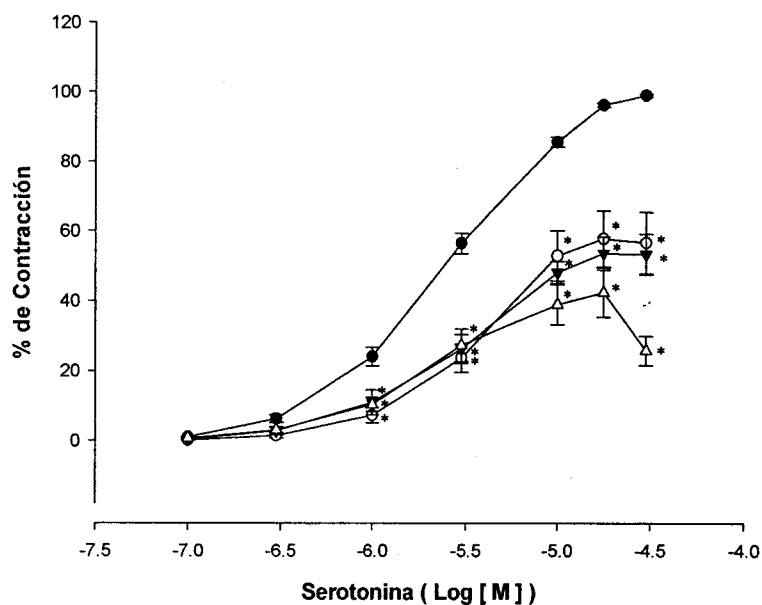


Gráfica 1: Curva concentración-respuesta para evaluar la estabilidad de la preparación. Actividad vasoconstrictora de la serotonina a tiempo 0 (●), a los 60 minutos (○). Cada punto representa la media \pm EEM de al menos seis observaciones.

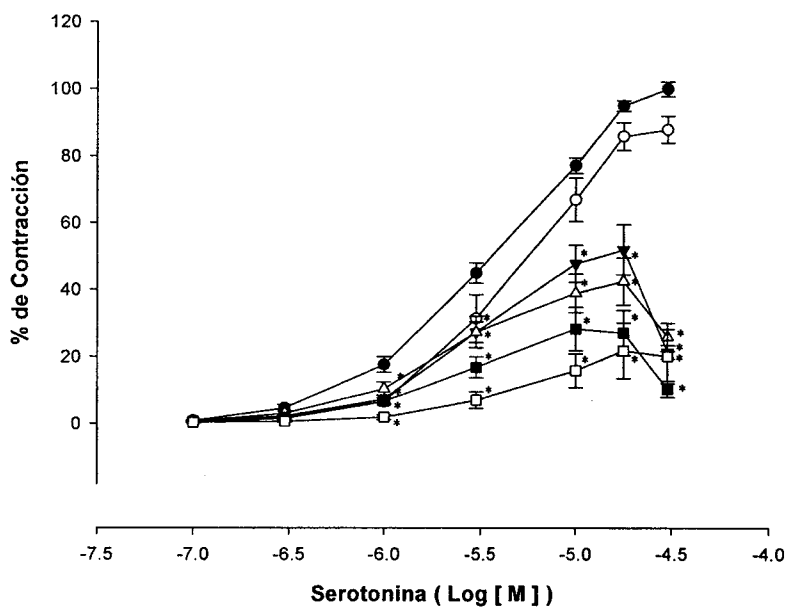
6.1.2 Efecto antagonista de los extractos obtenidos de la planta fresca y del aceite esencial, sobre las contracciones inducidas por serotonina

El extracto de diclorometano (**Gráfica 2**) de las tres muestras de *T. parthenium* presentaron una inhibición de tipo no competitivo y dependiente de la concentración. No se encontró diferencia estadísticamente significativa en la actividad biológica de estas muestras.

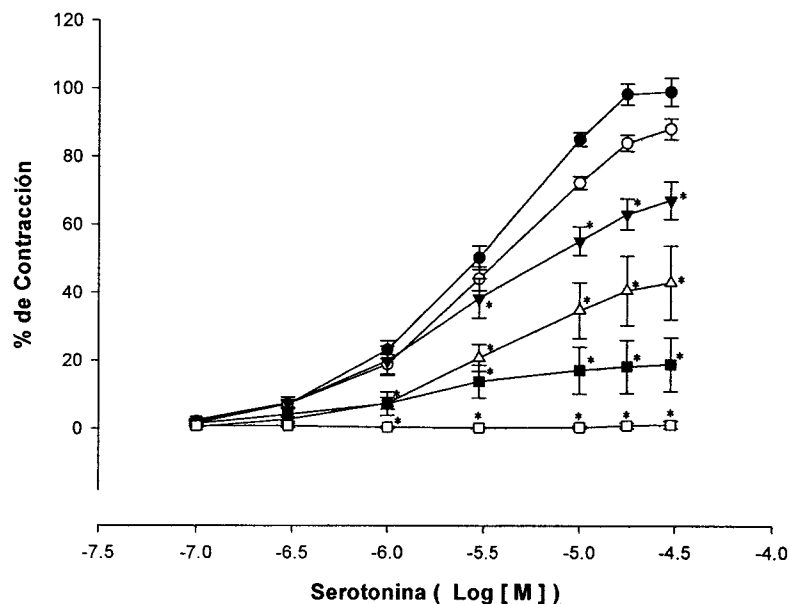
El extracto de diclorometano de la planta adquirida en el mercado de Sonora y el aceite esencial de la proveniente de Tulyehualco presentaron una inhibición de tipo no competitivo dependiente de la concentración (**Gráfica 3 y 4**). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) a las concentraciones evaluadas.



Gráfica 2: Curva concentración–respuesta contráctil provocada por serotonina sola (●) o en presencia de 150 µg/mL del extracto de diclorometano de la planta: Oaxaca (○), Tulyehualco (▼), mercado de Sonora (△). Cada punto representa la media ± EEM de al menos seis observaciones. * $p < 0.05$.



Gráfica 3: Curva concentración–respuesta contráctil provocada por serotonina sola (●) o en presencia del extracto de diclorometano de la planta fresca, 75 µg/mL (○), 100 µg/mL (▼), 150 µg/mL (△), 200 µg/mL (■) y 250 µg/mL (□). Cada punto representa la media ± EEM de al menos seis observaciones. * $p < 0.05$.



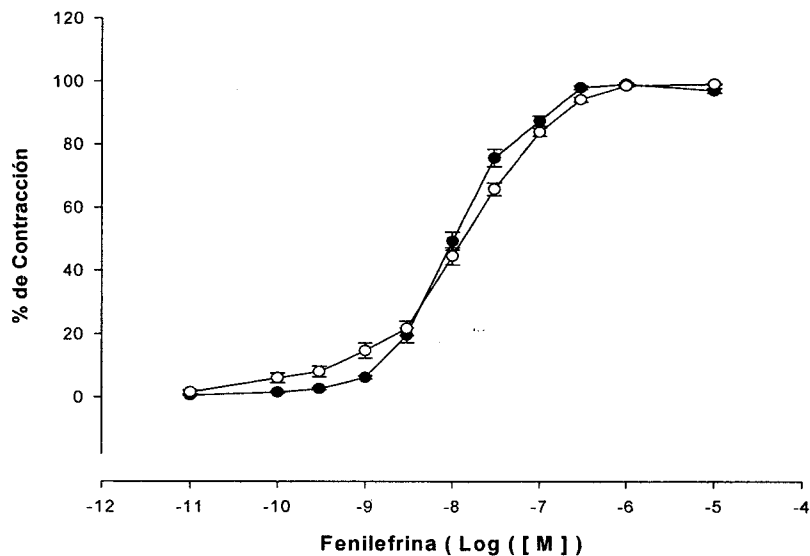
Gráfica 4: Curva concentración–respuesta contráctil provocada por serotonina sola (●) o en presencia del aceite esencial a las concentraciones 100 µg/mL (○), 150 µg/mL (▼), 200 µg/mL (△), 250 µg/mL (■) y 300 µg/mL (□). Cada punto representa la media ± EEM de al menos seis observaciones. * $p < 0.05$.

6.2 Actividad inhibitoria a las contracciones inducidas por fenilefrina

6.2.1 Estabilidad de la preparación

Para determinar la estabilidad de la preparación se realizaron dos curvas concentración–respuesta, espaciadas cada una por 60 minutos, tiempo suficiente para la evaluación de los extractos o compuestos. La preparación fue estable y las curvas totalmente reproducibles en las condiciones experimentales evaluadas (**Gráfica 5**). No se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$).

Esto es indicativo, de que el abatimiento en la fuerza de contracción producida por *T. parthenium*, no era a causa de la pérdida de tono por agotamiento del tejido. Durante cada experimento se tomó un tejido como control al cual se le adicionó el vehículo sin extracto, obteniéndose lo mismos resultados (**Figura 7**).



Gráfica 5: Curva concentración-respuesta. Actividad vasoconstrictora de la fenilefrina a tiempo 0 (●), a los 60 minutos (○). Cada punto representa la media \pm EEM de al menos seis observaciones.

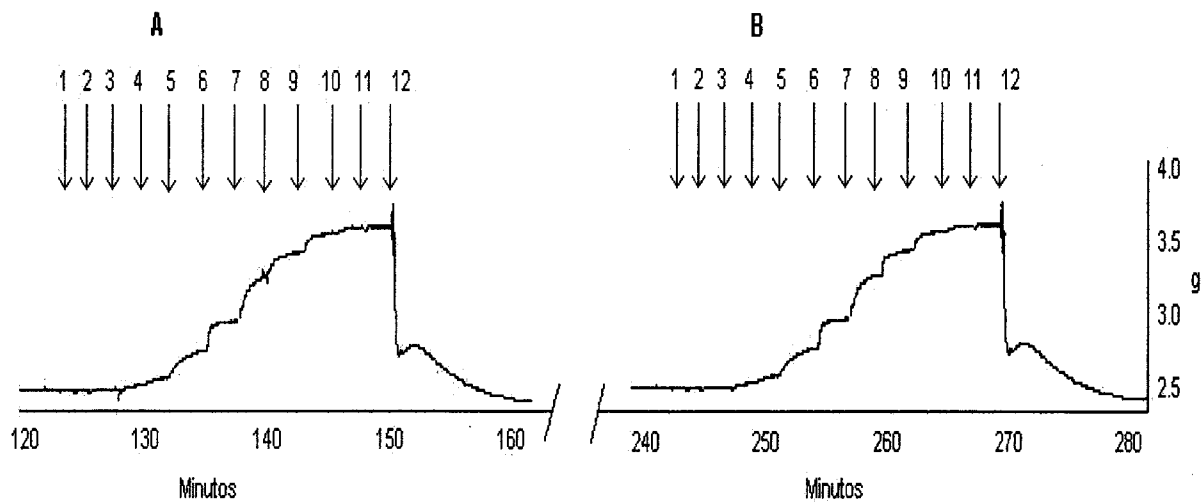


Figura 7. Registro de concentración-respuesta acumulativa de fenilefrina concentraciones molares: 1 (10^{-11}), 2 (10^{-10}), 3 (3×10^{-10}), 4 (10^{-9}), 5 (3×10^{-9}), 6 (10^{-8}), 7 (3×10^{-8}), 8 (10^{-7}), 9 (3×10^{-7}), 10 (10^{-6}), 11 (10^{-5}), 12 (lavado) en la aorta de rata.

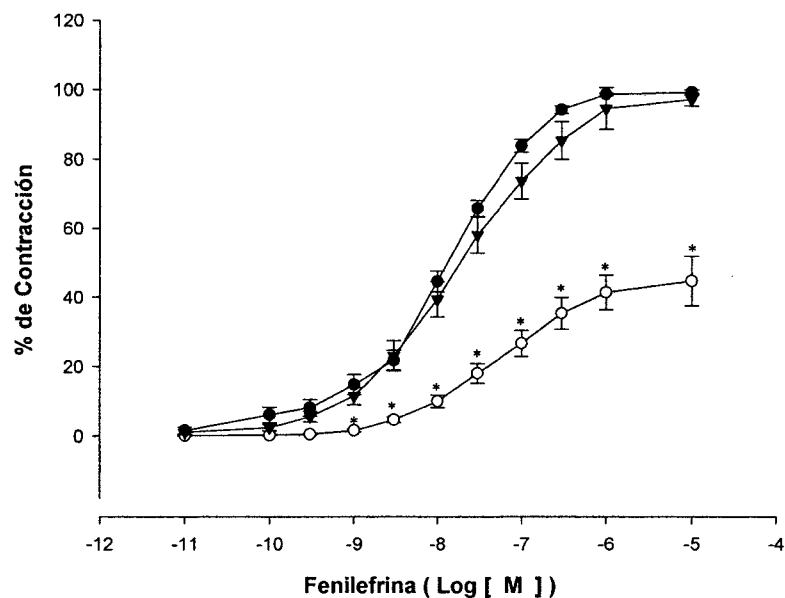
6.2.2 Efecto antagonista de los extractos obtenidos de la planta fresca y del aceite esencial, sobre las contracciones inducidas por fenilefrina

El aceite no fue capaz de inhibir las contracciones inducidas por fenilefrina (**Gráfica 6**). Mientras que la inhibición del extracto de diclorometano fue de tipo no competitiva dependiente de la concentración (**Gráfica 7**). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas $p < 0.05$, en las concentraciones evaluadas del extracto de *T. parthenium*.

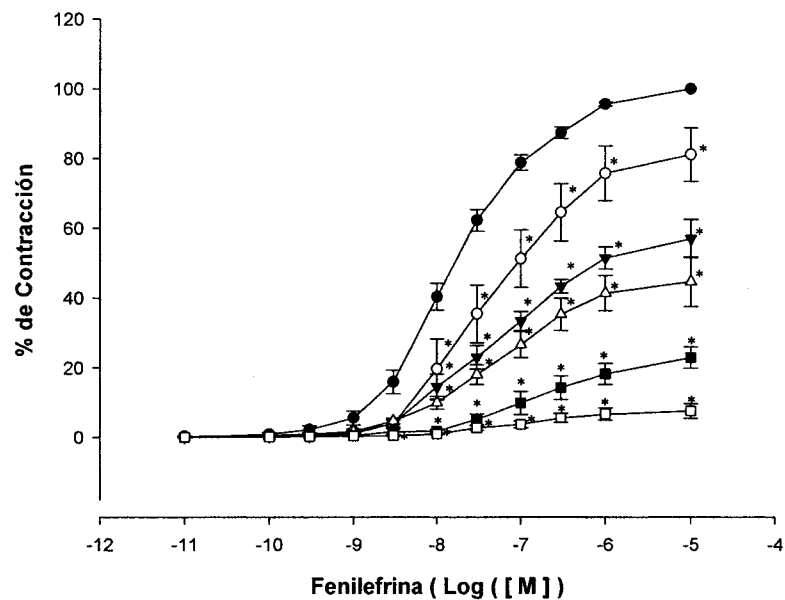
6.3 Compuestos de los extractos de diclorometano y del aceite esencial de *Tanacetum parthenium*

Tanto en el aceite esencial como en el extracto de diclorometano de *T. parthenium*, se identificaron el alcanfor, el acetato de crisantenilo, el camfeno, el α -pineno, el β -pineno, el α -terpineno, el γ -terpineno, el 4-terpineol, el óxido de cariofileno, el cariofileno y los éteres espirocetálicos, entre otros. La identificación se realizó por CG-EM (**Figura 8, 9, 10, 11 y 12**). Los espectros de masas de los componentes se compararon con la Biblioteca NIST versión 2.0 y por la comparación con espectros publicados por Masada y Adams (Adams, 1995 y Masada, 1976). Los compuestos encontrados en las muestras de *T. parthenium* se encuentran resumidos en el cuadro 8. Estos compuestos ya han sido reportados (Bohlman y Zdero, 1982; Knight, 1995; Hendriks, 1996 y Akpulat *et al.*, 2005). En el cuadro 9 se enlistan los picos característicos de los mismos. Estos picos corresponden a los descritos en la literatura (Adams, 1995 y Masada, 1976) y los espectros de masas se encuentran en el anexo al final de este manuscrito.

Los compuestos mayoritarios tanto para el aceite esencial como para el extracto de diclorometano de *T. parthenium* fueron el alcanfor (~15-20%) y el acetato de crisantenilo (~15-25%).



Gráfica 6: Curva concentración–respuesta contráctil provocada por fenilefrina sola (●), o en presencia de 150 µg/mL del aceite esencial (▼) o del extracto de diclorometano (○). Cada punto representa la media de al menos ± EEM seis observaciones. * p < 0.05.



Gráfica 7: Curva concentración–respuesta contráctil provocada por fenilefrina sola (●) o en presencia del extracto de diclorometano de la planta fresca a las concentraciones 75 µg/mL (○), 100 µg/mL (▼), 150 µg/mL (△), 200 µg/mL (■) y 250 µg/mL (□). Cada punto representa la media ± EEM de al menos seis observaciones. * p < 0.05

Cuadro 8. Composición del aceite esencial y del extracto de diclorometano de planta fresca de *T. parthenium* (en porcentaje).

T. R. (s)	Compuesto	Aceite Oaxaca	Aceite Tulyehualco	Extracto Tulyehualco	Extracto Oaxaca	Extracto Sonora
115.941	1,2,5,5-tetrametil-1,3-ciclopentadieno	-	5.5	-	-	-
156.741	Triciclina	0.4	0.7	0.3	-	-
157.341	3,6-dimetil-5-octen-2-one	-	-	0.4	-	-
158.331	Biciclo[3.1.0]-hex-2-ene 2-metil-5-(1-metiletil)	0.7	1.1	-	-	-
162.241	α -pineno	1.5	2.8	0.8	0.3	0.13
169.241	Camfeno	7.7	8.2	4.3	0.9	0.9
173.241	Benzaldehído	t	t	-	6.1	0.3
180.841	Sabineno	0.3	0.5	0.1	0.1	-
182.441	β -pineno	0.3	0.5	0.1	t	-
188.556	β -mirceno	0.1	0.3	-	-	-
201.056	γ -terpineno	0.1	-	-	-	-
204.341	o-cimeno	2.6	-	1.5	0.8	0.75
205.556	Tujona	0.3	-	-	0.2	-
206.856	Limoneno	0.5	1.1	t	-	-
208.156	Eucaliptol	t	-	-	-	-
215.756	trans-tujenol	0.3	0.3	-	-	-
220.331	4-careno	-	4.4	-	-	-
220.856	Cosmeno	2.2	0.4	0.2	0.5	0.3
232.341	trans-2-careno	-	-	-	0.4	-
234.656	α -terpineno	0.1	0.2	0.3	-	0.6
239.256	4-tujanol	0.2	0.6	-	-	-
246.641	cis-verbenol	0.2	-	-	0.8	-
250.641	Isobornil isovalerato	-	0.3	t	t	1.2
251.956	2,6-dimetil-3,5-heptadien-2-ol	0.2	0.5	0.5	-	1.2
256.856	2,4,6-trimetil-3-ciclohexeno	0.4	3.7	-	-	-
259.741	4-etil-2-hexanal	-	-	-	-	6.2
261.056	Alcanfor	36.8	2.1	25.1	28.5	25.5
262.131	trans-pinano	-	5.6	-	-	-
263.131	trans-3-caren-2-ol	-	6.7	-	-	-
265.156	7-bornadienol	t	-	-	-	-
266.576	Borneol	t	0.3	-	-	-
268.856	Pinocarvona	0.1	0.2	-	-	-
269.641	2,5-dimetil-1,3-hexadieno	-	-	3.2	1.5	1.7
270.331	Laureleno	-	2.1	-	-	-
270.556	4-metil-1,3-heptadieno	3.2	-	-	-	-

T. R. (s)	Compuesto	Aceite Oaxaca	Aceite Tulyehualco	Extracto Tulyehualco	Extracto Oaxaca	Extracto Sonora
271.056	Biciclo[2.2.0]-hexane-1-carboxaldehido	0.6	-	-	-	-
275.156	4-terpineol	0.9	2.3	-	-	-
277.441	Benzofulvona	-	-	-	0.2	0.1
288.441	α -bergamotona	-	-	-	t	0.3
301.056	Acetato de crisantenilo	25.5	25.0	16.5	15	-
310.856	Mirnatol	t	-	t	t	t
315.740	Safranal	-	-	-	-	0.5
319.741	trans-verbenol	-	0.2	1.3	-	2
321.856	Isoborneol	5.9	9.1	3.8	2.2	3.7
336.841	Carveol	-	0.4	0.2	-	-
365.541	Arginina	-	-	-	0.355	0.67
374.541	α ,2,6,6-tetrametil 1,3-ciclohexadien-1-metanol	-	-	3.0	-	15.3
376.856	trans-cariofileno	0.3	0.3	t	t	t
387.456	trans- β -farneseno	0.2	0.2	-	-	-
390.956	Farneseno epóxido	t	-	-	-	-
399.856	Germacreno D	0.2	0.2	-	-	-
428.031	2,4-dimetil-2-deceno	-	3.6	-	-	-
437.356	Cariofileno	0.6	0.5	t	t	t
491.241	2,5-bornanediol	t	t	1.1	-	-
535.256	Éteres espirocetálicos (tonghaosu)	0.1	-	1.2	4.8	5
552.331	Acido palmítico	-	0.4	0.3	1.9	0.4
614.741	Columbina	-	-	0.2	0.7	-
625.841	Verrucarrol	-	-	1.0	6	1.6
646.941	Vitamina A	-	-	0.2	0.8	5
655.141	16-Hidroxigenol	-	-	2.8	9.2	4.1
667.141	Ambrosina	-	-	0.2	1.4	-
692.141	2,3-dimetil-heptadecano	-	-	0.1	-	-
829.141	Piperidina 1-(1-ciclopropil-pentil)	-	-	1.3	0.3	0.5
TOTAL (%)		93.0	94.0	70.2	82.3	78

t =Trazas.

- = Ausente.

T. R. = Tiempo de retención en una columna Capilar Fase DB5 de Agilet (10m X 0.18 mm de diámetro interno espesor de película 0.18 μ m).

Cuadro 9. Parámetros del estudio por CG-EM de los compuestos de *T. parthenium*.

COMPUESTO		m / z (%)
Alcanfor	Experimental	55(34), 69(51), 81(78), 83(28), 95(100), 108(31), 137(5), 152(12).
	Referencia	55(56), 69(54), 81(72), 83(40), 95(100), 108(36), 137(6), 137(6), 152(16).
Camfeno	Experimental	53(20), 67(37), 79(50), 93(100), 105(23), 121(47), 136(13).
	Referencia	53(16), 67(28), 79(49), 93(100), 105(69), 121(55), 136(18).
α -pineno	Experimental	53(15), 77(48), 93(100), 105(12), 121(11), 136(8).
	Referencia	53(12), 77(42), 93(100), 105(10), 121(26), 136(12).
β -pineno	Experimental	53(17), 69(37), 79(39), 93(100), 107(6), 121(9), 136(8).
	Referencia	53(12), 69(44), 79(28), 93(100), 107(10), 121(20), 136(12).
Isoborneol	Experimental	55(25), 59 (3), 67(30), 80(26), 95(100), 107(17), 121(37), 136(32), 149(4), 154(6).
	Referencia	55(22), 59(5), 67(25), 79(10), 95(100), 107(4), 121(9), 136(5) 149(4).
Cariofileno	Experimental	53(43), 69(68), 79(90), 91(100), 105(57), 119(30), 133(52), 161(15), 189(8), 204(5).
	Referencia	53(26), 69(60), 79(99), 91(100), 105(48), 119(32), 133(23), 161(28), 189(3), 204(3).
α -terpineno	Experimental	51(26), 65(28), 77(56), 93(100), 105(26), 121(90) 136(37).
	Referencia	41(24), 51(19), 65(18), 77(57), 93(100), 105(22), 121(83), 136(39).
γ -terpineno	Experimental	51(21), 65(23), 77(56), 93(100) 105(26), 121(20), 136(26).
	Referencia	41(32), 51(13), 65(9), 77(44), 93(100), 105(19), 121(27), 136(39).
Acetato de crisantenilo	Experimental	65(34), 81(61), 91(67), 119(100), 134(66), 152(6), 194(2).
	Referencia	43(62.5), 65(10), 81(18), , 91(35), 119(100), 134(35), 152(4), 194(3).
Triciclina	Experimental	51(12), 67(13), 77(32), 93(100), 105(10), 121(15), 136(12).
	Referencia	51(13), 67(19), 77(43), 93(100), 105(11), 121(15), 136(6).
4-terpineol	Experimental	55(26), 67(21), 71(100), 93(46), 111(31), 136(8), 154(6).
	Referencia	55(36), 67(34), 71(100), 81(29), 93(62), 111(38), 136(9), 154(5).
Limoneno	Experimental	53(31), 68(100), 79(45), 93(65), 107(15), 121(14), 136(14).
	Referencia	53(22), 68(100), 79(24), 93(54), 107(16), 121(20), 136(16).
o-cimeno	Experimental	51(9), 65(15), 77(15), 91(49), 103(6), 119(100), 134(23).
	Referencia	51(9), 65(11), 77(12), 91(57), 103(7), 119(160), 134(22).
Germacreno D	Experimental	55(29), 67(31), 79(64), 91(100), 105(910), 119(49), 133(25), 147(5), 161(64), 204(8).
	Referencia	55(27), 67(28), 79(55), 91(100), 105(93), 119(54), 133(32), 147(13), 161(94), 204(9).

m/z = Relación masa/carga. (%) = Porcentaje de abundancia de los iones moleculares.

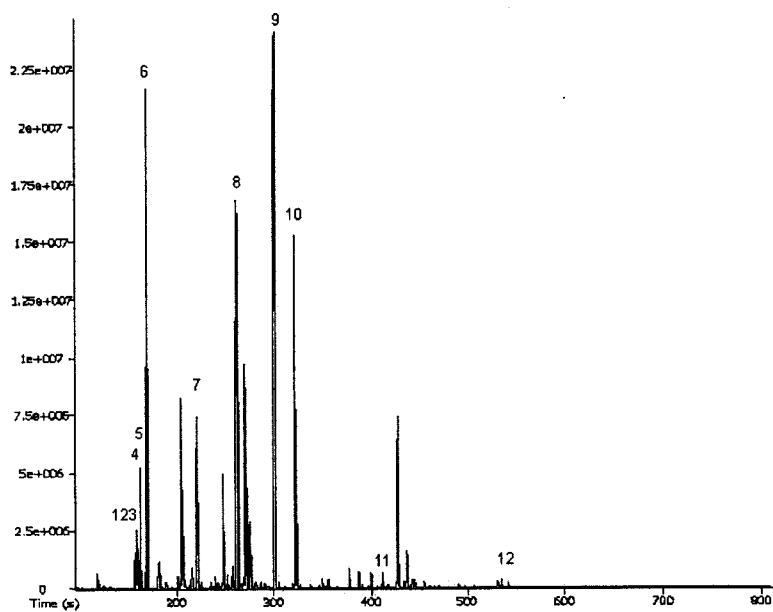


Figura 8. Cromatograma de gases del aceite esencial originario de Oaxaca. Triciclina(1), α -pineno(2), camfeno(3), β -pineno(4), γ -terpineno(5), o-cimeno(6), α -terpineno(7), alcanfor(8), acetato de crisantenilo(9), isoborneol(10), cariofileno(11) y éteres espirocetálicos(12).

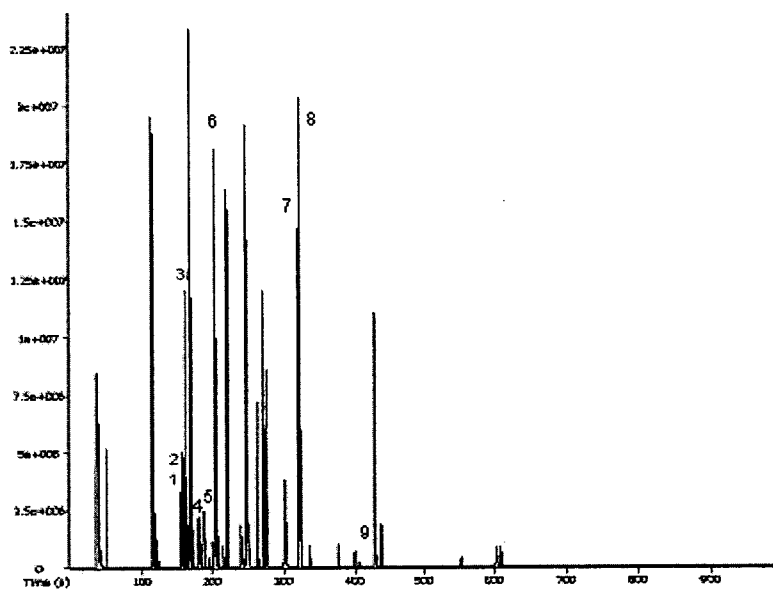


Figura 9. Cromatograma de gases del aceite esencial originario de Tulyehualco. Triciclina(1), α -pineno(2), camfeno(3), β -pineno(4), α -terpineno(5), alcanfor(6), acetato de crisantenilo(7), isoborneol(8) y cariofileno(9).

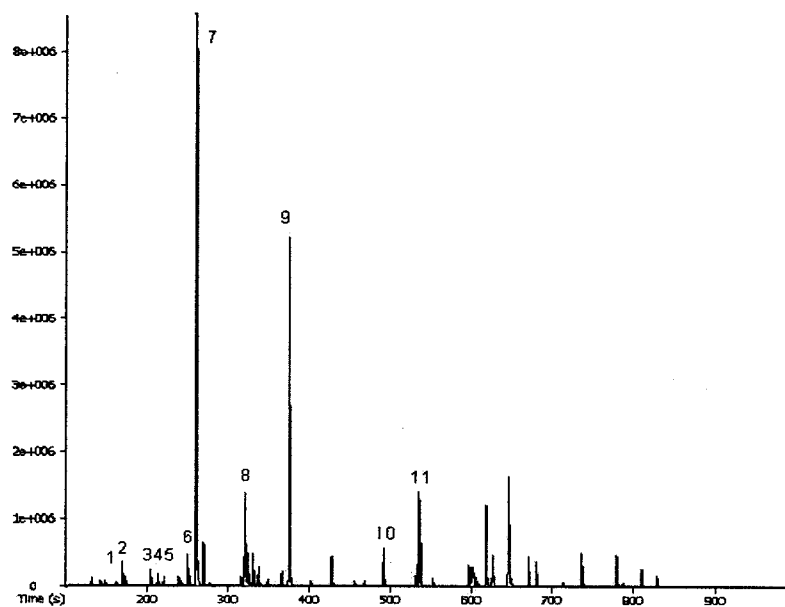


Figura 10. Cromatograma de gases del extracto de diclorometano originario del mercado de Sonora. α -pineno(1), camfeno(2), o-cimeno(3), cosmeno(4), 4-tujanol(5), isoborneol isovalerato(6), alcanfor(7), isoborneol(8), α -2,6,6-tetrametil-1,3-ciclohexadieno (9), 2,5-bornadienol (10) y éteres espirocetálicos (11).

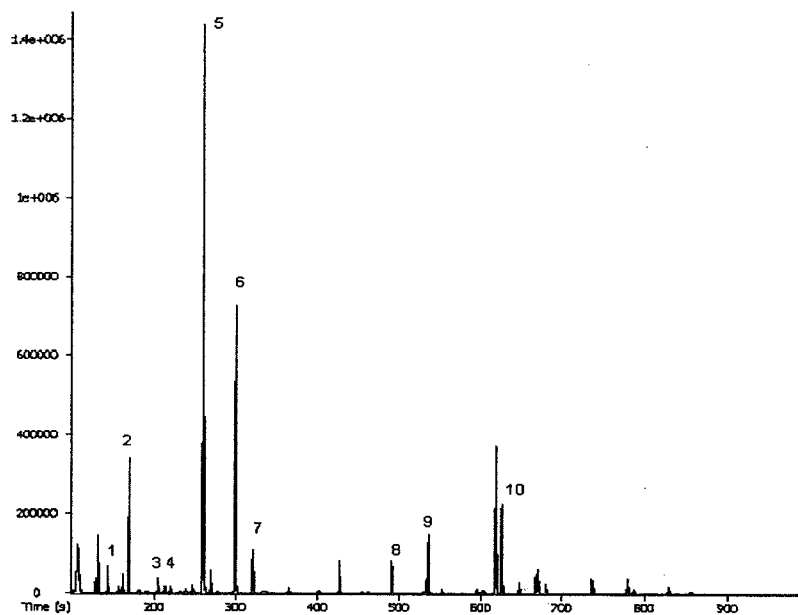


Figura 11. Cromatograma de gases del extracto de diclorometano originario de Oaxaca. α -pineno(1), camfeno(2), β -pineno(3), cosmeno(4), alcanfor(5), acetato de crisantenilo(6), isoborneol(7), 2,5-bornadienol(8), éteres espirocetálicos (9) y verrucarrol (10).

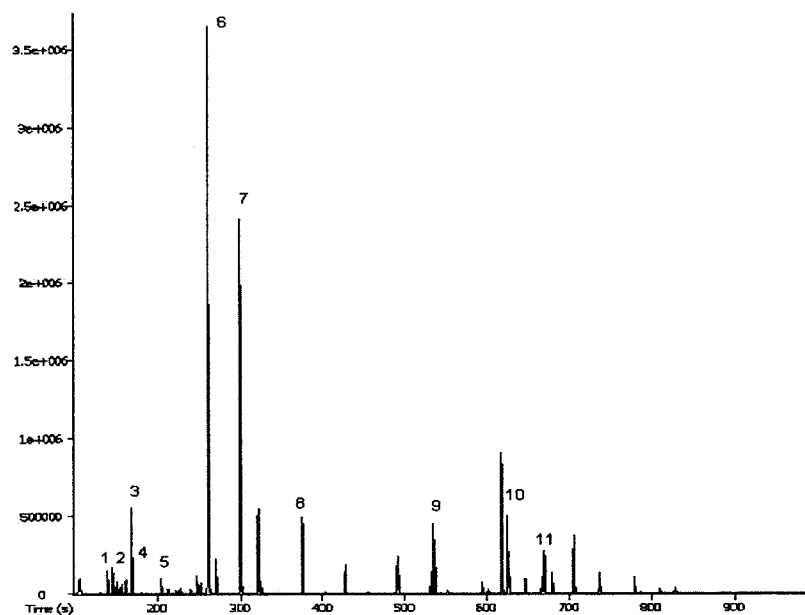


Figura 12. Cromatograma de gases del extracto de diclorometano originario de Tulyehualco. Triciclina(1), α -pineno(2), camfeno(3), o-cimeno(4), cosmeno(5), alcanfor(6), acetato de crisantenilo(7), isoborneol(8), éteres espirocetálicos (9), verrucarrol(10) y ambrosina(11).

Algunos compuestos en común identificados en las muestras de *T. parthenium* fueron el isoborneol, el cariofileno, el alcanfor, el α -pineno, el β -pineno, el α -terpineno y el γ -terpineno, entre otros. Los cuales se evaluaron como inhibidores de las contracciones inducidas por serotonina y fenilefrina.

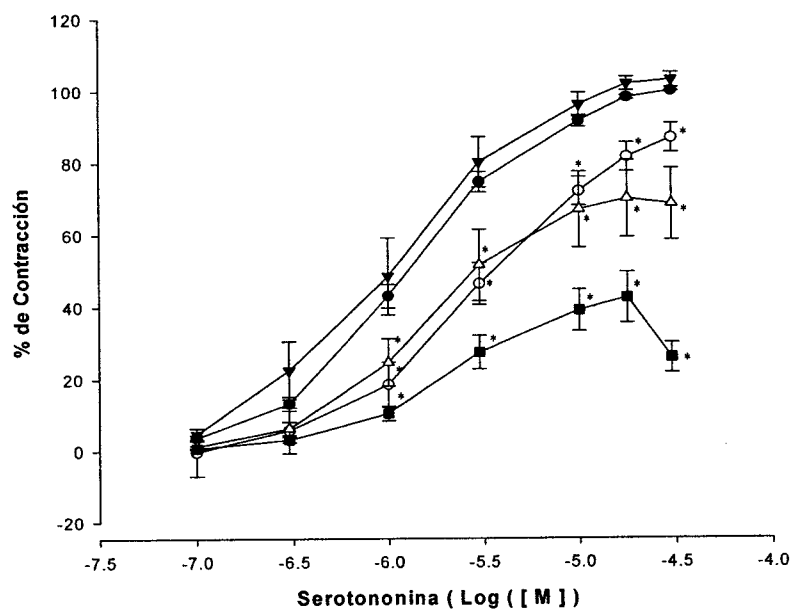
6.4 Efecto antagonista de los compuestos isoborneol, cariofileno, alcanfor, α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno, sobre las contracciones inducidas por serotonina y fenilefrina

El alcanfor y el isoborneol presentaron actividad inhibitoria estadísticamente significativa, disminuyendo las contracciones producidas por serotonina en un 40% y un 20 % respectivamente (**Gráfica 8**), pero no es tan marcada como en el extracto, así que descartamos a estos compuestos como los responsables de la actividad de *T. parthenium*, o por lo menos no los únicos responsables.

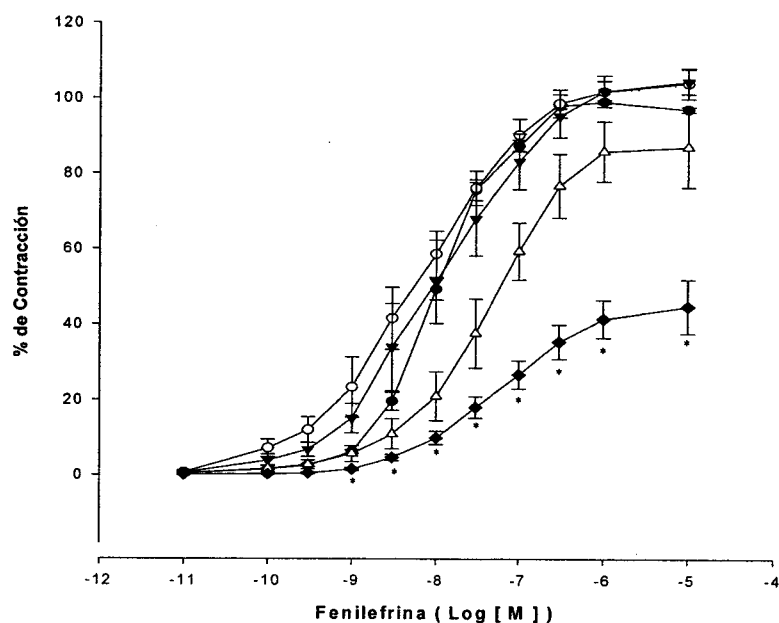
El cariofileno, no presentó actividad inhibitoria estadísticamente significativa, sobre las contracciones producidas por serotonina. El alcanfor y el cariofileno no presentaron, actividad inhibitoria estadísticamente significativa, sobre las contracciones producidas por fenilefrina (**Gráfica 9**). En cambio el isoborneol disminuyó las contracciones producidas por la fenilefrina sólo en un 20% (**Gráfica 9**). Por lo que se puede pensar que son otros los compuestos que presentan la actividad biológica.

Los compuestos α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno, inhibieron las contracciones inducidas por serotonina, a partir de la concentración 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (**Gráfica 10, 11, 12 y 13**).

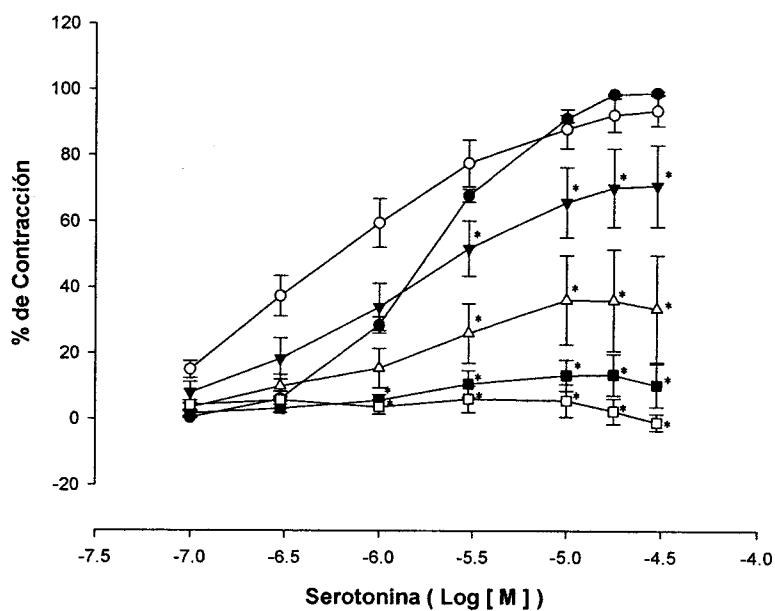
Para los compuestos α -terpineno y γ -terpineno presentaron actividad antagonista sobre las contracciones inducidas por fenilefrina a partir de 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (**Gráfica 14 y 15**). El α -pineno y el β -pineno resultaron inactivos (**Gráfica 16**).



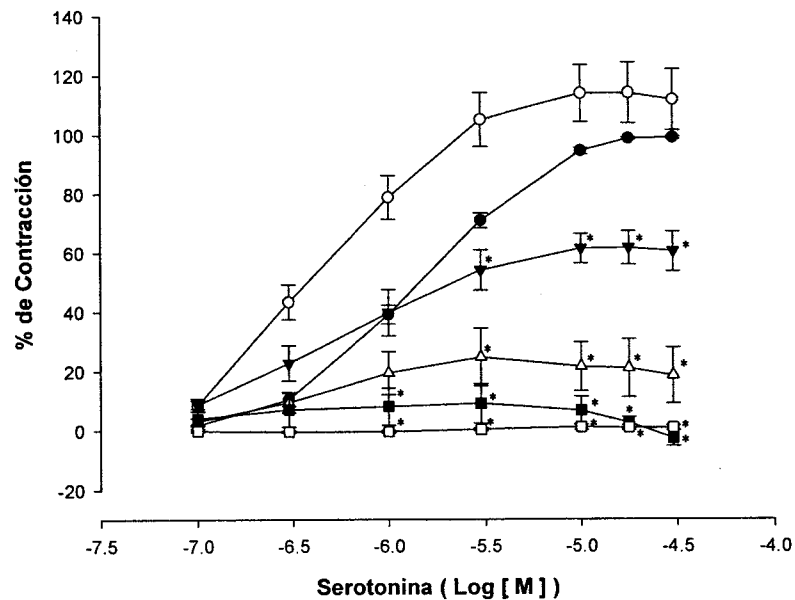
Gráfica 8: Curva concentración–respuesta contráctil provocada por serotonina sola (●) o en presencia de 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de cariofileno (▼), isoborneol (○), alcanfor (△), extracto de diclorometano (■). Cada punto representa la media \pm EEM de al menos seis observaciones. * $p < 0.05$.



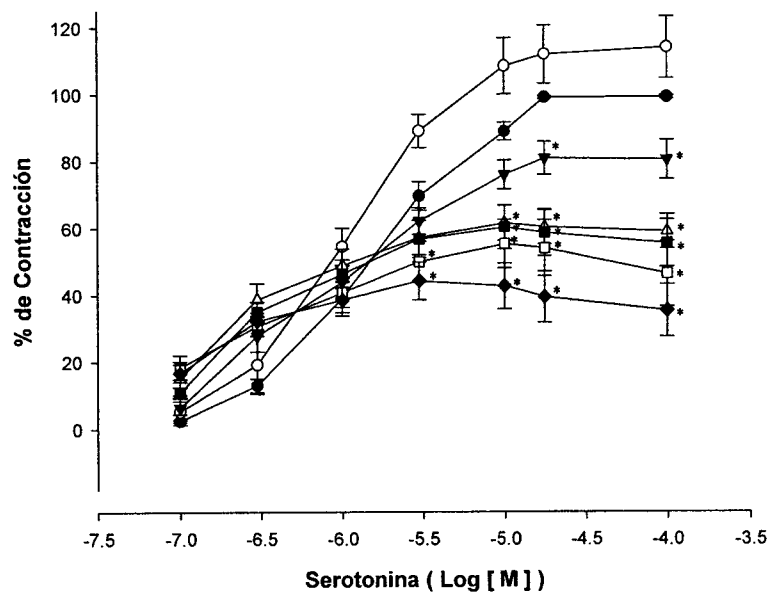
Gráfica 9: Curva concentración–respuesta contráctil provocada por fenilefrina sola (●), o en presencia de 150 µg/mL, cariofileno (○), alcanfor (▼), isoborneol (△), extracto de diclorometano (◆). Cada punto representa la media ± EEM de al menos seis observaciones. * p < 0.05.



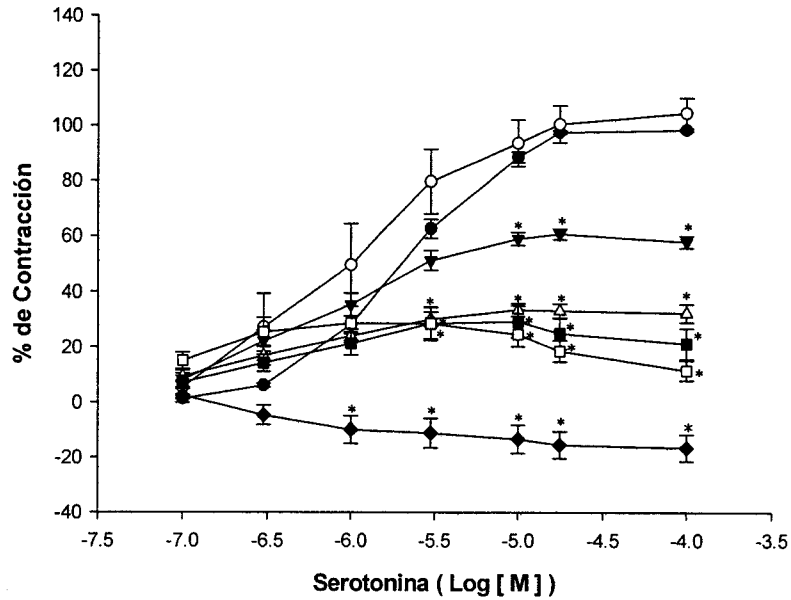
Gráfica 10: Curva concentración–respuesta contráctil provocada por serotonina sola (●) o en presencia de α-terpineno, 25 µg/mL (○), 50 µg/mL (▼), 75 µg/mL (△), 100 µg/mL (■) y 150 µg/mL (□). Cada punto representa la media ± EEM de al menos seis observaciones. * p < 0.05.



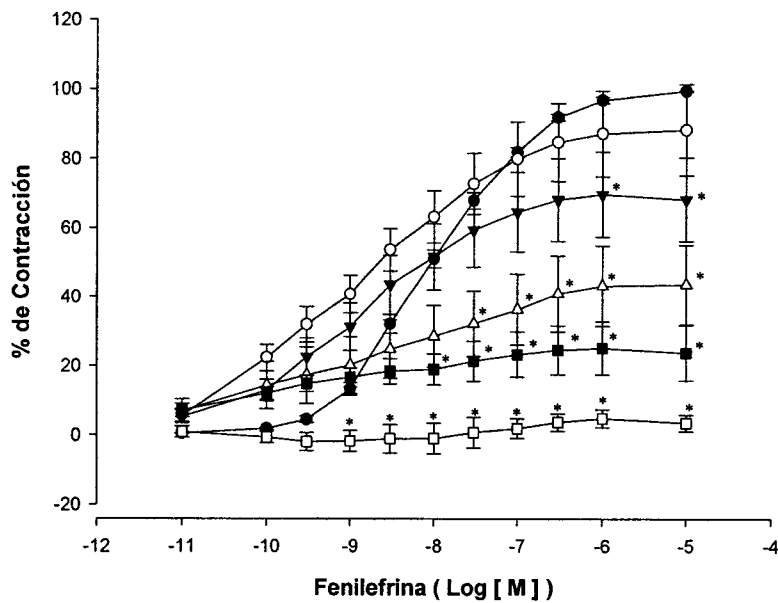
Gráfica 11: Curva concentración–respuesta contráctil provocada por serotonina sola (●) o en presencia de γ -terpineno, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (○), 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (▼), 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (△), 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (■) y 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (□). Cada punto representa la media \pm EEM de al menos seis observaciones. * $p < 0.05$.



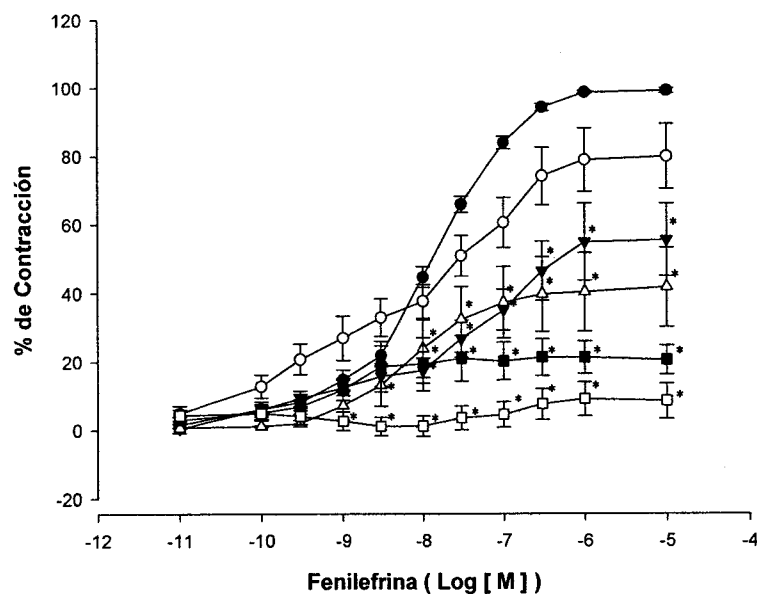
Gráfica 12: Curva concentración–respuesta contráctil provocada por serotonina sola (●) o en presencia de α -pineno, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (○), 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (▼), 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (△), 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (■), 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (□) y 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (◆). Cada punto representa la media \pm EEM de al menos seis observaciones. * $p < 0.05$.



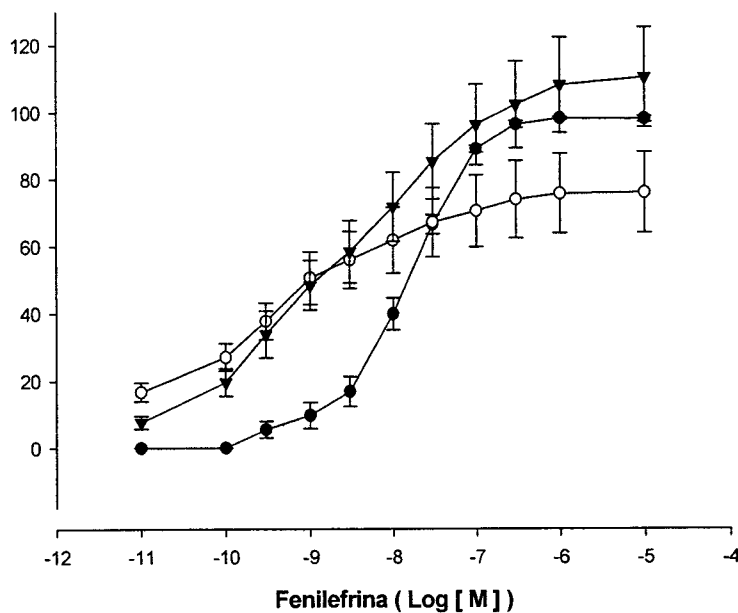
Gráfica 13: Curva concentración–respuesta contráctil provocada por serotonina sola (●) o en presencia de β -pineno, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (○), 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (▼), 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (△), 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (■), 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (□) y 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (◆). Cada punto representa la media \pm EEM de al menos seis observaciones. * $p < 0.05$.



Gráfica 14: Curva concentración–respuesta contráctil provocada por fenilefrina sola (●) o en presencia de α -terpineno, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (○), 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (▼), 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (△), 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (■) y 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (□). Cada punto representa la media \pm EEM de al menos seis observaciones. * $p < 0.05$.



Gráfica 15. Curva concentración–respuesta contráctil provocada por fenilefrina sola (●) o en presencia de γ -terpineno, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (○), 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (▼), 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (△), 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (■) y 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (□). Cada punto representa la media \pm EEM de al menos seis observaciones. * $p < 0.05$.



Gráfica 16. Curva concentración–respuesta contráctil provocada por fenilefrina sola (●) o en presencia de 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de α -pineno (▼) o de β -pineno (○). Cada punto representa la media \pm EEM de al menos seis observaciones.

El efecto antagonista de *T. parthenium* sobre las contracciones inducidas por serotonina y fenilefrina en aorta de rata, nos llevó a calcular el valor de cálculo de pA₂. Este valor proporcionó información sobre la potencia de los antagonistas.

Los valores de pA₂ del extracto de diclorometano, del aceite esencial y de los compuestos evaluados de *T. parthenium* se resumen en el cuadro 10. Las gráficas 17 y 18 fueron útiles para el cálculo de estos valores.

Cuadro 10. Valores de potencia antagonista no competitivo (pA₂).

Compuesto Evaluado	Serotonina		Fenilefrina	
	pA ₂	B (µg/mL)	pA ₂	B (µg/mL)
Extracto				
diclorometano	- 2.16 ± 0.030	141 ± 10	- 2.07 ± 0.034	120 ± 10
Aceite esencial	- 2.21 ± 0.038	162 ± 14	NA	NA
α-terpineno	- 1.73 ± 0.032	53 ± 4	- 1.99 ± 0.015	53 ± 3.5
γ-terpineno	- 1.76 ± 0.015	57 ± 2	- 1.73 ± 0.026	54 ± 3.2
α-pineno	- 2.22 ± 0.034	166 ± 13	NA	NA
β-pineno	- 1.88 ± 0.057	75 ± 10	NA	NA

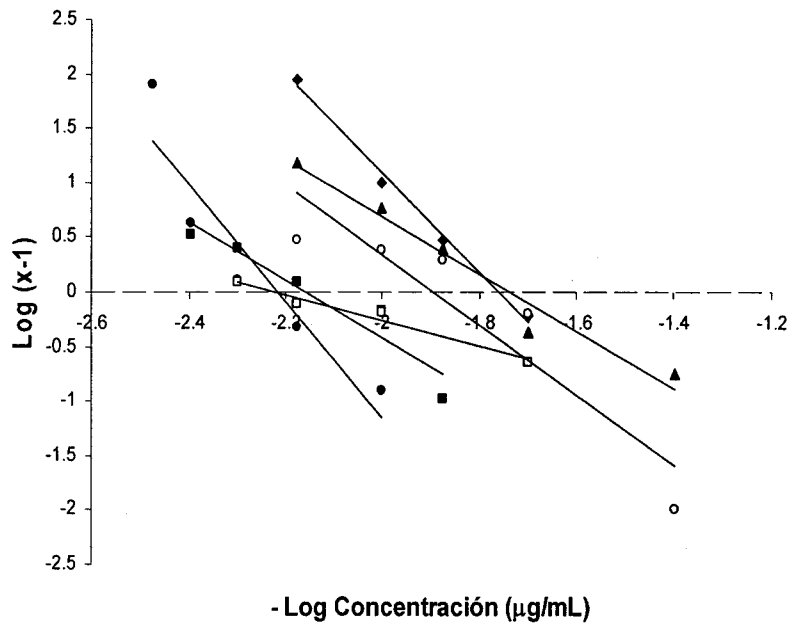
Se presentan los valores de pA₂ ± EEM y B ± EEM

NA = No presentó actividad.

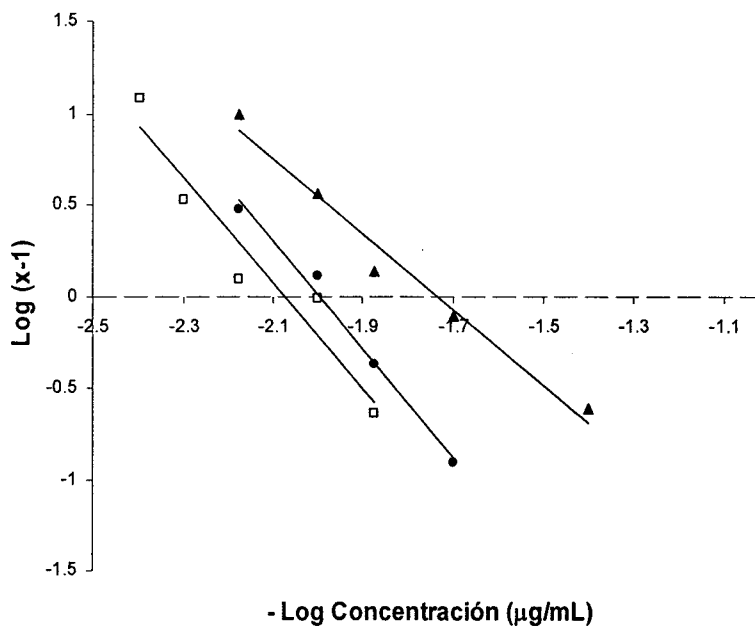
pA₂ = - Log B donde B es la concentración del antagonista (µg/mL).

Por lo que $B = 10^{-pA_2}$

Los compuestos α-pineno, β-pineno, α-terpineno y γ-terpineno por si mismos, provocaron una ligera contracción en anillos de aorta de rata. Esto sugiere que podrían tratarse de agonista parciales. Para corroborar se evaluó el efecto de estos monoterpenos sobre las contracciones provocadas por serotonina o fenilefrina.



Gráfica 17. Log (x-1) vs Log Concentración. Agonista serotonina. Extracto de diclorometano (■), aceite esencial (●), α-terpineno (▲), γ-terpineno (◆), α-pineno (□), β-pineno (○). Cada punto representa la media del valor máximo de al menos seis observaciones.



Gráfica 18 Log (x-1) vs Log Concentración. Agonista fenilefrina. Extracto de diclorometano (□), α-terpineno (●), γ-terpineno (▲). Cada punto representa la media del valor máximo de al menos seis observaciones.

6.5 Efecto de los compuestos α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno sobre la serotonina

La serotonina a una concentración de 3×10^{-5} M, presentó un efecto contráctil sobre aorta de rata pre-contraídas con α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno ($150 \mu\text{g/mL}$) (Figura 13).

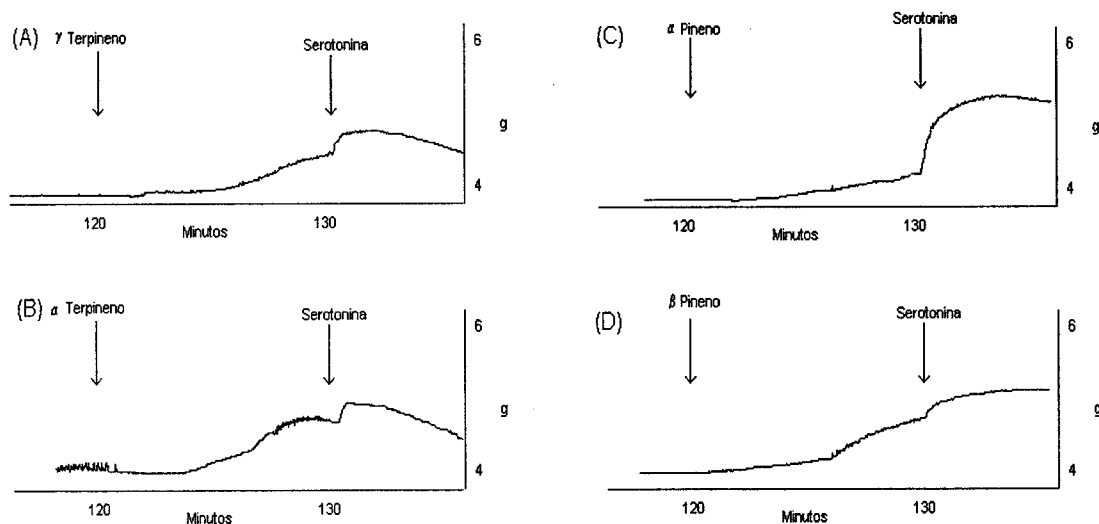


Figura 13. Se presentan los trazos del polígrafo, en donde se observa la contracción provocada por serotonina 3×10^{-5} M, en presencia de los compuestos: γ -terpineno (A), α -terpineno (B), α -pineno (C) y β -pineno (D) ($150 \mu\text{g/mL}$).

Los compuestos α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno ($150 \mu\text{g/mL}$), no presentaron efecto contráctil, en anillos de aorta de rata, pre-contraídas con serotonina (Figura 14).

La fenilefrina a una concentración de 10^{-5} M, presentó un efecto contráctil sobre aorta de rata pre-contraídas con α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno ($150 \mu\text{g/mL}$) (Figura 15).

Los compuestos α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno ($150 \mu\text{g/mL}$), presentaron efecto contráctil, en anillos de aorta de rata, pre-contraídas con fenilefrina (Figura 16).

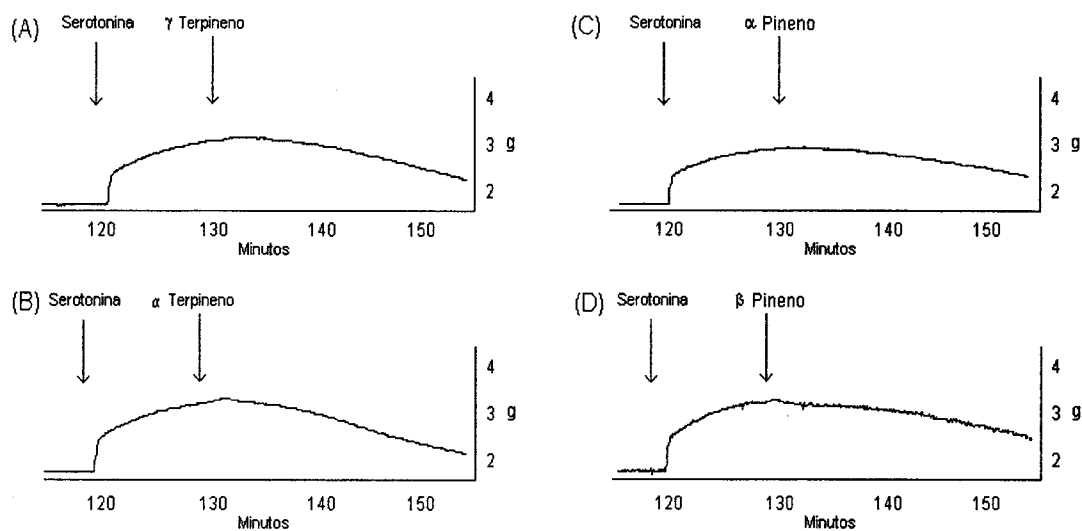


Figura 14. Se presentan los trazos del polígrafo, en donde se observa la contracción provocada por $150 \mu\text{g/mL}$ de: γ -terpineno (A), α -terpineno (B), α -pineno (C) y β -pineno (D), en presencia de serotonina $3 \times 10^{-5} \text{ M}$.

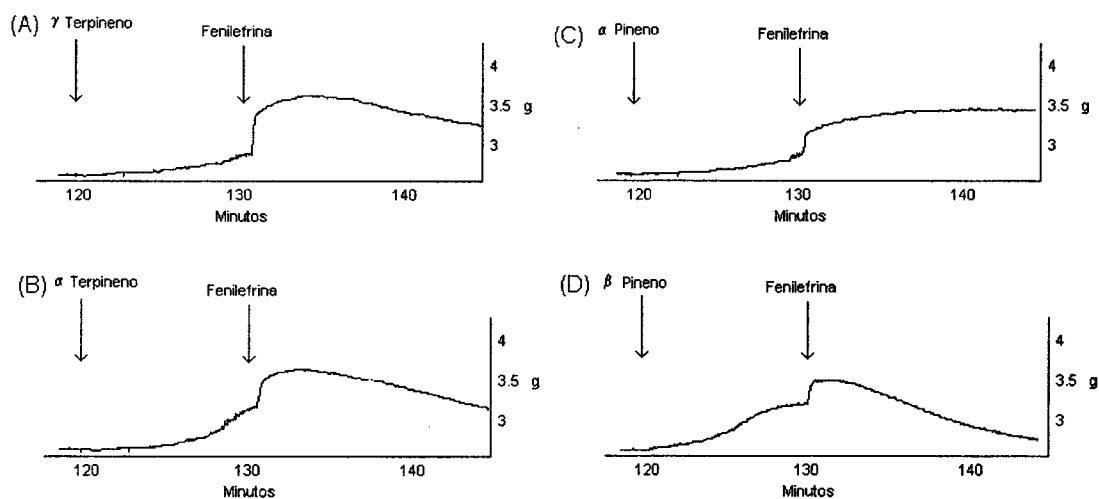


Figura 15. Se presentan los trazos del polígrafo, en donde se observa la contracción provocada por fenilefrina 10^{-5} M , en presencia de los compuestos: γ -terpineno (A), α -terpineno (B), α -pineno (C) y β -pineno (D) ($150 \mu\text{g/mL}$).

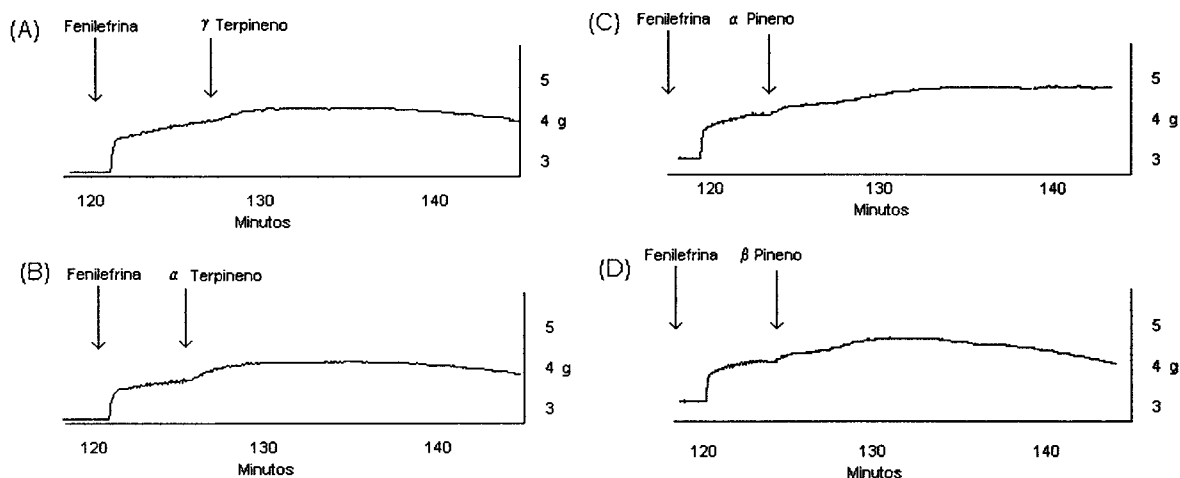


Figura 16. Se presentan los trazos del polígrafo, en donde se observa la contracción provocada por 150 µg/mL de γ terpineno (A), γ -terpineno (A), α -terpineno (B), α -pineno (C) y β -pineno (D), en presencia de fenilefrina 10^{-5} M.

Después de un tiempo la contracción adicional producida por el α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno en la aorta precontraída, comienza a disminuir, esto puede ser indicativo de que estos compuestos, pudieran activar receptores involucrados en procesos de vasorelajación. Esta vasorelajación no fue a causa de la pérdida de tono por agotamiento del tejido, ya que en los controles, tratados con el vehículo (**Figura 17**) la contracción se conservó durante el tiempo que duró el experimento.

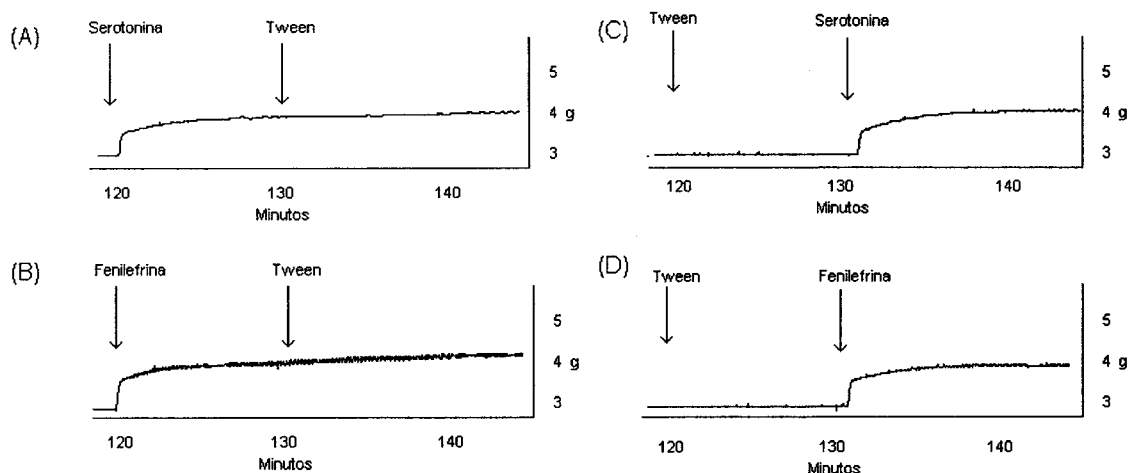


Figura 17. Se presentan los trazos del polígrafo, en donde se observa el efecto del vehículo Tween 80 sobre las contracciones provocadas por serotonina 3×10^{-5} M (A y C) y fenilefrina 10^{-5} M (B y D).

VII DISCUSIÓN

Antes de iniciar la evaluación de los extractos y del aceite esencial, se comprobó la estabilidad del tejido. La preparación fue estable y las curvas totalmente reproducibles en las condiciones experimentales evaluadas (**Gráficas 1 y 5**). Esto indicó que el efecto inhibitorio de *T. parthenium* y de los compuestos evaluados, no se debió a la pérdida del tono por agotamiento del tejido. Durante cada experimento se tomó un anillo de aorta como control, al cual se le adicionó el vehículo sin extracto, obteniéndose los mismos resultados (**Figuras 6 y 7**).

El extracto de diclorometano de las tres muestras de *T. parthenium*, presentaron una inhibición no competitiva dependiente de la concentración, sobre las contracciones inducidas por serotonina (**Gráfica 2**). La actividad de la planta no depende del lugar de origen.

Para realizar el cálculo de pA_2 se evaluó el extracto de diclorometano proveniente del mercado de Sonora, mientras que para el aceite esencial se evaluó la muestra originaria de Tulyehualco. Ambas muestras presentaron una inhibición de tipo no competitiva, dependiente de la concentración. En las curvas concentración–respuesta obtenidas por serotonina en presencia de *T. parthenium* (**Gráficas 3 y 4**), el desplazamiento hacia la derecha se acompaña de una progresiva reducción del efecto máximo, indiscutiblemente se trata de un antagonismo de tipo no competitivo.

Existen diversos estudios de *T. parthenium* donde se emplea como modelo biológico a la aorta de rata (Barsby, *et al.*, 1992 y 1993; Medina, 2002). Los estudios farmacológicos en arterias, son muy utilizados, ya que contienen diferentes tipos de receptores que median la contracción (5-HT, α -adrenérgicos) y en algunos vasos la relajación (β -adrenérgicos) (Ferkany y Kenakin, 1998).

A nivel de vasos sanguíneos, la influencia de la serotonina, es compleja. Pero sin duda el papel que tiene esta amina es de suma importancia en la fisiopatología de la migraña (Gryglewski y Vane, 1990). Para tener una idea clara sobre los fenómenos implicados en la génesis de la migraña, es útil considerarla como una alteración primaria del cerebro que produce dilatación vascular, la cual genera dolor (Arulmozhi *et al.*, 2005). Dos potentes vasorelajantes, que se liberan durante un ataque de migraña, son la prostaciclina (PGI₂) y el Factor de Relajación Derivado del Endotelio (FRDE) (Gryglewski y Vane., 1990). Un mecanismo hipotético para la liberación de estos mediadores, durante un episodio de migraña es el siguiente: algunos mediadores como serotonina (5-HT), adenosina difosfato (ADP), bradicina (BK) y sustancia P, a través de receptores apropiados (5-HT_{1B}, P_{2y}, SP, respectivamente), activan a la fosfolipasa C en el endotelio, promoviendo la liberación de PGI₂ y FRDE (Gryglewski y Vane, 1990).

T. parthenium siendo un antagonista no competitivo posiblemente actúa sobre un sitio diferente del de reconocimiento de la serotonina. Esto hace suponer que de alguna manera la acción de la serotonina queda anulada y por lo tanto no se liberen mediadores vasorelajantes, como los son la PGI₂ y el FRDE, que se encuentran ligados, con los procesos biológicos involucrados en los ataques de migraña. Béjar propone que los componentes químicos de *T. parthenium*, pueden afectar el almacenamiento, la liberación o interactuar con los receptores de la serotonina (Bejar, 1996).

La farmacología de *T. parthenium* ha sido ampliamente estudiada, sin embargo el mecanismo no ha sido del todo comprendido. Tales estudios han revelado que esta planta causa diferentes efectos por ejemplo la inhibición de la agregación plaquetaria (Heptinsall *et al.*, 1987), inhibición de eicosanoides (Pugh y Sambo, 1988), inhibición de fosfolipasa A₂ (Makheja y Bailey, 1982), inhibición de la liberación de serotonina en plaquetas, neutrofilos y leucocitos polimorfonucleares (Groenewegen *et al.*, 1986), todos estos cambios biológicos están involucrados en la etiología de la migraña.

El extracto de diclorometano de *T. parthenium* inhibió las contracciones inducidas por fenilefrina (**Gráfica 6**), lo que está de acuerdo con lo descrito por Barsby *et al.*; (1992), quienes reportaron que el extracto de diclorometano de la planta fresca presenta una fuerte inhibición de las contracciones inducidas por fenilefrina, 5-HT, tromboxano U46619 y angiotensina II en aorta de conejo.

El aceite esencial de *T. parthenium* no fue capaz de inhibir las contracciones producidas de fenilefrina (**Gráfica 6**), lo que indica cierto grado de selectividad por las contracciones inducidas por serotonina. En las curvas concentración–respuesta obtenidas por fenilefrina en presencia del extracto de diclorometano (**Gráfica 7**) el desplazamiento hacia la derecha, se acompaña de una progresiva reducción del efecto máximo, indiscutiblemente se trata de un antagonismo de tipo no competitivo. El efecto antagonista de *T. parthenium* no puede ser superado mediante la adición de dosis mayores del agonista fenilefrina.

En cuanto a la composición del aceite esencial y del extracto de diclorometano de *T. parthenium*, se identificaron el alcanfor, el acetato de crisantenilo, el camfeno, el α -pineno, el β -pineno, el α -terpineno, el γ -terpineno, el 4-terpineol, el óxido de cariofileno, el cariofileno y los éteres espirocetálicos, entre otros (**Cuadro 8**). Estos compuestos también forman parte de muestras provenientes del Reino Unido, Holanda (Hendriks *et al.*, 1996), Turquía (Akpulat *et al.*, 2005), Bélgica, Egipto (Hamidi y Nady, 1989) y Croacia (Kalodera *et al.*, 1997).

Los compuestos mayoritarios tanto para el aceite esencial como para el extracto de diclorometano de *T. parthenium* fueron el alcanfor (~15-20%) y el acetato de crisantenilo (~15-25%) (**Cuadro 8**). Ambos son compuestos mayoritarios del aceite esencial de muestras provenientes de Alemania (Hendriks *et al.*, 1996), Bélgica, Egipto (Pooter *et al.*, 1989) y México (Medina, 2002). La presencia del acetato de crisantenilo es muy interesante, ya que en un estudio se encontró, que este compuesto inhibe la síntesis de prostaglandinas y posee

actividad analgésica (Pugh y Sambo, 1988). Es posible que este compuesto también contribuya a las propiedades antimigrañosas de *T. parthenium*.

La partenólida no se encontró en las muestras evaluadas de *T. parthenium*. La ausencia de esta lactona sesquiterpénica corrobora los resultados obtenidos por Romo de Vivar y Jiménez, 1965; Romo de Vivar *et al.*, 1970 y Medina, 2002. Algunos autores sugieren que la planta que crece en México difiere en cuanto a su composición química, respecto a muestras provenientes de Europa (Romo de Vivar y Jiménez, 1965). Existe gran controversia al proponer a la partenólida, como el compuesto responsable de la actividad biológica de la planta. Weerdt *et al.*, llevaron a cabo un estudio doble-ciego donde postulan que la partenólida, puede no ser el único compuesto activo en preparados de *T. parthenium* (Weerdt *et al.*, 1996). Además Béjar, sugirió la existencia de compuestos que quizás pudieran afectar el almacenamiento, la liberación o interactuar con los receptores a serotonina (Béjar; 1996).

Aunque las muestras analizadas de *T. parthenium* no contienen partenólida, muestran actividad como inhibidor inespecífico de las contracciones producidas por serotonina (**Gráficas 3 y 4**) y fenilefrina (**Gráfica 6**) en el caso del extracto de diclorometano; esto hace pensar que está interactuando tanto en receptores serotoninérgicos y α -adrenérgicos. Por otro lado el aceite esencial de *T. parthenium* presentó una actividad inhibitoria específica, de las contracciones inducidas por serotonina, por lo que se infiere que los compuestos activos del aceite interactúan de alguna manera con receptores serotoninérgicos. Esto confirma la existencia de compuestos activos en *T. parthenium* diferentes de la partenólida.

El efecto antagonista de las muestras evaluadas de *T. parthenium*, sobre las contracciones inducidas por serotonina y fenilefrina en aorta de rata, nos llevó al cálculo de pA_2 . Este valor proporcionó información sobre la potencia de los antagonistas. El valor de pA_2 para el extracto de diclorometano fue de -2.15 ± 0.030 mientras que para el aceite esencial fue de -2.21 ± 0.038 . Lo que indicó que

prácticamente el extracto y el aceite de *T. parthenium* tenían la misma potencia antagonista.

Un valor de pA_2 se traduce a una concentración de acuerdo a la relación:
 $pA_2 = -\text{Log } B$ donde B es la concentración del antagonista.
Por lo que $B = 10^{-pA_2}$

La concentración del extracto de diclorometano para reducir a la mitad el efecto máximo de la serotonina fue de $141 \pm 10 \mu\text{g/mL}$, mientras que para el aceite esencial fue de $162 \pm 14 \mu\text{g/mL}$. Ambos tienen la misma capacidad de antagonizar la respuesta producida por la serotonina en aorta de rata. Cuando un antagonista actúa sobre un sitio de fijación íntimamente ligado con el receptor, pero diferente del reconocimiento del agonista, se produce un fenómeno de antagonismo no competitivo (Flórez, 2004).

De los compuestos en común evaluados el α -pineno, el β -pineno, el α -terpineno y el γ -terpineno, inhiben de manera inespecífica y de tipo no competitivo, la respuesta máxima de la serotonina y la fenilefrina. Mientras que el α -pineno y el β -pineno, son inhibidores específicos de las contracciones inducidas por la serotonina. De acuerdo a los resultados obtenidos, estos monoterpenos monocíclicos pueden ser los compuestos activos de *T. parthenium*, aunque no se descarta la existencia de otros compuestos que de igual forma posean cierta actividad biológica para inhibir las contracciones producidas por serotonina en aorta de rata.

Los compuestos α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno presentaron mayores valores de pA_2 comparados con los valores del aceite o del extracto de *T. parthenium* (**Cuadro 10**). Cuando dos sustancias son antagonistas, aquel compuesto que presente un valor de pA_2 mayor, será el compuesto más potente.

En el caso del α -terpineno el valor de pA_2 fue de -1.76 ± 0.015 mientras que para el aceite fue de -2.07 ± 0.034 , el α -terpineno es más potente que el aceite esencial de *T. parthenium*. En otras palabras se necesita una menor concentración de α -terpineno ($54 \pm 3.2 \mu\text{g/mL}$) para desplazar el efecto de la serotonina a la mitad. Mientras que para el aceite se necesita $162 \pm 14.0 \mu\text{g/mL}$ para observar el mismo abatimiento.

Con base en esto se puede pensar que los monoterpenos α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno, son de suma importancia dentro de la actividad biológica de *T. parthenium* y son algunos de los componentes activos de esta planta. Estos compuestos se han encontrado en muestras provenientes del Reino Unido, Holanda (Hendriks *et al.*, 1996), Turquía (Akpulat *et al.*, 2005), Bélgica, Egipto (Hamidi y Nady, 1989), Croacia (Kalodera *et al.*, 1997) y México (Medina, 2002).

Los aceites esenciales provenientes de planta medicinales, han mostrado por muchos años actividades biológicas (Deans y Waterman, 1993). Estos aceites son una mezcla compleja de sesquiterpenos, monoterpenos, terpenos, fenoles entre otros (Foti e Ingold, 2003). Dentro de los compuestos identificados en las muestras de *T. parthenium* de México se encontraron algunos monoterpenos.

Los monoterpenos son compuestos naturales, que se han utilizado como fragancia en los cosméticos y como intermediarios en la industria del perfume. De igual forma se han empleado para la elaboración de detergentes, jabones y repelentes de insectos (Foti e Ingold, 2003). El γ -terpineno, es un monoterpenoide que se encuentra en los aceites esenciales de cítricos (0-21.3%). Posee propiedades tales como: efecto antioxidante *in vitro*; retardador de la peroxidación de ácido linoleico (LH) (Foti e Ingold, 2003) y actividad antiespasmódica, en yeyuno de conejo (Astudillo *et al.*, 2004).

El α -terpineno, posee un fuerte olor a limón, presenta actividad antibacteriana, actividad tóxica en embriones de rata (a una dosis de 60 mg/Kg) (Araujo *et al.*, 1996), aunque se emplea como agente antimicrobiano y antimicótico, en animales y en seres humanos (Dryden *et al.*, 2004). El γ -terpineno no posee actividad antimicrobiana sobre *Salmonella typhimurium*, mientras que el α -terpineno inhibe a las bacterias *Citrobacter freundii*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* (Dorman y Deans, 2000). Hasta ahora, no se había pensado, que compuestos monoterpénicos, le pudieran conferir la actividad antimigrasosa a *T. parthenium*.

Los compuestos α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno por sí mismos, provocaron una ligera contracción en anillos de aorta de rata. Esto sugiere que podrían tratarse de agonistas parciales. En el caso de los agonistas parciales, estos producen cierto efecto farmacológico cuando se administran solos, aunque sin alcanzar el efecto máximo de los agonistas completos serotonina o fenilefrina.

El α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno, provocaron una contracción adicional en la aorta pre-contraída con fenilefrina, pero no sobre la aorta pre-contraídas con serotonina, esto indicó que los compuestos pueden estar actuando como agonistas parciales sobre los receptores serotoninérgicos pero no sobre los receptores α -adrenérgicos (**Figuras 14 y 16**). Después de un tiempo de la adición del α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno, en la aorta pre-contraída con serotonina, se presentó una disminución en la fuerza de contracción. Esto puede ser indicativo de que estos compuestos, pudieran estar activando a receptores que estén involucrados con una vasorelajación. La vasorelajación no fue a causa de la pérdida de tono por agotamiento del tejido, ya que en los controles tratados con el vehículo (**Figura 17**) la contracción se mantuvo durante el tiempo que duró el experimento.

Demostrar que *T. parthenium* de México, contiene compuestos activos diferentes de la partenólida, es de suma importancia, ya que antes de realizar el presente trabajo no se había considerado a los compuestos de naturaleza monoterpénica como los activos.

Una de las aportaciones más importantes del presente trabajo es el hecho de que el aceite esencial presentó un antagonismo no competitivo con preferencia sobre las contracciones inducidas por serotonina. Mientras que el extracto de diclorometano presentó un antagonismo no selectivo por las contracciones inducidas por serotonina y fenilefrina. Esto último se puede deber a que en el extracto existan otros compuestos no volátiles que tienen la capacidad de inhibir las contracciones inducidas por serotonina y por fenilefrina. Se determinó que la actividad biológica como inhibidor de las contracciones inducidas por serotonina, de esta planta no depende de la región geográfica.

El haber encontrado compuestos activos diferentes de la partenólida, desde el punto de vista comercial, indica que *T. parthenium* de México se puede utilizar como materia prima para fabricar fitomedicamentos cuyo principio activo puede elaborarse con el extracto obtenido de planta fresca o bien tomando como materia prima el aceite esencial. Queda abierta la investigación para continuar el estudio de esta planta y postular compuestos marcadores para el desarrollo de una metodología analítica para el control de calidad del *T. parthenium* de México.

VIII CONCLUSIONES

- ◆ El extracto de *T. parthenium* de México presentó actividad como inhibidor de las contracciones inducidas por serotonina sin importar el lugar de colecta.
- ◆ El extracto de diclorometano de *T. parthenium* presentó un efecto antagonista de tipo no competitivo, sobre las contracciones inducidas por serotonina y fenilefrina en aorta aislada de rata.
- ◆ El aceite esencial de *T. parthenium* presentó un efecto antagonista de tipo no competitivo sobre las contracciones producidas por serotonina, pero no de aquellas inducidas por fenilefrina en aorta de rata.
- ◆ Algunos compuestos en común identificados en el aceite esencial y en el extracto de diclorometano fueron: isoborneol, cariofileno, alcanfor, α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno, alcanfor y acetato de crisantenilo.
- ◆ El α -terpineno y el γ -terpineno inhibieron las contracciones inducidas por serotonina y por fenilefrina.
- ◆ Los compuestos α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno, al parecer actúan como agonistas parciales sobre los receptores serotoninérgicos pero no sobre los receptores α -adrenérgicos.
- ◆ Este trabajo es el primer informe donde se reporta que en el *T. parthenium* existen principios activos de naturaleza monoterpénica, con la capacidad de inhibir las contracciones inducidas por serotonina y fenilefrina en el músculo liso vascular de rata.

IX PERSPECTIVAS

- ◆ Aislar y evaluar al acetato de crisantenilo como inhibidor de las contracciones producidas por serotonina y fenilefrina, en aorta aislada de rata.

- ◆ Determinar sobre que tipo de receptores a serotonina, actúa el *T. parthenium* y los compuestos α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno.

- ◆ Utilizar un modelo diferente al de la aorta de rata, que involucre la respuesta vascular, un punto de suma importancia en el padecimiento de la migraña.

- ◆ Para descartar el mecanismo de acción de los compuestos α -pineno, β -pineno, α -terpineno y γ -terpineno vía inhibición de los receptores α_1 adrenérgicos, proponemos el bloqueo de estos receptores utilizando fenoxibenzamida u otro antagonista α_1 adrenérgico. Si existe una contracción producida por estos monoterpenos, nos indicará que su mecanismo de acción es diferente de la activación de receptores α_1 adrenérgicos. Y para estudiar su mecanismo de acción a través de los receptores 5-HT₂ se tendría que utilizar un antagonista como la ketanserina. Si se presenta una contracción provocada por estos compuestos, su mecanismo de acción es diferente de la activación de receptores 5-HT₂.

X BIBLIOGRAFÍA

- Abad M. J., Bermejo P., Villar A. (1995). An approach to the genus *Tanacetum* L. (Compositae). *Phytotherapy Research*; 9:79-92.
- Abad M. J., Bermejo P., Valverde S., Villar A. (1994). Antiinflammatory activity of hydroxyachillin, a sesquiterpene lactone from *Tanacetum microphyllum*. *Planta Medica*; 60:228-231.
- Adams R. P. (1995). Identification of essential oil component by gas chromatography/mass spectroscopy. Carol Stream, USA: Allured Publishing Crop.
- Ahn A. H. y Basbaum A. I. (2005). Where do triptans act in the treatment of migraine? *Pain*; 15:1-4.
- Akpulat A., Tepe B., Sokmen A., Daferera D., Polissiou M. (2005). Composition of essential oils of *Tanacetum argyrophyllum* (C. Koch) Tvetz. Var. *argyrophyllum* and *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. (Asteraceae) from Turkey. *Biochemical Systematics and ecology*; 33: 511-516.
- Aldrete J. A. (2005). Cefalea, migraña y algias cefalocervicales. Editorial Alfil. México. 9-40.
- Araujo I. B., Souza A. M., De-Carvalho R. R., Kuriyama S. N., Rodrigues R. P., Vollmer R. S., Alves E. N., Paumgarten F. J. R. (1996). Study of Embryofoetotoxicity of α -Terpinene in the Rat. *Food and Chemical Toxicology*; 34:477-482.
- Artman L. D. (2005). Migraine treatments including isovaleramide compounds and serotonin agonists. Patent Cooperation Treaty Application. Internacional Publication WO2005/046659 Number. A3.
- Arulmani U., Gupta S., MaassenVanDenBrink A.M., Centurión D., Villalón C. M., Saxena P. R. (2005). Experimental migraine models and their relevance in migraine therapy. *Cephalalgia*; 6:642-659.
- Arulmozhi D. K., Veeranjanyulu A., Bodhankar S. L. (2005). Migraine: Current concepts and emerging therapies. *Vascular Pharmacology*; 43:176-187.

-
-
- Astudillo A., Hong E., Bye R., Navarrete A. (2004). Antispasmodic Activity of Extracts and Compounds of *Acalypha phleoides* Cav. *Phytotherapy Research*; 18:102-106.
- Avula B., Navarrete A., Joshi V. C., Khan I. A. (2006). Quantification of parthenolide in *Tanacetum parthenium* by LC-UV/LC-MS and microscopic comparison of Mexican/US feverfew samples. *Pharmazie*; 61:590-594.
- Awang D. V. C., Dawson B. A. Kindack D. G. (1991). Parthenolide Content of Feverfew (*Tanacetum parthenium*) Assessed by HPLC and ¹H-nmr Spectroscopy. *Journal of Nature Products*; 54:1516-1521.
- Barnes N. M. y Sharp T. (1999). A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*; 38:1083-1152.
- Barsby R. W. J., Salan U., Knigh D. W., Hoult J. R. S. (1992). Feverfew extracts and parthenolide irreversibly inhibit vascular responses of the rabbit aorta. *Journal Pharmacy and Pharmacology*; 44:737-740.
- Barsby R. W. J., Knigh D. W., MacFadzean I. (1993). A Chloroform Extract of the Herb Feverfew Blocks Voltage-dependent Potassium Currents Recorded from Single Smooth Muscle Cells. *Journal Pharmacy and Pharmacology*; 45:641-645.
- Béjar E. (1996). Parthenolide inhibits the contractile responses of rat stomach fundus to fenfluramine and dextroamphetamine but not serotonin. *Journal of Ethnopharmacology*; 50:1-12.
- Béjar E., Bussmann R. Roa C., Sharon D. (2001). Herbs of Southern Ecuador. Latino Herbal Press, Canada. 266-267.
- Begley M. J., Hewlett M. J., Knight D. W. (1989). Revised structures for guaianolide α -methylenebutyrolactones from feverfew. *Phytochemistry*; 28:940-94.
- Blau J. N. (1992). Migraine: theories of pathogenesis. *The lancet*; 339:1202-1209.
- Bohlman F. y Zdero C. (1982). Sesquiterpene lactones and other constituents from *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry*; 21:2543-2549.
- Brain S. D. y Grat A. D. (2004). Vascular actions of calcitonin gene-related peptide and adrenomedullin. *Physiological Review*; 84:903-924.

-
-
- Brandes J. L., Saper J. R., Diamond M., Couch J. R., Lewis D. W., Schmitt, J. (2004). Topiramate for migraine prevention: a randomized controlled trial. *Journal of the American Medical Association*; 291:965-973.
- Capasso F. (1986). The effect of an aqueous extract of *Tanacetum parthenium* L. On arachidonic acid metabolism by rat peritoneal leucocytes. *Journal Pharmacy and Pharmacology*; 38:71-72.
- Collier H. O. J., But M., McDonald-Gibson W. J., Saed S. A. (1980). Extract of feverfew inhibits prostaglandins biosynthesis. *The lancet*; 2:922-923.
- Cox P.A. (2000). Hill tribal knowlegde survive the millennium. *Science*; 287:44-45.
- Cretnik L., Skerget M., Knez Z. (2005). Separation of parthenolide from feverfew: performance of conventional and high-pressure extraction techniques. *Separation Purification Technology*; 41:13-20.
- Deans, S. G. y Waterman P. G. (1993). In *Biological Activity of Plant Volatile Oils*; Hay, R. K. M., Waterman, P. G., Eds.; Longman: London, UK; pp 113-136.
- Dominguez E. y Romo J. (1963). The structures of two sesquiterpene lactones. *Tetrahedron*; 19:1415-1421.
- Dorman H. J. D. y Deans S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*; 88:308-316.
- Dryden M. S., Dailly S., Crouch M. (2004). A randomized controlled trial of trea tree topical preparation versus a standar topical regimen forcarence of MRSA colonication. *Journal of Hospital Infection*; 56:283-286.
- Durham P. L. (2004 a). CGRP receptor antagonists –a fresh approach to migraine therapy? *The New England Journal of Medicine*; 350:1073-1075.
- Durham P. L. (2004 b). CGRP receptor antagonists: a new choice for acute treatment of migraine? *Current Opinion in Investigational Drugs*; 5:731-735.
- Edvinsson L. (2004). Blockade of CGRP receptors in the intracranial vasculare: a new target in the treatment of headache. *Cephalalgia*; 4:611-622.
- Edvinsson L. y Uddman R. (2005). Neurobiology in primary headaches. *Brain Research Reviews*; 48:438-456.

-
-
- Ferkany J. y Kenakin T. (1998). Isolated blood vessel assays. Currents protocols in pharmacology. Jonh Wiley and Sons Inc., USA, 4.4.1.
- Feuerstein G. y Miller A. (1997). Vasoactive Mediators of Cerebral Vessels. En Welch, K. M. A, Caplan, L. R. (Editores). Cerebrovascular diseases. Academia Press. USA. 8-13.
- FHEUM (2001). Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos. 1^{ra} edición. México, 19-20.
- Flórez J. (2004). Mediadores celulares 1. Histamina y 5-hidroxitriptamina. En Flórez, J., Armijo., J. A. y Mediavilla A. (Editores). Farmacología Humana. Masson. España, 325-346.
- Foster S. (1991). Feverfew, *Tanacetum parthenium*. Herbal Gram, American Botanical Council; 310:3-7.
- Foti M. C. y Ingold K. U. (2003). Mechanism of Inhibition of Lipid Peroxidation by γ -Terpinene, an unusual and Potentially Useful Hydrocarbon Antioxidant. Journal of Agricultural and Food Chemistry; 51:2758-2765.
- Furchgott R. F. y Zawadzki J. V. (1980). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature; 288:373-376.
- Gary L. (2005). Migraine prophylactic drugs via ion channels. Medical; 65:114-122.
- Gray R. N., Goslin R. E., McCrory D. C., Eberlein K., Tulsy J., Hasselblad V. (1999). Drug treatments for the prevention of migraine. Technical review 2.3. Prepared for the Agency for Health Care Policy and Research under Contract No. 290-94-2025.
- Groenewegen W. A., Knigth D. W., Heptinstall S. (1986). Compounds extracted from feverfew that heve anti-secretory activity contain an α -methylene butyrolactone unit. Journal of Pharmacy and Pharmacology; 38:709-712.
- Gryglewski R. J. y Vane J. R. (1990). A posible role of endothelial vasorelaxants in the pathogenesis of migraine. En Sandler, M. y Collins, G. (Editores). Migraine: a spectrum of ideas. Oxford Medical Publications. UK. 51-57.

-
-
- Hayes N. A. y Foreman J. C. (1987). The activity of compounds extracted from feverfew on histamine release from mast cells. *Journal of Pharmacology*; 39:466-470.
- Hamidi A. y Nady E. (1989). Abstracts of short lectures and poster presentations, 27th Annual Congreso on Medicinal Plant Research, 5-9 September, Braunschweig, p 57.
- Hendriks H., Boss R., Woerdenbag H. J. (1996). The Essential Oil of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip. *Flavour and Fragrance Journal*; 11:367-371.
- Hendriks H., Anderson-Wildeboer Y., Engels G., Bos R., Woerdenbag H. (1997). The content of parthenolide and its yield per plant during the growth of *Tanacetum parthenium*. *Planta Medica*; 63:356-359.
- Heptinstall S., Groenewegen W. A., Spangenberg P., Loesche W. (1987). Extract of feverfew may inhibit platelet behaviour via neutralization of sulphhydryl groups. *Journal Pharmacy and Pharmacology*; 9:459-465.
- Heptinstall S., Awand D. V., Dawson B. A., Kindack D., Knight D. W. May J. (1992). Parthenolide content and bioactivity of feverfew (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip.). Estimation of commercial and authenticated feverfew products. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*; 44(5):391-395.
- Herz W., Högenauer G. y Romo de Vivar A. (1964). Constituents of *Iva* species III. Structure of microcephalina, a new sesquiterpenic lactone. *Journal Organic Chemistry*; 29:1700-1703.
- INI (1994). Argueta A., Cano L., Gallardo C., Jiménez R. (editores). Instituto Nacional Indigenista. Atlas de las plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Vol. III., México. 1273-1275.
- International Headache Society. (2004). International classification of headache disorders. *Cephalalgia*; 24(Sup. 1):1-160.
- Jonson E. S., Kadan N. P., Hylands P. J. (1985). Efficacy of feverfew as prophylactic treatment of migraine. *British Journal Medical*; 291:569-573.
- Kalant H. y Roschlau W. H. E. (1998). Principios de Farmacología Médica. Sexta Edición. Oxford University Press. México. 400-401.

-
-
- Kalodera S., Pepeljnak S., Blazenic N., Petrak T. (1997). Chemical composition and antimicrobial activity of *Tanacetum parthenium*. *Pharmazie*; 52:885-886.
- Kelly L., Rogers I., Darren G., Lyn R. (2000). Inhibition of platelet aggregation and 5-HT release by extracts of Australian use traditionally as headache treatments. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*; 9:355-363.
- Kisiel W. y Stojakowska A. (1997). A sesquiterpene coumarin transformed roots of *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry*; 46:515-516.
- Knight D. W. (1995). Feverfew: Chemistry and Biological Activity. *Natural Products Reports*; 12:271-275.
- Limmroth V. y Michel M. (2001). The prevention of migraine: a critical review with special emphasis on β -adrenoceptor blockers. *British Journal Clinical Pharmacology*; 52:237-243.
- Linde K. y Rossnagel K. (2004). Propranolol for migraine prophylaxis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*; (2):CD003225.
- Lipton R. B. y Bigal M. E. (2005). The epidemiology of migraine. *The American Journal of Medicine*; 118:3S:10S.
- Lobo B. L. (1999). Symptomatic Pharmacotherapy of Migraine. *Clinical Therapeutics*; 21:1118-1130.
- Long C., Sauleau P., David B., Lavaud C., Cassabois V., Ausseil F., Massiot G. (2003). Bioactive flavonoids of *Tanacetum parthenium* revisited. *Phytochemistry*; 64:567-569.
- Makheja A. N. y Bailey J. M. (1982). A platelet phospholipase inhibitor from medical herb feverfew (*Tanacetum parthenium*). *Prostaglandins, Lekotrienes Medical*; 8:653-660.
- Masada Y. (1976). Analisis of essential Oils by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. Published by Halsted Press, a División oh Jonh Wiley & Sons, Inc., New York.
- Medina C. L. (2002). Estudio biodirigido de *Tanacetum parthenium* mexicana, como inhibidor de contracciones inducidas por serotonina en aorta de rata wistar. Tesis de Licenciatura. UNAM.

-
-
- Mezquita A. M. (2000). Control de calidad y formulación de tabletas de *Tanacetum parthenium* por compresión directa. Tesis de Maestría en Ciencias Químicas. Facultad de Química. UNAM.
- Milan G., Pineda A. G., Hernandez B., Tene C. E., Pacheco M. F. (2003). Napthamethylhistamine. Safety and efficacy in migraine prophylaxis: phase I and phase II studies. *Headache*; 43:389-394.
- Milbrodt M., Schröder F., König A. (1996). 3,4- β -epoxy-8-deoxicumambrin B, A sesquiterpene lactone from *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry*; 44:471-474.
- Modi S. y Lowder D. (2006). Medications for Migraine Prophylaxis. *American Academy of Family Physicians*; 73:72-78.
- Moncada S., Gryglewski R. J., Binting S., Vane J. R. (1976). An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to as instable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature*; 263:663-665.
- Murphy J. J., Heptinstall S., Mitchell J. R. A (1988). Randomized double blind placebo-controlled trial of feverfew in migraine prevention. *The lancet*; 2:189-192.
- Narbone M. C., Abbate M., Gangemi S. (2004). Acute drug treatment of migraine attack. *Journal of Neurological Sciences*; 25:S113-S118.
- Naveen K. J. y Shrinivas K. K. (1999). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Tanacetum pathenium* L. extract in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology*; 68:251-259.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- Palevich D., Earon G., Carasso G. (1997). Feverfew (*Tanacetum parthenium*) as a Prophylactic Treatment for migraine a Double-blind Placebo-controlled study. *Phytotherapy Research*; 11:508-511.
- Peroutka S. J. (1997). Fármacos eficaces para el tratamiento de la migraña. En Hardman, J. G., Limbird, L. E., Molinof, P. B., Ruddon., R. W. Gilman A. G. (Editores). *Las Bases farmacológicas de la terapéutica*. 9ª ed Mc Graw-Hill, USA. 521-538

-
-
- Peterson K. A., Lassen L. H., Birk S., Lesko L., Olesen J. (2005). Presence and function of the calcitonin gene-related peptide receptor on rat pial arteries investigated in vivo and in vivo. *Cephalalgia*; 25:424-432.
- Pooter H. L., Vermeesch J., Schamp N. M. (1989). *Journal Essential Oil Reserch*; 1(9):367-371.
- Pugh W. J. y Sambo K. (1988). Prostaglandin synthetase inhibitors in feverfew. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*; 40(10):743-745.
- Raskin N. H. (1990). Pharmacology of migraine. *Progress in Drug Research*; 4:209-220.
- Rodríguez J., Tello H., Quijano L., Calderón J., Gómez F., Romo J., Ríos T. (1973). Flavonoides de plantas mexicanas aislamiento y estructura de la santina y de la glucoferida. 41-53.
- Romo de Vivar A. y Jiménez H. (1965). Structure of santamarine a new sesquiterpene lactone. *Tetrahedron*; 21:1741-1745.
- Romo J., Romo de Vivar A., Treviño R., Joseph-Nathan J., Díaz E. (1970). Constituents of *Artemisa* and *chrysanthemum* species-the structures of chrysartemins A ad B. *Phytochemistry*; 9:1615-1621.
- Ryan S. W. (2003). Drugs for preventing migraine headaches in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews*; (4):CD002761.
- Sandor P. S., Di Clemente L., Coppola G., Saenger U., Fumal A., Magis D. (2005). Efficacy of coenzyme Q10 in migraine prophylaxis: a randomized controlled trial. *Neurology*; 64:713-5.
- Saper J. R. (1997). Diagnosis and symptomatic treatment of migraine. *Headache*; 7 (Suppl.1):S1-S14.
- Schoenen J., Jacquy J., Lenaerts M. (1998). Effectiveness of high-dose riboflavin in migraine prophylaxis. A randomized controlled trial. *Neurology*; 50:466-470.
- Secretaria de Salud (2001). Estadísticas del Sector Salud y Seguridad Social. Cuaderno Número 19. México.

-
-
- Silberstein S. D. y Goadsby P. J. (2002). Migraine: preventive treatment. *Cephalalgia*; 22:491-512.
- Silberstein S. D. y Freitag F. G. (2003). Preventive treatment of migraine. *Neurology*; 60:S38-44.
- Silberstein S.D., Neto W., Schmitt J., Jacobs D. (2004). Topiramate in migraine prevention: results of a large controlled trial. *Archives of Neurology*; 61:490-495.
- Smith C. M. (1993). Tratamiento de la cefalea; alcaloides del cornezuelo de centeno. En Smith, C. M. y Reynard, A. M. (Editores). *Farmacología*. Editorial Medica Panamericana, Argentina, 424-431.
- Snow V., Weiss K., Wall E. M., Mottur-Pilson C. (2002). American Academy of Family Physicians; American College of Physicians-American Society of Internal Medicine. Pharmacologic management of acute attacks of migraine and prevention of migraine headache. *Annals of Internal Medicine*; 137:840-849.
- Stefanovic M., Mladenovic S., Djermanovic M., Ristic N. (1985). Sesquiterpene lactones from the domestic plant species *Tanacetum parthenium* L. (Compositae). *Journal of the Serbian Chemical Society*; 50:435-441.
- Summer H., Herout V., Sorm F. (1992). Inhibition of 5-lipoxygenase and Cyclooxygenase in leukocytes by feverfew. *Biochemical Pharmacology*; 43(Vol. 11):2313-2320.
- USP (2002). The United States Pharmacopeia XXV. The National formulary. Printed by National Publishing, Philadelphia. 2548-2549.
- Vogler B. K., Pittler M. H., Ernst E. (1998). Feverfew as a preventive treatment for migraine: A systemtic review. *Cephalalgia*; 18:704-708.
- Voyno-Yasenetskaya T. A. Loesche W., Groeneweden W. A., Heptinsall S., Repin V. S., Till U. (1988). Effects of an extract of feverfew on endothelial cell integrity and on cAMP in rabbit perfused aorta. *Journal Pharmacy and Pharmacology*; 40:501-502.
- Wasiewski W. W. (2001). Preventive therapy in pediatric migraine. *Journal of Child Neurology*; 16:71-78.

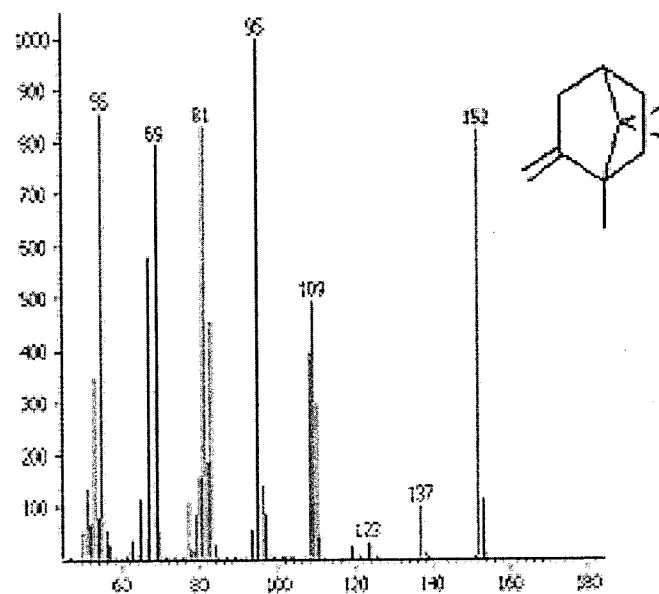
-
-
- Weel C. y Schuurmans A. (2005). Pharmacologic treatment of migraine. Comparison of guidelines. *Canadian Family Physician*; 51:838-843.
- Weerd C. J., Bootsma H. P. R., Hendrics H. (1996). Herbal medicines in migraine prevention. *Phytomedicine*; 3:225-230.
- Wilkomirski B. y Dubielecka B. (1996). Sterol content as a similarity marker of different organs of two variety of *Chrysanthemum parthenium*. *Phytochemistry*; 42:1603-1604.
- Williams C. A., Hout J. R. S., Harbone J. B. Greenham J., Eagles J. (1995). A biologically active lipophilic flavonol from *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry*; 38:267-270.
- Williams C. A. Harborne J. B., Geiger H., Hout J. R. S. (1999). The flavonoids of *Tanacetum parthenium* and *Tanacetum vulgare* and their anti-inflammatory. *Phytochemistry*; 51:417-423.

XI ANEXO

Espectros de masas de algunos compuestos encontrados en *T. parthenium* de México.

1. Alcanfor $C_{10}H_{18}$ P.M. 152
2. Camfeno $C_{10}H_{16}$ P.M. 136
3. α -pineno $C_{10}H_{16}$ P.M. 136
4. β -pineno $C_{10}H_{16}$ P.M. 136
5. Cariofileno $C_{15}H_{24}$ P.M. 204
6. Isoborneol $C_{10}H_{18}O$ P.M. 154
7. α -terpineno $C_{10}H_{16}$ P.M. 136
8. γ -terpineno $C_{10}H_{16}$ P.M. 136
9. Acetato de crisantenilo $C_{12}H_{18}O_2$ P. M. 194
10. Triciclina $C_{10}H_{16}$ P.M. 136
11. 4-terpineol $C_{10}H_{18}O$ P. M. 154
12. Limoneno $C_{10}H_{16}$ P. M. 136
13. o-cimeno $C_{10}H_{14}$ P. M. 134
14. Germacreno D $C_{15}H_{24}$ P.M. 204

1.



2.

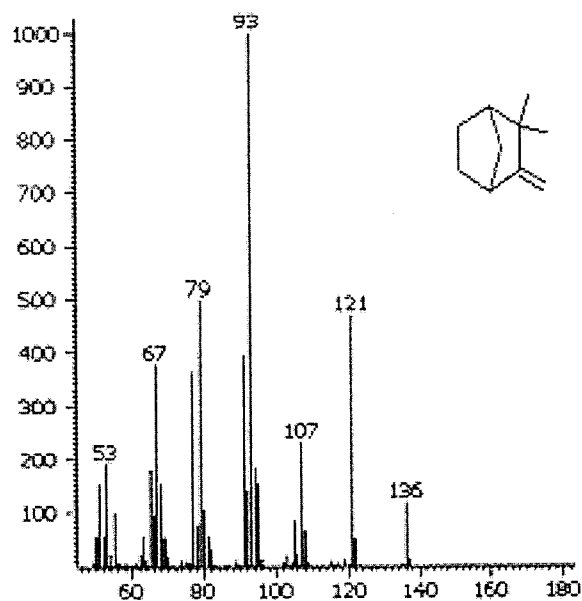
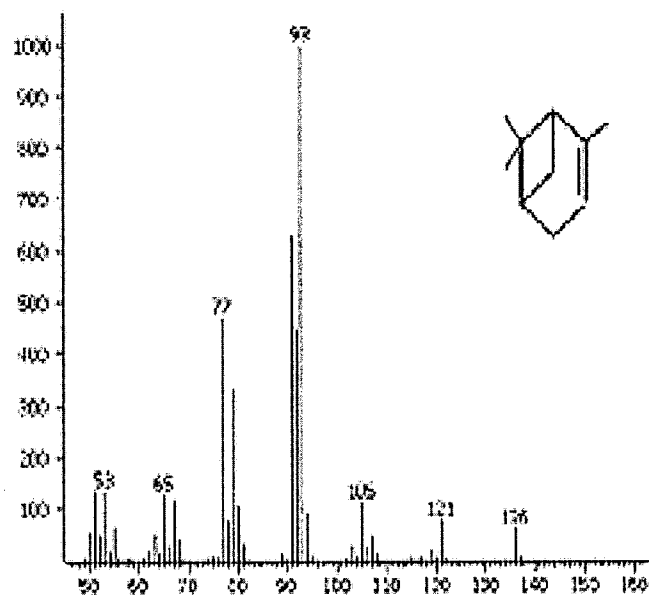


Figura 18. Espectro de masas obtenido por impacto electrónico de los compuestos identificados en las muestras *T. parthenium*. Alcanfor (1) y camfeno (2).

3.



4.

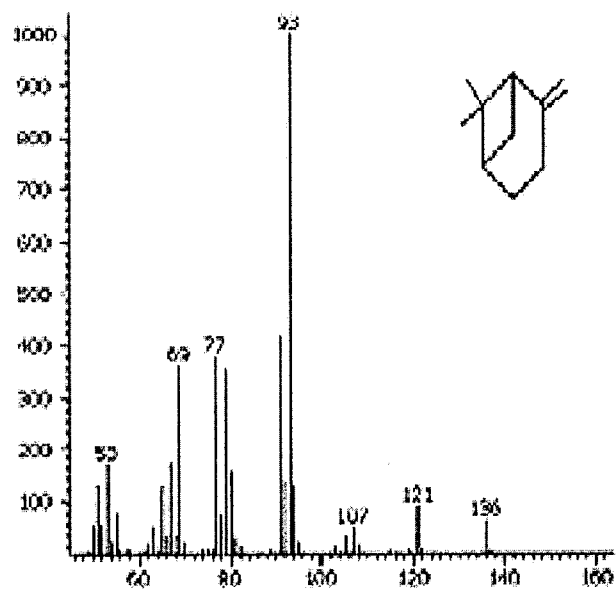
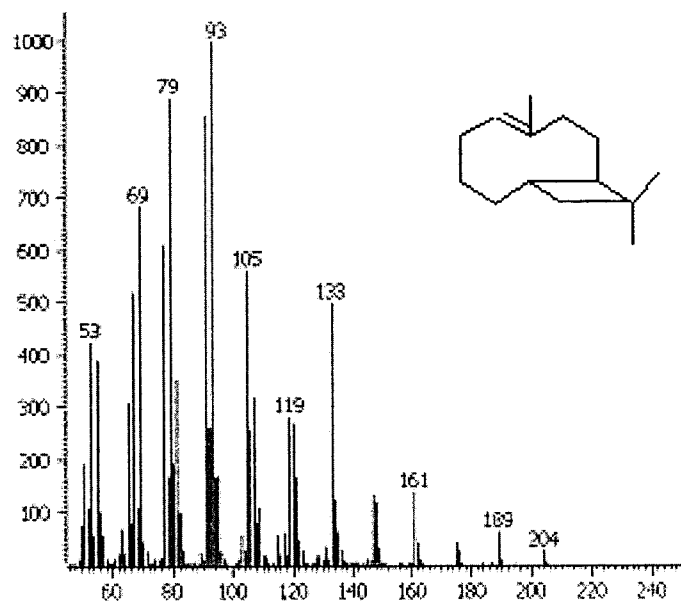


Figura 19. Espectro de masas obtenido por impacto electrónico de los compuestos identificados en las muestras *T. parthenium*. α -pineno (3) y β -pineno (4).

5.



6.

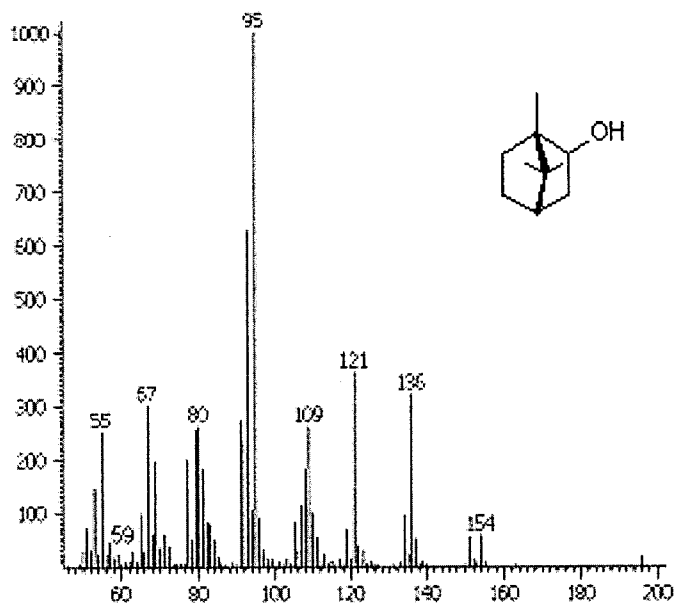
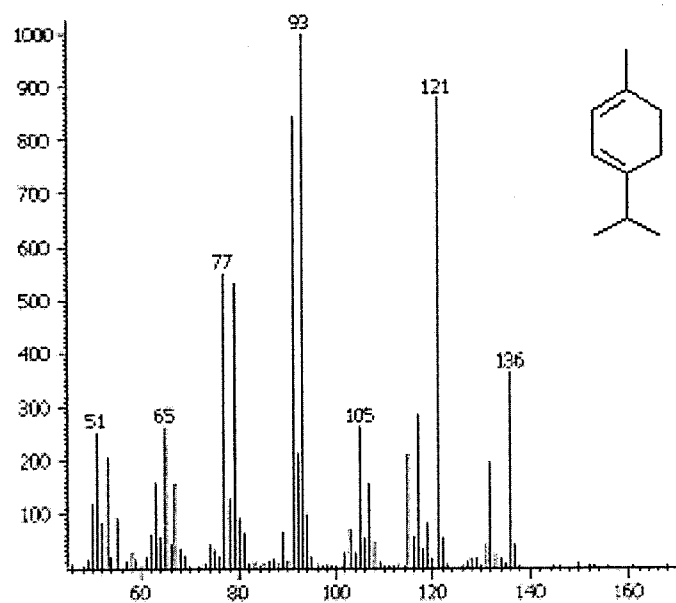


Figura 20. Espectro de masas obtenido por impacto electrónico de los compuestos identificados en las muestras *T. parthenium*. Cariofileno (5) e isoborneol (6).

7.



8.

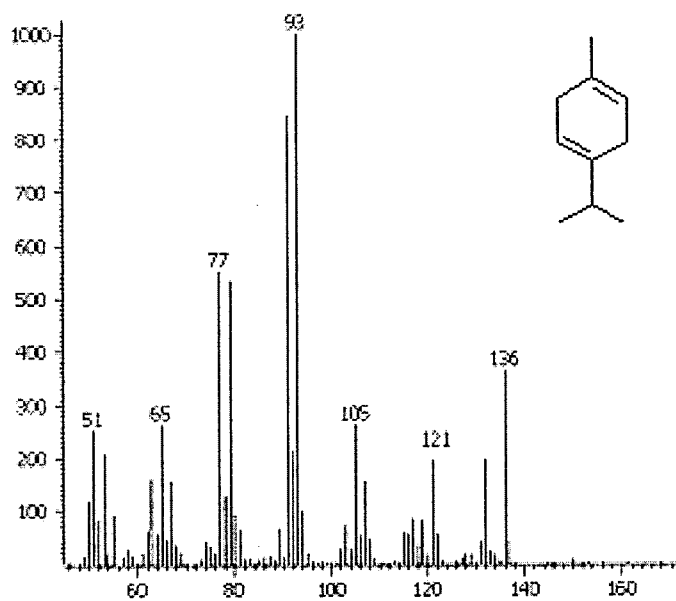
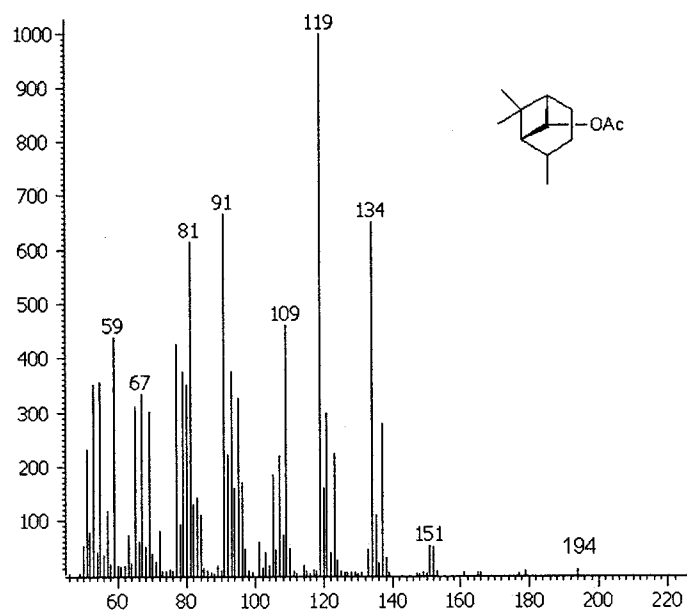


Figura 21. Espectro de masas obtenido por impacto electrónico de los compuestos identificados en las muestras *T. parthenium*. α -terpineno (7) y γ -terpineno (8).

9.



10.

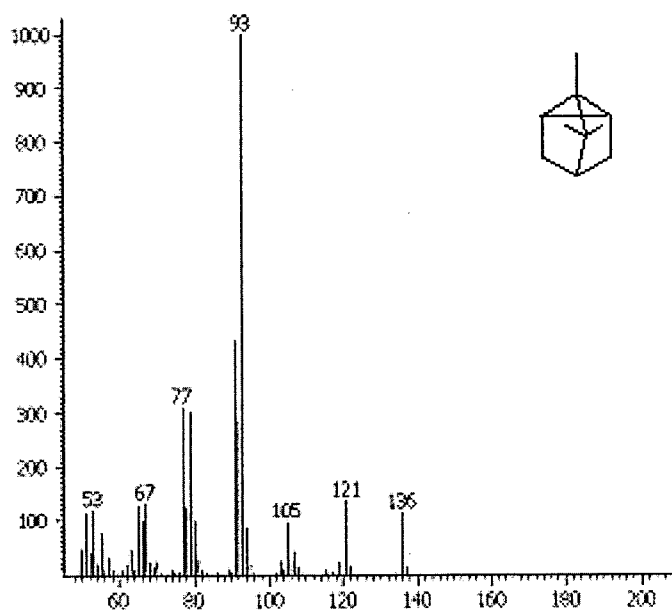
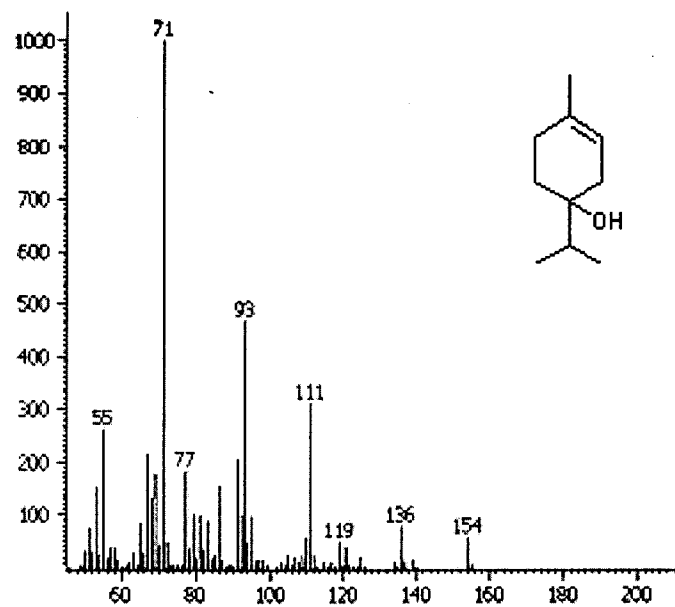


Figura 22. Espectro de masas obtenido por impacto electrónico de los compuestos identificados en las muestras *T. parthenium*. Acetato de crisantenilo (9) y triciclina (10).

11.



12.

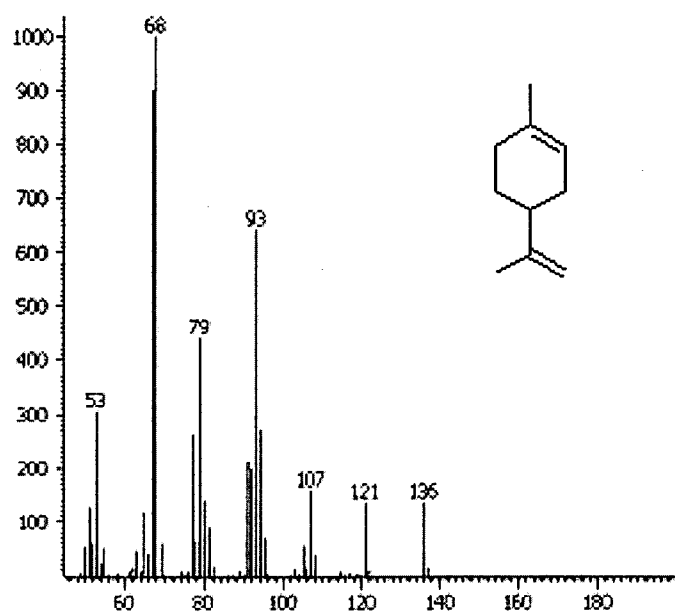
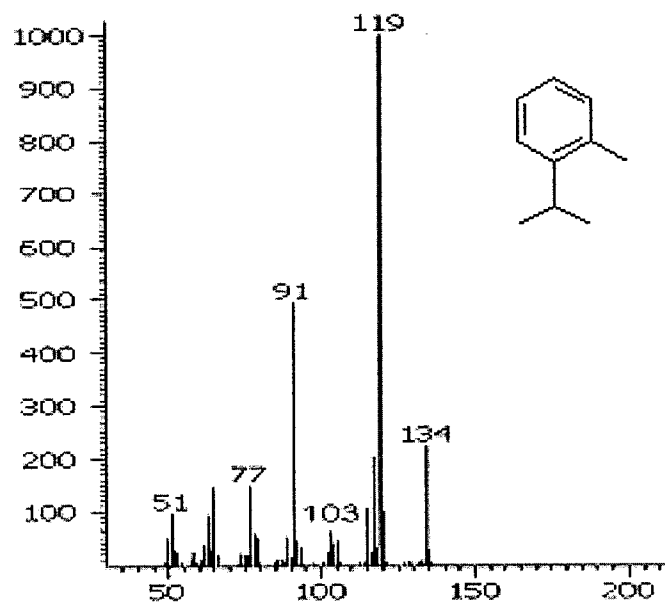


Figura 23. Espectro de masas obtenido por impacto electrónico de los compuestos identificados en las muestras *T. parthenium*. 4-terpineol (11) y limoneno (12).

13.



14.

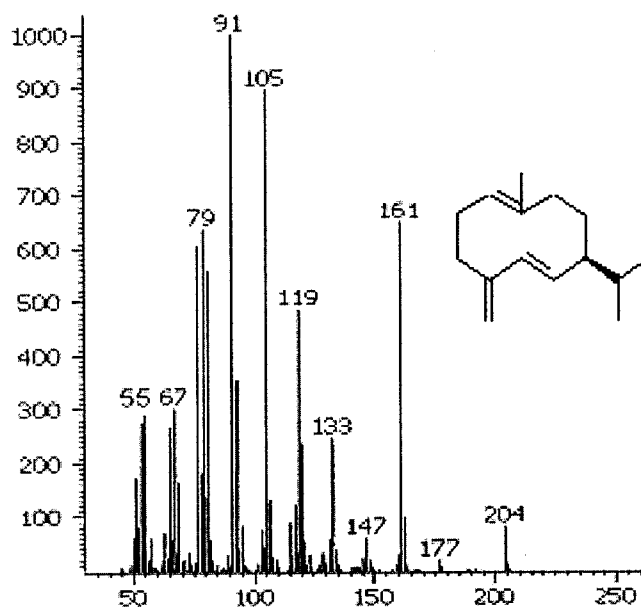


Figura 24. Espectro de masas obtenido por impacto electrónico de los compuestos identificados en las muestras *T. parthenium*. o-cimeno (13) y germacreno D (14).