

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Ciencias
División de Estudios Superiores

**Cultivo, Aislamiento y Variación de Principios
Activos de Tres Especies de Plantas, con
Propiedades Anticancerígenas**

T E S I S

Que para obtener el grado de :

Doctor en Ciencias (Biología)

p r e s e n t a :

JOSE WAIZEL BUCAY



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.

Quiero dedicar esta pequeña labor a mis padres, hermano, esposa e hijos, por la ayuda y apoyo brindados en tantas ocasiones, hasta que ésta llegó a ser realidad. Muchas gracias por ser la luz en mi camino y - mi razón de existir.

También a la memoria de Victoria, de Jaime, y de tantas infortunadas víctimas del cáncer, preocupación fundamental que motivó la realización de este trabajo.

A TODOS MIS MAESTROS

HOY HE LLEGADO A LA CULMINACION DE MIS TRABAJOS, Y AL INTENTAR LA PRUEBA DEFINITIVA, VUELVO LOS OJOS A LOS AÑOS TRANSCURRIDOS Y CON QUE DEVOTA ILUSION, CON QUE SATISFACCION MIRO LAS PENAS PASADAS,- Y LOS TROPIEZOS VENCIDOS. PERO TAMBIEN, DISTINGUIDOS MAESTROS, - VEO LOS BENEFICIOS QUE RECIBI, Y LA AYUDA QUE SE ME IMPARTIO, Y - NO PUEDO MENOS QUE DESEAR PROCLAMAR LLENO DE INFINITA GRATITUD, - QUE NADIE TANTO COMO USTEDES HA INFLUIDO EN MI FAVOR, QUE NADIE - AYUDO EN TAN GRAN ESCALA A DARME CONOCIMIENTOS HASTA DONDE FUI CA PAZ DE ASIMILARLOS; DIGNENSE USTEDES HONORABLES SEÑORES, RECIBIR- EN ESTOS SENCILLOS RENGLONES, EL TESTIMONIO DE MI MODESTA Y ETER- NA GRATITUD.

A G R A D E C I M I E N T O S

Es muy grato para el autor manifestar su reconocimiento a las siguientes instituciones, que aportaron las facilidades para la realización de este trabajo:

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

Productos Químicos Vegetales Mexicanos, S. A. de C. V.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales

Instituto de Química (Universidad Nacional Autónoma de México)

Asimismo, desea hacer pública la infinita deuda de gratitud que tiene para con las siguientes personas, quienes ocupan un lugar especial en su afecto:

Dr. Alfonso Romo de Vivar, por su incondicional ayuda y acertada dirección.

Ingenieros, Avelino B. Villa Salas, Raúl Villarreal Cantón, Fernando - Patiño Valera, Luis A. González Leija y Carlos E. González Vicente del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, en Coyoacán, D. F., lugar donde se llevó a cabo el trabajo.

Físico Xavier Garzón C. e Ing. Ernesto Denot, del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, y a la Srita. Quím. Lucila Antopia y Dr. Joaquín León - V., de Productos Químicos Vegetales Mexicanos, S. A. de C. V.

Doctores, Raúl Cetina y Alfredo Ortega del Instituto de Química de la -- Universidad Nacional Autónoma de México, por haber permitido el que realizara allí, la extracción y determinación de los principios activos de las plantas - estudiadas.

A mis queridos profesores: Dra. Cristina Pérez Amador, Q.B.P. Rodolfo - Salinas Quinard, Ing. y M.Sc. Jesús Jasso Mata, e Ing. Rodolfo Santa María P. por sus acertados comentarios a lo largo de la investigación y revisión del - manuscrito.

CULTIVO, AISLAMIENTO Y VARIACION DE PRINCIPIOS ACTIVOS DE TRES

ESPECIES DE PLANTAS CON PROPIEDADES ANTICANCERIGENAS

C O N T E N I D O

CAPITULO	PAGINA
I.- INTRODUCCION.	1
a.1.) El problema del Cáncer.	
a.2.) La búsqueda de sustancias con actividad antitumoral.	
a.3.) Especies que se estudiaron y características de -- sus principios activos.	
a.4.) Objetivos de la investigación.	
II.- ANTECEDENTES.	7
a.1.) Breve historia de las plantas medicinales.	
a.2.) Plantas empleadas como antitumorales y/o anticancerígenas:	
a.2.1) En la medicina indígena mexicana	
a.2.2) En la medicina mexicana de principios de Siglo XX	
a.2.3) Plantas utilizadas como remedios populares contemporáneos.	
a.3.) Algunas investigaciones para encontrar principios-activos vegetales antitumorales.	
a.4.) Actividad biológica de las lactonas de <i>Helenium spp.</i>	
a.5.) El cultivo de las plantas medicinales.	
III.- MATERIALES	32
A.) Especies estudiadas.	
B.) Algunos aspectos sobre las especies empleadas	
B.1.) Taxonomía.	
B.2.) Distribución geográfica.	
B.3.) Descripción botánica.	
B.4.) Utilidad de la especie.	
B.5.) Procedencia del material propagado.	
C.) Sustrato de crecimiento.	
D.) Algunos datos relativos a la zona de procedencia - del sustrato empleado.	

IV.	MÉTODOS	45
	A.) Extracción y almacenamiento de semillas.	
	B.) Diseño de la siembra.	
	C.) Siembra	
	D.) Cuidados durante el cultivo	
	D.3) Condiciones climáticas del área de estudio.	
	E.) Ensayo de propagación asexual de las especies	
	F.) Cosecha y procesamiento del material	
	F.1) Aislamiento de las lactonas sesquiterpénicas	
	F.2) Aislamiento de los alcaloides	
V.	RESULTADOS	59
	A. Del crecimiento y floración de las especies	
	B. De las pruebas de germinación	
	C. De la propagación asexual	
	D. Aislamiento de los principios activos:	
	D.1 <i>Helenium</i>	
	D.2 <i>Viguiera</i>	
	D.3 <i>Catharanthus</i>	
VI.	DISCUSION	70
	A. De la necesidad del cultivo	
	B. De los resultados del crecimiento y floración	
	C. De la extracción de los principios activos y sus resultados	
	D. De las pruebas de germinación	
	E. De la propagación asexual.	
VII.	CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS	80
VIII.	RESUMÉN	83
IX.	BIBLIOGRAFIA	84

I.- INTRODUCCION

a.1. EL PROBLEMA DEL CANCER.

El Cáncer es una alteración que afecta a todos los organismos pluricelulares, dando como resultado la reproducción celular de un tejido sin control por el individuo, por lo que se le clasifica como enfermedad neoplásica (Berenblum, 1953).

Esta alteración en el hombre se puede dividir básicamente en dos clases: a) Formación de tumores sólidos, carcinomas, sarcomas, -- epitelomas, etc. y b) Leucemias, enfermedades de los órganos hematopoyéticos caracterizadas por el marcado aumento del número de glóbulos blancos de 5 a 8 000 hasta 100 000 ó más por mm³ de sangre ó la enfermedad de Hodgking o Linfogranulomatosis, la que se presenta como agrandamiento de los ganglios linfáticos del cuello, axila, ingle y bazo, formadores de leucocitos de la sangre (Lucas, et al., 1971).

Aunque el cáncer no sea la principal causa de muerte de personas en el mundo, pues lo sobrepasan las debidas a enfermedades cardiacas y del sistema circulatorio, se diagnostican anualmente tan solo en los Estados Unidos de Norteamérica, medio millón de casos y las enfermedades neoplásicas ocupan el 5o. lugar como causa de -- mortalidad en la República Mexicana, ya que tan solo en 1976, se registraron en el Hospital Infantil de la ciudad de México aproximadamente 600 casos de cáncer infantil de muy diversos tipos. De estos, cerca del 63% fueron de pacientes procedentes de provincia, los que debido a lo largo y costoso del tratamiento, regresan a -

los pocos días a sus sitios de origen, no completando la terapia, lo que posiblemente hace que fallezcan y que este mal sea uno de los que más muertes infantiles produzca.

Dentro de las enfermedades cancerosas, la leucemia y los linfomas constituyen la 2a. causa de mortalidad (De la Loza y Saldaña, --- 1972: En López de la Rosa, 1975).

Se invierte una mayor cantidad de esfuerzo en su investigación, - probablemente porque es un asesino tan insidioso que surge a cualquier edad y en casi todos los tejidos corporales.

a.2. BUSQUEDA DE SUBSTANCIAS CON ACTIVIDAD ANTITUMORAL.

Con los descubrimientos de Farber y de Gilman y Philips en la década de los 40's, que demostraron que con medicamentos derivados de la mostaza nitrogenada se podía curar a niños leucémicos, se puede decir que se inicia la etapa moderna de la quimioterapia -- del cáncer (Kupchan, 1974), que abarca hasta la fecha cientos de largas y tediosas investigaciones encaminadas a encontrar substancias principalmente de origen vegetal, inhibidoras del crecimiento de tumores, que no sean tóxicas para los tejidos sanos, para - que sea factible su empleo en la clínica.

Los tratamientos terapéuticos están dirigidos hacia la inhibición de la nueva formación anormal, permitiendo que el resto del organismo quede sin daño. Estos pueden ser tres tipos: radioactivos, quimioterápicos y quirúrgicos, aunque en ocasiones se les emplean en forma simultánea o bien, alternativamente.

Someramente describiremos ahora la quimioterapia del cáncer, la -

que implica el empleo de productos capaces de localizar, identificar y destruir células y tejidos malignos, sin dañar a los normales.

Como las células cancerosas difieren de las sanas, posiblemente - difieren también en sus necesidades alimentarias; ésta consideración permitió abrigar la esperanza de descubrir productos químicos o drogas capaces de destruir o envenenar selectivamente a las células anormales. Idea similar a la que precediera el intento - de combatir la infección bacteriana mediante antibióticos, ----- (Stock, 1970).

Estas investigaciones han dado como resultado que en la actualidad se disponga ya farmacéuticamente de más de 25 agentes químicos, bien probados como citostáticos o antitumorales, de apenas 5 que se tenían entre 1950 y 1960, lo que ha permitido que la probabilidad de sobrevivencia de un paciente con la enfermedad, sea de 1 a 3, e incluso numerosas personas han sido declaradas como completamente curadas, es decir, que después de 5 años de ser tratadas no presentan ninguna recaída o metástasis (desprendimiento de células cancerosas y su traslado por vía vascular a otro sitio -- del organismo, para crear nuevos focos cancerosos), (Kreig, 1970)

a.3. ESPECIES QUE SE ESTUDIARAN Y CARACTERISTICAS DE SUS PRINCIPIOS ACTIVOS.

En el curso de la presente investigación, se estudian tres vegetales:

Helenium mexicanum H.B.K., *Viguiera buddleiaeformis* (DC) Benth et

Hook, ex Hems1. y *Catharanthus roseus* (L.) G. Don, o mejor conocida por su antiguo nombre de *Vinca rosea* L.

Las dos primeramente mencionadas, son malezas en la actualidad no empleadas para ningún fin, pero que elaboran principios activos - del tipo de las lactonas sesquiterpénicas, compuestos netamente - de origen vegetal, aislados principalmente de plantas de la familia de las Compuestas, Umbelíferas y Magnoleáceas (Domínguez, --- 1973 y Romo, 1977). Mientras que *Catharanthus roseus* elabora más de 63 alcaloides (Farnsworth, 1964).

Las lactonas sesquiterpénicas tienen amplia actividad biológica, destacando la de tener propiedades citotóxicas bien demostradas, actúan impidiendo la reproducción celular en tejidos animales, lo que las podría hacer útiles en el tratamiento del cáncer, toda -- vez que se disponga de suficiente cantidad para extender las pruebas farmacológicas que ya se tienen "in vitro" e "in vivo" a nivel de ratón, en donde dieron prometedores resultados, hasta la - clínica en humanos.

Algunos sesquiterpenos lactónicos como la amaralina, actúan como analgésicos (Domínguez, op.cit.), otros son amebicidas o antihelmínticos, como la santonina (Zetina, 1974), ó tienen propiedades venenosas para insectos y peces (Giral y Ladabaum, 1961 y Krochmal y Krochmal, 1973) y aún para animales mayores como ovejas, vacas y caballos, en los que a dosis bajas ocasionan intoxicaciones mortales (Dollahite, et al., 1964; Paniagua; y Aline y Paasch, -- 1973).

Otros como la helenina, son las responsables de dermatitis huma--

nas, por contacto con plantas de algunas especies de las tribus - Heliantheae y Anthemidae, de la familia de las Compuestas (Mitchell, 1969).

La misma helenina ya había sido probada previamente por Rytel, et al., (1966) en vivo, mostrando un efecto antiviral, así como también inhibió el crecimiento de hongos patógenos como *Epidermophyton spp. Tricophyton gypseum* y *T. acuminatum* (Olechnowicz y Stepien, 1963).

Otras lactonas del mismo tipo son fitotóxicas, entre ellas se encuentra la alantolactona; otras más promueven la formación de raicillas adventicias pero en presencia de la luz actúan como inhibidoras del alargamiento del tallo, como es el caso de la heliangina (Nishikawa, 1966; En: P. Martínez, 1974). En cambio, la desacetilviguiestenina, favorece el crecimiento y formación de raicillas (Martínez, op. cit.).

También las crisarteminas "A" y "B", la heliangina y la piretrósina, parecen ser las responsables del crecimiento de raíces en cortes de frijol "mungo", "in vitro" (Romo, et al., 1970. En: V.M. - Martínez, 1974); en donde esas sustancias actuaron como cofactores del ácido indolacético (Sequeira, et al., 1968; y Osawa, 1971, En: P. Martínez, ya citado).

Otras como la elefantina, elefantopina, angustibalina, helenalina, budlefnas; etc., tienen actividad antitumoral y/o antileucémica, (Kupchan, 1969-1974; Petit, 1973-1974; Rodríguez, 1977 y Guerrero 1978, respectivamente).

Estas sustancias son de sabor amargo, de farmacología poco estu-

diada, pero provenientes de plantas algunas veces registradas como medicinales (Domínguez, 1973); son insolubles en éter de petróleo y en agua, se disuelven en etanol o metanol caliente, y mas aún en cloroformo o éter etílico, de aquí que se empleen estas -- propiedades para extraerlas y separarlas de otros compuestos.

Los sesquiterpenos son sustancias catalogadas como metabolitos - secundarios y pueden tener diversos grupos funcionales como alcoholes, oxhidrilos, éteres, lactonas, etc. Son constituyentes de aceites esenciales y estructuralmente están formados por tres unidades isoprénicas, lo que hace que tengan en su composición 15 -- átomos de carbono (Martínez, V. op.cit.).

Respecto a *Catharanthus roseus* (L.) G. Don, ampliamente conocida por su antiguo nombre *Vinca rosea* L., diremos que dos de los varios alcaloides que produce (la vincristina y la vincalécoblas--tina), destacan por ser empleados con éxito, desde 1963, en el -- tratamiento de la leucemia y de otros cánceres humanos. (Neuss, - et al., 1964).

Estas sustancias se presentan en la planta en muy pequeñas pro--porciones (0.00025%), por lo que se requiere de grandes cantida--des de ella para una producción comercial del medicamento; por -- ejemplo, para obtener un gramo de vincristina, se necesitan 500 - kilos de hojas secas de *Catharanthus roseus* (Claus y Tyler, 1965).

Para satisfacer la demanda mundial, dicha especie se colecta de - fuentes naturales y cultivadas, localizadas en Madagascar, Australia, Sudáfrica, Antillas Británicas, Sudamérica, Europa, India y - Sur de los Estados Unidos.

Aunque nuestro país podría convertirse en productor y exportador del producto ya terminado, no se sabe de intentos tendientes a -- cultivarla comercialmente, no obstante que dicha especie prospera bien dentro de las regiones cálido-húmedas, donde se le cultiva a escala doméstica con fines ornamentales.

a.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION

En vista de lo anterior, se considera como principal objetivo de la presente, el contribuir a aclarar algunas de las condiciones - requeridas para el posterior cultivo de las tres especies, luego de ver si bajo dos condiciones diferentes de crecimiento, una al exterior, fuera de su habitat natural, y la otra en invernadero, producen los principios activos de interés. Con su cultivo se podrían obtener grandes cantidades de helenalina y de budlefnas para continuar los estudios farmacológicos que aún faltan; mientras que con la propagación intensiva de *Catharanthus roseus* se podrían obtener ingresos para el sector campesino.

II. ANTECEDENTES

a.1. BREVE HISTORIA DE LAS PLANTAS MEDICINALES

Desde tiempos remotos la humanidad ha usado plantas en su intento de curar enfermedades y aliviar sufrimientos físicos.

Hombres del campo de todas las eras han tenido algún conocimiento de plantas medicinales, derivado del resultado de pruebas y errores. Estos intentos primitivos en medicina se basaron en la especulación y la superstición.

La mayoría de las personas de la antigüedad creían que la enfermedad se debía a la presencia de espíritus malignos en el cuerpo y que podían sacarlos sólo mediante la administración de venenos ó sustancias desagradables para hacer del cuerpo un lugar no grato para permanecer.

El conocimiento y la custodia de la fuente y el uso de varios productos favorables para este propósito era usualmente privativo de los médicos de la tribu. A medida que la civilización progresó, los primeros médicos fueron guiándose en gran parte por estas observaciones.

En todas las primeras civilizaciones hubo mucho interés en plantas medicinales. En China, por los años 5,000 a 4,000 antes de nuestra era, ya eran muchas las drogas en uso. Hay escritos en sánscrito que relatan los métodos de recolección y preparación de las drogas. Los asirios, babilonios y antiguos hebreos, estaban familiarizados con sus usos. Algunos de los papiros egipcios, escritos aproximadamente en 1,000 A.C., contienen los nombres de muchas de las plantas medicinales usadas por los médicos de aquel entonces, entre ellas, *Boswellia sp.* ó "árbol del incienso", *Cannabis sativa L.*, "cañamo" ó "hashish", *Papaver somniferum L.*, "amapola" ó "adormidera", *Aloe spp.* "acíbar", ésta última pertenece a la familia de las Liliáceas, de cuyas hojas se extrae actualmente un jugo muy amargo usado en España como laxante; *Abies spp.* "abetos" y *Cassia spp.*, "casias".

Los griegos estaban familiarizados con muchas de las drogas que aún se conocen en la actualidad, según lo evidencian los trabajos

de Aristóteles, Hipócrates, Pitágoras, Teofrasto y Galeno; pero a pesar de su altamente desarrollada civilización, el elemento sobrenatural sobresalía, así que solamente algunos hombres eran considerados capaces, por algún poder especial, de distinguir las plantas valiosas o dañinas. Estos "rhizotomoi" o excavadores de raíces y arrancadores de hierbas, fueron una casta importante en la antigua Grecia.

Los romanos estaban menos interesados en plantas curativas; aunque en 77 A.C., el griego Dioscórides, que fue médico de los ejércitos de Nerón, escribió su gran tratado, "De Materia Médica", donde refiere la naturaleza y propiedades de todas las sustancias medicinales conocidas en su tiempo. Durante 15 centurias este trabajo se tuvo en gran estima y aún es valioso para los moros y turcos. Dicha obra contiene 600 especies vegetales ordenadas por su nombre griego, que eran de uso medicinal.

Plinio el Viejo escribió acerca de plantas medicinales en su "Historia Natural".

Mucho tiempo después, cuando las obscuras eras del Medievo pasaron, vino un período de yerberos y enciclopedistas y en los monasterios del Norte de Europa se produjeron vastos compendios de verdadera y falsa información de plantas, con especial énfasis en su valor curativo oficial popular.

Fue por este tiempo cuando apareció la curiosa "doctrina de las signaturas", también llamada "Medicina de las similitudes" (Fontquer, 1962). De acuerdo con esta supersticiosa doctrina, todas las plantas poseían algún signo el que indicaba el uso para el --

cual fueron creadas. Así, una planta con las hojas en forma de corazón debería emplearse para curar dolencias cardiacas, etc. Muchos de los nombres comunes de nuestras plantas deben su origen a ésta curiosa creencia.

A partir de este sencillo comienzo, el estudio de las drogas y plantas medicinales ha progresado y es así como la Farmacognosia y la Farmacología son ramas auxiliares de la Medicina.

Como una indicación de que la Botánica y la Medicina han ido siempre mano a mano, aún en tiempos recientes, tenemos el hecho de que la gran mayoría de los primeros botánicos en los Estados Unidos de Norteamérica hayan sido también médicos (Hill, 1952), al igual que algunos de nuestros famosos naturalistas mexicanos de principios de siglo, entre los que mencionaremos, sólo por citar unos pocos, a los doctores, Altamirano, Ramírez, Villaseñor, Armendaris y Martín del Campo, quienes realizaron una gran labor en el Instituto Médico Nacional acerca de la aplicación a la medicina o a la industria, de las plantas mexicanas, para averiguar si eran ciertas las propiedades que la gente del pueblo les atribuía.

a.2. PLANTAS EMPLEADAS COMO ANTITUMORALES Y/O ANTICANCERIGENAS.

a.2.1. EN LA MEDICINA INDIGENA MEXICANA

Es muy conveniente mencionar aquí, aunque sea brevemente la monumental obra escrita por Francisco Hernández, "Historia de las Plantas de la Nueva España", realizada, por encargo del Rey Felipe II de España, entre 1571 y 1576, - tiempo que duró su recorrido, recopilando datos sobre la-

utilidad de la flora y la fauna de las tierras conquistadas.

Este trabajo fue traducido del latín, aumentado y editado en México, en el año de 1615, por el fraile dominico Francisco Ximénez en su obra "Los Quatro Libros de la Naturaleza".

Hernández (op.cit.) menciona, entre otras plantas, unas - que curan úlceras, tumores, o llagas viejas (ambas posibles enfermedades cancerosas) de las que citaremos algunas.

En el Libro IV, Capítulo CXXVIII y CXXXIX se refiere respectivamente al "primer cococxíhuitl o hierba acre" y al "cococxíhuitl de encina", las que corresponden, según los editores de la obra (1942 - 1946), a dos especies del género *Bocconia*, *B. arborea* S. Wats. y *B. frutescens* L. De la primera planta Hernández y Ximénez y Martínez (1928), mencionan que es un árbol que habita en Jalisco, Michoacán, Nayarit, Sinaloa, Puebla y Oaxaca, donde recibe los nombres vulgares de "llora sangre", "chicalote", "chicalote de árbol", "palo amarillo", "enguamba", etc. "cuyos retoños despojados de su corteza y untados, disuelven las cataratas y nubes y cuyas hojas curan las llagas viejas y machacadas y aplicadas destruyen las verrugas".

A la segunda especie, *B. frutescens*, la citan como arbus-to cuyas hojas semejan a los de la encina, y cuyo jugo -- anaranjado, muy amargo, se dice que puede ser usado en el

tratamiento de las úlceras. Respecto a esta planta, León (al reimprimir en 1880 en Morelia, Michoacán, la obra de Hernández) nos dice que en Uruapan, Michoacán, se obtenía de sus semillas un aceite amarillo muy útil para resolver los tumores y apostemas e hinchazones y para sanar las -- llagas. Ramírez y Alcocer (1902) la mencionan como habitante en regiones de los estados de Tamaulipas, Veracruz, San Luis Potosí, Michoacán y Jalisco.

En el Libro IV, Capítulo CXXXVIII, la obra de Hernández - (op.cit.), se refiere al "segundo cuetlaxóchitl" o "flor-de cuero" (sin determinación botánica), del cual cita que es un árbol grande que habita en regiones cálidas y cuyas hojas, machacadas y aplicadas a los senos retraen los tumores y aumentaban la leche.

En el Capítulo CXL, del mismo libro, menciona otro árbol, de talla mediana, llamado "campozactli yacapichtlense o -- medicina de los tumores"; posiblemente se trate de una -- planta perteneciente a la familia de las Compuestas*, por la descripción que hace el mismo Hernández.

Asímismo, otra planta que también él llama "medicina de -- los tumores" o "campozáhuac de Quauhquechulla", es una -- hierba, también posiblemente de la familia antes mencionada*, y que habita en regiones cálidas (Capítulo CXLI, Libro VI).

* Las determinaciones botánicas de las plantas mencionadas en la obra de Hernández (op.cit.) fueron hechas en diferentes épocas por: Urbina, Altamirano, Ramírez, Patoni, Ochoterena, Batalla, Ramírez, Rivera y Miranda.

En el Libro VII, Capítulos I y II, se mencionan las plantas llamadas "cohixin o lagarto" y "cexoxi o pie único" - cuyas hojas retraen los tumores, al ser colocadas sobre ellos.

En el Libro VII, Capítulo IX, se hace referencia a la "cunguricua" (posiblemente una apocinácea), que nace en los lugares altos y cálidos de Michoacán, "donde dicen que cura las úlceras cancerosas de las partes sexuales".

En los capítulos XLI y XLII, también habla de otras dos plantas empleadas con la finalidad antes mencionada y que se llaman "totoncaxihuitl" teocalitzincenze y purpureo, respectivamente y las cuales parece ser que son especies del género *Cassia* posiblemente *C. occidentalis* L. (Standley, 1920).

León (antes citado) menciona dos plantas que no se hallaron en la edición de la misma obra llevada a cabo por la U.N.A.M. en los años de 1942 a 1946, y que son, en primer término, "el árbol llamado calamayo, de cuyas hojas, semejantes a las del laurel, aplicadas en forma de emplasto resuelven los tumores, sanándolos" y el "árbol del fuego" (*Rhus tetlatzium* F.M.), en segundo término, "del que se dice que su látex o leche cura la lepra y suele sanar las llagas incurables".

Valdez (1784-1785; En: Langman, 1964), cita una planta llamada popularmente "cardón", como empleada contra el cáncer. Dicho nombre podría corresponder científicamente

con los de las cactáceas *Pachycereus pringlei* (S. Wats.)- Br. et Rose., o *P. pectenaboriginum* (Engelm.) Br. et Rose; o *Lemaireocereus queretaroensis* (Web.) Saff.; o *L. weberi* (Coulter) Br. et Rose.; *Neubuxbaumia tetezo* (Web.); *Opuntia imbricata* (Haw.) DC. o con el de *Opuntia arborescens*- Engelm. (Ramírez y Alcocer, op. cit. y Martínez, M. 1923).

a.2.2. EN LA MEDICINA MEXICANA DE PRINCIPIOS DE SIGLO XX

Más recientemente, encontramos los trabajos efectuados -- por varios médicos mexicanos a principios de siglo en el Instituto Médico Nacional, los que mencionan a: *Plumbago pulchella* Boiss. ("pañete"), de la que se usan raíces, ta llo y hojas para sanar úlceras rebeldes a la cicatriza--- ción (Altamirano, 1895). De la misma planta, Flores ---- (1907) dice que en el extracto aceitoso de ésta hay "plum bagin", el que puede emplearse para destruir los tumores- malignos, inyectándolo en el centro de dicho tejido. Así mismo menciona que también destruye la pulpa dentaria, co mo el arsénico y otras substancias empleadas en aquel en tonces por los dentistas, y que de, igual modo, posee una acción vaso-constrictora rápida.

Es curioso referir, que ya otra especie de *Plumbago*, *P. - scandens* L., llamada vulgarmente "tepatli", "yerba del -- alacrán", "pañete" "cola de pescado", etc., ya era mencio- nada por Hernández (1615), como que sus hojas, en forma - de cocimiento aplicado a las heridas gangrenosas y a las

úlceras y llagas difíciles de cicatrizar, las sanaba y se seguía recomendando su uso muchos años después, como se menciona en la Tesis de Gómez, publicada en México, en el año de 1884, en la que se dice que R. Lucio, famoso médico mexicano de la época, la empleaba, inyectando un cocimiento de la planta en los tumores cancerosos, y que obtenía un alivio muy notorio en multitud de casos.

Otra planta, también mencionada por Hernández (op.cit.) - en su Capítulo XXXIV, Libro VI, "como mitigante de los dolores y que maduraba y abría los tumores", es una especie del género *Geranium* posiblemente *G. hernandezii* o *G. mexicanum*, "pata de león" (Altamirano,1907), ésta última fue estudiada de 1900 a 1907 por varios autores del Instituto Médico antes citado, principalmente por sus propiedades emolientes (ablandadoras) y astringentes.

Según Herrera (1945), "el rizoma de *Geranium maculatum* es uno de los mejores astringentes de Norte América, debido a su contenido en ácidos tánico y málico, lo que permite también emplearlo como hemostático, antidiarréico y antidisentérico".

a.2.3. PLANTAS UTILIZADAS COMO REMEDIOS POPULARES CONTEMPORANEOS.

Martínez, en 1928, menciona que la antes citada *Bocconia arborea* S. Wats. ("llora sangre"), elabora un alcaloide llamado "boconina" y que la planta era usada por los antiguos mexicanos para curar heridas antiguas y para disolver los tumores, aplicando las hojas machacadas.

El mismo autor, haciendo referencia a *Ipomoea batatas*--- Poir., dice que se emplea en la misma forma que la anterior y con el mismo fin.

En nuestro país se vende un medicamento de patente llamado "Podofilia No. 2" (Laboratorios Bustillos), el cual en su composición posee resina de podofilina, medicina muy tóxica y cáustica empleada con éxito para destruir verrugas, aplicandola por vía externa. Esta substancia es un glucósido que se encuentra en los rizomas de *Podophyllum emodi* Wall. (Berberidaceae), planta que ya era empleada por los médicos chinos mucho tiempo antes de nuestra era, en la curación de tumores malignos y que crece en los declives del Himalaya (Bernard, 1967).

Hawtwell (En: Kreig, 1970) estudió otra especie de *Podophyllum*, *P. peltatum*, la que es usada por los indios Pengebocot para curar el cáncer, y observó que mostró leve efecto sobre la enfermedad de Hodgkin y en sarcomas de los nódulos linfáticos. De la misma especie se vende en Suiza un medicamento que inhibe el crecimiento de tumores sólidos o de cánceres en pecho, pulmón, o del tracto superior (Kreig, 1970).

Winter (1968) menciona algunas plantas empleadas antiguamente en México como remedios populares contra los tumores, entre las que destacan:

El "llantén" (posiblemente *Plantago* spp., según Ramírez y Alcocer, 1902), la "atlanchana" (*Potentilla candicans* H.-

et B. , o *Cuphea lanceolata* Ait .) el "árnica" (*Tithonia - sp. o Heterotheca spp.*), y el "gordolobo" (*Gnaphalium spp.*) Ramírez y Alcocer (op.cit.) mencionan como plantas denominadas popularmente como "hierba del cáncer" a: *Acalypha - phleoides* Cav., *Castilleja tenuiflora* Benth., *Gomphrena - globosa* L., *Lythrum alatum* Pursh, *L. album* H.B.K. y a *Salvia indica* L.

Kreig (op.cit.) hace referencia a varias plantas empleadas en el tratamiento de tumores, entre las que están las siguientes:

Autumn crocus posee un alcaloide similar a la colchicina que se emplea en la actualidad en el tratamiento de la leucemia granulocítica crónica.

Esta especie ya es mencionada con el mismo nombre por Dioscórides (ya citado) como usada en el tratamiento del cáncer.

Viscum album L. ("muérdago") en su jugo fresco se encuentra la viscotoxina, la que inhibe el crecimiento de tumores en ratones, necrosando los tejidos malignos, por lo que se le está estudiando ampliamente en Rusia, Alemania y Suiza, aunque ya desde la antigüedad Plinio el Viejo, en su libro XVI, y Dioscórides, recomendaban su uso. (Font Quer, 1962 y Kreig, 1970).

También desde los tiempos greco-romanos se empleaba la *Aristolochia* spp. que elabora el ácido aristolóquico, el que muestra actividad antitumoral.

El "acónito" o *Aconitum napellus* L. planta muy venenosa - debido a su riqueza en alcaloides y cultivada en nuestro país y en España con fines farmacológicos, es conocida -- desde los tiempos de Plutarco como curativa de la hidropesía, y se le atribuyen también propiedades benéficas contra neuralgias, cáncer, reumatismo y gota (Alvarez, 1962 y Madueño, 1973).

a.3. ALGUNAS INVESTIGACIONES PARA ENCONTRAR PRINCIPIOS VEGETALES ANTITUMORALES.

En este aspecto llevaron a cabo una intensa búsqueda Bhakuni y colaboradores (1976) mediante la recolección, extractado y prueba - de 519 especies diferentes de vegetales, contra varias líneas celulares cancerígenas. Lamentablemente, de tan árdua investigación sólo resultaron 14 extractos con actividad plenamente confirmada, entre los que figuran: el de *Cassia obtusa*, de donde se - aislaron varios compuestos que inhibieron significativamente la - leucemia linfocítica P-388 (PS) en ratones (Bhakuni, et al., 1972). Es digno de mencionarse que esta especie ya era usada por los --- egipcios, por sus propiedades venenosas, laxantes e insecticidas.

La *Digitalis purpurea* L. var. *alba*, elabora glucósidos empleados - desde 1775 como cardiotónicos, mismos que mostraron citotoxicidad tumoral en ratones (Bhakuni, 1974).

McKenna, Taylor y Gibson (1960) tenían estudiadas hasta 1960, 498 - especies de plantas de diferentes familias, cuyos extractos proba - ron contra tumores cancerosos trasplantados en ratones o cultiva-

dos en huevos de aves. Solamente 26 de esos extractos redujeron, al menos en 60%, el crecimiento tumoral, de ellos, siete procedieron de plantas de la familia de las compuestas. En los tumores - cultivados en los huevos, 11 especies tuvieron sustancias capaces de reducir en un 50% el crecimiento anormal inducido, mientras que cuatro especies de la familia Betulaceae inhibieron por completo el tejido.

Sólo *Conocarpus erecta* y *Callitris quadrivalis*, fueron capaces de inhibir los desarrollos tumorales tanto en ratones como en huevos

También es muy conveniente referir entre muchos otros, los trabajos realizados por Kupchan (1969-1974), quien laboró con numerosos botánicos y bioquímicos en varias regiones del mundo, los que desde 1959 hasta 1974 lograron aislar y probar principios activos de más de 100 plantas.

Entre las varias plantas investigadas se encuentran las siguientes:

De la familia de las Celastraceae *Maytenus ovatus* y *Tripterygium-wilfordi*, poseedoras de principios activos antileucémicos probados en vivo en ratón, e "in vitro" contra células derivadas del carcinoma nasofaríngeo humano (KB), (Kupchan, et al., 1972).

Del bulbo de *Colchicum speciosum* se extrajo colchicina, demecolina y la 3-desmetil-colchicina. La colchicina fué de las primeras sustancias en ser empleadas como citostática, pero la desmetilcolchicina mostró una mayor citotoxicidad (Kupchan, et al., 1973).

Los autores antes citados encontraron en 1974 cuatro substancias del tipo de las lactonas sesquiterpénicas en *Elephantopus elatus*-Bertol. y en *Vernonia hymenolepis* A.Rich., las que corresponden a *Elephantopus* son la elefantina y la elefantopina, y a *Vernonia* - la vernolepina y la vernomenina. Todas las substancias antes referidas fueron probadas contra la leucemia linfocítica P-388 en ratones y contra el carcinoma de Walker (256-WM) en ratas.

En el Instituto de Química de la Universidad Nacional se han aislado e identificado varias lactonas sesquiterpénicas, de las plantas de la familia de las compuestas, procedentes de diferentes lugares de nuestra República, de las que son citables algunas para ilustrar lo antes mencionado:

Parthenium confertum Gray, colectada en el estado de Nuevo León, elabora conchosina "A" (Romo, et al., 1970) la que mostró actividad citotóxica "in vitro" (Taboada, 1976).

De *Zaluzania triloba*, del Valle del Mezquital fueron aisladas la zaluzanina "C" y "D" (Romo de Vivar, et al., 1967 y Yabuta, et al., 1978).

Helenium mexicanum, creciendo en el Valle de Oaxaca elaboró mexicana I, substancia que no se ha encontrado en la misma especie pero creciendo en el Valle de México (Domínguez y Romo, 1963).

De *Zexmenia brevifolia*, procedente del Estado de Nuevo León, fueron aisladas las zexbrevinas "A", "B" y "C" (Ortega, et al., 1971).

Verbesina aff. coahuilensis Gray, produce verafininas "B y C", am

bas con actividad también probada en México (Guerrero, 1976).

De las estribaciones de la Sierra de Arteaga en el Estado de Coahuila, se colectó otra planta de la familia de las compuestas llamada *Viguiera stenoloba* o "escalerilla", Maldonado, (1978), la -- que elabora viguiestenina y desacetil-viguiestenina (Guerrero, -- 1974).

Estos productos y los de las 4 especies antes mencionadas, fueron probados "in vitro" en cultivo de tejidos celulares con 3 líneas-celulares:

- 1) La L-929 (proveniente de tejido conjuntivo murino),
- 2) La HEp-2 (derivada de un carcinoma laríngeo humano) y
- 3) La L-1210 (procedente de leucemia murina), mostrando citotoxicidad a dosis bajas (Téllez, González y Taboada, 1973 ; González, et al., 1976).

De otra especie del género antes mencionado *Viguiera buddleiaefor*
mis (DC.) Benth. et Hook ex Hems1., Jiménez (1975) aisló dos nuevas lactonas, denominándoles budleínas "A y B", la primera de las cuales se consideró como altamente citotóxica, ya que inhibió el crecimiento celular en un 79% en la línea HEp-2 y en un 83% sobre la L-929. Además se apreció que ocasionaba en la última línea ci
tada una disminución de los porcentajes de células en reproduc---
ción y a una determinada concentración no se encontró mitosis --
(Guerrero, et al., 1978). 'Conviene recordar que esta es una de --
las tres especies que se estudiaron en el presente trabajo y de -
la que no hay mucho escrito. Solo es mencionada por Villada ----

(1865, En: Ramírez y Alcocer, op. cit.) como especie que en el Estado de Hidalgo se le conoce con el nombre vulgar de "cerote", pero sin hacer mención de su uso por el hombre.

También en el mismo Instituto de Química de la U.N.A.M. se realizó la investigación para aislar las lactonas o principios amargos de *Helenium mexicanum* H.B.K., de la que Romo de Vivar y Romo A. - (1959) extrajeron al final del ciclo vital de la planta, helenalina y cuatro lactonas más que denominaron mexicaninas "A,B,C y D".

Los mismos autores (1961), llevaron a cabo un estudio para ver si variaba la composición en lactonas a lo largo del ciclo vital de dicha planta, colectandola mensualmente, de junio a septiembre -- del mismo año. También era su deseo averiguar "si alguna o varias u otras lactonas son las precursoras". Como resultado, aislaron otras cuatro nuevas substancias del grupo antes mencionado, a las que denominaron mexicaninas "E, F, G y H", y hacen la interesante anotación de que sí variaba la presencia de dichos compuestos a lo largo de la estación de crecimiento y reproducción vegetal.

Romo, Nathan y Díaz (1964) aislaron y determinaron la estructura de la aromatina y la aromaticina de la especie chilena *Helenium aromaticum* (Hook) Bailey, en la que también había helenalina y -- mexicanina I.

De otra especie del mismo género, *H. quadridentatum* Labill., colectada en Veracruz, Hernández, Sandoval et al., (1968) aislaron como principal componente del tipo sesquiterpénico helenalina, y en

segundo lugar mexicanina I, ambas con probada actividad.

La misma especie creciendo en el Estado de San Luis Potosí, produjo helenalina y carabrona (esta última también lactona sesquiterpénica), la que había sido previamente aislada de *Carpesium abrotanoides*. (Hernández y Sandoval, ya citados).

A la helenalina, que fué primeramente aislada por Reeb, en 1910 - (En Giral y Ladabaum, 1961), de la especie *Helenium autumnale* L. - se le atribuyó el fuerte sabor amargo de la planta. El mismo autor entonces la llamó "ácido helénico", pero Clarck (1936) le da el nombre actual y le asigna la fórmula válida de $C_{15}H_{18}O_4$ y la - aisla de otras especies del mismo género, como *H. macrocephalum* y *H. quadridentatum*. Años después, Adams y Herz (1949) la separan de *H. microcephalum*.

a.4. ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LAS LACTONAS DE *HELENIUM* spp.

Las lactonas de *Helenium* spp., tienen diversa actividad biológica. Originalmente, a principios de siglo, numerosos médicos mexicanos entre los que se encontraban Armendaris (1869), Bulman (1897), -- Flores (1907), Martínez del Campo (1897), Orvañanos (1897), Prieto (1896), Río de la Loza (1900) y Villaseñor (1896, 1897), estuvieron analizando y probando para varios fines la planta que llamaban entre otros nombres, "chapuz" (*Helenium mexicanum* H.B.K.). - Haremos mención aquí tan sólo a algunas de sus conclusiones, pues to que muchas de sus investigaciones no son suficientemente válidas en la actualidad, ya que tan sólo probaron los efectos en po-

cos animales, o en uno o dos pacientes.

Tal vez lo más interesante de sus trabajos es que ya Armendaris, (1869) y Carrillo (1887), al aislar los principios activos de la planta, separan dos, la "resina" y la chapuzina y creen equivocadamente que la última es un alcaloide y a las dos sustancias --- atribuyen las altas reacciones tóxicas presentadas por los animales y sujetos de experimentación, diciendo que "la resina es vomitiva y purgante y que su empleo es muy peligroso, y que el alcaloide actúa sobre los centros nerviosos". Flores y Orvañanos (antes citados) amplían lo anterior diciendo que "la resina es estornutatoria, e irritante enérgico que obra sobre el intestino, como un drástico purgante poderoso y peligroso, que a dosis de 2 g ha causado la muerte de los perros. El alcaloide es un convulsivo - que determina la muerte por parálisis cardiaca o respiratoria". - Utilizaron la planta en varios casos de ataxia locomotriz para -- calmar los dolores y "aún se ha llegado a conseguir que la marcha de los enfermos mejore notablemente".

Reeb en 1910 y Lamson en 1913, (En: Clark, 1936) la consideran como antihelmintico. Este último encontró que era un regular veneno contra peces y comienza las pruebas para ver sus efectos insecticidas, lo que comprueba años después junto con McGrovan y Mayer (1942, En: Adams y Herz, 1949), aunque ya en el estado de Tamau lipas se conoce la planta con el nombre de "hierba de la pulga" - porque los campesinos de esa región la han empleado, y aún la --- usan con tal fin, mucho tiempo antes de que se publicaran las investigaciones antes mencionadas (Giral y Ladabaum, 1961).

En 1971 y 1972, Lee et al., demostraron la alta citotoxicidad de la helenalina que extrajeron de *Helenium autumnale* L. y de *H. microcephalum* M.A. Curt ex Gray, para cultivos "in vitro" de las células HEp-2, de las KB (derivadas de carcinoma humano nasofaríngeo) y para fibroblastos humanos normales. También la probaron en vivo, en ratas con tumor de ascitis de Ehrlich.

Petit et al., (1973, 1974), concluyeron que la helenalina representa el primer pseudoguaianólido que mostró actividad antileucémica en vivo, ya que la actividad antineoplásica de este grupo de sustancias raramente se manifiesta en las pruebas en vivo. Observaron que el compuesto incrementaba notablemente el tiempo de sobrevivencia de ratones portadores de la leucemia linfocítica P-388. También encontraron que ella inhibía de 47 a 58% el crecimiento del carcinoma tumoral de Walker (256) en ratas albinas.

Se ha visto que algunas de estas sustancias impiden el crecimiento celular al interferir con ciertos sistemas enzimáticos, como por ejemplo, la helenalina y la tenulina (la primera de las cuales es producida por *Helenium mexicanum* y la 2a. por *H. amarum*) impidieron la síntesis proteica y la del colesterol, inhibiendo además la elaboración del ADN y la actividad de la ADN-polimerasa. Ambas lactonas incrementaron la concentración del adenosin 3'5' monofosfato e interfirieron con los procesos energéticos (Lee, -- Hall et al., 1977).

En relación a *Catharanthus roseus* (L.) G. Don (*Vinca rosea* L.) Noble, Beer y Cutts, en 1956 (En: Idem, 1958), estudiando el empleo popular de esta especie en Jamaica como antidiabético, se dan ---

cuenta de que conejos con esta enfermedad, a los que se les administró un extracto de la planta, murieron a los pocos días víctimas de una infección causada por la bacteria *Pseudomonas sp.*, que normalmente se encuentra donde ellos habitan sin afectarlos. Al analizar su sangre observan un marcado descenso en el número de leucocitos, razón por la que perdieron su defensa a la infección. Esta acción selectiva (reducción en el número de glóbulos blancos) fue la que sugirió su posibilidad de empleo como antileucémica.

Sus investigaciones demostraron que los alcaloides responsables de la leucopenia eran la vincaléucoblastina o VLB y también otro que produce la planta llamado vincristina, o VCR, los que fueron ampliamente probados en la quimioterapia del cáncer en clínica y se expeden con los nombres comerciales de ONCOVIN Y VELBAN (Laboratorios Eli Lilly y Cía.), existiendo numerosos reportes de que ha "curado" 47 tipos de cáncer y prolongado la vida de niños leucémicos, (Svoboda, 1962; Neuss, et al., 1964; Kreig, 1970).

Su método de acción no se conoce con exactitud, aunque se supone que interviene en el metabolismo del ácido glutámico y que "corta" el aporte energético en la célula (Calabresi y Parks, 1974). Evidentemente bloquea la mitosis en la metafase, interrumpiendo así la reproducción celular (Palmer, et al., 1960), al impedir la formación del huso acromático; así que, en la célula se duplican los cromosomas pero no se separan.

Hample y Gerhartz (1964), ya han demostrado "in vivo" e "in vitro" que la VLB causa un bloqueo en la metafase. En 1969, Bensch y --

Malawista, mencionaron que ella ocasiona la formación de cristales microtubulares en el huso.

A altas concentraciones la VLB contrae los cromosomas convirtiendo los en una masa densa que se tiñe mucho (Cutts, 1961).

Más recientemente, varios autores referidos por Stock (op.cit.), opinan que estas sustancias muestran múltiples efectos bioquímicos en la célula, los que incluyen la interferencia en la síntesis del ARN y ADN; Kupchan (1974) sugiere que ellas inhiban a la fosfofructoquinasa, enzima que contiene de 16 a 18 grupos sulfhidrilo y con ello a las macromoléculas que regulan el crecimiento celular.

Los alcaloides de la especie que nos interesan (VLB y VCR), son compuestos diméricos del tipo indol - indol, con las siguientes fórmulas empíricas o condensadas (Gabetta y Mustich, 1975). La vincalécoblastina o VLB: $C_{46} H_{58} N_4 O_9$, y la vincristina (VCR): $C_{46} H_{56} N_4 O_{10}$.

a.5. "EL CULTIVO DE LAS PLANTAS MEDICINALES"

Por muchos años ha existido la incógnita de que si la actividad de los medicamentos obtenidos de plantas cultivadas era igual a la de los extraídos de plantas que crecen en forma silvestre.

En 1907 Rippetoe (En: Kraemer, 1916) condujo algunos experimentos en Virginia (E.E.U.U.), que mostraron que plantas cultivadas de belladona (*Atropa belladonna* L.) produjeron en hojas y raíces iguales cantidades en porcentaje de principio activo, que las de ori-

gen silvestre que había en el mercado.

Carr en 1913 y Sievers en 1914 (en Kraemer, op. cit.) con experimentos comparativos más cuidadosos, encontraron que las plantas cultivadas de la especie antes mencionada, contenían una pequeña cantidad mayor de alcaloide que las plantas silvestres.

Sievers (op. cit.) llega a una conclusión similar diciendo que -- "el porcentaje de alcaloides en las hojas de diferentes plantas cultivadas era extraordinariamente mayor, y que plantas ricas en alcaloides continuaban produciendo descendencia con alto contenido, así que por simple selección se podía producir una mejoría en el producto comercial".

En relación a *Digitalis purpurea* L., Hale, (también en Kraemer, - 1916) refiere que las hojas de plantas cultivadas mostraron mayor potencia que las obtenidas de plantas silvestres, y distinguió hechos como el de que "las hojas del primer año no son necesariamente más débiles que las de 2 años de edad, y pueden ser usadas en la fabricación de preparaciones de digital". Esto conduce a que no se tenga que esperar dos años para obtener una cosecha de hojas con buen poder farmacológico.

Pagani y Romussi, (1966) publican que el contenido de cardenólidos, principios activos de *Digitalis purpurea* L. en plantas silvestres y cultivadas es similar, pero que en las cultivadas hay más heterósidos y muestran marcadas propiedades farmacológicas.

Por tal razón y con el objetivo de lograr un mayor porcentaje de-

principios activos por planta, ya desde 1944 Pennick y Compañía - inician el cultivo de *Digitalis* en Pensilvania, en los Estados -- Unidos, logrando que con métodos controlados de crecimiento y cultivo, cosecha y secado se obtengan medicamentos crudos con una potencia de 140 a 160 por ciento superiores a la concentración es--tándar. Claus y Tyler (1965) indican que con semillas de variedades mejoradas que resisten enfermedades y que producen principios de máxima potencia, se pueden propagar las variedades bajo cultivo en el campo, lo que redituaría más que con plantas que crecen en forma silvestre.

Aunque fundamentalmente en el crecimiento de cualquier vegetal -- juegan un papel muy importante las condiciones del medio tales como clima y el suelo entre otras, dando como resultado variaciones en la producción de principios activos, se han hecho estudios bajo condiciones controladas de cultivo, a fin de ver si ocurren -- cambios a lo largo del ciclo vital.

Aquí mencionaremos, algunos trabajos preferentemente efectuados - con el género *Digitalis sp.*, que antes se menciona y que se prefirió para ilustrar este tema.

Silva, (1966) estudió en 3 diferentes regiones edafo-climáticas a *Digitalis lanata* Ehrh, notando que había variación en la concentración de lanatósidos en las plantas cultivadas.

Bela, et al. (1971) estudiaron en Hungría la variación del contenido de glucósidos de la especie antes citada a lo largo del año, notando que ésta cambiaba cualitativa y cuantitativamente, "te--

niendo su máxima concentración en los meses de junio y julio". -- Evans y Cowley (1972) obtienen resultados similares al estudiar -- la misma variación pero en *Digitalis purpurea* L. en Londres Ingla -- terra y registran que la mayor concentración de digitoxigenina -- ocurre al 6o. o 7o. mes de vida de la planta y que en cambio la -- digitogenina se acumula en el 2o. año de vida cuando la planta ma -- dura y florece.

"Como orientación general y con toda clase de reservas, puede de-- cirse, que los rendimientos cuatitativos de muchas especies de -- plantas medicinales son siempre mayores a pequeñas altitudes, --- mientras que en lo referente a la riqueza en principios activos -- la discrepancia es mayor y no permite ninguna conclusión de la -- que se deduzca ni siquiera una simple orientación. Pero sin em-- bargo, en plantas productoras de alcaloides, al estar estos en re -- lación con el metabolismo del nitrógeno es natural que en su for -- mación influya bastante la temperatura; por eso, se ha observado -- que en algunas especies, a mayor altitud, y por consecuencia más -- baja temperatura, disminuye su riqueza en alcaloides. Es natural -- que con compuestos como los glucósidos ocurra lo inverso, es de -- cir, a mayor altitud mayor intensidad luminosa, la fotosíntesis -- es más enérgica y por tanto mayor la formación de hidratos de car -- bono" (Madueño, 1973).

El mismo autor continúa diciendo: "En relación a la acción de la -- temperatura y la iluminación se ha observado resultados contradic -- torios, pero parece frecuente que después de varios días despeja -- dos y de fuerte temperatura baje la riqueza de alcaloides, lo ---

contrario de lo que ocurre con los glucósidos". Además se ha comprobado que el contenido de los alcaloides varía con la hora del día, y mientras que Madueño (op. cit.), recomienda recolectar en un día soleado al principio de la tarde, Silva (1966), dice -- que se debe cosechar a media mañana, también en un día soleado, y que así se logra obtener un 40% o más, de contenido en principios activos, comparados con su existencia en las horas de la noche o del crepúsculo.

Por lo tanto, en esta investigación se colectarán las plantas a diferentes edades y se compararán ambas, creciendo bajo condiciones de invernadero y al exterior.

III. MATERIALES

A. ESPECIES ESTUDIADAS

- A.1. *Helenium mexicanum* H.B.K.
- A.2. *Viguiera buddleiaeformis* (DC.) Benth. et Hook. ex Hemsl.
- A.3. *Catharanthus roseus* (L.) G. Don, (*Vinca rosea* L.)

B. ALGUNOS ASPECTOS SOBRE LAS ESPECIES EMPLEADAS

- B.1. *Helenium mexicanum* H.B.K.

I. TAXONOMIA

El género fue establecido por Linneo, pertenece a la familia Compositae, Subfamilia Tubuliflorae, la especie *H. mexicanum* se encuentra descrita en el pródromo de De Candolle, Tomo V, página 665 (Carri-
llo, 1887).

Reiche (1926), la incluye en la Tribu I. Tubuliflorae, Subfamilia -
6. Helenioideae, Grupo Primero. Género *Helenium* L.

En diferentes lugares de México recibe los siguientes nombres vulgares: "árnica del país, chapuz, amargosa, rosilla de Puebla, cabezo-
na, hierba de las ánimas o manzanilla montés".

II. DISTRIBUCION GEOGRAFICA

El género *Helenium* se distribuye a través del continente Americano-

(Good, 1971); en México, la especie *H. mexicanum* vegeta en terrenos muy húmedos o inundables del Valle de México, Querétaro, San Luis Potosí, Guanajuato, Hidalgo, Michoacán, Guerrero, Puebla, Veracruz, Tabasco, Baja California, Sonora, Nuevo León, Durango, Chihuahua, Jalisco y Querétaro, (M. Martínez, 1969; Paniagua, 1973).

III. DESCRIPCION BOTANICA.

Es una planta herbácea anual, de tallo recto de forma angular y provisto de pelo corto y ralo. Alcanza de 80 a 90 cm. de altura. Sus hojas son simples, alternas, sésiles, lineares o lanceoladas. Inflorescencia de color amarillo en capítulos terminales, corimbosos, de 2-3 cm de diámetro, con pedúnculos largos y pubescentes, arredondeados y persistentes. El involúcro es polifilo, con brácteas uniseriadas, soldadas hasta su parte media, iguales y lineales. Flores del disco tubulosas y hermafroditas; las de la periferia liguladas y femeninas. Florece de agosto a septiembre (Carrillo, 1887; M. Martínez, 1969 y Sánchez, 1976).

IV. UTILIDAD DE LA ESPECIE.

Carece de empleo, y es nociva para el ganado.

V. PROCEDENCIA DEL MATERIAL

Las plantas y semillas de esta especie que se colectaron, proceden del Ejido San Antonio Tultitlán, cercano a San Cristobal Ecatepec, en el Estado de México; se localizaron en un maizal abandonado por-

su periódica inundación; la planta es regularmente abundante en la zona, en donde alcanza a medir 90 cm. de alto; y fué obtenida en varias recolecciones efectuadas alrededor de los meses de julio a septiembre de 1976, época en que se encontraba en fructificación.

Fueron dejados ejemplares de ésta y de las otras especies estudiadas en los Herbarios de los Institutos Nacional de Investigaciones Forestales (S.A.R.H.) y de Biología (U.N.A.M.) ambos ubicados en la ciudad de México, D.F.



Helenium mexicanum H. B. K.

B.2. *Viguiera buddleiaeformis* (DC.) Benth, et Hook. ex Hems1.

I. TAXONOMIA

Según Reiche (op. cit.) la especie pertenece a la Familia Compositae, - Tribu I. Tubuliflorae, Subfamilia 5, Heliantheae, Grupo Verbesininae, Gé- nero *Viguiera* H.B.K., este fue establecido por Kunth en 1820 (Nov. Gen.- iv. 224. t. 379); la especie *V. buddleiaeformis* fué descrita en 1881 por Bentham y Hooker ex Hems1. (Biol. Centr. Am. Bot. 2:177), quienes corri- jieron a De Candolle, quien la llamó en 1836 *Helianthus buddleiaeformis*- (DC. Prodr. 5:588) En: Blake (1918).

II. DISTRIBUCION GEOGRAFICA

Viguiera es un género que vive desde Canadá hasta Argentina, con más de- la mitad de sus especies habitando en México; *V. buddleiaeformis* es típi- camente mexicana y crece en lugares altos, secos, y soleados. Vive en- bosques de coníferas, pero se le puede hallar en encinares y en matorra- les, en el valle de México y en el centro y sur del país, (Paray, 1958).

III. DESCRIPCION BOTANICA

Es una hierba o arbusto perenne, hasta de 3 m de altura, vellosa, en su parte superior peniculadamente ramificado, con 8 a 90 cabezuelas en ---- panículas hasta de 25 cm de ancho. Hojas ásperas, opuestas, las infe- riores, alternas cerca de la inflorescencia y angostamente oblongas, ova- das o lanceoladas; las inferiores ovadas agudas, cuneadas o redondeadas- en la base, subenteras o aserradas, trinervadas con la nervación reticu- lada. Cabezuelas de 3 a 4 cm. de ancho. Involucros de 9-11 mm de alto

con 4-5 series de brácteas negruzcas. Flores marginales unisexuales y -
lígulas de color amarillo y en número de 10; Aquenios de 1 mm con el vi-
lano con 2 aristas. Florece de agosto a noviembre, (Paray y Sánchez, ya
citados).

IV. UTILIDAD DE LA ESPECIE

No se le conoce algún empleo y en el estado de Hidalgo se llama vulgar--
mente "cerote" (Ramírez y Alcocer, op. cit.).

V. PROCEDENCIA DEL MATERIAL

Esta planta se recolectó en noviembre-diciembre de 1976, de los alrededores del Km 15.5-17, de la carretera México-Toluca (# 15), donde vive --
formando algunos manchones puros, en una zona altamente perturbada. Algunos individuos alcanzan allí hasta los 2 metros de altura y es medianamente abundante en la región.

El material fue reclasificado por Rzedowski y Madrigal.



Viguiera buddleiaeformis (DC.) Benth. et Hook. ex Hemsl.

B.3. *Catharanthus roseus* (L.) G. Don (*Vinca rosea* L.)

1.- TAXONOMIA Y SINONIMIA.

El género *Vinca* fue establecido por Linneo en el año de 1753 en su "Species Plantarum (1:209)" donde distingue 2 especies *Vinca minor* y *V. major*. La descripción genérica asociada con su diagnosis específica apareció en 1754, en la 5a. Edición de su "Genera Plantarum", *Vinca minor* L. es el lectotipo aceptado del género (Stearn, 1966).

Sin embargo, esta especie también llamada "periwinkle" o pervinca de Madagascar, nombres populares con el que se le conoce vulgarmente en los --- países de habla inglesa, ha recibido los siguientes nombres científicos: *Vinca rosea*, *Lochnera rosea*, *Catharanthus roseus* y *Ammocallis rosea*, razón por la que en 1966, Stearn realizó una investigación para determinar cual era el nombre correcto; encontrando que desde 1920 los botánicos -- convinieron, para la flora de apocináceas de las Indias Occidentales, -- que el nombre más comúnmente adoptado fuera el de *Catharanthus roseus* -- (L.) G. Don, usado por varios autores en 1920, 1925, 1932 y 1933, mucho antes de que Pichon lo tomara en 1948 y Stearn en 1956. Este mismo nombre se ha empleado en investigaciones más recientes a partir de 1963.

El primero en reconocer que *Vinca rosea* L. difería en muchos caracteres de la *Vinca* propiamente dicha y que debía ser puesta en un género aparte fue Ludwig Reichenbach, quien en 1828, le propuso el nombre genérico de *Lochnera*; Pichon en 1948, (En: Bisset, 1958), enlista 34 diferencias entre *Lochnera* y *Vinca*.

George Don en 1835 había distinguido este género en su "General System of Gardening and Botany (4:95)", dándole el nombre de *Catharanthus* al género tipificado por *Vinca rosea* con 4 variedades: 1) var. *roseus*, con flores color rosa: 2) var. *albus*, de flores blancas; 3) var. *ocellatus*, con flores blancas con un círculo púrpura en el centro y 4) var. *villousus*; -hojas vellosas, redondeadas en el ápice y mucronadas.

Por lo tanto, *Catharanthus* que G. Don publicó en 1838 (entre el 8 de marzo y el 8 de abril) aunque ya había sido citada desde 1835 por su hermano David (En: 1764), tiene prioridad sobre *Lochnera* Rchb. ex. Endlicher (agosto de 1838).

El nombre *Lochnera* quedó inválido debido a que se parece a *Lochneria* una Tiliácea descrita en 1777 por Scopoli, pues si *Lochnera* Rchb. ex. Endlicher (1838), tuviera prioridad sobre *Catharanthus* (1835-1838) deberá ser relegado como un homónimo tardío de *Lochneria* Scop. (1777).

Considerando lo antes mencionado y según Stearn (1966) el nombre correcto debe ser *Catharanthus roseus* (L) G. Don y será el que se use en esta investigación seguido del de *Vinca rosea* L. solo por la conveniencia de que es ampliamente conocida por este 2o. nombre.

Pichon (1951), en: Farnsworth, 1961) la clasifica como sigue:

Familia:	Apocináceas
Subfamilia:	Plumerioideae

Tribu: Alsotonieae
Subtribu: *Catharanthus* G. Don

Sección 1. *Lochnera* (Reichb. f.) Pich.

Catharanthus roseus (L.) G. Don.

II. DISTRIBUCION GEOGRAFICA

Es una especie pantropical que probablemente se originó en Madagascar o en las partes tropicales del viejo mundo (Calderon, y Standley, 1941); - se dispersó por cultivo a la India, Indochina, Indonesia, Las Filipinas, Australia, Sud-Africa y el Oriente, América, Las Indias Occidentales, Europa y aún en Rusia.

En México se distribuye en las zonas tropicales de Jalisco, Yucatán, Puebla, Veracruz y Oaxaca y el autor la ha visto desarrollándose en los Estados de Michoacán, Guerrero, Morelos, Puebla, Veracruz, Campeche, Tabasco y Quintana Roo, cultivada para ornato. Es apreciada por sus bellas flores durante todo el año, razón por la cual la nombran "maravilla". - No se conoce la fecha de introducción a nuestro país; se le menciona por Sesse y Mociño en su Flora Mexicana, como cultivada en Orizaba, Veracruz y en Guadalajara, Jalisco, desde el año de 1894, por lo que es de suponerse que su llegada se remonte a fechas muy anteriores, quizá procedente de Europa.

Ramírez y Alcocer en 1902 la refieren como cultivada en varias partes de

México, distinguida con el nombre vulgar de "maravilla de España". Los hermanos Dondé (1905) la registran como conocida en Yucatán con el nombre popular de "vicaria" casualmente el mismo, con el que este autor la conoció en Cuba, e igualmente como le nombran en la República de El Salvador (Calderon y Standley, op. cit.)

III. DESCRIPCION BOTANICA.

Es una planta subarborescente de 40 a 80 cms de alto por término medio, de rápido crecimiento, leñosa en su base, con ramas erectas, hojas simples, enteras, sin estípulas, opuestas, siempre verdes, coriáceas, mucronadas y obtusas, de 3-8 cm de largo por 1.5-5 de ancho, su peciolo bidentado o biestipulado en su base; flores axilares, solitarias o en pares, sésiles, actinomorfas, hermafroditas, de color rosa, o blanco, pálido por el lado de abajo, y con el centro rojo o púrpura oscuro, aunque hay variedades sin este punto rojo.

Cáliz de 5 divisiones y sus segmentos ciliados, corola gamopétala, 5-lobulada, de prefloración contorneada, cinco estambres insertos en el tubo de la corola, con los filamentos cortos y las anteras alargadas, aproximadamente en cono; ovario súpero bicarpelar, bilocular, con placentas axiliares; estilo indiviso, estigma ancho y grueso, muchos óvulos en cada división. (Sánchez, 1976).

Los folículos o vainas tienen de 2.5 a 4 cm de largo y de 2-3 mm de diámetro y contienen de 15 a 20 semillas cada una con un tegumento delgado de color negro. (Stearn, op. cit.).

La planta es pubescente especialmente, pero hay una variedad glabra ---
(sin pelo).

IV. UTILIDAD DE LA ESPECIE.

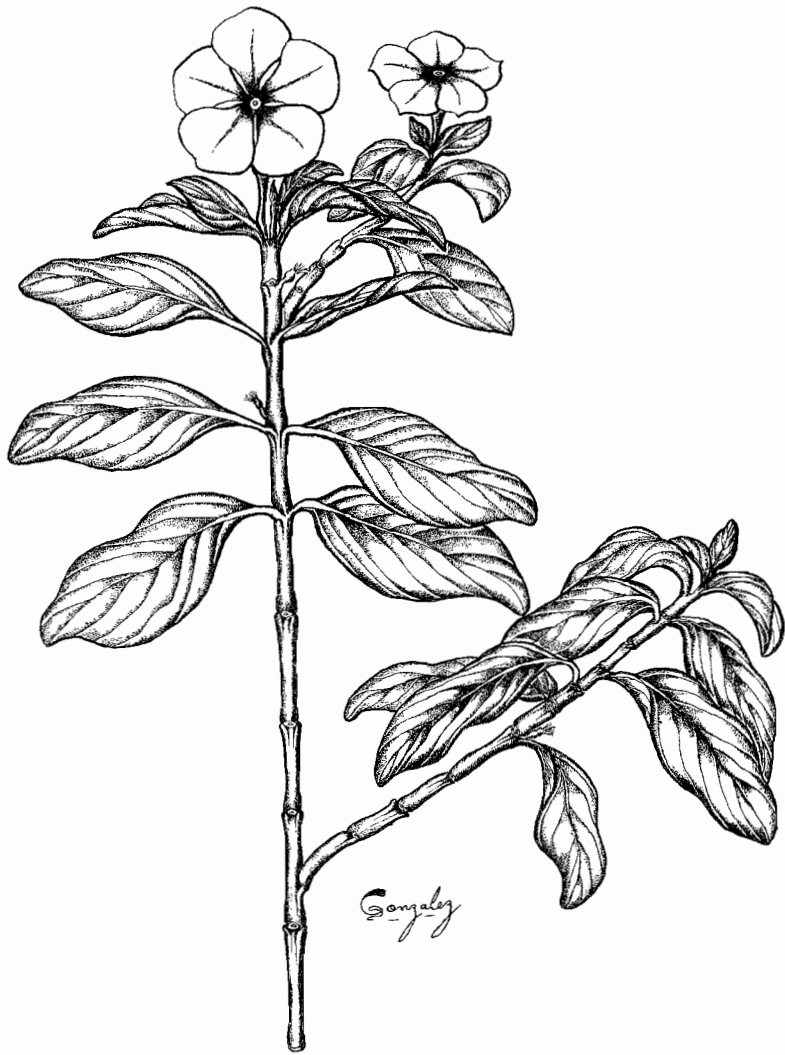
La "pervinca", "maravilla de España", "maravilla", "ninfa", "Teresita", -
"vicaria" o pata de perro" tal como se conoce popularmente a la planta -
en las zonas tropicales de nuestro país, tiene una remota historia de --
ser empleada como remedio en contra de una variedad de enfermedades, pe-
ro no en México, en donde hasta lo que se pudo averiguar sólo se le em-
plea como ornamental.

En el Cuadro No. 1 se enlistan sus usos.

V. PROCEDENCIA DE MATERIAL

Las semillas de *Catharanthus roseus* se colectaron de plantas que crecían
en jardines particulares de varias casas ubicadas en Cuernavaca, Morelos
mayormente de las colonias Rinconada La Florida y las Delicias. La re-
colección se hizo durante los meses de mayo, julio, octubre y diciembre-
de 1976, cuando la planta tenía frutos (vainas).

Esto tuvo que efectuarse de esa manera, ya que no había semilla comer---
cial de la especie en venta en ningún sitio.



Catharanthus roseus (L.) G. Don
(*Vinca rosea* L., *Lochnera rosea* (L.) Reichb. f.)

<u>USO REGISTRADO</u>	<u>PARTE EMPLEADA</u>	<u>P A I S</u>
Afecciones (garganta y ojos)	Hojas	El Salvador y Cuba
Agente abortivo	Raíces	Filipinas
Amargosa (hierba amargosa)	Toda la planta	Viet Nam del Sur
Antidiabética	Hojas y toda la planta completa	Sud Africa, Natal, India, Australia, Sud Viet Nam, Filipinas e Inglaterra.
Antidisentérica	Raíz y planta completa	Viet Nam del Sur
Antigalactagoga (que detiene la producción láctea)	Hojas y planta completa	Francia y Viet Nam del Sur
Antiséptico (vías urinarias)	Parte aérea	Viet Nam
Astringente (para retener las eva- cuaciones intestinales)	Hojas, raíces o planta completa	Viet Nam del Sur
Depurativa (Laxante).	Raíces y planta completa	Madagascar
Diaforética (que provoca la sudo- ración o transpiración)	Planta completa	Viet Nam del Sur
Dolor dental	Raíz	Madagascar
Dispepsia (trastorno digestivo)	Hojas	Viet Nam del Sur
Emenagoga (que provoca y regula la menstruación)	Raíz	Filipinas
Fiebres intermitentes (malaria)	Raíz y planta completa	Viet Nam del Sur y Central
Infecciones de la piel	Hojas, raíz o la planta completa	Sud Viet Nam
Menorragia (Menstruación excesiva)	Raíz y hojas	Sud Africa
Piquetes de avispa	Jugo de la planta	India
Regulador menstrual	Parte aérea	Nor Viet Nam y China
Vermífugo	Raíz	Madagascar
Vomitivo	Hojas	Madagascar
Vulneraria (que cura heridas o llagas)	Raíz y planta completa	Isla de Mauricio

CUADRO NO. 1; Usos de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don (*Vinca rosea* L.) según: Farnsworth, 1961; Calderón y Standley, 1941 y Sayas, 1977.

C. SUSTRATO DE CRECIMIENTO.

Se empleó como sustrato para el desarrollo de las plantas a tierra oscura-forestal, del Parque Nacional de Zoquiapan, ubicada en Río Frio, Estado de México, la cual tiene las siguientes características físicas y químicas*

C O L O R		T E X T U R A			CLASIFICACION TEXTURAL.
En Seco:	En húmedo:	Arena	Arcilla	Limo	Franco
Gris-oscuro	Pardo muy oscuro	43%	18%	39%	
(10 YR 4/1)-**	(10 YR 2/2) **				

pH: 6.40 Materia Orgánica: 9:50% Relación C/N: 15.6

Capacidad de Intercambio Catiónico Total (En meq/100g): 42.7

Nitrógeno Total (En %): 0.4

Fósforo y Potasio (En Kg./Ha.): 14 y 375 respectivamente

En resumen: Se le considera un buen suelo, sólo que algo pobre de fósforo, de acuerdo con las tablas de niveles aplicables a suelos agrícolas

*/ Análisis realizado en el Laboratorio de Suelos del I.N.I.F. por el Q.B.P. Jorge Soto Soria, a quien se agradece su colaboración.

**/ De acuerdo a las Tablas de colores Munsell.

D. ALGUNOS DATOS RELATIVOS A LA ZONA DE PROCEDENCIA DEL SUELO:

Altitud sobre el nivel del mar: Entre 3,000 y 3,200 metros.

Latitud: 19°20'

Longitud: 98°30'

Topografía: Laderas de cerros

Roca Madre: Andesítica*

Origen del Suelo: Coluvial

Espesor del Suelo: Aproximadamente 60 cm.

Clasificación: Café forestal*

Vegetación: Bosque mixto de coníferas, principalmente de *Abies religiosa**

* Según Madrigal, (1967)

IV. METODOS:

A. EXTRACCION Y ALMACENAMIENTO DE SEMILLAS.

Los frutos de las tres especies fueron secados al sol, y las semillas extraídas de diferente manera, de acuerdo a la planta:

- 1) Los capítulos maduros y secos de *Helenium*, con solo sacudirlos levemente, dejaron en libertad a los frutos (aquenios), que tienen una sola semilla cada uno (monospermicos).
- 2) En el caso de *Viguiera*, hubo necesidad de frotar los capítulos completos, contra la malla metálica de un tamiz, para obtener la totalidad de los frutos, también monospermicos.
- 3) En relación a *Catharanthus*, cuyo fruto es una vaina, estas se recolectaron antes de madurar, por lo que fue necesario abrir cada una de ellas, para obtener las semillas.

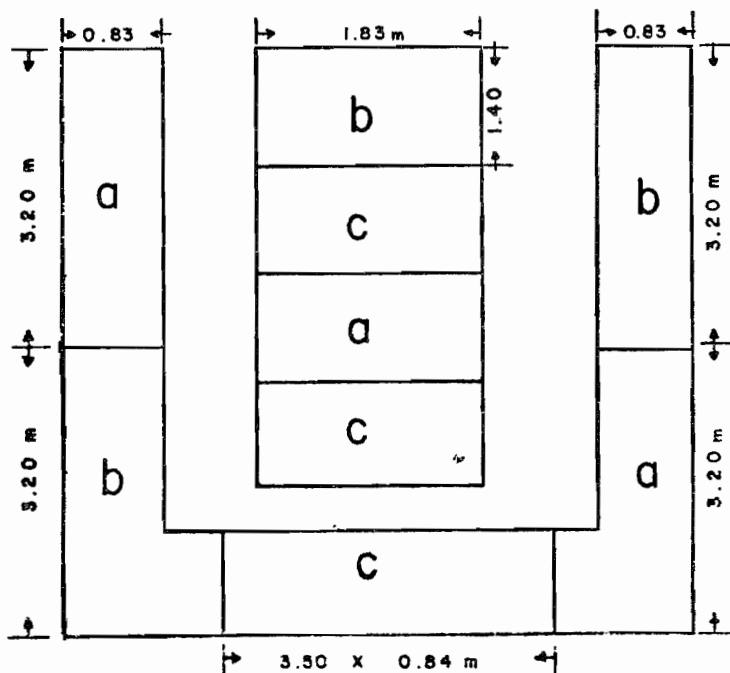
Los aquenios y las semillas de las tres especies, fueron pasadas por diferentes tamices para "limpiarlas", ya que no fue posible lograr la separación total de las impurezas por medio de limpiadores o sopladores de viento. Las semillas fueron conservadas en envases de vidrio con tapón de rosca dentro de un refrigerador, del que se sacaron un día antes de la siembra.

B. DISEÑO DE LA SIEMBRA

La superficie útil de un invernadero (facilitado por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales), y su réplica al exterior en terreno de la misma institución en Coyoacán, D.F., fueron divididas en 9 partes en cada sitio, midiendo cada una de ellas aproximadamente 2.60 m²; cada una de las cuales fue empleada para repetir 3 veces cada siembra.

Es decir, cada especie estuvo repetida en tres sitios separados a la intemperie y en otros tres en el invernadero.

El cuadro No. 2 ilustra la disposición escogida y en donde las letras a) - significan *Helenium mexicanum*; b) *Catharanthus roseus*, c) *Viguiera buddleiaeformis*.



C. SIEMBRA

Con tierra previamente fumigada con bromuro de metilo, se llenaron cajas o mesas de crecimiento hasta lograr una capa uniforme de aproximadamente --- 16 cm de espesor. Un día antes de la siembra se le humedeció y emparejó, trazándose surcos de 1.5 cm de profundidad con ayuda de un surcador de madera.

En cada parcela, fue sembrada igual cantidad de semillas de cada especie, siguiendo el método de "a chorrillo", o sea repartiéndola uniformemente a lo largo del surco. Se dejó una distancia de 4 cm entre cada surco con - semillas, cubriendo éstas con una capa muy delgada de la misma tierra.

La cantidad que se sembró por separado en cada parcela fue:

8.90 g de semillas de *Helenium mexicanum*

14.00 g de semillas de *Catharanthus roseus* y

6.00 g de semillas de *Viguiera buddleiaeformis*

La cantidad de semilla puesta en cada parcela estuvo basada en los resultados obtenidos de ensayos de germinación previamente efectuados, los que se llevaron a cabo en cajas de Petri con papel filtro como sustrato, y colocadas en una germinadora a una temperatura constante de 22°C. (Cuadro No. 4).

D. CUIDADOS DURANTE EL CULTIVO

D.1. RIEGO Y SOMBREADO

Los riegos fueron dados en el invernadero diariamente mediante un sistema de aspersión automático, y al medio ambiente con regadera de mano, efectuándolos diario o cada tercer día; fue necesario cubrir por las tardes con medias sombras las parcelas del exterior, con malla mosquitero plástica negra, a fin de evitar la desecación del suelo, hasta que se regularizó la temporada de lluvias.

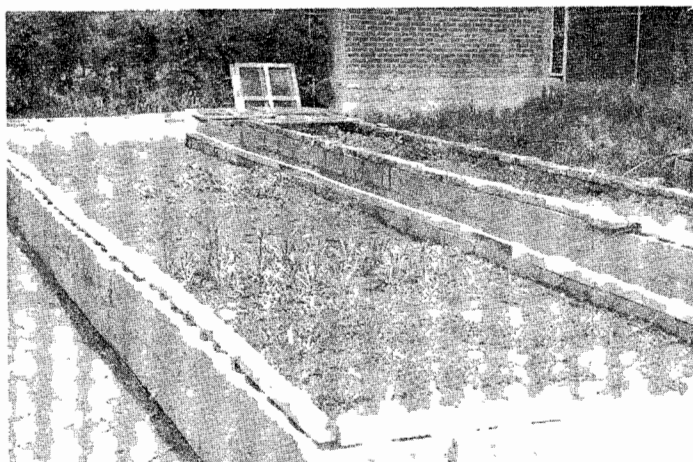


Fig. # 1 Vista parcial del ensayo al exterior: Crecimiento de *Catharanthus* (en primer plano) y *Helenium mexicanum* - (plano posterior), a los 3 meses de edad. Al fondo - cama cubierta por mallas sombreadoras.

D.2. PROBLEMAS SANITARIOS

Durante el curso de la investigación, en el invernadero, se hicieron aplicaciones de fungicidas (Manzate y Captan) al suelo y plantas; durante los tratamientos se suspendieron los riegos diarios y se removió el suelo para combatir las enfermedades fungosas que se presentaron en raíces y hojas.



Fig. # 2 Izquierda, estrangulamiento y necrosis del cuello, "damping-off o mal del semillero"; derecha plantas sanas.

También en el mismo sitio, se roció Dieldrín y Malatión, a dosis de 1 ml/ l de agua, para controlar a la plaga de las "mosquitas blancas" y a diferentes orugas o larvas de lepidópteros que se alimentaban de las tres especies vegetales.

En el medio ambiente se aplicaron los mismos insecticidas, pues se presentaron severos ataques de pulgones y orugas, preferentemente durante los meses de mayo y junio. Fue necesario aplicar un producto llamado Tapps, para contener el excesivo número de caracoles de jardín y "tlaconetes" (*Helix sp.* y *Limax* o *Philomycus sp.* respectivamente).

D.3. CONDICIONES CLIMATICAS DEL AREA DE ESTUDIO.

3.1. INVERNADERO

Se le dotó con equipos de calefacción y enfriamiento automático, que permitían lograr que la temperatura mínima no fuera menor a 13-14°C y que la máxima no sobrepasara los 35°C,- se llevaron registros diarios de la temperatura y humedad -- con un higrómetro y con varios termómetros de máxima y mínima, repartidos en el área del invernadero (Fig. # 3).

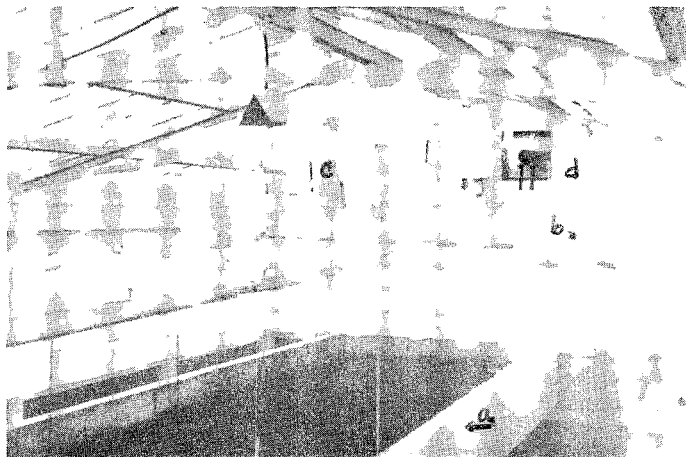
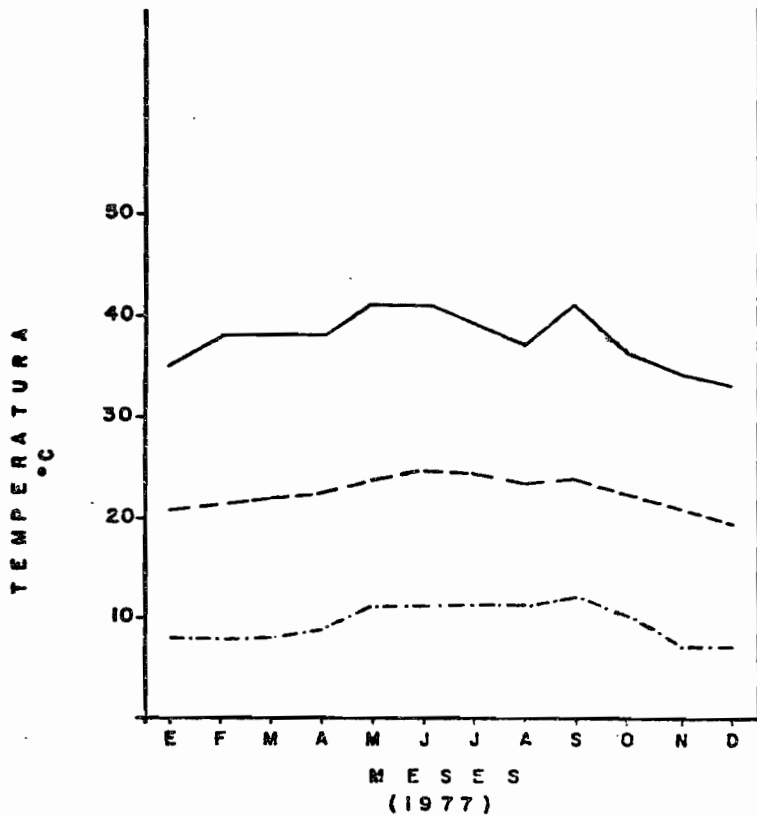


Fig. # 3 Aspecto interior del invernadero:

- a) Mesa central recién sembrada y delimitada con estacas
- b) Sistema de riego por aspersión
- c) Termómetros e higrómetro
- d) Extractor de aire.

La variación mensual de temperatura y humedad se presenta en la siguiente gráfica:

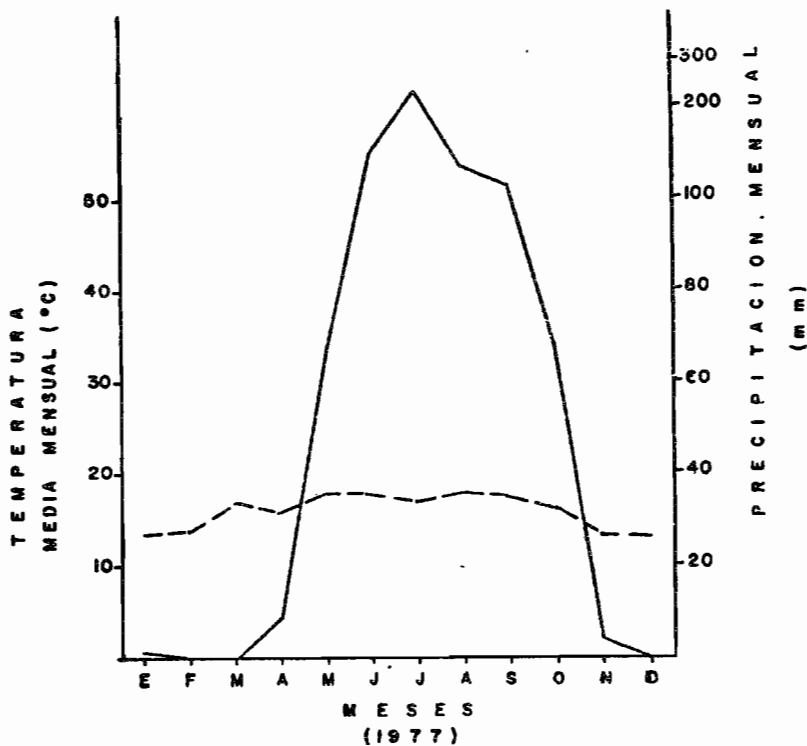


TEMPERATURA MEDIA - - - - -
TEMPERATURA MAXIMA EXTREMA - - - - -
TEMPERATURA MINIMA EXTREMA - . - . - . -
GRAFICA# 1 REGISTRO DE LA TEMPERATURA
DEL INVERNADERO

3.2. EN EL EXTERIOR

Fueron recabados datos diarios de temperatura, humedad ambiental, - precipitación pluvial, nublados, etc., por la Srita. Ma. Luisa Maya encargada de la estación meteorológica, ubicada en terrenos del propio Instituto, colindante con el sitio donde se llevó a cabo el trabajo.

En la Gráfica # 2, se presenta la información referente a la temperatura media y precipitación pluvial, del año de 1977, en Coyoacán (México, D.F.).



GRAFICA# 2

-----TEMPERATURA
———PRECIPITACION

COYOACAN, D.F.

E. ENSAYO DE PROPAGACION ASEXUAL DE LAS ESPECIES

Fueron llevadas a cabo pequeñas pruebas preliminares simultáneamente a la investigación, para ver si era posible propagar vegetativamente a dos de las especies estudiadas, *Catharanthus* y *Viguiera*; con *Helenium* no se intentó, por ser su tallo completamente herbáceo además de que dicha especie es anual.

Se hicieron ensayos de estacado en tierra y en arena de río mezclada con vermiculita, aplicándoles hormonas vegetales (ROOTONE) a las porciones -- que se enterraron, y dejando sus correspondientes testigos sin aplicación.

Las estacas fueron colocadas en un cuarto mantenido a temperatura constante (20°C), donde había un humidificador de ambiente tipo doméstico medicinal, para lograr tener un 80% mínimo de humedad constante, y favorecer el enraizamiento de las estacas.



Fig. # 4 Ensayo de propagación de estacas de *Viguiera buddleiaeformis*, a la izquierda con hojas y a la derecha desprovistas de ellas.

F. COSECHA Y PROCESAMIENTO DEL MATERIAL

Periódicamente se llevaron a cabo recolecciones de las especies bajo estudio.

De cada especie, se tomaron y mezclaron plantas de las tres parcelas, separando las procedentes del invernadero, de las del exterior (Cuadro --- No. 3).

Todas fueron arrancadas del suelo, enjuagadas con agua corriente para lavar las raíces, escurridas para eliminar el exceso de humedad, pesadas - en verde y puestas a secar en compartimientos cerrados, adaptados para - este fin, los cuales secaban lentamente a las plantas mediante corrientes de aire frío.

Una vez logrado lo anterior, eran nuevamente pesadas y se les envasaba - en bolsas de papel, cerrándoles bien y conservándolas en cajas de cartón para su posterior análisis químico.

Mensualmente eran tomadas al azar 20 plantas de cada especie, a las que se le media y pesaba, registrándose su crecimiento. (Los datos a éste - respecto, aparecen en la gráfica # 3).

CUADRO NO. 3

TABLA DEMOSTRATIVA DE LAS RECOLECCIONES-REALIZADAS

E X T E R I O R

I N V E R N A D E R O

E S P E C I E	FECHAS DE SIEMBRA Y BROTACION		COSECHAS MES					FECHAS DE SIEMBRA Y BROTACION		COSECHAS MES						
	<i>Helenium mexicanum</i>	14 de dic.	27 de dic.	Mayo 3*	Junio 4*	Julio 2**	Dic. 1*	Feb. 5*	3 de dic.	13 de dic.	Feb. 7*	Mar. 8*	Abr. 9*	Jul. 10**	Sept. 11**	Nov. 12*
<i>Viguiera buddleiaeformis</i>	28 de dic.	8 de feb.	Agosto 18*	Diciembre 19**	Mar. 20**			28 de dic.	10 de ene.	Mar. 13*	May. 14*	Jun. 15*	Jul. 16*	Ago. 17**	Oct. 18**	Dic. 19**
<i>Catharanthus roseus</i>	4 de ene.	1 de feb.	M. 24*	May 25**	Jun 26**	J. 27**	S. 28**	Oct. 29**	Dic. 30**	E. 31**						

* Muestra procesada hasta extracto crudo total, con cuyo número aparecerá en los cuadros de resultados.

** Muestra cromatografiada hasta separación de los principios activos buscados.

F.1 AISLAMIENTO DE LAS LACTONAS SESQUITERPENICAS

Las diferentes muestras secas de *Viguiera* y *Helenium*, fueron pulverizadas en un mortero de hierro y extraídas con etanol caliente a reflujo, durante tres horas, agregando nuevo disolvente cada hora.

Se reunieron todos los extractos y concentraron al vacío hasta tener un tercio del volumen original, al que se trató con una solución acuosa saturada de acetato de plomo hasta que no se observó formación de precipitado. Se dejó reposar durante dos horas eliminándose el lodo precipitado que -- contiene clorofilas, ceras, carotenos e hidrocarburos, mediante la filtración al vacío, con ayuda de celita. La solución transparente se recogió y extrajo varias veces con cloroformo, lavándose con agua; para eliminar el alcohol; la porción clorofórmica fue secada con sulfato sódico anhidro, filtrada y concentrada al vacío casi a sequedad, en un rotavapor.

A los extractos así obtenidos, se les cromatografió en placas delgadas de sílice G. usando como testigo muestras auténticas de helenalina* y budleínas "A y B" **. (En el cuadro No. 3 aparecen los datos de las muestras procesadas hasta ese paso).

Las placas fueron corridas en una cámara de vidrio empleando como eluyentes al benceno y acetato de etilo (4/1), y se revelaron aplicándoles una aspersión de sulfato cérico disuelto en ácido sulfúrico y enseguida se -- les calentó en parrilla eléctrica apareciendo los diversos componentes en forma de manchas oscuras.

* Proporcionada por el Dr. A. Romo de Vivar.

** Facilitadas por el Dr. C. Guerrero.

A siete de estos extractos se les separó en fracciones, mediante cromatografía en columna, empleando como adsorbente a la alúmina Alcoa F-20, (previamente lavada con acetato de etilo y secada antes de colocarla en la columna) y diferentes eluyentes (benceno puro hasta obtener en una fracción a la helenalina, y cloroformo-acetona (85/15), para separar las budleínas "A" y "B"); las fracciones que cristalizaron fueron recristalizadas con acetona y éter isopropílico, para determinarles puntos de fusión y análisis espectroscópico con rayos infrarojos para confirmar su identidad.

F.2. SEPARACION DE LOS ALCALOIDES DE *CATHARANTHUS ROSEUS G.DON*

Se siguió la técnica recomendada por Farsworth (1961), que consiste en: Pulverizar el material ya seco, y dejarlo en forma de pasta en hidróxido de amonio (al 28% en solución, o sea tal como se expende comercialmente), durante una noche, pasada la cual, se extrae continuamente con cloroformo hasta agotar los alcaloides, se seca éste sobre sulfato sódico anhidro, filtrándose antes de evaporar al vacío hasta sequedad.

Este residuo se calienta en una solución acuosa de ácido acético al 6%, con agitación continua durante una hora.

Se filtra y lava con más ácido acético, hasta que el residuo ya no dé la reacción positiva en la prueba de alcaloides, tanto en la de Meyer como en la de Dragendorf.

Esta solución se trata con hidróxido de amonio hasta que su pH sea de 9.5; los alcaloides se extraen con cloroformo, el extracto resultante es secado con sulfato sódico, y concentrado a un pequeño volumen en el rotavapor, dejándose secar completamente al aire.

A estos extractos se les cromatografió uni y bidireccionalmente en placas de sílice G, empleando como eluyente una mezcla de acetato de etil-etanol (3/1), y fueron reveladas con sulfato cérico amónico disuelto en ácido fosfórico (Cone, et al., 1963); comparándose con muestras auténticas de vincristina (VCR) y vincalécoblastina (VLB) (Cedidas por sus fabricantes, los laboratorios Eli Lilly de México). Las fracciones obtenidas de la separación en columna de un extracto de estos alcaloides, fueron también cromatografiadas en placa delgada, y comparadas con muestras auténticas (Véase figuras en el Capítulo de Resultados).

V. RESULTADOS

A. DEL CRECIMIENTO Y FLORACION DE LAS ESPECIES PROPAGADAS

1. *Helenium mexicanum*

Como se puede apreciar en la gráfica # 3, cuando esta especie se desarrolló en el invernadero, su período de crecimiento, floración y fructificación difirió de las que fueron mantenidas en el exterior, notándose que bajo las condiciones del primero, completó su ciclo vital -- dos meses antes (junio y agosto, respectivamente), además la brotación fué mayor en un 55% y ocupó tres días menos que en el exterior. En ambos casos, se obtuvo semilla fértil, ya que la polinización la realiza el viento.



Fig. # 5 Plantas adultas de *Helenium mexicanum* creciendo en el invernadero.

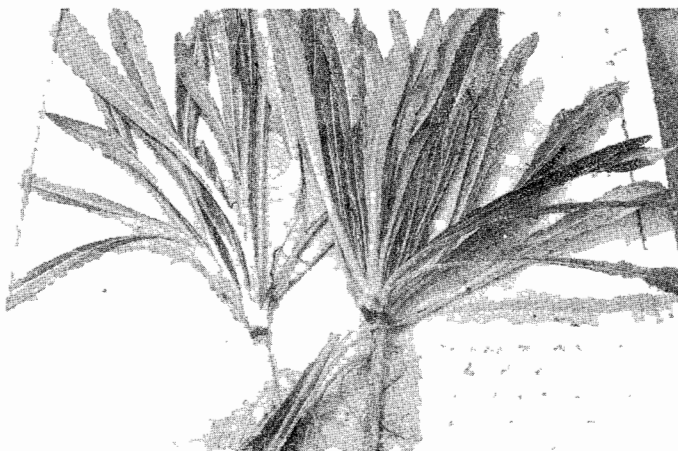


Fig. # 6 *Helenium mexicanum* en diferentes etapas de crecimiento.

2. *Viguiera buddleiaeformis*

Esta planta presentó una brotación superior hasta en un 60% en el invernadero, aunque sufrió una mortalidad muy grande durante los dos -- primeros meses de vida, posiblemente ocasionada por el ataque de hongos a las hojas y raíz (a los que no fue posible aislar en los cultivos que se hicieron); pasada dicha etapa, las sobrevivientes empezaron a crecer muy raquílicas, acamándose desde el 3er. mes.

En comparación, las plantas manejadas al exterior tuvieron un crecimiento más lento, lo que retrasó la primera recolección del material para análisis químico, hasta el sexto mes, en vez del primero o segundo, pero hubo menos mortandad y no se acamaron, además no presentaron clorosis como las desarrolladas en el invernadero, teniendo las hojas color más oscuro, más suculentas y alcanzando mayor tamaño; ya al año de edad la planta sobrepasó los 50 cm de altura, siendo lo sorprendente que de los 14 a los 18 meses llegó a alcanzar los 2.10 m.

Esta especie a 23 meses de edad aún no tenía flores en el invernadero y apenas las estaba presentando al exterior.

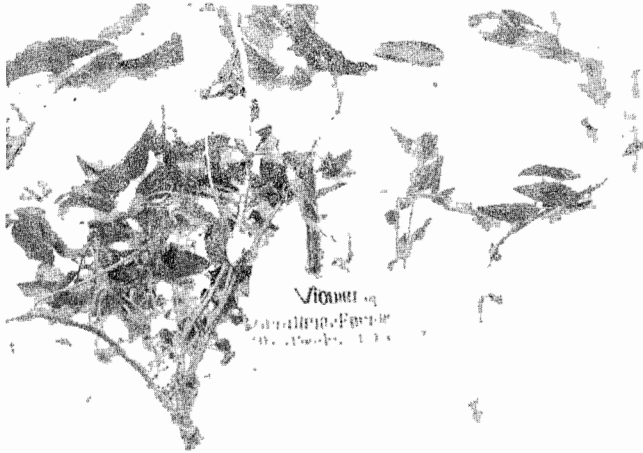
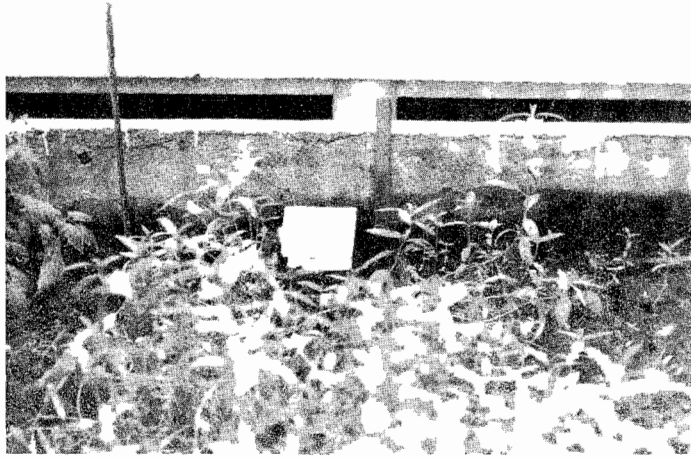


Fig. # 7 *Vigiera buddleiaeformis* en diferentes estados de crecimiento

3. *Catharanthus roseus*

Siendo esta especie de hábitos tropicales cálido-húmedos, su óptima germinación ocurrió en el invernadero, requiriendo tan solo de 12 - días. En el exterior se observó que ésta se llevó a cabo hasta después de los 30 días.

El crecimiento fue diferente en ambos ambientes y aunque ocurrió en forma muy uniforme en el exterior, en el invernadero fué rápido pero irregular, pareciendo en esta última condición tener las plantas mayor edad; lo que hizo que la primera cosecha de las del exterior se hiciera hasta su 5o. mes de vida.

La brotación al exterior fue cinco veces menor que la apreciada en el invernadero, y en éste, se perdió una gran cantidad de plantas - debido al "mal del semillero o damping-off", enfermedad causada --- principalmente por hongos patógenos del suelo, la que se favoreció- por la alta humedad, cuando a fines del primer mes de crecimiento - se inundaron las camas donde ellas habitaban.

Aunque las flores de ésta especie, son hermafroditas y autógamas, - estas se caen a los pocos días, y solo en muy contados individuos, - dos en el invernadero y uno en el exterior, se ha notado muy escasa fructificación, a pesar de que se vió producción de polen, y de conocer que la especie no requiere de polinizador específico.

Los frutos obtenidos dieron semilla fértil.

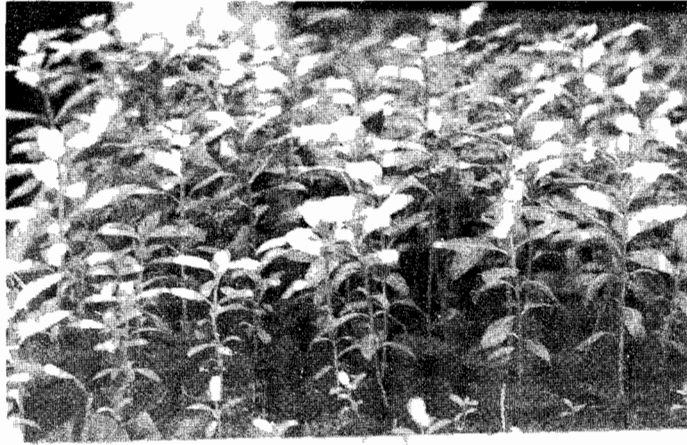
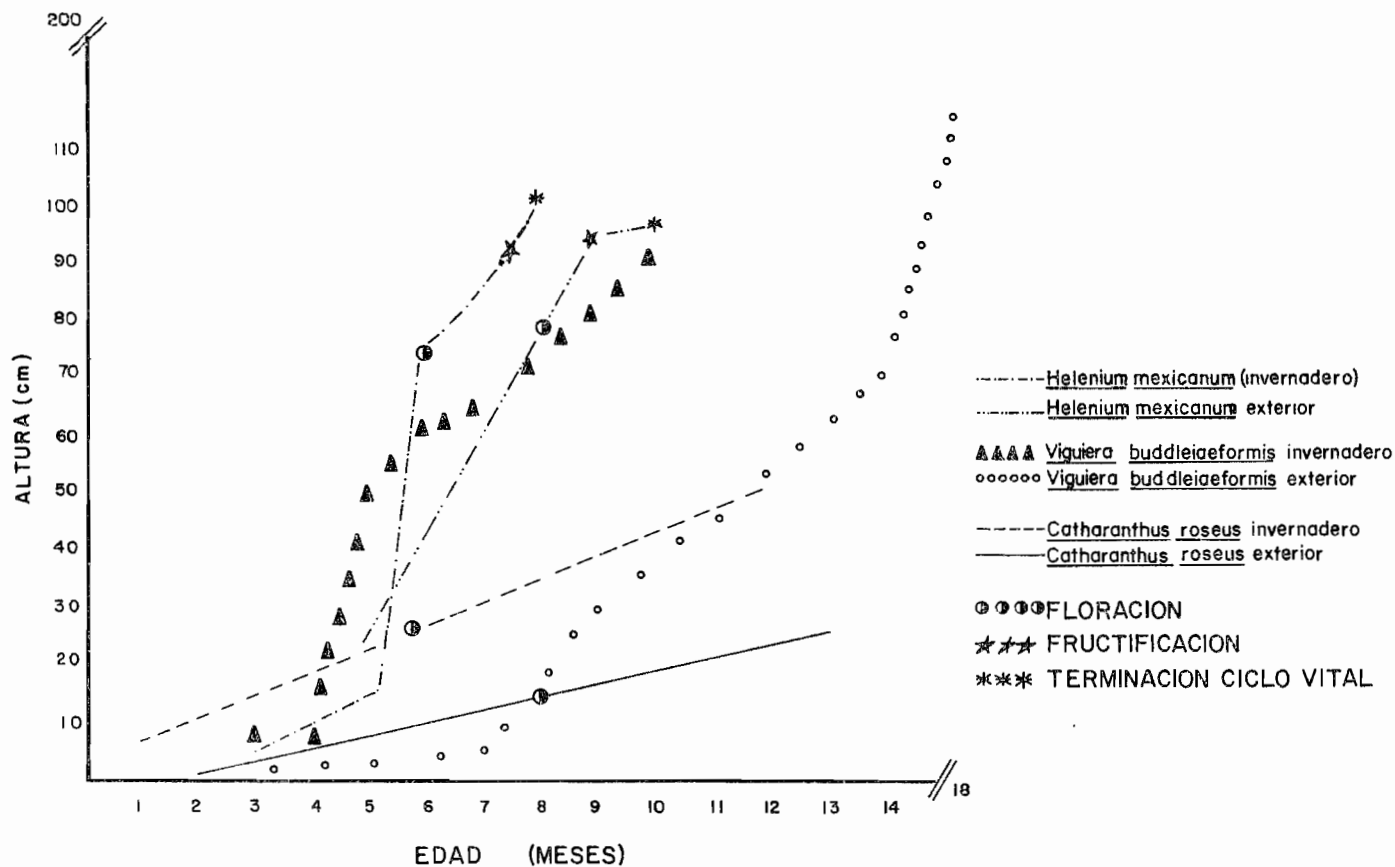
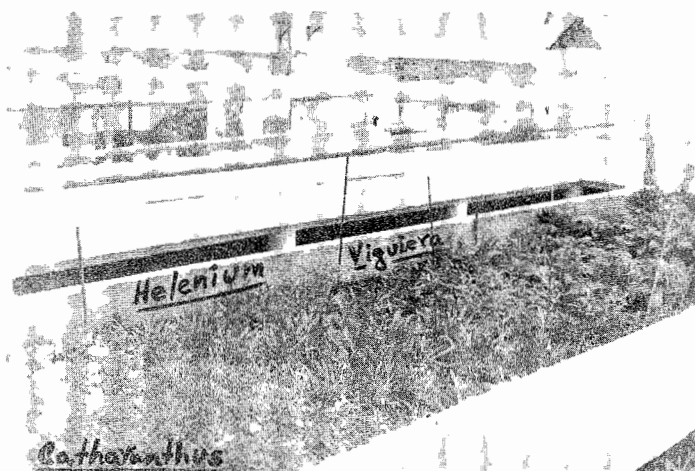


Fig. # 8 *Catharanthus roseus* (L.) G. Don en diferentes etapas de su cultivo.



GRAFICA 3 CRECIMIENTO Y FLORACION DE LAS 3 ESPECIES EN AMBOS MEDIOS

En general, se observó en las tres especies un porcentaje de germinación mucho mayor que el que se esperaba en ambos medios, casi en un 80%, lo que dio como resultado que se obtuvieran más plantas, habiéndose hecho labores de aclareo durante los dos primeros meses, con el fin de dejar mayor separación entre plantas.



B.

CUADRO NO. 4

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE GERMINACION PREVIAS A LA SIEMBRA *

ESPECIE	FECHAS DE: COSECHA	SIEMBRA	P R E T R A T A M I E N T O	POR CIENTO DE GERMINACION.	Nº. DE DIAS.
<i>Helenium mexicanum</i>	31-VII 1976	26-VIII 1976	Remojo en agua corriente durante dos minutos	75	28
" " " "	" " "	diciembre 1977	N I N G U N O	25	28
<i>Viguiera buddlei- aeformis</i>	9-XII 1976	10-XII 1976	N I N G U N O	43	20
" " " " "	20-XII 1976	sept. 77	N I N G U N O	80	20
<i>Catharanthus roseus</i>	31-V-76	1-VI-76	Remojo en agua corriente	81	12
" " "	julio-76	sept. 76	sin remojo	10	12
" " "	"	" "	un minuto en agua de la llave	42	12
" " "	"	" "	30 minutos en agua de la llave	30	12
" " "	"	" "	60 minutos en agua de la llave	34	12
" " "	"	" "	12 horas en agua de la llave	15	12

* Las semillas fueron colocadas sobre papel filtro, en cajas de Petri y mantenidas en una germinadora a temperatura constante (22°C).

C. DE LA PROPAGACION ASEXUAL

En los ensayos de propagación asexual se obtuvieron los siguientes resultados:

1. *Viguiera buddleiaeformis*, en todos los casos, sus estacas, únicamente emitieron talluelos, los que murieron a los pocos días; a pesar de que en la parte cortada y enterrada se formó callosidad, no aparecieron raicillas y las estacas no subsistieron.
2. Positivos en el caso de *Catharanthus roseus*, en los diferentes intentos con estacas de varios grosores, a pesar de que sólo 20% de ellas formaron raicillas, a los 2 meses de estacado, sin la aplicación de hormonas, empleando el sustrato arena-vermiculita (75/25).



Fig. # 9 Estacado de *Viguiera* apreciándose los talluelos.

D. AISLAMIENTO DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS.

D.1. *Helenium mexicanum*

Un cromatograma en capa fina gel G de sílice de los extractos totales de las 12 muestras de *Helenium mexicanum*, revelaron la presencia de helenalina al ser comparados con muestras auténticas; en todos los casos se reveló su presencia tanto en el exterior como en el invernadero, así como la muestra de planta que se cosechó en Ecatepec, Estado de México y que crecía en forma silvestre (Figura No. 10).

En el esquema que se muestra en la figura No. 11 se aprecia una comparación de la cromatoplaqueta de las diferentes fracciones obtenidas al hacer las respectivas cromatografías en columna de las muestras número 2, 10 y 11.

Como allí se puede notar, se obtuvo helenalina, la que se purificó por sucesivas cristalizaciones hasta que su escasez lo permitió; no se logró una muestra de alto grado de pureza, sin embargo se identificó sin lugar a duda al comparársele espectroscópicamente con rayos infrarrojos* (Espectros números 1 y 2) también fueron determinados sus puntos de fusión;** los que fueron: 165-167°C de cristales obtenidos en las fracciones 6 a 12 de la muestra No. 2.

*/ Determinados por el Quím. Rubén A. Toscano con un espectrofotómetro Perkin-Elmer Mod. 337 y corridos en películas de cloroformo.

**/ Los puntos de fusión no están corregidos y fueron determinados en un aparato Fisher-Jones.

La helenalina auténtica funde a 168-171°C (A. Romo y J. Romo, 1961). Como se puede concluir de los datos antes presentados, queda perfectamente aclarada la presencia de helenalina en las muestras analizadas.

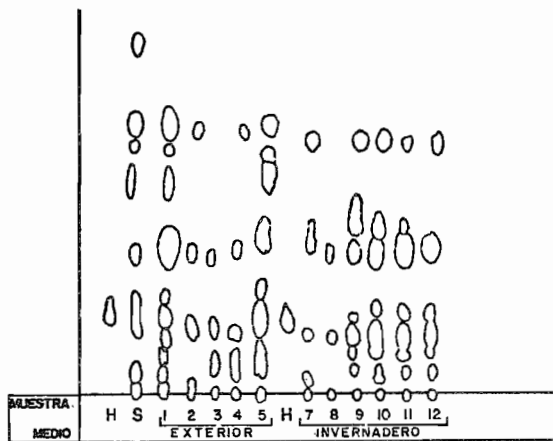


Fig. 10 Cromatografía de muestras de *Helenium mexicanum*
 H= Helenium auténtica; S= extracto de planta silvestre.

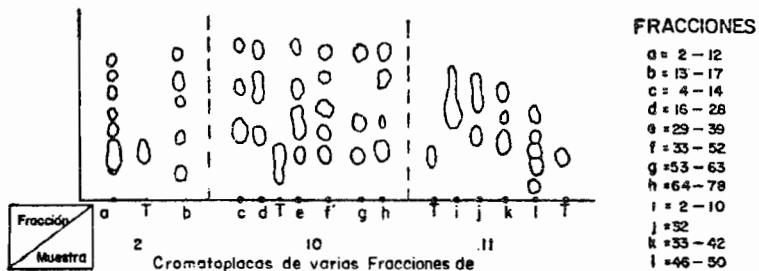
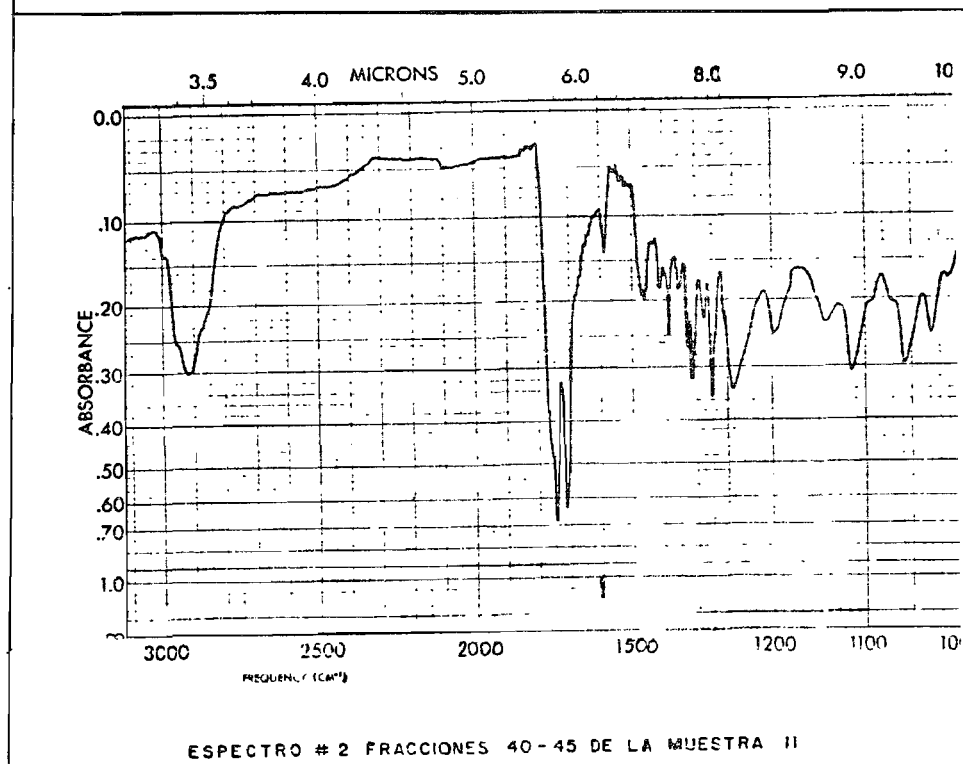
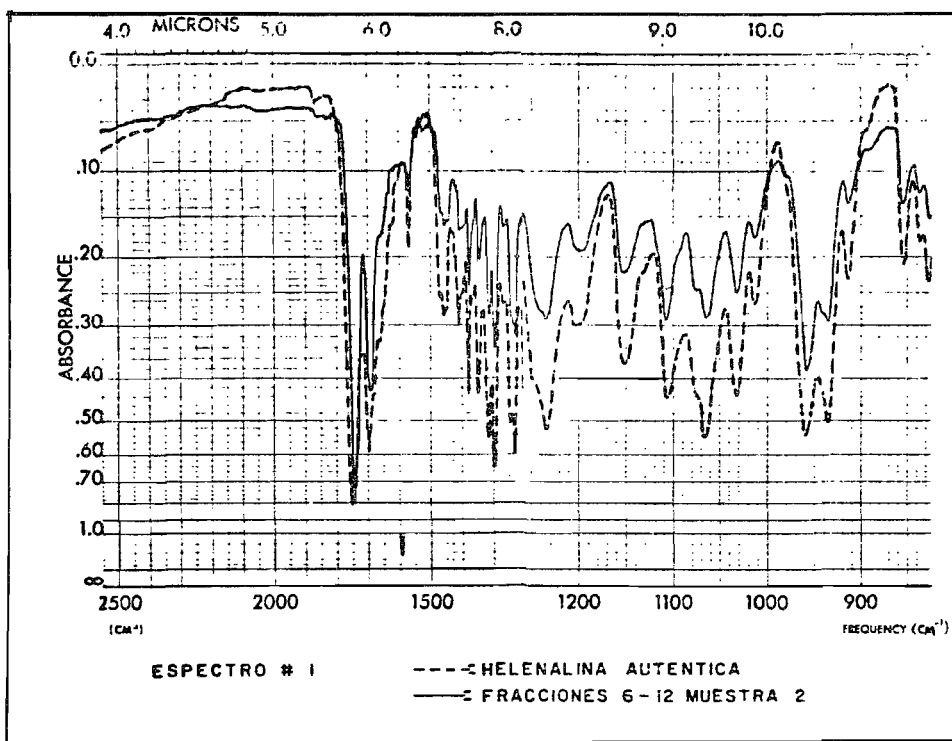


Fig. 11 Cromatoplaques de varias Fracciones de muestras 2, 10 y 11 (*Helenium mexicanum*).
 T = Helenium auténtica,

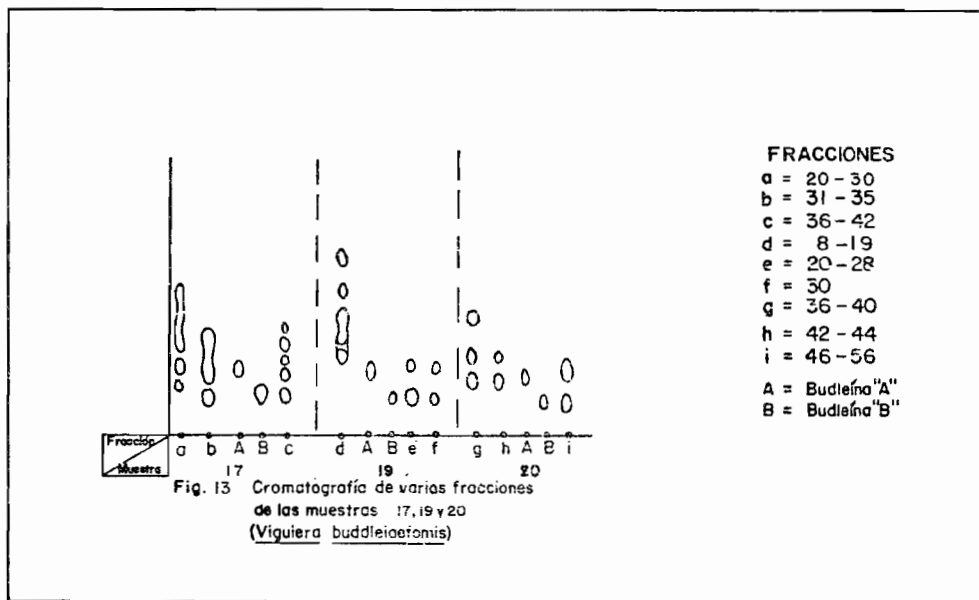
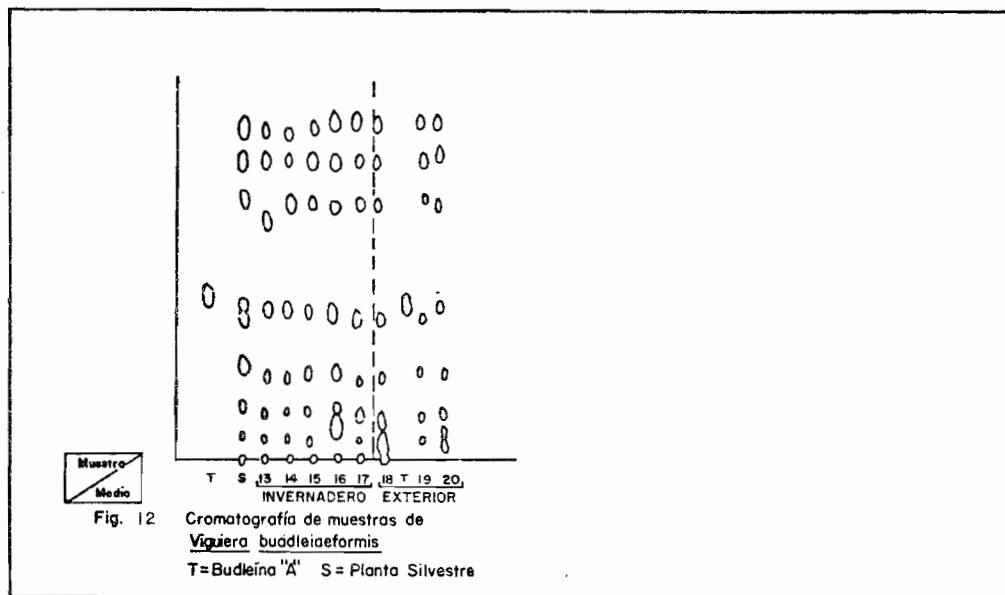


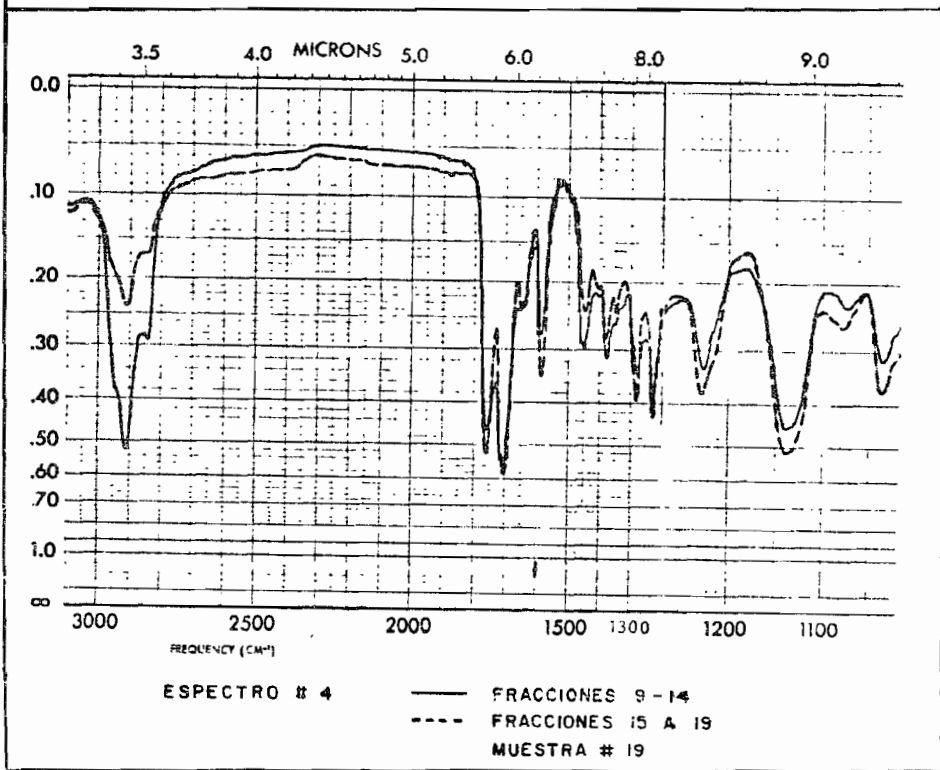
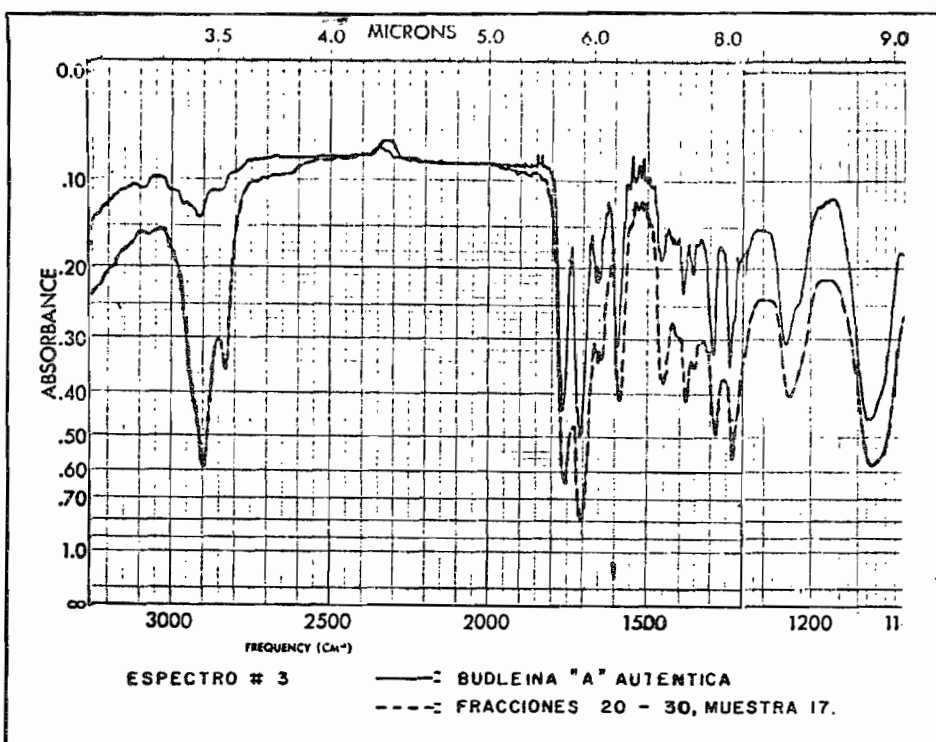
D.2. *Viguiera buddleiaeformis*

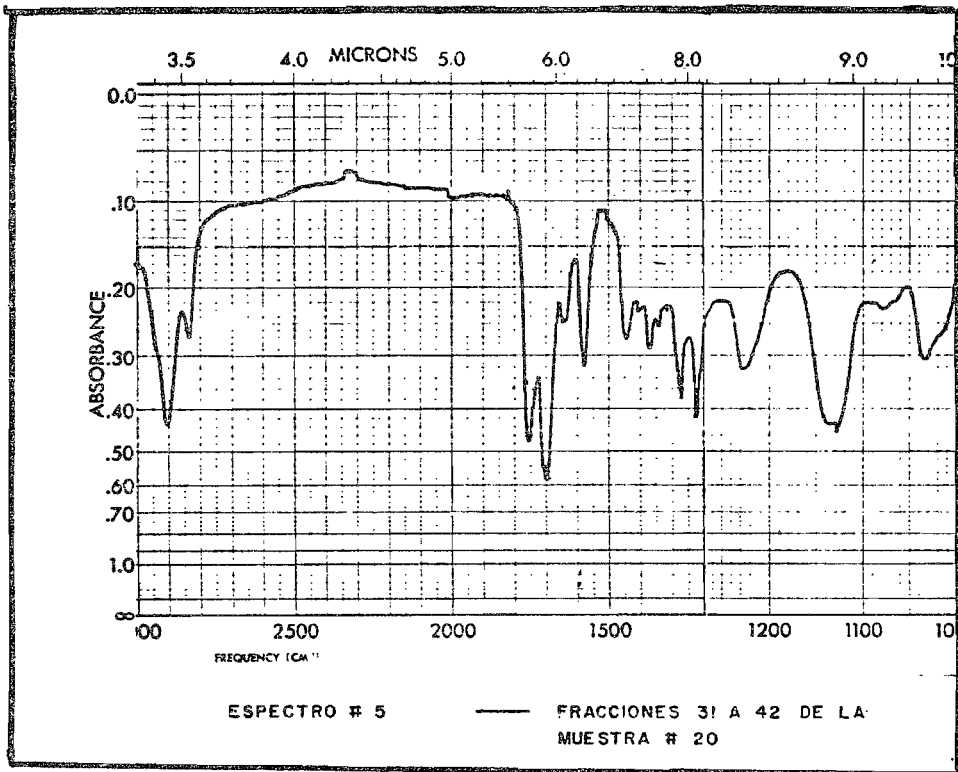
Esta planta también elaboró bajo cultivo los principios activos de interés buscados, en las dos condiciones en que fue propagada, y a las diferentes edades en que fue cosechada (cuadro No. 3), como se puede notar - en las figuras No.12 y 13. La primera de las cuales nos muestra comparativamente los dos medios y las distintas edades, y se ve que corresponden las manchas de la budleína "A" auténtica con las de los extractos, así como también con el de la planta silvestre.

La figura No.13 , ilustra los resultados de la cromatografía en columna de dos muestras que crecieron al exterior (19-20) y de una del invernadero (17), apreciándose en ella que se produjeron las budleínas "A" y "B". Esto fué confirmado al comparar los espectros al infrarojo de dichas --- fracciones con los de muestras auténticas, como se aprecia en los espectros 3 al 5.

No fue posible purificar dichas substancias, razón por la que sus puntos de fusión no fueron coincidentes con los de muestras puras.







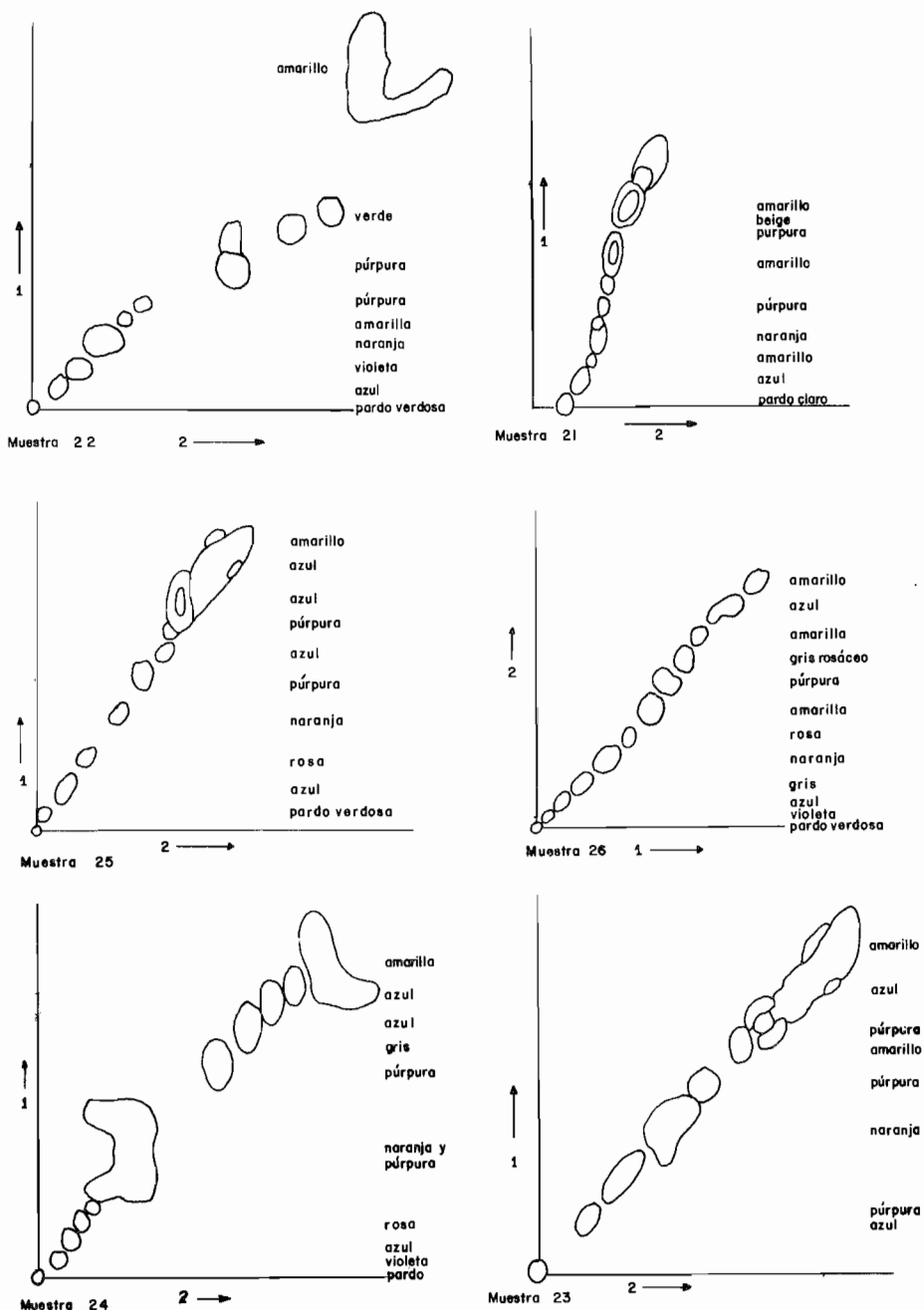
D.3. *Catharanthus roseus*.

Como es posible apreciar en los siguientes esquemas (Figura #14), las muestras de los alcaloides totales de los extractos de la planta cromatografiadas bidireccionalmente revelaron varias manchas; cada una de las cuales representa un grupo de alcaloides; así, la del color azul más cercana al sitio de aplicación de la muestra, puede incluir a la vincristina (VCR) y dentro de la mancha naranja se puede hallar la vincaläublastina (VLB), (Farnsworth, 1964).

O sea que en las seis muestras (donde las número 22, 24 y 25 corresponden a las plantas que crecieron en el exterior y las restantes del invernadero) se aprecian manchas azules y naranjas, lo que indica que muy posiblemente en ambas condiciones y a pesar de las diferentes edades de recolección, se produjeron los dos alcaloides de interés mencionados, además de otros de los 65 que la especie elabora.

En la figura 15, se muestra un esquema tomado de la cromatoplaaca de las fracciones obtenidas al cromatografiar en columna el extracto No. 25. Con líneas cortadas se marcan las manchas que fueron visibles con luz ultravioleta de onda larga, y con líneas continuas, las coloreadas al revelar con sulfato cérico amoniacal.

Se puede ver que hay manchas que corresponden con las formadas por las substancias auténticas, utilizadas como patrones.



EXTERIOR

INVERNADERO

Fig. 14 Cromatografías bidireccionales de extractos de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don y su coloración al revelar con sulfato cérico amoniacal.

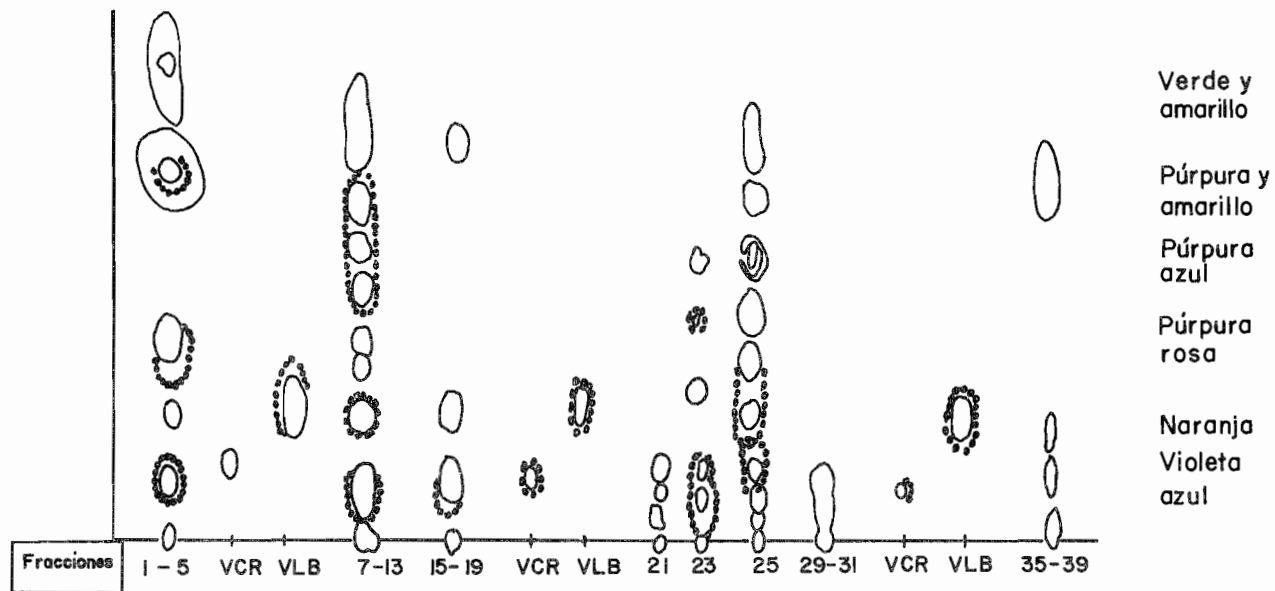


Fig. 15 Cromatografía de las Fracciones de la Muestra 25.
La línea punteada representa lo Visible con luz ultravioleta
VCR = Vincristina, VLB = Vincalécoblastina

VI. DISCUSION

A. DE LA NECESIDAD DEL CULTIVO.

El requerimiento de obtener grandes cantidades de los principios activos elaborados por las especies objeto de estudio; el contar con esa materia prima siempre disponible y en cantidad acorde con la necesidad de la industria que de ella depende, y los estudios tendientes a mantener constante la calidad y aún superarla; sólo se logran cultivando las plantas, con lo que también pueden abatirse los costos de operación, ya que su cultivo cerca de la industria, puede ser más económico que ir a recolectar la planta por lugares muy distantes entre sí.

Además, al analizar plantas de la misma especie procedentes de diferentes regiones, se vio que su composición química no era la misma, a veces tanto cualitativa como cuantitativamente (Romo de Vivar, --- 1966; Guerrero, 1978; Claus y Tyler, 1965; Silva, 1966, etc.), lo -- que indica que las fuentes naturales no son propiamente las mejores.

Otra razón que obliga al cultivo de estas plantas, es que si se dispone únicamente del recurso silvestre, éste podría ser sobre explotado, no se deja lugar a la floración, con su consiguiente deterioro genético, ya que el hombre arranca los ejemplares más vigorosos; no dejándolos llegar a la fructificación y diseminación de semillas y -- aún podría llegar a ocasionar graves descensos de la población, si -- no se le permite llegar a un equilibrio como ha sucedido con varias especies tanto vegetales como animales, para las que se requirió la

implantación de vedas.

Es necesario realizar varios estudios para llegar a lograr su producción a escala comercial, entre los que destacan las investigaciones-económicas previas que garanticen su redituabilidad sobre otros cultivos, por ejemplo de plantas comestibles, ya que no son muchas comparativamente con estas últimas, las plantas medicinales que se cultivan, aunque no se excluye la posibilidad de que ambas crecieran simultáneamente, con beneficio doble.

También se requiere ampliar los conocimientos acerca de la autoecología de las especies, aquí comenzadas a estudiar, mismos que harían posible que se les pueda cultivar con mayor margen de seguridad.

En el caso de *Catharanthus roseus* no obstante que se cultiva en varias partes del mundo, no fue posible obtener en la literatura la información correspondiente; por ser las investigaciones desarrolladas por empresas privadas.

México podría convertirse en el principal exportador de la planta, - por varias razones entre las que destacan:

El tener a la especie bien adaptada y creciendo en varias regiones del país.

La posibilidad de que la especie tenga variación natural, debido a su amplia distribución, la hace factible de encontrar una procedencia de gran valor por su alto contenido en alcaloides.

La cercanía física con el principal cliente procesador.

También nuestro país podría exportar el producto semiterminado en vez de vender planta, ya que el producto terminado (sulfatos de vincristina y/o vinblastina) es muy laborioso y difícil de obtener, por tener que hacer la separación de los alcaloides activos (ya mencionados) de los 65 que elabora la planta.

B. DE LOS RESULTADOS DEL CRECIMIENTO Y FLORACION

La propagación de las tres especies aquí tratadas representa diferentes problemas; las dos primeras (*Helenium* y *Viguiera*) nunca han sido cultivadas y son consideradas malezas, venenosas para el ganado, la primera y de la segunda no se conoce casi nada, excepto la descripción botánica y el análisis químico, que son mencionados en la literatura, ignorándose sus hábitos de crecimiento. En relación a la tercera especie, *Catharanthus roseus*, aunque cultivada en varias partes tropicales cálido húmedas del mundo, se intentó cultivarla en condiciones templadas y a la altura del Valle de México.

Los resultados obtenidos acerca del crecimiento de las tres especies en cuanto a sus hábitos, parecen ser alentadores, para hacer factibles sus posibilidades de cultivo y subsecuente domesticación.

Asimismo pudieron ser conocidas en parte, algunas de sus respuestas o actitudes, como su germinación, densidad de siembra, método de extracción de sus semillas, cosecha y procesamiento del material vegetal. Algunos requerimientos del cultivo tales como aclareo, podas, problemas sanitarios, y procesos de floración y fructificación en el caso de *Helenium*, que ya completó su ciclo vital, también fueron cono

cidos los casos de *Viguiera*, que a 22 meses de edad aún no tiene flores, y de *Catharanthus* que a pesar de presentarlas, la mayoría no maduran, y se caen, lo que podría ser debido a que los individuos son jóvenes todavía, ya que se trata de especies perennes.

Catharanthus, soportó diferentes grados de poda, dato que podría ser útil en el caso de que se cultivase, ya que no sería necesario arrancarla totalmente, y así se dispondría de propágulos que podrían ser útiles por muchos años. En el mismo caso está *Viguiera buddleiaeformis*, pues cosechando solamente los renuevos con hojas y dejando los tallos, pueden efectuarse varios cortes al año, sin causarle gran daño a la planta.

Helenium no presentó problemas muy serios para su cultivo, sólo se apreció que tal vez debido a la alta densidad con la que fue sembrada, se presentó una fuerte competencia, y a pesar del aclareo que se hizo en varias ocasiones, no quedaron las plantas con un espaciamiento adecuado, lo que pudo apreciarse ya que no todas las plantas emitieron tallos florales, es decir no todas maduraron, lo que si se pudo apreciar en aquéllas que fueron trasplantadas y que crecieron en macetas o botes individuales, donde una gran proporción maduró correctamente, emitiendo flores que se transformaron en frutos.

El porqué *Viguiera* no creció bien en el invernadero, formando un tallo tan largo y delgado que no se podía sostener erecto, es algo que puede tener muchas causas; tal vez la combinación, alta temperatura-humedad, la hizo desarrollarse muy aceleradamente, descompensando su metabolismo normal, lo que se puede corroborar al ver las plantas --

que estaban creciendo al mismo tiempo en el exterior las que lo hicieron a un ritmo mucho menor, pero con gran vigor y después al 14avo. mes dieron un espectacular incremento en altura (Veáse capítulo de resultados, Gráfica No.3).

Algo similar, pero en sentido inverso, lo podemos observar al ver los resultados del crecimiento de *Catharanthus*, la que se comportó muy diferente al exterior que en el invernadero; en este último, la planta (tropical) fué favorecida por las altas temperaturas, y al exterior empezó a crecer sólo hasta que pasaron los días fríos de enero-febrero, creciendo muy lentamente los siguientes meses hasta el mes de marzo del año siguiente en que se concluyó la parte de cultivo y se inició la parte del análisis químico de las plantas.

Cabe aclarar aquí, que a pesar de la lentitud de su crecimiento ésta puede ser compensada por la presencia de los alcaloides de interés. O que esta planta pueda comportarse así el primer año de su crecimiento, incrementándolo después, aún a pesar de que se encuentra fuera de su zona normal de crecimiento, por lo que, las dos especies quedarán todavía en estudio, para ver su desarrollo un año más, y poder concluir acerca de este comportamiento.

C. DE LA EXTRACCION DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS Y SUS RESULTADOS

Aunque laborioso, es relativamente sencillo el proceso para la extracción de las lactonas sesquiterpénicas que elaboran *Helenium* y *Viguiera* que fue seguido en el curso del trabajo; no así el método para purificarlas, es decir, para separar los cristales de las sustancias, ya que ellas están incluídas en aceites, lo que aunado a su

pequeña proporción, implica un procedimiento en extremo cuidadoso para lograr su separación: por ejemplo, las budleínas "A" y "B" que según Jiménez, (1975), se hallan en una proporción de 0.036 y 0.002% - en la planta, quien para determinar esos datos trabajó muestras de - planta de 10 kg de peso; en la presente investigación, las muestras - nunca pasaron de los 150 gramos, lo que nos dio extractos de aproxi- madamente 1.0 g. Razón por la que en las cromatografías en columna - no se pudieran separar ambas budleínas y aunque se les logró aislar - de otros compuestos e identificar plenamente por medio de sus espec- tros en el infrarojo, no se les logró aislar muy puras, pues el pro- ceso de purificación tuvo que suspenderse por falta de material.

Aunque la helenalina se halla en la planta en mayor proporción que - las lactonas antes mencionadas, su cantidad varía, según la etapa -- del ciclo vital en la que es determinada, desde 0.05 a 0.228% de --- planta seca (J. Romo y A. Romo, 1961).

Como se vé en las cifras anteriores, su presencia en la planta no es muy abundante, y los autores antes mencionados para lograr esas de-- terminaciones requirieron de 7 y 25 Kg de planta seca (respectiva-- mente), lo cual haciendo una rápida conversión a planta verde nos dá 70 y 250 kilos, el lector podrá imaginar de qué cantidad y superfi-- cie se requerirá disponer si una planta de esta especie al llegar a su madurez pesa ya seca, 2 gramos.

En este trabajo se analizaron muestras de la planta de varios pesos - en promedio 50 gramos, los que dieron una cantidad de extracto de -- 0.600 g.

Lo interesante es que a pesar de la baja cantidad de planta analizada, fue posible detectar que la planta elaboró la lactona, tanto en condiciones de invernadero, como en las del exterior y en las diferentes edades en las que fue cosechada (Cuadro No. 3); apareciendo desde la muestra más joven que se tomó cuando la planta tenía 2 meses de edad.

Los resultados obtenidos al tratar de separar los alcaloides de *Catharanthus* no son concluyentes en cuanto a que no se logró separar de los 65 que la planta elabora, los dos de interés farmacológico: sí en cambio son positivos; ya que el proceso para separarlos es en extremo laborioso y complicado, lo que aunado a las tan bajas concentraciones en que se presenta en la planta (0.00025% de vincalcalina), puesto que se trabajó también con muestras de planta pequeña (100 g. aprox.), se obtuvieron extractos crudos totales de alcaloides de cantidades tan pequeñas como 0.476 g. en promedio, lo que lógicamente hacía difícil su separación total.

Aunque se estudiaron diferentes métodos de extracción y separación, ninguno se consideró más adecuado que el recomendado por Farnsworth (1964), que agrupa los hasta ese año descubiertos 63 diferentes alcaloides en ocho categorías o clases de acuerdo principalmente a sus reacciones cromogénicas, al ser revelado el extracto con sulfato cérico amoniacal, así como se aprecia en las Figuras No. 14 a 15, donde

se notan las manchas obtenidas y a la derecha los colores que dieron; en el párrafo precedente se expresa que aunque no es concluyente el resultado, sí existe la posibilidad de que en dichas manchas se encuentren los alcaloides de interés.

Asimismo, de entre varios métodos se siguió también, para tratar de separar mejor nuestros alcaloides, al sugerido por Cone, et al. (1963) empleando la mezcla de eluyentes que ellos recomendaban para la cromatografía en capa delgada.

D. DISCUSION DE LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE GERMINACION

Como se puede apreciar en el cuadro No. 4, se presentaron diferentes resultados en el porcentaje de germinación de acuerdo al tiempo de almacenamiento, lo cual implicaría que las semillas de *Helenium mexicanum* y *Catharanthus roseus* pierden rápidamente su viabilidad, esto puede ser entre otras causas, debido a:

- 1). Que tengan pocas reservas nutritivas en el endospermo.
- 2). Que éstas se descompongan fácilmente al contacto con el aire.
- 3). A que el método, época de cosecha o almacenamiento no fueron -- los idóneos.

Se deben hacer otras investigaciones para ver si estos resultados se vuelven a presentar, o sólo fueron de los lotes probados.

En cambio las semillas de *Viguiera* no perdieron su capacidad germinativa al cabo de 10 meses de almacenamiento, sino que la incrementaron, manifestando que pasaron por un período de latencia, al que sería conveniente tratar de interrumpir con remojos en agua fría, ----

estratificación en arena y frío, etc.

El pequeño ensayo con pretratamiento que se le dio a las semillas de *Catharanthus* antes de su germinación, con diferentes tiempos de remojo en agua potable y en agua corriente, si superó el testigo, con solo un minuto de remojo; pero en ellos las cifras de germinación fueron menores que las semillas que sólo se enjuagaron, porque éstas tenían dos meses de almacenamiento.

E. DE LOS RESULTADOS DE LA PROPAGACION ASEXUAL.

1. *Helenium mexicanum* no fue propagada vegetativamente ya que al -- ser esta especie anual y de ciclo corto (6 meses) no hubiera prosperado al ser enterrado su tallo herbáceo en el suelo; éste fácilmente podría ser atacado por organismos saprófitos o parásitos del suelo, los cuales los destruirían antes de la formación por las yemas axilares de raicillas. También el autor supone que esos tallos carecen de grandes cantidades de substancias de reserva que nutrieran a la planta, mientras ella lo hacía por si misma.

2. *Viguiera*. Tal vez el fracaso en el enraizamiento de las estacas, fue que éstas se mantuvieron dentro de un cuarto cerrado, a temperatura de 20°C constantes dotado de iluminación fluorescente, y alta humedad. Los talluelos que emitieron las estacas se desarrollaron rápidamente pero estaban cloróticos, es decir amarillentos, y tal -- vez les faltó iluminación y les sobró humedad, ya que cuando murieron se sacaron las plantas del suelo y se vió que se formó callosidad más no raíces.

3. *Catharanthus roseus*. Aquí si hubo resultados favorables pero en un porcentaje bajo (20%), lo cual pudo deberse a que las estacas fue ron tomadas de material muy joven (5-7 meses de edad), es decir, que si el material hubiera tenido más cantidad de reservas o mayor ligni ficación en el tallo, se podría esperar un prendimiento de un número mayor de estacas.

Conviene por último, hacer notar que se requiere mayor investigación al respecto, de las tres especies aquí comenzadas a estudiar, para - llegar a concluir y recomendar algo con suficiente apoyo experimen- tal pero con base en los resultados obtenidos y con las debidas re-- servas, se puede llegar a concluir y sugerir lo siguiente: aunque - falta aún mucho para tener lista de serie de recomendaciones que per- mitan cultivar y explotar comercialmente las plantas aquí estudiadas, con esta contribución, dentro de su modestia, se cree haber aportado algo al conocimiento de tres especies muy prometedoras para nuestro- país, y podría ser el inicio del completo esclarecimiento de todas - las dudas que aún quedaron en esta investigación.

VII. CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

1. *Helenium mexicanum*

Esta planta se desarrolló sin problemas, tanto en el invernadero como -- en el medio ambiente, adaptándose bien a las condiciones de cultivo.

Produjo la lactona sesquiterpénica de interés, en ambos medios de crecimiento.

En el invernadero floreció a los 5 meses de edad, mientras que en el exterior lo hizo entre el 7o. y el 8avo., pudiéndose colectar en el invernadero con dos meses de anticipación.

Es factible su propagación a corto plazo.

Tiene posibilidades de lograrse su cultivo, bajo riego, sembrando desde el mes de febrero o marzo, y cosecharla 15 días después de la floración; haciendo aclareos para dejar una separación entre plantas mínima de ---- 20 cm.

Esta especie puede ser cultivada en suelos impropios para los cultivos agrícolas, en lugares sujetos a inundaciones periódicas mismas que favorecen el desarrollo de la planta. Soportó suelos desde débilmente ácidos hasta ligeramente alcalinos.

El porcentaje de germinación de sus semillas, decrece con su tiempo de almacenamiento; observándose que al cabo de seis meses la viabilidad disminuía un 33%.

2. *Viguiera buddleiaeformis*

No soportó las condiciones de crecimiento del invernadero, tal vez, fueron demasiado altas las temperaturas y la humedad.

Su desarrollo en el exterior, es muy lento durante su primer año de vida, incrementándose notablemente de los 14 a los 18 meses; posiblemente ésta sea la época óptima de la primera cosecha.

Resiste y se vigoriza al hacerle podas después del año de edad.

Produjo bajo ambas condiciones de crecimiento, las lactonas sesquiterpénicas buscadas.

Se requiere volver a ensayar su propagación vegetativa, empleando arena como sustrato, con estacas de 30 cm de largo por 1.5 de diámetro, de consistencia leñosa; ya que es factible éste método de reproducción, y posiblemente permita ahorrar más de dos meses.

Se le puede sembrar desde el mes de marzo, dando riegos leves y espaciados, y dejando una distancia entre plantas mínima de 50 cm.

Esta especie no soporta suelos inundables, por lo que éste debe tener -- tanto buen drenaje externo como interno.

Es muy factible que lo mismo que la especie antes citada, ésta sea tóxica al ganado, por lo que su propagación debe realizarse con las debidas protecciones.

Los principios activos que elabora, son difíciles de purificar y separar en pequeñas muestras de planta.

3. *Catharanthus roseus*

Creció bien en ambos medios, aunque más lentamente en el exterior, donde soportó los días fríos. Requiere de protección contra el granizo al menos durante su primer año de vida.

Elaboró alcaloides a las diferentes edades a las que fué muestreada, tanto al exterior como en el invernadero.

Aunque es factible su propagación vegetativa, se sugiere su cultivo, sembrándola en almácigos y trasplantarla al mes de edad, dejando una distancia entre plantas de 50 cm.

Son recomendables las podas para cosechar el material vegetal, dejando - cuando menos, 10 cm de tallo y cuando la planta tenga más de 30 cm de altura.

Es factible por tanto, su cultivo a corto plazo, requiriendo para ésto, - realizar pruebas piloto de cultivo en el campo, y ya quedó aclarado que esta especie pudo crecer fuera del trópico cálido-húmedo, dándole algunos cuidados durante aproximadamente sus primeros 18 meses de edad, para evitarle el daño causado por el granizo, y la desecación del suelo.

VIII. RESUMEN:

Las especies Helenium mexicanum H.B.K., Viguiera buddleiaeformis (DC.) Benth. et Hook. ex Hemsl. y Catharanthus roseus (L.) G. Don (Vinca rosea L.) fueron propagadas sexualmente, bajo dos diferentes condiciones de crecimiento; en invernadero y al exterior, en la ciudad de México, - D. F.

Las dos primeras especies nunca habían sido cultivadas y aunque la tercera si lo había sido, en esta ocasión se le reprodujo fuera de su habitat natural.

Estos vegetales elaboran sustancias citadas como anticancerígenas, dos de las cuales (la vincristina y la vincalécoblastina), ya son empleadas en la terapia de ciertos cánceres humanos.

Con el fin de detectar la presencia y variación de los principios activos de interés, se les colectó a diferentes edades; seleccionándose 27 muestras de las que se obtuvieron sus extractos; los que fueron separados en sus componentes por medio de cromatografía, lográndose aislar, - helenalina, budleínas "A" y "B" y los alcaloides totales de Catharanthus roseus.

Se lograron conocer algunos requerimientos para el crecimiento de las plantas, así como su respuesta a las condiciones a las que fueron sometidas; Helenium completó su ciclo vital, mientras que Viguiera y Catharanthus a 23 meses de edad, aún no lo terminan.

La primera especie mencionada no tuvo problemas para desarrollarse, en cambio, las otras dos si afrontaron algunos, según el sitio de crecimiento.

Se demostró que las tres especies, en las dos condiciones y a las diferentes edades en que fueron colectadas, produjeron las sustancias anticancerígenas antes mencionadas.

IX .- BIBLIOGRAFIA.

ADAMS, R. & W. HERZ. 1949. Helenalin. I. Isolation and properties. J. Amer. Chem. Soc. 71: 2546-2551.

ALINE, S.M. y L. PAASCH. 1973. Intoxicación de Borregos con Helenium integrifolium, Veterinaria (Mex.) 4 (3): 214 - 222.

ALTAMIRANO, F. 1895. "El Pañete" (Plumbago pulchella). Datos para la Materia - Médica Mexicana. Parte I. Instituto Médico Nacional. Sría. de Fomento, México, pp. 79-84.

-----, et al. 1907. "La Pata de León" (Geranium carolinianum L.) Datos para la Materia Médica Mexicana. Parte IV. Inst. Med. Nał., Sría. de Fomento, - México, pp. 57 -68.

ALVAREZ, G. P. 1962. Yervas medicinales - Como curarse con plantas. Editor El - Libro Español, México, p. 39.

ARMENDARIS, E. 1896. Continuación del estudio del "chapuz" ó "cabezona de Guajajuato", Anales del Instituto Médico Nacional (Mex.) 2: 43, 77, 99, 122.

BELA, L., NANASI, P. & P. TETENYI. 1971. Investigations on the glycoside content of Digitalis lanata Ehrh. Herba Hung. 10 (1): 23 - 35.

BENSCH, G. K. & S.E. MALAWISTA. 1969. Microtubular Crystals in Mammalian Cells. Cell. Biol. 40:95 - 100.

BERENBLUM, I. 1953. El Hombre contra el Cáncer. Edit. Candelabro. Buenos Aires, Argentina.

BERNARD, J. 1967. Treatment of Leukemias, Hoodgkin's Disease & Allied Diseases by Natural Products. Lloydia 30 (4): 291 - 292.

BLAKE, S. F. 1918. A revisión of the genus Viguiera. Contr. Gray Herb. 54:1-205.

BHAKUNI, D. S. et al. 1974. Anticancer agents from chilean plants. Digitalis - purpurea L. var. alba. Rev. Latinoamericana Quim. 5 (4):230-235.

-----, J.L. HARTWELL, et al. 1976. Screening of Chilean Plants for anti cancer activity. I., Lloydia 39 (4):225-243.

BISSET, N.G. 1958. Alkaloids in the Apocynaceas. Anales Bogorienses 3 (1): 171-175.

BITTNER, M., BHAKUNI, D. S. & M. SILVA, 1972. Anticancer agents from Chilean - plants, Cassia obtusa. Rev. Latinoam. Quim. 4 (1): 8-15.

BULMAN, F., 1897. Ensayo del chapuz a enfermos con hemorragia cerebral y tabes espasmódica. Anales del Inst. Med. Nał. (México) 3:175.

CALABRESI, P. y R.E. PARKS, Jr., 1974. En: GOODMAN, L. y A. GILMAN, 1974. Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Edit. Interamericana. Mex. pp. 1118-1147.

CALDERON, S. y C.P. STANDLEY. 1941. FLORA SALVADOREÑA. 2a. Ed. Imprenta Nacional, El Salvador, Rep. del Salvador. C. A., p. 221.

CARRILLO, A.P. 1887. Estudio sobre la Rosilla de Puebla (Tesis Farmacéutico), - México, En: "El Estudio", Monografías Mexicanas de Materia Médica. 1890. Of. - Tipog. de la Sría. de Fomento. Mex.

CLARK, E.P., 1936. Helenalin I. Helenalin, the Bitter sternutative substance - occurring in Helenium autumnale. J. Amer. Chem.Soc. 58: 1982-1983.

CLAUS, E.P. & V.E. TYLER, Jr. 1965. Pharmacognosy. Lea & Febiger Editors. Philadelphia U.S.A., pp. 315 - 317.

CONE, J. N. et al. 1963. Alkaloids of Vinca rosea L. (Catharanthus roseus G. - Don) XV. Jour. Pharm. Sci. 52:688.

CUTTS, H. J. 1961. The effect of Vincal leukoblastine on dividing cells in vivo. Cancer Res. 21: 168-172.

DOLLALLITE, J.W., W.T. HARDY & J. B. HENSON. 1964. Toxicity of Helenium microcephalum (small-head sneezeweed). J. Amer. Vet. Med. Ass. 145 (7): 694-696.

DOMINGUEZ, E. y J. ROMO. 1963. Tetrahedron 19: 1415.

DOMINGUEZ, X. 1973. Métodos de Investigación Fitoquímica. Edit. Limusa, S. A., México. pp. 93-108, 211-218.

DONDE, J. y J. DONDE, 1905. Lecciones de Botánica. Imprenta de la Lotería del Estado. Mérida, Yuc. México. p. 239.

EVANS, F.J. & P.S. COWLEY. 1972. Cardenolides and spirostanols in Digitalis - purpurea at various stages of development. Phytochemistry 11: (10):2971-2975.

FARNSWORTH, R.N. 1961. The Pharmacognosy of the Periwinkles: Vinca & Catharanthus. Lloydia 24 (3): 105 - 138.

-----, et al. 1964. Studies on Catharanthus alkaloids. Lloydia 27 - (4): 302 - 314.

FISHBEIN, M. 1967. Enciclopedia Familiar de la Medicina y la Salud. H. Stuttman and Co. Editores. New York. U.S.A. p. 228.

FLORES, L. 1907. "Manual Terapéutico de Plantas Mexicanas". An. Inst. Med. Nac. (México) 9: 297 - 391.

FONT-QUER, P. 1962. Plantas Medicinales, El Dioscórides Renovado. Editorial Labor. España, pp. 139,416.

GABETTA, B. & G. MUSTICH. 1975. Spectral Data of Indole Alkaloids. Edited by Inverní de la Beffa: Milan, Italy. pp. 403 - 404.

GIRAL, F. & S. LADABAUM. 1961. Preparaciones Fitoquímicas. IV. Helenalina. Ciencia (Mex.) 21 (1): 35 - 36.

GOMEZ, C. 1884. Estudio sobre la yerba del alacrán. Tesis Farmacia, México. En: El Estudio, 1890. Ensayo de la Materia Médica Mexicana Vegetal. Monografías Mexicanas de materia médica. Oficina Tipográfica de la Sría. de Fomento. México. pp. 61 - 69.

GONZALEZ D.M. et al. 1976. Estudio Preclínico de Lactonas Sesquiterpénicas como Agentes Anticancerosos. En: Memorias de la Jornada Conmemorativa del Décimo Aniv. de la Invest. Científica del Inst. Mex. del Seguro Social. México, D.F., 22 - 26 Nov. 1976.

GOOD, R. 1974. The Geography of the Flowering plants. Fourth Ed. Longman Ltd. London. p. 97.

GOODMAN, L. & A. GILMAN, 1974. Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Editorial Interamericana. México. pp. 1118 - 1147.

GUERRERO, C., 1974. Nuevos Terpenoides en Compuestas Mexicanas. (Tesis Doctor en Química), Fac. de Química, Univ. Nal. Autónoma de México

-----, et al. 1975. Determinación de la estructura y estereoquímica de la eleanólida Verafinina C y Aislamiento de la Verafinina B, dos substancias citotóxicas aisladas de Verbesina aff. coahuilensis Gray. Rev. Latinoamer. Quim. 6 (3): 119 - 123.

-----, 1978. Comunicación verbal.

-----, P. ROCHE, N. ROSAS, J. TABOADA, M. GONZALEZ D. y J. TELLEZ M. - 1978. Algunos derivados de las Budleínas A y B y actividad citotóxica en dos - líneas celular de la substancia A., Rev. Latinoam. Quim. en prensa.

HAMPEL, K.E. & H. GERHARTZ. 1974. The Cytostatic action of Vincalokoblastine. IN: 8 th. International Cancer Congress. Moscow, 1962.

HERNANDEZ, F. 1615. Cuatro Libros de la Naturaleza y Virtudes de las plantas y animales que tienen uso medicinal en la Nueva España. Anotados, traducidos y - publicados por Francisco Ximénez, Reimpreso por Dr. Nicolás León., 1888. Morelia, Mex.

HERNANDEZ, F., 1615. Historia de las plantas de la Nueva España. Editado de - 1942 a 1946 por el Instituto de Biología, Univ. Nal. Autónoma de México.

HERNANDEZ, R., A. SANDOVAL, A. SETZER & J. ROMO. 1968. Estudio Químico del -- Helenium quadridentatum Labill. Bol. Inst. Quim. U.N.A.M. 20 : 81-83, (México), En: Biol. Abstracts. 51: 10810 (1969)

- HERRERA, A. 1945. Botánica. Editorial Hispano-Mexicana, México. pp. 428-429.
- HILL, A. F. 1952. Economic Botany. McGraw Hill Co., Tokyo, Japan. pp.242-243.
- JIMENEZ, R.L. 1975. Determinación de las estructuras de las budleínas "A" y - "B". (Tesis Maestría en Ciencias Químicas). Fac. de Química Univ. Nal. Autónoma de México.
- KRAEMER, H. 1916. Applied and Economic Botany. John Wiley & Sons Inc., London pp. 727 - 748.
- KREIG, B. M., 1970. Medicina Verde. C.E.C.S.A. Editores, México. p. 297.
- KROCHMAL, A. & C. KROCHMAL, 1973. A guide to the medicinal plants of the U.S.A., Quadrangle, The New York Times Book Co., pp. 116 - 117.
- KUPCHAN, S.M. et al. 1969. J. Org. Chem. 34 (12): 3867 - 3908.
- , et al. 1971. J. Med. Chem. 14: 1147.
- , COURT, A.W., DAILEY, G.R. Jr., et al. 1972. J. Amer. Chem. Soc. 94 (20): 7194 - 7195.
- , et al. 1973. Lloydia 36 (3): 338 - 346.
- , 1974. Novel natural products with antitumor activity. Fed. Proc. 33 (11): 2288 - 2295.
- LANGMAN, K.I. 1964. A selected guide to the literature on the flowering plants of México. University of Pennsylvania Press. U.S.A.
- LEE, K.H. FURUKAWA, H. & E.S. HUANG. 1971. Antitumor Agents. 3. Synthesis and - citotoxic activity of helenalin amine adducts and relate derivaties. J. Med. -- Chem. 15 (6): 609 - 611.
- , HUANG. E.S., PLANTADOSI, C. et al. 1971. Citotoxicity of Sesquiterpene lactones. Cancer Research 31: 1649 - 1654.
- , Meck, R., & C. PLANTADOSI, 1972. Antitumor agents. 4. Jour Med. Chem. 16 (3): 299 - 301.
- , H. HALL, MAR, E. Ch., et al. 1977. Sesquiterpene Antitumor Agents: - Inhibitors of Cellular Metabolism. Science 196 (4289): 533 - 535.
- LOPEZ DE LA ROSA, M. L. 1975. (Tesis Doctoral), Biología, Fac. de Ciencias, - Universidad Nal. Autónoma de México.
- LUCAS, H. et al. 1971. El Gran Libro de la Salud, Enciclopedia Médica de Selecciones del Reader's Digest. México, D. F.
- MADRIGAL, S. X. 1967. Contribución al conocimiento de la Ecología de los Bosques

de Oyamel (*Abies religiosa* (H. B. K.) Schl. et Cham.) en el Valle de México. - Bol. Tec. No. 18, Inst. Nal. de Investig. Ftal., S.A.G., México.

MADUEÑO, B.M. 1973. Cultivo de Plantas Medicinales. Publicaciones de Extensión Agraria. Ministerio de Agricultura de España. Manual Técnico # 38. Madrid.

MALDONADO, L.J. 1978. Comunicación verbal.

MARTINEZ DEL CAMPO, J. 1897. Experiencias hechas con el chapuz. (*Helenium mexicanum*) a varios enfermos. An. Inst. Med. Nal. (Mex.), 3: 173.

MARTINEZ, M. 1923. Catálogo alfabético de nombres vulgares y científicos de -- Plantas que existen en México. Sría. de Agricultura y Fomento, México. pp. 108-109.

-----, 1928. Plantas útiles de la República Mexicana Talleres de H. Barrales, Sucesores. México.

-----, 1969. Las plantas medicinales de México. pp. 107 - 108.

MARTINEZ, P.R. 1974. Determinación en vegetales de la actividad biológica de - algunas lactonas sesquiterpénicas. Tesis Profesional, Biólogo. Fac. de Ciencias Universidad Nal. Aut. de México.

MARTINEZ, V. M. 1974. Aislamiento y Estructura del nuevo Elemanólido Verafinina. Tesis Químico. Universidad Nal. Aut. de México.

McKENNA, F. G., A. TAYLOR & B. GIBSON. 1960. Extracts of plants and Cancer chemotherapy. Texas Reports on Biology and Medicine. 18 (2): 233 - 246.

MESMER, V. M., TIN-WA, M., FONG, H.H.S., et al. 1972. J. Pharm. Sci. 61: 1858.

MITCHEL, J.C. 1969. Allergic control dermatitis from Compositae. Trans. St. -- John's Hosp. Dermatol. Soc. 55 (2): 174 - 183. In: Biological Abstracts 53 (3): 4060, (1970).

NEUSS, N., I.S. JOHNSON, J. ARMSTRONG & C. J. JENSEN. 1964. The *Vinca* alkaloids (Antitumor agents). Advance Chem. 1:133 - 174.

NOBLE, R. L., BEER, C.T. & J. H. CUTTS, 1958. Role Of Chance observations in - chemotherapy: *Vinca rosea*. Ann N.Y. Acad. Sci. 76: 882 - 894.

ORTEGA, A. et al. 1971. La Orizabina y la Zexbrevina B; nuevos germacranólidos furánicos. Rev. Latinoamer. Quím. 2 (1): 38 - 40.

ORVAÑANOS, D. 1897. Redacción de artículos de terapéutica de la 2a. parte de la Materia Médica Mexicana, relativos al *Helenium mexicanum* y *Artemisa mexicana*. An. Inst. Med. Nal. (México) 2:117.

OLECHNOWICZ, S.W. & S. STEPIEN, 1963. "In vitro" and "in vivo", Studies on the

Activity of Helenine and its components against some species of dermatophytes. Dissert Pharmaceut. 15 (1): 17 - 22.

PAGANI, F. & G. ROMUSSI. 1966. Composition of the principal cardenolide heterosides contained in the leaves and seeds of a sardinian, *Digitalis purpurea* L., cultivated in the experimental Center for Medicinal Plants of Siguria in Ruta - di Camogli. Farm ed Prat 21 (10): 543 - 576.

PALMER, G.C., et al. 1960. The action of Vincal leukoblastine on mitosis in vitro: Exp. Cell. Res. 20: 198 - 265.

PANIAGUA, C. M. 1973. Las plantas Tóxicas de México (Tesis Profesional Biólogo) Fac. de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

PARAY, L. 1958. Las Compuestas del Valle Central de México. Bol. Soc. Bot. Mex. 22: 41 - 47.

PARKER, J. 1953. Mil plantas médicas. Edit. Utilidad y Práctica. México. p. 181.

PETIT, C.R., & G.M. CRAGG. 1973. Antineoplastic agents, 32. The pseudoguaianolide Helenalin. Experientia. 29 (7): 781.

-----, et al. 1974. Antineoplastic agents, 34. *Helenium autumnale* L., -- Jour. Med. Chem. 17 (9): 1013 - 1016.

PRIETO, I. 1896. Preparación de un extracto alcohólico del chapuz. An. Inst. - Med. Nal. (Mex.). 2:117.

RAMIREZ, J. y G. V. ALCOCER. 1902. Sinonimia vulgar y científica de las plantas mexicanas. Oficina Tipográfica de la Sría. de Fomento. México.

REICHE, C. 1926. Flora Excursoria en el Valle Central de México. Reproducida y Editada por la Subsría. de Enseñanzas Técnicas y Superior, S.E.P. México, 1963. pp. 193, 197, 204 y 206.

RIO DE LA LOZA, M.F. 1900. Estudios de perfeccionamiento con el "chapuz" (*Helenium mexicanum*) An. Inst. Med. Nal. (Mex.). 4:132.

RODRIGUEZ, E. 1977. Sesquiterpene lactones. Chemotaxonomy, Biological activity and isolation. Rev. Latinoamer. Quim. 8: 56 - 62.

ROMO, J., P. J. Nathan & F. Díaz A., 1964. The constituents of *Helenium aromaticum*. (Hook) Bailey. The structures of aromatin and aromaticin. Tetrahedron 20 (1): 79 - 85.

ROMO DE VIVAR, R. A. & J. ROMO. 1959. Constituents of *Helenium mexicanum* H.B.K. Chemistry and Industry 27 : 882.

-----, 1961. Las Tactonas de *Helenium mexicanum* H.B.K. Ciencia (Mex.). 21 (1): 33 - 35.

-----, BRATOEFF, E.A. & T. RIOS. 1966. J. Org. Chem. 31:673-677.

-----, et al. 1970. New pseudoguaianolides from Parthenium confertum Gray (Compositae). Tetrahedron 26:2775 - 2780.

RYTEL, W. M., R. E. SHOPE & E. D. KILBOURNE. 1966. An antiviral substance from Penicillium funiculosum V. Induction of interferon by helenine. J. Exp. Med. - 123 (4):577 - 588. In: Biological Abstracts 47:9425.

SANCHEZ, S. O. 1976. La flora del Valle de México. Herrero Editor. México.

SAYAS, A. 1977. Comunicación personal.

SILVA, F. 1966. Heredity and alterations of some qualities in chemocultivars of the foxglove (Digitalis lanata Ehrh.). Planta Med. 14 (3):303 - 309. In: Biological Abstracts 48:4167 (1967).

SILVA, F. 1966. Results concerting cultivation of Digitalis lanata Ehrh. Agr. 4: 70 - 81.

STANDLEY, P. C. 1920. Trees and shrubs of México. Contr. U.S. Natl. Herb. 23: (1):405 Washington Government Printing Office. Washington, U.S.A.

STEARNS, T. W. 1966. Catharanthus roseus. The correct name for the Madagascar - Periwinkle. Lloydia 29 (3):196 - 200.

STOCK, A. J. 1970. Chemotherapy of cancer. Chem Britain. 6:11 - 16.

SVOBODA, G. H. et al. 1962. Current Status of Research on the alkaloids of - - Vinca rosea L. (Catharanthus roseus G. Don) J. Pharm. Sci. 51 (8):707 - 720.

TABOADA, J. 1976. Comunicación Verbal.

TELLEZ, M. J., et al. 1973. VI. Congreso Natl. de Ciencias Farmacéuticas. México.

VILLASEÑOR, F. F. 1896. Preparación del alcaloide del "chapuz" (Helenium mexicanum H.B.K.) An. Inst. Med. Natl. (Mex.). 2:116.

-----, 1897. Extracción del principio activo del "chapuz" Ibid. 3: 168.

WINTER, E. 1968. Mexico's ancient and native remedies. Editorial Fournier S. A. México, D. F. pp. 82 - 83.

YABUTA, G., et al. 1978. Sesquiterpene lactones from the Genus Zaluzania (Compositae: Helianthae). Rev. Latinoamer. Quím. 9 (2):83 - 85.

ZETINA, R. C. 1974. Terpenoides de Artemisia mexicana var. angustifolia. Tesis Profesional Químico, Universidad Nacional Autónoma de México.