



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**FITOQUÍMICA, TOXICIDAD Y GENOTOXICIDAD  
DE ALGUNAS PLANTAS UTILIZADAS EN LA  
MEDICINA TRADICIONAL MEXICANA PARA EL  
TRATAMIENTO DE LA DIARREA:  
UNA REVISIÓN DOCUMENTAL**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**B I Ó L O G A**

**P R E S E N T A:**

**MARTHA MARGARITA RAMÍREZ ZAPIÉN**



**TUTORA:  
DRA. ROSARIO RODRÍGUEZ ARNAIZ**

**2010**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

**A la Vida,**

**A los Sueños,**

**Al saber Ser**

A mis padres, Arnulfo Ramírez y Margarita Zapién,  
por darme la vida y su amor incondicional...  
porque nunca han dejado de creer en mí.

A mis hermanos, Rosalva y Arnulfo,  
por ser parte indivisible de mí

A tí, Rosalva,  
por ser mi mejor amiga, por tu comprensión y aliento

A tí, Arnulfo,  
porque siempre me ofreces otra forma de ver las cosas y por tu tenacidad y  
apoyo para que concluyera este trabajo.

A tí Rogelio, mi Esposo,  
por tu amor, por tu incansable ayuda y porque este logro es de los dos  
Mi presente y mi futuro juntos

A ustedes, mis Hijos, Martha María y Rogelio Arnulfo,  
porque son mi motor y mi ser mucho más allá de mí...  
porque en su mirada descubro lo maravilloso que es la vida,  
lo mágico que son los sueños y  
que el saber ser, después de todo, es parte de nuestra naturaleza

A mis sobrinos Carlos Cristóbal y Margarita,  
porque también son mis niños

A la Dra. Rosario Rodríguez Arnaiz y a Erick Ballesteros  
por su tiempo y espacio, por su paciencia

# ÍNDICE

<b>Resumen</b> .....	1
<b>1. Antecedentes</b> .....	2
1.1. La diarrea como un grave problema de salud pública en México .....	2
1.2. ¿Qué es la diarrea? .....	6
1.3. ¿Qué causa la diarrea? .....	6
1.4. El papel de la medicina tradicional en México .....	7
<b>2. Justificación</b> .....	9
<b>3. Objetivo General</b> .....	10
3.1. Objetivo Particular .....	10
<b>4. Material</b> .....	11
<b>5. Método</b> .....	13
<b>6. Resultados</b> .....	15
6.1. Estafiate ( <i>Artemisia ludoviciana</i> subsp. <i>mexicana</i> )	
Ficha Informativa .....	16
Revisión documental .....	18
6.2. Epazote de zorrillo ( <i>Dysphania graveolens</i> )	
Ficha Informativa .....	36
Revisión documental .....	38
6.3. Árnica mexicana ( <i>Heterotheca inuloides</i> )	
Ficha Informativa .....	54
Revisión documental .....	56
6.4. Cempasúchil ( <i>Tagetes erecta</i> )	
Ficha Informativa .....	74
Revisión documental .....	76
<b>7. Discusión y Conclusiones</b> .....	97
<b>Literatura Citada</b> .....	102

## RESUMEN

Con la finalidad de proporcionar información útil para definir futuras líneas de investigación experimental en los campos de la etnofarmacología, la bioquímica y la genética entre otros, se efectuó una revisión documental que involucra aspectos fitoquímicos, farmacológicos, tóxicos y genotóxicos de cuatro plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de la diarrea: el estafiate (*Artemisia ludoviciana* subsp. *mexicana*), el árnica mexicana (*Heterotheca inuloides*), el epazote de zorrillo (*Dysphania graveolens*) y el cempasúchil (*Tagetes erecta*).

Para ello, se emplearon artículos científicos nacionales e internacionales y diversas fuentes especializadas de información disponibles a través de Internet.

Como resultado de esta revisión, se generaron Fichas Informativas de las plantas que resumen la información botánica, etnobotánica y los estudios realizados para definir su fitoquímica y su potencial farmacológico, tóxico, citotóxico y genotóxico.

Se concluye que la ciencia ofrece datos relevantes para justificar algunos de los usos medicinales tradicionales que se les han atribuido a estas plantas mexicanas desde tiempos prehispánicos, entre ellos como antidiarreico. Sin embargo, aún es necesario profundizar en los estudios científicos de las actividades biológicas y de los mecanismos de acción de sus compuestos activos en diferentes niveles, primordialmente a nivel celular, molecular y genético, que contribuya a explorar el potencial genotóxico que se ha probado en algunas de estas plantas.

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1. La diarrea como un grave problema de salud pública en México.

“La humanidad reconoce a las diarreas como uno de sus grandes azotes”

De acuerdo con el informe que el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) dieron a conocer el 14 de octubre de 2009, se manifiesta que a pesar de que existen tratamientos económicos y eficaces contra la diarrea, esta enfermedad cobra más vidas infantiles que el SIDA, el paludismo y el sarampión combinados. La diarrea es un síntoma frecuente de infección gastrointestinal que puede tener diversos orígenes. Sin embargo, muy pocos organismos provocan los casos más graves, como el rotavirus, que es responsable de más del 40% de todas las hospitalizaciones de niños menores de cinco años. A pesar de que la mayor parte de los episodios de diarrea infantil son leves, los casos agudos pueden provocar una pérdida importante de fluidos y por lo tanto, deshidratación. Cuando los fluidos no se reemplazan con rapidez, el niño puede morir. A escala mundial, cerca del 88% de las defunciones por diarrea se atribuyen a la mala calidad del agua, el saneamiento inadecuado y la higiene deficiente. En 2006, un total de 2,500 millones de personas del mundo entero carecían de acceso a instalaciones adecuadas de saneamiento, y aproximadamente una de cada cuatro personas en los países en desarrollo defecaban al aire libre. El acceso a agua salubre y las buenas prácticas de higiene son sumamente efectivos para prevenir la diarrea infantil. El lavarse las manos con agua y jabón reduce la incidencia de enfermedades diarreicas en más del 40%. El estado general de salud y la condición nutricional de los niños determinan, en gran medida, su susceptibilidad a la diarrea y a sus efectos nocivos. Los niños desnutridos presentan episodios de diarrea más frecuentes, graves y prolongados y, a su vez, los episodios repetidos pueden empeorar su situación nutricional. Para el año 2008, las estadísticas mundiales refieren una tasa de mortalidad por enfermedades diarreicas en menores de 5 años de 8,757 (miles), de una población total de 634,631 (miles) niños de este rango de edad. Las estadísticas de México para este año, reportadas por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), indican una tasa de mortalidad por enfermedades diarreicas en menores de 5 años de 17 por cada 1,000 niños nacidos vivos, lo que significa 36,000 muertes anuales de una población total de 10,281 (miles) de niños menores de 5 años (ULR, UNICEF-OMS, 2009).

La enfermedad diarreica aguda (EDA) constituye un grave problema de salud pública en México (OPS, 2004 y Villa y cols., 2009 en Esparza-Aguilar, 2009), tanto por su frecuencia, como por la gravedad de sus consecuencias, sobre todo cuando afecta a los niños (URL, Mellado-Campos y cols., 1994) y adultos mayores. Aunque el 95% de los cuadros diarreicos son auto-limitados, debe atenderse especialmente a estos dos grupos poblacionales, puesto que son más susceptibles a sufrir una deshidratación grave que

conduzca incluso, a la muerte (URL, S.S., 2009). Algunos datos históricos sobre el grupo poblacional más sensible, los niños menores de cinco años de edad, son:

En México, hasta 1976 las diarreas ocupaban el primer lugar como causa de morbilidad; a partir de 1977 se encuentran en el segundo lugar. En 1988 se encuentran como segunda causa de morbilidad en todos los grupos de edad. Uno de cada cuatro casos que se registra corresponde a diarrea aguda. El grupo más afectado es el de los menores de cinco años (en Sepúlveda-Amor y cols., 1991).

Para 1982, se registraron 26,000 muertes anuales por diarrea en niños en México (Glass, 1996; Dezoya, 1985 en URL, Mota-Hernández y cols., 2000). Desde entonces, las cifras han ido disminuyendo significativamente. En 1993, la incidencia de episodios diarreicos por niño bajó de 4.5 a 2.2 al año (URL, Gutiérrez y cols., 2004). Hasta 1992, las muertes por diarrea tenían un patrón similar a su variación estacional, siendo mucho más frecuentes durante los meses más calurosos de primavera y verano (abril-julio). A partir de 1993, se observó una disminución en estos meses, con incremento proporcional de noviembre a enero, en los que predomina la diarrea por rotavirus (URL, Mota-Hernández y cols. 2000).

En 1995 las enfermedades diarreicas eran ya la cuarta causa de mortalidad infantil. No obstante los avances logrados, el número de muertes por estas enfermedades continuaba siendo injustificadamente elevado. El problema resultó más evidente en algunos estados del país con condiciones de pobreza extrema, como Chiapas, Oaxaca y Guerrero, situación que prevalece hasta la fecha (figuras 2 y 3). Estas cifras sugieren la existencia de problemas adicionales que favorecen la persistencia de defunciones prevenibles y que es posible que estén relacionados con deficiencias en el proceso de atención de los niños fallecidos por enfermedades diarreicas (URL, Reyes y cols., 1998). Para 1996, se calculó en México una tasa de mortalidad por esta causa de 38.4 por cada 100,000 niños menores de 5 años (URL, Castillo-Ruiz y cols., 2000).

Con la aplicación de todos los componentes del manejo efectivo de la diarrea en el hogar, tales como: el lavado de las manos, no dejar de alimentar al niño aún con diarrea y la rehidratación oral, se podría evitar 90% de las muertes. En 2006, comienza a aplicarse en México la vacuna contra el rotavirus humano del grupo A. En el 2009, durante la temporada del rotavirus, la muerte por diarrea infantil en el país se redujo en más de 65% entre niños menores de dos años, situándose en este año, como la octava causa de mortalidad infantil en menores de 5 años (URL, S.S. 2009).

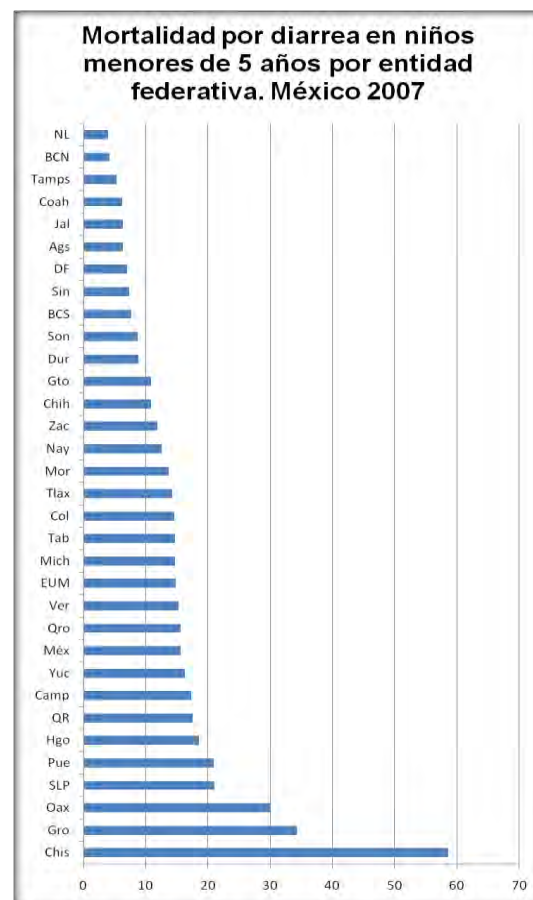
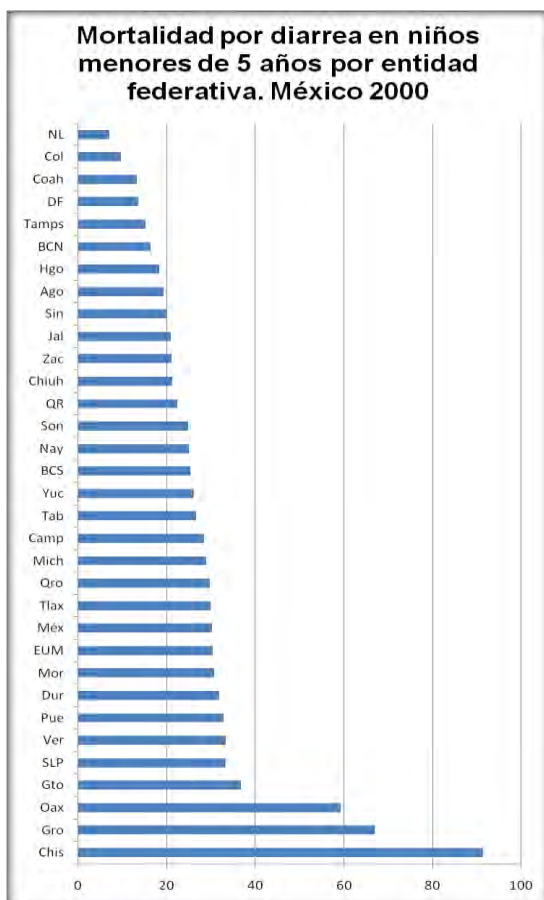
Sin embargo, a pesar de la importante reducción en la mortalidad, ésta representa aún una cifra inaceptable, dado que la mayoría de las muertes ocurridas por diarrea pudieran haberse evitado bajo mejores condiciones sanitarias y de un manejo más efectivo de los casos. La figura 1 muestra información nacional de la mortalidad provocada por enfermedades diarreicas (ED) en menores de cinco años.



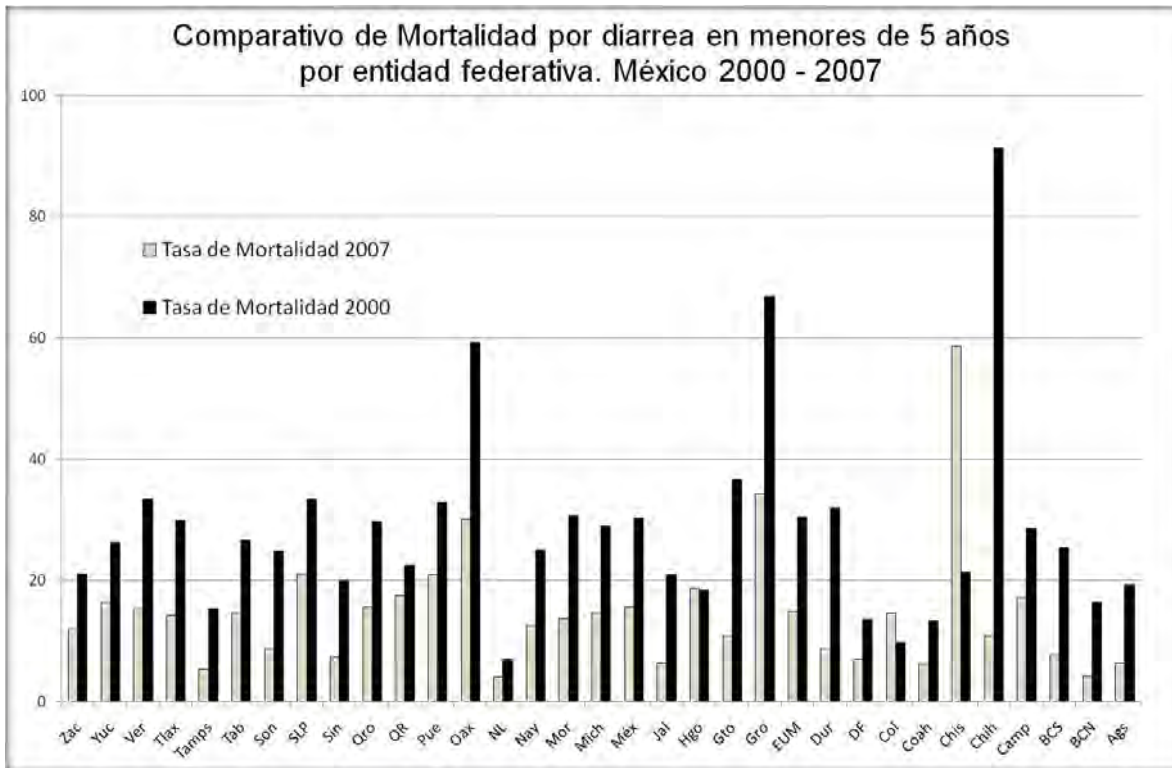
**Figura 1.** Mortalidad nacional por diarrea en menores de 5 años. Fuentes SS y OPS, 2009.



**Figura 2.** Mortalidad por diarrea en menores de 5 años por entidad federativa en México. Tasa de Mortalidad por cada 100,000 niños menores de 5 años. Fuentes SS y OPS, 2009.



**Figura 3.** Comparativo de mortalidad por diarrea en menores de 5 años por entidad federativa. Tasa de Mortalidad por cada 100,000 menores de cinco años. Fuentes SS y OPS, 2009.



En México aún no se cuenta con un sistema integral que evalúe el impacto de la mortalidad por diarrea en la población, ya que la información escapa del sistema médico formal, incluso muchos de los niños fallecidos por enfermedades diarreicas murieron en su hogar, en zonas marginadas y pobres de localidades rurales y urbanas, dificultándose así el registro de estas defunciones (URL, Alvarez-Larrauri, 1998)

La etiología de las enfermedades diarreicas es múltiple. En México la mayoría de los cuadros diarreicos son de naturaleza infecciosa y predominantemente viral. Los factores predisponentes más importantes son aquellos de carácter sanitario, socioeconómico y cultural. Las enfermedades diarreicas que afectan a los niños menores de 5 años tienen gran importancia en salud pública por la elevada morbilidad y mortalidad que ocasionan y por su repercusión negativa sobre el crecimiento y desarrollo de los niños. Es bien conocida la gran influencia de los factores socioeconómicos, culturales, higiénico sanitarios y nutricionales que ejercen sobre la morbi-mortalidad de enfermedades diarreicas agudas, principalmente en los países en desarrollo (Cornelia, 1995; OPS, 1990 y Urrestarazu, 1999 en URL, Castillo-Ruiz y cols., 2000). En nuestro país, estas enfermedades constituyen una problemática múltiple debido a la ignorancia de las madres sobre el tratamiento de los episodios diarreicos (hidratación oral), la importancia de la

lactancia, la vacunación, la alimentación y del mejoramiento de las condiciones ambientales. (URL, Castillo-Ruiz y cols., 2000).

La enfermedad diarreica aguda es más frecuente cuando predominan condiciones de vida desfavorables, como el hacinamiento, altos niveles de contaminación ambiental (Leal, 1990 y Berman, 1994 en URL, Martínez-López y cols., 2005) la falta de agua potable, la ingesta de alimentos contaminados o en descomposición, la defecación al aire libre, la desnutrición, la incidencia de enfermedades anergizantes (p. ej. sarampión, varicela), una deficiente atención médica, el analfabetismo, la falta de hábitos de higiene y un bajo ingreso económico, repercuten desfavorablemente sobre la alimentación y el cuidado de los niños más pequeños (Álvarez, 1995 y Schütz, 1993 en URL, Martínez-López y cols., 2005; URL, Castillo-Ruiz y cols., 2000).

## **1.2. ¿Qué es la diarrea?**

Es la presencia de evacuaciones con al menos un 60% de agua, por lo que puede observarse desde heces no formadas hasta evacuaciones completamente líquidas. En la diarrea aguda (de inicio súbito) ocurren evacuaciones en número mayor de 4 en una hora o de 8 en 24 horas, que suelen resolverse en uno o dos días, y nunca exceden los 14 días; además de la diarrea aguda se presentan la disentería -evacuaciones con moco y sangre- y la diarrea de evolución prolongada o persistente por 14 días o más (URL, Mota-Hernández y Gutiérrez-Camacho, 1996).

Los signos y síntomas que se presentan dependen del tipo de diarrea de la que se trate, los más frecuentes son: contracciones intestinales, dolor de estómago, urgencia para ir al baño, paso frecuente de heces líquidas, náusea y vómito, sed intensa e inflamación del vientre. Sin embargo, puede haber signos más graves: sangre o pus en las evacuaciones, dolor en el recto, vómito intenso, incapacidad para tomar líquidos, disminución o ausencia de orina, fiebre (URL, Rangel-Gómez, 2008 y URL, Mota-Hernández y Gutiérrez-Camacho, 1996).

## **1.3. ¿Qué causa la diarrea?**

La etiología de las enfermedades diarreicas es múltiple. En México, la mayoría de los cuadros diarreicos son de naturaleza infecciosa y predominantemente viral (URL, Castillo-Ruiz y cols., 2000). La diarrea aguda puede ser ocasionada por alimentos descompuestos o de difícil digestión; infecciones por virus, parásitos o bacterias, como la fiebre tifoidea o el cólera; gastroenteritis; ansiedad o estrés emocional; consumo excesivo de alcohol; medicamentos, particularmente los antibióticos (URL, Rangel-Gómez, 2008 y URL, Mota-Hernández y Gutiérrez-Camacho, 1996).

*Infección vírica (incidencia 85-90%):*

Hay varios tipos de virus, como el rotavirus (incidencia 40%), el coronavirus, el adenovirus entérico, el calicivirus, el astrovirus e influenza, que pueden causar diarrea, vómitos, dolor abdominal, fiebre, escalofríos y malestar general (URL, Rangel-Gómez, 2008 y URL, Mota-Hernández y Gutiérrez-Camacho, 1996).

*Infección bacteriana (incidencia 10-12%):*

Bacterias como *Escherichia coli* (incidencia del 25% dentro de todos los rangos de edad), y *Salmonella* sp. (10%) puede causar diarrea severa, acompañada de retortijones, sangre en las heces y fiebre (puede o no presentar vómitos). También se encuentran *Shigella* (10% <5 años), *Campylobacter jejuni* (5-15%), y *Vibrio cholerae*, entre otras (URL, Rangel-Gómez, 2008 y URL, Mota-Hernández y Gutiérrez-Camacho, 1996).

*Otras infecciones:*

Algunos parásitos producen diarrea sanguinolenta (*Entamoeba histolytica*) ó diarrea prolongada (*Giardia lamblia*). Varios helmintos (*Ascaris lumbricoides*), hongos (*Cándida albicans*), organismos inmunocomprometidos (*Klebsiella*, *Pseudomona*, *Aereobacter*, *Clostridium. difficile*) también producen episodios diarreicos (URL, Rangel-Gómez, 2008 y URL, Mota-Hernández y Gutiérrez-Camacho, 1996).

#### **1.4. El papel de la medicina tradicional en México.**

El uso y aplicaciones de las plantas, tanto como alimento, herramienta o medicina, es un conocimiento que la humanidad ha empleado desde tiempos antiguos, ya que le representaba una ventaja selectiva que le permitía sobrevivir. Este hecho es muy importante para países como el nuestro, ya que México está considerado entre los primeros cinco países con mayor diversidad biológica del mundo (CONABIO 2009) (URL, Hernández-Rivera y cols., 2006), ya que cerca del 50% de las más de 22,000 a 26,000 especies de plantas vasculares son endémicas (Villaseñor, 2004 en Castillo-Juárez, 2009; URL, INE, 2010). Y se encuentra entre los primeros en diversidad cultural, ya que contamos con más de 50 grupos étnicos (Maldonado-Almanza y cols., 2004) lo que representa más de 10 millones de personas de habla indígena y al menos 85 lenguas diferentes (MNM, 2008 en Andrade-Cetto, 2009). La medicina tradicional, también llamada curandería o herbolaria, opera con remedios hechos a base de hierbas para curar diversos padecimientos, lo que constituye un elemento cultural con profundas raíces en todas las civilizaciones y que continua transmitiéndose de forma oral generación tras generación. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), entre 66 y 85% de la población del planeta recurre a la herbolaria (URL, Hernández-Rivera y cols., 2006). En

México, a pesar de que la medicina occidental ocupa el 40% de todos los servicios de salud, más del 25% de la población todavía depende casi en un 100% del uso de las plantas medicinales (Argueta y Cano, 1994 en Hernández y cols., 2003).

En México, la medicina tradicional no ha perdido relevancia y llega hasta nuestros días con una amplia práctica en múltiples sectores de la sociedad, principalmente en los sectores marginados y pobres (Maldonado-Almanza y cols., 2004) de medios rurales y suburbanos (Osuna-Torres y cols., 2005), donde se utilizan sólo plantas medicinales como remedio casero al no tener recursos ni posibilidad de acceder a la medicina institucional (URL, Hernández-Rivera et al., 2006). Ante esta situación, las plantas medicinales juegan un papel importante en la solución de numerosos problemas inmediatos de salud (Maldonado-Almanza et al., 2004). En México, los terapeutas tradicionales representan la única opción médica para más de 40 millones de mexicanos y existen de 4 a 5 terapeutas tradicionales por cada médico alópata (Osuna-Torres et al., 2005.). La documentación del uso popular e indígena de las plantas refleja las influencias precolombina y española, incluso la influencia de los tiempos modernos que hoy por hoy está constantemente alterando los sistemas de la medicina tradicional y el uso de las plantas medicinales (Frei et al., 1998).

Se ha estimado que cerca de 3,103 plantas superiores son usadas en la medicina tradicional mexicana de éstas, cerca de un tercio (1,024) se usan para aliviar las enfermedades del tracto digestivo (Argueta-Villamar, 1994 en Yasunaka, 2005; Bye, 1995 y Argueta, 2004 en Castillo-Juárez, 2009). En una encuesta realizada por el herbario del IMSS, resultó que las plantas medicinales mexicanas se usan primordialmente para tratar enfermedades digestivas (473 especies), respiratorias (247 especies) y de la piel (277 especies) (Aguilar y cols., 1994 en Yasunaka, 2005).

## 2. JUSTIFICACIÓN

Debido a que las plantas medicinales continúan empleándose para el tratamiento de diversas enfermedades en la medicina tradicional, como para la diarrea, es importante documentar sus usos y realizar estudios sobre sus actividades farmacológicas para validar su eficacia y su seguridad, y para tratar de asegurar su explotación racional. A pesar de la vasta literatura que existe en México acerca de estudios etnobotánicos, solo se han realizado algunos esfuerzos para publicar estos datos a nivel internacional (Andrade-Cetto, 2009).

Hoy, es necesario retomar los conocimientos de la medicina tradicional mexicana, obtenidos empíricamente, sobre las plantas empleadas para el tratamiento de la diarrea seleccionadas en esta revisión, para actualizarlos y potencializarlos a través de las posibilidades que ofrece la ciencia. Para ello, resulta esencial abordar aspectos fitoquímicos, farmacológicos, tóxicos y genotóxicos de las mismas, con una primera finalidad de dar sustento científico al uso terapéutico tradicional que ya se hace de ellas y para conducir a la producción de fitomedicamentos estandarizados, regularizados y clínicamente probados. Asimismo, estos estudios contribuirán al avance de la medicina alópata en el tratamiento de la diarrea y de otras enfermedades, dando pauta al desarrollo de futuros estudios farmacológicos, moleculares y genéticos de sus compuestos activos.

### 3. OBJETIVO GENERAL

Realizar la revisión documental de los aspectos fitoquímicos, tóxicos y genotóxicos de cuatro plantas empleadas en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de la diarrea: el estafiate (*Artemisia ludoviciana* subsp. *mexicana*), el epazote de zorrillo (*Dysphania graveolens*), el árnica mexicana (*Heterotheca inuloides*) y el cempasúchil (*Tagetes erecta*), utilizando para ello artículos científicos nacionales e internacionales. Con el fin de proporcionar información documental que oriente futuras líneas de investigación en diferentes campos, como en la genética y en la etnofarmacología.

#### 3.1. Objetivo Particular.

Elaborar fichas informativas para las plantas revisadas, que incluya:

- Información botánica para la correcta identificación de las plantas
- Información etnobotánica que corrobore su uso como tratamiento para la diarrea
- Información fitoquímica que incluya los compuestos activos que contienen
- Información farmacológica y de ensayos biológicos realizados
- Información sobre su toxicidad, citotoxicidad y genotoxicidad.

## 4. MATERIAL

Artículos científicos internacionales sobre las plantas seleccionadas obtenidos a través de Internet.

Los buscadores de publicaciones científicas utilizados para la exploración de artículos científicos divulgados en revistas especializadas con acceso vía internet fueron:

- BioMed Central
- HerbMed
- Hermes
- HighWire Press
- Ingentaconnect
- PubMed
- PubMed Central
- Scholar Google
- SciELO
- Science Direct
- Scirus
- SpringerLink

Todos ellos actualizados a marzo de 2009.

Se consultó además, bibliografía científica especializada con referencia a la descripción botánica y etnobotánica de las plantas.

Se consultaron herbarios virtuales y otras páginas web especializadas y relacionadas con los temas tratados, las principales son:

- Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad (CONABIO), Malezas de México:  
<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/2inicio/home-malezas-mexico.htm>
- The New York Botanical Garden:  
<http://sciweb.nybg.org/science2/IndexHerbariorum.asp>
- The International Plant Names Index:  
<http://www.ipni.org>



- Missouri Botanical Garden, nombres científicos:  
<http://www.tropicos.org/name>
- Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana:  
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/atlas.php>
- Consejo Nacional de Población (CONAPO), particularmente:  
[http://www.conapo.gob.mx/index.php?option=com\\_content&view=article&id=125&Itemid=203](http://www.conapo.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=125&Itemid=203)
- Dirección General de Epidemiología de la Secretaría de Salud, particularmente:  
<http://www.dgepi.salud.gob.mx/infoepi/index.htm>
- Organización Panamericana de Salud (OPS), particularmente:  
<http://www.mex.ops-oms.org/>
- Sistema Nacional de Información en Salud:  
<http://www.sinais.salud.gob.mx/indicadores/basicos.html>
- Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF).  
[http://www.unicef.org/spanish/media/files/Final\\_Diarrhoea\\_Report\\_October\\_2009\\_final.pdf](http://www.unicef.org/spanish/media/files/Final_Diarrhoea_Report_October_2009_final.pdf)

## 5. MÉTODO

Se seleccionaron cuatro plantas medicinales utilizadas en México, solas o combinadas con otras, para el tratamiento de la diarrea. Para ello se consultó el libro “Selección de plantas medicinales de México” de Linares (1988).

- Estafiate (*Artemisia ludoviciana* subsp. *mexicana*)
- Epazote de zorrillo (*Dysphania graveolens*)
- Árnica mexicana (*Heterotheca inuloides*)
- Cempasúchil (*Tagetes erecta*)

Se efectuó la revisión documental en literatura especializada, nacional e internacional, y en páginas web sobre la diarrea y el tratamiento botánico de las especies de esta revisión:

Se realizó una búsqueda, intensa y extensiva, en internet a través de buscadores de publicaciones científicas de artículos relacionados al tema de estudio. Se utilizaron las siguientes palabras y términos clave:

1. nombre científico de la planta, incluyendo algunos sinónimos nomenclaturales, y en relación a ellos:
  - a. etnobotánica
  - b. medicina tradicional
  - c. medicina tradicional mexicana
  - d. diarrea, antidiarreico
  - e. enfermedades diarreicas
2. Fitoquímica
  - a. Compuestos naturales
  - b. Productos naturales
  - c. Compuestos activos
3. Farmacología
  - a. Actividad biológica
  - b. Actividad antidiarreica
  - c. Actividad antiprotozoaria
  - d. Actividad antifúngica, antimicótica
  - e. Actividad antibacterial, antimicrobiana
4. Toxicidad
  - a. Citotoxicidad
  - b. Genotoxicidad
  - c. Cáncer
5. Nombre del autor

Se eligieron aquellos artículos que permitieron su libre acceso a través de la red de la UNAM.

La revisión de los artículos y de la descripción botánica y etnobotánica de las plantas comprende los siguientes temas:

- Clasificación de la planta
- Nombre científico
- Sinónimos nomenclaturales
- Nombres comunes
- Descripción morfológica
- Distribución en México
- Etnobotánica, haciendo referencia a los usos medicinales de la planta en México, especialmente como antidiarreico; parte de la planta utilizada, principales modos de preparación y vías de administración.
- Composición fitoquímica, con énfasis en los compuestos activos.
- Farmacología. Estudios sobre la actividad biológica de la planta como antidiarreica, antiespasmódica, antibacteriana, antifúngica, antiprotozoaria, antihelmíntica, antioxidante, etc., tanto de los extractos de la planta, como de los compuestos que han sido aislados.
- Toxicidad, citotoxicidad y genotoxicidad de las plantas y de sus compuestos aislados.
- Conclusiones generales de la planta, estatus de su estudio, recomendaciones para estudios posteriores.

Esta información se utilizó para elaborar la Ficha Informativa de cada especie.

## 6. RESULTADOS

### Fichas Informativas y revisión documental de:

- 6.1. Estafiate  
(*Artemisia ludoviciana* subsp. *mexicana*)
  
- 6.2. Epazote de zorrillo  
(*Dysphania graveolens*)
  
- 6.3. Árnica mexicana  
(*Heterotheca inuloides*)
  
- 6.4. Cempasúchil  
(*Tagetes erecta*)

## Ficha Informativa

### ***Artemisia ludoviciana* subsp. *mexicana* (Willd. Ex Spreng.) D. D. Keck, 1946 (Asteraceae).**

**Sinónimos Nomenclaturales:** *Artemisia ludoviciana* Nutt., 1818.  
*Artemisia mexicana* Willd. Ex Spreng., 1826

**Nombres Comunes:** Estafiate, istafiate, ajeno del país, artemisia, azumate, hierba maestra.

**Usos medicinales tradicionales en México:** Para infecciones gastrointestinales. dolor de estómago, diarrea, disentería, empacho, retortijones, vómito, como digestivo. Se ingiere como té de las partes aéreas de la planta, a veces se acompaña de otras plantas como ruda (*Ruta chalepensis*), epazote de zorrillo (*Chenopodium graveolens*), manzanilla (*Matricaria recutita*) y hierbabuena (*Mentha piperita*). Para parásitos intestinales (amibas, giardia y áscaris) en té con epazote (*Telexys ambrosioides*), ajeno (*Artemisia absinthium*) o hierbabuena (*Mentha piperita*) en ayunas. Para dolor e inflamación del hígado y como hepatoprotector Para cólicos menstruales, como abortivo o baños durante el puerperio para evitar entuertos Para padecimientos respiratorios: anginas, bronquitis, catarros, resfríos, tos, tos ferina, como gárgaras, frotado, inhalado o tomado en té. Para el reumatismo, frotando un preparado alcohólico con aguacate (*Persea americana*), alcanfor, aceite de oliva, cempasúchil (*Tagetes erecta*), albahaca y jengibre (*Zingiber officinale*). Para enfermedades circulatorias, del corazón, riñones, diabetes, dolor de oído, nervios, mareos y dolor de cabeza.

**Descripción Botánica:** Hierba perenne, de 1 a 1.5 m de alto. Tallos estriados, rizomatosa, flocoso-tomentoso. Hojas alternas, sésiles o con pecíolo corto y ancho, hasta 15 cm de largo, enteras, lineares a lanceoladas, elípticas u obovadas a divididas las inferiores, blanco-tomentosas en ambas caras, margen revuelto, la pubescencia a menudo es pronto caediza en el haz. Panícula de 20-50 cm de alto, cabezuelas en ramas secundarias, casi sésiles. Involucro campanulado, 6-16 brácteas, de 2 a 4 mm de largo, más o menos tomentosas; receptáculo hemisférico; flores periféricas 5 a 12, sus corolas angostamente cilíndricas, de 1 a 1.5 mm de largo; flores del disco 6 a 15, sus corolas tubulosas o con la garganta campanulada, de  $\pm$  2 mm de largo, teñidos de púrpuras, pero luego pasando a color paja. Aquenios comprimidos, en forma de clavo o elipse, de  $\pm$  1 mm de largo, glabros, café claro, con 12 costillas. Raíces con asociada en micorrizas. Arvense, ruderal. Florece en el oeste de México entre septiembre y noviembre. Se distribuye desde el sur de Canadá hasta Guatemala. Habita en climas cálido, semicálido, semiseco y templado. Se le cultiva fácilmente y es común en vegetación perturbada de bosques tropicales caducifolio, subperennifolio y perennifolio, bosque espinoso, matorral

xerófilo, bosque mesófilo de montaña, bosques de encino, de pino, mixto de pino-encino y de junípero. Se distribuye desde el nivel del mar hasta los 2900 msnm. Se le encuentra en las zonas norte y centro del país, sobre todo en el altiplano.

**Compuestos Activos:** Alcanfor, 1,8-cineole, terpinen-4-ol,  $\alpha$ -terpineol, borneol, santonina como antimicrobianos (bacterias, hongos, protozoarios). Ridentina, arglanina,  $\alpha$ -santonina, vulgarina y la ludovicina (antitumorales). Achillin, desacetoximatricarin (inhibidoras del crecimiento lateral de raíz). Sesquiterpenos lactona (citotóxicos).

**Toxicidad:** Casi nula (fototoxicidad): posible reacción alérgica al contacto (dermatitis) por parte de individuos sensibles.

**6.1. *Artemisia ludoviciana* subsp. *mexicana* (Willd. Ex Spreng.)  
D. D. Keck, 1946**

**CLASIFICACIÓN**

(Tropicos.org., MBG, 2010)

*Plantae*  
*Magnoliophyta*  
*Magnoliopsida*  
*Asterales*  
*Asteraceae*  
***Artemisia***  
***ludoviciana* subsp. *mexicana***



Fotos P. Tenorio Lezama

**SINÓNIMOS TAXONÓMICOS Y NOMENCLATURALES**

(Villaseñor y Espinosa, 1998; Tropicos.org., MBG, 2010; IPNI, 2010)

*Artemisia ludoviciana* Nutt., 1818  
*Artemisia albula* Wooton, 1913  
*Artemisia ghiesbreghtii* Rydb., 1916  
*Artemisia revoluta* Edgew., 1916  
*Artemisia mexicana* Greene ex Rydb., 1916  
*Artemisia mexicana* Willd. Ex Spreng., 1826  
*Artemisia vulgaris* var. *mexicana* H. M. Hall. & Clem.,  
1926  
*Artemisia ludoviciana* var. *sulcata* D. D. Keck, 1946



## NOMBRES COMUNES

Ajenjo, ajenjo del país, altamiza, altaniza, artemisia, azumate de Puebla, cola de zorrillo, ensencio de mata verde, epazote de castilla, estomiate, hierba maestra, hierba maistra, incienso, incienso verde, istafiate, estafiate, estayate (Martínez, 1979; Linares, y cols., 1988; Villaseñor, 1998; León-Avendaño y Vázquez, 2003).

**Estado de México:** ambfe, mexmitzi (otomí), istafiate (Martínez, 1979).

**Hidalgo,** iztauhyaitl (planta que produce agua blanquecina) (náhuatl) (Martínez, 1979).

**Michoacán:** iztauhyat (Martínez, 1979).

**Puebla:** kamaistra (popoloca), quietee, iztauhyatl (Martínez, 1979).

**Quintana Roo:** haway, kaway, si' isim, ts'tsim, osomiate.

**Veracruz:** xun.

**San Luís Potosí:** tsakam ten huitz, ten ts'ojol (tenek).

**Chihuahua:** ros'sabl'i (rarámuri).

**Oaxaca:** quije-tes, Quietee (zapoteco) (Martínez, 1979).

## DESCRIPCIÓN

**Hábito y forma de vida:** Hierba perenne. Tamaño: 1 a 1.5 m de alto. **Tallo:** Generalmente varios a muchos tallos a partir de una base rizomatosa, estriado (con rayas longitudinales) y anguloso, flocoso-tomentoso (con pelos largos y entrelazadas), con la edad glabro, 3-5 mm de ancho en la base. **Hojas:** Alternas, sésiles o con un pecíolo corto y ancho, de hasta 15 cm de largo, de 1-10 mm de ancho, indivisas y lineares a lanceoladas, elípticas u obovadas a divididas (sobre todo las inferiores), blanco-tomentosas en ambas caras cuando joven, margen revoluto. En la subespecie del centro de México, *A. ludoviciana* subsp. *mexicana*, la pubescencia a menudo es pronto caediza en el haz, así que las hojas maduras son bicoloras: casi blancas abajo y verde oscuro arriba. En el norte del país existen poblaciones muy pilosas en ambas caras a casi glabras. **Inflorescencia:** Una panícula o racimo folioso, 20-50 cm de alto, ramas de hasta 30 cm, las cabezuelas generalmente en ramitas secundarias, casi sésiles. **Cabezuela/flores:** Cabezuelas a



menudo péndulas. **Involucro** campanulado, sus brácteas 6 a 16, las interiores de 2 a 4 mm de largo, más o menos tomentosas por fuera; receptáculo hemisférico; **flores periféricas** 5 a 12, sus corolas angostamente cilíndricas, de 1 a 1.5 mm de largo; **flores del disco** 6 a 15, sus corolas tubulosas o con la garganta campanulada, de  $\pm$  2 mm de largo, teñidos de púrpuras, pero luego pasando a color paja. **Frutos y semillas:** Aquenios algo comprimidos, en forma de clavo o elipse, de  $\pm$  1 mm de largo, glabros, café claro, con 12 costillas. **Raíz:** a partir de rizomas, raíces con nodulación inconsistente, asociada en micorrizas. **Hábitat:** Arvense, ruderal o como parte de claros en bosques y matorrales, generalmente en lugares perturbados. **Fenología:** En el oeste de México florece entre septiembre y noviembre (McVaugh, 1984; Rzedowski y Rzedowski, 2001 y Villarreal, 2003 en URL, Perdomo-Roldán y Mondragón, 2009).

## DISTRIBUCIÓN

Es una planta americana que se distribuye desde el sur de Canadá hasta Guatemala. En México se encuentra ampliamente representada. Habita en climas cálido, semicálido, semiseco y templado. Se le cultiva fácilmente en huertos familiares, crece a orillas de caminos, en terrenos de cultivo abandonados y es común en vegetación perturbada de bosques tropicales caducifolio, subperennifolio y perennifolio, bosque espinoso, matorral xerófilo, bosque mesófilo de montaña, bosques de encino, de pino, mixto de pino-encino y de junípero. Se le encuentra desde el nivel del mar hasta los 2900 msnm. En el oeste entre los 1500 y 2300 msnm (McVaugh, 1984) y en el Valle de México se reporta hasta los 2900 msnm (Rzedowski y Rzedowski, 2001; en URL, Perdomo-Roldán y Mondragón, 2009; URL, Argueta y cols., 2009).

De acuerdo a Villaseñor y Espinoza (1998) esta planta se distribuye en México en las zonas norte y centro del país, sobre todo en el altiplano. Se le encuentra en los estados de Aguascalientes, Baja California Norte y Sur, Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas.

## ETNOBOTÁNICA

Maximino Martínez (1969 en Argueta y cols., 2009; en Linares y cols., 1988) indica que el estafiate es una planta que se emplea como aperitivo y actúa como antirreumática, analgésica, antiparasitaria y eupéptica; advierte que produce parálisis y sirve para la hipoclorhidria. Hernández (1959 en Linares y cols., 1988) menciona que su uso quita los dolores que provienen del frío o de la flatulencia, es favorable para el pecho y cura los cólicos y dolores del intestino. Luis Cabrera define al estafiate para la bronquitis, como antiespasmódico y catártico, en cólicos hepáticos por cálculos, para las congestiones hepáticas, y en dispepsia. Finalmente, la Sociedad Farmacéutica de México la describe como: antiparasitaria y eupéptica (URL, Argueta, y cols., 2009).

En la actualidad, el estafiate es utilizado a nivel nacional con múltiples usos medicinales. Es recomendado como eficaz para el tratamiento del dolor de estómago, ya sean retortijones, cólicos estomacales o intestinales, dolor e inflamación en la boca del estómago, acompañado de gases etc. Este malestar es síntoma de varias enfermedades gastrointestinales, atribuibles a un exceso en el comer, por alimentos considerados “fríos”, introducción de frío en el cuerpo, por hacer un coraje, etc. Para su alivio se usan las ramas preparadas en té, que se toma cuando hay dolor. A veces se acompaña de otras plantas como ruda (*Ruta chalepensis*), epazote de zorrillo (*Chenopodium graveolens*), manzanilla (*Matricaria recutita*) y hierbabuena (*Mentha piperita*) (URL, Argueta y cols., 2009).

El estafiate se emplea en otros padecimientos del aparato digestivo. Para diarreas, se ingiere el té solo o mezclado con otras plantas como hierbabuena (*Mentha piperita*), marrubio (*Marrubium vulgare*) y manzanilla (*Matricaria recutita*), aguacate (*Persea americana*) y guayaba (*Psidium guajava*) entre otras. Para parásitos intestinales (lombrices) se aconseja beber el té de estafiate sólo o acompañado de epazote (*Teloxys ambrosioides*), ajeno (*Artemisia absinthium*) o hierbabuena (*Mentha piperita*) en ayunas. (URL, Argueta y cols., 2009).

En bilis, coraje o muina (coraje fuerte “no desquitado” y que se manifiesta por dolor de cuerpo y estómago, frío, ojos amarillos, falta de apetito, boca amarga e insomnio) se toma el té igual que en padecimientos del hígado, ya sean dolores, inflamación o cualquier tipo de afección hepática. También se usa para la frialdad en el estómago que se caracteriza por diarrea de color blanco y dolor de estómago. Igualmente se emplea para el empacho, que es un trastorno digestivo caracterizado por hinchazón de vientre, diarrea, dolor de estómago, falta de apetito, vómito y fiebre; debido a un alimento mal digerido o por el exceso en el comer. Además se recurre al estafiate como aperitivo, para controlar el vómito, las infecciones del estómago e intestinales, la disentería, otros males de la vesícula, bilis y tos (León-Avendaño y Vázquez, 2003).

Netter (1973 en Maldonado-Almanza, 2004) reportó que el estafiate es una planta medicinal que alivia el vómito, la diarrea, el dolor de estómago, que actúa como hepatoprotector y desparasitante intestinal contra amibas *Entamoeba histolytica*, *E. coli*, *Giardia lamblia*, *Lodamoeba butschilii* y *Endolimax nana*) y contra helmintos *Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis* y *Oxiuros*).

Los ramos de estafiate son muy utilizados para las “limpias” en el tratamiento de enfermedades culturales como el mal de ojo, la caída de mollera o los malos aires entre otras. Preparada en alcohol con plantas como el albahaca (*Ocimum basilicum*) se aplica en fomentos o se dan fricciones en caso de “aire” o “mal aire” (sobre todo en niños pequeños) que se manifiesta por vómito, diarrea, decaimiento, escalofrío, ardor de cara, ojos llorosos, etc. El susto provocado por una impresión muy fuerte (una caída, ver un accidente o un animal peligroso) es más frecuente en niños y se manifiesta por falta de apetito, llanto, palidez, excremento verde, adelgazamiento, etc. En estos casos el estafiate se emplea como té, también como preparado alcohólico con otras plantas para ingerirlo o frotarlo, o como supositorio (URL, Argueta y cols., 2009).

Se utiliza en problemas menstruales, como abortivo o durante el puerperio, en baños y lavados para evitar entuertos. También se recomienda a las mujeres embarazadas para un buen apetito. Para ello, se toma un té digestivo con hierba del ángel (*Waltheria americana*), raíces de yoloxochitl (*Talauma mexicana*), tripas de tuza (*Cuphea aequipetala*) y estafiate (URL, Argueta y cols., 2009).

Asimismo, se emplea en padecimientos respiratorios: anginas, bronquitis, catarros, resfríos, tos, tos ferina y otros, ya sea en forma de gárgaras, frotado, inhalado o tomado. En Michoacán se usa contra el reumatismo frotando la parte afectada con un preparado alcohólico de hojas de estafiate, aguacate (*Persea americana*), alcanfor, aceite de oliva, campasúchil (*Tagetes erecta*), albahaca y jengibre (*Zingiber officinale*).

Son muchos los padecimientos en los que se le utiliza o las propiedades que se le atribuyen. Sirve para corregir la digestión, en dispepsia, para el estreñimiento, la gastritis, gastroenteritis e indigestión; para tratar la vesícula y la esterilidad femenina; se le utiliza en el parto, para curar heridas, granos y hemorroides; para tratar enfermedades de la circulación sanguínea, el corazón, los riñones, la diabetes, el dolor de oído, los nervios o nerviosismo; se le usa como antiespasmódico, para el dolor de cabeza, los mareos y muchos otros. (URL, Argueta y cols., 2009).

Frei y colaboradores (1998) realizaron estudios etnobotánicos entre los zapotecas de Oaxaca (Istmo-Sierra) e identificaron a *Artemisia ludoviciana* subsp. *mexicana* como una de las principales plantas para tratar desórdenes gastrointestinales y problemas hepáticos, utilizando para ello las partes aéreas de la planta en té. Los zapotecas consideran como medicinas útiles para tratar este tipo de males a las plantas que tienen un sabor amargo, como el estafiate, que es muy utilizada para tratar dolores gastrointestinales fuertes.

Heinrich y cols. (1998) identificaron a *A. ludoviciana* subsp. *mexicana* como una planta medicinal muy utilizada entre los mayas, nahuas, zapotecos y mixtecos para tratar el dolor de estómago, las infecciones gastrointestinales, los parásitos, la diarrea, disentería, los cólicos, empacho, náuseas, vómito, indigestión y aire en el estómago.

Andrade-Cetto (2009) en sus estudios de las comunidades huasteca y náhuatl de Tlalchinol, Hidalgo, observa que el estafiate es la tercera planta medicinal más mencionada para tratar, primero que nada, el dolor de estómago, luego el susto, la diarrea y el dolor de cabeza con tés elaborados con las hojas o partes aéreas de la planta.

En el Mercado Sonora se recomiendan los siguientes usos: en té para controlar la disentería, el vómito y el “aire”, combinado con el epazote de zorrillo (*Teloxys graveolens*). Para la bilis, masticada. Para las embarazadas, se recomienda se den baños con la infusión preparada con: estafiate, ruda (*Ruta chalepensis*), malva (*Malva spp.*), árnica (*Heterotheca inuloides*), tronadora (*Tecoma stans*), té de monte (*Satureja macrostema*), tatalencho (*Selloa glutinosa*), Santa María (*Chrysanthemum parthenium*), hediondilla (*Chenopodium murale*), poleo (*Cunila lythrifolia*) nogal (*Juglans sp.*), madreselva (*Lonicera caprifolium*), pingüica (*Arctostaphylos pungens*), romero (*Rosmarinus officinalis*), epazote de zorrillo (*Teloxys graveolens*), eucalipto (*Eucalyptus sp.*) y un ramo de pirú (*Schinus molle*) (Linares y cols., 1988).

También se ha registrado el uso del estafiate como pesticida. El extracto acuoso de toda la planta presenta un efecto anti-alimentario del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (URL, Perdomo-Roldán y Mondragón, 2009).

## COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA

Lee y Geissman (1970) aislaron 5 sesquiterpenos lactonas de *Artemisia ludoviciana* Nutt. subsp. *mexicana* (Willd.) Keck, que incluyen 3 nuevos santanólidos:

- ludovicina-A (III)
- ludovicina-B (VI)
- ludovicina-C (VIII)
- ludovicina-D, (componente menor en investigación)
- douglanina (I), ya conocida.

Geissman y Saitoh (1972) efectuaron la revisión del sinónimo nomenclatural *Artemisia ludoviciana* Nutt. subsp. *albula* (Woot.) Keck, consiguiendo el aislamiento de una nueva

lactona: ludalbin (8-a-acetoxidouglanina). La douglanina ha sido encontrada en *A. ludoviciana* Nutt. subsp. *mexicana*, *A. douglasiana* Bess. y en *A. mexicana* Willd.

Domínguez y Cárdenas (1975) aislaron los sesquiterpenos lactonas, deacetilmatricarin y achilín de *A. ludoviciana*. El alto rendimiento del alcanfor y del borneol en los aceites de *A. ludoviciana* tiene importancia económica y quimiotaxonómica. La presencia del 3,5-dihidroxi-6,7,8-trimetoxi flavona, un isómero del euparolin y de la eupatilina, los flavonoides citotóxicos de *Eupatorium serratum* (Kupchan, 1969 en Domínguez y Cárdenas, 1975), también resulta de interés quimiotaxonómico.

Kelsey y Shafizadeh (1979) identificaron algunos compuestos de *A. ludoviciana* subsp. *mexicana* (Willd.) Keck:

Especie	Locación	Compuestos	Referencia
<i>A. ludoviciana</i> Nutt.	Punto de la Loma, N. L., México	Deacetilmatricarin Achillin	Domínguez, 1975
<i>A. ludoviciana</i> ssp. <i>mexicana</i> (Willd.) Keck	Arizona USA	Douglanina Ludovicina-A Ludovicina-B Ludovicina-C	Lee y Geissman, 1970
<i>A. mexicana</i> Willd. (sin. <i>A. ludoviciana</i> ssp. <i>mexicana</i> (Willd.) Keck)	Cd. de México, 1960 Cd. de México, 1968 Cd. de México, 1970 Cd. de México, 1971 Nuevo Mexico, USA	Estafiatina Arglanina Douglanina Artemorina Armexina Santonina	Sánchez-Viesca, 1973 Romo, 1970 Romo, 1972 Romo, 1972 Viehoever, 1941
<i>A. mexicana</i> var. <i>angustifolia</i>	Actopan, Hgo., Méx. 1974 Actopan, Hgo., Méx. 1975	Tulipinolide Arglanina Artemexifolina Armexifolina	Romo, 1977 Romo, 1977
<i>A. neo-mexicana</i> Woot. (sin. <i>A. ludoviciana</i> ssp. <i>mexicana</i> (Willd.) Keck)	Nuevo Mexico, USA	Santonina	Viehoever, 1941

En otras selecciones de *A. mexicana*, colectadas en las mismas localidades pero en diferentes tiempos, se descubrieron 2 guaianólidos: estahatina y crisartemina-A, y 5 eudesmanólidos: arglanina, douglanina, armexina, artemexifolina y armexifolina (Romo, 1970 y 1977 en Kelsey y Shafizadeh, 1979). Casi todas las colecciones de estas especies tuvieron diferentes contenidos de lactonas. Los métodos de análisis de los autores no fueron definitivos y sus resultados no han sido confirmados en nuevas investigaciones. La santonina no ha sido aislada en ninguna colección de *Artemisia* de Norte América,

incluyendo *A. mexicana*, *A. ludoviciana* subsp. *mexicana* de Arizona y México. Así que el reporte de la santonina (Viehoever, 1941 en Kelsey y Shafizadeh, 1979), debería ser aceptado solo tentativamente hasta que los resultados sean confirmados.

Ruiz-Cancino y cols. (1993) obtuvieron del extracto dicloro metano de las partes aéreas de *Artemisia ludoviciana* subsp. *mexicana* (Willd.) Keck, los compuestos:

- douglanina
- ludovicina- A
- 3c-dihidroxiarbusculina- B
- santamarina
- arglanina
- artemorina
- crisartemina- B
- armefolina
- ridentina
- 3u-idroxireinosina (nuevo eudesmanólido)
- eupatilina (flavonoides)
- jaceosidina (flavonoides)

Las diferencias en los metabolitos secundarios aislados de esta población de *A. ludoviciana* subsp. *mexicana* en relación a otras poblaciones (Sánchez-Viezca, 1973; Romo, 1970 y 1972; Lee, 1970 en Ruíz-Cancino y cols., 1993) pueden deberse a variaciones intraespecíficas (Yoshioka, 1973 en Ruíz-Cancino, 1993) y están de acuerdo con la diversidad de constituyentes presentes en *Artemisia* (Marco, 1990 y Kesley, 1979 en Ruíz-Cancino, 1993).

*Artemisia ludoviciana* Nutt. y otras subespecies han sido investigadas químicamente por diferentes grupos (Lee, 1970; Geissman, 1970 y 1972. Manjarrez, 1964; Kupchan, 1969; Domínguez, 1973; Mabry, 1979 en Jakupovic y cols., 1991), reportando el aislamiento de eudesmanólidos, guaianólidos, monoterpenos y compuestos acetilénicos. Jakupovic y cols. (1991) volvieron a examinar las partes aéreas de esta especie. La química de *A. ludoviciana* difiere de otras citadas en investigaciones previas. En este estudio, se aislaron tres nuevos germacranólidos, guaianólidos, cuatro secoguaianólidos y un monoterpeno, además de los compuestos ya conocidos.

Como productos de la destilación hecha de las partes aéreas de *A. ludoviciana* se obtuvieron: alcanfor (52%), borneol (25%), felandreno (4x),  $\alpha$ -pineno (3%), más otros 13 constituyentes menores. De 498 g de material vegetal seco se obtuvo: 1.22 g de achillin, junto con 0.84 g de alcanfor (Jakupovic y cols., 1991).

Malagón (1997), Qui-Tang (2000) y Eelco-Wallart (1999) (en Said-Fernández y cols., 2005) hicieron referencia a algunos compuestos aislados de *A. ludoviciana*: sesquiterpenoides arteanuin-B y artemisinina.

López-Lutz y cols. (2008) realizaron un estudio sobre los aceites esenciales de especies de *Artemisia* del oeste de Canadá definiendo 110 componentes volátiles. Se identificó aproximadamente el 75% de los componentes del aceite de *A. ludoviciana*. El aceite se caracterizó por tener un alto contenido de sesquiterpenos oxigenados con fracciones 5-eteniltetrahydro-5-metil-2-furanil, de los cuales, la davanona (11.5%) fue el principal componente. Otros componentes importantes de esta planta pueden revisarse en la siguiente tabla.

Composición química del aceite esencial de *A. ludoviciana*. López-Lutz y cols., 2008.

COMPONENTE	%	COMPONENTE	%	COMPONENTE	%
1,8-cineole	22.0	β-pineno	0.4	tuja-2,4(10)-dieno	0.1
alcanfor	15.9	α-terpineno	0.4	mesitileno	0.1
davanona	11.5	óx. A artedouglasia	0.4	acetato de bornilo	0.1
éter davana (iso)	2.9	2,5-dietenil-2-metil-tetraidrofuran	0.3	óx. D artedouglasia	0.1
camfeno	2.3	isoforona	0.3	benzaldehído	t
borneol	2.3	cis. treo-davanafuran	0.3	6-metil-5-hepten-2-one	t
Terpinen-4-ol	2.2	trieno santolina	0.2	trans-piperitol	t
filifolone	1.8	limoneno	0.2	carvona	t
α-pineno	1.6	cis. arbusculone	0.2	piperitona	t
crisantemone	1.3	Para-cimen-8-ol	0.2	β-cariofileno	t
mirtenol	1.0	trans-carveol	0.2	<b>hidrocarburos</b>	
				<b>monoterpenos</b>	<b>7.6</b>
nor-davonona	1.0	davanona B	0.2	<b>monoterpenos oxigenados</b>	<b>48.8</b>
para-cimeno	0.8	hexano 3-metil-2-buten-1-ol	0.1	<b>sesquiterpenos oxigenados</b>	<b>17.8</b>
artemiseole	0.8	(2E) hexanal	0.1	<b>otros compuestos</b>	<b>0.8</b>
α-terpineol	0.7	triciclene	0.1	<b>TOTAL</b>	<b>75.0</b>
sabinene	0.6	α-tujene	0.1		

Como se ha visto, el aceite esencial del estafiate se caracteriza por la presencia de monoterpenos como el alcanfor, los alfa y beta belandrenos, limoneno, borneol, car-3-ene, alfa-pineno y el crisantemol; y los sesquiterpenos óxidos de artedouglasia A, B, C y D y la estafiatina.

Las partes aéreas de la planta contienen monoterpenos, 7-hidroxi-borneol, alcanfor y transcrisantenol, sesquiterpenos, achilín, ácido eremofil-9-l I-dien-12-oico, alfa-peróxido de tanapartín, tanapartolido B y ludovicinas A, B y C, douglanina y el ácido 8-alfa-acetóxi-iso-cóstico; flavonoides, buteín, iso-liquiritigenín, quercitina, iso-ramnetín, cumarina y dos de sus derivados además de lacarol y escopoletina. La raíz contiene el monoterpeno, cetona, dos compuestos azufrados y tres alquinos. En la flor se han detectado los sesquiterpenos antemidín y armexifolina (en URL, Perdomo-Roldán y Mondragón, 2009).

La *A. ludoviciana* var. *angustifolia* es posiblemente una variedad mexicana y ha sido estudiada sólo por investigadores de nuestro país, especialmente por su contenido de sesquiterpenos. De sus ramas se han identificado la arglanina, armexifolina, artemexifolina, armefolina, 8-alfa-acetoxi-airmexifolina, ludalvina, alfa-epoxi-ludalvina, santamarina y el tulipinólido (Herrera, 1916; Bohlmann, 1962; Manjarrez, 1964; Lee, 1970; Zetina, 1974; Alexander, 1975; Domínguez, 1975; Romo de Vivar, 1977; Epstein, 1979; Mata, 1984; Huneck, 1986; Hofer, 1988; Weywrsahl, 1988; Chemesova, 1990 en URL, Argueta, 2009).

## FARMACOLOGÍA

### a) Bioactividad antibacteriana y antifúngica.

Navarro y colaboradores (1996) seleccionaron doce extractos metanólicos de plantas utilizadas como medicinales en Morelos, México, para tratar enfermedades infecciosas, las cuales se probaron *in vitro* para detectar actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, agente etiológico en infecciones respiratorias, gastrointestinales entre otras; *Escherichia coli*, agente etiológico de diarrea, disentería, e infecciones renales; *Pseudomona aeruginosa*, agente en infecciones en vías urinarias; y *Candida albicans*, causante de candidiasis en genitales, vías respiratorias, boca y piel. Todos los extractos probados mostraron actividad antimicrobiana contra *S. aureus*, diez contra *E. coli*, ocho contra *P. aeruginosa* y nueve mostraron actividad fungicida contra *C. albicans*. Sólo cuatro extractos mostraron un efecto antimicrobiano amplio contra todos los microorganismos probados, estos fueron los extractos de: *Eucalyptus globulus*, *Punica granatum*, *Artemisa ludoviciana* subsp. *mexicana*, *Bocconia arborea* a concentraciones mínimas inhibitorias (MICs)  $\leq 10$  mg/ml. Otras dos: *Equisetum hyemale* y *Serjania triquetra* mostraron una respuesta moderada y específica contra *S. aureus*. Se muestra a continuación una tabla con las actividades antimicrobianas de estas plantas (MIC mg/ml):

ESPECIE	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
<i>E. globulus</i>	5.0	10.0	10.0	1.25
<i>P. granatum</i>	0.6	10.0	10.0	2.5
<b><i>A. ludoviciana mexicana</i></b>	<b>5.0</b>	<b>10.0</b>	<b>10.0</b>	<b>10.0</b>
<i>B. arborea</i>	0.6	10.0	10.0	2.5
gentamicina	0.004	0.01	0.01	
nistatina				0.008



Puede observarse que *A. ludoviciana mexicana* muestra actividad antimicrobiana en un amplio espectro, ya que actúa sobre los 4 microorganismos del ensayo. Es necesario notar que los extractos de las otras 3 plantas de la tabla muestran mayor actividad contra *S. aureus* y contra *C. albicans* que *A. ludoviciana mexicana*.

En el ensayo *in vitro* de Alanís y colaboradores (2005) se probó la actividad antibacteriana de 56 extractos acuosos y metanólicos crudos de 26 plantas contra 7 cepas bacterianas, que son causa común de diarrea y disentería en México (Torres y cols., 1995 en Alanís y cols., 2005). Los microorganismos utilizados fueron: dos cepas de *Escherichia coli*, dos de *Shigella sonnei*, dos de *Shigella flexneri* y dos cepas de *Salmonella sp.* Los resultados mostraron que todos los extractos exhibieron actividad antibacteriana, al menos contra un microorganismo, a concentraciones de 8 mg/mL o menos. Los extractos de *Caesalpinia pulcherrima*, *Chiranthodendron pentadactylon*, *Cocos nucifera*, *Geranium mexicanum*, *Hippocratea excelsa*, y *Punica granatum* manifestaron las actividades más fuertes. En general, los extractos metanólicos resultaron ser más activos que los acuosos. Todos los principales extractos mostraron una actividad inhibitoria más importante que el cloranfenicol, pero no siempre mejor que la de la trimetoprina, ambas son las drogas utilizadas como referencia. Las cepas de *Shigella sonnei* mostraron la sensibilidad más alta a ambos extractos. Si bien *Artemisia ludoviciana* mostró actividad inhibidora del crecimiento en todas las bacterias sujetas a estudio, sus porcentajes no la sitúan entre las más activas. El porcentaje de inhibición de su extracto metanólico más alto fue 63.6% para *Shigella flexneri*-2, y el más bajo de 12.5% para *Salmonella sp.*-2. Los extractos acuosos solo mostraron actividad inhibitoria contra 4 bacterias: *Escherichia coli* (20%, el más alto), *Shigella sonnei*-1, *Shigella flexneri*-1, *Salmonella sp.*-1 (3.7%, el más bajo).

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa, crónica y muchas veces letal para los seres humanos. Su agente etiológico es la bacteria gram(+) *Mycobacterium tuberculosis*. La resistencia creada por este microorganismo hacia los antibióticos actuales, provoca la necesidad de crear nuevos para contrarrestar dicho efecto. En el trabajo reportado por Molina-Salinas y colaboradores (2006) se buscaba probar la actividad antibacteriana de extractos acuosos crudos, metanólicos, acetónicos y con hexano de las partes aéreas de 5 plantas utilizadas para tratar enfermedades respiratorias: *Artemisia ludoviciana*, *Chenopodium ambrosioides*, *Marrubium vulgare*, *Mentha spicata* y *Flourensia cernua*, sobre *M. tuberculosis*, utilizando para ello dos cepas, una sensible al tratamiento convencional y la otra resistente a estreptomycin, isoniazida, rifampin, etambutol y pirazinamida. *F. cernua* fue la única planta que mostró actividad. Sus extractos acetónicos y hexánicos no solo inhiben el crecimiento sino que matan a *M. tuberculosis*. El extracto hexánico presentó una MIC de 50 y 25 µg/mL para las cepas sensible y resistente, respectivamente. El extracto acetónico resultó activo sólo contra la cepa resistente (MIC =100 µg/mL). La mejor actividad registrada para *A. mexicana* se obtuvo con el extracto hexánico de sus hojas y tallos (MIC = 200 µg/mL), que a la luz de las MICs reportadas por los medicamentos antituberculosos, este extracto se reporta como inactivo para la inhibición de *M. tuberculosis*.

Los resultados obtenidos con los extractos acuosos concuerdan con los resultados conseguidos por Jiménez-Arellanes (2003 en Molina-Salinas y cols., 2006) quién no encontró actividad anti-micobactericida en 22 extractos acuosos, pero sí en 6 extractos con hexano y 2 metanólicos de 21 plantas medicinales mexicanas, sugiriendo que los extractos acuosos no son aceptables para obtener principios anti-micobacteriales de plantas.

La cepa resistente a todos los medicamentos antituberculosos de primera línea fue doblemente susceptible al extracto hexano de las hojas de *F. cernua* lo que puede significar que contiene más de un compuesto antituberculoso y que el mecanismo de acción difiere del mecanismo conocido para las drogas. El extracto hexano de *F. cernua* mostró actividad anti-micobactericida 4 veces mayor que la actividad mostrada por la estreptomicina o el rifampin contra una cepa resistente de *M. tuberculosis*.

Como ya se mencionó, las enfermedades diarreicas son una de las causas más comunes de morbilidad y mortalidad en muchos países en desarrollo (Guerrant, 1985; Amstrong y Cohen, 1999 en Velázquez y cols., 2006) y con frecuencia son ocasionadas por enterotoxinas producidas por bacterias como *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Clostridium difficile*, *Clostridium freundii*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni* y *Vibrio cholerae*. Las enterotoxinas afectan las funciones del enterocito al estimular la secreción de electrolitos trans-epiteliales, incrementando el flujo osmótico de iones y agua al lumen intestinal. Específicamente las enterotoxinas de *E. coli*, tanto la lábil como la estable al calor, y las de *V. cholerae* y *C. jejuni* incrementan la secreción de fluido neto afectando a las enzimas adenilil ciclase o la guanilil ciclase en la mucosa intestinal (Guerrant, 1985; Torres y cols., 1993; Mutschler y cols., 1995; Hör y cols., 1995; Torregosa y cols., 1996; Raufman, 1998; Amstrong y Cohen, 1999 en Velázquez y cols., 2006). Velázquez y su grupo probaron 56 extractos crudos, acuosos y metanólicos, obtenidos de plantas medicinales mexicanas utilizadas en el tratamiento de enfermedades gastrointestinales. Las pruebas se realizaron con dosis orales de 300 mg/kg, a la cual muchos extractos mostraron actividad antisecretora. Esta actividad se probó empleando el modelo *in vivo* de secreción intestinal inducida por **toxinas de cólera** en las asas del yeyuno de rata. Se encontró que ambos extractos de *Chiranthodendron pentadactylon*, *Hippocratea excelsa* y *Ocimum basilicum* fueron los más potentes con rangos de inhibición de 68.0 al 87.6%. El extracto metanólico de *Geranium mexicanum* y el extracto acuoso de *Bocconia frutescens* mostraron la actividad más alta con inhibiciones del 93.4 y 86.0%, respectivamente.

Trece de las plantas examinadas mostraron actividad antisecretora, en por lo menos un tipo de extracto, incluso mejor que la loperamida (43.3% de inhibición), uno de los medicamentos utilizados para tratar a la diarrea. *A. mexicana* tuvo resultados de inhibición de la actividad secretora de 5.7% para el extracto metanólico y de 15% para el extracto acuoso. Algunas de las plantas que presentaron actividad antisecretora también muestran actividades antibacterianas o antiprotozoarias, como *Ch. pentadactylon* o *G. mexicanum*

(Lara, 1996; Alanís, 2003; Calzada, 2005 en Velázquez y cols., 2006). Estos efectos juntos confieren a la planta una mayor eficiencia como tratamiento contra la diarrea.

López-Lutz y colaboradores (2008) realizaron un estudio sobre los aceites esenciales de especies de *Artemisia* del oeste de Canadá, entre las que se encuentra *A. ludoviciana*, para describir sus actividades antimicrobianas y antioxidantes. Con relación a la actividad antimicrobiana de los aceites de *Artemisia* se observó que existe un amplio rango de inhibición contra los microorganismos probados (bacterias y hongos) para los cuales todos los aceites esenciales exhibieron actividad. Cabe señalar que *Escherichia coli* y *Candida albicans* mostraron menos susceptibilidad a los aceites esenciales. El aceite de *A. biennis* fue el más activo contra dermatofitos como *Cryptococcus neoformans*, *Fonsecaea pedrosoi* y *Aspergillus niger*, mientras que el aceite de *A. abisinthium* fue el más activo contra las cepas de *Staphilococcus*. Los monoterpenos como 1,8-cineole, alcanfor, terpinen-4-ol,  $\alpha$ -terpineol y borneol, son componentes representativos en muchos aceites que han reportado actividad antimicrobiana (Pattnaik y cols., 1997; Carson y Riley, 1995 en López-Lutz y cols., 2008), todos ellos presentes en *A. ludoviciana*. Los aceites de otras especies de *Artemisia*, ricos en alcanfor y 1,8-cineole, fueron previamente probados y resultaron ser poseedores de una potente actividad antimicrobiana *in vitro* (Kordali y cols., 2005a,b en López-Lutz y cols., 2008). También se ha demostrado que los (Z) y (E)-en-indicicloéteres exhibieron actividad antifúngica (Breinlich y Scharnagel, 1968 en López-Lutz y cols., 2008). Se encontró que *A. ludoviciana* presentó una mayor actividad antifúngica que antibacterial, principalmente frente a hongos dermatofitos, estos valores fueron de los más altos entre las especies de *Artemisia* probadas. La actividad más baja la presentó frente a *E. coli*, aunque en este renglón también registró los valores más altos, en relación con las otras especies de *Artemisia*. Comparando a *A. ludoviciana* con las drogas de referencia, ésta mostró valores de inhibición más altos que la meticilina contra *Staphylococcus aureus* y el doble que la amfotericina B contra el dermatofito *Trichophyton rubrum*. Contra los dermatofitos *Microsporum gypseum* y *M. canis* también demostró una mayor actividad que la amfotericina B y casi igual que éste contra *Aspergillus niger*. Resulta complicado definir el o los componentes responsables de la actividad bacteriana o antifúngica, ya que deben considerarse posibles efectos sinérgicos y antagónicos entre los compuestos.

*Helicobacter pylori* es el mayor agente etiológico de la gastritis crónica y de la úlcera péptica, y es una bacteria relacionada con el carcinoma gástrico. El trabajo de Castillo-Juárez y colaboradores (2009) evaluó *in vitro* la actividad bactericida contra esta bacteria Gram(-) de 53 plantas mexicanas utilizadas en el tratamiento de desórdenes gastrointestinales. Los extractos acuosos de *Artemisia ludoviciana* subsp. *mexicana*, *Cuphea aequipetala*, y *Ludwigia repens* mostraron el efecto inhibitorio más alto contra *H. pylori* (MIC 125  $\mu$ g/ml); en contraste, sus extractos metanólicos mostraron poca actividad. Entre los extractos metanólicos más efectivos se encuentran *Persea americana*, *Annona cherimola*, *Guaiaecum coulteri* y *Moussonia deppeana* (MIC <7.5, <15.6,  $\leq$ 15.6, y 15.6  $\mu$ g/ml, respectivamente). Comparado con la amoxicilina (referencia), los extractos más activos en la inhibición de esta bacteria lo hacen a concentraciones mucho más altas. Comparando con el metronidazol (referencia), los extractos metanólicos con MIC  $\leq$

250µg/ml resultaron ser mejores. Este es el caso para el extracto metanólico de *A. ludoviciana* subsp. *mexicana* (MIC = 250µg/ml), aunque se encuentra muy por debajo de la actividad mostrada por los extractos metanólicos más efectivos. Es importante señalar que los ensayos se elaboraron con extractos y no con compuestos activos. Este trabajo establece pautas para aislar y probar compuestos activos de las plantas más prometedoras como inhibidoras de *H. pylori*.

## b) Bioactividad antiprotozoarios

En el noreste de México se utiliza la infusión de hojas de *A. ludoviciana* para tratar la diarrea. Said-Fernández y colaboradores (2005) probaron los extractos acuoso, metanólico, acetónico y hexánico de las hojas de plantas maduras, encontrando una actividad desparasitante *in vitro* hacia los protozoarios ***Entamoeba histolytica*** y ***Giardia lamblia***. Los extractos acetónicos (IC<sub>50</sub> =117.2 µg/ml), y hexánicos (IC<sub>50</sub> =122 µg/ml) de *A. ludoviciana* exhibieron la mayor actividad contra *E. histolytica*. El extracto hexánico lo hace también contra *G. lamblia* (IC<sub>50</sub> =137.4 µg/ml). Se señala que ninguna de las concentraciones inhibidoras es cercana a las del metronidazol: IC<sub>50</sub> = 0.13 µg/ml para *E. histolytica* y para *G. lamblia* un IC = 0.22 µg/ml, respectivamente), que es la droga común para el tratamiento de estas parasitosis del intestino humano. Se concluye que *A. ludoviciana* sí muestra actividad antiparasitaria contra estos protozoarios.

El metronidazol es el medicamento más utilizado para tratar infecciones gastrointestinales causadas por los protozoarios ***Entamoeba histolytica*** y ***Giardia lamblia***. Sin embargo, existen reportes sobre efectos secundarios indeseables como su sabor metálico, dolor de cabeza, boca seca, náuseas, prurito e incluso, algunos efectos carcinogénicos, teratogénicos y embriogénicos (Upcroft y cols., 1999 y 2001 en Calzada y cols., 2006). Por lo que se hace necesaria la búsqueda de nuevas drogas que sean altamente efectivas, con baja toxicidad y más baratas. Con este propósito, Calzada y colaboradores (2006) examinaron el potencial antiprotozoario de 26 plantas con propiedades anti-diarreicas y contra la disentería. Se evaluó la actividad de sus extractos metanólicos crudos contra los trofozoítos de *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia*. Las especies que mostraron una actividad antiprotozoaria significativa fueron; *Chiranthodendron pentadactylon*, *Annona cherimola* y *Punica granatum*, que fueron las más efectivas contra *E. histolytica* (IC<sub>50</sub> <30µg/ml). *Dorstenia contrajerva*, *Senna villosa* y *Ruta chalepensis*, que resultaron las más efectivas contra *G. lamblia* (IC<sub>50</sub> <38µg/ml). El potencial de *Ch. pentadactylon* (IC<sub>50</sub> 2.5µg/ml) sobre *E. histolytica* fue cercano al mostrado por la emetina, pero más alejada del metronidazol, ambas drogas utilizadas para el control de estos protozoarios. El extracto metanólico de las partes aéreas de *Artemisia ludoviciana* mostró una actividad moderada para ambos protozoarios, con un IC<sub>50</sub> = 82,2 µg/ml para *E. histolytica* y de IC<sub>50</sub> = 95.1 µg/ml para *G. lamblia*. *A. ludoviciana* ha mostrado que inhibe la reproducción de *Plasmodium yoelii* en ratón. Algunos extractos de las hojas han mostrado un efecto *in vitro* contra los trofozoítos de *G. lamblia* y de *E. histolytica* (Malangón y cols., 1997; Said y cols., 2005 en Calzada y cols., 2006).

### c) Bioactividad antioxidante

La actividad antioxidante de los aceites de *Artemisia* se determinó con base en la **actividad de barrido de radicales libres de DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) y en la inhibición de la oxidación del complejo del ácido linoleico y  $\beta$ -caroteno**. El aceite esencial de *Artemisia* mostró una débil actividad antioxidante en la prevención de la oxidación del ácido linoleico y para reducir los radicales DPPH. Aún así, *A. ludoviciana* presentó, dentro de las plantas de esta revisión, el valor más alto para la actividad antioxidante (22%) y el segundo más alto en la actividad de barrido de radicales DPPH, con un 12%. En contraste, el orégano registró valores de 72% y 66%, respectivamente y el BHT (butilhidroxitolueno) mostró valores de 98% y 96%. Los compuestos fenólicos como el timol y el carvacrol, ambos presentes en el aceite esencial de orégano mostraron actividades potentes como antioxidantes y en el barrido de radicales DPPH (Ruberto y Baratta, 2000 en López-Lutz y cols., 2008). Los aceites de *Artemisia* son marcadamente ricos en componentes no fenólicos y resultan interesantes desde el punto de vista farmacéutico, debido a sus propiedades antifúngicas contra dermatofitos.

## TOXICIDAD, CITOTOXICIDAD Y GENOTOXICIDAD

Los sesquiterpenos lactonas, compuestos característicos de la familia Asteraceae, son compuestos químicos amargos que contienen lactonas insaturadas como importante elemento estructural. En estudios recientes se ha mostrado que estas sustancias están asociadas con actividades anti-tumorales, citotóxicas (Hartwell, 1969 en Rodríguez, 1976), antimicrobianas (Mitscher, 1975; Mathur, 1975 en Rodríguez y cols., 1976) y fitotóxicas, como inhibidoras del crecimiento de las plantas (Gross, 1975 en Rodríguez y cols., 1976).

Se encontró que todos los sesquiterpenos citotóxicos conocidos contenían una función lactona; todos menos uno de ellos que era  $\alpha$ -insaturado, y donde la unión  $\alpha$ -etilénica era exocíclica en todos los casos. En estudios posteriores de la relación entre la estructura y la función entre los sesquiterpenos lactona (Kupchan, 1971 en Rodríguez, 1976) se advirtió que la presencia de un C11-C12 doble enlace exocíclico conjugado con la  $\gamma$ -lactona era esencial para la citotoxicidad. Aún más, los sesquiterpenos lactonas que incorporaron una ciclopentanona o una  $\alpha$ -metileno lactona (además de  $\alpha,\beta$ -metileno- $\gamma$ -lactona) parecían producir una citotoxicidad incrementada. Ningún sesquiterpeno monofuncional, conteniendo solo un éster  $\alpha,\beta$ -insaturado o una ciclopentanona, desplegó una actividad significativa (Kupchan, 1971 y 1975; Watson, 1975 en Rodríguez y cols., 1976). Los sesquiterpenos lactonas son constituyentes comunes de muchos géneros de Asteraceae, con la excepción del grupo avanzado de Tageteae (Renold, 1970 en Rodríguez y cols., 1976). En el género *Artemisia* el contenido de sesquiterpenos lactonas varía

estacionalmente (Kelsey, 1973 en Rodríguez y cols., 1976). Las lactonas raramente se encuentran en tallos y raíces.

De acuerdo a Rodríguez y colaboradores (1976) algunos sesquiterpenos lactonas de *Artemisia ludoviciana* que exhiben una actividad antitumoral son:

Un germacranólido, la ridentina (Lee, 1971 en Rodríguez y cols., 1976), fue probada en el carcinoma de Walker 256 de ratas ascíticas y en el carcinoma epidermoide de laringe humana.

Los eudesmanólidos  $\alpha$ -santonina, vulgarina y la ludovicina (Lee, 1971 en Rodríguez y cols., 1976) fueron probados en los siguientes sistemas tumorales: Carcinoma de Walker 256 de ratas ascíticas, en carcinoma epidermoide de laringe humana y en células de origen humano 40-transformadas con virus de simio.

Mitchell (1971 en Rodríguez y cols., 1976) reportó que las especies de *Artemisia* pueden generar dermatitis alérgica al contacto en humanos. También sugirió que pudieran inhibir el crecimiento lateral de raíz y estimular la respiración en *Cucumis sativus* si contienen las siguientes lactonas: Achillin, desacetoximatricarin, viscidulin-B y -C y arbusculin-A. (McCahon, 1973 en Rodríguez y cols., 1976). Cabe señalar que *A. mexicana* contiene las dos primeras.

Por otra parte, Martínez (1991 en URL, Argueta y cols., 2009) indicó que el extracto hidroalcohólico de *Artemisia mexicana* no es tóxico y que no ejerce ninguna otra influencia general o local.

En el trabajo que realizaron Pérez-Pacheco y colaboradores (2004) se planteó el objetivo de determinar el efecto tóxico de extractos acuosos y acetónicos de 39 plantas colectadas en la región de los Valles Centrales de Oaxaca, México, y de algunos aceites y esencias vegetales sobre larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus* en ensayos de laboratorio. La mortalidad en larvas de cuarto estadio del mosquito *Cx. quinquefasciatus*, ocasionada por los extractos acuosos elaborados con toda la planta de *Artemisia mexicana* al 5 y 15%, resultó negativa.

Cano y colaboradores (2008) realizaron evaluaciones citotóxicas de las bio-transformaciones de la arglanina y ridentina de las partes aéreas de *Artemisia ludoviciana* spp. *mexicana*, mediante el empleo de los hongos filamentosos *Cunninghamella blackesleeana* y *Curvularia lunata*. La arglanina resultó tener una actividad antiproliferativa de células cultivadas de cáncer cérvico-uterino en las líneas celulares Caski (IC50= 4.1  $\mu$ g/ml), Calo (IC50= 5.24  $\mu$ g/ml), Vibo (IC50= 9.2  $\mu$ g/ml).

## CONCLUSIONES

*Artemisia ludoviciana* subsp. *mexicana*, el estafiate, es una planta medicinal muy reconocida en México por sus propiedades curativas, sobre todo aquellas relacionadas con las infecciones gastrointestinales. Se indica primordialmente para casos de diarrea y disentería, contra el dolor de estómago inespecífico y como digestivo, entre muchas otras acciones de muy amplio espectro sobre las cuales existe un gran conocimiento etnobotánico. Asimismo, el estafiate es una planta con una extensa distribución en nuestro país e incluso, dado su fácil cultivo, es común encontrarla en los huertos familiares. Muchos de los estudios realizados sobre ella son de carácter químico, por lo que sus compuestos han sido aislados varias veces y sometidos a discusión debido a la diversidad de los resultados. Tal vez estas diferencias se deban a variaciones intraespecíficas, incluso geográficas, estacionales o de ciclo circadiano. Incluso pudiera ser que las variaciones registradas en los listados de constituyentes de esta planta se deban a procesos que tienen que ver con el aislamiento de las poblaciones, lo que sugiere un proceso de subespeciación a largo plazo. Entre los principales componentes del aceite esencial de esta planta se encuentran una enorme cantidad de monoterpenos (47.8%) y sesquiterpenos oxigenados (17.8%).

La principal fuente de información farmacológica de la planta está conformada por bioensayos que buscan probar la actividad de los extractos del estafiate sobre diferentes organismos. Generalmente, estos ensayos se realizan para un grupo de plantas medicinales, sólo muy pocos son específicos para *Artemisia ludoviciana* subsp. *mexicana* o sus sinónimos nomenclaturales. La mayor cantidad de ensayos realizados están enfocados a microorganismos como bacterias y hongos, entre ellos: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Mycobacterium tuberculosis*, *Clostridium difficile*, *Vibrio cholerae*, *Helicobacter pylori*, *Candida albicans*, *Microsporium gypseum*, entre otras. Estos organismos son responsables de infecciones básicamente gastrointestinales, luego infecciones respiratorias, de la piel y aparato reproductor de la mujer. Todas ellas dentro del espectro de tratamiento definido para el estafiate dentro de la medicina tradicional mexicana. Puede decirse que *A. ludoviciana* spp. *mexicana* siempre presentó actividad contra bacterias y hongos que debe evaluarse como de baja a moderada. Esta planta demostró tener mayor actividad antifúngica que antibacterial.

Otro grupo de bioensayos importante es el que se realiza con extractos de la planta para probar su actividad antiprotozoaria, especialmente contra *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia*. La actividad inhibitoria resultante contra estos organismos fue moderada, siendo mayor para *G. lamblia* que para *E. histolytica*. Por último se encuentra un bioensayo destinado a probar la actividad antioxidante del aceite esencial de *A. ludoviciana*, la cual fue débil.

Puede observarse que si bien la actividad general del estafiate fue a lo mucho regular ante la mayoría de organismos probados, ésta siempre estuvo presente. Se tendría que

considerar que la generalidad de los ensayos que se realizaron se hicieron sobre extractos, no con compuestos puros, los cuales podrían ofrecer una mayor actividad, puesto que el estafiate contiene algunos de los compuestos reportados previamente con actividad antimicrobiana como: 1,8-cineole, alcanfor y borneol; incluso antihelmínticas como las santodinas. Por último, habría que considerar posibles efectos sinérgicos, que pudieran explicar el extenso uso que se da a esta planta en la medicina tradicional; o antagonicos, que tal vez expliquen por qué los extractos no muestran actividades más potentes.

La evidencia etnobotánica y la escasa evidencia toxicológica, sugieren que el uso *A. ludoviciana* subsp. *mexicana* en las dosis sugeridas por la etnomedicina no resulta tóxico para los humanos. Excepto quizá por alguna leve reacción dermatológica al contacto. Información citotóxica y genotóxica sobre el estafiate en particular es casi nula. Se han realizado algunas investigaciones sobre la actividad antitumoral de algunos compuestos que son importantes en *A. ludoviciana* subsp. *mexicana*, como los sesquiterpenos lactonas, y se ha registrado evidencia *in vitro* de que efectivamente el estafiate posee en cierto grado este tipo de actividad, al actuar como inhibidor de la proliferación de células cultivadas de cáncer cérvico-uterino en ratas, y mostrar actividad sobre el carcinoma de Walker 256 en ratas ascíticas y en el carcinoma epidermoide de laringe humana. Los compuestos encontrados con actividad antitumoral son: arglanina, ridentina,  $\alpha$ -santonina, vulgarina y ludovicina.

Aún así, los estudios realizados hasta el momento son insuficientes para puntualizar la actividad biológica del estafiate y sus componentes. Sin embargo, sí proporcionan cierto sustento científico al uso medicinal que se le da al estafiate en nuestro país.



## Ficha Informativa

### ***Dysphania graveolens* (Willd.) Mosyakin & Clemants, 2003 (Amaranthaceae).**

**Sinónimos Nomenclaturales:** *Chenopodium graveolens* (Willd.), 1809.  
*Teloxys graveolens* (Willd.) W. A. Weber, 1985

**Nombres Comunes:** Epazote de Zorrillo, del Toro o del Coyote; Epazótl, Ipazote, Hediondillo, Hierba del Perro o del Zorrillo; Quelite Apestoso, Hediondo o del Zorrillo, Yepazote.

**Usos medicinales tradicionales en México:** Para infecciones gastrointestinales. dolor de estómago, diarrea, disentería, empacho, retortijones, vómito. Como té (partes aéreas) puede acompañarse de ruda (*Ruta chalepensis*), epazote de zorrillo (*Chenopodium graveolens*), manzanilla (*Matricaria recutita*) y hierbabuena (*Mentha piperita*). Para parásitos intestinales (amibas, giardia y áscaris) en té con epazote (*Teloxys ambrosioides*), ajenjo (*Artemisia absinthium*) o hierbabuena (*Mentha piperita*). Para dolor e inflamación del hígado y como hepatoprotector. Para enfermedades circulatorias, del corazón, riñones, diabetes, dolor de oído y de cabeza, nervios, mareos. Para cólicos menstruales, como abortivo o en baños para evitar entuertos Para padecimientos respiratorios: anginas, bronquitis, catarros, y tos en gárgaras, frotado, inhalado o en té. Para el reumatismo, frotando un preparado alcohólico con aguacate (*Persea americana*), alcanfor, aceite de oliva, cempasúchil (*Tagetes erecta*), albahaca y jengibre (*Zingiber officinale*).

**Descripción Botánica:** Planta anual erguida, glandulosa. De 20 a 80 cm de alto. Tallo simple o ramificado, a veces rojizo y con rayas a lo largo. Hojas ovadas u oblongas, de 2 a 6 cm de largo, sinuado-pinatífidas, con los lóbulos oblongos o deltoides, sin pelos o con una cubierta pegajosa en el haz, con glándulas amarillas en el envés; pecíolo delgado. Inflorescencia flojamente dicótoma, de numerosas cimas axilares en largas panículas, con flores sésiles y pediceladas. Flores estériles en la bifurcación de las ramas laterales y una sola terminal en el extremo de cada rama lateral, flores pediceladas generalmente abortivas, caedizas, pedicelos espiciformes; perianto con una estructura en forma de cuerno en el ápice de los lóbulos, cubierto de glándulas, que envuelve incompletamente al fruto, pequeño con pared delgada; semilla horizontal, de color café oscuro o negro y con el pericarpio adherente. Hipocótilo cilíndrico, de hasta 22 mm; cotiledones de lámina aovada a elíptica de 2 a 4 mm de largo y 1.3 a 2 mm de ancho, sin

pelos; epicótilo de 1.5 a 9 mm de largo, cuadrangular. Muy olorosa. Florece de junio a noviembre y fructifica de agosto a diciembre. Arvense y ruderal. Común en vegetación perturbada de matorral xerófilo, pastizal y bosques mesófilo de montaña, de encino, de pino, de pino-encino y de junípero. Se distribuye desde los Estados Unidos hasta Argentina. En México se encuentra en regiones de cálidas a templadas Su distribución altitudinal va desde los 20 y hasta los 3,000 msnm.

**Compuestos Activos:** Melilotósido (giardicida, amebicida). Flavonoides: narcisina (amebicida), pinocembrina (antimicrobiano, anti-inflamatorio, antioxidante, antiapoptótico, neuroprotector), crisina (citotóxica en células de melanoma cultivadas), rutina (anticarcinogénico, pro-oxidante, genotóxico). Flavonoles: camferol y quercitina (mutagénicos-carcinogénicos, pro-oxidantes).

**Toxicidad:** Relacionada al contenido de ascaridol en el aceite esencial que en altas dosis puede ser mortal (dosis letal en humanos adultos: 1,000 mg).

## 6.2. *Dysphania graveolens* (Willd.) Mosyakin & Clemants, 2003

### CLASIFICACIÓN

(Tropicos.org, MBG, 2010)

Plantae  
 Magnoliophyta  
 Magnoliopsida  
 Caryophyllales  
 Amaranthaceae  
***Dysphania***  
***graveolens***



Foto. P. Tenorio Lezama

### SINÓNIMOS TAXONÓMICOS Y NOMENCLATURALES

(Tropicos.org., MBG, 2010; Rzedowski y Rzedowski, 2001)

*Chenopodium graveolens* (Willd.), 1809

*Chenopodium incisum* Poir., 1810

*Teloxys graveolens* (Willd.) W. A. Weber, 1985

*Chenopodium ambrosioides* var. *graveolens*  
 (Willd.) Speg., 1997

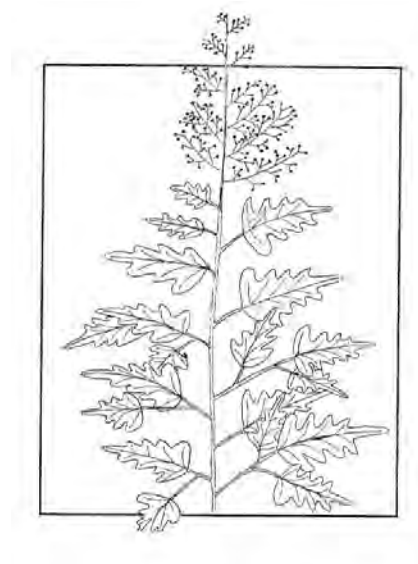


Fig. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, UNAM

## NOMBRES COMUNES

**Epazote de Zorrillo, Epazote del Toro, Epazótl, Ipazote** (Martínez, 1969 en Linares y cols., 1988).

**Epazote del Coyote** (Tuxtepec, Oax.) (Martínez, 1994).

**Hediondillo, Hierba del Perro** (Mercado de Sonora, D.F.) (Linares y cols., 1988).

**Hierba del Zorrillo, Jui-ye-quee** (Chontal), **Quelite Apestoso, Quelite Hediondo, Quelite del Zorrillo, Shoñoi** (otomí), **Yepazote del Toro** (Martínez, 1979 en URL, Mondragón-Pichardo, 2009).

## DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA

**Hábito y forma de vida:** Planta anual erguida, glandulosa. **Tamaño:** De 20 a 80 cm de alto. **Tallo:** Simple o ramificado, a veces rojizo y con rayas a todo largo. **Hojas:** Ovadas u oblongas, de 2 a 6 cm de largo por 1 a 3 cm de ancho, sinuado-pinatífidas, con los lóbulos oblongos o deltoides, sin pelos o con una cubierta pegajosa (vísidas) en el haz, cubierta de glándulas amarillas en el envés; pecíolo delgado. **Inflorescencia:** Flojamente dicótoma, de numerosas cimas axilares, dispuestas en largas panículas, con flores sésiles y pediceladas. **Flores:** Estériles en la bifurcación de las ramas laterales y una sola terminal en el extremo de cada una de las ramas laterales, flores pediceladas generalmente abortivas, caedizas, sus pedicelos espiciformes; perianto de menos de 1 mm de largo, con una estructura en forma de cuerno (cornículo) en el ápice de los lóbulos, cubierto de glándulas. **Frutos y semillas:** El perianto envuelve incompletamente el fruto (un utrículo), el cual es pequeño con pared delgada, de alrededor de 0.10 cm de diámetro; semilla horizontal de 0.5 mm de diámetro, de color café oscuro o negro y con el pericarpio adherente. **Plántulas:** Hipocótilo cilíndrico, de hasta 22 mm; cotiledones de lámina aovada a elíptica de 2 a 4 mm de largo y 1.3 a 2 mm de ancho, sin pelos; epicótilo de 1.5 a 9 mm de largo, cuadrangular; hojas opuestas (Espinosa y Sarukhán, 1997) **Características especiales:** Muy olorosa. **Fenología:** Se encuentra en estado vegetativo de abril a agosto, floreciendo de junio a noviembre y fructificando de agosto a diciembre. **Hábitat:** arvense y ruderal. Es una maleza común en vegetación perturbada de matorral xerófilo, pastizal y bosques mesófilo de montaña, de encino, de pino, de pino-encino y de junípero (Rzedowski y Rzedowski, 2001 en URL, Mondragón-Picardo, 2009; en URL, Argueta y cols., 2009).

## DISTRIBUCIÓN

Planta americana que se encuentra desde Estados Unidos hasta Argentina. En México se distribuye en regiones de cálidas a templadas (Linares y cols., 1988), principalmente en los estados de Aguascalientes, Baja California Norte y Sur, Chiapas, Chihuahua, Coahuila, D. F., Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas. (Villaseñor y Espinosa, 1998). Su distribución altitudinal es muy amplia, se le localiza desde los 20 msnm y hasta los 3,000 msnm (Valle de México) (URL, Mondragón-Pichardo, 2009; URL, Argueta y cols., 2009).

## ETNOBOTÁNICA

A finales del siglo XIX, en la obra “Datos para la Materia Médica Mexicana” (1894-1900), se considera al epazote del zorrillo como digestivo, emenagogo, antihelmíntico, sudorífico y diurético. Alfonso Herrera (1921) refirió el uso de esta planta por el vulgo como digestiva, emenagoga, antihelmíntica y tomada en infusión teiforme, como sudorífico y diurético. Maximino Martínez (1969 en Linares y cols., 1988; en URL, Argueta y cols. 2009 y en URL, Mondragón-Pichardo, 2009) relató que se usa como antiparasitario y como agua de tiempo contra el aire, la tos, el dolor de costado por causa fría, espanto y como eupéptico. El cocimiento de las hojas y de las inflorescencias mata los gusanos intestinales (helmintos). Para este efecto también se pueden tomar de 10 a 20 gotas de la esencia o en cápsulas (Martínez, 1958).

Actualmente, en el Distrito Federal, Estado de México, Puebla, Tlaxcala y Veracruz, el uso principal que se le da es para el dolor de estómago causado principalmente por no comer a la hora adecuada, indigestión, empacho y por quedar el estómago meteorizado (aventado) por frío, por cargar cosas pesadas o para las mujeres que presentan “retortijones” después de parir. En cualquiera de estos casos se recomienda un cocimiento del epazote de zorrillo con hierba dulce (*Phylla scaberrima*), gobernadora (*Lantana camara*), estafiate (*Artemisia ludoviciana* var. mexicana), saúco (*Sambucus mexicana*), techomite (*Hamelia patens*), ruda (*Ruta chalepensis*), kahtibe (*Trichilia havanensis*), tomate (*Physalis aequata*) y koni potei (*Tibouchina mexicana*) o bien en una infusión con hierba dulce, gobernadora, estafiate, saúco y mano de tigre (*Geranium seemannii*); en ambos casos el cocimiento se bebe como agua de tiempo. Otros usos frecuentes del epazote de zorrillo son: para el control de la diarrea, como desparasitante (ascariasis o lombrices, oncocercosis o mal de bolitas, amibas, solitaria); para el

tratamiento de la disentería, bilis, vómito, en casos de dolor y fríos en el estómago o bien para los corajes, sobre todo para aquellos que ocurridos después de comer provocan dolor estomacal. Se recomienda en enfermedades respiratorias como tos y dolor de aire, pulmonía, resfrío o gripa, dolor de pecho, de espalda y escalofríos. También se reporta para tratar calambres, "espanto", dolor de estómago debido a la menstruación, para acelerar el parto, limpiar la matriz y para resolver algunos problemas de lactancia. En cuanto a su preparación, en algunos padecimientos se emplea sola y en otros, acompañada de diversas plantas, ya sea en cocimiento o en infusión (Castro, 1988; García, 1989; González, 1981; Linares y cols., 1988; Martínez, 1991 en URL, Argueta y cols., 2009).

En el Mercado Sonora se recomiendan los siguientes usos: contra la diarrea y para contrarrestar el vómito se toma en té con tapacola (*Waltheria americana*) y hojas de guayaba (*Psidium guajava*) tres veces al día. También se recomienda para bañar a los niños, para la circulación sanguínea y para la depresión; para la bilis tomada en té; para el aire y las limpias tomada en ayunas, así como para los nervios. Para el espanto se hierven los tres epazotes: epazote verde y morado (*Teloxys ambrosioides*) y el epazote de zorrillo; más los tres toronjiles (toronjil blanco y morado (*Agastache mexicana*) y toronjil azul o chino (*Dracocephalum moldavica*)) tomados en té tres veces al día (Linares y cols., 1988; URL, Mondragón-Pichardo, 2009).

A parte de sus usos medicinales, también se emplea para condimentar los alimentos y en rituales ceremoniales y religiosos. En la medicina tradicional veterinaria se le emplea para tratar infecciones (URL, Mondragón-Pichardo, 2009).

## COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA

La química del epazote zorrillo ha sido poco estudiada y de hecho sólo existe un trabajo realizado por investigadores mexicanos. En él se describe la presencia en las partes aéreas de los sesquiterpenos criptomeridiol, su derivado alfa-acetoxilado y el hidroxielemol; los flavonoides crisina, pinocembrina y pinostrobin; los esteroides daucosterol, estigmasterol y el estigma-2-en-3-beta-ol y el monoterpeneo acetato de geraniol (Craveiro y Araujo, 1984; Mata y cols., 1987; Camacho y cols., 1991 en URL, Argueta y cols., 2009).

Los estudios químicos anteriores del género *Chenopodium* se concentraron en la determinación del contenido de ascaridol y de flavonoides. También se han reportado betacianinas en *Ch. botrys* (Rustembekova y cols., 1973) y en *Ch. urbicum* (Piatelli e Imperato, 1971); ecdisteroides en *Ch. album* y en *Ch. bonus-Henricus* (Bathory y cols., 1982); triterpenoides glucósidos en *Ch. antihelminthicu* (Chirva y cols., 1971) y en *Ch.*

*ambrosioides* (Bogacheva y cols., 1972) y sesquiterpenos polioxigenados en *Ch. botrys* (De Pascual y cols., 1980, 1978 y 1975; en Mata y cols., 1987).

Mata y colaboradores (1987) identificaron varios compuestos de *Chenopodium graveolens*:

Tres flavonoides:

- pinocembrina (5,7-dihidroxi-flavanona)
- pinostrobin (5-hidroxi-7-metoxi-flavanona)
- crisina (flavonona)

Cuatro terpenoides

- acetato de geraniol (monoterpeno)
- (+)-8 $\alpha$ -hidroxielemol (nuevo sesquiterpeno)
- (+)-8 $\alpha$ -acetoxi-criptomeridiol (nuevo sesquiterpeno)
- criptomeridiol

Tres esteroides

- estigmasterol
- estigmas-2-en-3-beta-ol
- 3 $\alpha$ ,sitosteril-glucósido

Aunque los flavonoles habían sido detectados previamente en muchas especies de *Chenopodium*, esta es la primera vez que se describen los flavones y los flavonones en *Ch. graveolens*. Mientras que los flavonoles de *Chenopodium* están todos oxigenados en el anillo B, estos flavones y flavonones carecen de sustitutos oxigenados en el anillo B. En contraste, los nuevos sesquiterpenos se sustituyen en el sitio C-8, los sesquiterpenos de la especie relacionada, *Ch. botrys*, tienen sustituyentes en el sitio C-6 ó C-3.

Xu y colaboradores (1990) revisaron las mezclas de esteroides en once especies de *Chenopodium* con fines taxonómicos. De las especies probadas, todas tienen mezclas de esteroides con doble enlace en  $\Delta 7$  y en  $\Delta 5$ , la mayoría mostraron una alta proporción de esteroides  $\Delta 7$ , excepto *Ch. graveolens* (Mata y cols., 1987), que contiene estigmasterol (0.003% del peso seco), 22-estigmastenol (0.0025% del peso seco) y sitosterol glucósido (0.0036% del peso seco). Estas identificaciones se basaron principalmente en puntos de fusión y en el empleo de métodos no específicos. En este trabajo la composición de esteroides de *Ch. graveolens* se volvió a revisar y los principales esteroides identificados fueron el espinasterol y el 7-estigmastenol (ambos  $\Delta 5$ ), con pequeñas cantidades de otros esteroides  $\Delta 5$  y esteroides  $\Delta 7$ .

En 2000, Hernández y colaboradores obtuvieron muy poca información sobre el contenido de flavonoides en las especies que analizaron, entre ellas *Chenopodium graveolens*. Para las Chenopodiaceae encontraron antocianinas e isoflavonas (Harborne, 1975; Woldu y Abegaz, 1990; Wollenweber, 1994; Donnelly y Boland, 1994 en Hernández y cols., 2000). Para *Ch. graveolens* también encontraron flavonas (Harborne, 1994a,b en Hernández y cols., 2000). En este trabajo se reporta el contenido de flavonoides para *Ch. graveolens* como compuestos monohidroxilados en el anillo B, un derivado 7-O-glicosilado y tres compuestos 3-O-glicosilados. Asimismo, Calzada y colaboradores (2003) aislaron de *Ch. graveolens* el melilotósido (derivado del ácido cumarínico), los flavonoides pinocembrina, pinostrobrina, crisina, narcisina y rutina.

## FARMACOLOGÍA

El epazote de zorrillo (*Teloxys graveolens*) se emplea en México para el tratamiento de la diarrea. En estudios realizados en la Unidad de Investigación Médica en Farmacología de Productos Naturales, del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS (2009), se determinó el porcentaje de inhibición de la hiperperistalsis inducida en ratas, de extractos crudos de ocho especies selectas de la herbolaria mexicana. Siete de ellos mostraron curvas típicas de hormesis que permitieron determinar las concentraciones inhibitorias máximas: La CIM para *Brickellia paniculata*, *Chiranthodendron pentadactylon* y *Geranium mexicanum* fue de 400 mg/kg; para ***Teloxys graveolens***, *Helianthemum glomertum*, *Punica granatum* y *Rubus coriifolius* fue de 300 mg/kg. Los extractos crudos de las especies evaluadas presentaron efectos inhibidores de la hiperperistalsis, lo cual explica en parte el uso tradicional como antidiarreicos (URL, Segura-Abarca y Calzada, 2009).

### a) Bioactividad Bactericida

Gnamanickam y Mansfield (1981 en Hernández y cols., 2000) reportaron la actividad antimicrobiana de flavones e isoflavones en *Staphylococcus epidermidis*. Tereschuk y colaboradores (1997 en Hernández y cols., 2000) reportaron la actividad bactericida positiva del flavonol 7-O-glicosilado y la negativa del flavonol 3-O-glicosilado en el grupo.

Hernández y colaboradores (2000) detectaron la actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos de flavonoides de las partes aéreas de cinco plantas medicinales, entre ellas ***Chenopodium graveolens***, contra bacterias **gram-negativas**: *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enteritidis* y *Shigella sp.*, y **gram-positivas**: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus β-hemoliticus* y *Streptococcus pyogenes*. El extracto de los flavonoides de



*Ch. graveolens* no mostró actividad bactericida. *Lippia turbinata* y *Satureja parvifolia*, fueron las plantas que mayor actividad mostraron contra las bacterias tanto gram-positivas, como gram-negativas. *Lippia turbinata* y *Ch. graveolens* tienen compuestos monohidroxilados en el anillo B. *L. turbinata* tiene dos derivados 7-O glicosilados y un derivado 3-O-glicosilado, y *Ch. graveolens* tiene un derivado 7-O-glicosilado y tres derivados 3-O-glicosilados. La ausencia de actividad de *Ch. graveolens* podría deberse al efecto inhibitorio del derivado 3-O-glicosilado sobre el 7-O-glicosilado (Tereschuk y cols., 1997 en Hernández, 2000).

El *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) es una de la principales bacterias que causan infecciones intrahospitalarias en todo el mundo (Ichiyama y cols., 1991; Yasunaka y Kono, 1999; Takeda y cols., 2000 en Yasunaka, 2005). En años recientes, esto se ha convertido en un problema serio, debido a su resistencia adquirida contra antibióticos. Aunque, se han realizado muchos estudios de la actividad antimicrobiana de plantas medicinales durante los últimos 30 años (Khan y cols., 1980; Samy y cols., 1998; Essawi y Srour, 2000 en Yasunaka, 2005) un número importante de ellas continúa sin ser abordado. En este contexto, es que se realiza el estudio de Yasunaka y colaboradores (2005) cuyo objetivo fue el determinar la actividad antibacteriana *in vitro* contra *Escherichia coli*, bacteria gram(-), y *Staphylococcus aureus*, bacteria gram(+), de 32 extractos de 22 plantas medicinales mexicanas. Como resultado se obtuvo que 17 plantas demostraron actividad bactericida y 5 no mostraron actividad alguna. Prácticamente todos los extractos activos manifestaron una mayor actividad contra *Staphylococcus aureus* (tanto para la cepa sensible a la meticilina como para la resistente a la meticilina) que contra *Escherichia coli*. En el ensayo con *E. coli* C600, nueve extractos mostraron actividad moderada entre ellos, el extracto de *Chenopodium graveolens* (MIC= 512 µg/ml), mientras que 23 no mostraron ninguna actividad bactericida. Por otro lado, muchos de los extractos examinados mostraron actividad contra *Staphylococcus aureus* 209P: 15 extractos con actividad alta y 11 extractos con actividad moderada y entre ellos, *Ch. graveolens* (MIC = 256 µg/ml). *Calophyllum brasiliense* y *Mammea americana* mostraron la actividad antibacteriana más alta para *S. aureus* (MIC = 2 µg/ml).

*Teloxys graveolens* fue una de las plantas incluidas en el trabajo de Castillo-Juárez y colaboradores (2009) donde se evaluó *in vitro* la actividad bactericida de sus extractos acuosos y metanólicos contra *Helicobacter pylori*. *T. graveolens* sugiere una actividad bactericida moderada contra *H. pylori* tanto en su extracto acuoso (MIC = 250 µg/ml), como en su extracto metanólico (MIC = 62.5) µg/ml), dado que las MIC's de las plantas que resultaron más activas oscilan entre los 125–250 µg/ml, para los extractos acuosos; y entre 7.5–15.6 µg/ml, para los extractos metanólicos. Los resultados indicaron que el 77% de las plantas ensayadas manifiestan actividad bactericida contra *H. pylori* entre moderada y fuerte, en por lo menos uno de sus extractos probados. Comparando con la amoxicilina, los extractos más activos están actuando a concentraciones mucho más altas; sin embargo, comparado con el metronidazol, todos aquellos extractos metanólicos con MICs ≤ 250 µg/ml son mejores opciones, tal es el caso de *T. graveolens*. Debido a

que muchas de las plantas medicinales también son utilizadas como condimentos en los alimentos (p. ej. *T. graveolens*), su consumo frecuente podría tener un efecto preventivo en el control de *H. pylori* en las personas infectadas, no así una acción de erradicación. Este estudio puede servir de guía para posteriores investigaciones encaminadas a determinar y probar los compuestos activos de las plantas que presentan mayor potencial bactericida.

En el estudio de Camacho-Corona y colaboradores (2009) se seleccionaron 35 fitoquímicos para probarlos contra cepas de *Mycobacterium tuberculosis*, agente etiológico de la tuberculosis, una de las principales enfermedades infecciosas y letales para los humanos, ya que cada año provoca 1.7 millones de muertes. Para este estudio se emplearon una cepa sensible de la bacteria y tres resistentes a los medicamentos. La flavonona **pinostrobin**, aislada de *Teloxys graveolens*, presentó una actividad bactericida moderada frente a la cepa sensible con una CMI = 12.5 µg/ml, mientras que la liriodenina (*Stephania dinklagei*) fue la sustancia más activa, con una CMI = 3.125 µg/ml. La pinostrobin de *T. graveolens* resultó inactiva (MIC ≥ 200 µg/mL) frente a las cepas de *M tuberculosis* resistentes a multidrogas. En este caso, la 6-metoxi-dihidroquelirubina (*Bocconia arborea*) fue el compuesto más activo (CMI = 12.5 µg/mL).

### b) Actividad Desparasitante

El estudio dirigido por Camacho (1991) tuvo el propósito de probar *in vitro* la acción de la pinocembrina (IC<sub>50</sub> = 4.25 µg/ml), un flavonoide de *Chenopodium graveolens*, en diferentes estadios de *Fasciola hepática* (parásito platelminto). Se obtuvo una acción letal a concentraciones de 2.5 mg/ml y 5.0 mg/ml en los parásitos recién desenquistados. También mostró letalidad en los huevos infecciosos de *Ascaridi galli* (nematodo) y en el tercer estadio larvario de *Stomoxys calcitrans* (díptero).

Las enfermedades causadas por protozoarios son responsables de una considerable mortalidad y morbilidad en México, dónde un importante segmento de la población emplea plantas medicinales para el tratamiento de las infecciones diarreicas (Díaz, 1977; Martínez, 1989; Arellano y cols., 1992; Cedillo-Rivera y Muñoz, 1992; Conde-Bonfil y De la Mora-Zerpa, 1992; Soto-Núñez y Sousa, 1995 en Calzada y cols., 1998). Muchas de estas especies vegetales aún no han sido investigadas farmacológicamente.

Calzada y sus colaboradores (1998) investigaron *in vitro* la actividad de extractos crudos de 19 plantas mexicanas utilizadas para el tratamiento de la disentería amebiana y de la giardiasis, cuyos agentes etiológicos son *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia*, respectivamente. Las plantas seleccionadas tienen una actividad reconocida dentro de la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de diarreicas infecciosas. Ninguna de estas especies ha sido evaluada antes como agente anti-protozoarios, excepto *Castela texana* (Calzada-Flores y cols., 1986; Dou y cols., 1996 en Calzada y cols., 1998). Algunos compuestos químicos de estas plantas ya han sido descritos, para *Teloxys*

**graveolens** se han aislado flavonoides y sesquiterpenoides simples (Mata y cols., 1987 en Calzada y cols., 1998).

Los 19 extractos metanólicos de las plantas medicinales seleccionadas fueron probados contra cultivos puros de trofozoítos crecidos de *E. histolytica* y de *G. lamblia*. Del extracto elaborado con la planta completa de ***T. graveolens*** se obtuvo una importante respuesta contra *E. histolytica* y contra *G. lamblia*, con una IC50 de 9.13 y de 8.13 µg/ml, respectivamente. De esta manera, *T. graveolens* se posiciona entre las 5 plantas que manifiestan una actividad significativa contra ambos protozoarios con rango de IC50 de 2.6-20.6 µg/ml para *G. Lamblia* y de 4.6-13.7 µg/ml para *E. histolytica*. Las otras plantas son: *Acalypha phleoides*, *Cnidocolus tehuacanensis*, *Geranium niveum*, *Hellianthella quinquenervis*. El extracto de ésta última fue el que mostró mayor actividad contra ambos parásitos. Otros 2 extractos mostraron una actividad moderada contra los dos protozoarios. De los restantes, algunos presentaron actividad moderada contra un solo organismo. Estos resultados proporcionan en parte, sustento científico al empleo de estas plantas en la medicina tradicional para el tratamiento de la disentería, aunque el potencial de la mayoría de los extractos activos revisados es menor que el de las drogas estandarizadas: IC50 metronidazol 0.04 µg/ml para *E. histolytica* y 0.21 µg/ml para *G. lamblia*.

El protozoario ***Trypanosoma cruzi*** es el agente etiológico de la enfermedad de Chagas, una de las enfermedades más graves en Latinoamérica que afecta a más de 16 millones de personas en todo el mundo y provoca 45,000 muertes anuales. El tratamiento médico de la enfermedad resulta generalmente efectivo cuando se administra durante la fase aguda de la infección. Una vez que la infección ha progresado a fases posteriores ningún medicamento ha probado ser efectivo. Aún más, los medicamentos utilizados, como el nifurtimox y el benznidazol, producen efectos secundarios severos (Gutteridge, 1985; Umezawa, 2001 en Fumiko y Nagafuja, 2002). Por lo que se hace necesario el desarrollo de nuevos y mejores fármacos para el tratamiento de esta enfermedad. Fumiko y Nagafuja (2002) probaron extractos crudos de plantas medicinales mexicanas. En este ensayo, se examinó el efecto de 43 extractos de 39 plantas medicinales como agentes inhibidores de la motilidad de epimastigotes de *T. cruzi in vitro*. Dieciocho extractos mostraron esta actividad inhibitoria a una concentración de 2 mg/ml después de 2 horas de incubación. Trece mostraron actividad inhibitoria a una concentración de 1 mg/ml después de una incubación de 48 hrs. Entre ellos, el extracto metanólico de las partes subterráneas de ***Chenopodium graveolens*** generó la inhibición del 100% de los epimastigotes a una concentración de 2 mg/ml y 2 hrs. de incubación. Se obtuvo una respuesta moderada (80 - 90% de inmovilización de los epimastigotes) a la concentración de 1 mg/ml y 48 hrs. de incubación. El extracto metanólico de la raíz de *Aristolochia taliscana* obtuvo la mejor respuesta, ya que inmovilizó al 100% de los epimastigotes a una concentración baja de 0.5 mg/ml (48 hrs.).

Camacho y colaboradores (2003) realizaron una investigación posterior sobre la actividad inhibitoria de 43 plantas medicinales contra los parásitos protozoarios ***Leishmania donovani*** (leishmaniasis) y ***Trypanosoma brucei brucei*** (Tripanosomiasis del ganado).

En el estudio se probaron los extractos metanólicos y acuosos de las plantas que fueron seleccionadas por su importancia etnobotánica o quimiotaxonómica. También se determinó la actividad citotóxica de estos extractos en las células KB. En el ensayo contra *L. donovani* los ocho extractos más activos obtuvieron valores  $IC_{50} \leq 10 \mu\text{g/ml}$ . El extracto metanólico de las partes aéreas de *Teloxys graveolens* ( $IC_{50} = 42.30 \mu\text{g/ml}$ ) fue significativamente más efectivo en el tratamiento contra la leishmaniasis que su extracto acuoso ( $IC_{50} = 255.34 \mu\text{g/ml}$ ). De esta manera, el extracto metanólico de *T. graveolens* no se ubicó entre los ocho extractos que mostraron la mayor actividad contra el parásito. El extracto más activo contra *L. donovani* fue el extracto metanólico de las partes aéreas de *Triclisia patens* ( $IC_{50} = 1.5 \mu\text{g/ml}$ ). El extracto acuoso de *T. graveolens* no fue probado contra *T. brucei brucei*, mientras que el extracto metanólico arrojó un valor  $IC_{50} = 500 \mu\text{g/ml}$ . Los extractos más efectivos contra este organismo fueron los metanólicos de las semillas de *Annona purpurea* y de la corteza de *Alstonia macrophylla* ( $IC_{50} \leq 10 \mu\text{g/ml}$ ). En cuanto a la actividad citotóxica contra las células KB, el extracto más activo fue el de *A. purpurea*, mientras que los extractos de *T. graveolens* no reportaron toxicidad.

Calzada y colaboradores (2003) se enfocaron al estudio de los agentes inhibidores de *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia* a nivel de los constituyentes activos de *Teloxys graveolens*, una planta medicinal a la que anteriormente se le identificó potencial contra estos protozoarios (Calzada y cols., 1998). Se aislaron los compuestos melilotósido y 5 flavonoides (pinocembrina, pinostrobinina, crisina, narcisina y rutina). El melilotósido, derivado del ácido cumarínico, mostró la actividad más potente para ambos: *E. histolytica* ( $IC_{50} = 12.5 \mu\text{g/mL}$ ) y *G. lamblia* ( $IC_{50} = 16.8 \mu\text{g/mL}$ ). La narcisina mostró actividad selectiva para *E. histolytica* ( $IC_{50} = 17.2 \mu\text{g/mL}$ ). La pinocembrina y la crisina exhibieron una actividad débil ( $80 < IC_{50} < 82 \mu\text{g/ml}$ ) y la pinostrobinina una actividad muy débil ( $180 < IC_{50} < 185 \mu\text{g/ml}$ ) (Calzada y cols., 2003b en Cimanga, 2006).

Amaral y colaboradores (2006) realizaron una revisión de la literatura existente de los extractos de plantas medicinales, sus fracciones y compuestos, y de los ensayos *in vitro* que validan su actividad giardicida. Se resumen 153 especies vegetales de 69 familias que fueron sometidas a la evaluación de su actividad giardicida. Incluye datos de su distribución geográfica, partes usadas, su preparación, la cepa de *Giardia lamblia* en la que se probó y los resultados obtenidos. Presenta 101 compuestos activos. Discute aspectos de las investigaciones recientes sobre fitoquímicos y su empleo en el tratamiento de la giardiasis. *Teloxys graveolens* forma parte de esta revisión ya que había sido reportada por su actividad giardicida  $IC_{50} \leq 20.64 \mu\text{g/mL}$ . (Calzada y cols., 1998b en Amaral y cols., 2006).

*Teloxys graveolens* y sus componentes químicos con actividad giardicida. Amaral y cols., 2006.

Compuesto químico	Tipo de Sustancia	<i>Giardia lamblia</i> Cepa	Resultado IC50 µg/mL	Referencia
Crisina	Flavonoide	s/establecer	109.4	Calzada y cols. (2003)
Melilotósido	Fenol glicósido	s/establecer	16.8	Calzada y cols. (2003)
Narcisina	Flavonoide	s/establecer	94.6	Calzada y cols. (2003)
Pinocembrina	Flavonoide	IMSS;0989:1	57.39	Calzada y cols. (1999b)
Pinocembrina	Flavonoide	s/establecer	57.4	Calzada y cols. (2003)
Pinostrobina	Flavonoide	IMSS:0989:1	80.76	Calzada y cols. (1999b)
Pinostrobina	Flavonoide	s/establecer	80.8	Calzada y cols. (2003)
Rutina	Flavonoide	s/establecer	178.7	Calzada y cols. (2003)

### c) Bioactividad anti-inflamatoria y analgésica

En el trabajo de Meckes y colaboradores (2004) se evaluaron los efectos anti-inflamatorios producidos por los extractos crudos de 14 plantas medicinales en el edema inducido por carragenina en rata. Se encontró que la administración por inyección intraperitoneal de los extractos a una dosis de 400 mg/kg produjo una importante reducción del edema con el 70% de los extractos estudiados. Resultaron particularmente activos el extracto metanólico de *Oenothera rosea*, el extracto clorofórmico de *Sphaeralcea angustifolia*, los extractos metanólicos y acuosos de *Acacia farnesiana*, *Larrea tridentata* y *Rubus coriifolius*. Mostraron una inhibición moderada en la formación del edema los extractos metanólicos de *Astianthus viminalis*, *Brickellia paniculata*, *Chamaedora tepejilote* y *Justicia spicigera*. El extracto metanólico de *Teloxys graveolens* también mostró una inhibición del edema del 32.3% en la primera fase del tratamiento (1 hr. después de la inyección) y que decae significativamente a un 12.6% de inhibición en la fase 2, tres horas después de la inyección, cuando el efecto inflamatorio de la carragenina ha llegado prácticamente a su máximo, manifestando un edema mayor que el observado una hora después de la inyección. Si bien *T. graveolens* genera una cierta inhibición del edema, sus porcentajes de inhibición en ambas fases son de los más bajos registrados en el estudio, mientras que para el extracto metanólico de *O. rosea*, los resultados fueron de 79.8% en la fase 1 y de 86.2% en la fase 2. El ácido nordihidroguaiarético (NDGA) que se

utilizó como referencia arrojó los siguientes resultados: para una dosis de 12 mg/kg se registró un 55.0% de inhibición del edema en la fase 1 y 53.2% de inhibición en la fase 2.

#### d) **Efecto neuroprotector y otras bioactividades**

La pinocembrina (5,7-dihydroxiflavanona), fitofármaco aislado de *Teloxys graveolens*, ha sido probada como antimicrobiano (Pepeljnjak y cols., 1985; Camacho y cols., 1991 en Gao y cols., 2008), como anti-inflamatorio (Sala y cols., 2003, en Gao y cols., 2008) y antioxidante (Santos y cols., 1998 en Gao y cols., 2008). Un estudio reciente también encontró que la pinocembrina induce la relajación de los anillos aórticos de la rata a través de una vía endotelio-dependiente e independiente (Zhu y cols., 2007) y que podría mejorar el deterioro cognitivo de la rata inducido por la hipoperfusión cerebral crónica (Guang y Du, 2006 en Gao y cols., 2008). Gao y colaboradores (2008) desarrollaron la hipótesis de que la pinocembrina podría tener propiedades neuroprotectoras. Aunque los problemas neurológicos pueden ser de diversa naturaleza, hay mecanismos comunes de daño a la célula, y la toxicidad del glutamato juega un rol integral en una variedad de enfermedades neurodegenerativas, incluyendo en ellas al derrame cerebral y al neurotrauma (Dumont y cols., 2001; Lankiewicz y cols., 2000 en Gao y cols., 2008). Se ha demostrado que las células SH-SY5Y expresan tanto receptores de glutamato inotrópico como metabotrópico, y que deben ser de utilidad para explorar los procesos activadores inducidos por aminoácidos en células humanas de tumor neuronal (Naarala y cols., 1993; Nairy y cols., 1996 en Gao y cols., 2008).

Gao y colaboradores (2008) utilizaron glutamato para inducir daño celular en las neuronas SH-SY5Y e investigar el efecto protector de la pinocembrina en este modelo celular, así como sus mecanismos de acción. Para ello, las neuronas SH-SY5Y fueron pre-tratadas con pinocembrina por dos horas antes de ser tratadas con el glutamato (12mM) por 12 horas. El tratamiento con pinocembrina (10<sup>-5</sup>, 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-7</sup> mol/l) incrementó la viabilidad celular en forma dosis-dependiente, inhibiendo la liberación de LDH y atenuando la apoptosis. Como la muerte celular mediada por el glutamato puede estar correlacionada con el aumento intracelular del [Ca<sup>2+</sup>], su concentración fue evaluada. El resultado obtenido mostró que la concentración de [Ca<sup>2+</sup>] intracelular libre se incrementó después de exponer a las células al glutamato, misma que se mitigó en las células tratadas con pinocembrina. La expresión del mRNA Bax (pro-apoptótico) se incrementó marcadamente después de la exposición al glutamato, y la pinocembrina la redujo. No se detectaron cambios en la expresión del mRNA Bcl-2 (anti-apoptótico) en ningún grupo, con o sin tratamiento de pinocembrina. Dado que el tratamiento con pinocembrina redujo la expresión del mRNA Bax y no afectó la expresión del mRNA Bcl-2, se disminuyó la proporción Bax-Bcl.2, lo que resultó consistente con la expresión genética manifiesta. La pinocembrina podría regular en forma descendente la expresión de la proteína p53, cuya activación estimula la apoptosis en las neuronas; así como inhibir la liberación del citocromo c de la mitocondria al citosol, lo que evita la activación de la caspasa-3, que es un mediador en el proceso apoptótico. Concluyendo, la pinocembrina ofrece efectos

neuroprotectores en el modelo de lesión celular inducida por glutamato, en parte, inhibiendo la expresión de la proteína p53 y por lo tanto la proporción de Bax-Bcl-2 y la liberación del citocromo c.

Aunque algunos estudios recientes indican que la pinocembrina tiene efectos protectores contra las lesiones isquémicas, no existe ningún informe sobre los efectos de la pinocembrina en el cerebro lesionado después de una isquemia cerebral focal seguida de reperfusión, y tampoco se conocen bien los mecanismos de sus efectos neuroprotectores. El estudio de la lesión isquémica cerebral y por reperfusión (I/R) se ha vuelto cada vez más importante con el desarrollo de drogas trombolíticas y aunque los estudios de los mecanismos moleculares de la citotoxicidad neuronal tras la isquemia-hipoxia se han visto favorecidos en los últimos años, todavía no se han determinado los patrones de lesión y consecuentemente, las mejores estrategias para prevenir o interrumpir la cascada de excitotoxicidad y muerte (Mishra, 1999 en Liu y cols., 2008). Algunos estudios han demostrado que durante la isquemia cerebral y reperfusión, la concentración de los radicales libres de oxígeno se encuentra elevada, debido a la falta de respuesta de las reacciones metabólicas (Love, 1999 en Liu y cols., 2008), por lo que se les considera importantes participantes en esta patogénesis. Es así que, las defensas antioxidantes, como los captadores de radicales libres y las enzimas antioxidantes, son un enfoque prometedor para limitar la extensión del daño por las lesiones I/R. (Papadopoulos y cols., 1998; Truelove y cols., 1994 en Liu y cols., 2008).

El trabajo presentado por Liu y colaboradores (2008) evalúa el efecto neuroprotector de la pinocembrina en el modelo de oclusión de la arteria cerebral media (OACM) y reperfusión en rata, que es el sitio primario de muchas apoplejías y el sistema más parecido a la situación clínica (Macrae, 1992 en Liu y cols., 2008), y en un modelo similar a la lesión I/R de, que consiste en neuronas corticales primarias cultivadas y sometidas a un proceso de privación de oxígeno-glucosa y reoxigenación. En el estudio *in vivo* usando el modelo de OACM y reperfusión en ratas, la pinocembrina fue suministrada por vía intravenosa al inicio de la reperfusión. La pinocembrina incrementó marcadamente la viabilidad de la rata, reduciendo el número de infartos y el déficit neurológico, 24 horas después de la reperfusión en todos los grupos tratados. Es así que, la pinocembrina demostró ser un prometedor neuroprotector contra el daño isquémico cerebral. Para conocer mejor sus posibles mecanismos de intervención terapéutica, se examinaron sus efectos directos en neuronas corticales primarias cultivadas (el segundo modelo) y así, dilucidar los mecanismos de acción de la pinocembrina después de la reoxigenación. En este segundo estudio realizado *in vitro*, las neuronas corticales fueron privadas durante dos horas de oxígeno y de glucosa, luego fueron sometidas a 24 horas de reoxigenación; al inicio de ésta, se suministró la pinocembrina. Los resultados obtenidos mostraron que la tasa de sobrevivencia neuronal se incrementó, la liberación de LDH se redujo y tanto la longitud de las neurita y la apoptosis se vieron mitigadas en presencia de la pinocembrina durante la reoxigenación. Este efecto protector se asoció con la reducción de las especies reactivas al oxígeno, del óxido nítrico, de la óxido nítrico sintasa neuronal (nNOS) y de la NOS inducible (iNOS), así como con el incremento del glutatión. Más aún, el escalamiento

de DNA se redujo en los grupos tratados con pinocembrina. La proteína caspasa-3 (mediadora en el proceso apoptótico) descendió y se reguló, mientras que la degradación de la enzima PARP (reparadora del daño al ADN) se mitigó después del tratamiento con pinocembrina. Estos resultados sugieren que la pinocembrina no solo constituye una estrategia terapéutica novedosa para reducir la lesión isquémica cerebral de reperfusión, sino que puede actuar debido a sus efectos antioxidantes y antiapoptóticos.

## TOXICIDAD, CITOTOXICIDAD Y GENOTOXICIDAD

Nagao y colaboradores (1988) probaron la mutagenicidad de 61 flavonoides (aglicones y flavonoles glicósidos naturales y flavonoides sintéticos) y los 11 compuestos estructuralmente relacionados a los flavonoides en cepas de *Salmonella typhimurium*. Los resultados concluyen que 6 flavonoles glicósidos, 3 quercitinas glicósidos y 3 camferol glicósidos resultaron mutagénicos después de una pre-incubación con hesperidina, un extracto crudo de *Aspergillus niger*. De los 66 flavonoides aglicones y compuestos estructuralmente relacionados a los flavonoides, la quercitina fue altamente mutagénica. La carcinogenicidad del compuesto debe clarificarse dado que se encuentra ampliamente distribuida en los vegetales, como lo está en *Chenopodium graveolens*.

En 1996, en el Hospital de Pediatría de la Ciudad de México, se presentó un caso de envenenamiento letal con aceite de “epazote” en una niña de 2 años 9 meses. La paciente recibió una dosis total de 40 ml del aceite. Las características clínicas del envenenamiento presentadas fueron: vómito, convulsiones, midriasis, coma profundo, apnea, acidosis metabólica, choque neurológico y muerte. El electroencefalograma sugirió una encefalopatía difusa. La tomografía mostró un edema cerebral severo y colapso ventricular. *Postmortem*, se encontró edema cerebral y necrosis neuronal, neumonía, enteritis, pericolangitis, necrosis pancreática y tubular. El análisis fitoquímico del aceite identificó al compuesto ascaridol, el compuesto activo principal del género *Chenopodium*, en una cantidad de 39 mg/ml (1,560 mg en la dosis administrada) y ***Chenopodium graveolens*** como la planta empleada para prepararla. De acuerdo con la edad del paciente, 60 mg de ascaridol sería lo recomendado para tratar la enfermedad parasitaria. Por lo tanto, la dosis administrada de 1,560 mg fue 26 veces más alta que la dosis recomendada y excede en un 56% la dosis de 1,000 mg reportada como letal en humanos (Montoya-Cabrera y cols., 1996).

Pérez-Gutiérrez y colaboradores (1998) probaron extractos acuosos de *Loeselia mexicana*, *Calendula officinalis*, ***Chenopodium graveolens***, *Oenothera roseae* y *Castilleja tenuiflora* sobre la actividad cardiaca de ratas Wistar machos. Se encontró que *C. officinalis*, *Ch. graveolens*, *L. mexicana* y *O. roseae* inhibieron la actividad contráctil del



corazón, alcanzando el 100% de inhibición a dosis de 0.3, 0.5, 0.7 y 1.0 mg/mL, respectivamente. El extracto de *C. tenuiflora* incrementó la tasa de la actividad cardiaca a dosis de 0.1 a 0.6 mg/mL.

Camacho y colaboradores (2003) en su estudio sobre la actividad inhibitoria de 43 plantas medicinales contra los parásitos *Leishmania donovani* y *Trypanosoma brucei brucei*, probaron los extractos acuosos y metanólicos de las plantas para determinar *in vitro* su actividad citotóxica en las células KB. El resultado obtenido mostró que el extracto más citotóxico contra las células KB fue el de *Annona purpurea* (92 veces más tóxico que la podofilotoxina estándar), mientras que los extractos de *Ch. graveolens* no reportaron toxicidad. Ningún otro extracto entre los probados en este estudio resultaron al menos tan tóxicos para las células KB como la podofilotoxina (IC50 = 0.00621 µg/ml).

Kubo y colaboradores (2007) probaron que la crisina exhibe efectos citotóxicos en células de melanoma cultivadas (como inhibidor de la síntesis de melanina). La rutina fue previamente probada como inhibidor de la metástasis de pulmón en ratón inducida por células de melanoma B16-F10. La administración oral de rutina a una concentración de 200 nmol/kg impidió la formación de nódulos del tumor en el pulmón (Menon, 1995 en Kubo y cols., 2007). Por otra parte, Pérez-Trueba (2003) discutió la genotoxicidad de algunos flavonoides, como la rutina, ya que ésta puede actuar como agente pro-oxidante genotóxico, causando por ejemplo la ruptura del ADN de timo de carnero en presencia de Cu y oxígeno molecular (Rahman, 1982 y Yoshino, 1999 en Pérez-Trueba, 2003).

## CONCLUSIONES

Se encontró que *Dysphania graveolens* es una planta medicinal mexicana de empleo muy extendido en nuestro país, tanto por sus efectos curativos como por su accesibilidad, ya que se le ubica prácticamente en todo el territorio nacional. El epazote de zorrillo es utilizado para tratar una gran cantidad de enfermedades, entre ellas y como las principales, aquellas relacionadas con desórdenes gastrointestinales causados por infecciones bacterianas, por amibas y otros protozoarios e incluso, por helmintos y platelmintos parásitos. Se le considera un remedio muy eficaz contra la diarrea.

Los principales efectos curativos de esta planta han sido probados en ensayos científicos *in vitro*: Como antidiarreico mostró un buen desempeño. Como bactericida en varias de las bacterias más patógenas y frecuentes, demostró una actividad moderada. Como desparasitante tuvo un desempeño importante contra *Entamoeba histolytica* y contra *Giardia lamblia*. Para *Trypanosoma. cruzi* y *Leishmania donovani* mostró una actividad moderada, y no significativa para *Trypanosoma brucei brucei*. Estos estudios se han

realizado sobre la valoración de extractos acuosos y metanólicos de las estructuras vegetales de toda la planta. Investigaciones a mayor profundidad, a nivel de compuestos activos, sólo se han realizado para probar su acción giardicida, amebicida (*E. histolytica*) y contra la parasitosis por *Fasciola hepatica*. Los resultados obtenidos en estos últimos estudios han sugerido que los flavonoides pinocembrina, crisina y narcisina, junto con el derivado del ácido cumarínico y el melilotósido son sus principales compuestos activos. Es importante señalar que el estudio de *D. graveolens* debe encaminarse a probar el potencial específico de sus compuestos activos, tanto *in vitro* como *in vivo*, y hacia el entendimiento de sus mecanismos de acción.

También se ha comprobado que los extractos del epazote de zorrillo tienen propiedades anti-inflamatorias que no resultaron ser comparativamente significativas. Otros estudios están dirigidos a probar el efecto neuroprotector de la pinocembrina y a dilucidar sus mecanismos de acción, los cuales han demostrado que este compuesto tiene un buen potencial neuroprotector contra el daño celular producido por el glutamato y que es capaz de reducir la lesión isquémica cerebral de reperusión, debido a sus efectos antioxidantes y antiapoptóticos

Se han realizado pocos estudios específicos sobre la toxicidad de *Dysphania graveolens*. Es importante retomar y profundizar los resultados de los estudios de Nagao y sus colaboradores (1988) que revelan a la quercitina como un agente mutagénico potente. Un resultado lateral del ensayo de Camacho y colaboradores (2003) concluyeron que *D. graveolens* no es citotóxica para las células KB. Otro ensayo (Pérez-Gutiérrez y cols., 1997) muestra la acción inhibitoria de *D. graveolens* sobre la actividad contráctil del corazón en rata. En la medicina tradicional se le ha reportado como tóxica, con acción similar a la presentada por *Dysphania ambrosioides*, donde el ascaridol, su principal compuesto activo, le confiere una elevada toxicidad al consumirse como aceite esencial. (URL, Argueta y cols., 2009). En ninguno de los artículos revisados se menciona al ascaridol como componente de *D. graveolens*. Sin embargo, se ha reportado al menos una muerte que se atribuye a esta planta y que exhibe signos y síntomas similares a los ocasionados por el envenenamiento con aceite esencial de *D. ambrosioides* (URL, Argueta y cols., 2009). Por lo anterior, es necesario realizar estudios que busquen esclarecer el potencial tóxico específico del epazote de zorrillo.

## Ficha Informativa

### *Heterotheca inuloides* Cass., 1862 (Asteraceae).

**Nombres Comunes:** Árnica mexicana, Árnica del País, Falsa Árnica, Acahuatl, Cuateteco.

**Usos medicinales tradicionales en México:** Como cicatrizante, desinfectante, anti-inflamatorio y analgésico. Para tratar contusiones, magulladuras, heridas e infecciones de la piel, dolor de muelas, várices y almorranas, aplicándose en forma tópica con ungüentos y fomentos. Como té alivia desórdenes gastrointestinales como la diarrea, procesos inflamatorios, dolor, fiebre, cólicos menstruales, vaginitis, afecciones respiratorias y de vías urinarias, gastritis y úlceras gástricas, reumatismo, problemas de riñones y nerviosos. Las flores de *Heterotheca inuloides* son las partes más utilizadas, aunque también se emplean los tallos y hojas. También se preparan tinturas alcohólicas, tabletas homeopáticas, pomadas, cataplasmas y jarabes. La Red Mexicana de Plantas Medicinales la cultiva orgánicamente en Tlaxcala.

**Descripción Botánica:** Hierba perenne a veces anual. De 50 a 70 cm de alto, incluso hasta 1 m.. Tallo erecto, no muy ramificado abajo de la inflorescencia, estriado, con pubescencia piloso-hispida, de  $\pm 2$  mm (o más) de largo, con otros pelos más cortos que incluyen pelos glandulosos. Hojas inferiores sobre pecíolos de 2 a 8 cm de largo, generalmente ensanchadas en la base, limbo ovado a lanceolado, de 3 a 10 cm de largo, ápice agudo a obtuso, margen entero a profundamente aserrado, con pubescencia similar a la del tallo, hojas de la parte media y superior sésiles, reduciéndose paulatinamente, a veces oblongas u oblanceoladas. Inflorescencia bien desarrollada en conjuntos corimbiformes. Cabezuelas sobre pedúnculos de hasta 8 cm de largo, provistos de numerosos pelos glandulosos, 2.5-4 cm en diámetro; involucro anchamente campanulado a hemisférico, más o menos 80 brácteas, lineares a subuladas, las interiores de 9 a 13 mm de largo, con pubescencia similar a la del tallo. Flores liguladas 25 a 40, de láminas oblongas, de 8 a 15 mm de largo; flores del disco 40 a 150, sus corolas de 4 a 7 mm de largo. Aquenios de las flores liguladas triquetos, de 2 a 4 mm de largo, glabros o poco pubescentes, vilano ausente o en forma de corona; aquenios de las flores del disco obovados a oblanceolados, de 2 a 5 mm de largo, seríceos, cerdas interiores del vilano  $\pm 25$ , de 4 a 7 mm de largo, blanquecinas o rojizas, cerdas o escamitas exteriores  $\pm 10$ , de 0.3 a 0.6 mm de largo. Raíz pivotante. En el occidente de México florece de julio a noviembre. Ruderal y arvense. En bosques de pino-encino, pastizales, bosques tropicales caducifolios. Desde los 1,400 y hasta los 3,300 msnm. Es una planta originaria de México, se distribuye principalmente en el centro del país en las regiones frías y templadas.

**Compuestos Activos:** Los sesquiterpenoides: 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno y 7-hidroxicadaleno son bactericidas (Gram-positivas) y antioxidante de ruptura de cadena. El 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalina (anti-inflamatorio e inhibidor de la biosíntesis de prostaglandinas inducida por COX-1 y COX-2. El dicadalenol, el cariolan-1,9 $\beta$ -diol y la quercetina (anti-inflamatorios). La galangina, el camferol y la quercetina son inhibidores de la tirosinasa y antioxidantes preventivos.

**Toxicidad:** No hay efectos tóxicos reportados en el uso medicinal de esta planta. Sesquiterpenos  $\beta$ -cariofileno,  $\beta$ -cariofileno 4,5 alfa-óxido, 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalina y 7-hidroxicadalina (antitumorales-citotóxicos). Galangina, rutina, crisina y 7-hidroxiflavona (citotóxicos para células de melanoma). Quercetina, camferol, rutina y galangina (pro-oxidantes genotóxicos).

### 6.3. *Heterotheca inuloides* Cass., 1862

#### CLASIFICACIÓN

(Tropicos.org., MBG, 2010)

Plantae

Magnoliophyta

Magnoliopsida

Asterales

Asteraceae

***Heterotheca***

***inuloides***



Foto P. Tenorio Lezama

#### NOMBRES COMUNES

**Acahuatl** (Martínez, 1969)

**Árnica** (Martínez, 1969)

**Falsa árnica** (Martínez, 1969)

**Árnica mexicana, árnica del país**  
(Linares y cols., 1988)

**Cuateteco** (Valle de México) (Martínez,  
1969)

**Tláyetl** (náhuatl) (Hernández, 1959 y  
Sahagún, 1979).



Fotos P. Tenorio Lezama

## DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA

**Hábito** y forma de vida: Planta herbácea perenne a veces anual, a menudo floreciendo en su primer año. **Tamaño:** Generalmente 50-70 cm, hasta 1 (1.5 m) de alto. **Tallo:** Erecto, generalmente no muy ramificado abajo de la inflorescencia, estriado, con pubescencia piloso-hispida, de  $\pm 2$  mm (o más) de largo, además de otros pelos mucho más cortos, que incluyen pelos glandulosos. **Hojas:** **Inferiores** sobre pecíolos de 2 a 8 cm de largo, generalmente ensanchadas en la base, limbo ovado a lanceolado, de 3 a 10 cm de largo, de 1 a 3.5 cm de ancho, ápice agudo a obtuso, margen entero a profundamente aserrado, con pubescencia similar a la del tallo, **hojas de la parte media y superior** sésiles, reduciéndose paulatinamente de tamaño, a veces oblongas u oblanceoladas. **Inflorescencia:** Bien desarrollada en conjuntos corimbiformes. **Cabezuela/Flores:** **Cabezuelas** sobre pedúnculos de hasta 8 cm de largo, provistos a menudo de numerosos pelos glandulosos, 2.5-4 cm en diámetro; **involucro** anchamente campanulado a hemisférico, sus brácteas más o menos 80, lineares a subuladas, las interiores de 9 a 13 mm de largo, con pubescencia similar a la del tallo y de los pedúnculos. **Flores liguladas** 25 a 40, sus láminas oblongas, de 8 a 15 mm de largo; **flores del disco** 40 a 150, sus corolas de 4 a 7 mm de largo. **Frutos y semillas:** **Aquenios** de las flores liguladas triquetos, de 2 a 4 mm de largo, glabros o poco pubescentes, **vilano** ausente o en forma de corona; **aquenios** de las flores del disco obovados a oblanceolados, de 2 a 5 mm de largo, seríceos, **cerdas** interiores del vilano  $\pm 25$ , de 4 a 7 mm de largo, blanquecinas o rojizas, **cerdas o escamitas exteriores**  $\pm 10$ , de 0.3 a 0.6 mm de largo. **Raíz:** Pivotal. **Fenología:** En el occidente de México florece de julio a noviembre (McVaugh, 1984). **Hábitat:** Ruderal y arvense, pastizales perturbados, claros en bosques (McVaugh, 1984; Rzedowski y Rzedowski, 2001).

## DISTRIBUCIÓN EN MÉXICO

*Heterotheca inuloides* es una planta originaria de México. Crece abundantemente en las regiones frías y templadas, se distribuye principalmente en el centro del país, en los estados de Colima, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luís Potosí, Tlaxcala y Veracruz (Villaseñor y Espinosa, 1998).

Por tipo de zonas bioclimáticas, a esta planta se le encuentra en bosques de pino-encino, pastizales, bosques tropicales caducifolios. La distribución altitudinal para *H. inuloides* var. *rosei* del occidente de México va desde los 1400 y hasta los 2100 msnm. En el Valle de México, *H. inuloides* var. *inuloides* crece desde los 1,800 hasta los 3300 msnm.

## ETNOBOTÁNICA

El árnica mexicana se utiliza ampliamente en la medicina tradicional mexicana debido a su acción como agente cicatrizante, desinfectante, anti-inflamatoria y analgésica (Gutiérrez y cols., 2008). Por lo tanto, esta planta es de las más utilizadas para tratar una gama amplia de enfermedades (Andrade-Cetto, 2009).

Se le utiliza para tratar contusiones, magulladuras y para el tratamiento de heridas y lesiones en la piel (Martínez, 1969 y Bye, 1990 en Delgado y cols., 2001), aplicándose en forma tópica a través de ungüentos y fomentos (Bye y cols., 1995). Ingiriéndose como té alivia desórdenes gastrointestinales como la diarrea (Andrade-Cetto, 2009), también otros procesos inflamatorios, dolor y fiebre (Gené y cols., 1998). Muchos de sus usos son similares a aquellos que se le otorgan a la planta europea *Arnica montana* (Nicholson, 1993 en Gené y cols., 1998).

Las flores de *Heterotheca inuloides* son las partes más utilizadas por sus propiedades curativas (Gené y cols., 1998). Se colectan en la mañana, cuando recién abren, y se secan a la sombra para que no pierdan sus propiedades medicinales (Gutiérrez y cols., 2008). También llegan a emplearse sus tallos y hojas (Andrade-Cetto, 2005 y 2009).

Usualmente se prepara una infusión de uso externo para el lavado de heridas, como fomento en el tratamiento de golpes, dolores musculares, infecciones de la piel por hongos o bacterias, várices y almorranas (Sahagún, 1979 en Linares y cols., 1988). Incluso los fomentos se usan para el dolor de muelas, para aliviar las rozaduras del bebé y los piquetes de insectos (Linares y cols., 1988 y Gutiérrez y cols., 2008).

Como té se usa para el tratamiento de cólicos menstruales, inflamación de la matriz, vaginitis, gastritis, afecciones respiratorias y gastrointestinales. También se acostumbra para tratar los golpes internos, moretones y contusiones donde hay dolor. Asimismo, el té es muy útil para aliviar el reumatismo, las úlceras gastrointestinales, la inflamación de vías urinarias y problemas de riñones; de igual manera se utiliza para tratar desórdenes nerviosos y bajar la fiebre (Linares y cols., 1988 y González-Stuart Comp., 2009 en URL, Mondragón-Pichardo, 2009).

Otras formas de preparación del árnica mexicana son las tinturas alcohólicas (Martínez 1969 en Linares y cols., 1988), las tabletas homeopáticas, las pomadas, cataplasmas y jarabes. La Red Mexicana de Plantas Medicinales la cultiva orgánicamente desde hace varios años en el estado de Tlaxcala (Gutiérrez y cols., 2008; Andrade-Cetto, 2009 y González-Stuart Comp., 2009 en URL, Mondragón-Pichardo, 2009).

## COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA

Desde 1976 se han identificado varios constituyentes de *Heterotheca inuloides*, especialmente:

- **Poliacetilenos** (Bohlmann, 1976 en Delgado y cols., 2001).
- **Candinanes** (Bohlmann y Zdero, 1976; Willuhn, 1987; Kubo y cols., 1994 en Delgado y cols., 2001).
- **Flavonoides** (Willuhn y cols., 1980 en Delgado y cols., 2001) (Willuhn, 1983; Jerga y cols., 1990<sup>a</sup> en Gené y cols., 1998).
- **Sesquiterpenoides** (Bohlmann y Zdero, 1976; Willuhn y Schneider, 1987 en Gené y cols., 1998).
- **Triterpenoides y esteroides** (Willuhn y Schneider, 1987 en Gené y cols., 1998).

De las flores secas de *H. inuloides* se han aislado, por bioensayos de fraccionamiento directo (en Kubo y cols., 1995), los siguientes sesquiterpenos:

- 1)  $\beta$ -cariofileno, (Bohlmann, 1979)
- 2)  $\beta$ -cariofileno-4,5- $\alpha$ -óxido, (Bohlmann, 1979)
- 3) 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalina, (Bohlmann, 1979)
- 4) 7-hidroxicadalina, (Kubo y Muroi, 1994).

Se identificaron tres componentes adicionales de las partes aéreas de *H. inuloides* (Delgado y cols., 2001), cuya estructura química se determinó a través de métodos espectroscópicos:

- 1) Cadaleno-15-oic ácido, (4-isopropil-1-metilnaftaleno-15-oic ácido) (sesquiterpeno)
- 2) 3,7-dihidroxi-3(4*H*)-isocadalen-4-one,
- 3) Dicadalenol (candinane)

Asimismo, en este estudio se aislaron otros compuestos ya conocidos (en Delgado y cols., 2001). Algunos de ellos son:

- 1) 7-hidroxi-4 $\alpha$ *H*-3,4-dihidrocadalina, (Gallagher, 1965 y Kubo, 1994).
- 2) 1 $\alpha$ -hidroxi-1(4*H*)-isocadalen-4-one, (Bohlmann, 1976)
- 3) Ácido 1 $\alpha$ -hidroxi-4 $\alpha$ *H*-1,2,3,4-tetrahidrocadalin-15-oic, (Bohlmann, 1982)
- 4) 7-(3,3-dimetilaliloxi)cumarina, (Lassak, 1972 y Chiang, 1982)
- 5) Cariolan-1,9 $\beta$ -diol, (sesquiterpeno) (Hegmann, 1994)
- 6) Estigmasterol
- 7)  $\beta$ -sitosterol.



En 1995, se aisló un nuevo sesquiterpeno por métodos espectroscópicos, también de las flores de *Heterotheca inuloides*:

- 1) inuloidina (2,7-dihidroxi-fl-calacoreno) (Kubo y cols., 1995).

Otros sesquiterpenos se han reportado para *H. inuloides* (Maldonado-López y cols., 2008):

- 1) 4-hidroxi-2-isopropil-4, 7-dimetil-1[4H] naftalinone
- 2) epóxido de  $\beta$ -carioleno

Además, se han reportaron flavonoles en las flores de *H. inuloides* (Kubo y cols., 1995):

- 1) quercitina (3,3',4',5,7-pentahidroxiflavona) (Kubo y Kinst-Hori, 1994)
- 2) camferol, (Kubo y Kinst-Hori, 1994).

Por otra parte, Jerga y colaboradores (1990) identificaron flavonoides glicósidos en la flor de *H. inuloides*, cuyas estructuras químicas se establecieron con datos espectrales e hidrólisis ácida total. Éstos fueron:

- 1) camferol 3-beta-glucósido,
- 2) 3-beta-galactósido,
- 3) 3-beta-rutinósido,
- 4) 3-beta-robinobiósido,
- 5) quercitina 3-beta-glucósido,
- 6) 3-beta-glucurónido,
- 7) 3-beta-glucurónido-6"-metilester,
- 8) 3-alpha-L-arabinósido,
- 9) 3-beta-rutinósido.

Adicionalmente, Jerga y colaboradores (1990) encontraron ácido caféico, protocatéquico, ácido clorogénico, así como umbeliferone.

Otros flavonoles encontrados en *Heterotheca inuloides* (Kubo y cols., 2000) son:

- 1) Galangina
- 2) Ramnetina
- 3) Morina
- 4) Buddlenoide A
- 5) Buddlenoide B
- 6) Isoquercitrina
- 7) Rutina

Se estableció, por análisis cristalográfico de rayos "X", la configuración absoluta del terpeno de las flores de *Heterotheca inuloides*, (-)-3-Hydroxy-a-calacorene (Bohlmann,

1976 en Stivanovic y cols., 2006) como (8R)-(-)-3-hydroxy-a-alcorenene (Stipanovic y cols., 2006).

La infusión de las hojas del árnica mexicana contiene flavonoides y aceites esenciales (Andrade-Cetto, 2005). Por cromatografía de gases y espectrometría de masas se identificaron un total de 42 compuestos volátiles del aceite esencial de las hojas de *H. inuloides* (Sagrero-Nieves y cols., 1996) que representaron el 98.1% del aceite obtenido. El 60% de los compuestos aislados está conformado por:

- 1)  $\alpha$ -Cubebeno (22.5%),
- 2) borneol (8.8%),
- 3) mirceno (6.6%),
- 4) epóxido de cariofileno (6.6%),
- 5) acetato de bornilo (6.1%),
- 6) alcanfor (5.6%)
- 7) trans,- $\beta$ -ocimeno (5.0%)

## FARMACOLOGÍA

### a) Bioactividad Bactericida

Kubo y colaboradores (1994) reportaron que los sesquiterpenoides de *Heterotheca inuloides*, 7-Hidroxi-3,4-dihidrocadaleno y 7-hidroxicalaleno exhibieron una potente actividad antibacterial contra bacterias gram-positivas con concentraciones mínimas inhibitorias en un rango de 6.25 a 12.5  $\mu\text{g/ml}$ . Notablemente, el 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno mostró actividad bactericida contra un agente etiológico de la gastroenteritis, caracterizada por vómitos y diarreas (Mandell, 1995): el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, con una mínima concentración bactericida de 12.5  $\mu\text{g/ml}$ . Asimismo, mostró cierta actividad antitumoral. Se reportó que los sesquiterpenos  $\beta$ -cariofileno y  $\beta$ -cariofileno-4,5- $\alpha$ -óxido también actúan como agentes antibacteriales (Kubo, 1994 en Kubo y cols., 1995). En estudios posteriores, se probó *in vitro* el efecto inhibitorio de extractos metanólicos y acuosos de las partes aéreas de *H. inuloides* (entre otras 53 plantas medicinales) sobre la bacteria gram-negativa *Helicobacter pylori* (Castillo-Juárez y cols., 2009), que como ya se ha mencionado, es el mayor agente etiológico de la gastritis crónica y de la úlcera péptica y cuya prevalencia en países en desarrollo se encuentra entre el 80 y el 90% (Pérez-Pérez, 2004 en Castillo-Juárez y cols., 2009). Los resultados mostraron que el extracto acuoso de *H. inuloides* exhibía un efecto inhibitorio moderado sobre esta bacteria con una concentración mínima inhibitoria (MIC) de 500  $\mu\text{g/ml}$ , mientras que su extracto metanólico mostraba un efecto inhibitorio bueno (MIC  $\mu\text{g/ml}$  =

31.5). Se observó que los extractos metanólicos de las plantas probadas con MIC's  $\leq$  250  $\mu\text{g/ml}$  resultaban ser mejores que el metronidazol para inhibir el crecimiento de *H. pylori*. Cabe esperar mejores efectos inhibitorios del análisis de componentes aislados de los extractos revisados.

### **b) Bioactividad anti-inflamatoria y analgésica**

Se han venido realizando ensayos farmacológicos para probar el potencial anti-inflamatorio de *Heterotheca inuloides*.

Gené y colaboradores (1998) realizaron estudios con extractos acuosos de las flores de *H. inuloides* y sus componentes para probar su actividad anti-inflamatoria *in vivo* en el edema inducido por carragenina en ratas. A una dosis de 100 mg/kg, se produjo una inhibición de la inflamación del 29%. De este extracto se obtuvieron tres fracciones: Etiléter (HI-1), butanol (HI-2) y una fracción acuosa (HI-3). El ensayo biológico de edema inducido por carragenina para estas fracciones, arrojó los siguientes valores como % de inhibición, a 100 mg/kg: HI-1, 19.9; HI-2, 58.0 y HI-3, 30.0. La actividad inhibitoria de HI-2 fue significativamente más efectiva que el de HI-1 y HI-3.

En dosis de 50–100 mg/kg, HI-2 también inhibió la inflamación inducida por dextrano (38.9–68.1%). El efecto inhibitorio de HI-2, con las mismas dosis, sobre el edema inducido por ácido araquidónico fue débil (0–33.9%). No se observó efecto alguno para los edemas inducidos por zimosan o por C16-PAF.

Además, HI-2 redujo las contracciones abdominales en ratones después de haber sido inyectados con ácido acético (50–100 mg/kg), que resultó en un 73.8–78.2% de inhibición. La actividad anti-inflamatoria y el efecto analgésico de HI-2 a 50 mg/kg fue similar al producido por 2.5 mg/kg de indometacina.

El efecto de HI-2 sobre el edema inducido por carragenina y sobre la mucosa gástrica sugiere que la inhibición de la biosíntesis de prostaglandinas debe estar involucrada en la actividad anti-inflamatoria de *H. inuloides*. Además, la habilidad de HI-2 para inhibir la inflamación inducida por dextrano indica que existen otros mecanismos que también toman parte. En resumen, los resultados muestran una marcada actividad anti-inflamatoria dosis-dependiente de la fracción HI-2 de *H. inuloides*. Sus principios activos inhiben específicamente ciertos edemas químicamente inducidos en ratas.

Segura y colaboradores (2000) sugirieron que uno de los mecanismos involucrados en la actividad anti-inflamatoria y analgésica del extracto acuoso del diclorometano de *H. inuloides* es el de la inhibición de prostaglandinas. Fue así que este extracto fue probado en varios modelos farmacológicos de inflamación tanto *in vitro* como *in vivo*.

El extracto de diclorometano inhibió la biosíntesis de prostaglandinas catalizada por COX-1 y COX-2, pero no la exocitosis de neutrófilos humanos inducida por fMLP ni por PAF; tampoco inhibió el edema inducido por carragenina en rata. Al ser probado en el edema del oído de ratón inducido por aceite de crotón se logró una inhibición del 38.7% a una dosis de 1mg/oído.

Del extracto de diclorometano se obtuvo el compuesto activo 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalina. Este compuesto inhibió el edema inducido por aceite de crotón, pero no el edema inducido por carragenina. La sustancia también mostró actividad inhibitoria en los ensayos de biosíntesis de prostaglandinas inducida por COX-1 y COX-2, mostrando una mayor selectividad sobre COX-1.

Dado que el extracto de diclorometano de *H. inuloides* manifestó un efecto inhibitorio similar en la biosíntesis de prostaglandinas inducida tanto por COX-1 como por COX-2 en los ensayos *in vitro*, es probable que contenga otros compuestos anti-inflamatorios que son más selectivos para COX-2. El compuesto 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalina tampoco mostró efecto en la exocitosis de neutrófilos humanos inducida por fMLP o por PAF.

Los resultados son consistentes con los hallazgos de que la biosíntesis de prostaglandinas participa en la evolución del edema de oído de ratón inducido por aceite de crotón y particularmente sugiere la participación de la COX-1. La ausencia de efecto anti-inflamatorio de 7-hydroxy-3,4-dihidrocadalina en el edema inducido por carragenina en rata, junto con la selectividad mostrada para COX-1, concuerda con la relación sugerida por Masferrer (1996 en Segura y cols., 2000) entre COX-2 y el edema inducido por carragenina. Por lo tanto, estos resultados y los reportados previamente (Gené y cols., 1998) señalan la contribución de los diferentes componentes de las flores de *H. inuloides* para el efecto anti-inflamatorio a través de diversas vías sobre los mecanismos de la inflamación, lo que explica en parte el uso de esta planta en la medicina tradicional.

Delgado y colaboradores (2001) evaluaron los efectos anti-inflamatorios y analgésicos *in vivo* de los extractos acetónicos de las partes aéreas de *Heterotheca inuloides*, y de sus compuestos aislados, sobre la inhibición del edema inducido por TPA (12-O-tetradecanoilforbol 13-acetato) en el oído de ratón.

Los compuestos aislados y evaluados del extracto acetónico de *H. inuloides* por Delgado y colaboradores (2001) fueron:

- (1) ácido cadalen-15-oic
- (2) 3,7-dihidroxi-3(4*H*)-isocadalen-4-one
- (3) dicadalenol
- (4) 7-hidroxicadalina
- (5) 7-hidroxi-4*αH*-3,4-dihidrocadalina
- (6) 1*α*-hidroxi-1(4*H*)-isocadalen-4-one
- (7) ácido 1*α*-hidroxi-4*αH*-1,2,3,4-tetrahidrocadalin-15-oic

(8) 7-(3,3-dimetilallyloxi) cumarina

(9) cariolan-1,9 $\beta$ -diol

(10) quercitina.

Aunque todos los compuestos mostraron actividad anti-inflamatoria con dosis-dependencia, el dicadalenol (D = 0.5 mg/oído, 70.15% de inhibición), el cariolan-1,9 $\beta$ -diol (D = 0.5 mg/oído, 56.17% de inhibición) y la quercitina (D = 0.5 mg/oído, 67.42% de inhibición) fueron las sustancias probadas con mayor actividad anti-inflamatoria. La evaluación de la actividad anti-inflamatoria de la indometacina a una D = 0.5 mg/oído correspondió a un 60.53% de inhibición del edema.

El dicadalenol se probó a bajas dosis debido a su limitada cantidad disponible; aún así, se encontró que fue el compuesto más activo. Sobre los cadinanes y los isocadinanes (1-7), se pudo observar que la presencia de grupos fenólicos o carboxílicos no tuvo influencia sobre sus actividades anti-inflamatorias. Las diferencias de los patrones estructurales entre el cariolan-1,9 $\beta$ -diol y los cadinanes sugieren que podrían actuar en diferentes puntos del proceso inflamatorio. Existen similitudes estructurales y de bioactividad entre el dicadalenol y la quercitina. Aunque estos compuestos se forman por diferentes vías, podrían tener un mecanismo de acción biológica similar.

En conclusión, las partes aéreas de *H. inuloides* (hojas, flores y tallos) contienen una serie de metabolitos secundarios que despliegan actividades anti-inflamatorias tópicas. Estos resultados se correlacionan con algunos de los usos populares del árnica mexicana.

### c) Bioactividad como inhibidor de la tirosinasa

Kubo y colaboradores (2000) encontraron que la actividad inhibidora de la tirosinasa de los flavonoles galangina, camferol y quercitina, proviene de su habilidad para quelar cobre en la enzima. El mecanismo de quelación parece ser específico para flavonoles siempre y cuando el grupo 3-hidroxilo esté libre. El efecto de los flavonoles en la actividad enzimática ocurre por diferentes vías. Por ejemplo, la quercitina se comporta como cofactor y no inhibe la actividad de la monofenolasa. Por otro lado, la galangina inhibe la actividad de la monofenolasa y no actúa como cofactor. El camferol no actúa como cofactor y tampoco inhibe la actividad de la monofenolasa. Sin embargo, estos tres flavonoles inhiben la actividad de la difenolasa quelante de cobre en la enzima.

En estudios anteriores se reportó que la quercitina aislada de las flores secas de *Heterotheca inuloides*, era el principal inhibidor de la enzima tirosinasa (Kubo 1994 en Kubo y cols., 2000). La quercitina actuó como un inhibidor competitivo de la oxidación de la I-DOPA catalizada por la tirosinasa de champiñones con un ID50 de 22 mg/mL (0.07mM) (Kubo y cols., 2000). La pre-incubación de la enzima en presencia de 0.07 mM de quercitina y en la ausencia de I-DOPA incrementó la actividad inhibitoria de 45 a 77%. Los 3-O-glicósidos de la quercitina, la isoquercitrina y la rutina, no actuaron como

inhibidores ni como sustratos, lo que sugiere que el grupo 3-hidroxil está relacionado con la actividad de la quercitina.

Se encontró que la tirosinasa contiene un sitio activo de cobre binuclear que le permite funcionar como una monofenolasa y también como una difenolasa (Sánchez-Ferrer, 1995 en Kubo y cols., 2000), indicando así que posee sitios catalíticos separados para las dos oxidaciones y otro sitio de unión independiente como cofactor para L-DOPA (Duckwort, 1970 y Hearing, 1976 en Kubo y cols., 2000).

Kubo y colaboradores (2000) propusieron que la quercitina desplaza preferencialmente a la L-DOPA del sitio activo del cofactor de la enzima, debido a su parecido estructural al sustrato, ya que una porción de su estructura "1a" es análoga a la L-DOPA. Sugirieron que las interacciones entre la tirosinasa y los sustratos ocurren en el sitio binuclear del cobre. Los dos tipos de sustratos, monofenólicos y o-difenólicos, reaccionaron con diferentes estados de oxidación de los sitios activos binucleares de cobre de la enzima.

Tanto la quercitina como el camferol inhiben la actividad de la o-difenolasa y parece ser que la quercitina puede ser un cofactor alternativo para iniciar la actividad de la monofenolasa, mientras que el camferol no. De hecho, la oxidación de la L-tirosina en presencia de la quercitina ocurrió sin la manifestación de la fase de latencia. El camferol no anuló dicha fase. Aunque los 3-O-glicósidos no se comportan como inhibidores ni como sustratos, la isoquercitrina actuó como cofactor suprimiendo la fase de latencia de la oxidación.

En el caso de la quercitina, una fracción de la estructura 1b (3-hidroxi-4-keto) es análoga al ácido Kojic, un potente inhibidor de la tirosinasa. La inhibición dada por el ácido Kojic proviene de su habilidad para quelar cobre en la enzima (Kanh, 1995 en Kubo, 2000). Esto sustenta la conclusión de que la quercitina y el camferol quelan cobre en la enzima, lo que explica el mecanismo de la actividad inhibidora de dichas sustancias sobre la tirosinasa.

La estructura "1b" sólo se encuentra en los flavonoles. Lo que sugiere, que la quelación de cobre es su principal mecanismo de inhibición, siempre y cuando el grupo 3-hidroxil esté libre. En otras palabras, los flavonoles inhiben la oxidación de la L-DOPA catalizada por la tirosinasa de champiñones como quelantes de cobre.

La oxidación enzimática de la L-tirosina para la síntesis de la melanina y sus inhibidores cobran importancia en la medicina debido a que existen enfermedades que provocan alteraciones en la síntesis de la melanina. Los flavonoles son un raro ejemplo de inhibidores de la tirosina con actividad antioxidante. Este conocimiento puede contribuir al diseño de agentes de control de la tirosinasa más seguros y efectivos.

Las melaninas juegan un papel crucial en la absorción de los radicales libres generados en el citoplasma celular y para la protección de la célula de varios tipos de radiación

ionizante. La oxidación de la l-tirosina es el paso inicial para la síntesis de melanina (Holme, 2001 en Kubo y cols., 2007) y de la catecolamina. La actividad anticancerígena específica para el melanoma también está ligada a la actividad de la tirosinasa (Prezioso, 1992, en Kubo y cols., 2000). La tirosinasa podría jugar un papel importante en la formación de neuromelanina en el cerebro humano, particularmente en la sustancia nigra (Xu, 1997 en Kubo y cols., 2007).

Lo anterior hizo necesario continuar con el estudio de los efectos de la quercitina en la oxidación de la l-DOPA catalizada por la tirosinasa de champiñones, además de observar el efecto que ésta pudiera tener en las células cultivadas B16-F10 de melanoma de ratón (Kubo y cols., 2007). *In vitro*, la tirosinasa es una enzima clave en la biosíntesis de la melanina y por lo tanto Kubo y sus colaboradores (2007) esperaban que sus inhibidores también impidieran dicha producción. Por lo tanto, uno de sus objetivos consistía en probar si la quercitina inhibía la melanogénesis en los melanocitos sin afectar el crecimiento celular. Lo anterior condujo a revisar si este compuesto se oxidaba a la correspondiente *o*-quinona en los melanocitos y si bloqueaba la biosíntesis de la melanina (ver Toxicidad, Citotoxicidad y Genotoxicidad de esta planta más adelante).

En la búsqueda de inhibidores de la tirosinasa provenientes de plantas utilizando la l-DOPA como sustrato, los resultados obtenidos por Kubo y colaboradores (2007) mostraron que en la oxidación de la l-DOPA catalizada por tirosinasa, la quercitina actuó no sólo como cofactor, sino también como sustrato al oxidarse a su vez, en forma parcial, a la *o*-quinona correspondiente y a una serie de compuestos secundarios, mientras que la quercitina restante formó aductos con la dopaquinona, precursor de la melanina. En general, se observó que los flavonoles forman aductos con la dopaquinona siempre y cuando su grupo 3-hidroxil esté libre. El papel de la quercitina como sustrato en esta reacción química, inhibe la síntesis de la melanina a través de la formación de compuestos secundarios diferentes a la dopaquinona y de la formación de aductos con la dopaquinona. Cabe señalar que las reacciones para la formación de aductos son reversibles, lo que sugiere la probabilidad de cierta mutagenicidad (Pérez-Trueba, 2003).

#### **d) Bioactividad antioxidante**

Se han desarrollado antioxidantes sintéticos como el hidroxianisol butilado (BHA) y el hidroxitolueno butilado (BHT) para contrarrestar el efecto oxidante de los radicales libres reactivos al oxígeno que producen muerte celular y neoplasia (Smith, 1985 en Haraguchi y cols., 1997) y que están implicados en enfermedades cardiovasculares (Gay, 1992 en Haraguchi y cols., 1997), en la inflamación intestinal crónica, cáncer, SIDA (Halliwell, 1992 en Haraguchi y cols., 1997) y en la degeneración neuronal y celular debido a la edad (Hiramatsu, 1992 en Haraguchi y cols., 1997). Sin embargo, su uso comienza a restringirse debido a su toxicidad (Ito, 1983 y Namiki, 1990 en Haraguchi y cols., 1997). La vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) es un antioxidante natural efectivo pero de uso limitado (Fang, 1993 en Haraguchi y cols., 1997). Como resultado, se ha generado un importante interés

en la industria de los alimentos y de la medicina preventiva para el desarrollo de antioxidantes naturales de origen botánico.

Los sesquiterpenoides 7-hidroxi-3,4-dihidroscadalina y 7-hidroscadalina aislados de *Heterotheca inuloides* demostraron que inhiben la peroxidación lipídica, tanto autoxidativa como microsomal (Kubo y cols., 1996). Particularmente el 7-hidroxi-3,4-dihidroscadalina, evaluado por Haraguchi y colaboradores (1996), inhibió la peroxidación lipídica mitocondrial y microsomal inducida por Fe(III)-ADP/NADH o por Fe(III)-ADP/NADPH. Este compuesto mostró ser eficaz para la protección de los sistemas biológicos contra el estrés oxidativo, ya que preservó a las células rojas de la hemólisis oxidativa.

Haraguchi y colaboradores (1997) evaluaron la actividad antioxidante de los sesquiterpenos 7-hidroxi-3,4-dihidroscadalina y 7-hidroscadalina, y de los flavonoides quercitina, camferol y sus glicósidos; todos ellos aislados de *H. inuloides*. Estos compuestos mostraron una potente actividad de barrido (captura) del radical difenil-*p*-picrilhidrazil (DPPH). La peroxidación lipídica microsomal inducida por Fe(III)-ADP/NADPH fue inhibida tanto por los terpenoides como por los flavonoides. Sin embargo, sólo los flavonoides presentaron actividad de barrido de aniones superóxido en los microsomas. Los flavonoides también eliminaron los aniones superóxido generados tanto por vía enzimática como no enzimática. Por otro lado, la peroxidación lipídica microsomal inducida por Fe(III)-ADP/NADH fue inhibida sólo por los sesquiterpenoides. Aún más, estos terpenos protegen la actividad enzimática mitocondrial contra el estrés oxidativo. Los resultados mostraron que hay dos tipos de antioxidantes en las flores secas de *H. inuloides* y que contribuyen a la protección de los tejidos contra varios tipos de estrés oxidativo.

La peroxidación lipídica es una oxidación típica de radicales libres y ocurre a través de una reacción en cadena cíclica (Witting, 1980 en Haraguchi y cols., 1997). Este ciclo se rompe por la inactivación enzimática de las especies consumidoras de oxígeno o por reacciones no enzimáticas que requieren de la intervención de radicales libres antioxidantes o captadores de radicales libres (scavengers) (Slater, 1984 y Niki, 1987 en Haraguchi y cols., 1997). Este reporte caracterizó la actividad antioxidante y de captación (barrido) de aniones superóxido de los constituyentes de *Heterotheca inuloides*, además de examinar el efecto de sus terpenoides y compuestos relacionados en la autoxidación del ácido linoleico.

Los lípidos de membrana son ricos en ácidos grasos insaturados. Estas moléculas son muy susceptibles a los procesos de oxidación (Porter, 1985 en Haraguchi y cols., 1997), el ácido linoleico en particular. En este estudio, Haraguchi y colaboradores (1997) examinaron el efecto de algunos terpenoides y compuestos relacionados de *H. inuloides* en la autoxidación del ácido linoleico. Los sesquiterpenoides 7-hidroxi-3,4-dihidroscadalina y la 7-hidroscadalina mostraron una potente actividad antioxidante contra la autoxidación del ácido linoleico. Se observó casi el 80% de inhibición de esta oxidación a una concentración de 10 µg/mL de ambos compuestos. Estructuralmente estos sesquiterpenos, especialmente el 7-hidroscadalina, contienen fragmentos β-naftol y *p*-



cimeno que a concentraciones por debajo de 30  $\mu\text{g/mL}$ , casi no mostraron efecto inhibitorio sobre la autooxidación del ácido linoleico. El carvacrol y el timol sí mostraron una actividad antioxidante.

Haraguchi y colaboradores (1997) también examinaron la actividad de barrido de radicales libres DPPH de los mismos compuestos de *H. inuloides*. Los sesquiterpenos 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalina y el 7-hidroxicadalina, y el  $\beta$ -naftol exhibieron una importante actividad de barrido de estos radicales, incluso mejor que la mostrada contra el proceso de autooxidación del ácido linoleico. Sin embargo, el  $p$ -cimeno, el carvacrol y el timol no mostraron efecto alguno sino hasta una concentración mayor de 30  $\mu\text{g/mL}$ .

Los flavonoides son reconocidos como antioxidantes naturales y captadores (barredores) de radicales libres (Larson, 1988 en Haraguchi y cols., 1997). La quercitina, el camferol y sus glicósidos exhiben una potente actividad de barrido de radicales DPPH. La peroxidación lipídica resulta de la formación de radicales libres en las células y tejidos, dónde participan activamente los productos de reducción de un electrón del  $\text{O}_2$ , de los aniones superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), del peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y del radical hidroxilo ( $\text{OH}^\cdot$ ) (Mayumi, 1993 en Haraguchi y cols., 1997). Se revisó la actividad de barrido de aniones superóxido generados enzimáticamente por la acción de la oxidasa xantina de los flavonoides. Algunos de ellos resultaron potentes barredores (captadores) de  $\text{O}_2^-$ . Todos los flavonoides inhibieron la generación no-enzimática de  $\text{O}_2^-$ . Contrariamente, los sesquiterpenos no mostraron ninguna inhibición de la generación de  $\text{O}_2^-$ .

Los lípidos de membrana son particularmente susceptibles a la oxidación, no solo por su alto contenido de ácidos grasos polinsaturados, sino también por su asociación con sistemas enzimáticos y no-enzimáticos capaces de generar radicales libres (Halliwell, 1990 en Haraguchi y cols., 1997). Los microsomas, especialmente los que incluyen retículo endoplásmico, producen fácilmente peróxidos lipídicos. (Roders, 1978 en Haraguchi y cols., 1997). En el ensayo, la peroxidación lipídica ocurre cuando los microsomas de hígado de rata son incubados con  $\text{Fe(III)-ADP/NADPH}$ . Un antioxidante sintético común como el BHT, inhibió completamente esta peroxidación a una concentración de 10  $\mu\text{g/mL}$ . Los sesquiterpenoides estudiados inhibieron fuertemente la producción de estos peróxidos lipídicos, alcanzando una inhibición completa a la concentración de 10  $\mu\text{g/mL}$ , tanto para la 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalina, como para la 7-hidroxicadalina. El resto de los compuestos sesquiterpenoides mostraron un patrón similar al observado con el ácido linoleico. Algunos flavonoides de *H. inuloides* también mostraron inhibición de la peroxidación lipídica microsomal, particularmente el aglicón, la quercitina y el camferol, que resultaron ser potentes antioxidantes en los microsomas. El anión superóxido y el peróxido de hidrógeno pueden convertirse en radicales hidroxilo, que resulta en peroxidación lipídica en la membrana celular. Los flavonoides, como la quercitina, inhiben esta reducción en la generación de aniones superóxido incubados con NADPH en microsomas de hígado de rata. Los sesquiterpenoides del estudio, que son antioxidantes importantes en los microsomas, no surtieron efecto.

Debido a la alta ocurrencia de reacciones redox que liberan electrones que posteriormente formarán especies reactivas de oxígeno, existe un gran estrés oxidativo en las mitocondrias que afecta su actividad, sobre todo de las enzimas NADH-citocromo c reductasa y de la succinato citocromo c reductasa, que son los sitios más sensibles al daño por peroxidación mitocondrial (Narabayashi, 1982 en Haraguchi y cols., 1997). La peroxidación lipídica mitocondrial, producida en las partículas submitocondriales, es NADH/NADPH dependiente y ocurre en presencia de ADP y Fe(III) (Takayanagi, 1980 en Haraguchi y cols., 1997). Se obtuvo una inhibición completa de la actividad oxidativa en la mitocondria a una concentración de 10 µg/mL de BHT, un antioxidante sintético. En el ensayo *in vitro*, los flavonoides de *Heterotheca inuloides* (quercitina, camferol y sus glucósidos) no tuvieron efecto en la peroxidación lipídica de mitocondrias de hígado de rata, sino hasta los 30 µg/mL, contrario a lo ocurrido en los microsomas. En cambio, los sesquiterpenoides mostraron una actividad antioxidante más potente contra la peroxidación lipídica mitocondrial (1-3 µg/mL de 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalina y de 7-hidroxicalalina), que aquella mostrada contra la peroxidación lipídica microsomal.

Muchos metabolitos secundarios de las plantas exhiben actividad antioxidante y se han propuesto varios mecanismos de acción. Particularmente, los flavonoides han sido bien estudiados a nivel de la relación estructura-actividad. Los materiales antioxidantes que actúan en los sistemas biológicos se clasifican como antioxidantes preventivos y de ruptura de cadena. Los flavonoides de *H. inuloides* barren aniones superóxido generados enzimática o no enzimáticamente y en el microsoma, lo que los hace definirse como antioxidantes preventivos. Por otro lado, los sesquiterpenoides aislados inhiben fuertemente la peroxidación lipídica sin afectar la generación de radicales superóxido, por lo que pueden ser descritos como antioxidantes de ruptura de cadena.

Los resultados del estudio de Haraguchi y colaboradores (1997) muestran que hay dos tipos de antioxidantes en las flores secas de *H. inuloides*. Sus diferentes efectos pueden contribuir a varias actividades farmacéuticas de este remedio.

## TOXICIDAD, CITOTOXICIDAD Y GENOTOXICIDAD

Hasta la fecha, no se han reportado efectos tóxicos ni secundarios en el empleo medicinal del árnica mexicana (*Heterotheca inuloides*), lo que es contrario a lo que sucede con el árnica europea (*Árnica montana*), la cual resulta ser altamente tóxica (Gutiérrez y cols., 2008). El uso interno de *H. inuloides* no irrita el tubo digestivo y ni eleva la presión arterial. Lamentablemente es cada vez más frecuente que el árnica mexicana que se consume en el país provenga de sitios contaminados por metales pesados (agentes genotóxicos) y bacterias patógenas (Gutiérrez y cols., 2008), ésto debido a sus hábitos ruderales y de

zonas perturbadas. Aún así, es importante recordar que esta planta ya está siendo cultivada en nuestro país, lo que asegura el correcto manejo de la planta y la conservación de sus características.

Gené y colaboradores (1998) probaron la actividad anti-inflamatoria, analgésica y ulcerogénica de extractos acuosos de las flores de *Heterotheca inuloides* y de sus componentes aislados *in vivo* sobre el edema inducido por carragenina en ratas (ver Bioactividad anti-inflamatoria y analgésica). Una de las fracciones obtenidas del extracto acuoso de *H. inuloides*, la HI-2 (butanol), fue especialmente probada en la inhibición del edema. El examen peritoneal realizado después del tratamiento con HI-2 mostró que la acción anti-inflamatoria del extracto no ocasionó irritaciones, tampoco en la zona de la inyección. Adicionalmente, se efectuó un ensayo ulcerogénico en la mucosa gástrica de ratones administrándoles el compuesto HI-2 en forma intraperitoneal. El índice de ulceración después del tratamiento fue de  $0.5 \pm 0.5$  a 50 mg/kg (efecto casi nulo), y de  $1.2 \pm 0.4$  a 100 mg/kg, lo que produjo eritemas gástricos. Se concluye que la actividad tóxica no es relevante en el uso tópico o interno de infusiones de esta planta.

Algunos sesquiterpenos de *H. inuloides* mostraron cierta actividad citotóxica contra varias líneas celulares de tumores sólidos (Kubo, 1996 en Delgado y cols., 2001). Los compuestos revisados para esta actividad fueron el beta-cariofileno, beta-cariofileno 4,5 alfa-óxido, 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalina y 7-hidroxicalalina (Kubo y cols., 1996).

Como se comentó anteriormente, la síntesis de melanina es de gran importancia médica debido a que este pigmento tiene muchas funciones en los sistemas humanos, mismas que se pueden ver alteradas si ocurren errores en su síntesis, lo cual es causa de enfermedades como el cáncer. Las melaninas participan en la eliminación de radicales libres generados en el citoplasma y protegen a la célula de radiaciones ionizantes. Kubo y colaboradores (2007) probaron si la quercitina inhibía la melanogénesis en los melanocitos sin afectar el crecimiento celular; es decir, sin causar efecto tóxico. Esto condujo a revisar si este compuesto se oxidaba a la correspondiente *o*-quinona en los melanocitos y si bloqueaba la biosíntesis de la melanina. Lo obtenido mostró que la quercitina, a concentraciones mayores de 5  $\mu$ M, incrementaba la producción celular de melanina en células cultivadas de melanoma de ratón B16-F10. Este efecto puede deberse en parte a la melanocitotoxicidad. La concentración de quercitina que conduce a la pérdida de células viables se estableció en 20  $\mu$ M y la letalidad casi completa se observó a una concentración de 80  $\mu$ M.

Los resultados son similares a los previos que han reportado que la quercitina incrementa la melanogénesis en las células de melanoma humanas y en melanocitos humanos normales, al incrementar la actividad y síntesis de la tirosinasa (Nagata, 2004 en Kubo y cols., 2007). Pudiera explicarse, al menos en parte, que el incremento dramático en el contenido melanínico de la célula a concentraciones mayores a 20  $\mu$ M de quercitina es consecuencia de la muerte celular inducida por concentraciones citotóxicas de quercitina (Metodiewa, 1999 en Kubo y cols., 2007), más que por un efecto directo de la quercitina.

La prueba con rutina no mostró citotoxicidad ni suprimió la formación de melanina hasta una concentración de 200  $\mu\text{M}$ . Con el ácido Kojic, la producción de la melanina en células cultivadas se suprimió en forma dosis-dependiente sin afectar el crecimiento celular hasta 1 mM.

La causa precisa de la toxicidad de la quercitina todavía permanece sin explicación. Una de las muchas posibilidades consiste en que la quercitina entra en las células atravesando la membrana por difusión pasiva; una vez dentro, la quercitina podría oxidarse parcialmente a la quinona metilada correspondiente (altamente reactiva), la cual se une a diversos materiales intracelulares, entre ellos algunas especies reactivas al oxígeno (altamente oxidante). La galangina, la crisina y la 7-hidroxiflavona también exhibieron citotoxicidad para las células de melanoma cultivadas. Los resultados se obtuvieron *in vitro*. Sin embargo, el significado biológico de la quercitina como inhibidor de la síntesis de melanina en sistemas vivos es todavía desconocido. La mayoría de los pacientes de cáncer que fallecen, mueren de metástasis. La quercitina y la rutina fueron previamente probadas como inhibidores de la metástasis de pulmón en ratón inducida por células de melanoma B16-F10. La administración oral de rutina a una concentración de 200 nmol/kg de peso impidió la formación de nódulos del tumor en el pulmón, pero la quercitina no dio resultados similares (Menon, 1995 en Kubo y cols., 2007).

Pérez-Trueba (2003) discutió la genotoxicidad de algunos flavonoides como la quercitina, el camferol, la rutina y la galangina entre otros. Debido a sus características estructurales, estos metabolitos pueden reducir el  $\text{Fe}^{3+}$  y el  $\text{Cu}^{2+}$  para sufrir una auto-oxidación o incluso involucrarse en un proceso cíclico de reacciones redox, actuando así, como agentes pro-oxidantes genotóxicos. Algunos de los mecanismos, a través de los cuales los flavonoides ejercen sus acciones pro-oxidantes, incluyen la reducción temporal de  $\text{Cu(II)}$  a  $\text{Cu(I)}$  (Rahaman, 1989, 1992 y Brown, 1998 en Pérez-Trueba, 2003), la generación de especies reactivas al oxígeno (Sahu, 1993 y 1997 en Pérez-Trueba, 2003) y la afectación de las funciones de los componentes del sistema de defensa antioxidante nuclear: glutatión y glutatión-S transferasa (Sahu, 1996 en Pérez-Trueba, 2003).

La quercitina manifestó la capacidad de generar peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) en una solución amortiguadora de acetato pH 7.4, al donar un átomo de hidrógeno de su estructura al oxígeno por conducto de un  $\text{O}_2^-$ . Por medio de su radical fenoxilo pro-oxidante, oxidó al NADH en el sistema peroxidasa/ $\text{H}_2\text{O}_2$ . Los radicales NAD originados generaron  $\text{H}_2\text{O}_2$  en el medio (Chan, 1999 en Pérez-Trueba, 2003). La quercitina, la morina y la miricetina, incrementaron la generación de  $\text{OH}^-$  a través de la reacción de Fenton, en un ensayo basado en la determinación de ácido metanesulfónico producido por la reacción entre el dimetilsulfóxido y este radical (Hanasaki, 1994 en Pérez-Trueba, 2003).

La quercitina, la rutina y la galangina entre otros flavonoides, causaron la ruptura del ADN de timo de carnero en presencia de  $\text{Cu}$  y oxígeno molecular. La quercitina dio lugar a la 8-OH-2'-desoxiguanosina, lesión oxidativa del ADN de mayor potencial mutagénico (Rahman, 1982 y Yoshino, 1999 en Pérez-Trueba, 2003). Un estudio más detallado,

basado en un análisis de los fragmentos obtenidos del gen supresor de tumores p53, puso de manifiesto que el daño oxidativo al ADN inducido por la quercitina en presencia de Cu, transcurre a través del ataque de los residuos de timina y citosina, y que la luteolina y el camferol también inducen daños al ADN en presencia de este metal. Al parecer, la sustitución orto 3'-4'-dihidroxi en el anillo B resulta esencial para la formación de quelatos Cu y el OH de la posición 3 aumenta la oxidación de los flavonoides como la quercitina y el camferol en presencia de este, cosa que no ocurre con otros compuestos como la luteolina y la rutina, que carecen de este grupo.

Los estudios presentados por Pérez-Trueba (2003) ponen en evidencia que los flavonoides pueden comportarse como antioxidantes y como pro-oxidantes; influyen en ello factores como: las condiciones del ensayo, la concentración efectiva que se alcance en el sitio donde la especie reactiva al oxígeno es formada; la estabilidad del radical del flavonoide formado al donar un átomo de hidrógeno; la lipofilicidad para ser captados por la membrana y el pH del medio. Por esto, a pesar de que usualmente se asegura que los flavonoides están libres de toxicidad y efectos secundarios, lo que permite sus amplios usos terapéuticos, es necesario profundizar en las investigaciones al respecto, para sustentar con ensayos clínicos regulados los usos medicinales y dosis recomendadas para evitar que por sobredosis se generen efectos genotóxicos (Pérez-Trueba, 2003).

## CONCLUSIONES

En la revisión bibliográfica del árnica mexicana (*Heterotheca inuloides*), se encontró que su uso como medicina tradicional está muy extendido en nuestro país; no sólo por sus efectos terapéuticos, sino también por su amplia y accesible distribución. A esta planta se le atribuyen una variedad efectos curativos como anti-inflamatorio, analgésico, desinfectante y cicatrizante. Por ello, se le utiliza como tratamiento para un gran número de enfermedades relacionadas con procesos inflamatorios, dolor, fiebre y para la prevención y control de algunas infecciones externas como en heridas; e internas, por ejemplo en vías urinarias, vaginitis y gastrointestinales con manifestación diarreica.

Los estudios científicos sobre esta planta inician con la identificación de sus compuestos activos, especialmente en la flor, que es la estructura más utilizada en la elaboración de remedios tradicionales. Dentro de sus principales componentes se encuentran varios sesquiterpenos, que confieren el sabor amargo de la planta y flavonoles, responsables entre otros, de la pigmentación de las flores. Los ensayos farmacológicos realizados están encaminados a probar el potencial de estos compuestos como anti-inflamatorios, analgésicos, bactericidas, inhibidores de la tirosinasa, antioxidantes e incluso, como

agentes antitumorales. También se hicieron anotaciones sobre su toxicidad, la cual se reporta como limitada, tal vez a falta de información sobre el tema.

Se concluye que los efectos anti-inflamatorios, analgésicos, bactericidas y antioxidantes conferidos a esta planta han sido probados en los trabajos revisados, lo que da sustento científico a muchos de los usos de *H. inuloides* en la medicina tradicional. De igual manera se ha estudiado el papel de sus componentes como inhibidores de la tirosinasa y como agentes antitumorales. Sin embargo, sería necesario profundizar en el estudio de *Heterotheca inuloides* como antidiarreico, ya que este uso ha sido reportado por varias fuentes (Linares y cols., 1988 y González-Stuart Comp., 2009 en URL, Mondragón-Pichardo, 2009) y no se ha realizado ningún trabajo específico al respecto. De la información presentada hasta el momento, se deduce que el empleo de *H. inuloides* puede ser un tratamiento válido contra la diarrea aguda causada por bacterias, en especial por *Staphylococcus aureus* (Kubo y cols., 1994). Los efectos alternos de su uso contra la diarrea pueden estar dirigidos al control de la inflamación de los intestinos, a la disminución de las contracciones intestinales (retortijones), y al abatimiento del dolor provocado, tanto en la zona abdominal, como al malestar general y fiebre, en el caso de infecciones gastrointestinales.

## Ficha Informativa

### ***Tagetes erecta* L., 1753 (Asteraceae)**

**Sinónimos Nomenclaturales:** *Tagetes elongata* Willd., 1803. *Tagetes excelsa* Soule, 1971. *Tagetes major* Gaertn., 1791. *Tagetes patula* L., 1753. *Tagetes remotiflora* Kuntze, 1847.

**Nombres Comunes:** Cempasúchil, Cempoalxóchitl, Cimpual, Cempoal, Zempoala, Flor de Muertos o del Difunto; Periquillo.

**Usos medicinales tradicionales en México:** Para padecimientos digestivos como dolor de estómago, diarrea, disentería, se toma la flor en té, sola o con otras hierbas. Como desparasitante (antihelmíntico y nematotóxico) y digestivo se toma las hojas en té. Para afecciones hepáticas, bilis, vómitos, indigestión, para lavados intestinales y como carminativo. Se emplea como febrífugo y para enfermedades respiratorias: catarro, gripa, bronquitis, y mormado. Para cólicos menstruales, lavados vaginales, baños postparto, para que baje la leche y como abortiva. En afecciones de la piel: salpullido, llagas, verrugas y granos amortajados. Para aliviar alteraciones nerviosas, insomnio, y controlar ataques epilépticos. Para diabetes, el reumatismo, irritación de los ojos, dolor de oídos y de cabeza, cáncer, fístulas, hidropesía. Como antiespasmódico y antipalúdico. Suele prepararse las hojas con o sin la flor, ya sea en cocimiento, infusión, sahumero o fritas para administrar oral o localmente, e inhalada. En algunos casos se le mezcla con otras plantas o materiales (p. ej. alectoria).

**Descripción Botánica:** Planta herbácea anual, erecta. De 50 a 100 cm de alto, hasta 1.8 m. Tallo estriado, a veces acostillado, glabro o pubescente. Hojas opuestas en la parte inferior, alternas en la superior; de hasta 20 cm de largo, pinnadas, de 11 a 17 foliolos, lanceolados a linear-lanceolados, de hasta 5 cm de largo, agudos a acuminados, aserrados a subenteros, los inferiores de cada hoja frecuentemente setiformes, los superiores reducidos; con glándulas redondas abundantes y aromáticas. Cabezuelas solitarias o agrupadas, sobre pedúnculos de hasta 15 cm de largo, con brácteas pinnadas y segmentos cerdiformes en el ápice. Cabezuela con involucre campanulado, de 13 a 20 mm de alto y 9 a 25 mm de ancho, con 5 a 11 brácteas, glabras y de ápices triangulares, con dos hileras de glándulas. Flores liguladas de 5 a 8, o más, amarillas a rojas, láminas oblanceoladas a obovadas de 1 a 2 cm de largo. Flores del disco de 150 a 250 en las cabezuelas sencillas, en las "dobles" con diferentes grados de transformación en lígulas, corolas amarillas a anaranjadas, de 8 a 10 mm de largo. Aquenios lineares de 7 a 10 mm

de largo, glabros o hispídulos en los ángulos, vilano de 1 o 2 escamas acuminadas de 6 a 12 mm de largo y 2 o 3 escamas romas de 3 a 6 mm de largo, más o menos unidas entre sí. Raíz fibrosa. En el Bajío florece de septiembre a diciembre. Ruderal y arvense. Distribuida en México y América Central, en las regiones de la selva baja caducifolia, matorral xerófilo y bosques espinoso, mesófilo de montaña, de encino, de pino y mixto de pino-encino. De climas cálido, semicálido, seco y templado. Se le encuentra desde los 8 a los 3900 msnm. Cultivada.

**Compuestos Activos:** Tienilos (nematotóxicos y trematotóxicos en plantas). Terpenoides: limoneno,  $\alpha$ -terpinoleno, dihidrotageteno y o-cimeno con posibles efectos bactericidas (vs. Gram-positivas). Carotenoides antioxidantes, especialmente la luteína, luego los  $\alpha$ - y  $\beta$ - carotenos. Los  $\beta$ - carotenos como pro-vitamina A. La luteína y la xantina como agentes preventivos de la degeneración macular debido a la edad. Carotenoides: luteína,  $\beta$ -caroteno, y  $\alpha$ -caroteno con actividad quimiopreventiva, inhibiendo la carcinogénesis al favorecer la comunicación intracelular. La luteína como cardioprotector contra el endurecimiento cardiovascular causado por la edad y las enfermedades coronarias.

**Toxicidad:** Se registró letalidad de los extractos etanólico y acuoso de la planta completa en ratones (IC50 de 0.1g/kg de peso). El  $\alpha$ -tertienilo es un compuesto fototóxico con efectos nematotóxico, bactericida, fungicida e insecticida en fitopatógenos. El  $\beta$ -caroteno, entre otros carotenoides incrementa la incidencia del cáncer de pulmón en altas dosis, especialmente entre los fumadores. Las xantofilas y la luteína de inhiben la mutagenicidad de 1-NP (mutágeno de las cepas de *Salmonella typhimurium*) en forma dosis-dependiente. Los pigmentos y la luteína no resultaron tóxicos para la bacteria en las concentraciones probadas. La luteína no se comporta como agente mutagénico y su antimutagénico ocurre en forma dosis-dependiente. Resultados similares se obtuvieron al probar la clastogenicidad y la anti-clastogenicidad de la luteína. Lo que sustenta científicamente el uso seguro de la luteína y algunos de sus beneficios para la salud humana.



## 6.4. *Tagetes erecta* L., 1753

### CLASIFICACIÓN

(Tropicos.org., MBG, 2010)

Plantae

Magnoliophyta

Magnoliopsida

Asterales

Asteraceae

***Tagetes***

***erecta***



Pub. en Culture Sheet dot Org, 2010

### SINÓNIMOS TAXONÓMICOS Y NOMENCLATURALES

(Tropicos.org., MBG, 2010)

*Tagetes elongata* Willd., 1803

*Tagetes ernstii* H. Rob. & Nicolson, 1975

*Tagetes excelsa* Soule, 1971

*Tagetes heterocarpha* Rydb., 1915

*Tagetes major* Gaertn., 1791

*Tagetes patula* L., 1753

*Tagetes remotiflora* Kuntze, 1847

*Tagetes tenuifolia* Cav., 1793



Foto. P. Tenorio Lezama

## NOMBRES COMUNES

**Cempoal, flor de muertos** (Veracruz, Chiapas, Tabasco y Valle de México) y **nulibé** (Martínez, 1979 en URL, Mondragón-Pichardo, 2009 y Martínez, 1994).

**Cempazúchil** (Tabasco y Chiapas), y **periquillo** (Villarreal, 2003 en URL, Mondragón-Pichardo, 2009 y Martínez, 1994).

**Cempoalxóchitl** (náhuatl) Hernández (1959), Martínez (1969) y Sahagún (1979) (en Linares y cols., 1988 y Villarreal, 2003 en URL, Mondragón-Pichardo, 2009).

**Cempazúchil silvestre** y **zempoala** (Villarreal, 2003 en URL, Mondragón-Pichardo, 2009).

**Cempasúchil** (Martínez, 1958).

**Flor de difunto** (Silva-Aparicio y cols., 2003).

**Copaliyaxciuhontli** (De la Cruz Badiano, 1964 en Linares y cols. 1988).

**Tiscoque, rosa de muerto** (Linares y cols., 1988).

**Cimpual** Sierra de tres Picos Durango (Martínez, 1994).

**Cemposochil, Zempoalxochitl**, (Tabasco y Chiapas) (Martínez, 1994).

**Apátsicua** (purépecha y tarasco), **caxiyhuitz** (huasteco), **guie'biguá**, **guie'coba**, **picoa**, **quiepi-goá** (zapoteca), **kalhpu'xa'm** (totonaco), **ita-cuaan** (mixteco), **jondri** (otomí), **musá**, **musajoyó** (zoque), **tiringuini** (purépecha y tarasco), **cempaxúchil** (Tabasco y Chiapas) y **xumpatsnchitl**, **santoorom wits** (huasteco) (Martínez, 1979; Villarreal, 2003 en URL, Mondragón-Pichardo, 2009 y Martínez, 1994).

## DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA

**Hábito y forma de vida:** Planta herbácea anual, erecta. **Tamaño:** De 50 a 100 cm de alto (Gispert y Rodríguez, 1998 y Linares y cols., 1988), pero llega a alcanzar hasta 1.8 m de alto. **Tallo:** estriado, a veces acostillado, glabro o pubescente. **Hojas:** Opuestas en la parte inferior, alternas en la parte superior; de hasta 20 cm de largo, pinnadas, de 11 a 17 foliolos, lanceolados a linear-lanceolados, de hasta 5 cm de largo y 1.5 cm de ancho, agudos a acuminados, aserrados a subenteros, los inferiores de cada hoja frecuentemente setiformes (en forma de hilos), los superiores reducidos, a veces completamente setiformes; con glándulas redondas abundantes, muy aromáticas. **Inflorescencia:** Cabezuelas solitarias o agrupadas por varias, sobre pedúnculos de hasta 15 cm de largo, provistos de brácteas pinnadas con segmentos cerdiformes en el ápice. **Cabezuela/Flores:** **Cabezuela** con involucreo campanulado, de 13 a 20 mm de alto y 9 a 25 mm de ancho, con 5 a 11 brácteas, glabras y de ápices triangulares, con dos hileras de glándulas. **Flores liguladas:** 5 a 8, o más frecuentemente numerosas, amarillas a rojas, sus láminas oblanceoladas a obovadas de 1 a 2 cm de largo. **Flores del disco:** 150 a 250 en las cabezuelas sencillas, en las "dobles" muestra diferentes grados de transformación en ligulas, corolas amarillas a anaranjadas, de 8 a 10 mm de largo. **Frutos y semillas:** Aquenios lineares de 7 a 10 mm de largo, glabros o hispídulos en los ángulos, vilano de 1 o 2 escamas acuminadas de 6 a 12 mm de largo y 2 o 3 escamas romas de 3 a 6 mm de largo, más o menos unidas entre sí. **Raíz:** Fibrosa. **Fenología:** En el Bajío florece de septiembre a diciembre. **Hábitat:** Vegetación perturbada, ruderal y arvense. (Rzedowski y Rzedowski, 2001 y Villarreal, 2003 en URL, Mondragón-Pichardo, 2009).

## DISTRIBUCIÓN

Es una planta originaria de México y América Central. Las formas silvestres se encuentran principalmente en la región de la selva baja caducifolia (URL, Mondragón-Pichardo, 2009). Habita en climas cálido, semicálido, seco y templado, se le encuentra desde los 8 a los 3900 msnm. En el Bajío se registra de los 800 a los 2300 msnm. (Villarreal, 2003 en URL, Mondragón-Pichardo, 2009). *Tagetes erecta* se encuentra adaptada a distintos hábitats, se le cultiva en huertos, crece en milpas o zonas urbanas, asociada también a otros tipos de vegetación como matorral xerófilo y bosques espinoso, mesófilo de montaña, de encino, de pino y mixto de pino-encino (URL, Argueta y cols., 2009).

Al cempasúchil se le encuentra en Aguascalientes, Campeche, Chiapas, Coahuila, Colima, D. F., Durango, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz, Yucatán y Zacatecas (Villaseñor y Espinosa, 1998). Se le cultiva de Michoacán a Chiapas, en Durango, Puebla, en el Valle de México, Hidalgo y Sinaloa (INI, 1994 en Silva-Aparicio y cols., 2003).

## ETNOBOTÁNICA

Como planta medicinal se emplea en distintas partes de la República Mexicana. Se le recomienda principalmente en padecimientos digestivos y con mayor frecuencia para el dolor de estómago (Chiapas, Estado de México, Puebla, Tlaxcala, y Veracruz), siguiendo en orden de importancia el "empacho", la diarrea, los cólicos, "enfriamiento estomacal", afecciones hepáticas, bilis, vómitos, "caída de cuajo", indigestión, "baba de los niños", "pasma de muelas", para lavados intestinales, contra parásitos (lombrices) y como carminativo (Heinrich y cols., 1998 y URL, Argueta y cols., 2009).

De la Cruz y Badiano (Facsimilar de 1964 en Linares, 1988) reporta que esta planta se usa contra la inflamación del vientre o del estómago, junto con tlantlancauye y raíz de copaliyacxiúhtontli molida con alectoria (piedras de molienda de las mollejas de aves de corral) y tomada con pulque. Para lavados de intestino se bebe junto con sal, chile, salitre y alectoria. Para tratar la diarrea, el dolor de estómago y la disentería se utiliza la flor en té (Maldonado-Almanza y cols., 2004). En el Mercado Sonora se recomienda para el dolor de barriga, para el empacho y para la diarrea junto con otras hierbas (Linares y cols., 1998). El cocimiento de la hojas se usa como estimulante digestivo, contra los cólicos acompañados de meteorismo, como antihelmíntico y nematotóxico (Martínez, 1958; Nigg y Seigler, 1995; Aguilar, 1994 en Silva-Aparicio y cols., 2003).

También se emplea como febrífugo (Hernández, 1959 en Linares y cols., 1998) en Yucatán, Tabasco, y Veracruz; para la tos en Tabasco y Guerrero; y para varias enfermedades culturales como "espanto", "mal aire" y "susto" en Puebla y Oaxaca. Para el espanto se ranea al niño (Aguilar, 1994 en Silva-Aparicio y cols., 2003). Se utiliza para tratar enfermedades respiratorias como catarro, gripa, bronquitis, "frialidad del pulmón" y mormado de los niños. Es útil para problemas ginecobstétricos como inflamación del vientre, frialdad en la menstruación, cólicos menstruales, lavados vaginales y baños postparto, para que baje la leche y como abortiva (URL, Argueta y cols., 2009). Hernández (1959, en Linares y cols., 1998) señala que el jugo de las hojas o las mismas hojas machacadas y tomadas con agua o vino provocan los flujos menstruales, orina y sudor.

En afecciones de la piel se usa para aliviar el salpullido, llagas, verrugas y granos amortajados. También se le utiliza para aliviar alteraciones nerviosas, el insomnio, los nervios y para controlar los ataques epilépticos. Además, se le emplea para la diabetes, el reumatismo, cuando hay irritación o supuración de los ojos, en el dolor de oídos, para aliviar el dolor de cabeza, la frialdad, el cáncer, las fístulas (conducto anormal ulcerado y estrecho que se abre en la piel o en las membranas mucosas), para la hidropesía, como antiespasmódico y antipalúdico (Aguilar, 1994 en Silva-Aparicio y cols., 2003 y URL, Argueta y cols., 2009). Para el tratamiento de las distintas enfermedades es muy común que se preparen las hojas con o sin la flor, ya sea en cocimiento, infusión, sahumero o fritas para administrar oral o localmente (en baños, untada, como chiqueadores o en fomentos) e inhalada. En algunos casos se le mezcla con otras plantas o materiales acompañantes (URL, Argueta y cols., 2009).

Para aliviar el dolor de estómago, sus flores pueden combinarse con hojas de hierbabuena en una decocción que se toma cuando se presenta el dolor. Para la bilis se hace un té que se bebe en ayunas con las flores de *T. erecta* y con la cáscara o jugo de limón. Para el "cuajo" se aplica sobre el estomaguito del niño tequezquite, carbonato y manteca, cubriendo con una hoja de San Nicolás (*Eupatorium chiapense*), después de estos emplastos, lo acuestan y mantean (rodarlo sobre una superficie, cama, petate, suelo, de izquierda a derecha en forma de cruz, tres veces, cada tercer día), y lo soban en ayunas dando un masaje en el estómago en forma circular, hacia el ombligo, hasta que desaparezca la "bolita" con aire que causa el dolor, al final fajan al paciente. En algunas ocasiones, después de la manteada y la sobada se da de beber una infusión de plantas calientes, puede ser albahaca (*Ocimum basilicum*), aguacate oloroso (*Persea americana*) y flor de muerto (URL, Argueta y cols., 2009).

Para calmar el dolor de cabeza causado por un "mal aire", se tibian las hojitas de la flor de muerto, untadas previamente con aceite de oliva y se colocan como chiqueadores en la cabeza. Cuando el dolor de cabeza es punzante, la planta completa se restriega en agua y se aplica directamente sobre la cabeza, o se cuele y se bebe durante 15 días (Gispert y Rodríguez, 1998). Para que baje la leche, se fríen bastantes hojas de la flor en aceite, cuando están tibias se aplican frotándolas en el pulmón (en URL, Argueta y cols., 2009).

- **Importancia económica**

El cempasúchil es una planta con importancia económica. Se cultiva ampliamente para fines ornamentales (especialmente en ceremonias religiosas), incluso se exporta con este objetivo a países con rituales budistas (Delgado-Vargas y cols., 2000 en Del Villar-Martínez, 2005). Otros usos comerciales importantes son su empleo como aditivo para la alimentación de pollos, crustáceos (p. ej. camarón) y peces (p. ej. salmón) lo cual les provee un color brillante en la yema del huevo, la piel y en los tejidos grasos; esto debido a las propiedades pigmentarias que le confieren sus xantofilas (carotenoides oxigenados) (Bletner y cols., 1966; Hencken, 1992; Bernhard y cols., 1997 y Levi, 2001 en Navarrete-

Bolaños y cols., 2005; Delgado-Vargas y cols., 2000 en Del Villar-Martínez y cols., 2005; Breithaupt, 2007). También se utiliza como colorante natural en bebidas y alimentos de consumo humano (Vasudevan y cols., 1997; Delgado-Vargas y cols., 2000 en Del Villar-Martínez y cols., 2005; Rzedowski y Rzedowski, 2001 en URL, Mondragón-Pichardo, 2009; Breithaupt, 2007). Se le aprecia mucho como fungicida, nematocida y bactericida; propiedades que son utilizadas en la agricultura para eliminar infestaciones de manera económica, biodegradable y sin efectos secundarios tóxicos (Morallo y Decena, 1984; Morallo, 1987; Vasudevan y cols., 1997 en Gillij y cols., 2008; Vasudevan y cols., 1997; Montes y García, 1999 en Gómez-Rodríguez y cols., 2003;).

En la medicina, la luteína es un suplemento nutricional humano, cuya función biológica incluye la prevención del cáncer (Chew y cols., 1996 en Navarrete-Bolaños y cols., 2005), efectos antioxidantes, (Zhang y cols., 1991 en Navarrete-Bolaños y cols., 2005), la prevención de la degeneración macular relacionada con la edad (Seddon y cols., 1994 en Navarrete-Bolaños y cols., 2005; Canfield, 1993 en Delgado-Vargas y Paredes-López, 1997; Fullmer y Shao, 2001).

## COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA

Las flores de *Tagetes erecta* contienen principalmente pigmentos, entre ellos la quercetagitrina y la tagetina, dos glicósidos del flavonoide quercetagetina, que proporcionan tintes fuertes y hermosos para textiles, pero que tienen una pobre resistencia a la luz. Actualmente, los carotenoides de las flores de *T. erecta*, son los pigmentos económicamente más relevantes, entre los cuales, la luteína (xantofila) que asciende al 64%, algunas veces hasta el 80% o más del total de carotenoides presentes en la flor de cempasúchil, sumada a pequeñas cantidades de otros carotenoides entre los cuales se encuentran la anteraxantina, zeaxantina, criptoxantina,  $\beta$ -caroteno (Setshogo, 2005 y Breithaupt, 2007).

La cantidad de carotenoides en las flores de *T. erecta* marca la diferencia entre sus colores amarillos y naranjas. Las flores anaranjadas tienen 3 veces más carotenoides que las amarillas. (Valadon y Mummery, 1967).

En las flores de esta planta Valadon y Mummery (1967) identificaron los siguientes carotenoides:

- fitoflueno (solo en flor naranja)
- $\alpha$ -caroteno (solo en flor naranja)
- zeaxantina (solo en flor naranja)

- flavocromo (solo en flor naranja)
- anteraxantina (solo en flor naranja)
- $\beta$ -zeacaroteno
- $\zeta$ -caroteno
- Isómero 5,6-monoepoxi- $\beta$ -caroteno
- 5,6-monoepoxi- $\beta$ -caroteno
- 5.6-diepoxi- $\beta$ -caroteno
- mutatocromo
- criptoxantina
- luteína (dihidroxi carotenoide ó xantofila)
- luteína epóxido
- crisantemaxantina
- auroxantina
- fitoeno
- $\beta$ -caroteno
- flavoxantina
- rubicromo (identificado en trabajos posteriores)
- rubixantina (identificado en trabajos posteriores)

No hay antocianina presente en estas flores que produzca el color oscuro, por lo que se presume que la diferencia de color entre ambas se debe a la diferencia en las cantidades de carotenoides presentes. El mono y el diepoxi- $\beta$ -caroteneos resultaron ser los principales pigmentos en *Tagetes erecta* (Valadon y Mummery, 1967).

El extracto de flor de *Tagetes* contiene aproximadamente 27% de carotenoides. Los principales son  $\beta$ - caroteno (0.4%), ésteres de criptoxantina (1.5%) y ésteres de xantofila (86%) (Benk y cols., 1976 en Vasudevan y cols., 1997). Los pétalos de *T. erecta* tienen más carotenoides que las semillas o los sépalos y 200 veces más que el maíz amarillo (Morita, 1957 en Vasudevan y cols., 1997).

Las flores también contienen monoterpenos, dipenteno y mentol, así como piretrinas y el flavonoide quercitagetrina. Otros constituyentes son  $\alpha$ -terpinolene, piperitone y cariofileno (Setshogo, 2005). Morita (1957 en Vasudevan y cols., 1997) obtuvo otros flavonoides de las flores y de las hojas: quercitagina, monoglucósido y tagetina. Los pétalos contienen de 9 a 22% de flavonoides. Las flores también contienen componentes azufrados como bitienilos y tertienilo (URL, Argueta y cols., 2009). Morita (1957 en Vasudevan y cols., 1997) reportó además tienilo y alcaloides.

Las hojas del cempasúchil contienen un aceite esencial en el que se han identificado los monoterpenos geraniol, limoneno, linalol y su acetato, mentol, ocimeno, beta-felandreno, dipenteno, alfa- y beta-pineno, y tagetona. Y los flavonoides comferitrina, camferol y su ramnósido.

En las raíces y las hojas se detectó la presencia de bitienilo y tertienilo (URL, Argueta y cols., 2009). Los tiofenos y piretrinas, derivados de los poliacetilenos, se encuentran bien representados en *Tagetes erecta* (Downum y Towers, 1983 en Gil, 2002 y Groneman, 1984 en McLachlan, 1986). El tejido del callo de *Tagetes erecta* mostró la presencia de piretrinas insecticidas (Sarin, 2004).

Hethelyi (1987 en Vasudevan y cols., 1997) reportó 27 terpenoides en el aceite de las hojas de *T. erecta*. Los más importantes fueron: terpinoleno (12.4%), e-fl-ocimeno (13.1%), piperitona (20%), limoneno (11%) y mínimas cantidades de indolo.

Se ha visto que la fuente más rica de la luteína (carotenoide liposoluble) es *Tagetes erecta*. Sus flores contienen de 0.6 a 2.5% de xantofila (peso seco). Es decir, del 88 al 92% del total de las xantofilas de la flor son luteínas y zeaxantinas, en menor proporción (Quackenbush, 1972; Rivas, 1989 y Delgado-Vargas y cols., 1997 en Tsao y cols., 2004; Del Villar-Martínez y cols., 2005). En esta planta, la luteína se encuentra en forma de diésteres de ácidos grasos que se hidrolizan fácilmente durante el proceso de extracción. Se ha reportado que los principales diésteres de la luteína en la flor de *T. erecta* son el dimiristato y el dipalmitato (83–92% del total de ésteres) (Philip y cols., 1975 y 1976 en Tsao y cols., 2004). Gau y colaboradores (1983) aislaron y caracterizaron las estructuras de los ésteres de los ácidos grasos de la xantofila de la flor de *T. erecta*: xantofil palmitato estearato y xantofil palmitato miristato y el ya conocido xantofil dipalmitato. La separación de la luteína y de sus ésteres ha sido una tarea difícil debido a la similitud de su polaridad. Tsao y colaboradores (2004) lograron identificar una nueva *cis*-luteína isomérica dimiristato, miristato-palmitato, dipalmitato, y diésteres de palmitato-estearato, así como la rara combinación tanto de *trans*- y *cis*-luteína laurato-palmitato y *trans*- y *cis*-luteína miristato-estearato.

El aceite esencial de *Tagetes erecta* tiene una composición de carotenoides muy variada. También contiene otros compuestos de naturaleza lipídica (ceras, aromas, ácidos grasos saturados e insaturados). La presencia de ácidos grasos insaturados, el proceso de extracción e incluso, su incorporación a los diferentes productos en los que se emplea, hace que decrezca la calidad de los pigmentos, ya que se oxidan fácilmente (Frankel, 1993 en Ríos y cols., 2008).

Más del 95% de la luteína se presenta en *T. erecta* en forma de ésteres de ácidos grasos con diferentes niveles de insaturación y largo de cadena (Breithaupt, 2002 y Rivas, 1989 en Zorn, 2003). Aún así, la proporción de luteína decrece durante el proceso de saponificación enzimática que se realiza para su liberación. Lo que hace prioritaria la búsqueda de nuevos procesos de obtención más eficientes. En el ensayo de Zorn (2003) se reportó que la hidrólisis enzimática de los ésteres de luteína con la intervención de una enzima lipasa comercial de *Candida antarctica* y la participación de sales de Bile, liberó un 44% de luteína. La misma reacción realizada con una hidrolasa del hongo *Pleurotus sapidus*, hidrolizó casi por completo a varios carotenoides en ausencia de las sales.



La eficiencia en la extracción de las xantofilas de su fuente natural depende de un primer tratamiento dado a la flor para incrementar la permeabilidad de la pared celular y facilitar los mecanismos de difusión durante el proceso de lixiviación. Se revisaron los efectos de los diferentes tratamientos en las flores de *Tagetes erecta* para incrementar la eficiencia en la extracción de xantofilas. Se consiguió una recuperación casi completa de xantofilas con un tratamiento de enzimas hidrolíticas sintetizadas por la microbiota asociada con la planta. Estos resultados tienen un impacto significativo en la relación costo-eficiencia del proceso. (Subramanian, 1963; Philip, 1967; Kamal, 1977; Gómez, 1978; Baslas, 1980 y 1981; Campbell, 1982; El-Emary, 1983; Gau, 1983; Gregory, 1986; Hogstadlb, 1986 en URL, Arqueta y cols., 2009; Navarrete-Bolaños y cols., 2005).

## FARMACOLOGÍA

### a) Bioactividad nematotóxica, insecticida, fungicida y bactericida

Los tiofenos son un grupo biológicamente activo derivado de los poliacetilenos característicos de la familia Asteraceae (Bohlmann y Zdero, 1985 en Kourany y Schneider, 1988). Por ejemplo,  $\alpha$ -tertienilo y los tiofenos relacionados se encuentran en el género *Tagetes* (Bohlmann, 1973 en Kourany y Schneider, 1988). Estudios recientes han sugerido que los tiofenos pueden ser agentes protectores naturales debido a su toxicidad a bajas dosis contra fitopatógenos como hongos (Dicosmo, 1982; Towers, 1984 en Kourany y Schneider, 1988) y nematodos (Gommers, 1972 en Kourany y Schneider, 1988). Además de contar con actividad bactericida e insecticida (en Vasudevan y cols., 1997).

**Actividad nematotóxica.** En 1958, Uhlenbroek y Bijloo (en Vasudevan y cols., 1997) aislaron  $\alpha$ -tertienilo y el 5-butyl-2,2' bitienilo de las raíces de *T. erecta* y comprobaron su poder nematotóxico. Gommers y Voor (1976 en Vasudevan y cols., 1997) encontraron otro nuevo compuesto con las mismas propiedades nematotóxicas, el 5-3buteno-l-enilo. Se descubrió que los rayos UV (300–400 nm) (Champagne y cols., 1984; Gommers y Geerlig, 1973 en Gil y cols., 2002) incrementaban la actividad fototóxica del tienilo. Gommers (1973 en Vasudevan y cols., 1997) notó que la luz de día (cerca de la radiación UV) incrementaba la actividad nematotóxica de los tienilos naturales en forma dosis-dependiente. También se probaron estos compuestos contra cercarias y tremátodos parásitos, resultando efectivos.

El fenómeno de alelopatía de *Tagetes erecta* es de importancia en su interacción con especies vegetales de interés económico y su posible uso como biocontrol (Uhlenbroek y Bijloo, 1950 en Vasudevan y cols., 1997). Se han realizado muchos estudios sobre los

efectos positivos de intercalar cultivos de *T. erecta* con cultivos comerciales para conferirles protección contra fitopatógenos (Setshogo, 2005; Natarajan y cols., 2006; Ríos y cols., 2008).

**Actividad insecticida.** El extracto de *Tagetes erecta* en acetato de etilo y éter de petróleo, resultó efectivo contra las larvas de *Anopheles stephensi*, pero no afectó el periodo de desarrollo larval, tuvo un efecto significativo en la mortalidad y redujo la emergencia del adulto (Sharma y Saxena, 1994 en Vasudevan y cols., 1997). Se realizaron ensayos de toxicidad foto-dependiente del extracto y el  $\alpha$ -tertienilo de *T. erecta* sobre la larva del mosquito *Culex tritaeniorhynchus* que mostró, con exposición a la luz, un alto nivel de actividad (Singh y cols., 1987 en Vasudevan y cols., 1997). En la ausencia de la luz, no presentó toxicidad.

Broussalis y sus colaboradores (1999) probaron dos extractos, uno metanólico y el otro diclorometanólico, como insecticidas contra el coleóptero *Sitophilus oryzae* (gorgojo del arroz). El valor por arriba del 50% de mortalidad ha sido considerado como prometedor. El extracto  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  de las partes aéreas de *Tagetes erecta* (5%) puede considerarse como prometedor para estudios más profundos sobre su actividad insecticida natural, ya que exhibe una buena actividad, es biodegradable y no es tóxico.

Las piretrinas son insecticidas potentes y seguros, son eficientes y no crean resistencia en el patógeno como ocurre con las piretrinas sintéticas (Vasudevan y cols., 1997). El tejido del callo de *Tagetes erecta* contiene estas piretrinas insecticidas. La cantidad de piretrinas en el tejido del callo se incrementa con el aumento del ácido ascórbico, endógeno y exógeno, presente. Este compuesto puede utilizarse como un insecticida seguro para *Tribolium* spp. (Sarin, 2004).

Se han realizado numerosos estudios de los aceites esenciales de las especies de *Tagetes* y su función repelente e insecticida contra diferentes especies de mosquito. Los terpenoides son los principales compuestos activos para ello. Entre los terpenoides con actividad insecticida se encuentra el (5 E)-ocimenone, que actúa como larvicida de las flores de *Tagetes minuta* (Vasudevan y cols., 1997).

**Actividad bactericida y fungicida.** En cuanto a esta actividad, se esperaba que el tienilo, los terpenoides y otros compuestos que muestran actividad nematotóxica y larvicida, también manifestaran actividad contra otros microorganismos. Existen pocos trabajos al respecto. Se halló que el aceite esencial de algunas especies de *Tagetes* contienen limoneno,  $\alpha$ -terpinoleno, dihidrotagetenoleno y oscimenoleno, mismos que inhiben algunas bacterias gram-positivas y hongos (Hethelyi y cols., 1988 en Vasudevan y cols., 1997). Al parecer, el aceite esencial de *Tagetes* es un fungicida potente. A una concentración promedio de 2000 ppm, este aceite es más activo que muchos fungicidas comerciales de uso agrícola, tales como el captán y el agrosán (clorato de potasio) (Setshogo, 2005).

## b) Bioactividad médica

En la medicina, los carotenoides, principalmente la luteína y los carotenos, extraídos de la flor de *Tagetes erecta*, constituyen un suplemento nutricional humano, cuya función biológica incluye:

- **COMO ANTIOXIDANTE.** Los carotenoides son capaces de inhibir la auto-oxidación de los lípidos celulares (Zhang y cols., 1991 en Tsao, 2004), en especial la luteína, entre otras xantofilas, es un potente antioxidante. (Zhang y cols., 1991 en Tsao y cols., 2004; Zorn y cols., 2003). Los  $\alpha$ - y  $\beta$ - carotenos también son excelentes antioxidantes (González-de-Mejía y cols., 1997) que protegen a la piel de los daños producidos por los rayos UV (Michaud, 2000 y Slattery, 2000 en Wang y cols., 2006).
- **COMO PRECURSOR DE LA VITAMINA A.** El  $\beta$ -caroteno es el mejor compuesto pro-vitamina "A" (la luteína y la xantina no tienen esta propiedad). Algunas funciones importantes de esta vitamina son: ayuda al crecimiento, desarrollo y reparación celular y de los huesos, lo que contribuye a evitar la aparición de enfermedades infecciosas, especialmente respiratorias; estimula las funciones inmunes; contribuye en la función normal de la reproducción y en el mantenimiento de la visión (retinol), lo que previene algunas alteraciones visuales e infecciones bacterianas, como la conjuntivitis; también mejora la visión nocturna (Olson, 1996, en Kruger y cols., 2002).
- **PARA AUMENTAR LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA** del organismo (luteína) (Snodderly, 1995; en Tsao y cols., 2004; Chew, 1996 y Hadden, 1999 en Wang y cols., 2006), ya que ayuda a incrementar la cantidad de linfocitos (Chew, 1996 y Snodderly, 1995; en Tsao y cols., 2004; Hadden, 1999 en Wang y cols., 2006).
- Chew y colaboradores (1996) investigaron el efecto de la ingesta de luteína obtenida de extractos de *Tagetes* sobre la función de los **linfocitos** de ratón. Los animales fueron alimentados con una dieta que contenía 0.1% o 0.4% de luteína. Los resultados mostraron que la luteína incrementa la proliferación de linfocitos inducida por fito-hemaglutinina, y no mostró efecto sobre la citotoxicidad de los linfocitos o en la producción de la proteína interleucina-2. Esta proteína participa en la elaboración de los leucocitos y de otras células del cuerpo, también aumenta el crecimiento y actividad de otros linfocitos, afectando el sistema inmune (NCI, 2010).
- **COMO AGENTE PREVENTIVO DE LA DEGENERACIÓN MACULAR** debida a la edad (Seddon y cols., 1994 en Navarrete-Bolaños y cols., 2005; Fullmer y Shao, 2001). Se ha sugerido que la ingesta de luteína y xantina disminuye el riesgo de padecer degeneración macular debido a la edad (Snodderly, 1995 y Chew, 1996

en Tsao y cols., 2004 y en Wang y cols., 2006; IOM, 2000 en Kruger y cols., 2002). La luteína, que está presente en altas concentraciones en los ojos, ayuda a mantener una visión normal y protege al ojo filtrando la luz y a través de sus propiedades antioxidantes (Setshogo, 2005).

- Datos epidemiológicos indican que los individuos con bajas concentraciones de carotenoides y de vitaminas antioxidantes en plasma, y aquellos que fuman, se encuentran en un riesgo mayor de padecer **degeneración macular** debido a la edad (DMA). Datos de laboratorio han mostrado que los carotenoides y las vitaminas antioxidantes ayudan a proteger la retina contra el daño oxidativo ocasionado en parte por la absorción de la luz. La retina de los primates acumulan dos carotenoides, la luteína y la zeaxantina, como pigmento macular, el cual es más denso en el centro y en la fovea, y disminuye rápidamente en las zonas periféricas. La retina también contiene  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E). La evidencia sugiere que los carotenoides y las vitaminas antioxidantes ayudan a retrasar algunos procesos destructivos en la retina y en su epitelio pigmentario que conducen a la degeneración de la mácula relacionada a la edad (Snodderly, 1995).
- COMO INHIBIDOR DE NEOPLASIAS. Se ha demostrado previamente que diversos carotenoides inhiben la **transformación neoplásica** de las células 10T1/2 inducida químicamente. Para dilucidar sus mecanismos de acción, Zhang y colaboradores (1991) investigaron los efectos de 6 carotenoides, con o sin actividad de provitamina A, en la comunicación intracelular y en la peroxidación lipídica. El  **$\beta$ -caroteno**, la cantaxantina, la **luteína**, el licopeno y el  **$\alpha$ -caroteno** incrementaron la comunicación intercelular de manera dosis-dependiente en el orden por potencia arriba establecido. La mejora de la comunicación intracelular debida a los carotenoides muestra una fuerte correlación estadística con su capacidad previamente determinada para inhibir la transformación neoplásica inducida por el metilcolantreno. Todos los carotenoides probados inhibieron la peroxidación lipídica, pero con diferentes potencias. El  $\alpha$ -tocoferol fue el inhibidor más potente. La capacidad de los carotenoides para inhibir la peroxidación lipídica no resultó consistente con su capacidad de inhibir la transformación neoplásica, ni con su capacidad de incrementar la comunicación intracelular. A partir del hecho de que la comunicación intracelular juega un papel importante en el control del crecimiento celular y de la carcinogénesis, Zhang y colaboradores (1991) propusieron que el sistema de mejoramiento de la comunicación intercelular por carotenoides provee las bases para el mecanismo de acción quimiopreventiva del cáncer por carotenoides. Interesantemente, esta actividad parece ser independiente de su función como provitamina A (Zhang y cols., 1991).
- Mathews-Roth (1982) suministró, a grupos de ratones, dosis de  $\beta$ -caroteno o de dos carotenoides sin actividad de vitamina A: cantaxantina o fitoeno (placebo). Se indujeron **tumores de piel** en cada grupo de ratones por diferentes métodos: (1) UV-B (290--320 nm); (2) dimetilbenz(a)antraceno (DMBA)/aceite de crotón; (3)

DMBA seguido de una dosis baja de UV-B. Para los tumores inducidos por rayos UV-B solamente, los ratones tratados con  $\beta$ -caroteno-fitoeno y cantaxantina desarrollaron, en comparación con el grupo control, pocos tumores por ratón, con un retraso en la aparición de los mismos. Los ratones con tumores inducidos por DMBA/aceite de crotón o por DMBA/UV-B, que recibieron  $\beta$ -caroteno mostraron una diferencia significativa en el número de tumores y en el tiempo de aparición en relación al grupo de ratones con placebo. Los tratamientos con fitoeno y cantaxantina no mostraron efecto.

- **COMO AGENTE PROTECTOR CONTRA EL CÁNCER.** La luteína contribuye a la prevención del cáncer (Chew y cols., 1996 en Tsao y cols., 2004) por ejemplo, su actividad anticancerígena reduce el cáncer mamario y previene el desarrollo del cáncer de colon (Chew, 1996 y Snodderly, 1995; en Tsao y cols., 2004; Hadden, 1999 en Wang y cols., 2006; Slattery y cols., 2000). Los  $\alpha$ - y  $\beta$ -carotenos protegen a la piel de los daños producidos por los rayos UV, evitando el cáncer de piel (Michaud, 2000 y Slattery, 2000 en Wang, 2006). Ciertos carotenoides, como el  $\beta$ -caroteno, han mostrado que incrementan la incidencia del cáncer de pulmón en altas dosis, especialmente entre los fumadores. Los efectos de la luteína pura a altas dosis aún no son claros (Mayne y cols., 1996; Omenn y cols., 1996 en Wang y cols., 2006).
- Muchos estudios han proporcionado evidencia de que incluir frutas y verduras ricas en  $\beta$ -caroteno (antioxidante que se convierte en vitamina A en el intestino y el hígado) y retinol (una forma de la vitamina A), reduce la incidencia del **cáncer de pulmón**. En el estudio realizado por Omenn y colaboradores (1996) se probaron el  $\beta$ -caroteno combinado con el retinil palmitato (vitamina A) suministrado a 18,314 hombres y mujeres con alto riesgo de padecer cáncer de pulmón. 21 meses después resultó evidente que no existía ningún beneficio y sí evidencias de posible daño. Hubo un incremento del 28% de cáncer de pulmón y un incremento de 17% en el número de muertes en el grupo que consumía diariamente una dosis de 30g de  $\beta$ -caroteno y 25,000 IU de retinol palmitato. Se concluyó que los sujetos sometidos a la prueba, no sólo no obtuvieron beneficios quimiopreventivos del  $\beta$ -caroteno y de la vitamina A, sino que también exhibieron un incremento en la incidencia del cáncer de pulmón y de la tasa de mortalidad. Estos resultados son altamente consistentes con los resultados del estudio realizado sobre 29,133 hombres fumadores a los que se les suministró  $\beta$ -caroteno en Finlandia (Omenn y cols., 1996).
- Los carotenoides podrían reducir la **carcinogenesis de pulmón** debido a sus propiedades antioxidantes, sin embargo se han realizado pocos estudios sobre la relación entre el riesgo de padecer cáncer de pulmón y el consumo de carotenoides individuales. Michaud y colaboradores (2000) examinaron la relación entre el riesgo de padecer cáncer de pulmón y el consumo de  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno, luteína, licopeno y  $\beta$ -criptoxantina en 46,924 hombres en un periodo de

10 años (con 275 casos de cáncer de pulmón registrados), y en 77,283 mujeres en un periodo de 12 años (con 519 casos de cáncer de pulmón registrados). El consumo de carotenoides en los grupos de estudio fue inferido del consumo de frutas y verduras reportado. Los resultados mostraron que el consumo de  $\alpha$ -caroteno y de licopeno está significativamente asociado a un menor riesgo de padecer cáncer de pulmón. La asociación con el consumo de  $\beta$ -caroteno, luteína, y  $\beta$ -criptoxantina es inversa pero no significativa. El riesgo de padecer cáncer de pulmón fue significativamente menor en los sujetos que consumieron una dieta alta y variada de carotenoides. Las asociaciones inversas más fuertes se produjeron después de un retraso de 4 a 8 años entre la evaluación de la dieta y la fecha del diagnóstico. En los sujetos que nunca fumaron, se observó una incidencia 63% menor de cáncer de pulmón en la parte superior, comparativamente con el quintil inferior de la ingesta de  $\alpha$ -caroteno.

- Estudios epidemiológicos realizados entre los 70's y los 80's indican que existe una relación inversa entre la ingesta de  $\beta$ -caroteno y el riesgo de desarrollar varios tipos de cáncer, especialmente de pulmón (Peto y cols., 1981 y IARC, 1998 en Lotan, 1999). Algunos estudios mostraron que existe una relación inversa entre la concentración de  $\beta$ -caroteno en sangre y el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón (IARC, 1998 en Lotan, 1999). Inicialmente se pensó que la conversión del  $\beta$ -caroteno a retinol era el mecanismo por el cual se manifestaban los efectos preventivos contra el cáncer (Moore (ed.), 1957 y IARC, 1998 en Lotan y cols., 1999). La incapacidad de demostrar una relación inversa consistente entre los niveles de retinol en el plasma y el riesgo de cáncer condujo a proponer que el  $\beta$ -caroteno puede ejercer efectos quimiopreventivos, debido a su acción antioxidante, o a que induce las enzimas xenobióticas y desintoxicantes del citocromo P450, o por que logra intensificar la comunicación intracelular o porque interviene en el metabolismo del ácido retinoico que podría ejercer efectos biológicos mediante la activación de receptores nucleares del ácido retinoico (Krinsky, 1994; Wang y cols., 1997 y IARC, 1998 en Lotan, 1999). Los estudios diseñados para probar la acción protectora del  $\beta$ -caroteno contra el cáncer pulmonar (Grupo de Estudio para la Prevención del Cáncer  $\alpha$ -tocoferol y  $\beta$ -caroteno, 1994; Albanes y cols., 1996; Omenn y cols., 1996<sup>a</sup> y b; Hennekens y cols., 1996 en Lotan, 1999) fallaron; aún más, demostraron una alta incidencia del cáncer de pulmón en fumadores cotidianos, bebedores e individuos expuestos al asbesto (Gpo. de estudio para la prevención del cáncer  $\alpha$ -tocoferol y  $\beta$ -caroteno, 1994; Albanes y cols., 1996; Omenn y cols., 1996). El mecanismo por el cual el  $\beta$ -caroteno incrementó el riesgo de padecer cáncer de pulmón en los fumadores asiduos y en trabajadores expuestos al asbesto no es claro.
- Chew y colaboradores (1996) investigaron el efecto de la ingesta de luteína obtenida de extractos de *Tagetes* en el desarrollo y crecimiento del **tumor mamario** murino trasplantable. Los ratones fueron alimentados con una dieta que contenía 0.1% o 0.4% de luteína durante 3 semanas y luego infundidos con células

de tumor mamario en la glándula mamaria. La dieta de luteína incrementó la latencia del tumor e inhibió el crecimiento del tumor mamario en forma dosis-dependiente. La incidencia de tumores palpables al día 28 de la infusión de las células cancerosas, y el peso final del tumor, resultaron menores en los ratones alimentados con luteína.

- Con excepción del  $\beta$ -caroteno, se sabe poco sobre cómo el consumo de carotenoides se asocia al **cáncer de colon**, por lo que el estudio de Slattery y colaboradores (2000) fue el evaluar las asociaciones entre el consumo en la dieta de  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno, licopeno, luteína, zeaxantina y  $\beta$ -criptoxantina, y el riesgo de padecer cáncer de colon. Se analizaron 1,993 casos de sujetos con adenocarcinoma de colon y 2,410 sujetos de control. Los datos de su dieta se obtuvieron a través de la realización de cuestionarios de los cuales se infirieron el consumo de carotenoides. Los resultados indicaron que la ingesta de luteína estaba inversamente asociada con el cáncer de colon, tanto en hombres como en mujeres. La mayor asociación inversa se observó entre los sujetos en quienes el cáncer de colon fue diagnosticado cuando eran jóvenes, y entre aquellos con tumores localizados en el segmento proximal del colon. Las asociaciones con otros carotenoides no resultaron significativas. Slattery y colaboradores concluyeron que el consumo de luteína a través de los alimentos que se ingieren, ayudaba a reducir el riesgo de desarrollar cáncer de colon.
- COMO HEPATOPROTECTOR, ya que estas propiedades se han reportado para los extractos de flores de *Tagetes patula* (Vasilenko y cols., 1990 en Vasudevan y cols., 1997).
- COMO COLERÉTICO. Un extracto etanólico de las flores administrado por vía intravenosa provocó una actividad colerética (producción de bilis) (Petrovskii, 1946; Ahmed, 1980; Bose, 1980; Garg, 1983 en URL, Argueta y cols., 2009).
- COMO BACTERICIDA. El aceite esencial obtenido de hojas y tallos de *T. erecta* presenta actividad antibiótica contra las bacterias *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Escherichia coli* y los hongos *Candida albicans*, *Candida utilis* y varias especies de *Aspergillus* incluyendo el *Aspergillus niger* y *Trichoderma viride*. (Petrovskii, 1946; Ahmed, 1980; Bose, 1980; Garg, 1983 en URL, Argueta y cols., 2009).
- COMO ESTIMULANTE MUSCULAR. El extracto obtenido de las hojas de *T. erecta* ejerció efectos cronotrópico e inotrópico positivos en el corazón aislado de rana. Del mismo modo, un extracto etanólico de las hojas produjo una actividad estimulante de músculo liso en íleon y en útero de cuyo, y en yeyuno de conejo. (Petrovskii, 1946; Ahmed, 1980; Bose, 1980; Garg, 1983 en URL, Argueta y cols., 2009).

- COMO CARDIOPROTECTOR. La luteína previene el endurecimiento cardiovascular causado por la edad y las enfermedades coronarias (Michaud, 2000 y Slattery, 2000 en Wang y cols., 2006).
- COMO AGENTE CICATRIZANTE. Ghosh y colaboradores (2004) realizaron un ensayo para probar la acción cicatrizante del extracto etanólico de las hojas de *Tagetes erecta* en ratas albinas adultas, aplicando el modelo de herida por incisión. Los resultados revelaron una significativa actividad cicatrizante del extracto, que fue comparable con la referencia utilizada, la nitrofurazona. En el día 12, después de la incisión, la resistencia de la fuerza tensora del grupo tratado con el extracto fue significativamente más alta ( $p < 0.001$ ) que en el control.

Breithaupt y colaboradores (2002 y 2007) estudiaron *in vitro* el metabolismo de los ésteres de xantofila en el tracto gastrointestinal humano, a través de ensayos que buscan determinar cuáles son las enzimas responsables de su hidrolización, que es el proceso previo necesario a la absorción de la xantofila en el intestino. Los autores realizaron pruebas con las enzimas lipasa pancreática porcina, colesterol enterasa porcina, lipasa pancreática humana y con la lipasa pancreática humana recombinante. La enzima colesterol enterasa porcina se definió como un candidato plausible para esta hidrolización. Aparentemente la lipasa pancreática humana recombinante mostraba actividad, pero ésta puede deberse a la intervención de otro compuesto inesperado.

## TOXICIDAD, CITOTOXICIDAD Y GENOTOXICIDAD

Bhakuni (1969 en URL, Argueta y cols., 2009) probó el efecto tóxico de los extractos etanólico y acuoso elaborados de la planta completa de *Tagetes erecta* en ratón, administrándolo por vía intraperitoneal. Se registró letalidad a una IC<sub>50</sub> de 0.1g/kg de peso. Se identificaron al  $\alpha$ -tertienilo y al BBT 5(but-3-en-1-inil)-2,2'-bitienil)-ienil como compuestos fototóxicos, con efectos nematotóxico, bactericida, fungicida e insecticida en fitopatógenos, lo que ha despertado el interés de conocer su acción biológica en humanos (Cooper y Nitsche, 1985; Vasudevan y cols., 1997).

Ong y colaboradores (1989) utilizaron el modelo de *Salmonella*-microsoma para comparar la actividad antimutagénica de varios compuestos, entre ellos, del  $\beta$ -caroteno, de la clorofila, del retinol y de las vitaminas C y E, contra extractos solventes de polvo de carbón, de emisiones de partículas de diesel, partículas en el aire, carne de res frita, y tabaco. Dentro de los resultados obtenidos, se encontró que el  $\beta$ -caroteno inhibió, si acaso, menos de 39% de la actividad mutagénica de las 5 mezclas estudiadas. La



clorofila resultó el mejor antimutagénico sobre estas mezclas, ya que redujo la mutagenicidad del tabaco en un 69%, y en un 90% sobre las otras 4 mezclas.

Contrario al efecto antioxidante y precursor de la vitamina "A" que se le ha identificado al  $\beta$ -caroteno, se encontró que éste, entre otros carotenoides, incrementa la incidencia del cáncer de pulmón en altas dosis, especialmente entre los fumadores (Mayne y cols., 1996; Omenn y cols., 1996 en Wang y cols., 2006).

Palozza (1995) y Omaye (1997) y sus grupos de colaboradores han sugerido que el mecanismo por el cual el  $\beta$ -caroteno incrementó el riesgo de padecer cáncer de pulmón en los fumadores asiduos y en trabajadores expuestos al asbesto está relacionado con la presión parcial del oxígeno relativamente alta en el pulmón, que combinada con las especies reactivas al oxígeno derivadas del humo del tabaco, o inducidas por el asbesto, facilita la autooxidación del  $\beta$ -caroteno, cuyos metabolitos oxidantes pueden actuar como propagadores de la formación de radicales libres en los pulmones de estos individuos (en Lotan, 1999).

El reporte de Wang y colaboradores (1999 en Lotan, 1999) ofrece otra posible explicación para el efecto potencializador del  $\beta$ -caroteno sobre la carcinogénesis pulmonar en fumadores. Estos autores determinaron los efectos de altas dosis de  $\beta$ -caroteno y de la exposición al humo de tabaco en el tejido pulmonar de hurón (*Mustela putorius furo*), y concluyeron que la intensificación de la tumorogénesis pulmonar en el hurón, después de administrarles una alta dosis de  $\beta$ -caroteno y de exponerlos al humo de tabaco, es resultado de la supresión del  $\beta$ -RAR y de la sobre expresión de los genes c-jun y c-fos. Wang y colaboradores plantearon la siguiente secuencia de eventos: un incremento de  $\beta$ -caroteno en la presencia de humo de tabaco en el pulmón de hurón resulta en un incremento de la enzima P450. Este efecto intensifica la formación de metabolitos oxidantes como los  $\beta$ -apo-carotenales, que incrementan aún más el nivel de las enzimas P450 y que puede suprimir la señalización retinoide. Consecuentemente, los niveles de  $\beta$ -caroteno y de ácido retinoico se redujeron aún más. La disminución del ácido retinoico puede conducir a la disminución de la expresión del  $\beta$ -RAR y a un incremento en la expresión de las proteínas c-fos y c-jun. La disminución del  $\beta$ -RAR puede en cambio, facilitar el desarrollo de la metaplasia escamosa. El incremento de la AP-1 puede conducir a la hiperproliferación celular y al incremento del antígeno nuclear de proliferación celular (ANPC). Se propuso que este mecanismo puede intensificar eventualmente la tumorogénesis pulmonar.

Lotan (1999) discutió el trabajo de Wang y colaboradores (1999), principalmente algunos de los cambios bioquímicos y moleculares que ocurren en el tejido pulmonar del hurón y su relación con el desarrollo de la metaplasia escamosa, el incremento del ANPC y la tumorogénesis pulmonar. Lotan concluyó que el mecanismo que intensifica el cáncer de pulmón entre los fumadores a los que se ha suministrado altas dosis de  $\beta$ -caroteno era de gran importancia debido al interés general en el potencial del  $\beta$ -caroteno como agente quimioprotector y el preocupante conflicto de los resultados obtenidos en los estudios

hasta entonces realizados. Explicó que la posibilidad de que los metabolitos oxidantes del  $\beta$ -caroteno pudieran suprimir la señalización retinoide y eventualmente intensificar la carcinogénesis resulta interesante. Los puntos centrales de su discusión fueron la aparición de la metaplasia escamosa, más que el cáncer pulmonar en sí mismo, y un incremento del ANPC en el tejido pulmonar de hurón. No ha sido aclarado si los cambios están relacionados directamente con la carcinogénesis. En humanos, estos cambios son frecuentemente reversibles (p. ej. dejar de fumar), tampoco existe un acuerdo general sobre si las lesiones de metástasis escamosas son pre-malignas. Por lo tanto, la extrapolación de los resultados obtenidos con el hurón a la carcinogénesis pulmonar humana debiera hacerse con precaución, debido a que no se ha establecido una causalidad directa para las altas dosis de  $\beta$ -caroteno, para el humo de tabaco ni para el desarrollo del cáncer pulmonar.

González-Mejía y colaboradores (1997) utilizaron la cepa YG1024 de *Salmonella typhimurium* para examinar la anti-mutagenicidad de las xantofilas de *Tagetes erecta* en el mutágeno 1-nitropireno (1-NP). Además, investigaron el efecto de la luteína en el sistema de reparación del ADN de la cepa de *Salmonella* examinada. También revisó el posible mecanismo de la luteína en la mutagenicidad del 1-NP (normalmente un potente nitroareno mutágeno de las cepas de *Salmonella typhimurium*). Las xantofilas y la luteína de *T. erecta* inhibieron la mutagenicidad de 1-NP en forma dosis-dependiente. Los pigmentos y la luteína no resultaron tóxicos para la bacteria en las concentraciones probadas. El porcentaje de inhibición de la mutagenicidad de 1-NP, fue de 72% para la luteína (10  $\mu\text{g}/\text{plate}$ ), de 92% para el pigmento utilizado en aves de corral (10  $\mu\text{g}/\text{plate}$ ) y de 66.2% para el pigmento de uso humano (2  $\mu\text{g}/\text{plate}$ ). La luteína no tuvo efecto sobre el sistema de reparación del DNA de la cepa YG1024. Los resultados sugieren que el principal mecanismo de la luteína contra la mutagenicidad del 1-NP es la formación potencial de un complejo entre la luteína y el 1-NP, que puede limitar la biodisponibilidad de este último.

En la extracción de la luteína de la flor de *T. erecta*, la presencia de ácidos grasos insaturados y el proceso de extracción en sí mismo, provocan que la calidad y cantidad de la luteína obtenida decrezca, ya que este pigmento se oxida fuertemente. Incluso dicho fenómeno ocurre durante la incorporación de la luteína en los diversos productos en los que se emplea, dónde la oxidación de los ácidos grasos insaturados genera sustancias que proveen sabor y aroma propios, con repercusiones negativas en la calidad de los productos (Frankel, 1993 en Ríos y cols., 2008). Lo anterior puede generar problemas de seguridad, debido a la toxicidad que pueden tener los compuestos intermedios formados en la hidroxidación de los lípidos (Kubow, 1990 en Ríos y cols., 2008).

Normalmente, se ha considerado el uso de la luteína como seguro, pero la información sobre su toxicidad y los beneficios a altas dosis es limitada. Wang y colaboradores (2006) aislaron y purificaron una gran cantidad de luteína de *T. erecta* y examinaron su actividad antioxidante en un ensayo de fotoquimioiluminiscencia (PCL) y en el sistema del modelo del ácido  $\beta$ -caroteno–linoleico (b-CLAMS). La luteína mostró una gran actividad

antioxidante, mayor que la de otros carotenoides, como el  $\beta$ -caroteno y el licopeno. Luego examinó la mutagenicidad y la anti-mutagenicidad de la luteína a 334, 668 y 1335  $\mu\text{g/placa}$  empleando la prueba estándar de Ames en presencia y ausencia de la mezcla de enzimas microsomales de hígado de rata (S9). Wang y sus colaboradores encontraron que la luteína no se comportó como agente mutagénico en ninguna de las dosis probadas. Confirmaron que el efecto antimutagénico ocurre en forma dosis-dependiente. Se obtuvieron resultados similares en la prueba de aberraciones cromosómicas empleando las células de ovario de hámster chino para evaluar la clastogenicidad y la anti-clastogenicidad de la luteína a diversas concentraciones. Los hallazgos proveen evidencia científica del uso seguro y de los beneficios a la salud de la luteína.

## CONCLUSIONES

De la revisión documental de *Tagetes erecta* puede concluirse que se trata de una planta de suma importancia, no solo por su empleo terapéutico en nuestro país, sino por su valor comercial a nivel internacional.

El género *Tagetes* se distribuye ampliamente en el continente americano. *T. erecta* es una planta mexicana que se encuentra en casi todo el territorio nacional y que se siembra no solo en nuestro país, al igual que algunas otras especies del género, sino que también se le cultiva en la India, Hawaii, África y en Australia entre otros, dónde ya se ha naturalizado. La gran dispersión y manipulación a la que se le ha sometido es debido a su relevancia económica.

Por lo anterior, el desarrollo de la investigación científica en relación a esta especie se ha enfocado en sus compuestos activos de importancia económica: sus pigmentos (Vasudevan y cols., 1997). Los carotenoides tienen una extensa aplicación en la industria de los alimentos para dar color y mejorar la apariencia de bebidas, lácteos, aves de corral, peces y crustáceos comestibles a través de sus alimentos, entre otros. Incluso algunos terpenoides de esta planta son útiles para teñir textiles. La otra línea de investigación con amplio desarrollo es la que se refiere a sus compuestos activos (poliacetilenos y terpenoides) con aplicación en la agricultura donde actúan como agentes nematotóxicos, insecticidas y fungicidas de fitopatógenos.

La investigación formal en el campo de la medicina y la farmacéutica ha destacado el uso de los carotenoides, esencialmente de la luteína y de los  $\alpha$ - y  $\beta$ -carotenos, como micronutrientes de uso humano, cuyas principales funciones son: actuar como antioxidante y precursor de la vitamina "A"; lo que favorece beneficios adicionales, tales como ser agentes preventivos del cáncer de colon y mamario (luteína), del cáncer de

pulmón y de piel ( $\alpha$ - y  $\beta$ -carotenos); también disminuyen el riesgo de padecer degeneración macular (luteína); actúan en la prevención de enfermedades coronarias; incrementan la función inmune del organismo y la regeneración celular; y poseen efectos hepatoprotectores, cardioprotectores, antibacterianos (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*) y fungicidas (*Candida albicans*). A consecuencia de lo anterior, la industria farmacéutica ha creado una nueva línea comercial para la obtención, purificación y comercialización de los carotenoides de *Tagetes erecta* como suplementos alimentarios, aislados o adicionados a alimentos, bebidas y productos cosméticos.

Las investigaciones de *Tagetes erecta* en la medicina tradicional son también escasas. Las fuentes identificadas provienen de revisiones etnobotánicas que hacen referencia general a la botánica, usos y costumbres de la planta (Heinrich y cols., 1998 y Silva-Aparicio y cols., 2003), muchos de los cuales no están reflejados en ensayos formales encaminados a probar las propiedades que tradicionalmente se le han atribuido. Dentro de la información disponible, la cual proviene básicamente de la luteína y del  $\beta$ -caroteno de la flor del género *Tagetes*, no siempre con referencia a *T. erecta*, se pueden relacionar algunas propiedades estudiadas *in vitro* con los usos reportados por la etnomedicina, por ejemplo:

- Las funciones antioxidantes, de reforzamiento del sistema inmune, como precursor de la vitamina "A" pudieran actuar para prevenir y reducir los efectos de enfermedades degenerativas como el cáncer, el reumatismo, la degeneración macular y algunas enfermedades nerviosas.
- Al añadirse a lo anterior las funciones bactericida y fungicida, se sustenta el uso tradicional de *Tagetes erecta* para combatir infecciones de la piel, respiratorias y gastrointestinales (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*), así como infecciones de los ojos entre otras.
- De igual manera, estas condiciones favorecen el buen funcionamiento del aparato reproductor femenino y sus infecciones, principalmente por hongos (*Candida albicans*).
- Los efectos antioxidantes, bactericidas y cicatrizantes ayudan a que las heridas e infecciones de la piel que se lavan con infusiones de *Tagetes erecta* no se infecten y a que cicatricen en mejores condiciones y en menor tiempo.
- La actividad colerética provocada por el extracto etanólico de las flores pudiera apoyar al uso del cempasúchil como tratamiento para el empacho y la indigestión.
- Como hepatoprotector, junto con sus funciones antioxidantes, sustenta el uso de *Tagetes erecta* como tratamiento auxiliar de algunas enfermedades biliares.

- Del mismo modo, el extracto etanólico de las hojas del cempasúchil que produjo actividad estimulante del útero de cuyo, podría dar indicios favorables para el uso del cempasúchil en forma de lavados y baños en mujeres recién paridas, o para estimular la menstruación. Sus propiedades bactericidas y fungicidas podrían aliviar las infecciones del aparato reproductor femenino.
- Las propiedades nematotóxicas contra fitopatógenos del cempasúchil podrían ser la base para sustentar el mismo uso en seres humanos.
- El extracto de las hojas de *Tagetes erecta* que produjo efectos inotrópicos y cronotrópicos positivos en el corazón de rana podría apoyar un efecto favorable para el corazón y la circulación ya que podría compensar una insuficiencia cardíaca que implique una falla cardíaca ventricular. Su consumo en altas dosis podría ser tóxico.
- Los efectos antidiarreicos del cempasúchil no están en discusión en la etnomedicina, pues ésta es una de sus primeras y reconocidas funciones terapéuticas, que como ya se revisó puede sustentarse en las capacidades científicamente probadas de la flor de la planta como agente bactericida y colerético.

Los estudios de la toxicidad del cempasúchil ofrecen información que es necesario esclarecer para proporcionar certidumbre en el uso terapéutico de la planta. Se ha confirmado en ensayos que las xantofilas lejos de ser agentes mutagénicos, son agentes anti-mutagénicos (González-Mejía y cols., 1997 y Wang y cols., 2006). También ha sido reportada la acción tóxica de los compuestos de la planta: letalidad en ratones ocasionada por los extractos acuosos de la planta (Bhakuni, 1969), altas dosis de  $\beta$ -caroteno que favorecen el cáncer de pulmón en fumadores (Mayne, 1996 y Omenn, 1996), y el papel que juegan los terpenoides y poliacetilenos como nematotóxicos, insecticidas, fungicidas y bactericidas de fotoactivación. Todo ello, podría resultar en efectos tóxicos en humanos a altas concentraciones (irritación en la piel, respuestas alérgicas, etc.). Por lo tanto, es necesario profundizar en el estudio toxicológico a nivel molecular y genético de los principales compuestos activos de *T. erecta*.

Lo anterior confirma que *Tagetes erecta* es una planta con múltiples y valiosas propiedades terapéuticas que cuentan con un importante respaldo empírico y científico. La utilización de esta planta en la medicina tradicional se encuentra muy extendida en México, tanto geográficamente como en número de funciones terapéuticas descritas, lo cual la hace ser una planta medicinal muy importante en nuestro país. Es recomendable retomar los ensayos farmacológicos para sustentar los usos tradicionales reportados, para potencializar y dirigir, de manera eficiente y responsable, su empleo medicinal.

## 7. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

A lo largo de esta investigación documental, se ha observado el creciente interés de la comunidad científica internacional en generar mayor conocimiento sobre el potencial biológico de las plantas utilizadas en la medicina tradicional de países como México. Esto se debe en gran parte a la situación actual del ámbito médico moderno en relación a las enfermedades a las que se avoca, entre ellas las infecciosas, que son prioritarias a nivel mundial debido a las altas tasas de morbilidad y mortalidad que pueden llegar a presentar, sobre todo en países con mayores niveles de pobreza, marginación, insalubridad e ignorancia, dentro de los cuales todavía debemos situar a México.

La medicina moderna se ha enfocado al tratamiento alópata de las enfermedades infecciosas que aquejan a la humanidad, empleando para ello medicamentos sintéticos y generales, muchos de ellos de origen biológico que han surtido excelentes resultados abatiendo mundialmente muchas de las enfermedades infecciosas más importantes. Sin embargo, existen ciertos puntos desfavorables que hoy por hoy están poniendo en crisis al sistema de la medicina moderna. Algunos de estos factores críticos son: el costo de los medicamentos, que a pesar de su producción en masa, aún resultan caros para la enorme población sumida en la pobreza y que requiere de ellos. Un factor más es la disponibilidad de estos medicamentos para el grupo poblacional más vulnerable, debido a que los sistemas de salud convencionales no se encuentran lo suficientemente cerca de los grupos más marginados, geográfica, económica y culturalmente hablando. Por último, un factor muy importante lo constituye el hecho de que los organismos etiológicos de las enfermedades infecciosas, desde virus y bacterias hasta protozoarios y helmintos, entre los principales, han venido desarrollando una progresiva resistencia contra los medicamentos alópatas utilizados para su erradicación.

Todos los puntos anteriores han provocado que el mundo de la ciencia, y de la medicina particularmente, tornen su interés hacia las plantas medicinales tradicionales, fuente primaria de tratamiento para muchas de estas enfermedades, y que han sido utilizadas con éxito por los pueblos originales en cada territorio.

En México, tenemos una situación privilegiada al respecto, ya que contamos con una antigua tradición medicinal basada primordialmente en el uso de las plantas. El importante desarrollo de la medicina tradicional mexicana se debe básicamente a dos factores: a la enorme biodiversidad de nuestro territorio y al uso práctico y metódico que los pueblos autóctonos del país han hecho de este recurso. Es así, que la medicina tradicional llega hasta nuestros días como una importantísima forma de tratamiento médico para la mayoría de los mexicanos. Por lo mismo, es de sorprenderse del aún escaso estudio formal de las plantas medicinales de México.

Por otra parte, cabe señalar que la diarrea, que en muchos de los casos resulta ser una enfermedad infecciosa con múltiples agentes etiológicos, todavía constituye un problema de salud de gran relevancia en nuestro país, principalmente entre los niños menores de 5

años dónde las elevadas tasas de morbilidad y de mortalidad son injustificables, si se comparan con las tasas de otros países y más aún, si se contempla que la mayoría de las muertes son prevenibles al atenderse las medidas de higiene y atención básicas.

La diarrea en México, es un problema que tradicionalmente ha sido tratado con la ayuda de la enorme cantidad de plantas medicinales identificadas como útiles contra este mal. Dentro de las cuales se encuentran las cuatro plantas seleccionadas para esta revisión: el estafiate (*Artemisia ludoviciana* subsp. *mexicana*), el árnica mexicana (*Heterotheca inuloides*), el epazote de zorrillo (*Dysphania graveolens*) y el cempasúchil (*Tagetes erecta*). Todas ellas han sido reportadas por sus propiedades antidiarreicas. Aunque este efecto médico no es único, sino que conforma parte de un grupo de propiedades medicinales atribuidas a cada planta y que actúan en conjunto para tratar al paciente, y a sus padecimientos, como un todo, y no como síntomas o enfermedades aisladas, lo cual trabaja a favor del empleo eficaz de la medicina tradicional. En muchas ocasiones, el remedio recomendado para tratar a un paciente es una mezcla de plantas que busca fortalecer y ampliar su potencial curativo.

Muchos de los estudios formales efectuados en México son de carácter etnobotánico, trabajos esenciales para conocer la variedad de plantas medicinales utilizadas por los pueblos mexicanos y el sistema médico tradicional de cada comunidad, proporcionando información clave que dirige el curso de las siguientes investigaciones científicas sobre las plantas medicinales. Aún así, estos estudios están lejos de completarse, como ejemplo, tenemos los estudios etnobotánicos de las plantas de esta revisión, que dada su amplia distribución geográfica dificulta que se cuente con trabajos etnobotánicos profundos y particulares para cada región.

Los estudios fitoquímicos son los más desarrollados para las plantas revisadas, ya que este conocimiento es fundamental para identificar compuestos con actividad biológica o química que resulte interesante desde el punto de vista médico, comercial o industrial. Ejemplo de ello es el cempasúchil (*T. erecta*), cuya importancia comercial como fuente de pigmentos e insecticidas ha conducido a su siembra, incluso en la India. Es precisamente el interés comercial una fuente importante de recursos que se dedican a la investigación de las plantas, primeramente dirigidos a los estudios químicos que buscan identificar, aislar, extraer, depurar, conservar y controlar la calidad de los compuestos de interés, mismos que definitivamente pueden ser de utilidad médica.

Se han realizado estudios con enfoque farmacológico en todas las plantas de esta revisión. Pero de igual manera, en su mayoría resultan ser pocos e inespecíficos para las plantas revisadas. La mayor parte de los trabajos examinados en este campo, están dirigidos a estudiar la actividad biológica de los extractos de un cierto grupo de plantas. Los resultados obtenidos son básicos y valiosos, ya que contribuyen a definir las siguientes acciones para profundizar en las investigaciones. Por ejemplo, de esta forma se ha proporcionado el principal sustento científico a las propiedades antibacteriana y antiprotozoaria de *Artemisia ludoviciana* subsp. *mexicana*, contra algunos agentes etiológicos de la diarrea; de igual manera, se han comprobado sus capacidades antimicótica y antioxidante.

También a través de ensayos biológicos con extractos se comprobaron las actividades antimicrobiana, antiprotozoaria, antihelmíntica, anti-inflamatoria y analgésica de *Dysphania graveolens*. En este caso, ya se registran ensayos con compuestos aislados para comprobar algunas de las actividades anteriores, así como otras actividades: neuroprotectora, cardioprotectora, hepatoprotectora y la actividad para prevenir y disminuir el desarrollo de varios tipos de cáncer.

Con ensayos biológicos de la actividad de extractos de *Heterotheca inuloides*, se comprobaron sus actividades bactericida, anti-inflamatoria, analgésica, que soportan en parte su uso como antidiarreico, así como también actividades inhibitoras de la tirosinasa y como antioxidante. En algunos ensayos de esta planta, ya se emplearon fracciones más puras e incluso, compuestos aislados para probar algunas de sus propiedades.

Para *Tagetes erecta*, se encontraron más estudios químicos que aquellos dirigidos a probar su actividad biológica, quizá debido a su gran importancia industrial y comercial. Los estudios biológicos existentes probaron su actividad bactericida, fungicida, insecticida y nematotóxica con base a compuestos aislados, los cuales en esta planta se conocen bien. Por lo anterior, estas actividades biológicas fueron principalmente analizadas con un enfoque agropecuario, para el tratamiento de infecciones de cultivos económicamente importantes. Dentro de los compuestos mayormente estudiados en esta planta se encuentran los carotenoides, entre ellos la luteína y los  $\alpha$ - y  $\beta$ -carotenos, a los cuales se les ha reconocido una utilidad médica muy importante como agentes antioxidantes, anticancerígenos, bactericidas, colestáticos y hepatoprotectores entre otras funciones.

En resumen, es común encontrar una diversidad de productos naturales, con diferentes estructuras químicas, que se reparten en varios grupos de plantas confiriéndoles las mismas actividades biológicas. Por otro lado, la diferencia entre las actividades biológicas de las plantas se debe en parte, a las mezclas particulares de estos compuestos en sus estructuras vegetales. Empíricamente esto se reconoce en la medicina tradicional cuando los remedios se diseñan con base a una mezcla de plantas en proporciones particulares y utilizando métodos de administración específicos.

La medicina tradicional mexicana no reporta toxicidad evidente para las plantas revisadas, con excepción de *Dysphania graveolens* y su componente altamente tóxico, el ascaridol; lo que puede conducir a la falta de interés para realizar estudios sobre el efecto de los compuestos activos de estas plantas, a nivel celular, molecular y genético, que ayuden a determinar sus potenciales tóxico, citotóxico y genotóxico, dependiendo de la dosis y la frecuencia con que se administran. Los estudios más escasos son aquellos relacionados con la genotoxicidad de los compuestos activos reportados. Otros factores que puede contribuir a esta situación, es el nivel de conocimiento que se tiene de cada una de las plantas y de sus sustancias activas, así como de la disponibilidad y avance de la tecnología dedicada a su estudio. Sin embargo, es necesario avanzar y profundizar en el estudio molecular y genético de las plantas medicinales, ya que debemos tomar en cuenta que es cada vez más frecuente el empleo, dentro de la herbolaria, de aceites esenciales y otros concentrados de estas plantas, cuya venta y administración se da en forma libre y



sin control (dado la falta de conocimiento a estos niveles), lo que podría ocasionar sobredosis que dañen severamente al organismo y que incluso, puedan ocasionar la muerte (p. ej. *Dysphania graveolens*). Para actuar con responsabilidad en la recomendación de estos fitofármacos, es vital contar con conocimiento profundo de la toxicidad de estas plantas para asegurar un empleo seguro y confiable de las mismas.

Algunos estudios han dejado en evidencia que ciertos compuestos de plantas catalogadas como no tóxicas, sí registran niveles de toxicidad, los cuales resultan claros cuando los compuestos o extractos se analizan a concentraciones altas. Este es el caso de los flavonoides quercitina y camferol de *Heterotheca inuloides*, que en presencia de Cu actúan como pro-oxidantes celulares y genotóxicos con potencial mutagénico en el ADN, mientras que el empleo normal de extractos no concentrados de esta planta no irritan la piel ni causan ulceraciones gástricas. Otro caso similar, es el empleo de dosis altas de  $\beta$ -carotenos para prevenir el desarrollo del cáncer pulmonar en personas fumadoras o bebedoras asiduas, ya que dosis altas de  $\beta$ -carotenos, lejos de prevenir el desarrollo cancerígeno parecen favorecerlo. Sin duda, conocer los mecanismos de acción de los procesos biológicos de compuestos como éstos son una prioridad.

Paralelamente, ciertas propiedades citotóxicas y genotóxicas pudieran actuar para beneficio de los seres humanos, al operar como antitumorales. Tal es el caso de la rutina, un sesquiterpeno presente en *Heterotheca inuloides* que puede actuar como inhibidor de la formación de nódulos de tumor canceroso en pulmón de ratón; o la pinocembrina de *Dysphania graveolens*, o la luteína de *Tagetes erecta*, incluso algún sesquiterpeno lactona de *Artemisia ludoviciana* subsp. *mexicana*, que también demuestran actividad antitumoral.

*Artemisia ludoviciana* subsp. *mexicana* reporta una baja toxicidad en su empleo medicinal, aunque sí se han notificado algunos casos de irritación en la piel en personas sensibles. Otros estudios señalan que los sesquiterpenos lactonas, compuestos característicos en la familia Asteraceae, despliegan propiedades citotóxicas antitumorales. Entre ellos se encuentran los siguientes en *A. ludoviciana* subsp. *mexicana*: la ridentina, la santonina (antihelmíntico), la vulgarina, la ludovicina y la arglanina. Todos ellos han mostrado actividad antitumoral en algunos carcinomas humanos de laringe y cérvico-uterino.

Se han registrado en México algunos casos de intoxicaciones letales por la ingestión de altas dosis de aceite esencial de *Dysphania graveolens*. Lo anterior se atribuye al ascaridol (compuesto ascaricida). Cabe señalar que en ninguno de los artículos científicos revisados sobre la fitoquímica de esta planta se reportó al ascaridol como constituyente de *D. graveolens*. El ascaridol ((1-metil-4-(1-metiletil)-2,3-dioxabicyclo[2.2.2]oct-5-eno), es un peróxido terpénico del aceite esencial de las semillas del epazote (*Dysphania ambrosioides*) y de otras partes aéreas de esta planta, al igual que de otras plantas del mismo género, que puede encontrarse en proporción del 45% y hasta del 75% de su aceite esencial (en URL, Argueta y cols., 2009; en URL, Mondragón-Pichardo, 2009). El aceite esencial del epazote es empleado como antihelmíntico en la medicina tradicional mexicana; sin embargo, es importante señalar que esta práctica está cayendo en desuso debido a su elevada toxicidad (por ingestión de una sobredosis) que en casos extremos

puede conducir a la muerte (en URL, Argueta y cols., 2009). En pruebas de extractos de *Dysphania graveolens* sobre células KB no se observó ninguna actividad citotóxica. Mientras que ciertos compuestos presentes en esta planta sí mostraron actividad citotóxica: la crisina exhibió efectos citotóxicos en células de melanoma cultivadas (como inhibidor de la síntesis de melanina) (Kubo y cols., 2007), y la rutina previamente probada como inhibidor de la metástasis de pulmón en ratón (Menon, 1995 en Kubo y cols., 2007). Es así que, posiblemente el ascaridol no sea un componente, o no uno importante, de *Dysphania graveolens*; o pudiera ocurrir que la planta de la que se obtuvo el aceite esencial que ocasionó el deceso descrito en esta revisión, haya sido incorrectamente identificada, ya que al parecer sólo se contaba con el aceite esencial y no con la planta completa (Montoya-Cabrera y cols., 1996).

Los extractos acuosos de *Tagetes erecta* sí han registrado cierta letalidad en ratón después de administrarse en forma intraperitoneal. También se encontraron compuestos  $\alpha$ -tertienilos que son fototóxicos y generan efectos nematotóxicos, bactericidas, fungicidas e insecticidas para proteger a la planta contra fitopatógenos. Al contrario de sus propiedades benéficas registradas, se ha encontrado que altas dosis de  $\beta$ -carotenos incrementa la incidencia de cáncer de pulmón, especialmente entre fumadores (Mayne y cols., 1996; Omenn y cols., 1996 en Wang y cols., 2006).

La luteína probó ser un agente antimutagénico en la bacteria *Salmonella typhimurium*. Normalmente se ha reportado el consumo humano de la luteína como seguro, pero la información sobre su toxicidad y beneficios a dosis elevadas es limitada. Aunque no se ha probado que tenga actividad mutagénica, puede que sí genere cierta toxicidad durante su proceso de incorporación a los diversos productos alimentarios, ya que puede oxidarse y generar así productos intermedios tóxicos, por lo que su empleo para consumo humano a través de los alimentos puede ser delicado (Frankel, 1993 en Ríos y cols., 2008).

El entender los mecanismos de acción de los compuestos activos de las plantas medicinales a nivel celular y molecular puede conducir al mejor empleo de las mismas como fitomedicamentos de manera segura, así como el poder explotar una amplia gama de posibilidades medicinales que aún no estén claramente al alcance: como antitumorales, neuroprotectores, anti-mutagénicos, reparadores del material genético, etc. Para ello se requiere avanzar en el estudio de las plantas medicinales, por ejemplo de las aquí revisadas, dado que ha sido demostrado su potencial médico mucho más allá de la diarrea.

## LITERATURA CITADA

- Alanís, A. D., Calzada, F., Cervantes, J. K., Torres, J. y Ceballos, G. M. 2005. **Antibacterial properties of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders.** J. Ethnopharmacol. 100: 153-157.
- Amaral, M. M. F., Ribeiro, S. M. N., Barbosa-Filho, J. M., Reis, S. A., Nascimento, R. F. F. y Macedo, O. R. 2006. **Plants and chemical constituents with giardicidal activity.** Rev. Bras. Farmacogn. 16: 696-720.
- Andrade-Cetto, A. y Heinrich, M. 2005. **Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes.** J. Ethnopharmacol. 99: 325-348.
- Andrade-Cetto, A. 2009. **Ethnobotanical study of the medicinal plants from Tlanchinol, Hidalgo, México.** J. Ethnopharmacol. 122: 163-171.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. y Idaomar, M. 2008. **Biological effects of essential oils – A review.** Food Chem. Toxicol. 46: 446-475.
- Breithaupt, D. E., Bamedi, A. y Wirt, U. 2002. **Carotenol fatty acid esters: easy substrates for digestive enzymes?.** Comp. Biochem. Physiol. B: Biochem. Mol. Biol. 132: 721-728.
- Breithaupt, D. E. 2007. **Modern Application of Xanthophylls in Animal Feeding. A review.** Trends Food Sci. Technol. 18: 501-506.
- Broussalis, M. A., Ferraro, G. E., Martino, V. S., Pinzón, R., Coussio, J. D. y Calle-Álvarez, J. 1999. **Argentine plants as potential source of insecticidal compounds.** J. Ethnopharmacol. 67: 219-223.
- Calzada, F., Meckes, M., Cedillo-Rivera, R., Tapia-Contreras, A. y Mata, R. 1998. **Screening of mexican medicinal plants for antiprotozoal activity.** Pharmaceut. Biol. 36(5): 305-309.
- Calzada, F., Velázquez, C., Cedillo-Rivera, R. y Esquivel, B. 2003. **(Abs) Antiprotozoal activity of the constituents of *Teloxys graveolens*.** Phytother. Res. 7(7): 731-732.
- Calzada, F., Yépez-Mulia, L. y Aguilar, A. 2006. **In vitro susceptibility of *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* to plants used in mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders.** J. Ethnopharmacol. 108: 367-370.

Camacho, M. d. R., Favela-Hernández, J. M. d. J., González-Santiago, O., Garza-González, E., Molina-Salinas, G. M., y cols. 2009. **Evaluation of some plant-derived secondary metabolites against sensitive and multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis***. J. Mex. Chem. Soc. 53(2): 71-75.

Camacho, M. d. R., Phillipson, J. D., Croft, S. L., Solís, P. N., Marshall, S. J. y Ghazanfar, S. A. 2003. **Screening of plant extracts for antiprotozoal and cytotoxic activities**. J. Ethnopharmacol. 89: 185-191.

Camacho, M. d. R., Sánchez B, Quiroz, H., Contreras, J. L. y Mata, R. 1991 **(Abs.) Pinocembrine: a bioactive flavanone from *Teloxys graveolens***. J. Ethnopharmacol. 31(3): 383-389.

Cano, A., Sánchez, L. y Degaldo, G. 2008. **Biotransformaciones y evaluación citotóxica de la arglanina y ridentina por medio de hongos filamentosos, aislados de las partes aéreas de *Artemisia ludoviciana* spp. mexicana**. Rev. Latinoam. Quím. 130-131.

Castillo-Juárez, I., González, V., Jaime-Aguilar, H., Martínez, G., Linares, E., y cols. 2009. **Anti-*Helicobacter pylori* activity of plants used in mexican traditional medicine for gastrointestinal disorders**. J. Ethnopharmacol. 122: 402-405.

Chew, B. P., Wong, M. W. y Wong, T. S. 1996. **(Abs) Effects of lutein from marigold extract on immunity and growth of mammary tumors in mice**. Anticancer Res. 16(6B): 3689-94.

Cooper, K. G. y Nitsche, C. I. 1985.  **$\alpha$ -terthienyl, phototoxic allelochemical. Review of research on its mechanism of action**. Bioorg. Chem. 13: 362-374.

Cimanga, R. K., Kambu, K., Tona, L., Hermans, N., Apers, S. y cols. 2006. **Cytotoxicity and in vitro susceptibility of *Entamoeba histolytica* to *Morinda morindoides* leaf extracts and its isolated constituents**. J. Ethnopharmacol. 107: 83-90.

Delgado, G., Olivares, M. S., Chávez, M. I., Ramirez-Apan, T., Linares, E., Bye, R. y Espinosa-García, F. J. 2001. **Antiinflammatory constituents from *Heterotheca inuloides***. J. Nat. Prod. 64(7) 861-864.

Delgado-Vargas, F. y Paredes-López, O. 1997. **Effects of enzymatic treatments on carotenoid extraction from Marigold Flowers (*Tagetes erecta*)**. Food Chem. 58(3): 255-258.

Del Villar-Martínez, A. A., García-Saucedo, P. A., Carabez-Trejo, A., Cruz-Hernández, A. y Paredes-López, O. 2005. **Carotenogenic gene expression and ultrastructural changes during development in marigold**. J. Plant Physiol. 162: 1046-1056.

- Domínguez, X. A. y Cárdenas, G. E. 1975. **Achillin and deacetylmatricarin from two *Artemisia* species.** *Phytochemistry* 14: 2511-2512.
- Frei, B., Baltisberger, M., Sticher, O. y Heinrich, M. 1998. **Medical ethnobotany of the zapotecs of the Isthmus-Sierra (Oaxaca, Mexico): Documentation and assessment of indigenous uses.** *J. Ethnopharmacol.* 62: 149-165.
- Fumiko, A., Nagafuji, Sh., Yamauchi, T., Okabe, H., Maki, J. y cols. 2002. (Abs.) **Trypanocidal constituents in plants 1: Evaluation of some Mexican plants for their trypanocidal activity and active constituents in guaco, roots of *Aristolochia taliscana*.** *Biol. Pharm. Bull.* 25(9): 1188-1191.
- Gao, M., Zhang, W. C., Liu, Q. S., Hu, J. J., Liu, G. T. y Du, G. H. 2008. **Pinocembrin prevents glutamate-induced apoptosis in SH-SY5Y neuronal cells via decrease of bax/bcl-2 ratio.** *Eur. J. Pharmacol.* 591: 73-79.
- Gao, Y., Nagy, B., Liua, X., Simándi, B. y Wang, Q. 2009. **Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of lutein esters from marigold (*Tagetes erecta* L.) enhanced by ultrasound.** *J. Supercrit. Fluids* 49(3): 345-350.
- Gau, W., Ploschke, H. J. y Wünsche, C. 1983. (Abs.) **Mass spectrometric identification of xanthophyll fatty acid esters from marigold flowers (*Tagetes erecta*) obtained by high performances liquid chromatography and Craig counter-current distribution.** *J. Chromatogr.* 262: 277-284.
- Gautam, R., Saklani, A. y Jachak, S. M. 2007. **Review Indian medicinal plants as a source of antimycobacterial agents.** *J. Ethnopharmacol.* 110: 200-234.
- Geissman, T. A. y Saitoh, T. 1972. **Ludalbin; a new lactone from *Artemisia ludoviciana*.** *Phytochemistry* 11: 1157-1160.
- Gené, R. M., Segura, L., Adzet, T., Marín, E. y Iglesias, J. 1998. ***Heterotheca inuloides*: Anti-inflammatory and analgesic effect.** *J. Ethnopharmacol.* 60: 157-162.
- Gil, A., Ghersa, C. M. y Perelman, S. 2002. **Root thiophenes in *Tagetes minuta* L. accessions from Argentina: genetic and environmental contribution to changes in concentration and composition.** *Biochem. Syst. Ecol.* 30: 1-13.
- Gillij, Y. G., Gleiser, R. M., y Zygadlo, J. A. 2008. **Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina.** *Bioresour. Technol.* 99(7): 2507-2515.
- Gispert, C. M. y Rodríguez, G. H. 1998. **Los Coras: plantas alimentarias y medicinales de su ambiente natural.** INI-CONACULTA. México. 128 p.

Gohar, A. A., Maatooq, G. T. y Niwa, M. 2000. **Two flavonoid glycosides from *Chenopodium murale***. *Phytochemistry* 53: 299-303.

Gómez-Rodríguez, O., Zavaleta-Mejía, E., González-Hernández, V. A., Livera-Muñoz, M. y Cárdenas-Soriano, E. 2003. **Allelopathy and microclimatic modification of intercropping with marigold on tomato early blight disease development**. *Field Crop. Res.* 83: 27-34.

González-de-Mejía, E., Loarca-Piña, G., Ramos-Gómez, M. 1997. **Antimutagenicity of xanthophylls present in Aztec Marigold (*Tagetes erecta*) against 1-nitropyrene**. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* 389: 219-226.

Gutiérrez, D. M. A., Betancourt, A. Y. y Betancourt, A. I. 2008. **Remedios Herbolarios. Botiquín Herbolario de la Botica del Pueblo**. Pub. Jardín Botánico UATX. México. 111 p.

Haraguchi, H., Saito, T., Ishikawa, H., Sánchez, Y., Ogura, T. y Kubo, I. 1996. **(Abs) Inhibition of lipid peroxidation by sesquiterpenoid in *Heterotheca Inuloides***. *J. Pharm. Pharmacol.* 48(4): 441-443.

Haraguchi, H., Ishikawa, H., Sánchez, Y., Ogura, T., Kubo, Y. y Kubo, I. 1997. **Antioxidative constituents in *Heterotheca inuloides***. *Bioorg. Med. Chem.* 5(5): 865-871.

Heinrich, M., Ankli, A., Frei, B., Weimann, C. y Stiche, O. 1998. **Medicinal plants in Mexico: Healers' consensus and cultural importance**. *Soc. Sci. Med.* 47 (11): 1859-1871.

Hernández, N. E., Tereschuk, M. L. y Abdala, L. R. 2000. **Antimicrobial activity of flavonoids in medicinal plants from Tafi del Valle (Tucumán, Argentina)**. *J. Ethnopharmacol.* 73: 317-322.

Hernández, T., Canales, M., Avila, J. G., Duran, A., Caballero, J. y cols. 2003. **Ethnobotany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla (México)**. *J. Ethnopharmacol.* 88: 181-188.

Jakupovic, R., Tan, R. X., Bohlmann, F., Boldt, e. y Jia, Z. J. 1991. **Sesquiterpene lactones from *Artemisia ludoviciana***. *Phytochemistry* 30(5): 1573-1577.

Jerga, C., Merfort, I. y Willuhn, G. 1990. **(Abs) Flavonoid glycosides and other hydrophilic compounds from flowers of *Heterotheca Inuloides***. *Planta Med.* 56: 413-415.

Kelsey, R. G. y Shafizadeh, F. 1979. **Review: Sesquiterpene lactones and systematics of the genus *Artemisia***. *Phytochemistry* 18: 1591-1611.

Kourany, E., Arnason, J. T. y Schneider, E. 1988. **Accumulation of phototoxic thiophenes in *Tagetes erecta* (Asteraceae) elicited by *Fusarium oxysporum***. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 33: 287-297.

Kruger, C. I., Murphy, M., DeFreitas, S., Pfannkuch, F. y Heimbach, J. 2002. **An innovative approach to the determination of safety for a dietary ingredient derived from a new source: case study using a crystalline lutein product**. *Food Chem. Toxicol.* 40: 1535-1549.

Kubo, I., Muroi, H., Kubo, A., Chaudhuri, S. K. Sánchez, Y. y Ogura, T. 1994. **(Abs.) Antimicrobial agents from *Heterotheca inuloides***. *Planta Med.* 60(3): 218-221.

Kubo, I., Ishiguro, K., Chaudhuri, S. K., Kubo, Y., Sánchez, Y. y Ogura, T. 1995. Short report: **A plant growth inhibitory sesquiterpenoid from *Heterotheca inuloides***. *Phytochemistry* 38(2): 553-554.

Kubo, I., Chaudhuri, S. K., Kubo, Y., Sánchez, Y., Ogura, T. y cols. 1996. **(Abs.) Citotoxic and antioxidative sesquiterpenoids from *Heterotheca inuloides***. *Planta Med.* 62(5): 427-430.

Kubo, I., Kinst-Hori, I., Chaudhuri, S. K., Kubo, Y., Sánchez, Y. y Ogura, T. 2000. **Flavonols from *Heterotheca inuloides*: Tyrosinase inhibitory activity and structural criteria**. *Bioorg. Med. Chem.* 8: 1749-1755.

Kubo, I., Nitoda, T. y Nihei, K. I. 2007. **Effects of quercetin on mushroom tyrosinase and B16-F10 melanoma cells**. *Molecules* 12: 1045-1056.

Lee, K. H. y Geissman, T. A. 1970. **Sesquiterpene lactones of *Artemisia* constituents of *A. ludoviciana* ssp. *mexicana***. *Phytochemistry* 9: 403-408.

León-Avendaño, H. y Vásquez, D. M. A. 2003. **Plantas útiles de San Juan Cacahuatpec, Costa de Oaxaca, México**. CONACULTA. México. 91 p.

Lin, J.W., Chiang, H. M., Lin, Y. Ch. y Wen, K. Ch. 2008. **Natural products with skin-whitening effects**. *J. Food Drug Anal.* 16(2): 1-10.

Linares, M. E., Flores, B. y Bye, R. 1988. **Selección de Plantas Medicinales de México**. Limusa. México. P.p. 30, 31, 34, 35, 38, 39, 42 y 43.

- Liu, R., Gao, M., Yang, Z. H. y Du, G. H. 2008. **Pinocembrin protects rat brain against oxidation and apoptosis induced by ischemia–reperfusion both in vivo and in vitro.** Brain Res. 1216: 104-115.
- Lopes-Lutz, D., Alviano, d. S., Alviano, C. S. y Kolodziejczyk, P. P. 2008. **Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils.** Phytochemistry 69: 1732-1738.
- Lotan, R. 1999. **(Abs) Lung Cancer Promotion by  $\beta$ -Carotene and Tobacco Smoke: Relationship to Suppression of Retinoic Acid Receptor- $\beta$  and Increased Activator Protein-1?** J. Natl. Cancer Inst. 91(1): 7-9.
- Lozoya, X. y Lozoya, M. 1982. **Flora Medicinal de México, 1ª. Parte: Plantas Indígenas.** IMSS, México. 309 p.
- Maldonado-Almanza, B., Ortiz, A. y Dorado, O. 2004. **Preparados Galénicos e imágenes de plantas medicinales: Una alternativa para promotores de salud en la Reserva de la Biósfera Sierra de Huautla.** CONACULTA, México. 79 p.
- Maldonado–López, Y., Linares-Mazari, E., Bye, R., Delgado, G., y Espinosa-García, F. J. 2008. **(Abs) Mexican Arnica anti–Inflammatory action: Plant age is correlated with the concentration of anti–inflammatory sesquiterpenes in the medicinal plant *Heterotheca inuloides* Cass. (Asteraceae).** Econ. Bot. 62(2): 161-170.
- Mandell, G. L., Bennett, J. E. y Dolin, R. 1995. **Principles and practice of infectious diseases.** 4<sup>th</sup> edition. Ed. Churchill Livingstone. New York. 2,803 p.
- Mata, R., Navarrete, A., Álvarez, L., Pereda-Miranda, R., Delgado, G. y Romo de Vivar, A. 1987. **Flavonoids and terpenoids of *Chenopodium graveolens*.** Phytochemistry 26(1): 191-193.
- Mathews-Roth, M. M. 1982. **(Abs) Antitumor activity of beta-carotene, canthaxanthin and phytoene.** Oncology. 39(1): 33-7.
- Martínez, M. 1958. **Flora Medicinal del Estado de México.** Gob. del Edo. de Méx. Dir. de Recursos Naturales. Toluca, Edo. de Méx. P.p. 7, 12, 20, 55.
- Martínez, M. y Matuda, E. 1979. **Flora del Estado de México. Edición facsimilar de los fascículos publicados en los años de 1953 a 1972. Tomo II. Biblioteca Enciclopédica del Estado de México.** México. 260 p.
- Martínez, M. 1994. **Catálogo de Nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas.** FCE, Ed. Continental. México. P.p. 22, 69 y 1131.



- McLachlan, D., Arnason, T. y Lam, J. 1986. **Structure-Function Relationships in the Phototoxicity of Acetylenes from the Asteraceae.** *Biochem. Syst. Ecol.* 14(1): 17-23.
- McVaugh, R. 1984. **Compositae. Flora Novo-Galiciana. A descriptive account of the vascular plants of Western Mexico, Vol. 12.** The University of Michigan Press, Ann Arbor. Michigan. 1,161 p.
- Meckes, M, David-Rivera, A. D., Nava-Aguilar, V. y Jimenez, A. 2004. **Activity of some Mexican medicinal plant extracts on carrageenan-induced rat paw edema.** *Phytomedicine* 11: 446-451.
- Mellado-Campos, V., Carrillo-Farga, M. C., Mata-Pinzón, S. (Contrib.), Zolla, C. (Dir.) y cols. 1994. **La Medicina Tradicional de los Pueblos Indígenas de México. Vol. 3.** INI. México. 977 p.
- Michaud, D. S., Feskanich, D., Rimm, E. B., Colditz, G. A., Speizer, F. E., y cols. 2000. **(Abs) Intake of specific carotenoids and risk of lung cancer in 2 prospective US cohorts.** *Am J Clin Nutr.* 72(4): 990-997.
- Molina-Salinas, G. M., Ramos-Guerra, M. C., Vargas-Villarreal, J., Mata-Cárdenas, B. D., Becerril-Montes, P. y cols. 2006. **Bactericidal activity of organic extracts from *Flourensia cernua* DC against strains of *Mycobacterium tuberculosis*.** *Arch. Med. Res.* 37: 45-49.
- Montoya-Cabrera, M. A., Escalante-Galindo, P., Meckes-Fisher, M., Sánchez-Vaca, G., Flores-Álvarez, E. y Reynoso-García, M. 1996. **Fatal poisoning caused by oil of epazote, *Chenopodium graveolens*.** *Gac. Med. Mex.* 132(4): 433-7.
- Nagao, M., Morita, N., Yahagi, T., Shimizu, M., Kuroyanagi, M. y cols. 1988. **(Abs) Mutagenicities of 61 flavonoids and 11 related compounds.** *Environ. Mol. Mutagen.* 3(4): 401-419.
- Natarajan, N., Cork, A., Boomathi, N., Pandi, R., Velavan, S. y Dhakshnamoorthy, G. 2006. **Cold aqueous extracts of African marigold, *Tagetes erecta* for control tomato root knot nematode, *Meloidogyne incognita*.** *Corp Prot.* 25(11): 1210-1213.
- Navarro, V., Villarreal, M. L., Rojas, G. y Lozoya, J. 1996. **Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases.** *J. Ethnopharmacol.* 53: 143-147.
- Navarrete-Bolaños, J. L., Rangel-Cruz, C. L., Jiménez-Islas, H., Botello-Álvarez, E. y Rico-Martínez, R. 2005. **(Abs.) Pre-treatment effects on the extraction efficiency of xanthophylls from marigold flower (*Tagetes erecta*) using hexane.** *Food Res. Int.* 38: 159-165.

- Nigg, H. y Seigler, D. 1989. **Phytochemical resources for medicine and agriculture**. Plenum Press. New York. 445 p.
- Ong, T., Whong, W. Z., Stewart, J. D. y Brockman, H. E. 1989. **(Abs) Comparative antimutagenicity of 5 compounds against 5 mutagenic complex mixtures in Salmonella typhimurium strain TA98**. Mutat Res. 222(1): 19-25.
- Osuna-Torres, L., Tapia, P. M. E. y Aguilar, C. A. 2005. **Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales. Estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico**. Pub. I Edicions. Universitat de Barcelona. España. P.p. 16-21, 42-44, 120-122, 130-133.
- Pérez-Gutiérrez, S., Vargas-Solís, R., Zavala, S. M., Pérez-G., C. y Pérez-G., R. M. 1997. **(Abs.) Inhibitory effect of five plant extracts on heart rates of rats**. Phytother. Res. 12(S1): S49-S50.
- Pérez-Pacheco, R., Rodríguez, H. C. y Lara-Reyna, J. 2004. **Toxicidad de Aceites, Esencias y Extractos Vegetales en Larvas de Mosquito *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae)**. Acta Zool. Mex. 20(1): 141-152.
- Pérez-Trueba, G. 2003. **Los Flavonoides: antioxidantes o prooxidantes**. Rev. Cubana Invest. Biomed. 22(1):48-57.
- Ramachandra, R. S., y Ravishankar, G. A. 2002. **Plant cell cultures: Chemical Factories of secondary metabolites**. Biotech. Adv. 20:101-153.
- Ríos, J. J., Fernández-García, E., Mínguez-Mosquera, M. I. y Pérez-Gálvez, A. 2008. **Description of volatile compounds generated by the degradation of carotenoids in paprika, tomato and marigold oleoresins**. Food Chem. 106: 1145-1153.
- Rodríguez, E., Towers, H. N. y Mitchell, J. C. 1976. **Review: Biological activities of sesquiterpene lactones**. Phytochemistry 15: 1573-1580.
- Ruíz-Cancino, A., Cano, A. E. y Delgado, G. 1993. **Sesquiterpene lactones and flavonoids from *Artemisia ludoviciana* ssp. *mexicana***. Phytochemistry 33(5): 1113-1115.
- Rzedowski, G. C. y Rzedowski, J. y cols. 2001. **Flora fanerogámica del Valle de México**. 2a ed. Instituto de Ecología, A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México. 1,406 p.
- Said-Fernández, S., Ramos-Guerra, M. C., Mata-Cárdenas, B. D., Vargas-Villarreal, J. y Villareal, T. L. 2005. **In vitro antiprotozoal activity of the leaves of *Artemisia ludoviciana***. Fitoterapia 76: 466-468.

Sarin, R. 2004. **Insecticidal Activity of callus culture of *Tagetes erecta***. Fitoterapia 75: 62-64.

Sagrero-Nieves, L. y Bartley, J. P. 1996. **Volatile Components from the Leaves of *Heterotheca inuloides* Cass.** Flavour Frag. J. 11: 49-51.

Segura, L., Freixa, B., Ringbom, Th., Vila, R., Perera, P. y cols. 2000. **Anti-inflammatory activity of dichloromethane extract of *Heterotheca inuloides* in vivo and in vitro.** Planta Med. 66: 553-555.

Silva-Aparicio, M., Chimal, H. A. y Zavaleta, B. P. 2003. **Herbolaria Médica de Perla de Acapulco, Ocosingo, Chiapas.** UAM, Xochimilco. D. F., México. 92 p.

Slattery, M. L., Benson, J., Curtin, K., Ma, K. N., Schaeffer, D. y Potter, J. D. 2000. **(Abs) Carotenoids and colon cancer.** Am J Clin Nutr. 71(2): 575-82.

Snodderly, D. M. 1995. **Evidence for protection against age-related macular degeneration by carotenoids and antioxidant vitamins.** Am J Clin Nutr. 62: 1448S-1461S.

Stipanovic, R. D., Puckhaber, L. S., Reibenspies, J. H. y Williams, H. J. 2006. **The absolute configuration of (-)-3-hydroxy-a-calacorene.** Phytochemistry 67: 1304-1308.

Tsao, R., Yang, R., Young, J. Ch., Zhu, H. y Manolis, T. 2004. **Separation of geometric isomers of native lutein diesters in marigold (*Tagetes erecta* L.) by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry.** J. Chromatogr. A, 1045: 65-70.

URL, Álvarez-Larrauri, S. 1998. **Las prácticas maternas frente a la enfermedad diarreica infantil y la terapia de rehidratación oral.** Salud Pública Méx. 40(3): 256-264. 5 de febrero de 2010. <http://www.insp.mx/rsp/articulos/articulo.php?id=000842>

URL, Argueta, A., Zolla, C., y Mata, S. (Coordinadores). 2009. **Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana.** Biblioteca Digital de la medicina tradicional mexicana. México. 2009. <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/atlas.php>

URL, Barba, A. M. D., Hernández, D. M. C. y De la Cerda, L. M. **Plantas útiles de la región semiárida de Aguascalientes.** U. A. de Aguascalientes, México. P.p. 22, 13, 44, 45, 81, 174.

[http://books.google.es/books?id=ZVK6yOcaQ80C&printsec=frontcover&dq=Plantas+%C3%BAtiles+de+la+regi%C3%B3n+semi%C3%A1rida+de+Aguascalientes.++barba&source=bl&ots=8xmOwKJT1t&sig=0CldRRI\\_qwvfWhcriZ6GU\\_IW2GE&hl=es&ei=p02iS9iuFpPcNfiCuc8l&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=1&ved=0CAYQ6AEwAA#v=onepage&q=&f=false](http://books.google.es/books?id=ZVK6yOcaQ80C&printsec=frontcover&dq=Plantas+%C3%BAtiles+de+la+regi%C3%B3n+semi%C3%A1rida+de+Aguascalientes.++barba&source=bl&ots=8xmOwKJT1t&sig=0CldRRI_qwvfWhcriZ6GU_IW2GE&hl=es&ei=p02iS9iuFpPcNfiCuc8l&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CAYQ6AEwAA#v=onepage&q=&f=false)

URL, Castillo-Ruiz, O., Sierra-Martínez, F. J. y Cantú-Martínez, P. C. 2000. **Incidencia de diarreas en menores de 5 años y su relación con la calidad y disponibilidad del agua para uso y consumo humano en Sabinas Hidalgo, Nuevo León (México)**. Rev. Salud Publica Nutricion (UANL), 1(3): 1-6. (9 de febrero de 2009).  
<http://www.respyn.uanl.mx/i/3/articulos/diarreas.html>

URL, Esparza-Aguilar, M., Bautista-Márquez, A., González-Andrade, M. C. y Richardson-López-Collada, V. L. 2009. **Mortalidad por enfermedad diarreica en menores, antes y después de la introducción de la vacuna contra el rotavirus**. Salud Pública Méx. 51(4): 285-290. (8 de febrero de 2009).  
[http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-36342009000400004&lng=en&nrm=iso](http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342009000400004&lng=en&nrm=iso)

URL, Garrido, F., Borges, G., Cárdenas, V., Bobadilla, J. L., Ibarra, J. y Ruíz-Matus, C. 1990. **Mortalidad postneonatal por diarreas: un estudio de casos y controles**. Salud Pública Méx. 32(3): 261-268. (8 de febrero de 2009).  
<http://www.insp.mx/rsp/articulos/articulo.php?id=001032>

URL, Ghosh, T., Bosé, A., Dash, K. y Maity, T. K. 2004. **Wound healing activity of *Tagetes erecta* L. leaves**. Pharmainfo.net. <http://en.scientificcommons.org/41374256>

URL, Gutiérrez, C. C., Villa, C. S., Mota, H. F., Cabrales, M. R. G. y Gómez, U. J. 2004. **Intervención educativa para el manejo efectivo de diarrea en el hogar**. Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 61(1): 19-28. (5 de febrero de 2010).  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1665-11462004000100003&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-11462004000100003&lng=en&nrm=iso)

URL, Hernández-Rivera, S. A. y Callejas-Barrera, L. 2006. **Plantas medicinales: de la brujería a la ciencia**. La Ciencia y el Hombre. XIX(1): 57-60. (8 de febrero de 2009).  
<http://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol19num1/articulos/plantasmed/index.htm>

URL, **La diarrea en México**. <http://www.tusalud.com.mx/site/viewa.asp?id=118>

URL. **The International Plant Names Index (IPNI)**. 2010.  
<http://www.ipni.org/ipni/plantnamesearchpage.do>

URL, Macías-Carrillo, C., Franco-Marina, F., Long-Dunlap, K., Hernández-Gaytán, S. I., Martínez-López, Y. y López-Cervantes, M. 2005. **Lactancia materna y diarrea aguda en los primeros tres meses de vida**. Salud Pública Méx. 47(1): 49-57. (5 de febrero de 2010). <http://www.insp.mx/rsp/articulos/articulo.php?id=000158>

URL, INE, 2010. **Biodiversidad Ecológica y Biológica de México**  
<http://www2.ine.gob.mx/publicaciones/libros/2/int.html>

URL, Mondragón-Pichardo, J. 2009. **Malezas de México, *Chenopodium graveolens* Willd.** (4 de febrero 2009).

<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/chenopodiaceae/chenopodium-graveolens/fichas/ficha.htm>

URL, Mondragón-Pichardo, J. 2009. **Malezas de México, *Heterotheca inuloides* Cass.** (4 de febrero 2009).

<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/heterotheca-inuloides/fichas/ficha.htm>

URL, Mondragón-Pichardo, J. 2009. **Malezas de México, *Tagetes erecta* L.** (4 de febrero 2009).

<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/tagetes-erecta/fichas/ficha.htm>

URL, Mota-Hernández, F. 2000. **Disminución de la mortalidad por diarrea en niños.** Bol. Med. Hosp. Infant. Méx. 57(1): 32-40. (8 de febrero de 2009).

<http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=Ink&exprSearch=280372&indexSearch=ID>

URL, Mota-Hernández, F., Gutiérrez-Camacho, C., Villa-Contreras, S., Calva-Mercado, J., Arias, C. y cols. 2001. **Pronóstico de la diarrea por rotavirus.** Salud Pública Méx. 43(6): 524-528. (5 de febrero de 2009). <http://www.insp.mx/rsp/articulos/articulo.php?id=000308>

URL, Mota-Hernández, F. y Gutiérrez- Camacho, C. 1996. **Diarrea Aguda. Parte B Libro 4.** Academia Mexicana de Pediatría A. C. e Intersistemas S. A. de C. V. Merk, Línea Pediátrica. México. (8 de febrero de 2009).

<http://www.drscope.com/privados/pac/pediatria/pbl4/index.html>

URL, **National Cancer Institute (NCI).** 2010

<http://www.cancer.gov/diccionario/?CdrID=45765>

URL, Perdomo-Roldán, F. y Mondragón, J. 2009. **Malezas de México, *Artemisia ludoviciana* Nutt.** (3 de febrero 2009).

<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/artemisia-ludoviciana/fichas/ficha.htm>

URL, Segura-Abarca. M. L. y Calzada-Bermejo, F. 2009. **(Abs.) Determinación de la inhibición de hiperperistalsis inducida, por extractos de ocho especies selectas de la herbolaria mexicana.** Jornadas Médicas IMSS. Gob. De México.

[http://edumed.imss.gob.mx/pediatria/Jornadas/Memorias/htm\\_resum/resum25.htm](http://edumed.imss.gob.mx/pediatria/Jornadas/Memorias/htm_resum/resum25.htm)

URL, Sepúlveda-Amor, J., Nakamura-López, M. A. y Lezana-Fernández, M. A. 1991. **Epidemiología de la enfermedad diarreica agrupada en México.** Anon. Memorias del V

Curso Internacional "Avances en enfermedad diarreica y desequilibrio hidroelectrolítico". s. l, México. Secretaría de Salud. 5-28 pp.

<http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=118494&indexSearch=ID#top>

URL, Setshogo, M.P., 2005. **Tagetes erecta L.** [Internet] Record from Protabase. Jansen, P.C.M. & Cardon, D. (Editors). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Netherlands. <http://database.prota.org/search.htm>. Accessed 28 January 2010.

URL, S.S. 2009. **Durante la temporada de calor se puede prevenir la diarrea.** Comunicado 078/09, Secretaría de Salud, Cd. de México. 13 de marzo de 2009. <http://quetzalcoatl.presidencia.gob.mx/prensa/salud/?contenido=43115>

URL, Rangel-Gómez, A. 2008. **Diarrea Aguda.** H.G.Z. No. 4. IMSS. México. <http://www.scribd.com/doc/411645/DIARREA-AGUDA>

URL, Reyes, H., Tomé, P., Gutiérrez, G., Rodríguez, L., Orozco, M. y Guiscafré, H. 1998. **La mortalidad por enfermedad diarreica en México: ¿problema de acceso o de calidad de atención?** Salud Pública Méx. 40(4): 316-323. (5 de febrero de 2010). <http://www.insp.mx/rsp/articulos/articulo.php?id=000785>

URL. **Tropicos.org.** Missouri Botanical Garden. 10 de febrero de 2010. <http://www.tropicos.org/Home.aspx>

URL, **UNICEF-WHO.** 2009. Comunicado de prensa. **Diarrhoea: Why children are still dying and what can be done.** WHO Library Cataloging-in-Publication Data. 68 p. [http://www.unicef.org/spanish/media/files/Final\\_Diarrhoea\\_Report\\_October\\_2009\\_final.pdf](http://www.unicef.org/spanish/media/files/Final_Diarrhoea_Report_October_2009_final.pdf)

Valadon, L. R. G. y Mummery, R. 1967. **Carotenoids of certain compositae flowers.** Phytochemistry 6: 983-988.

Velázquez, C., Calzada, F., Torres, J., González, F. y Ceballos, G. 2006. **Antisecretory activity of plants used to treat gastrointestinal disorders in Mexico.** J. Ethnopharmacol. 103: 66-70.

Vasudevan, P., Kashyap, S. y Sharma, S. 1997. **Tagetes: a multipurpose plant.** Bioresour. Technol. 62: 29-35.

Villaseñor, R. J.L. y Espinosa G. F.J. 1998. **Catálogo de Malezas de México.** UNAM (Inst. de Ecología) Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario y F.C.E. México. 449 p.

Waldstein, A. 2006. **Mexican migrant ethnopharmacology: Pharmacopoeia: classification of medicines and explanations of efficacy.** J. Ethnopharmacol. 108: 299–310.

Wagstaff, J. D. 2008. **International Poisonous Plants Check List: An evidence-based reference.** CRC. Press. UK. P.p. 34, 87 y 299.

Wang, M., Tsao, R., Zhang, Sh., Dong, Z. y Yang, R. 2006. **Antioxidant activity, mutagenicity/anti-mutagenicity, and clastogenicity/anti-clastogenicity of lutein from marigold flowers.** Food Chem. Toxicol. 44: 1522-1529.

Xu, S., Patterson, G. W., Lusby, W. R., Schmid, K. M. y Salt, T. A. 1990. **The Distribution and the distribution and phylogenetic significance of desmethylsterols in *Chenopodium* and *Atriplex*: coexistence of  $\Delta^7$ - and  $\Delta^5$ -sterols.** Lipids 25(1): 61-64.

Yasunaka, K., Abe, F., Nagayama, A., Okabe, H., Lozada-Pérez, L., y cols. 2005. **Antibacterial activity of crude extracts from Mexican medicinal plants and purified coumarins and xanthenes.** J. Ethnopharmacol. 97: 293-299.

Zhang, L. X., Cooney, R. V. y Bertram, J. S. 1991. **(Abs) Carotenoids enhance gap junctional communication and inhibit lipid peroxidation in C3H/10T1/2 cells: relationship to their cancer chemopreventive action.** Carcinogenesis, 12(11): 2109-14

Zhu, X. M., Fang, L. H., Li, Y. J. y Du, G. H. 2007. **Endothelium-dependent and independent relaxation induced by pinocembrin in rat aortic rings.** Vasc. Pharmacol. 46: 160-165.

Zorn, H., Breithaup, D. E., Takenberg, M., Schwack, W. y Berger, R. G. 2003. **Enzymatic hydrolysis of carotenoid esters of marigold flowers (*Tagetes erecta* L.) and red paprika (*Capsicum annum* L.) by commercial lipases and *Pleurotus sapidus* extracellular lipase.** Enzyme Microb. Technol. 32: 623-628.