



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

FACULTAD DE QUÍMICA.

Caracterización Anatómica de tres productos
herbolarios medicinales ampliamente
utilizados en México

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGICA

PRESENTA:

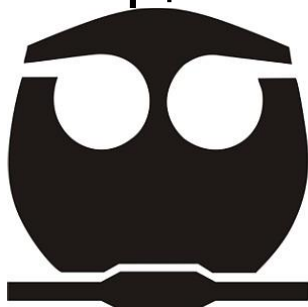
KARINA CHÁVEZ GARCÍA

DIRECTOR DE TESIS

Dra. ESTELA SANDOVAL ZAPOTITLA

MÉXICO, CDMX.

2016





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.

JURADO ASIGNADO.

Presidente: Dra. Isabel Aguilar Laurents

Vocal: M en C. Kenneth Rubio Carrasco

Secretario: Dra. Estela Sandoval Zapotitla

1er suplente: Dr. Mario Alberto Figueroa Saldivar

2do suplente: Dra. Blanca Estela Rivero Cruz

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio de Apoyo a la Investigación del Jardín Botánico del Instituto de Biología, UNAM. Laboratorio 113 del Departamento de Farmacia, conjunto "E", División de Posgrado de la Facultad de Química, UNAM.

Asesor:

Dra. Estela Sandoval Zapotitla



Supervisor Técnico

Dra. Blanca Estela Rivero Cruz



Índice.

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. ANTECEDENTES	9
2.1. Familia Asteraceae	9
2.1.1. Generalidades de la especie <i>Cyclolepis genistoides</i> D.Don	11
2.1.1.1. Descripción	11
2.1.1.2. Distribución geográfica	12
2.1.1.3. Clasificación Botánica	12
2.1.1.4. Usos medicinales	12
2.1.1.5. Nombres comunes	12
2.1.1.6. Antecedentes fitoquímicos de <i>Cyclolepis genistoides</i> D.Don	12
2.2. Familia Fabaceae	14
2.2.1. Generalidades de la especie <i>Haematoxylon brasiletto</i> H.Karst	15
2.2.1.1. Descripción	15
2.2.1.2. Distribución geográfica	16
2.2.1.3. Clasificación botánica	16
2.2.1.4. Nombres comunes	17
2.2.1.5. Usos medicinales	17
2.2.1.6. Antecedentes fitoquímicos de <i>Haematoxylon brasiletto</i> H.Karst	18
2.3. Familia Rosaceae	20
2.3.1. Generalidades de la especie <i>Prunus serotina</i> Ehrh	21
2.3.1.1. Descripción	22
2.3.1.2. Distribución geográfica	22
2.3.1.3. Clasificación botánica	22
2.3.1.4. Nombres comunes	22
2.3.1.5. Usos medicinales	22
2.3.1.6. Antecedentes fitoquímicos de <i>Prunus serotina</i> Ehrh	23
3. JUSTIFICACION Y OBJETIVOS	26
4. MATERIALES Y MÉTODOS	30
4.1. Hoja de <i>Prunus serotina</i> Ehrh	30
4.1.1. Obtención de epidermis	33
4.2. Madera de <i>Cyclolepis genistoides</i> D.Don	33
4.2.1. Técnica de disociados: Obtención de tejidos vasculares	34
4.3. Corteza de <i>Haematoxylon brasiletto</i> H.Karst	35
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
5.1. Especie <i>Prunus serotina</i> Ehrh	37
5.2. Especie <i>Haematoxylon brasiletto</i> D.Don	48
5.3. Especie <i>Cyclolepis genistoides</i> Karst	59
6. CONCLUSIONES	67
7. PERSPECTIVAS	68
8. BIBLIOGRAFÍA	69
9. ANEXOS	76

RESUMEN.

México ocupa el segundo lugar a nivel mundial con respecto al número de plantas medicinales, a la fecha se reportan 4500 especies usadas en la medicina herbolaria. El considerable incremento en el uso de productos herbolarios por los distintos sectores de la sociedad ha propiciado un marcado interés por parte de las autoridades regulatorias para reglamentar su comercio y calidad. El presente trabajo se desarrolló con el propósito de establecer caracteres anatómicos que apoyen a la identificación de tres plantas medicinales ampliamente utilizadas en México: *Cyclolepis genistoide*, *Prunus serotina*, *Haematoxylon brasiletto*, y a su vez, complementar los ensayos de identidad descritos en la FHEUM para el control de calidad de los productos manufacturados de los diferentes preparados herbolarios. Para ello se llevó a cabo la descripción anatómica de madera, hoja y corteza de las tres especies respectivamente. Se utilizaron técnicas histológicas convencionales para obtener preparaciones fijas y también disociados de madera, las cuales se observaron con diferentes técnicas microscópicas para su análisis y la obtención de fotos. En *P. serotina* se encontraron dos formas de cristales de oxalato de calcio (drusas y prismáticos) en la lámina foliar, en haces vasculares y en el tejido fundamental. Así mismo se detectaron taninos a nivel de la vena media; en la felodermis de *H. brasiletto* hay abundantes contenidos celulares densos de color oscuro (no determinados), cristales de oxalato de calcio en forma de prismas entre el esclerénquima del tejido fundamental y prismáticos en las células radiales del xilema, además de contenidos celulares fenólicos en el metafloema; en *C. genistoide* se encontraron taninos en los elementos de vaso, así como cristales de oxalato de calcio prismáticos en el parénquima radial. Por lo tanto, se puede concluir que existen caracteres diagnósticos para cada especie, los cuales se pueden utilizar como referencia en las pruebas de identidad de productos herbolarios, particularmente para estas especies.

Palabras clave: cristales, control de calidad, plantas medicinales, taninos, caracteres diagnóstico.

1. INTRODUCCIÓN

Desde las épocas prehispánicas las plantas se han empleado para diversos fines, como alimentación, medicina tradicional, elaboración de viviendas y manufacturación de vestidos. El uso de plantas es la forma más antigua que emplearon los hombres para curar diversos padecimientos. Pues existen registros que indican que mujeres y hombres primitivos trataban sus enfermedades mediante el uso de plantas, animales y minerales que no formaban parte de su dieta habitual. Se cree que dicho comportamiento fue aprendido por ensayo y error para distinguir las plantas útiles y las combinaciones de las mismas que presentaban eficacia terapéutica.

En el mundo, las plantas medicinales se encuentran ampliamente distribuidas pero son más abundantes en los países tropicales. México es un país que cuenta con una gran riqueza florística y faunística debido a que se encuentra en la intersección de dos reinos o dominios biogeográficos: el Holártico y el Neotropical. Estos dominios cuentan con una amplia topografía que propicia una gran variedad de ambientes (hábitats) en donde viven una gran cantidad de especies. En este sentido, México ocupa el segundo lugar a nivel mundial en el número de plantas medicinales registradas con 4500 especies; el primer lugar es China con 5000 especies registradas (Muñeton, 2009).

A través del tiempo, el hombre ha mostrado un interés constante por las plantas medicinales. Las fuentes históricas más detalladas datan del siglo XVI, donde se documentan los usos de algunas plantas medicinales y se reúne la sabiduría de diferentes grupos indígenas sobre el manejo de estos recursos. Tal es el caso del *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*, escrito en 1552; también conocido como: el *Códice de la Cruz Badiano* (De la Cruz, 1964), el código *Florentino o Historia General de las Cosas de la Nueva España* (Sahagún, 1979) y *la Historia Natural de la Nueva España* (Hernández, 1959). A finales del siglo XVII y principios del siglo XIX también se publicaron otras obras importantes, como: *la Flora Mexica y Plantae Novae Hispana* de Sessé y Mociño (1801-1970), *Las Plantas Medicinales en México* (Máximo Martínez, 1964) y *La nomenclatura Etnobotánica Maya* (Barrera, 1976).

Actualmente, se estima que aproximadamente el 80% de la población mundial, especialmente en los países en desarrollo, utiliza medicina herbolaria como atención primaria de la salud. Gran parte de la población mexicana utiliza plantas medicinales debido a la pobreza, la mala atención del sector salud y el acceso limitado a la medicina moderna (Ríos, 2000).

El considerable incremento en el consumo de productos herbolarios por los distintos sectores de la sociedad en México, ha propiciado un marcado interés por parte de las autoridades competentes para regular la publicidad y el mercado de dichos insumos. Sin embargo, uno de los problemas principales que enfrenta la Secretaría de Salud son los suplementos adulterados y falsificados. Cabe mencionar que la falsificación y adulteración de los insumos representan el fenómeno más amplio para la difusión de productos que no cumplen con las normas establecidas en materia de calidad, seguridad y eficacia.

Por otro lado, el trabajo de la OMS reside en establecer normas que definan los criterios básicos para evaluar la calidad, la inocuidad y la eficacia de los productos herbolarios y asistir a las autoridades sanitarias de sus países miembros, a las organizaciones científicas y a los fabricantes con la documentación requerida que garantiza el control sanitario de tales productos (Águila, 2011). En 1998, la OMS generó un manual titulado "Quality control methods for medicinal plant materials", que consigna los procedimientos para apoyar el desarrollo de estándares nacionales basados en las condiciones del mercado local, en la legislación nacional existente y en las normas nacionales y regionales de los países miembro (WHO, 1998). En 1999, y tras un cuidadoso análisis, se publicaron los primeros dos volúmenes de monografías de plantas medicinales selectas (el primer volumen incluyó 28 monografías y el segundo más de 30). La finalidad de estos documentos es proporcionar información científica sobre la inocuidad, la eficacia y el control de calidad de plantas medicinales selectas para facilitar el uso adecuado de los medicamentos herbolarios. Dichos documentos, también representan un modelo para que los demás estados miembro elaboren las monografías de productos autóctonos y faciliten el intercambio de información con otros países. Cada monografía reúne la

información sobre aspectos botánicos, distribución geográfica, ensayos de identidad, requerimientos de pureza, valoración de principios activos o compuestos marcadores, usos tradicionales, estudios farmacológicos y clínicos, posibles contraindicaciones, precauciones, efectos secundarios y posología. A la fecha, la OMS ha publicado 4 volúmenes con monografías que sirven de referencia para el control de calidad de las plantas medicinales selectas (WHO, 2007).

A pesar de los esfuerzos de la OMS, la medicina herbolaria ha evolucionado de manera diferente en las distintas regiones del mundo. Por ejemplo, la Farmacopea Herbolaria Americana (AHP) ha publicado folletos, textos y monografías de plantas de amplio uso en los Estados Unidos. Las monografías incluyen las especificaciones de calidad, los estudios toxicológicos, farmacológicos y en lo posible, clínicos. Otro de los objetivos de AHP es generar estándares y materiales de referencia para realizar los ensayos de control de calidad.

La manufacturación y comercialización de los productos herbolarios se realiza en México de manera formal e informal, ya sea a través de procesos industriales por los fabricantes o la elaboración de preparados que se distribuyen en establecimientos informales y mercados. En este rubro, los mercados, tianguis y tiendas naturistas del país ofrecen una gran variedad de especies vegetales medicinales (enteras o molidas) que incluyen órganos o parte de tejidos tales como: trozos de madera, corteza, hojas, raíces y semillas, entre otros. Con respecto a lo anterior, la capacidad de la Secretaría de Salud para el control sanitario de estos insumos se ha visto rebasada. Un ejemplo de esta situación es la confusión al identificar las especies que se utilizan con fines terapéuticos para elaborar los productos herbolarios (Carmona, 1993). Parte de este problema se debe a la falta de investigación, pues en México solo se ha estudiado el 5% de las 4500 especies que se encuentran documentadas desde el punto de vista etnomédico, químico o farmacológico.

Para lograr el beneficio deseado a partir de los productos herbolarios, un individuo debe tomar la dosis necesaria durante cierto periodo de tiempo. A pesar de que la mayoría de las preparaciones herbolarias empleadas en las prácticas médicas populares se

consideran seguras para el consumo humano, las agencias regulatorias actuales, requieren que el fabricante demuestre la seguridad de sus productos, ya que algunas especies pueden producir efectos secundarios o tóxicos. Los productos a base de hierbas no reguladas representan un problema de salud pública, un problema que surge cuando: los ingredientes utilizados no son analizados de forma correcta.

En este sentido, la calidad entre diferentes lotes del mismo producto herbolario pueden diferir debido a factores tales como: la variación intra especie (variación en los constituyentes químicos de los individuos de la misma especie), los factores ambientales, el tiempo de cosecha (en algunas plantas las concentraciones de los constituyentes pueden variar durante el estado fenológico de la planta), la parte de la planta utilizada (los componentes varían entre las partes de la planta que se utiliza), las condiciones de almacenamiento (contaminación microbiana), los nutrientes y los cambios genéticos, entre otros (Águila, 2011).

Para asegurar la calidad de los productos herbolarios y su reproducibilidad, lote a lote, se deben cuantificar en límites estrechos el contenido de compuestos marcadores o principios activos. Un compuesto marcador es un metabolito secundario de naturaleza taxonómica restringida, seleccionado por los productores para propósitos de control de calidad. Es responsabilidad de las autoridades sanitarias asegurar que los consumidores reciban un medicamento que garantice la pureza, seguridad y eficacia del mismo. Para este fin, los estándares de calidad son establecidos en las farmacopeas para materias primas y productos terminados.

En este contexto, la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos establece diferentes criterios para determinar la calidad, la seguridad y la eficacia del recurso medicinal. Dentro de los parámetros de calidad establecidos en este documento oficial se encuentran descritos los métodos generales para evaluar la identidad, la pureza y el ensayo de valoración. En materiales vegetales, el ensayo de identidad es una de las pruebas más importantes dentro del control de calidad de los medicamentos herbolarios, es por ello que los ensayos de identidad propuestos permiten establecer la autenticidad

del material botánico empleado. Para confirmar la autenticidad botánica de la especie, se emplean técnicas como la cromatografía en capa delgada o de líquidos de alta resolución en conjunto con un examen histológico que permita identificar las características exclusivas de la planta. También, es importante describir las características macroscópicas de la especie como el tamaño, la forma, el color, el olor y la textura, por mencionar algunos (FHEUM, 2013).

Para determinar la pureza de las especies vegetales se analizan: cenizas totales (cantidad de materia que queda después de la ignición); cenizas insolubles en ácido, cenizas solubles en agua; recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales, incluyendo bacterias y hongos; ausencia de microorganismos patógenos (*Escherichia coli.*, *Salmonella spp.*, y *Staphylococcus aureus*); aflatoxinas; materias extrañas; residuos de plaguicidas; pruebas límite de cadmio, plomo, arsénico y metales pesados, por mencionar algunas (FHEUM, 2013). Por último, el ensayo de valoración sirve para cuantificar los principios activos o compuestos marcadores en límites estrechos que permitan garantizar la eficacia terapéutica.

1.1. TÉCNICAS PARA LA IDENTIFICACION DE MATERIALES VEGETALES.

1.1.1. Técnicas cromatográficas.

Las técnicas cromatográficas son las más utilizadas para evaluar la calidad de medicamentos y remedios herbolarios; estos métodos comprenden diversas modalidades para separar mezclas complejas que dependen de las afinidades diferenciales de los solutos entre dos fases no miscibles. Una de las fases es un lecho fijo (fase estacionaria) de gran área superficial, mientras que la otra es un líquido (fase móvil) el cual se mueve a través de la superficie de la fase fija o sobre ella.

Los componentes de la mezcla deben tener un tamaño de partícula adecuado (en solución o en el estado de vapor); la afinidad relativa de los solutos por cada una de las fases debe ser reversible para asegurar que ocurra transferencia de masa. Durante la separación cromatográfica las moléculas tendrán diferentes interacciones con el soporte estacionario. Aquellas moléculas que interaccionan débilmente con el soporte se

moverán más rápido que las que tengan una atracción más fuerte; es así como se separan mientras migran a través del soporte fijo.

Las separaciones cromatográficas se pueden llevar a cabo utilizando una gran variedad de soportes. Los métodos cromatográficos se pueden clasificar de dos modos distintos: el primero de ellos se basa en la forma en como las fases estacionaria y móvil se ponen en contacto (cromatografía en columna y en capa fina). La segunda se basa en los tipos de fase móvil y estacionaria así como en los equilibrios implicados en la transferencia de solutos entre las fases. Dependiendo de la fase móvil empleada, las técnicas cromatográficas se clasifican en cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), cromatografía de reparto (BPC), cromatografía de adsorción (LSC), cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de exclusión molecular, cromatografía de gases (GC) y cromatografía de fluidos supercríticos. Al realizar el análisis de una mezcla por medio de estos métodos, se obtienen gráficos que representan, la señal de cada analito, en función del tiempo o del volumen de fase móvil añadido (cromatogramas). Este procedimiento es de utilidad tanto para el análisis cualitativo como cuantitativo (Douglas, 2000). También es de utilidad para la identificación de compuestos marcadores, con base en su tiempo de retención (tiempo que transcurre después de la inyección de la muestra para que el pico del analito se detecte).

La cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC), es una herramienta para evaluar la calidad de materiales botánicos, permitiendo el análisis de un amplio número de compuestos de manera eficiente y adecuada. Una de sus ventajas reside en que pueden analizarse varias muestras en un solo análisis; además, el mismo análisis se puede observar a diferentes longitudes de onda, proporcionando así un perfil más completo de la planta.

1.1.2. Técnica Histológica.

La identificación microscópica depende, en gran medida, de la selección de una muestra apropiada que permita observar las características del material vegetal de estudio, y de la aplicación de tinciones que pongan en evidencia los componentes estructurales con claridad (destacando determinados tejidos o estructuras).

Dependiendo de la parte de la planta objeto de estudio se pueden observar diferentes estructuras anatómicas. Algunas de estas características pueden ser específicas de la especie, y sirven como caracteres diagnósticos; es en este punto donde la anatomía vegetal nos puede ayudar a identificar la autenticidad de la especie (Águila, 2011).

Algunos ejemplos de las estructuras que se pueden observar en las muestras vegetales son: la forma, el número de estratos y el tipo de células de la epidermis, la ausencia o presencia de tricomas y sus tipos (unicelulares, multicelulares, glandulares, etc.), la frecuencia y el tipo de estomas (anomocítico, anisocítico, paracítico, diacítico y actinocítico), su tamaño y la ausencia o presencia en ambas epidermis (abaxial o adaxial), entre otras.

Con respecto a la corteza se observan todos los tejidos que están por fuera del cambium suberógeno (todas las epidermis junto a los tejidos floemáticos y corticales que haya entre ellas) y forman la corteza externa.

Cuando madura el súber conteniendo suberina, los tejidos que están fuera de ella quedan excluidos del suministro de agua y de nutrientes; esto es, la corteza externa está formada por tejidos muertos. La parte viva de la corteza se encuentra dentro del cambium suberógeno y se extiende hasta el cambium vascular; esta estructura recibe el nombre de corteza interna. En esta corteza es posible observar elementos cribosos, conductos resíniferos, número de estratos celulares y contenidos celulares (taninos, cristales, grasas, almidones, etc.).

En el caso de la madera, se observa el tejido vascular, particularmente en el xilema: el tipo de elementos de vaso, su tamaño y el tipo de perforaciones de los vasos; el tipo de fibras (tamaño, grosor y largo) y los contenidos celulares (almidones, cristales, taninos), entre otros. Finalmente, en el floema se puede observar tubos cribosos, placas cribosas y células acompañantes (Curtis, Barnes, 2008) (Raven, *et al.*, 1992).

2. ANTECEDENTES.

2.1. FAMILIA ASTERACEAE.

Las asteráceas (conocidas también como compuestas) son una de las familias de plantas con flores ampliamente distribuida. Constituye un grupo monofilético con una serie de tribus cuya delimitación y relación taxonómica aún no es clara (Cabrera, 1987; Strother, 1991; Cronquist, 1973)

Esta familia agrupa de 950 a 1450 géneros y tal vez hasta unas 20,000 a 30,000 especies en el mundo, se desarrolla ampliamente en América y se estima que en México existen aproximadamente 373 géneros y 3080 especies nativas (Redonda y Villaseñor, 2011).

Sin embargo, hasta el momento no ha sido posible definir el número de miembros que la componen por lo que dicho estimado está sujeto a diversos criterios. Es considerada como la familia más grande de las angiospermas; crecen en todos los continentes y es más abundante en regiones templadas y templado-cálidas que no estén densamente forestadas. La mayoría de las especies presentes en las regiones templadas son herbáceas, en contraste con los arbustos que son característicos de las regiones templado-cálido y tropicales; también se pueden encontrar verdaderos árboles en estos climas (Cronquist, 1973; Robinson, 1873).

Los individuos de esta familia son hierbas anuales o perennes, arbustos, rara vez árboles o trepadoras, glabras, pubescentes o glandulares, ocasionalmente con látex. Los tallos son teretes, angulares o aplanados, a veces alados. Las hojas son alternas u opuestas, rara vez verticiladas o basales, simples, pinnati-compuestas o palmadas, exestipuladas o seudoestipuladas, pecioladas o sésiles, las láminas son decurrentes, auriculadas, envainantes, hasta aciculiformes o reducidas a escamas o espinas (en plantas xerofíticas), enteras o divididas y dentadas o serradas.

Generalmente, sus miembros son identificados por sus inflorescencias primarias que pueden ser indeterminadas, terminales o axilares, pedunculadas y solitarias. De forma secundaria pueden estar dispuestas en cimas, corimbos, racimos, panículas o umbelas, en cabezuelas sésiles o rara vez glomérulos o sinflorescencias (cabezuelas de segundo orden o cabezuelas de cabezuelas); las cabezuelas con 1 a numerosas flores, pueden observarse insertadas en un receptáculo aplanado, alveolado, cóncavo o convexo y rara

vez cónico o columnar, bracteado o desnudo (pálea ausentes). Las pálea pueden encontrarse con forma y textura variada, deciduas o persistentes, en ocasiones reducidas a cerdas o escuámulas. Las flores rodeadas por un involucro de brácteas (filarios), 1-2- más seriadas, libres o connatas, valvadas o imbricadas; las cabezuelas homógamas (constituida por un solo tipo de flores), discoideas, liguladas o heterógamas (con 2 o más tipos de flores) radiadas o disciformes.

Las flores son epíginas, actinomorfas o zigomorfas, bisexuales y proterandras, unisexuales o estériles; el cáliz se presenta en forma de vilano o es ausente. La corola gamopétala 5(2-4-dentada) puede presentarse en 4 variantes: a) corola tubular, 4-5 lobulada, con tubo inconspicuo y limbo generalmente corto, presente en flores bisexuales o funcionalmente masculinas por aborción del ovario; b) corola filiforme, parecida a la tubular pero mucho más angosta, generalmente en flores femeninas; c) corola bilabiada, con un labio superior 3-lobulado o 3-dentado y 2 labios inferiores generalmente delgados y recurvados, principalmente en flores bisexuales; d) corola ligulada o loriforme, 3-5 dentada (dientes rara vez ausentes), un tubo corto 3-dentadas o dientes ausentes cuando las flores son bisexuales, cuando las flores son liguladas se restringen a la periferia de la cabezuela y son generalmente estériles o femeninas (cabezuelas radiadas). La planta es dioica si la cabezuela está totalmente constituida por flores liguladas, bisexuales y rara vez unisexuales (cabezuela ligulada); si la cabezuela está totalmente constituida por flores tubulares (cabezuela discoide) o todas las flores son filiformes (cabezuelas disciformes). Los estambres 5 (3-4) son epipétalos singenesios (a veces únicamente las anteras cohesionadas), de filamentos libres y enrollados antes de la antesis, extendiéndose y enderezándose conforme las anteras son forzadas hacia arriba por el alargamiento del estilo y los estigmas, las anteras 2-loculares, son introrsas con dehiscencia longitudinal, forman un tubo alrededor del estilo, generalmente con apéndices estériles y basalmente truncadas a caudadas.

El pistilo es único, el ovario ínfero 2- carpelar, el óvulo 1-basal es anátropo de estilo único, delgado, en general con 2 ramas terminales, 2 estigmas de forma y textura variable, ocasionalmente un nectario basal o apical. Los frutos en aquenios (cipselas), rara vez drupáceos o utriculares por fusión del aquenio, la pálea o con las cerdas u otra parte de la cabezuela, el pericarpio es rígido, ocasionalmente con un carpóforo conspicuo; el

vilano está constituido por cerdas, aristas o escamas o una combinación de ambas, formando una corona apical sobre el aquenio, persistente o deciduo, reducido o ausente. Las semillas de 1 embrión recto y endospermo ausente (Redonda y Villaseñor, 2011).

La diversidad que se observa en la familia puede atribuirse a diversos factores entre las que se pueden mencionar: su plasticidad genética que les permite adaptarse a distintas condiciones ecológicas; a sus eficientes mecanismos de dispersión y probablemente al éxito contra los depredadores o competidores (Carlquist, 1976, Cronquist, 1981).

2.1.1 GENERALIDADES DE LA ESPECIE *Cyclolepis genistoide* D. Don.



Rama, flores y arbusto de la especie *C. genistoide*.

2.1.1.1. Descripción.

Arbusto de 1 a 2.50 m de alto, intrincada y densamente ramoso; sus ramas son rígidas, casi perpendiculares; los tallos estriados, cortamente tomentosas, más o menos espinescentes; las hojas son densas, fácilmente caducas, oblongas, agudas en el ápice y contraídas en la base, enteras, cubiertas en ambas caras de pelos malpigiáceos incoloros, de 6.20 mm de longitud por 2.5 a 6 mm de ancho; capítulos cortos pedicelados, semiespigados en las ramas jóvenes; pedicelos de 1 a 5 mm densamente bracteolados. El conjunto de brácteas en la base de la flor que la envuelve es turbinado, de 6 mm de altura por 4 a 5 mm de diámetro, brácteas anchamente ovadas, las exteriores obtusas, las interiores agudas; flores 10 a 15, amarillentas isoformas en las plantas hermafroditas,

con corola tubulosa-filiforme, de 12.5 mm de largo, aquenios cilíndricos, densamente seríceo-pubescentes, de 3 mm de longitud; vilano amarillento, formado por numerosos pelos sencillos, barbelados, de 10 mm de longitud (Basualdo, *et al.*,2003; Panero, *et al.*,2008).

2.1.1.2. Distribución geográfica.

Crece en suelos salitrosos, salados. En Argentina, Chile y Paraguay, su crecimiento es abundante.

2.1.1.3. Clasificación botánica (TROPICOS).

- Clase: Equisetopsida C. Agardh
- Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
- Superorden: Asteranae Takht.
- Orden: Asterales Link
- Familia: Asteraceae Bercht. & J. Presl
- Género: Cyclolepis D. Don
- Especie: Cyclolepis genistoide D.Don.

2.1.1.4. Usos medicinales.

Ofálmico, depurativo, diurético, elimina el ácido úrico, antirreumático, para tratar cólicos renales y hepáticos.

2.1.1.5. Nombres comunes.

Palo azul, matorron, tusillo y tupis en CDMX.

2.1.1.6. Antecedentes fitoquímicos de la especie *Cyclolepis genistoide*.

Estudios han determinado que las hojas, la rama y madera, presentan compuestos como Triterpenos (oleananos, ursanos y lupanos) y sesquiterpenos.



Figura1. Distribución geográfica de la especie *Cyclolepis genistoide*.

2.2. FAMILIA FABACEAE.

Esta familia destaca por el número elevado de especies útiles en la agricultura y por la variedad de productos que suministra a la economía; con pocas especies nocivas descritas. Comprende 700 géneros y 18,000 especies distribuidas en todo el mundo; aunque son más frecuentes en regiones tropicales y subtropicales. La familia comprende de forma menos frecuente árboles, lianas, arbustos o trepadoras leñosas, sufrutices o hierbas anuales o perennes, espinosos o inermes, con indumento glanduloso o eglanduloso, frecuentemente heterótrico (diferentes tipos de tricomas). Las ramas de estas especies son alternas u opuestas, aladas o ápteras. Las hojas son alternas u opuestas, estipuladas o no estipuladas, pecioladas o sésiles, simples o compuestas. Las inflorescencias se encuentran en racimos o espigas terminales o axilares. Las flores son pentámeras, con néctar o sin néctar, los pétalos libres, el fruto legumbre, a veces carnosas. El cáliz con 5 sépalos, generalmente connatos en la base y formando un tubo (más allá de la base del hipantio, cuando presenta). La corola es papilionada, imbricada, de 5 pétalos libres parcialmente unidos o a veces ausentes, el pétalo adaxial o estandarte es el más externo y frecuentemente de mayor tamaño, los 2 laterales o alas son similares entre sí y generalmente libres, los 2 inferiores o quilla son también similares y frecuentemente son connatos distalmente y envuelven al androceo con 10 estambres; generalmente connato por los filamentos, forma un tubo abierto o cerrado (monadelfos) alrededor del gineceo, el superior frecuentemente está separado de los otros formando un androceo 9+1 (diadelfo) o se encuentra en grupos de 5+5 parcialmente unidos al tubo (pseudomonadelfo) o el superior ausente o rara vez todos los filamentos libres. Las anteras son ditecas, rara vez con una glándula, monomorfas o dimorfas y alternas, basifijas, subbasifijas o dorsifijas, en general con dehiscencia longitudinal, nectario generalmente entre la base de los filamentos y el ovario. El gineceo 1-carpelar, el ovario frecuentemente linear a veces estipitado, los óvulos [1-]2-numerosos son principalmente campilótopos, de placentación marginal, estilo filiforme, frecuentemente engrosado distalmente, glabro o pubescente y de estigma papiloso apical. Los frutos en una legumbre generalmente seca, frecuentemente aplanada, dehiscente, modificándose por su forma, grado de succulencia y tipo de dehiscencia, en folículo, aquenio, lomento, samaroide o drupácea. Las semillas con testa dura, sin pleurograma, funículo corto, hilo

en general especializado, embrión con cotiledones bien desarrollados y engrosados, radícula recurvada, plegada u ocasionalmente alargada, endospermo ausente o escaso, rara vez abundante (Olvera y Delgado, 2012).

Es la segunda familia por su número de especies más importante en la flora de México con 139 géneros y 1850 especies. En los estados de Oaxaca y Chiapas se encuentran el mayor número de especies (Olvera y Delgado, 2012).

2.2.1 GENERALIDADES DE LA ESPECIE *Haematoxylon brasiletto* H. Karst.



Madera, rama, hoja y árbol de la especie *H.brasiletto*.

2.2.1.1. Descripción.

Es un árbol o arbusto de tronco irregular acanalado, de 2 a 10 metros de altura, con espinas; la corteza de color café grisáceo a ligeramente rojiza, en algunas partes con presencia de lenticelas abundantes que le dan un aspecto rugoso, con áreas finamente escamosa; textura interna granulosa, sabor ligeramente dulce; muy delgada de 1 a 2 mm de grosor total; las hojas compuestas, con folíolos de 0.5 a 2.0 cm de largo, orbiculares u ovales a veces anchamente cuneados, cuando las hojas son jóvenes tienen un color cobrizo y una vez maduras el color que tienen es verde claro; las flores amarillas, melíferas, dialitas en racimos axilares con manchas o líneas rojas dispuestas en racimos axilares, brácteas muy pequeñas, estambres y filamentos rojos. Florece de enero a marzo; el fruto es una vaina angosta y aplanada de color verde-amarillento a café o rojizo (Alonso, *et al.*, 2005; De Helauani, *et al.*, 1997).

En cuanto a sus ramas, si son jóvenes no presenta escamas; la madera es muy pesada y presenta una gravedad específica de 1.11. La albura ocupa una mayor proporción, a medida que aumenta el diámetro tangencial de la rama aumenta también el duramen; sus vasos son moderadamente numerosos, de 13 poros/mm² medianos y con diámetro tangencial de 122µm en promedio. Los elementos de vasos son muy cortos con longitud promedio de 197µm, con puntuaciones intervasculares; en la parénquima radial los radios son bajos, numerosos, de 8/mm, con altura promedio de 1053µm, con inclusiones abundantes de gomas. Las fibras son medianas con longitud promedio de 1088µm, de pared gruesa, 6µm de espesor y 14µm de diámetro tangencial, lumen con gomas (Carmona, 1993).

2.2.1.2. Distribución geográfica.

Es una especie que se encuentra ampliamente distribuida en la vertiente del Pacífico desde Baja California y Chihuahua hasta Chiapas; en la vertiente del golfo de Veracruz a Campeche y Yucatán; en Puebla, Ciudad de México y Morelos. Se encuentra en bosques espinosos que colindan con sabanas, en bosque tropical caducifolio, bosque caducifolio, bosque xerófilo y selva baja caducifolia (Carmona, 1993).

2.2.1.3. Clasificación botánica (TROPICOS)

- Clase: Equisetopsida C. Agardh
- Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
- Superorden: Rosanae Takht.
- Orden: Fabales Bromhead
- Familia: Fabaceae Lindl.
- Género: Haematoxylum L.
- Especie: *Haematoxylon brasiletto* H. Karst.

Sinonimia botánica: *Haematoxylon boreale* S. Watson.

2.2.1.4. Nombres comunes.

La especie es conocida como palo Brasil en Jalisco, Morelos, Guerrero, Puebla y DF.

2.2.1.5. Usos medicinales.

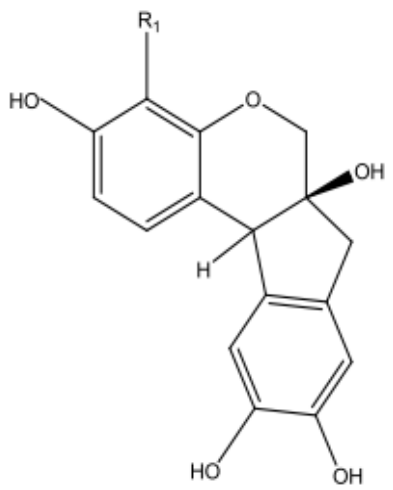
La madera y el tronco se utilizan hervidos o remojados como agua para tratar problemas renales y mal de orín. También se emplea para curar algunos malestares digestivos como derrames de bilis, dolor de estómago, mal de los dientes, úlceras gástricas y dolor de bazo (Biblioteca digital, 2009). Es útil además para los problemas relacionados con el corazón como son: la circulación sanguínea, las várices, la presión arterial, para fortalecer la “sangre débil” causada por una nutrición inadecuada. Otros usos descritos son: en baños para enfermos de tisis, en campo como forrajera y como colorante para teñir (brasilina) (Martínez, 1989).



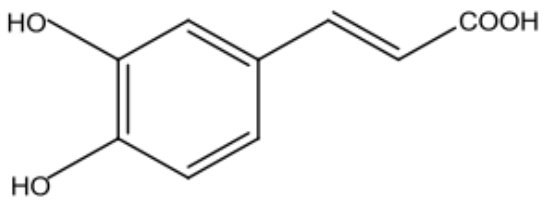
Figura 2. Distribucion geográfica de la especie *Haematoxylon brasiletto* en la República Mexicana.

2.2.1.6 Antecedentes fitoquímicos de *Haematoxylon brasiletto* Karst.

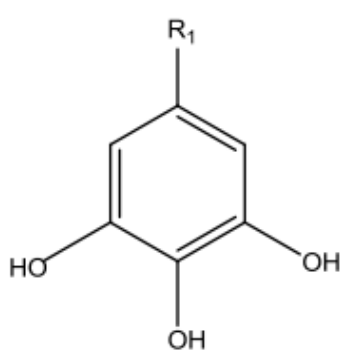
Los diferentes estudios fitoquímicos realizados sobre la especie *H. brasiletto* han permitido el aislamiento y caracterización de dos bencilcromenos: hematoxilina (1) y brazilina (2), cinco compuestos aromáticos simples: ácido caféico (3), galato de metilo (4), ácido gálico (5), floroglucinol (6) y ácido 4-hidroxicinámico (7) y una furanocumarina lineal: 5-metoxisoraleno (8) (Sánchez *et al.*, 1958; Pratt y Yuzuriha, 1995; Rivero, 2008) (ver figura 3).



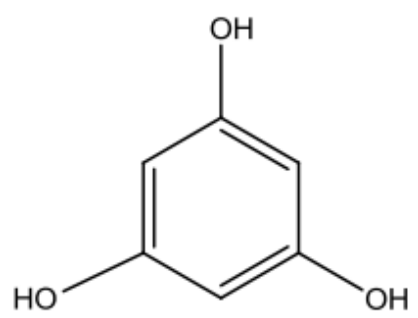
1 R1:OH
2 R1: H



3

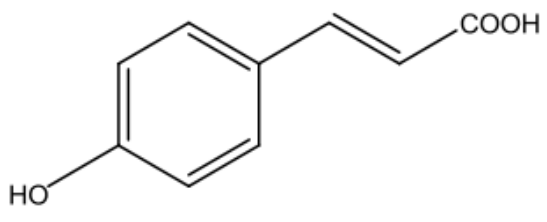


5 R1:COOH

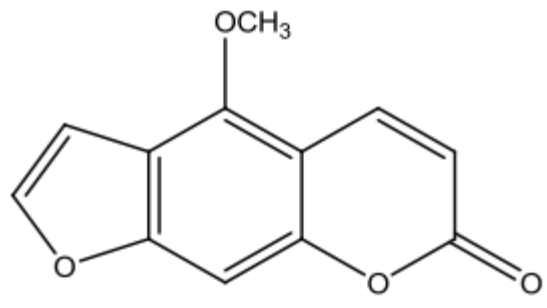


4 R1:COOCH₃

6



7



8

Figura 3. Compuestos aislados e identificados de la especie *Haematoxylon brasiletto* Karst.

2.3. FAMILIA ROSACEAE.

Es una familia perteneciente al orden Rosales; de distribución cosmopolita y económicamente importante, con 107 géneros y 3100 especies. La Familia incluye la mayor parte de las especies de frutas de consumo masivo: manzana, pera, membrillo, durazno, ciruela, cereza, fresa, almendra, zarzamora y frambuesa, por mencionar algunas. También, incluyen especies ornamentales, principalmente, las rosas; de 100 géneros que crecen mejor en regiones templadas y subtropicales.

En general los tallos son leñosos o semi-leñosos; crecen como árboles, arbustos o hierbas; con hojas simples o compuestas, casi siempre alternas y estipuladas, con borde aserrado o dentado característico. Frecuentemente, presenta modificaciones como: espinas, estípulas y aguijones; las flores, normalmente son hemafroditas; el cáliz con sépalos, la corola generalmente con 5 pétalos libres o unidos. Los estambres son numerosos, comúnmente insertos en varios verticilos de 5 sobre el margen interno del disco; el gineceo con uno o varios carpelos, unidos o libres; los estilos están separados; el estigma húmedo o seco, de placentación axilar o marginal; los óvulos numerosos en las Spiraioideas, 1 ó 2 por carpelo en las otras subfamilias. El fruto es seco o carnoso (siendo importante para la división en subfamilias) y las semillas sin endospermas o este escaso (Kiesling, 1994).

2.3.1. GENERALIDADES DE LA ESPECIE *Prunus serotina* Ehrh. Subsp. *capuli* (Cav.) McVaugh



Hoja, flores y fruto de la especie *P. serotina*.

2.3.1.1. Descripción.

Árbol o arbusto de 10 a 15m (hasta 38m) de altura, de hojas lanceoladas y aserradas, de olor característico, flores pequeñas y blancas, en racimos axilares colgantes y largos, de 10 a 15cm, con pedicelos de 5 a 10mm de largo. El fruto es rojizo oscuro, globuloso, de 1.5cm de diámetro, con sabor agridulce y algo astringente, con una semilla esférica y rodeada por un endocarpio o hueso leñoso de sabor amargo, la raíz es un sistema radical de superficie y extendido a medianamente profundo. La mayoría de las raíces ocupan los primeros 60cm del suelo y crece muy rápido. Fructifica de mayo a agosto. El tronco largo y recto en el bosque pero en los claros es corto y ancho, posee ramas alternas, erguido-extendidas, lampiñas, escabrosas, su corteza es café o grisácea casi lisa y glabra, las ramas tiernas a veces son pubescentes, es hemafrodita (Biblioteca digital, 2009).

Habita en climas cálidos, semicálidos, semisecos y templados desde los 1000 y los 390msnm. Es una planta silvestre cultivada en huertos familiares, asociada a bosques tropicales caducifolio y subcaducifolio, matorral xerófilo, bosques espinoso, bosque mesófilo de montaña, bosques de encino, de pino y mixto de pino-encino (Biblioteca digital, 2009).

2.3.1.2. Distribución geográfica.

Originaria de América, se extiende desde Canadá hasta Guatemala, dentro de la República Mexicana se localiza en los estados de Chihuahua, Chipas, Coahuila, Ciudad de México, Puebla, Estado de México, Tlaxcala, Hidalgo, Veracruz, Tamaulipas, Oaxaca, Michoacán, Morelia, San Luís Potosí (Martinez, 1964, Biblioteca digital, 2009)

2.3.1.3. Clasificación botánica (TROPICOS).

- Clase: Equisetopsida C. Agardh
- Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
- Superorden: Rosanae Takht.
- Orden: Rosales Bercht. & J. Presl
- Familia: Rosaceae Juss.
- Género: Prunus L.
- Especie: Prunus serotina Ehrh.

2.3.1.4. Nombres comunes.

La especie se conoce como capulín en el Estado de México, Coahuila, Chihuahua, Ciudad de México; cerezo en Chiapas, Baja California Sur y Michoacán y cusabi (tarahumara) en Chihuahua.

2.3.1.5. Usos medicinales.

Su empleo más frecuente es en el tratamiento de la tos: con el fruto se prepara un jarabe y con las hojas se prepara el té (este suele acompañarse de las hojas de durazno, tejocote y manzana). Para aliviar el dolor abdominal y la diarrea se cuecen la raíz, corteza y hojas (Martinez, 1964).



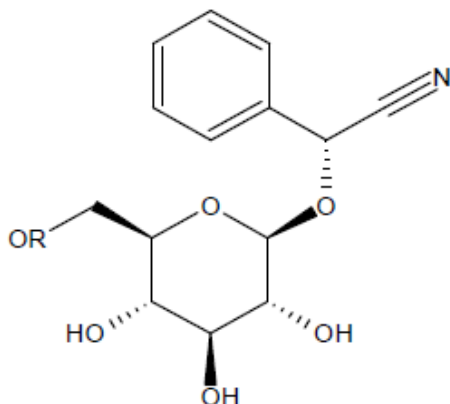
Figura 4. Distribucion geográfica de la especie *Prunus serotina* en la República Mexicana.

2.3.1.6. Antecedentes fitoquímicos de *Prunus serotina* Ehrh.

La especie posee una diversidad de constituyentes químicos. Los principales metabolitos secundarios aislados de esta planta pertenecen a la categoría de los triterpenoides, las antocianidinas, los aromáticos simples, los fenilpropanoides, los glicósidos ciangénicos y los flavonoides. En la siguiente tabla (1) se presentan los metabolitos secundarios identificados de la especie *P. serotina*.

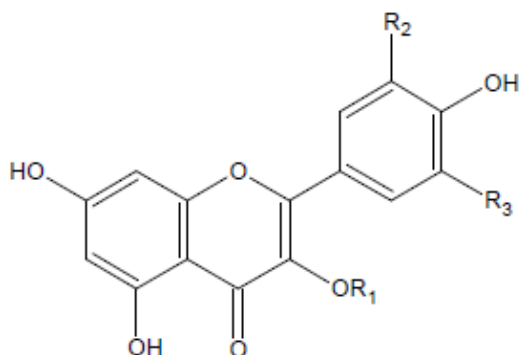
Tabla 1. Compuestos aislados e identificados de la especie *Prunus serotina* Ehrh.

GLUCÓSIDOS CIANOGENÉICOS.



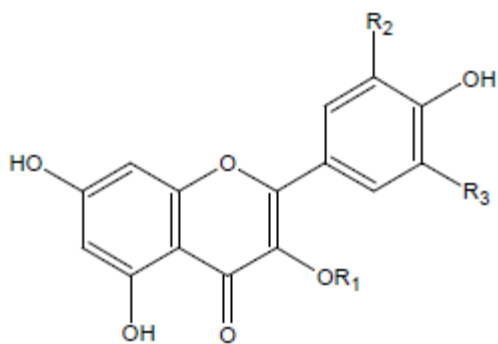
Nombre	Sustituyente R1	Referencia
Prusina (I)	OH	Horsley y Meinwald, 1981
Amigdalina (II)	glu	Santamour, 1981 Yoshikawa, <i>et al.</i> , 2002 Lv, <i>et al.</i> , 2005

FLAVONOIDES



Nombre	Sustituyente	Referencia
Hiperósido (III)	R1:gal R2:OH R3:H	Olszewska, 2005 Olszewska, 2007 Krasteva, <i>et al.</i> 2008. Liu, <i>et al.</i> 2010
3-O-(2-O- α -L-ramnopiranosil) β -D-galactopiranosido de quercetina (IV)	R1:ramno-gal R2:OH R3:H	Haribal, <i>et al.</i> 1996 Olszewska, 2005
Rutina (V)	R1:rut R2:H R3:OH	Graefe EU, <i>et al.</i> 2001 Otthof, <i>et al.</i> 2003 Olszewska, 2005
Guaijaverina (VI)	R1:ara R2:OH R3:H	Olszewska, 2005 Prabu, <i>et al.</i> 2006
Isoquercitrina (VII)	R1:glu R2:OH R3:H	Olszewska, 2005 Albuquerque, 2007
Avicularia (VIII)	R1:arab R2:OH R3:H	Olszewska, 2005 Camacho-Luis, <i>et al.</i> 2008
Reinoutrina (IX)	R1:xylo R2:OH R3:H	Olszewska, 2005a Olszewska, 2005b Olszewska, 2007
Juglanina (X)	R1:ara R2:H R3:H	Olszewska, <i>et al.</i> 2001 Olszewska, 2005 Olszewska, 2007

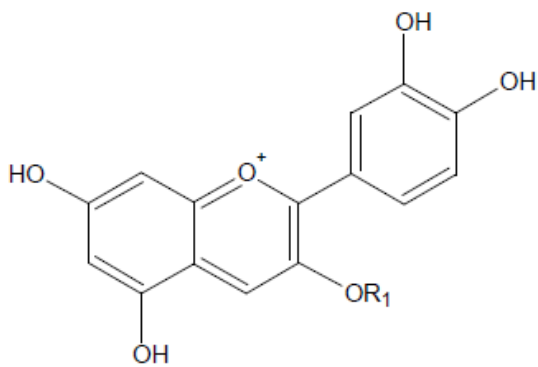
FLAVONOIDE



3-O-β-D-xilopiranosido de camferol (XI)	R1:xilo R2:H R3:H	Olszewska, <i>et al.</i> 2001
Astragalina (XII)	R1:glu R2:H R3:H	Olszewska, 2005 Pieters, <i>et al.</i> 2005

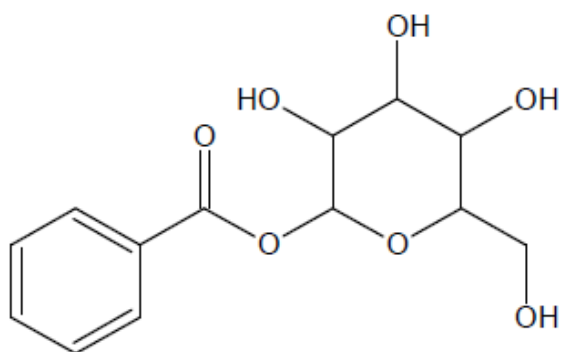
Nombre	Sustituyente	Referencia
3-O-β-xilopiranosido de isoramnetina (XIII)	R1:xil R2:OCH 3 R3:H	Olszewska, 2005
Narcisino (XIV)	R1:rut R2:OCH 3 R3:H	Olszewska, 2005 Krasteva, 2005
3-O-α-arabinofuranosido de isoramnetina	R1:ara R2:OCH 3 R3:H	Olszewska, 2005
3-O-(2"-O-α-L-ramnopiranosil)-β-D-galactopiranosido de quercetina (XVI)	R1:ramo-gal R2:OH R3:H	Tanahashi, <i>et al.</i> 1997 Olszewska, 2005

ANTOCIANINAS



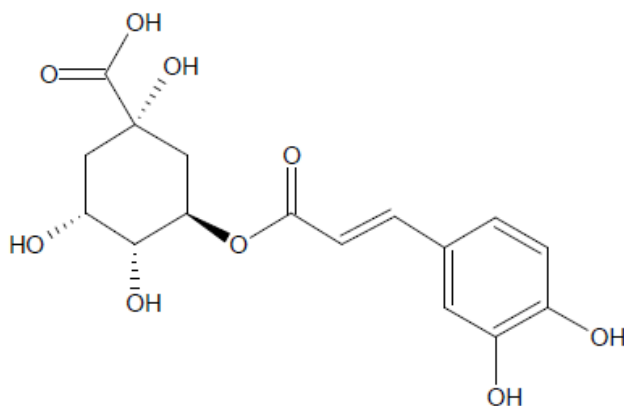
Nombre	Sustituyente	referencia
3-glucósido de cianidina (XVII)	R1:glu	Ordaz-Galindo, <i>et al.</i> 1999 Olszewska, 2005 Vergara, <i>et al.</i> 2009
3-rutinósido de cianidina (XVIII)	R1.rut	Ordaz-Galindo, <i>et al.</i> 1999 Olszewska, 2005 Vergara, <i>et al.</i> 2009

AROMÁTICOS SIMPLES



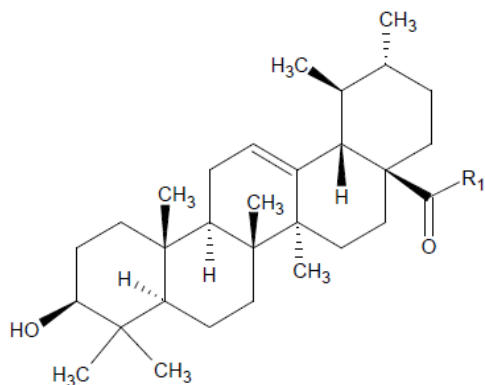
Nombre	Referencia
Benzoato de β -D-glucopiranosilo (XXIII)	Horsley y Meinwald, 1981

FENILPROPANOIDES



Nombre	Referencia
Ácido-5-O-cafeoilquínico (ácido clorogénico) (XXII)	Nardini, <i>et al.</i> 1995 Kaweon, <i>et al.</i> 2001 Mikulié, <i>et al.</i> 2003 Kayano, <i>et al.</i> 2004 Chen, <i>et al.</i> 2007 Olszewska, 2007

TRITERPENOS



Nombre	sustituyente	Referencia
Ácido ursólico (XIX)	R1:-OH	Biessels, <i>et al.</i> 1974 Sang, <i>et al.</i> 2002 Amico, <i>et al.</i> 2006
Aldehído ursólico (XX)	R1:-H	Biessels, <i>et al.</i> 1974 Amico, <i>et al.</i> 2006

2 α ,3 α -dihidroxi-urs-
12-en 28-ato de
metilo
Ácido 2 α ,3 α -
dihidroxiuro-12 en
28-oico (XXI)

R1:-OCH₃

Biessels, *et al.*
1974

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.

Uno de los ensayos primordiales que se debe hacer al identificar una planta medicinal es su análisis microscópico, el cual nos proporcionara características únicas que presenta dicha especie, y así poder establecer parámetros de identidad botánica. Aunque el análisis macroscópico también es importante, éste no proporciona características tan exactas como el anatómico.

Los estudios anatómicos que se han hecho previamente para las especies bajo estudio fueron en la rama y madera de las especies *Cyclolepis genistoide* y *Haematoxylon brasiletto* respectivamente. En México no sólo se utilizan dichas partes de la planta, también se utilizan la madera en el caso de *C. genistoide* y la corteza de *H. brasiletto* por lo cual los resultados obtenidos en este trabajo suman información a los estudios ya realizados para la caracterización anatómica de cada una de las partes de la planta que se utilizan en el país. Desafortunadamente para *Prunus serotina* no existen estudios anatómicos previos, por lo que los resultados obtenidos en este trabajo, son una contribución importante y el análisis que se realizó para las diferentes partes de la planta de cada especie ayudará a tener un mejor control de calidad de los productos medicinales que contengan a las diferentes especies sin importar la parte de la planta que se utilice. Así se podrá contar con la información necesaria para determinar si se trata de dicha especie o no, lo cual se verá reflejado en la calidad, seguridad y eficacia del producto. Se espera que los resultados obtenidos sean parte de la información necesaria para elaborar o aportar información a la monografía de la planta medicinal, la cual eventualmente se incorpore a la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos.

El objetivo primordial del presente trabajo consiste en realizar el análisis histológico de tres diferentes especies ampliamente utilizadas en la medicina tradicional mexicana: *Prunus serotina* (hoja), *Cyclolepis genistoide* (madera) y *Haematoxylon brasiletto* (corteza).

Para el cumplimiento del objetivo primordial se plantearon los siguientes objetivos particulares:

- Búsqueda bibliográfica sobre estudios anatómicos y químicos de cada especie.
- Describir las características macroscópicas de cada especie, *Prunus serotina* (hoja), *Cyclolepis genistoide* (madera) y *Haematoxylon brasiletto* (corteza).
- Describir anatómicamente las partes de la planta utilizada de cada especie para poder caracterizarlas.
- Establecer caracteres que permitan constatar la autenticidad del recurso herbolario.

4. MATERIALES Y MÉTODOS.

A continuación se describen las técnicas histológicas utilizadas para procesar las muestras bajo estudio.

4.1. Procesamiento histológico de la hoja de *Prunus serotina* Ehrh.

Se seleccionaron tres hojas maduras y sanas de capulín; posteriormente se cortaron trozos de 1.5cm² de la región media de la lámina incluyendo la vena media y el margen.

- **Fijación de la muestra:** Las muestras se fijaron con una solución que contenía 100mL de Solución A de Navashin (1g de trióxido de cromo, 7% de ácido acético y 92mL de agua destilada) y 100mL de Solución B (solución de formaldehído al 30%, (37-40%, pureza). Las muestras se fijaron durante 24h y se enjuagaron al chorro de agua hasta que el olor del fijador desapareció.
- **Deshidratación:** la deshidratación de las muestras se llevó a cabo con soluciones de ATB (alcohol terbutílico) en incrementos de concentración (Tabla 1). La temperatura se mantuvo de 25-26°C durante 24h para cada concentración. Finalmente, cuando se empleó ATB al 100% las muestras se mantuvieron en la estufa a una temperatura de 60°C (Sandoval *et al.*, 2005).

Tabla 2. Serie de deshidratación con alcohol terbutílico (ATB). Tomado de Sandoval *et al.*, 2005.

ATB 100% (mL)	EtOH 100% (mL)	EtOH 95% (mL)	H ₂ O (mL)	Concentración Final (%)	Tiempo (h)
5	0	30	65	35	24
10	0	40	50	50	24
15	0	45	40	60	24
20	0	50	30	70	24
35	0	50	15	85	24
55	0	45	0	95	24
75	25	0	0	100	24
100	0	0	0	100	24
100	0	0	0	100	24
100	0	0	0	100	24

- **Infiltración/ inclusión en parafina:** para este propósito se empleó una parafina histológica (58-60°C). En intervalos de 30min, se adicionó, la parafina a las muestras durante el último cambio del ATB (100%, proceso de infiltración) hasta que el volumen original del ATB se duplicó con la parafina adicionada. La temperatura se mantuvo entre 58-60°C, empleando para ello una estufa de incubación. Posteriormente, se evaporó el ATB y las muestras se cambiaron a parafina pura, previamente fundida durante 24h, hasta que el tejido estuvo embebido completamente.
- **Elaboración y montaje de los bloques de parafina:** en cajas de papel encerado de 1cm² se acomodaron las muestras de tejido previamente infiltradas, con orientación transversal. Previo calentamiento de una aguja de disección con una lámpara de alcohol, se eliminaron las burbujas de aire formadas en las cajas de papel. Las cajas se mantuvieron en refrigeración a una temperatura de 4°C hasta su corte.
- **Corte:** se generaron secciones de 10 y 15µm de grosor mediante el empleo de un Micrótopo de rotación marca American Optical 820. Para la hoja se hicieron cortes transversales. Las muestras se montaron en cubos de madera diseñados para este fin (del tamaño que se ajusten al bloque de parafina hecho). Para sellar al bloque de madera, la preparación de parafina, se colocó entonces sobre el cubo de madera fundiendo los bordes de parafina con una aguja de disección caliente; es importante que la muestra se fije permanentemente para que no se mueva.

Los cortes se hicieron en serie (listones) y se colocaran en un baño de flotación durante 10min (el baño se prepara en un cristalizador que contenga agua a 40-50°C, y se espolvorea un poco de grenetina que actúa como adhesivo; la temperatura del agua debe mantenerse constante); en estas condiciones, se toma el portaobjetos y se sumerge en el baño de flotación y con ayuda de unas pinzas se coloca el listón. Finalmente, se deja reposar a temperatura ambiente hasta que seque (Sandoval *et al.*, 2005).

- **Desparafinación:** Las muestras se colocaron en una canastilla y se calentaron en la estufa (a 60°C) durante 30-40min. Al término de este periodo inmediatamente se sumergieron en xileno durante una hora. Finalmente, se transfirieron a una solución de xileno-alcohol absoluto (1:1) durante 10min.
- **Rehidratación:** Para este propósito, la canastilla se colocó en una secuencia de concentraciones de alcohol en orden decreciente (100%, 95%, 70%, 50 % y 30%) durante 10min en cada concentración.
- **Tinción:** Al término de la rehidratación las muestras se sumergieron en safranina durante 24h. Posteriormente se eliminó el exceso de colorante con tres lavados de agua destilada de 1min cada uno, después se realizó una deshidratación con alcoholes graduales (30%, 50%, 70%, 95%, 100% etanol) se sumergieron durante 10min en cada uno. Al término de la deshidratación se le agrega verde rápido por 2min (para contrastar la tinción de los tejidos), las muestras se enjuagan con alcohol absoluto (3 veces de un minuto cada uno), y posteriormente se sumergió en aceite de clavo durante 5 min, por último se lavó con xileno (3 veces de un minuto cada uno).
- **Montaje con Resina sintética:** una vez que la muestra se encuentra teñida se adicionó un poco de resina sintética y se colocó un cubreobjetos con mucho cuidado. La preparación se dejó secar en un horno a 60°C durante 15 días. Una vez seca se limpió el exceso de colorante y resina con un algodón impregnado con alcohol al 70%. Cada muestra debe etiquetarse de manera correcta, cada etiqueta debe llevar: nombre de la especie, familia, estructura (hoja, tallo, rama, madera, sellas, etc.), número de recolecta, técnica de tinción utilizada, nombre de quien elaboro las preparaciones y fecha.

4.1.1. Obtención de epidermis.

- **Destrucción de tejidos parenquimáticos:** En un frasco de 10mL se colocaron las secciones de las hojas y se adicionó suficiente solución de NaOH al 20% hasta cubrir la muestra. La suspensión anterior se dejó reposar durante 20min. Al término de este periodo se lavó al chorro de agua (tres veces) y se adicionó cloro al 20% durante 24h y cloro al 50% por 20min. Finalmente, se lavó con agua. Las muestras previamente lavadas las muestras se dejaron en agua hasta su limpieza o raspado.
- **Raspado o Limpieza:** las muestras se colocaron en un disco de Siracusa (con agua) y con la ayuda de un pincel se separó la parte abaxial y adaxial de la hoja. Posteriormente, se fue retirando poco a poco y por completo el tejido que las unía.
- **Montaje en el cubreobjetos:** Una vez limpias e identificadas las muestras como abaxial y adaxial se colocaron sobre un portaobjetos. Enseguida, se adicionó una gota de gelatina glicerilada caliente y se cubrió evitando la formación de burbujas. La preparación se dejó secar durante 24h. Finalmente, se retiran los excesos de gelatina glicerilada con ayuda de un algodón impregnado con alcohol 70% y se etiquetan.

4.2. Procesamiento histológico de madera de *Cyclolepis genistoide* D.Don.

- **Ablandamiento:** Para ello, en un frasco ámbar, se sumergió por completo el material vegetal en solución de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) al 10% durante nueve semanas. Al término de este tratamiento se realizó un reflujo con la misma solución de EDTA durante una hora.
- **Corte de la muestra:** Transcurrido el tiempo de ablandamiento, se cortó la muestra en tres secciones (cubos de 1cm x 1.5cm, aproximadamente). Cada sección se mantuvo en ebullición con 35mL de EDTA al 10% durante 1h. Enseguida, se sometió a ebullición con agua 1h. Este tratamiento se realizó para ablandar la madera sin que los tejidos celulares se dañen. Los cortes se realizaron empleando un Xilotómo marca Reicher Wien No 15355; cada corte se realizó a 10,

15, 17 y 20 μ m, humectando las muestras con solución GAA 1:3:1 (solución de glicerina:alcohol etílico:agua) entre cada operación. Las muestras se obtuvieron en tres planos de orientación (transversal, radial y tangencial) obteniéndose laminillas de cada sección.

- **Tinción:** las laminillas obtenidas se colocaron en discos de Siracusa y se separó en cada disco los diferentes planos de orientación. Enseguida, se adicionó safranina durante 40 minutos. Al término de este periodo, se realizaron los lavados con agua destilada (de un minuto cada uno), después se realizó una deshidratación con alcoholes graduales (30%, 50%, 70%, 95%, 100% etanol) se sumergieron durante 4min en cada concentración. Posteriormente, se agregó verde rápido durante 5 minutos y se realizaron tres lavados con alcohol absoluto de un minuto cada uno. Finalmente, se adicionó aceite de clavo durante 10 minutos y se enjuagó en tres ocasiones (durante 1min) con xileno.
- **Montaje con Resina sintética:** para ello, las laminillas (tangencial, radial o transversal) se colocaron sobre un portaobjetos y se agregaron algunas gotas de resina sintética. A continuación, se colocó un cubreobjetos evitando la formación de burbujas. Finalmente, las preparaciones se secaron en un horno a 60°C durante 15 días, se limpiaron y se etiquetaron.

4.2.1. Técnica de Disociados: Obtención de tejidos vasculares.

Esta técnica se utilizó para la observación de elementos de vaso y fibras, para su descripción y poder tomar mediciones de cada uno.

- En un frasco se colocó pedazos de la muestra y se agregó la solución de Jeffrey a fin de cubrir los pedazos, se dejó por 76h, se realizó un cambio de la solución a las 32h. Trascorrido el tiempo con ayuda de una aguja de disección se separó el tejido para comprobar que el material ya estaba disociado.
- Se lavaron las muestras con agua destilada, dos cambios de 5min cada uno, al término de los lavados se colocaron en otro frasco con solución GAA 1:3:1 (solución de glicerina: alcohol etílico: agua)

- Se colocó una muestra pequeña del material en un portaobjetos, con ayuda de la ajuga de disección se separó el tejido, después se agregó una gota de gelatina glicerinada y se colocó el cubreobjetos, se dejó secar por 24h, para después limpiar el exceso de gelatina y poder sellar con barniz de uñas transparente alrededor del cubreobjetos.

4.3 Microscopía de la sección transversal de la corteza de *Haematoxylon brasiletto*.

- **Ablandamiento:** en un frasco ámbar de 50mL se sumergió la por completo el material vegetal con solución de EDTA al 10% durante un mes. Al término de este tiempo se separó el material en tres secciones para deshidratarla.
- **Deshidratación, infiltración/inclusión en parafina y montaje de los bloques de parafina:** Estas etapas se realizaron de la misma manera que para la hoja de *Prunus serotina*.
- **Corte:** antes de realizar los cortes los bloques de las muestras incluidas en parafina se montaron en cubos de madera para darle soporte. Los cortes se realizaron empleando un Micrótopo de rotación (American Optical 820) y se realizaron a 10 y 15µm para obtener listones de las muestras.

Los listones así obtenidos de las secciones de los tejidos de la corteza se colocaron en un baño de flotación. Una vez colocada la sección sobre el portaobjetos, se deja reposar unos minutos para que se seque y se garantice la adherencia de la sección al portaobjetos.

- **Desparafinación:** Las muestras se colocaron en una canastilla y se calentaron en la estufa (a 60°C) durante 30-40min. Al término de este periodo inmediatamente se sumergieron en xileno durante una hora. Finalmente, se transfirieron a una solución de xileno-alcohol absoluto (1:1) durante 10min.
- **Rehidratación:** Para este propósito, la canastilla se colocó en una secuencia de concentraciones de alcohol en orden decreciente (100%, 95%, 70%, 50 % y 30%) durante 10min.

- **Tinción:** una vez concluido el proceso de rehidratación, la canastilla se colocó en una solución de safranina durante 24h. Al término de este periodo se realizaron los lavados con agua destilada (hasta observar que es clara) y con la serie graduada de mezclas etanol-agua; en cada concentración se realizaron dos lavados. Enseguida, se adicionó verde rápido por 2min y se enjuagó con alcohol absoluto (3 veces, durante un minuto cada uno). Finalmente, se agregó aceite de clavo durante 5min y se enjuagó con xileno (3 veces, durante un minuto cada uno).
- **Montaje con Resina sintética:** para ello, se siguió el mismo procedimiento descrito para la especie *P. serotina*.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

5.1. *Prunus serotina* Ehrenb. Subsp. *capuli* (Cav.) McVaugh.

Hay caracteres diagnósticos que nos permiten identificar a las familias existentes dentro de las dicotiledóneas, estos caracteres pueden o no compartirse con otras familias, la especie *Prunus serotina* Ehrh pertenece a la familia *Rosaceae*, según lo establecido por Metcalfe y Chalk (1992), las hojas de esta familia tienen las siguientes características: epidermis papilosa, presente tanto en la epidermis abaxial como adaxial, epidermis mucilaginoso; estomas, los cuales se clasifican según número y disposición de las células anexas en; anomocítico, anisocítico o crucífero, helicocítico, presentes en la cara adaxial; hipodermis; nectarios extraflorales (Metcalfe y Chalk, 1992).

Los caracteres anteriores se establecieron para la familia, la cual se conforma por 107 géneros y 3100 especies, por lo que se supone que las estructuras anatómicas varían en cada una de ellas (características microscópicas), dichas variaciones dependen de diversos factores, como los genes que comparten, el clima donde crecen, etc. Las características macroscópicas en algunas ocasiones no son evidentes, razón por la cual se confunden las especies debido al parecido que tienen. Por lo tanto es imprescindible la descripción macroscópica y microscópica de la planta que ponga de manifiesto sus características particulares.

En el estudio realizado por Sangtae Lee y Jun Wen señala que el género *Prunus* y la subfamilia *Amygdaloideae* de *Rosaceae* presenta una controvertida historia taxonómica debido a la falta de un marco filogenético. Estos autores realizaron un análisis filogenético utilizando las secuencias ITS (nrDNA), para construir la historia evolutiva y evaluar las clasificaciones históricas de *Prunus* y *Amygdaloideae*. Sus resultados determinaron que *P. serotina* y *P. virginiana* L. son especies hermanas y están estrechamente relacionadas con *Prunus padus*. Commut., (Sangtae y Jun, 2001).

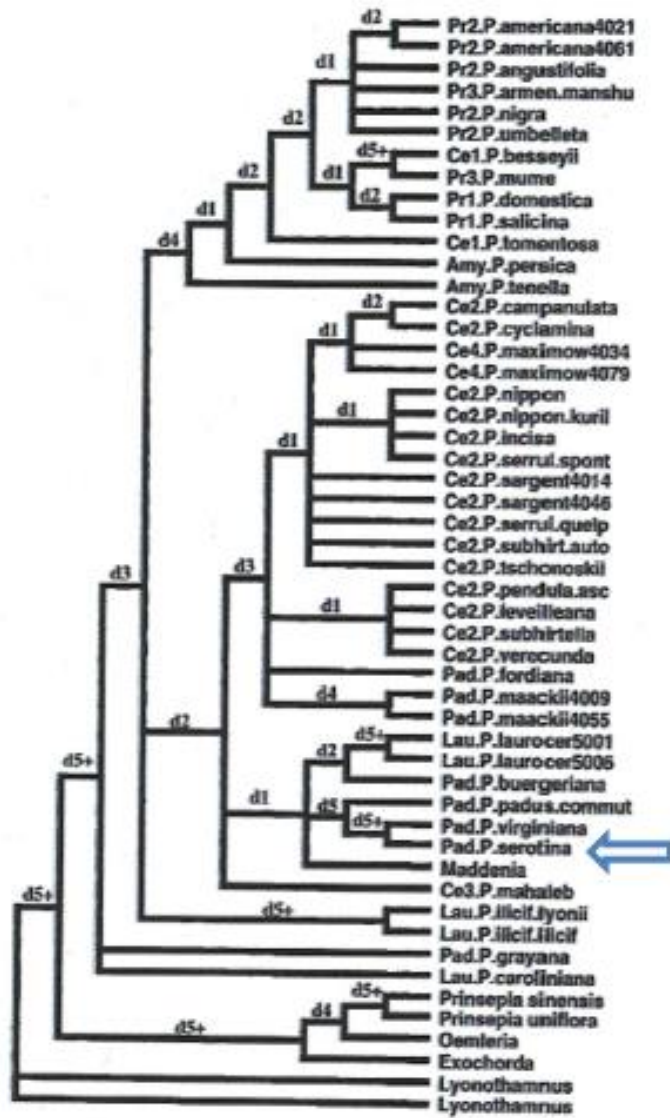


Figura 4. Cladograma utilizando secuencias de ITS (nrDNA), para mostrar las relaciones de parentesco entre algunas especies de *Prunus*. (Tomado de Sangtae y Jun, 2001).

P. virginiana, suele confundirse muy a menudo con *P. serotina*, pues el fruto de ambas especies es parecido durante su proceso de maduración; una vez que el fruto está maduro, la coloración final es diferente y lo único que tienen en común es la forma circular del fruto (figura 5).



Figura 5. Comparación del fruto de *Prunus virginiana* (A), por Arthur Haines y *Prunus serotina*. (B), por Will Cook.

En el estudio realizado por Nels R. Lersten y Harry T. Horner, se reporta que la presencia de cristales de oxalato de calcio cambia durante el desarrollo de la hoja de la especie *P. virginiana*, siendo la etapa adulta, donde se observa la mayor cantidad de cristales.

La distribución de dichos cristales se localiza en las células epidérmicas, en el parénquima en empalizada y en parénquima esponjoso. Las formas comunes que presentan los cristales son prismáticas y drusas. En la hoja, los cristales prismáticos son abundantes mientras que las drusas se extienden en las venas inferiores hasta ocupar todos los órdenes de venas. Sin embargo en la vena media y venas principales laterales, la presencia de drusas es menor (Lersten y Horner, 2004).

Al comparar estas dos especies, nos damos cuenta de la gran diferencia entre *P. virginiana* y *P. serotina*, ya que la distribución de los cristales en ambas es totalmente diferente. En el caso de la primera, los cristales prismáticos son más abundantes y las drusas sólo se presentan en las venas, referente a la segunda, la presencia de cristales prismáticos es muy poca en las células epidérmicas, en el parénquima en empalizada sólo hay drusas, mientras que en el parénquima esponjoso y haces vasculares hay abundantes cristales prismáticos, pero no tanto como en *P. virginiana* (figura 6).

La importancia de los cristales de oxalato de calcio radica en su utilidad como caracter para delimitar una especie, ya que están genéticamente establecidos. La función de dichos cristales en las plantas es proporcionar soporte estructural, protección contra herbivoría (en grandes concentraciones es tóxico), foto protección (ayuda a la dispersión de la luz), un efecto para contrarrestar la lluvia ácida y la precipitación de calcio en el suelo.

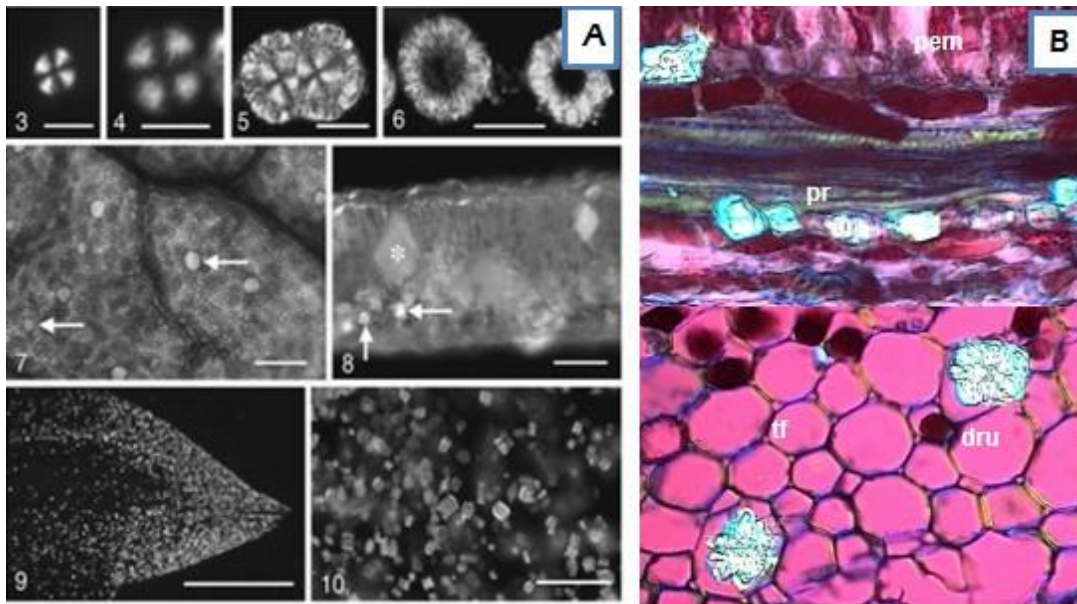


Figura 6. Lamina foliar de las especies *P. virginiana* y *P. serotina*. A) 3-6. Secuencia de la formación de drusas. 7. Se observa grandes idioblastos de cristales prismáticos (flechas) en el parénquima en empalizada, (barra=200micras). 8. Sección transversal mostrando ambas epidermis, parénquima en empalizada con grandes cristales prismáticos (asterísticos) y parénquima esponjoso, drusas solo se observan en la vena (flecha), (barra=50 micras). 9-10. Los cristales a lo largo de la hoja, abundante presencia de cristales prismáticos y acercamiento de dichos cristales (barra =1.0mm). Tomado de Lersten y Horner, 2004. B) Drusas en tejido fundamental y parénquima en empalizada, X1000, luz polarizada con cuña de cuarzo. Cual es A-B

Identificación macroscópica y microscópica de *P.serotina*.

➤ Identificación macroscópica.

Hojas con borde aserrado, ovaladas a lanceoladas, de 5-16cm largo por 2 a 5cm de ancho, cortamente pecioladas, cara adaxial (haz) de color verde brillante, cara abaxial (envés) color verde olivo. Penninervia, nervadura media marcada en ambas caras, con nervaduras secundarias y terciarias (figura 7A, B, C, D).



Figura 7. *P. serotina*. A. Planta. B. Acercamiento de las hojas. C. Cara adaxial de la hoja. D. Cara abaxial de la hoja.

- **Identificación microscópica.**
- **Lámina foliar.**

Tejido dérmico, vista superficial: Con cutícula rugosa en ambas caras abaxial y adaxial; estomas en la cara abaxial aproximadamente hay 68-70 estomas por campo; ausencia de tricomas (glabra); células costales de forma rectangular con sus extremos redondeados y alargadas e intercostales (de forma irregular) (figura 8A, B).

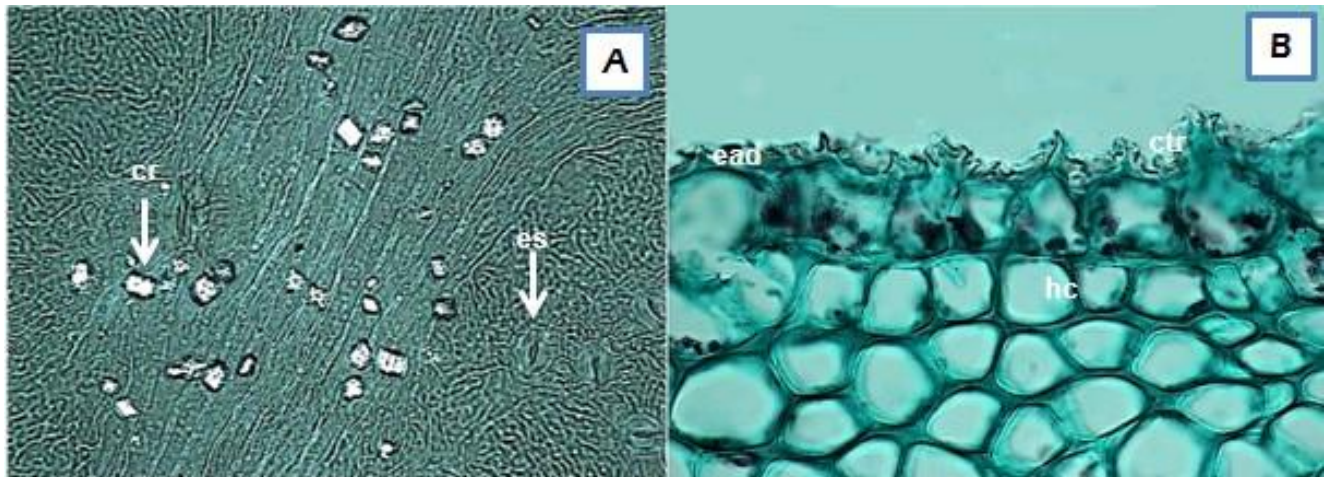


Figura 8. Lámina foliar de *Prunus serotina*. A) Vista superficial de epidermis adaxial con cristales sobre células costales, X400, contraste de fases. B) Vena media epidermis adaxial, X1000, contraste de fases. Cristales (cr), cutícula rugosa (ctr), epidermis adaxial (ead), estoma (es), hipodermis colénquimatoso (hc).

➤ **Sección transversal.**

Tejido epidérmico: un estrato de células epidérmicas de forma rectangular con esquinas redondeadas (figura 9A, B).

Tejido fundamental: En la cara adaxial y a nivel de la vena media con hipodermis colenquimatosa de tipo anular, de 1-5 estratos en la cara adaxial y dos estratos en la cara abaxial. A nivel de la lámina con dos estratos de parénquima en empalizada y parénquima esponjoso laxo (figura 8A, B, C).

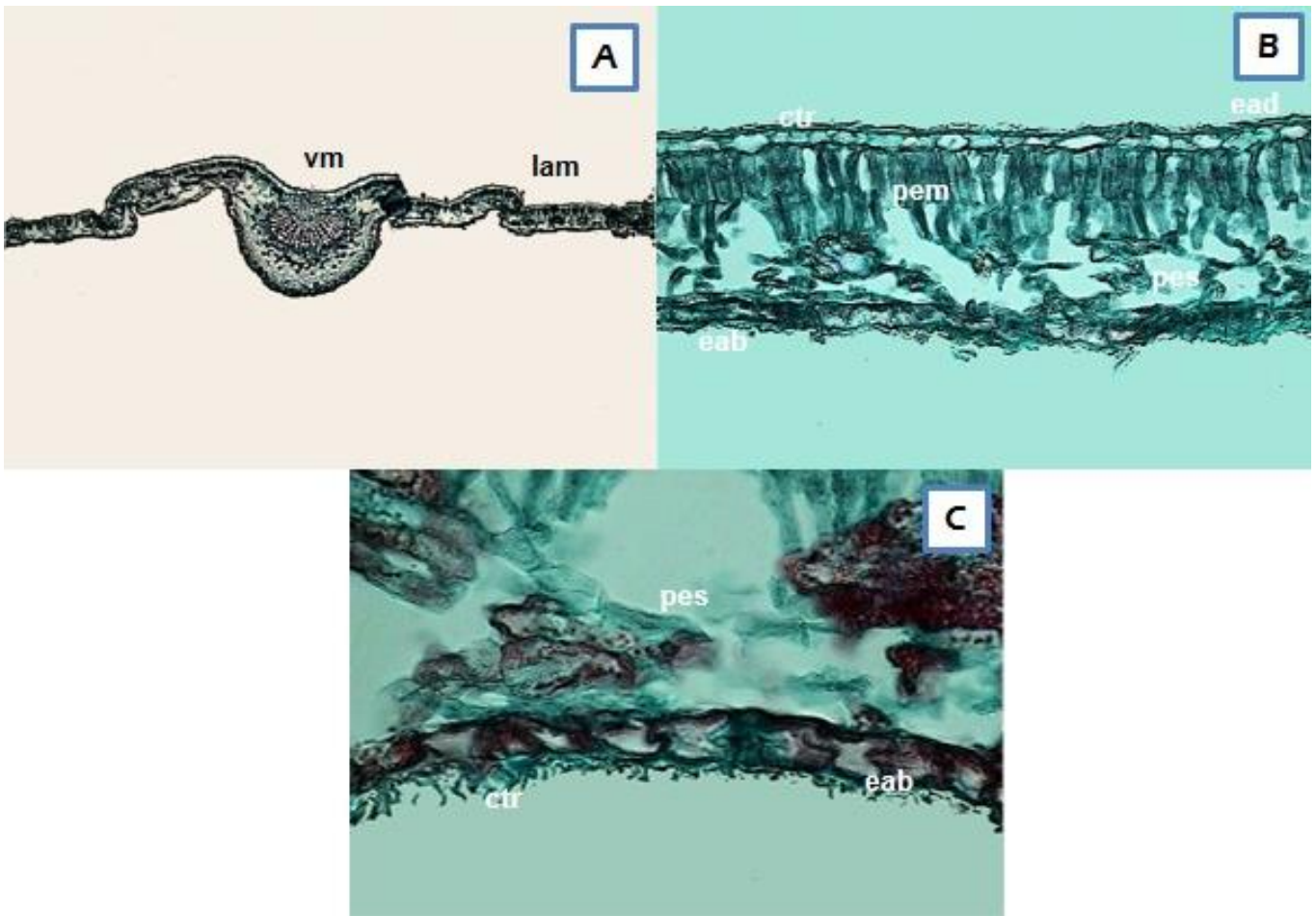


Figura 9. Lámina foliar de *Prunus serotina*. A) Sección transversal de lámina y vena media, X100, campo claro. B) Lámina, tejido fundamental, X1000, campo claro. C) Lámina hacia el extremo abaxial, X1000, contraste de fases. Cutícula rugosa (ctr), epidermis abaxial (eab), epidermis adaxial (ead), lámina (lam), parénquima en empalizada (pem), parénquima esponjoso (pes), vena media (vm).

Tejido vascular: Vena media. Haz vascular colateral organizado en forma de media luna. Xilema en posición adaxial con traqueidas y elementos de vaso, estos con pared gruesa, los elementos de vaso de tamaño uniforme y organizado en hileras, con 4 a 6 vasos por hilera; ambos elementos inmersos en células parénquimatosas y fibras. Floema en posición abaxial, con elementos cribosos y células acompañantes. Los elementos cribosos de tamaño uniforme y pared celular delgada, inmersos en células parénquimatosas ligeramente más grandes que los elementos cribosos, sin fibras (10).

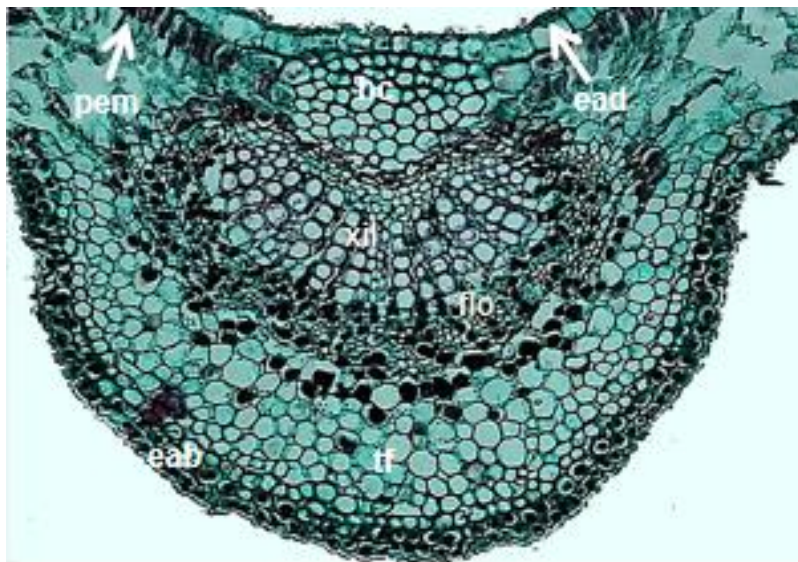


Figura 10. Lámina foliar de *Prunus serotina*. Sección transversal de vena media, X400, campo claro. Epidermis abaxial (eab), epidermis adaxial (ead), floema (flo), hipodermis colenquimatoso (hc), parénquima en empalizada (pem), tejido fundamental (tf), xilema (xil). Error en la imagen es eab.

Contenidos celulares. Cristales de oxalato de calcio en forma de drusas y prismas a nivel de las células epidérmicas y del parénquima en empalizada, sólo drusas en el parénquima esponjoso, en los haces vasculares de la lámina se observan abundantes prismas y otros cristales irregulares (figura 11A, B), en el tejido fundamental de la vena media se observan drusas (figura 11C), presencia de taninos a nivel de la vena media en la cara abaxial y adaxial, a nivel de la lámina en los haces vasculares.

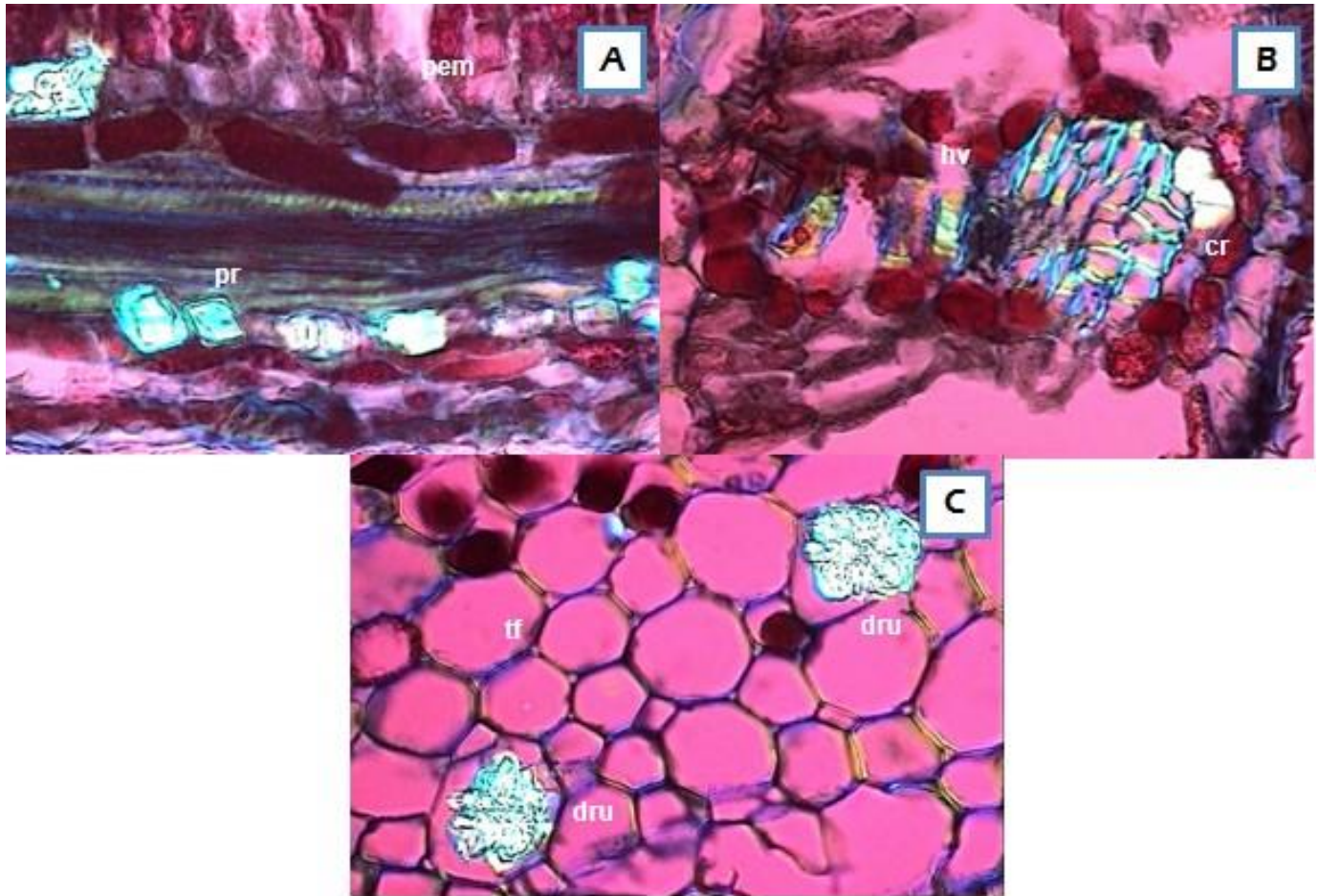


Figura 11. Sección transversal de lámina foliar de *Prunus serotina*. A) Haz transverso con cristales, prismáticos y amorfos, X1000, luz polarizada con cuña de cuarzo. B) Haz vascular secundario con cristales asociados al xilema, X1000, luz polarizada con cuña de cuarzo. C) Tejido fundamental de vena media con cristales en forma de drusas, X1000, luz polarizada con cuña de cuarzo. Cristales (cr), cristales prismáticos (pr), drusas (dru), haz vascular (hv), parénquima en empalizada (pem), tejido fundamental (tf).

Al realizar una búsqueda intensiva de *P. serotina*, se encontró que los principales metabolitos de las plantas se encuentran en las hojas y gracias a investigadores como Biessels *et al.*, (1974); Horsley y Meinwald, (1981); Graefe EU, *et al.*, (2001); Prabu, *et al.*, (2006); Krasteva, *et al.*, (2008); entre otros, se determinó que estos metabolitos se obtienen de la hoja (por diferentes métodos) en una proporción adecuada o aceptable que permite estudiar los compuestos que proporcionan un efecto terapéutico. Sin embargo, en ninguno de esos estudios, se reportó un análisis anatómico que determine las estructuras donde se ubican los metabolitos de interés. Pero la aportación de esta información ayudaría a establecer una característica particular de la planta, basada en el

análisis anatómico y proveer evidencia contundente que sustenta la presencia de los metabolitos extraídos en las hojas. Dichos resultados, aunados a la información obtenida por métodos analíticos (por ejemplo HPLC), permiten establecer un control de calidad adecuado para el uso de plantas medicinales.

Del análisis anatómico realizado en *P. serótina*, se encontró una gran cantidad de taninos en la sección transversal de la hoja; a nivel de la vena media en la cara abaxial y adaxial, y a nivel de la lámina en los haces vasculares (figura 10, 11A, B, C). Esta información confirma la utilidad de las hojas, en lugar de otras partes de la planta, para el estudio de dichos metabolitos y las zonas específicas, donde éstos se ubican.

Los estudios fitoquímicos realizados en hojas de la especie *P. serotina* que se han descrito en la literatura, reportan la caracterización y aislamiento de once flavonoides como: el ácido clorogénico y el ácido hiperósido, que son potenciales antioxidantes; los antioxidantes fenólicos (flavonoides, taninos, cumarinas, xantonas y procianidinas), que poseen la capacidad para eliminar de manera eficaz a los radicales libres (RL).

Los RL son especies químicas que poseen uno o más electrones desapareados y son capaces de existir independientemente, estos se pueden formar por diversos mecanismos como ganancia o pérdida de un electrón, o por ruptura hemolítica de una molécula, son altamente reactivos e inestables y tienden a remover electrones a otras moléculas; para obtener mayor estabilidad se adicionan a otra molécula y actúan como agentes oxidantes o reductores (Houghton y Mukherjee, 2009; Halliwell, 2006).

Los antioxidantes representan potenciales recursos terapéuticos para las patologías relacionadas con los RL, como son: las enfermedades cardiovasculares (aterosclerosis, infarto del miocardio, cirugía cardíaca, diabetes, cardiopatía alcohólica, etc.); los padecimientos neurológicos (enfermedad de Parkinson, Alzheimer, neuropatía alcohólica, hiperoxia, isquemia o infarto cerebral, traumatismos craneales, etc.); enfermedades oculares (cataratas, daño degenerativo de la retina, fibroplasia retrolental, etc.); las enfermedades Respiratorias (distrés respiratorio o síndrome de dificultad respiratoria del adulto, tabaquismo, cáncer de pulmón, enfisema); SOMA (artritis

reumatoidea); y enfermedades relacionadas al riñón (síndrome autoinmune, nefrotoxicidad por metales, etc.) (Hernández, 1946; kim, 2005; kim, 2006).

El estudio fitoquímico realizado por Ibarra Alvarado *et al.*, 2009, describe el efecto de relajación que ejerce el aceite esencial de las hojas de *P. serotina* en el músculo liso arterial. El análisis de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, mostro que la esencia contiene cincuenta y siete constituyentes a los cuales se les adjudica dicho efecto. Aunque no todos los componentes pudieron purificarse para su estudio individual, algunos metabolitos lograron purificarse para su evaluación terapéutica. En un primer experimento, se comparó la actividad de tres compuestos purificados de las hojas de *P. serotina*: la prunina, el hiperósido (flavonide) y ácido ursólico (triterpeno), con respecto a la actividad de la acetilcolina (ACh) para relajar el musculo liso de la aorta de rata (considerando ACh como control positivo). Los resultados mostraron que los metabolitos en conjunto tienen una actividad sinérgica pero deficiente con respecto a ACh. Pues el efecto que ejercen los compuestos de manera independiente es muy débil a excepción del hiperósido, que mostró una potencia 10 veces menor que ACh. Sin embargo, pese a su baja potencia, este flavonoide resulto más eficaz para generar vasodilatación. En otro experimento, se evaluaron otros cuatro componentes purificados: el alcohol bencílico, el benzaldehído, el alcohol cinámico y el cinamaldehído. Los resultados indicaron que estos compuestos inducen la relajación de la aorta de rata de manera dependiente de la concentración, de los cuales, el alcohol cinámico ejerció el efecto más potente. Gracias a los resultados reportados se justificó el efecto terapéutico que provee la infusión de hojas de *P.serotina* para el tratamiento de la hipertensión.

Los estudios antes mencionados y los trabajos realizados por diversos investigadores (Biessels *et al.*, 1974; Horsley y Meinwald, 1981; Nardini *et al.*, 1995; entre otros) proporcionan una base científica para el uso tradicional de las hojas de *P. serotina* en distintos tratamientos. De tal manera que el análisis anatómico (características microscópicas) contribuye de manera integral al estudio analítico de los principios activos por Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia (HPLC, por sus siglas en inglés) que se describe en la monografía farmacopeica de la especie. Ya que, a través del conocimiento

de las estructuras que componen a la hoja, se establecen de manera fiable los ensayos de identidad de los productos herbolarios y los criterios que determinan adulteraciones en productos terminados. Por lo que el análisis químico y anatómico contribuye de manera sustancial al control de la calidad de productos que garantiza su seguridad y eficacia.

A manera de ejemplo en el anexo I se muestra la monografía de la especie *P.serotina*, con base a las monografías establecidas en la Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP, por sus siglas en inglés).

5.2. *Haematoxylum brasiletto* Karst.

Se conoce que la corteza y la madera se utilizan en México para tratar problemas cardiovasculares, trastornos gastrointestinales (dolor de estómago, úlcera gástrica y diarrea), renales y dolor de bazo; sin embargo, hay escasa información de estudios anatómicos de la especie *H. brasiletto*. Dentro de los trabajos encontrados, está la descripción macroscópica del árbol que contiene todas sus características morfológicas (Argueta et al., 1994), otro es el estudio macroscópico y microscópico de la madera (xilema secundario) de diferentes especies que se utilizan como plantas medicinales en México, realizado por Carmona (1993), en el cual incluye a esta especie, también se han realizado estudios químicos de identificación y caracterización de los compuestos que presentan un efecto terapéutico algunos de estos autores son: Paris y Rousselet (1958); Lolor y Martín (1959); Pratt y Yuzuriha (1959) y Rivero (2008).

Realizar la identificación adecuada de las partes que se utilizan para obtener los principios activos contribuye a un control de calidad en los preparados herbolarios, pero estos principios activos no son únicamente importantes por la acción que ejercen en los diferentes padecimientos pues además son otro punto clave en la caracterización de la planta, ya que no todos estos principios activos se encuentran en otros grupos de plantas, ni se sintetizan en cantidades similares entre especies de forma generalizada. Pues a menudo estos metabolitos se consideran marcadores y su producción se restringe a un determinado género de plantas, a una familia, o incluso a algunas especies (Ávalos y Pérez, 2009).

Para el presente trabajo se procesó la corteza de la especie y se utilizó el material procesado de madera por Carmona Jiménez, cuyos resultados hacen referencia a la utilidad de la descripción anatómica para el control de calidad de plantas medicinales. Estudiar de nuevo la madera no proporcionaría nueva información; sin embargo, el estudio de la corteza que también se utiliza para aliviar los mismos padecimientos antes mencionados, enriquece la información sobre la planta que se utilizan como medicamento. Por lo tanto, la información en conjunto sobre las partes de la planta que

se emplean, son útiles para establecer los criterios de identificación con base a la anatomía de la planta.

Identificación macroscópica y microscópica de *H.brasiletto*.

➤ Corteza.

Identificación macroscópica. Por su cara exterior con apariencia rugosa, de color café oscuro, en el interior es liso de color café claro (figura 12A, B).

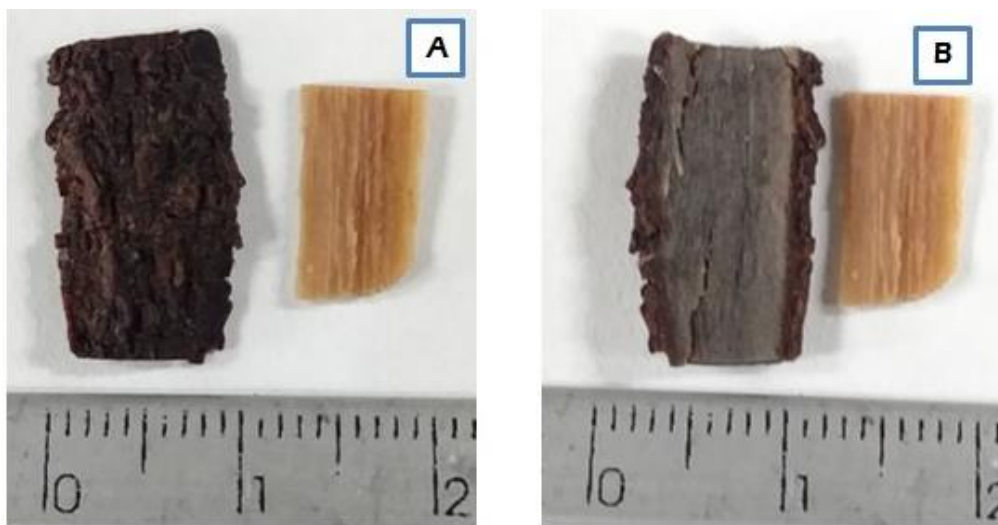


Figura 12. Corteza de la especie *H. brasiletto*. A) Vista de la parte exterior. B) Vista de la parte interior.

➤ Características microscópicas.

Tejido dérmico: Peridermis con felema, felógeno y felodermis bien definidos. Felema con aproximadamente 10-12 estratos celulares; células de forma rectangular tangencialmente alargadas, generalmente colapsadas, de pared engrosada y suberizadas, sin contenido celular. Felógeno: con aproximadamente dos estratos celulares; células de forma rectangular, de tamaño relativamente más pequeño que las células del felema, de pared celulósica delgada, sin contenido celular. Felodermis: aproximadamente 12-14 estratos; células de forma variada: ovalada, rectangular e

isodiamétrica, de tamaños más grandes que las del felema, de pared celulósica más delgada (figura13).

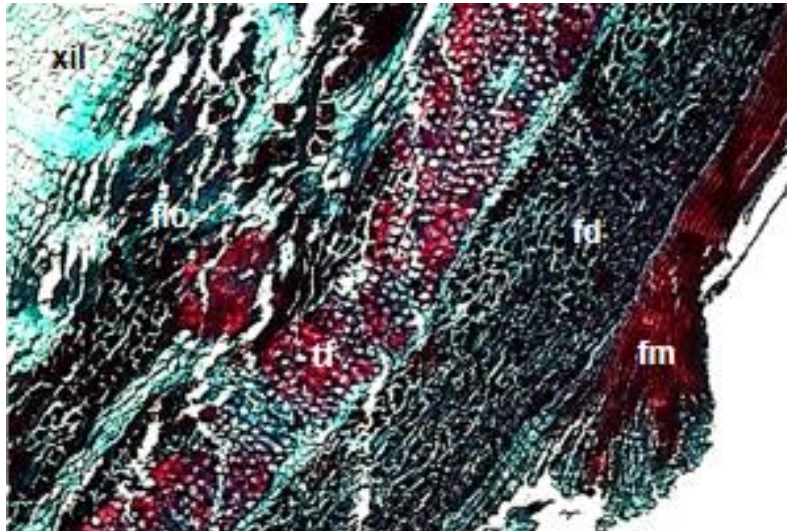


Figura 13. Sección transversal de corteza de *Haematoxylum brasiletto*. A) Corte transversal, X100, campo claro. Felema (fm), felodermis (fd), felodermis (fd), floema (flo), tejido fundamental (tf), xilema (xil).

Tejido fundamental: diferenciado en dos zonas, una parenquimatosa y otra esclerenquimatosa. Parénquima cortical, con aproximadamente dos estratos de células con forma irregular y tamaño variado, de pared celular celulósica y delgada. Banda de esclerénquima con aproximadamente 10-12 estratos, de células entre cuadradas e isodiamétricas, la mayoría con pared celular gruesa y lignificada (figura 14).

Tejido vascular: Floema: Con elementos del metafloema y del protofloema. Los elementos celulares del metafloema están organizados formando varios estratos, células oblongas o irregulares y tangencialmente alargadas, de tamaños irregulares, obliteradas; protofloema con células cribosas y células acompañantes bien diferenciadas formando varios estratos celulares (figura 15A). Cambium vascular: Con aproximadamente 2 estratos celulares, células de forma ovalada, con pared celular delgada (figura 15B). Xilema: Con traqueidas y elementos de vaso como elementos de conducción y parénquima radial. Los elementos de vaso ubicados cerca del cambium vascular, de diámetro pequeño y con paredes celulares delgadas y poco lignificadas; las células de los radios son de tamaños más pequeñas y arregladas en claras hileras radiales (figura 15B).

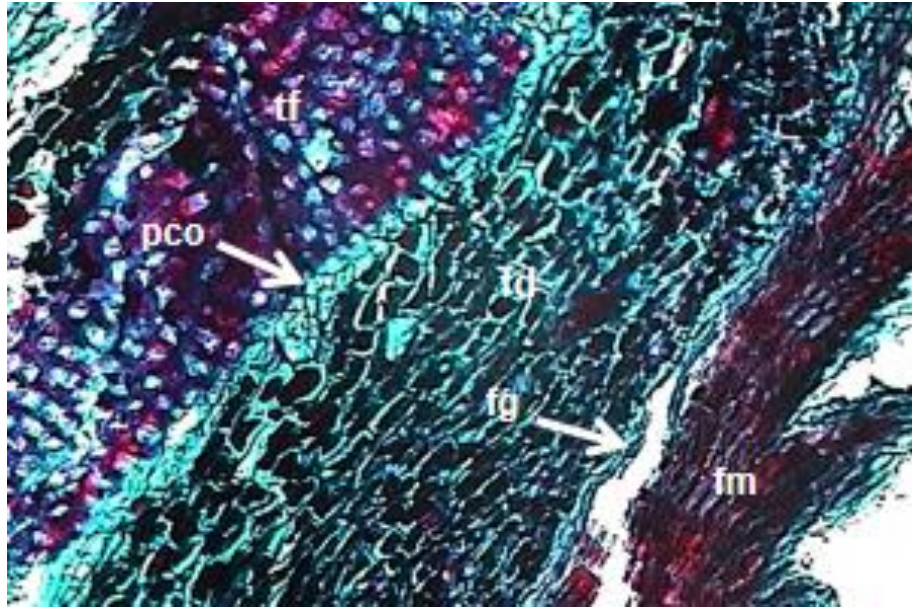


Figura 14. Sección transversal de corteza de *Haematoxylum brasiletto*. Dentro de este tejido se encuentran: Peridermis, X200, campo claro. Felema (fm), felógeno (fg), felodermis (fd), parénquima cortical (pco), tejido fundamental (tf).

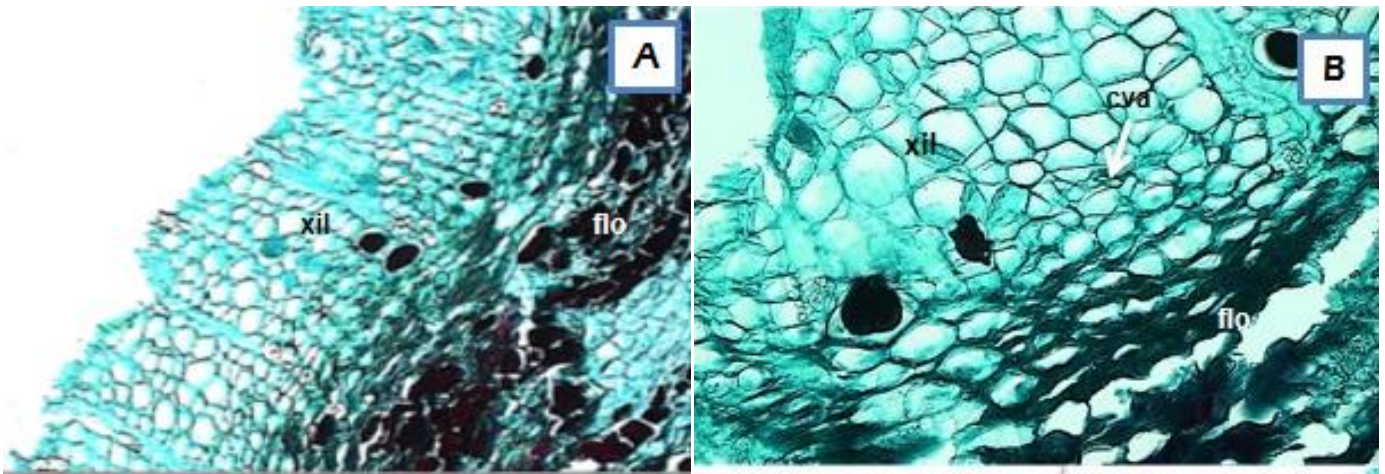


Figura 15. Sección transversal de corteza de *Haematoxylum brasiletto*. A. Tejido vascular, X400, campo claro. B. Acercamiento del cambium vascular, X200, campo claro. Cambium vascular, floema (flo), xilema (xil).

Contenidos celulares: felodermis con abundantes contenidos celulares densos de color oscuro, no determinados; cristales de oxalato de calcio en forma de prismas entre el esclerénquima del tejido fundamental; contenidos celulares fenólicos en el metafloema y cristales de oxalato de calcio prismáticos en las células radiales del xilema (figura 16).

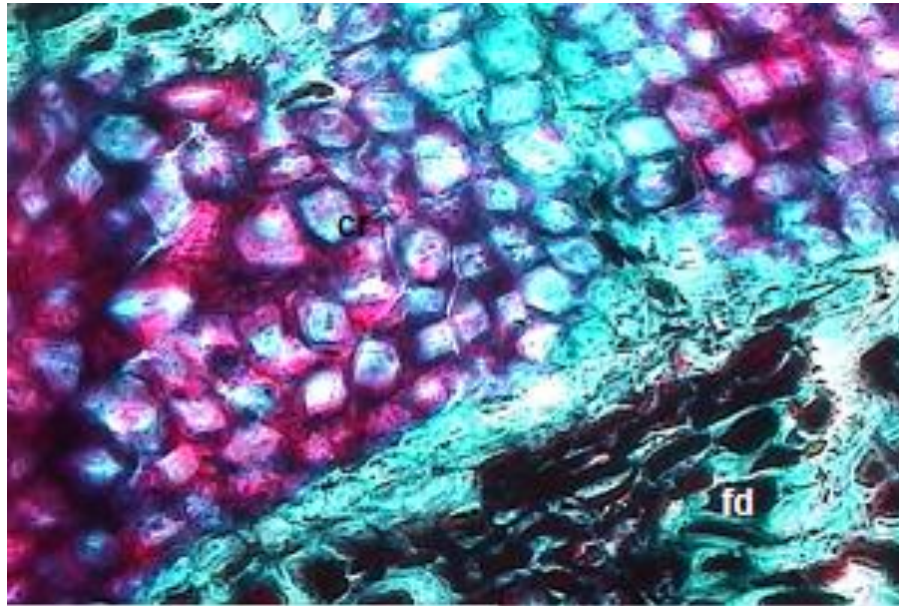


Figura 16. Sección transversal de corteza de *Haematoxylum brasiletto*. Tejido fundamental, cristales entre el esclerénquima del tejido fundamental, X200, campo claro. Cristales (cr), felodermis (fd), tejido fundamental (tf).

- **Madera** (tomado de Carmona, 1993)
- **Identificación macroscópica.**

Su madera tiene una albura de color amarillo verdoso muy claro el duramen café rojizo con tonalidades naranja y vetas negruzcas, sin olor, sabor dulce astringente en duramen y muy ligero en albura, lustrosa, textura fina grano entrecruzado a irregular, muy dura y pesada, presentando 1.16 de gravedad específica. Los anillos de crecimiento son poco conspicuos y a simple vista se observan claramente bandas confluentes de parénquima axial de color claro que dan a la madera una figura suave. En el centro del tronco predomina el duramen pero en la costilla ocupa menos del 50% de su volumen.

➤ **identificación microscópica. Xilema secundario.**

Vasos: Porosidad difusa, con poros ovalados y algunos redondos principalmente solitarios y algunos grupos de 2 a 5, moderadamente numerosas, 11 poros /mm² de tamaño mediano, con diámetro tangencial de 132µm, en promedio. Los elementos de vasos son muy cortos, con longitud promedio de 204µm, punteaduras bordeadas y alternas; de vaso a radio areoladas, alternas, muy numerosas y pequeñas de 5µm (figura 17A, B).

Parénquima axial: Paratraqueal aliforme confluyente que a veces forma bandas con algunas marginales muy abundante, con series de 4 células y presencia de fusiformes (figura 17A).

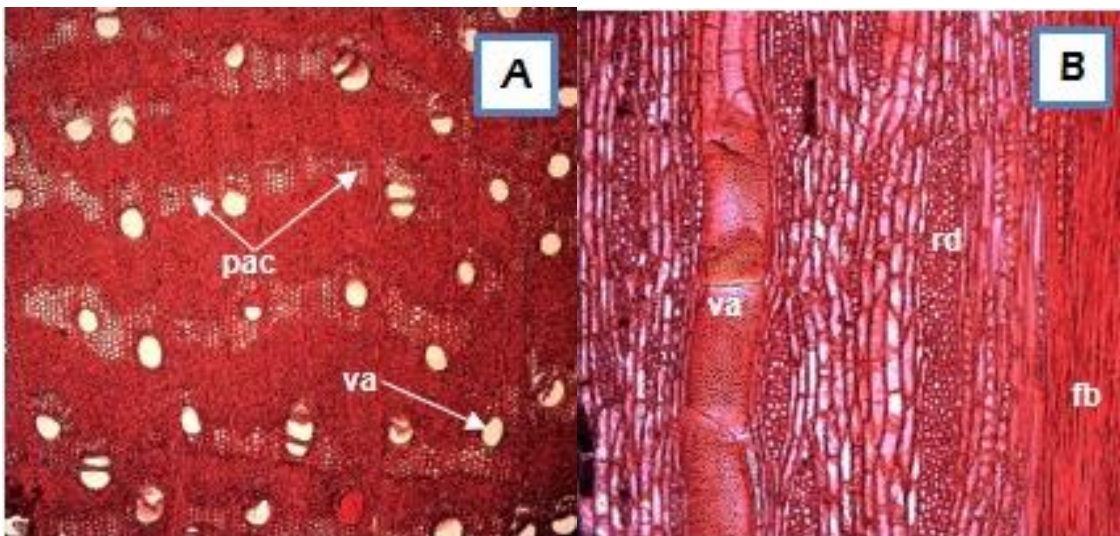


Figura 17. Madera de *Haematoxylum brasiletto*. A. sección transversal. Distribución de los vasos y parénquima axial, X100, campo claro. B. sección tangencial. Vasos, radios y fibras, X200, campo claro. Fibras (fb), parénquima paratraqueal aliforme confluyente (pac), radios (rd), vasos (va).

Parénquima radial: Radios moderadamente numerosos 7/mm, homogéneos y multiseriados, formados por células procumbentes, son bajos con altura promedio de 1122µm (figura 17B y 18A, B, C).

Fibras: De tipo libriforme y medianas, con longitud promedio de 1117 μ m, pared gruesa, 6 μ m de espesor, y 15 μ m de diámetro tangencial (18A, B, C).

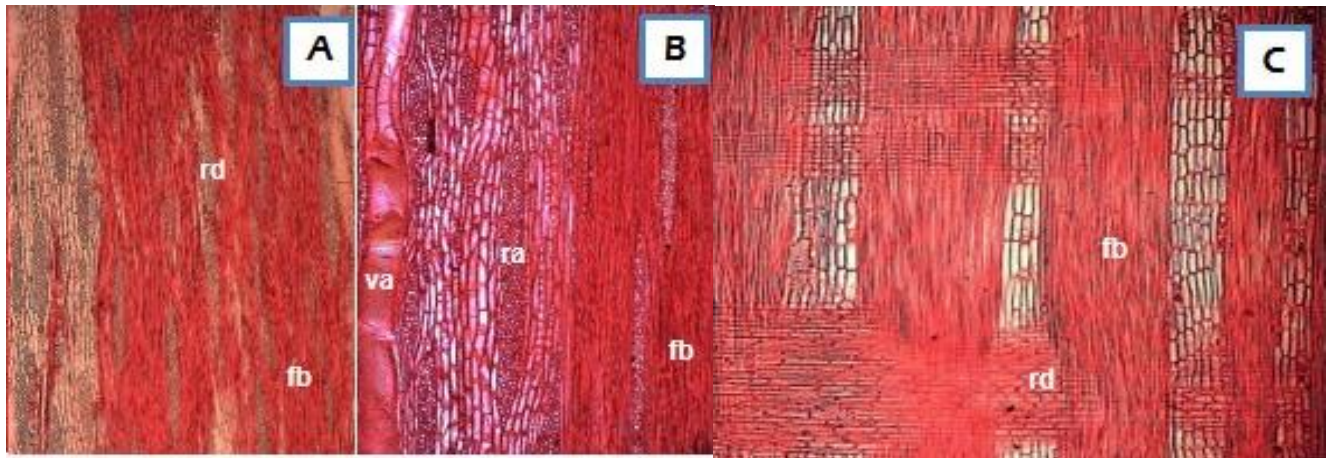


Figura 18. Madera de *Haematoxylum brasiletto*. A y B. Sección tangencial. Distribución de radios y fibras, X100, X200, campo claro. C. Sección radial, X200, campo claro. Fibras (fb), radios (rd), vasos (va).

Contenido celular: En vasos, parénquima axial y en lumen de las fibras (de menor tamaño) contienen, taninos, abundantes gomas y colorantes, en el parénquima axial hay cristales romboides en cámara (figura 19A, B, C).

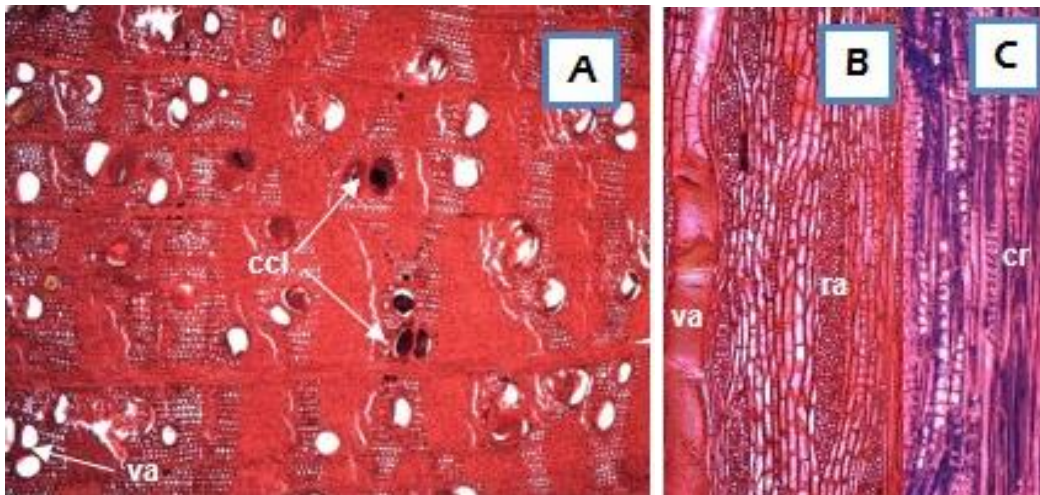


Figura 19. Madera de *Haematoxylum brasiletto*. A. Sección transversal. Vasos con taninos, X100, campo claro. B y C. Sección tangencial, cristales en el parénquima axial, X200, campo claro, luz polarizada con cuña de cuarzo. Taninos (ccl), cristales (cr), radios (ra), vasos (va).

En la felodermis hay abundantes contenidos celulares densos de color oscuro (no determinados); cristales de oxalato de calcio en forma de prismas en el esclerénquima del tejido fundamental; contenidos celulares fenólicos en el metafloema y cristales de oxalato de calcio prismáticos en las células radiales del xilema (figura 16).

Los vasos, el parénquima axial y el lumen de las fibras (de menor tamaño) contienen taninos, abundantes gomas y colorantes. Sin embargo, el parénquima axial además contiene cristales romboides en cámara (figura 19A, B, C). Si bien, tanto la corteza como la madera contienen abundantes compuestos fenólicos y cristales dentro de sus estructuras anatómicas, la cantidad que hay en cada una, no es la misma.

En el estudio llevado a cabo por Ávila y Rutiaga (2014) se determinó el contenido de sustancias inorgánicas y extraíbles, así como el contenido y tipo de minerales en albura, duramen y corteza de *H. brasiletto*; el mayor contenido de las sustancias inorgánicas corresponde a la corteza, seguido de la albura y el duramen; por otra parte, considerando únicamente la proporción de calcio, se reportó que la cantidad de calcio en el duramen es mayor que en la corteza (Tabla 3). Así mismo, tras el análisis de las fotografías y las preparaciones del material procesado de madera y corteza, que se realizaron en el presente trabajo, también se observó que la cantidad de cristales de oxalato de calcio en la corteza es mayor que en la madera.

En la corteza los cristales se encuentran de forma irregular (prismáticos) y se localizan entre el esclerénquima del tejido fundamental distribuidos sin un orden en particular (figura 16) y en células radiales del xilema, mientras que en la madera los cristales no son abundantes y se ubican en hileras a lo largo del parénquima axial en forma de romboides (prismáticos) (figura 19B, C). Sí bien la proporción de estos cristales varía en cada estructura, según el estudio realizado por Ávila y Rutiaga; en este estudio se demostró que ambas estructuras presentan los cristales de oxalato de calcio, considerando que la producción de los mismos depende de diferentes factores ambientales y por lo tanto, la cantidad de cristales es variable. Por ende, la presencia de cristales de oxalato de calcio en madera y corteza es un carácter de identificación de la especie. De acuerdo con Ávila y Rutiaga, (2014), el mayor contenido de sustancias extraíbles corresponde al duramen (29.70%), seguido por la corteza (10.51%) y

finalmente la albura (9.84%) (Tabla4). Por otra parte, en el presente estudio se observó que la cantidad de compuestos fenólicos en la madera es mayor que en la corteza; dichos resultados también concuerdan con lo reportado en el estudio de Ávila y Rutiaga. Debido a que ambas partes de la planta presentan compuestos fenólicos, es posible emplearlas como remedio herbolario.

Tabla 3. Sustancias inorgánica (en porcentaje) en la madera y corteza de *H. brasiletto*. (Tomado de Ávila y Quiñones, 2014).

Elemento	Duramen	Albura	Corteza
Magnesio	3.26	3.76	1.18
Fósforo	nd	3.71	1.83
Potasio	2.09	11.26	10.36
Calcio	94.65	81.28	85.03
Molibdeno	nd	nd	1.60

Tabla 4. Composición química de la madera y la corteza de *H. brasiletto* (Tomado de Ávila y Rutiaga, 2014).

Componentes	Contenido (%)			P
	Duramen	Albura	corteza	
Sustancias inorgánicas ¹	2.88(±0.03)a	4.31(±0.02)b	18.20(±0.01)c	**
Extraíbles				
Ciclohexano ¹	1.33(±0.11)a	1.03(±0.07)a	1.22(±0.01)a	ns
Acetona ¹	17.50 (±0.88)b	3.90(±0.66)a	2.41(±0.10)a	**
Metanol ¹	8.76(±1.19)b	2.02(±0.61)a	1.88(±0.06)a	**
Agua caliente ¹	2.11(±0.03)a	2.89(±0.13)b	5.00(±0.01)c	**
Total	29.70(±0.45)b	9.84(±0.15)a	10.51(±0.06)a	**
Holocelulsa ²	66.20(±1.44)c	51.54(±1.55)b	44.80(±0.91)a	**
Lignina ²	25.37(±1.55)a	26.33(±2.64)a	31.70(±0.58)a	ns

¹Contenido con base en madera libre de humedad. ². Contenido con base en madera libre de humedad y extraíbles. P. probabilidades límites en ANOVA con un factor. **: P<0.001; ns:P>0.05.

Los estudios fitoquímicos de la especie *H. brasiletto* han permitido el aislamiento y la caracterización de dos bencilcromenos: hematoxilina y brazilina, además de cinco compuestos aromáticos simples: ácido caféico, galato de metilo, ácido gálico, floroglucinol y ácido 4-hidroxi cianámico y una furanocumarina lineal: 5-metoxisoraleno (Sanchez *et al.*, 1958, Pratt y Yuzuriha, 1959, Rivero, 2008).

Según reporta Rivero, (2008), los compuestos extraíbles del duramen y la corteza pueden presentar resistencia al biodeterioro. También, se encontró que el extracto metanólico de la corteza de *H. brasiletto* es inhibidor de bacterias y levaduras (*Candida albicans*). Pues según un estudio descrito por el autor, el extracto metanólico (a concentración límite de 128 µm/mL) inhibió el crecimiento de 8 microorganismos de los 12 que se emplearon en el ensayo (Tabla 5).

En el mismo estudio, se evaluó la actividad de 8 compuestos aislados de la corteza. Se determinó que la hematoxilina, la brazilina y el ácido gálico son los mayores inhibidores de los agentes biológicos antes mencionados, pues mostraron amplia actividad contra todas las bacterias, no así contra levaduras, ya que su actividad frente a *Candida albicans* fue débil. Aunque la actividad de estos compuestos presenta menor potencia que la penicilina G (control positivo), los resultados proporcionan la evidencia que sustenta la utilidad de estos compuestos en el tratamiento de las infecciones que provocan estos microorganismos (Tabla 5) (Rivero, 2008).

De acuerdo a los resultados obtenidos del análisis anatómico de la corteza y los estudios realizados por Carmona, se determinaron y establecieron nuevos criterios de identificación para la especie, así como caracteres de identificación de las diferentes partes de esta planta medicinal. Por otro lado, es necesario determinar un análisis completo de la especie desde las características macroscópicas y microscópicas hasta la determinación de los principios activos por medio de métodos analíticos, los cuales se puedan incluir en un futuro dentro de la monografía farmacopeica de la especie para el control de calidad e identificación de posibles adulteraciones de los productos herbolarios.

A manera de ejemplo en el anexo I se muestra la monografía de la especie *H. brasiletto*, con base a las monografías establecidas en la Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP, por sus siglas en inglés).

Tabla 5. Análisis de los compuestos del extracto metanólico de la corteza de *H. brasiletto* (tomado de Rivero, 2008).

Microorganismos	Extracto MeOH	Compuestos								Ref. antimicrobianas	
		1	2	3	4	5	6	7	8	PG ^a	CHX ^b
<i>Staphylococcus aureus</i> 375 ^b	64	16 (4.83)	16 (4.57)	32 (5.76)	32 (5.88)	32 (5.44)	32 (4.03)	128 (20.99)	64 (13.82)	0.06 (0.02)	
<i>Staphylococcus aureus</i> 310(MR) ^b	128	32 (9.86)	32 (9.15)	64 (11.52)	64 (11.76)	128 (21.76)	128 (16.13)	128 (20.99)	128 (27.64)	64 (21.40)	nt
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923 ^b	16	16 (14.83)	16 (4.57)	32 (5.76)	16 (2.94)	32 (5.44)	64 (8.06)	64 (10.49)	32 (6.91)	0.06 (0.02)	nt
<i>Enterococcus Faecium</i> 379(VR) ^b	16	16 (14.83)	16 (4.57)	32 (5.76)	16 (2.94)	32 (5.44)	32 (4.03)	64 (10.49)	128 (27.64)	32 (10.70)	nt
<i>Bacillus subtilis</i> 327 ^b	16	32 (9.66)	64 (18.30)	64 (11.52)	64 (11.76)	64 (10.88)	64 (80.6)	64 (10.49)	>128 (27.64)	32 (10.70)	nt
<i>Escherichia coli</i> ipm 389 ^b	>128	64 (19.32)	128 (36.61)	>128 (23.04)	>128 (23.52)	>128 (21.76)	>128 (16.13)	>128 (20.99)	>128 (27.64)	2 (0.66)	nt
<i>Escherichia coli</i> 442 ^b	>128	64 (19.32)	64 (36.61)	>128 (23.04)	>128 (23.52)	>128 (21.76)	>128 (16.13)	>128 (20.99)	>128 (27.64)	32 (10.7)	nt
<i>Escherichia coli</i> ipm ATCC 25922 ^b	>128	128 (38.64)	128 (36.61)	128 (23.04)	>128 (23.52)	>128 (21.76)	>128 (16.13)	>128 (20.99)	>128 (27.64)	128 (42.80)	nt
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 425 ^b	128	128 (38.64)	128 (36.61)	>128 (23.04)	>128 (23.52)	>128 (21.76)	>128 (16.13)	>128 (20.99)	>128 (27.64)	>128 (42.80)	nt
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i> 339 ^b	>128	128 (38.64)	>128 (36.61)	128 (23.04)	>128 (23.52)	>128 (21.76)	>128 (16.13)	>128 (20.99)	>128 (27.64)	>128 (42.80)	nt
<i>Candida albicans</i> 54 ^b	>128	>128 (38.64)	>128 (36.61)	>128 (23.04)	>128 (23.52)	>128 (21.76)	>128 (16.13)	>128 (20.99)	>128 (27.64)	>128 (42.80)	nt
<i>Streptococcus Mutans</i> ^c	36.3	17.8 (5.47)	13.5 (3.83)	14.8 (2.66)	20.6 (3.79)	76.8 (13.05)	18.9 (2.38)	23.6 (3.87)	52.4 (11.32)	nt	1.7 (0.85)
<i>Porphyromonas gingivalis</i> ^c	19.5	13.5 (4.07)	8.7 (2.48)	17.8 (1.56)	17.8 (3.27)	60.7 (10.32)	17.0 (2.14)	17.8 (2.92)	44.7 (9.65)	nt	0.6 (0.30)

Compuestos: Hematoxilina (1), brazilina (2), ácido caféico (3), galato de metilo (4), ácido gálico (5), floroglucinol(6), ácido 4-hidroxicinámico(7) y 5-metoxisoraleno(8).^aReferencia antimicrobiana:PG: Penicilina, CHX:Gluconato de clorhexidina.
^bMicrodilución de caldo estándar. ^c Ensayo de inhibición en crecimiento *in vitro* se realizó la micro titulación en placas de 96 pocillos.

5.3. *Cyclolepis genistoides* D. Don.

En México, la especie *C. genistoides* es muy utilizada como oftálmico, depurativo y diurético, además es útil en el tratamiento de cólicos renales y hepáticos. Las partes de la planta que se utilizan son: la hoja, la rama y la madera. Pese a su gran relevancia, no hay estudios completos que identifiquen a la especie de manera formal, pues los únicos informes al respecto, sólo se limitan a reportar los estudios químicos para identificar los principios activos de la especie, y las pruebas que determinan la actividad de dichos compuestos.

Debido a la dificultad para la extracción e identificación de los compuestos de la planta, así como el proceso para llevar a cabo los estudios anatómicos de la misma, existen pocos reportes al respecto. Muestra de lo anterior es el estudio presentado por Pérez (2012), quien realizó el análisis macroscópico de las partes aéreas de la planta (hojas y rama) de manera muy somera. Por tal motivo, se presentan los resultados obtenidos del análisis anatómico de la madera realizado en el presente trabajo, con el fin de establecer un análisis de una de las partes de la planta que se utilizan en la medicina herbolaria y así mismo identificar a la especie al realizar un ensayo de identidad (principalmente microscópico).

Identificación macroscópica y microscópica de *C. genistoides*.

- **Madera.**
- **Características macroscópicas.**

Albura de color amarillo claro, duramen café oscuro ambos lustrosos, con textura ligeramente áspera, sin olor, sin sabor y duros (Figura 20A, B, C).



Figura 20. Madera de la especie *H.brasiletto*. A. Albura y Duramen. B. Duramen. C. Albura.

➤ **Identificación microscópica. Xilema secundario**

Con elementos de vaso, parénquima y fibras. **Elementos de vaso** agrupados, cada paquete organizado en hileras radiales, de 2 a 7 en cada paquete, pocos solitarios; con punteaduras bordeadas alternas y placa de perforación simple; de tamaño variado, largo entre 175-229 μm (en promedio 20 μm), con diámetro de 123-138 μm (en promedio 122 μm), grosor de la pared de 7 μm (Figura 21A, B, C, D, 22A, B, C, D).

Parénquima xilemático: de tipo paratraqueal vasicéntrico (Figura 23A).

Fibras: Sectadas, ancho de 11.3-12.5 μm (en promedio 11.9 μm), grosor de pared de 1.8-3 μm (en promedio 2.5 μm) (figura 21D, 24A).

Radios: Numerosos, biseriados y multiseriados, heterogéneos, formado por células procumbentes y erectas (Figura 24A, B).

Contenidos celulares: Taninos en los vasos y cristales de oxalato de calcio prismáticos en el parénquima radial (Figura 25 A, B, C, D, E, F, G).

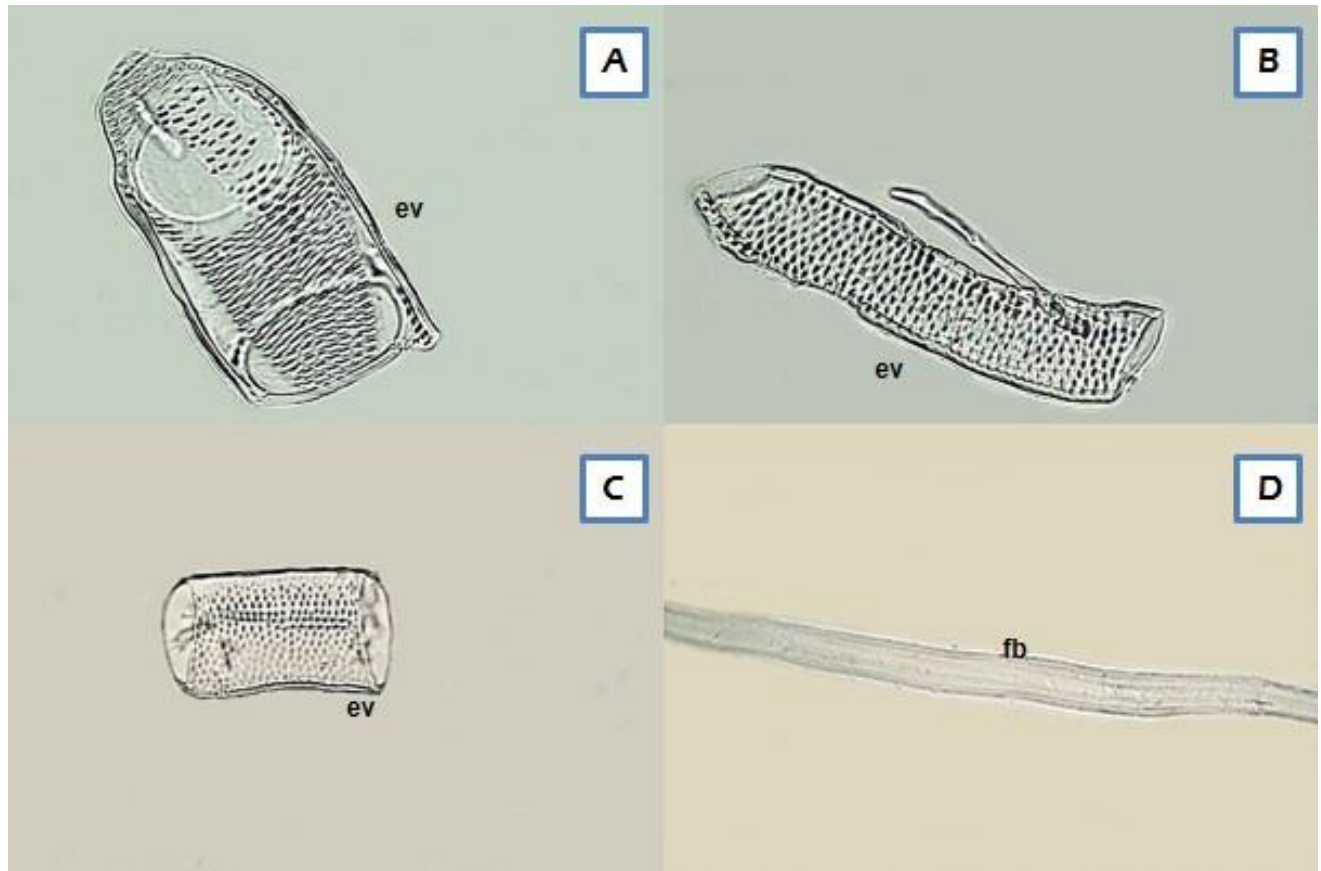


Figura 21. Disociados obtenidos de la madera de *Cyclolepis genistoides*. A, B y C. Elementos de vaso (ev). D. Fibras (fb), X400, contraste de fases.

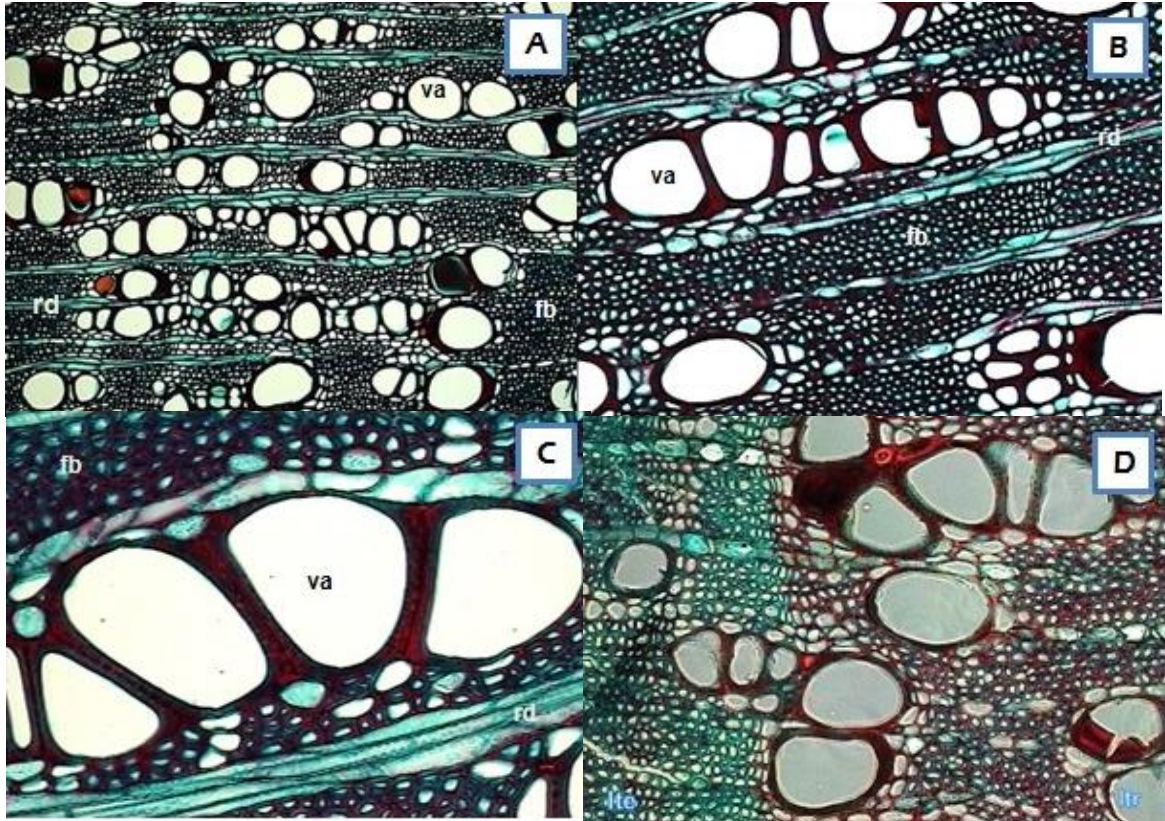


Figura 22. Xilema, agrupación de los vasos de *Cyclolepis genistoides*. A y B. Sección transversal, X100, campo claro, X 200, campo claro. C. Fibrasy radios, X400, contraste de fases. D. Leño, X200, contraste de fases. Fibras (fb), radios (rd), leño temprano (lte), leño tardío (ltr), vasos (va).

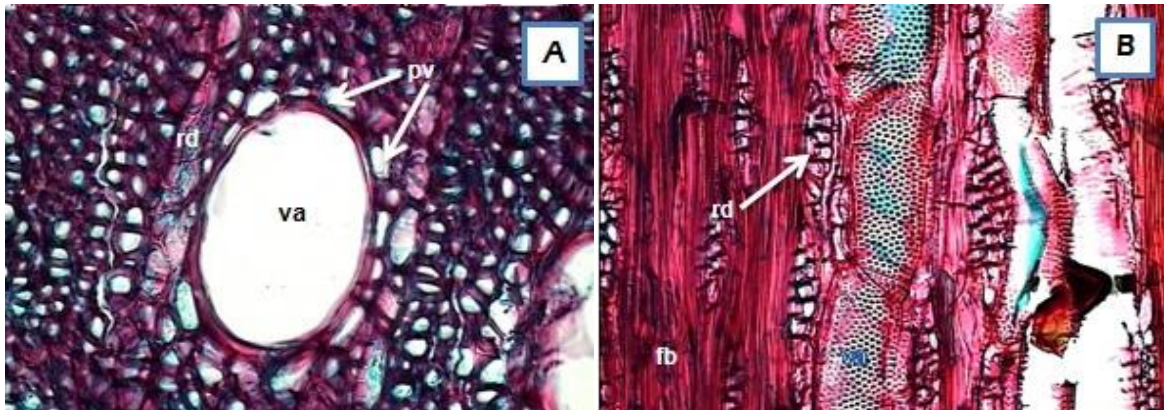


Figura 23. Madera de *Cyclolepis genistoides*. A. Sección transversal detalle de vasos, parénquima paratraqueal vasicéntrico X400, contraste de fases. B. Sección tangencial, detalle de vasos, radios y fibras, en sección longitudinal, X 200, contraste de fases. Fibras (fb), parénquima paratraqueal vasicéntrico (pv), radios (rd), vasos (va).

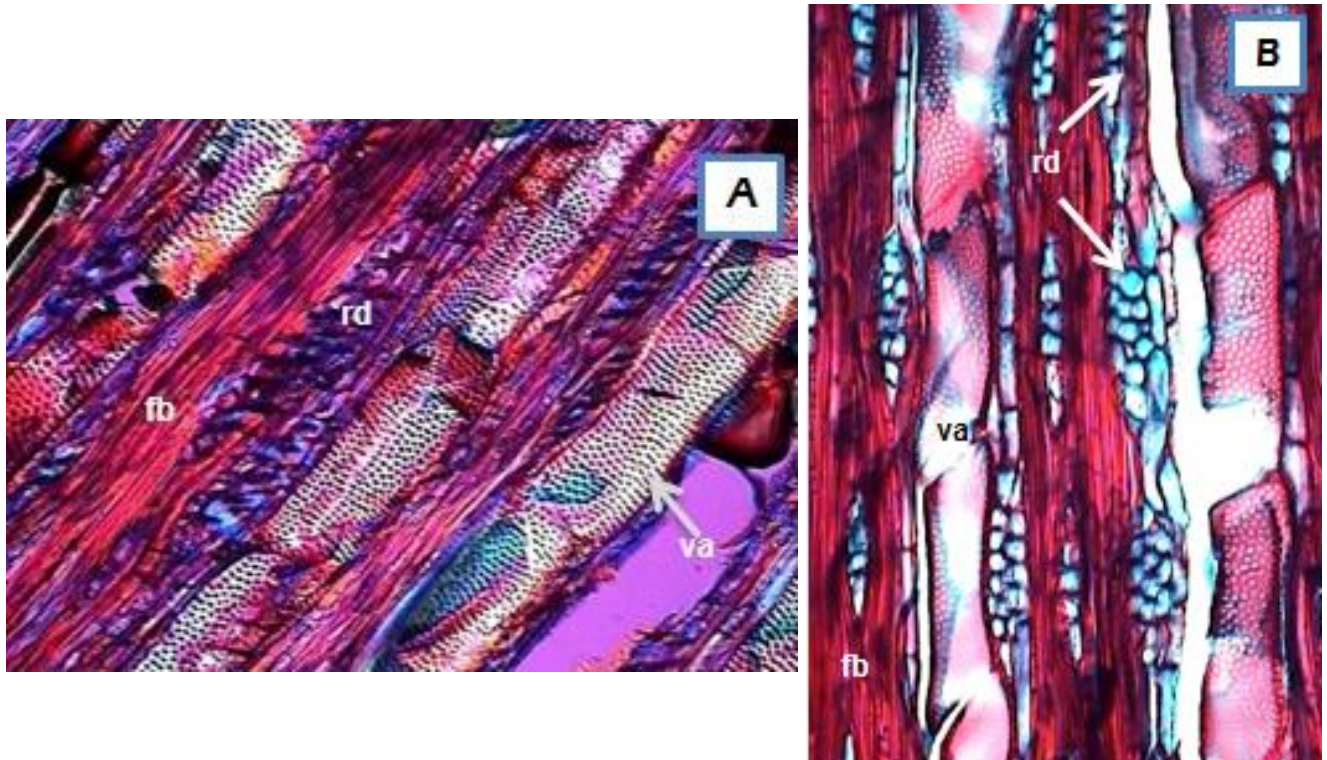


Figura 24. Xilema de *Cyclolepis genistoides*. A. Sección tangencia, detalle de los vasos se observa punteaduras bordeadas alternas, X200, luz polarizada con cuña de cuarzo, contraste de fases. B. Sección tangencia, detalle de los radios, biseriados y multiseriados. Fibras (fb), radios (rd), vasos (va).

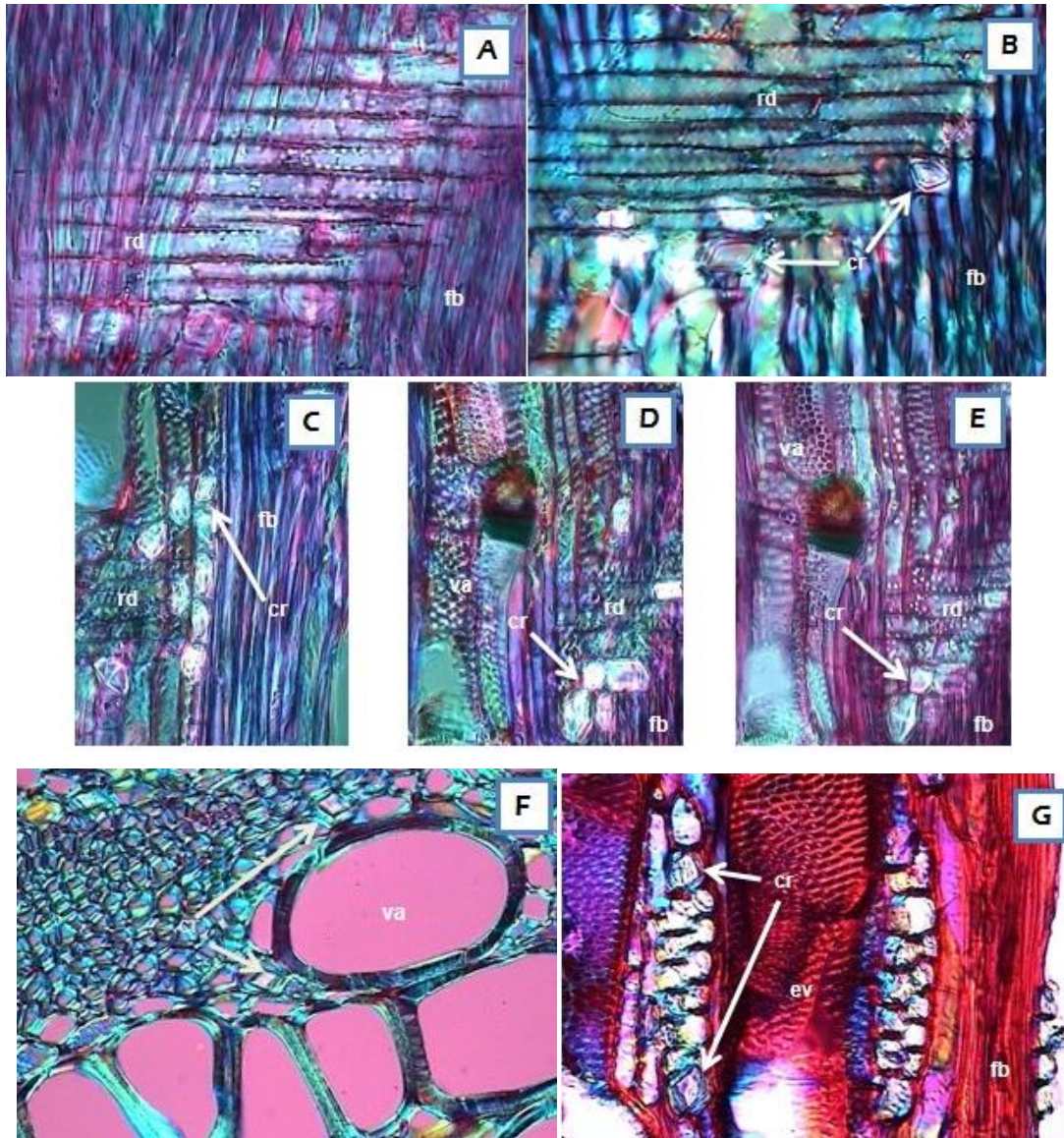


Figura 25. Xilema de *Cyclolepis genistoides*. A y B. Sección radial, detalle de los cristales en los radios, X400, luz polarizada con cuña de cuarzo. C, D, y E. Sección radial, distribución de los cristales en los radios, X200, luz polarizada con cuña de cuarzo. F. Sección transversal, X400, contraste de fases, luz polarizada con cuña de cuarzo. G. Detalles de la sección tangencial, X400, luz polarizada con cuña de cuarzo. Cristales prismáticos (cr), fibras (fb), radios (rd), vasos (va).

La descripción anatómica de la madera se describió en párrafos anteriores, a continuación se presentan los caracteres útiles para su identificación. Elementos de vaso agrupados (de 2 a 7) organizado en hileras radiales, pocos solitarios (figura 22ABCD), con punteaduras bordeadas alternas y placa de perforación simple (figura 21A,B,C, 24A); de tamaño variado; radios, numerosos, biseriados y multiseriados, formado por células procumbentes y erectas (figura 24B, 25G); taninos en los vasos y cristales de oxalato de calcio prismáticos en el parénquima radial (figura 22A, 25A,B,C,D,E,F,G).

No se han encontrado estudios anatómicos concretos de las demás partes de la planta que se utilizan en el país, como lo son las hojas y ramas de la especie. Sin embargo, en un estudio realizado por Sosa *et al.*, (2007) se demostró la presencia de taninos en hoja, rama y madera, en esta última se encuentran en los vasos (Figura 22A), también se caracterizaron los metabolitos de *C. genistoides* a los que se les atribuye actividad diurética a través de la evaluación del efecto que produce la ingesta de la infusión de hojas y rama de la especie. Finalmente, este efecto se adjudicó a los flavonoides (Tabla 6). Dicha información presenta las bases científicas que justifican el uso de la planta para el tratamiento de problemas renales.

Tabla 6. Parámetros anatómicos y contenidos de *Ciclopepis genistoides* (Tomado de Sosa *et al.*; 2007).

Forma biológica	Descripción
Hojas	Simples
Inflorescencia	Capítulos
Frutos	Cipsela
Nº de estomas (ep. Inf.)	13.7±2
Índice de estomas (ep. Inf.)	11.5-9.8-8.1
Nº de estomas (ep. sup.)	13.7±2
Índice de estomas (ep. sup)	9.5-8.5-6.7
Índice de empaliadas	14.5-12-9.5
Nº de islotes	8.1± 1.66
Nº de terminales de nerviación	5.4±0.8
Geninas	Oleanólico
Flavonoides	Presentes
Lactonas	Triterpénicas

En un nuevo estudio realizado por Sosa *et al.*, en el año 2011 se reportó la actividad en el proceso de inflamación que presentan dos compuestos aislados de la especie *C. genistoides*; el ácido oleanólico y la deacil cinaropicrina. Ambos metabolitos se obtuvieron de las hojas y la rama de la planta. Tanto el ácido oleanólico y la deacil cinaropicrina mostraron actividad antiinflamatoria, siendo más potente el efecto del primero. Estos compuestos ejercen su acción inhibidora en el proceso de inflamación sobre histamina, prostaglandinas, serotonina, y quininas. Dicha información provee las bases científicas que sustentan la utilidad de la planta en la medicina tradicional como un anti-inflamatorio.

Los resultados descritos en el presente trabajo contribuyen a un análisis anatómico de la madera utilizada en la medicina tradicional. Por otra parte, la investigación realizada por Sosa *et al.*, (2008 y 2011) enriqueció esta investigación a través del análisis químico de identificación de los metabolitos que presentan actividad terapéutica (diurética y anti-inflamatoria). Dicha información constituye de manera integral las pruebas de control de calidad que garantizan la seguridad y eficacia de los productos herbolarios elaborados de esta planta.

Las plantas que fueron objeto de estudio en este trabajo se encuentran dentro de la colección de ejemplares del HERBARIO NACIONAL DE MÉXICO, del Instituto de Biología. La importancia de dicho acervo radica en la colección de diferentes plantas, a través de un registro botánico adecuado y sustentado, a partir del cual, las plantas de uso medicinal que se utilizan en productos herbolarios pueden analizarse macroscópicamente de acuerdo a la referencia descrita para el control de calidad de dichos insumos, en el anexo 2 se encuentran las fotografías de las especies que se utilizaron para la realización de este trabajo.

A manera de ejemplo en el anexo I se muestra la monografía de la especie *C. genistoides*, con base a las monografías establecidas en la Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP, por sus siglas en inglés).

6. CONCLUSIONES.

- El análisis anatómico contribuye a la identificación de especies aportando caracteres diagnósticos de cada una de las especies.
- La identificación de las especies *P. serotina*, *H. brasiletto* y *C. genistoides* se determinó gracias al análisis anatómico de cada parte de la planta y se establecieron los caracteres de identificación como cristales de oxalato de calcio y características de las diferentes estructuras que componen a la planta.

En el caso de *P.serotina*, tiene cutícula de tipo rugosa, cristales de oxalato de calcio de dos tipos, prismáticos en la epidermis, haz vascular transverso y haz vascular secundario y drusas en el tejido fundamental de vena media.

La corteza de *H. brasiletto* tiene cristales prismáticos entre el esclerénquima del tejido fundamental y células radiales del xilema. En la madera los cristales se ubican en el parénquima axial.

En la madera de *C. genistoides*, elementos de vaso agrupados (de 2 a 7) organizado en hileras radiales, pocos solitarios, con punteaduras bordeadas alternas y placa de perforación simple; de tamaño variado; radios, numerosos, biseriados y multiseriados, heterogéneos, formado por células procumbentes y erectas; taninos en los vasos y cristales de oxalato de calcio prismáticos en el parénquima radial.

- Se determinó la presencia de taninos así como su ubicación dentro de cada parte de la planta para cada una de las especies, *P.serotina*, *H. brasiletto* y *C. genistoides*.

En la hoja de *P.serotina* hay taninos a nivel de la vena media en la cara abaxial y adaxial, y a nivel de la lámina en los haces vasculares.

La corteza de *H. brasiletto* los taninos se encuentran en el metafloema, en la madera se ubican en vasos, parénquima axial y en lumen de las fibras (de menor tamaño).

En la madera de *C. genistoides*, los taninos se encuentran en los vasos.

- Las fotografías tomadas de cada especie así como su descripción anatómica de cada una puede incluirse en un futuro en las monografías de la especie como parte de las solicitudes que marca la farmacopea para la identificación de la especie y como una herramienta de control de calidad del producto herbolario.

7. PERSPECTIVAS.

- ❖ Seguir realizando análisis anatómicos de las especies que se utilizan como plantas medicinales en México, con el fin de reducir la adulteración en los productos herbolarios.
- ❖ Analizar las diferentes partes de la planta medicinal que se utilicen para tener la mayor información que se pueda de la especie utilizada como medicamento.
- ❖ Seguir realizando estudios analíticos y establecer métodos que identifiquen a los principios activos obtenidos de cada especie.
- ❖ Aumentar el número de monografías de plantas medicinales o contribuir con estudios anatómicos a las monografías ya existentes.
- ❖ Continuar con otro tipo de análisis para completar las monografías.

8. BIBLIOGRAFÍA.

Águila, B.M. A. 2011. Pruebas de Identidad y Pureza para el Control de calidad de dos drogas vegetales medicinales: *Verbena carolina* L. (Verbenaceae) y *Heliopsis Longipes* (A. Gray) S.F. Blake (Asteraceae). Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 2-4.

Agusto, B.C., Krans, A.T y Vegetti, C.A. 2004. La hoja, Morfología externa y anatomía. Edit. Departamento de imprenta y publicaciones de la UNRC. Argentina. 10-11.

Albuquerque de Costa, D., Silva, D., Cavalcanti, A., Medeiros, M., Lima, J., Cavalcante, J., Silva, B., Agra, M., Souza, M. 2007. Chemical constituents from *Bakeridesia pickelii* Monteiro (Malvaceae) and the relaxant activity of kaempferol-3-O- β -D(6"-E-p-coumaroyl)glucopyranoside on guineapig ileum. *Quim. Nova.*, **30**(4):901-903.

Alonso, J., Desmarchelier, C. 2005. Plantas medicinales autóctonas de la Argentina: bases científicas para su aplicación en la atención primaria para la salud. Buenos Aires: L.O.L.A. 383.

Amico, V. 2006. Antiproliferative Terpenoids from Almond Hulls (*Prunus dulcis*): Identification and Structure- Activity Relationships. *J. Agric. Food Chem.*, **54**:810-814.

Argueta, V., Cano, A., Rodarte, M. E. 1994. Atlas de Plantas Medicinales de la Medicina Tradicional Mexicana. México, D.F. 772, 1099-1100.

Ávila, C.L.E., Rutiaga, Q.J.G. 2014. Chemical components of the wood and bark of *Haematoxylum brasiletto* karst. (*Leguminosae*). *Madera y Bosques.*, **20**:153-158.

Barrera, M.A., Barrera, A.V., Lopez, F.R.M. 1976. Nomenclatura Etnobotánica Maya. Colección Científica Etnología. INAH. México. 537.

Basualdo, I., Soria, N., Ortiz, M., Degen, M.R. 2003. Uso medicinal de plantas comercializadas en los mercados de Asunción y Gran Asunción, Paraguay. *Revista de la Sociedad Científica del Paraguay.*, **14**:5-22.

Biblioteca digital de la Medicina Tradicional Mexicana. 2009.

<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7046>

- Biessels, H., Hoff, A., Bosch, J., Salemink, C. 1974. Triterpenes of *Prunus serotina* and *Plusitanica*, *Phytochem.*, **13**:203-207.
- Cabrera, R.L. y Villaseñor, J.L. 1987. Revision bibliográfica sobre el conocimiento de la familia de Compositae en México. *Botica.*, **12**:131-147.
- Camacho-Luis A. 2008. Antioxidant Constituents of *Geranium bellum* Rose. *J Mex.Chem.Soc.*, **52**(2):103-107.
- Carmona, M.L.J. 1993. Estudio Anatómico, morfológico y etnobotánica de algunas maderas de importancia medicinal en México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 4-7.
- Campbell, N.A., & Reece, J.B. 2007. *Biología*. Ed. Panamericana. Argentina. 602-604.
- Chen, Y., *et al.*, Yu, K., Li, X., Lou, Y., Liu, H. 2007. Extraction and HPLC Characterization of Chlorogenic Acid from Tobacco Residues, *Nor.Univ.*, Nanjing.
- Curtis, Barnes, Massarini. 2008. Ed. Panamericana. España. 7°Ed. 860-863.
- Cronquist, A. 1973. *Botánica Básica (traducción)* .Ed. Continental, S.A. de C.V. México. 437-439.
- Cronquist, S. 1976. Tribal interrelationships and phylogeny of the Asteraceae. *Aliso.*, **8**:465-492.
- Cronquist, A. 1981. *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia Univ. Press. New York. 1262.
- De Helauani, C.S., *et al.* 1997. Triterpenes and sesquiterpenes lactones from *Cyclolepis genistoides*. *Phytochemistry.*, **45**(4):801-805.
- De La Cruz M. Badiano, J. 1964. *Libellus de Medicinalibus Indurum herbis*. Manuscrito Azteca de 1552, según traducción latina de Badiano. México, D.F Instituto Mexicano del seguro social.
- Douglas, A. James, J. 2000. Ed. Mc GRAW-HILL. España. 4ta Ed. 675-677, 679.
- Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos. 2001. SSA. México. 15-16.
- Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos. 2013. SSA. México. 96.

Fink S. 1991. The micromorphological distribution of bound calcium in needles of Norway Spruce. *New Phytol.*, **199**: 33-40.

Funk. 2002. Toward a phylogenetic subfamily classification for the Compositae (Asteraceae). *Proc. Biol. Soc. Wash.*, **115**: 909-922.

Franceschi V.R. y H.T. Jr. Horner. 1980. Calcium oxalate crystal in plants. *Botanical review.*, **46** (4): 361- 427.

Franceschi B.R. y Nakata, P.A. 2005. Calcium oxalate in plants: Formation and function. *Annu. Rev. Plant. Biol.*, **56**:41-7.

Graefe EU, Witting, J., Mueller, S., Riethling, AK., Uehleke, B., Drewelow, B., Pforte, H., Jacobasch, G., Derendorf, H., Veit, M. 2001. Pharmacokinetics and bioavailability of quercetin glycosides in humans, *J.Clin.Pharmacol.*, **41**:492.

Hernández, F. 1959. *Historia Natural de la Nueva España*. Obras completas. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.

Horsley, S., Meinwald, J. 1981. Glucose-1-Benzoate and Prunasin from *Prunus serotina*. *Phytochem.*, **20**(5):1127-1128.

Hyslands, P.J., Nicholson, J.K., Holmes, E., Dunn, J. 2004. Process for Quality Control and Standardization of Medicinal Plant Products. United States Patent.

Ibarra, A.C. Rojas, A. Luna, F. Rojas, J.I. Rivero, C.B. Rivero, J.F. 2009. Vasorelaxant. Constituents of the leaves of *Prunus serotina* "CAPULÍN". *Rev. Latinoamer. Quím.*, **37**(2):164-173.

Jáuregui, Z. D. Moreno, C.A. 2004. La Biomeineralización del Oxalato de Calcio en plantas: Retos y Potencial. *REB.*, **23**(1):18-23.

Jensen, W.A. 1994. *Botánica*. Ed. McGraw-Hill., México. 2da Ed. 236-246.

Kayano, S., Kikuzaki, H., Fukutsuka, N., Aoki, A., Kasamatsu, K., Yamasaki, Y., Ikami, T., Suzuki, T., Mitani, T., Nakatani, N. 2004. Antioxidant properties of prunes (*Prunus domestica* L.) and their constituents. *BioFactors.*, **21**:309-313.

Kiesling, R. 1994. Rosaceae. En R. Kiesling (ed.), *Fl. San Juan.*, **1**: 250-256.

- Kim, D., Heo, H., Kim, Y., Yang, H., Lee, C. 2005. Sweet and sour cherry phenolics and their protective effects on neuronal cells. *J Agric Food Chem.*, **53**:9921-9927.
- Kuklinski, C. 2000. Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Edit. Ediciones Omega, S.A. Barcelona.3-4, 25-27.
- Krasteva, I., Popov, I., Balanova, V., Nikolov, S. 2008. Phytochemical study of *Gypsophila trichotoma* wend. (*Caryophylleaceae*) *Quim. Nova.*, **31**(5):1125-1126
- Lee, S. Wen, J. 2001. A phylogenetic analysis of *Prunus* and the Amygdaloideae (Rosaceae) using ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. *American Journal of botany.*, **88**(1):150-160.
- Lersten, N.R. Homer, H.T. 2004. Calcium oxalate crystal macropattern development during *Prunus virginiana* (Rosaceae) leaf growth. *Can. J. Bot.*, **82**:1800-1808.
- Liu, P., Yang, B., Kallio, H. 2010. Characterization of phenolic compounds in Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bge. var. major) fruit by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry, *Food Chem.*, **121**:1188-1197.
- Lolor, G. C., Martín, S. L. 1959. *Haematoxylin* and hemateina, the coloring principles of logwood. *J Soc Dyers Colour.* **75**:513-517.
- Luna, V.F.J. 2009. Caracterización química y farmacológica de compuestos vasorrelajantes no polares en el fruto de *Prunus serotina*. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química.11-15,20-25.
- Martinez, M. 1989. *Las Plantas Medicinales de México*. Ed. Botas. México.61-63.
- Mendoza, P.N. 2008 .Farmacología médica. Edit. Panamericana. Buenos Aires.381-383.
- Mikulić Petkovsek, M., Usenik, V., Stampar, F. 2003. The Role of Chlorogenic Acid in the Resistance of Apples to Apple Scab (*Venturia Inaequalis* (Cooke) G.Wind. Aderh.) *Zb.Bioteh. Fak. Univ. Ljubj. Kmet.*, **81**:233-242.
- Nardini, M., et al., D'Aquino, M., Tomassi, G., Gentili, V., Di Felice, M., Scaccini, C. 1995. Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation by caffeic acid and other hydroxycinnamic acid derivatives. *Radical Biol. & Med.*, **19**(5):541-552.

Olthof, M. R., Hollman, P.C.H., Buijsman, M., Van Amelsvoort, J., Katan, M. 2003. Chlorogenic Acid, Quercetin-3-Rutinoside and Black Tea Phenols Are Extensively Metabolized in Humans. *J. Nutr.*, **133**: 1806-1814.

Olvera. L. A. R., Delgado. S. A. 2012. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. Departamento de Botánica. México, D.F. Fascículo 107.1-42.

Olszewska, M. 2005a. Flavonoids from *Prunus serotina* Ehrh. *Acta Poloniae Pharmaceutica*.**62**:127-133.

Olszewska, M. 2005b. High-Performance Liquid Chromatographic Identification of Flavonoid Monoglycosides from *Prunus serotina* Ehrh. *Acta Poloniae Pharmaceutica*. **62**(6):435-441.

Olszewska, M. 2007. Quantitative HPLC Analysis of Flavonoids and Chlorogenic Acid in the Leaves and Inflorescences of *Prunus serotina* Ehrh. *Acta Poloniae Pharmaceutica*. **19**:253-269.

Olszewska, M., Wolbis, M. 2001. Flavonoids from the flowers of the *Prunus spinosa* L. *Acta Poloniae Pharmaceutica*., **58**(5):367-372.

Ordaz-Galindo, A., Wesche-Ebeling, P., Wrolstad, R.E., Rodriguez- Saona, L., Argaiz-Jamet, A. 1999. "Purification and identification of Capulin (*Prunus serotina* Ehrh) Anthocyanins" *Food Chemistry*., **65**:201-206.

Panero, J.L., Funk, V.A. 2008. The value of sampling anomalous taxa in phylogenetic studies: Major clades of the Astereaceae revealed. *Molecular Phylogenetics and Evolution*., **47**(2):757-782.

Paris, R., Rousselet, R. 1958. Characterization of dyes of vegetable origin by paper chromatography. *Acta Pharmacol.*, **16**:747-756.

Pérez, C. V. 2012. Anatomía Ecológica de la vegetación del Salitral de la Vidriera. Tesis de Doctorado, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina. 33-35.

Prabu, G. 2006. Guaijaverin a plant flavonoid as potential antiplaque agent against *Streptococcus mutans*, *J. of Microb.*, **101**:487-495.

Pratt, R., Yuzuriha, Y. 1959. Antibacterial activity the heartwood of *Haematoxylon brasiletto*. *J Am Pharm.*, **48**:69-72.

Raven, P.H., Evert, R.Y. y Eichhorn, S. E. 1992. "Biología de las Plantas". Vol. II. Edit. Reverté, S.A. Barcelona. 420-422.

Redonda. M.R. Villaseñor, R.J.L. 2011. Flora del Valle de México Teohucán- Cuicatlán. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.

Ríos, L. G. 2000. Control de calidad de una Droga de Origen Vegetal: *Iostephane heterophylla* (Cav.)Hemsel. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM. 3,7.

Rivero, C.J.F. 2008. Antimicrobial compounds isolated from *Haematoxylon brasiletto*. *Journal of Ethnopharmacology.*, **119**(1,2):99–103.

Robinson, H.1983. A generic review of the tribe Liabeae (Asteraceae). *Smithsonian. Contr.Bot.*, **54**:1-69

Sahagun, B. 1979. *Códice Florentino*. Manuscrito 218-220 de la Colección Palatina de la Biblioteca Mediceae Laurenciana. México. D.F. Archivo General de la Nación.

Sánchez, M.A. 2000. Estudio químico de *Prunus serotina* Ehrh.6-15.

Sánchez, M.A., Ligeia-García, Mendez, M. 1958. Brazilin antibacterial substance from *Haematoxylon brasiletto*. *Rev Latinoam Microbiol.*, **1**:225-232.

Sandoval, E. Rojas, A. Guzmán, C. Carmona, L. Ponce, R. León, C. Loyola, C. Vallejo, M. Medina, A. 2005. Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal. Cuaderno de Biología 38. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F.

Santamour Jr., F.S. 1998. Amygdalin in *Prunus* Leaves *Phytochem.*, **47**(8):1537-1538.

Sang, S., Lapsley, K., Jeong, W., Lachance, P., Ho C., Rosen R. 2002. Antioxidative phenolics compounds isolated fom almonds skins (*Prunus Amygdalus* Batsch)., *J. of Agric. Food Chem.*, **50**:2459-2463.

Sang, S., Lapsley, K., Rosen R., Ho C. 2002. New Prenylated Benzoic Acid and Other Constituents from Almond Hulls (*Prunus Amygdalus* Batsch)., *J. of Agric. Food Chem.*, **50**:607-609.

Sesse y Mociño. 1790-1801. Flora Mexiccana y Plantae Novae Hispanae. México.

Sosa, A. Fusco, M.R. Rossomando, P. Juárez, A. Robles, E. P. Pelzer, L. 2011. Anti-inflammatory properties from isolated compounds of *Cyclolepis genistoides*. *Journal of Biology.*, **49**(7):675-678.

Sosa, A. Fusco, M.R. Petenatti, M.E. Juárez, A. Del Vitto, A. Petenatti, E. 2007. Estudios farmacognósticos y farmacológicos comparativos sobre tres especies diuréticas de amplio uso popular en el Centro-Oeste Argentino. *Boletín Latinoamericano y de Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas.*, **6**:386-387.

Strather, J.L. 1991. Taxonomy of *Coomplaya*, *Elaphandra*, *Logeton*, *Jefea*,

Takenachi, M., y *Tanaka*, Y. 1982. *Haematoxylon campechianum*. *Planta Med.*, **10**:252.

Tanahashi, T., *et al.*, 1997. Six Secoiridoid Glucosides from *Jasminum polyanthum*, *Chem.Pharm.Bull.*, **45**(2):367-372.

Vergara, C., *Von Baer*, D., *Hermosín*, I., *Ruiz*, A., *Hischfeld*, M., *Castillo*, N., *Mardones*, C. 2009. Anthocyanins that Confer Characteristic Color to Red Copihue Flowers (*Lapageria Rosea*). *J.Chil.Chem.Soc.*, **54**(2):194-197.

Wamalchitamia, *Wedelia*, *Zexmenia*, and *Zyzugia* (Compositae-Heliantheae-Ecliptinae). *Syst.Bot.Mongr.*, **33**:1-111.

World Health Organization. 1998. "Quality control methods for medicinal plant materials". World Health Organization. Geneva, Swiss.

World Health Organization. 2007. "WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines reference to contaminants and residues". World Health Organization. World Health Organization. Geneva, Swiss.

Yoshikawa, M., *Murakami*, T., *Ishiwada*, T., *Morikawa*, T., *Kagawa*, M., *Higashi*, Y., *Matsuda*, H. 2002. New Flavonol Oligoglycosides and Polyacylated Sucroses with Inhibitory Effects on Aldose Reductase and Platelet Aggregation from the Flowers of *Prunus mume*. *J. Nat. Prod.*, **65**:1151-115.

ANEXO 1. Monografías.

CAPULÍN, HOJA.

Prunus serotina Ehrenb. Subsp. capuli (Cav.) McVaugh.

DEFINICIÓN. Consiste de las hojas secas, enteras o cortadas de *Prunus serotina*. Ehrenb. Subsp. capuli (Cav.) McVaugh. Familia Rosaceae. Contiene no menos de 1.0 por ciento del ácido clorogénico, 0.3 por ciento de benzaldehído y 0.4 por ciento de hiperósido, calculado con frecuencia en la droga vegetal seca.

DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA. MGA-FH 0040. Hojas estipuladas, simples alternas, lustrosas, con bordes aserrados, ovaladas a lanceoladas, de 5cm a 16cm de largo, por 2cm a 5 cm de ancho.



Fig.1. A. Planta de la especie *P. serotina*. B. Acercamiento de las hojas.

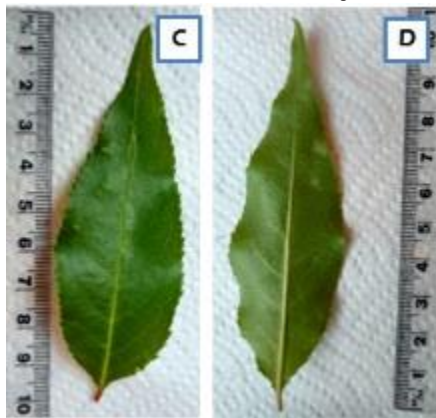


Fig.2. Hojas de *P.serotina*. C) Cara adaxial de la hoja. D) Cara abaxial de la hoja.

DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA.

El tejido dérmico, vista superficialmente; consta de cutícula rugosa en ambas caras abaxial y adaxial, estomas en la cara adaxial (hipostomática), aproximadamente hay 68-70 estomas por campo, ausencia de tricomas (glabra), células costales de forma rectangular con sus extremos redondeados y alargadas e intercostales (de forma irregular). El *tejido epidérmico*, tiene un estrato de células epidérmicas de forma rectangular con esquinas redondeadas. El *tejido fundamental*; en la cara adaxial y a nivel de la vena media con hipodermis colenquimatoso de tipo anular, de 1-5 estratos en la cara adaxial y dos estratos en la cara abaxial. A nivel de la lámina con dos estratos de parénquima en empalizada, parénquima esponjoso laxo. *Tejido vascular*; Vena media. Haz vascular colateral organizado en forma de media luna. Xilema en posición adaxial con traqueidas y elementos de vaso, estos con pared gruesa, los elementos de vaso de tamaño uniforme y organizado en hileras, con 4 a 6 vasos por hilera, ambos elementos inmersos en células parénquimatosas y fibras. Floema en posición abaxial, con elementos cribosos y células acompañantes. Los elementos cribosos de tamaño uniforme y pared celular delgada inmersos en células parénquimatosas ligeramente más grandes que los elementos cribosos, sin fibras. *Contenidos celulares*; cristales de oxalato de calcio en forma de drusas y prismas a nivel de las células epidérmicas y del parénquima en empalizada, sólo drusas en el parénquima esponjoso, en los haces vasculares de la lámina se observan abundantes prismas y otros cristales irregulares, en el tejido fundamental de la vena media se observan drusas, presencia de taninos a nivel de la vena media en la cara abaxial y adaxial, a nivel de la lámina en los haces vasculares.

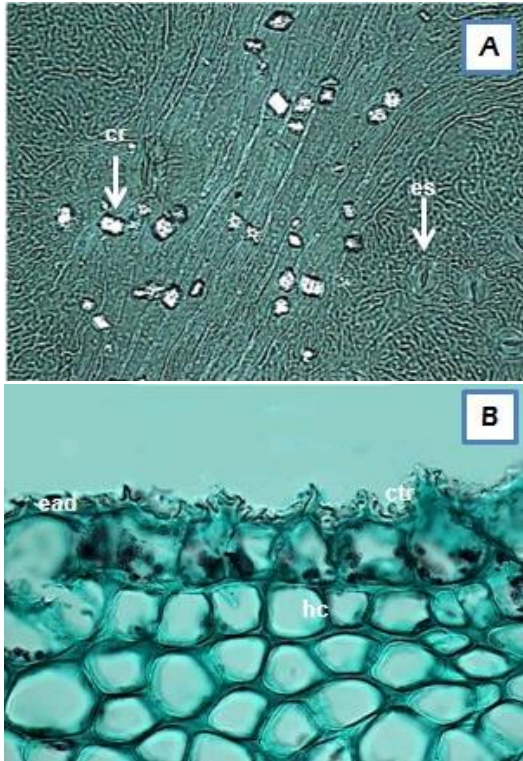


Fig.3.Lámina foliar de *Prunus serotina*. A) Vista superficial de epidermis adaxial con cristales sobre células costales, X400, contraste de fases. B) Vena media epidermis adaxial, X1000, contraste de fases. Cristales (cr), cutícula rugosa (ctr), epidermis adaxial (ead), estoma (es), hipodermis colénquimatoso (hc).

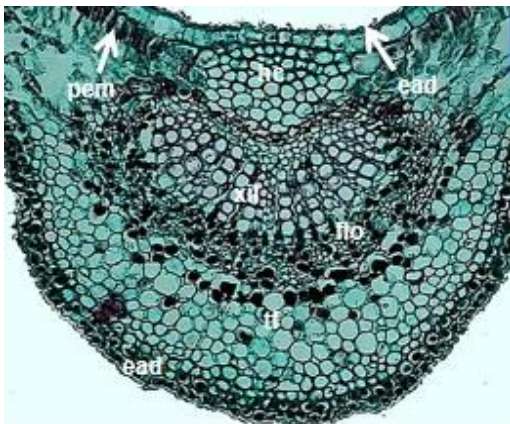


Fig.4.Lámina foliar de *Prunus serotina*. A) Sección transversal de vena media, X400, campo claro. Epidermis abaxial (eab), epidermis adaxial (ead), floema (flo), hipodermis colenquimatoso (hc), parénquima en empalizada (pem),tejido fundamental (tf),

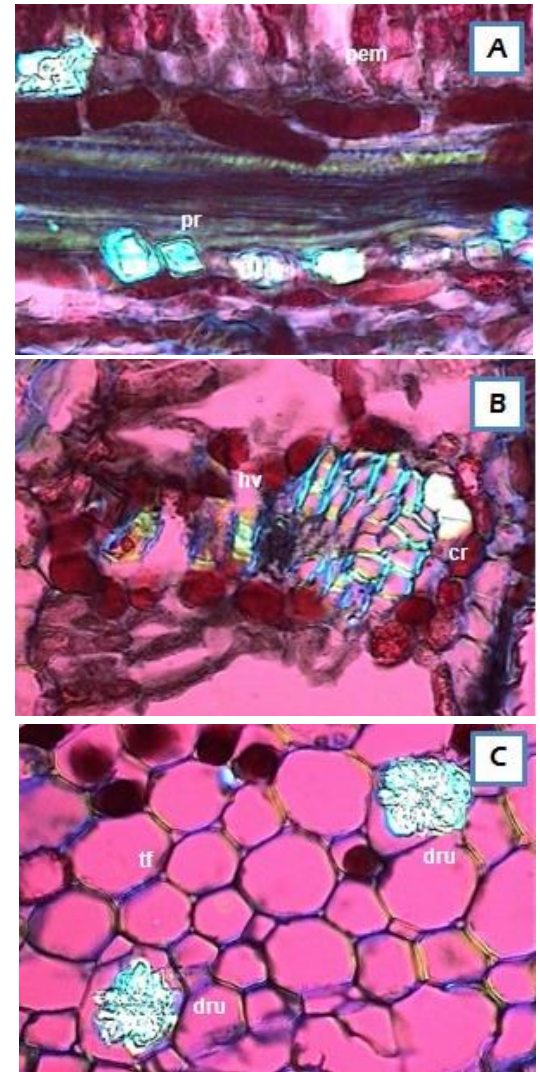


Fig.5.Sección transversal de la lámina foliar de *Prunus serotina*. A) Haz transverso con cristales, prismáticos y amorfos, X1000, luz polarizada con cuña de cuarzo. B) Haz vascular secundario con cristales asociados al xilema, X1000, luz polarizada con cuña de cuarzo. C) Tejido fundamental de vena media con cristales en forma de drusas, X1000, luz polarizada con cuña de cuarzo. Cristales (cr), cristales prismáticos (pr), drusas (dru), haz vascular (hv), parénquima en empalizada (pem), tejido fundamental (tf).

ENSAYO DE IDENTIDAD. MGA –FH 0050.

Soporte. Gel de sílice GF₂₅₄.

Fase móvil. Mezcla de acetato de etilo:agua:ácido fórmico (8.5:1.5:1.0).

Preparación de la referencia. Disolver 5.0 mg de ácido clorogénico, 5.0 mg de benzaldehído y 5.0 mg de hiperósido en 5mL de metanol

Preparación de la muestra. A 10g de la droga vegetal en corte fino adicionar agregar 380mL de metanol. Macerar a temperatura ambiente durante 24h. Filtrar la solución resultante y concentrar a presión reducida. Disolver el residuo obtenido en 10 mL de metanol.

Revelador. 2,2-difenil-1-picrilhidracilo al 0.2 por ciento en metanol.

Procedimiento. Aplicar por separado en bandas, 10 μ L de cada preparación. Desarrollar la cromatoplaque y permitir que el frente del eluyente recorra el 90 por ciento de la longitud de la placa. Secar al aire. Examinar bajo lámpara de luz UV a 254 nm y marcar el contorno de las manchas. Rociar el revelador y observar bajo luz natural.

Interpretación. El cromatograma obtenido con la preparación de la muestra y con la preparación de referencia exhibe 3 manchas amarillo claro que son similares en posición color y tamaño a las correspondientes ácido clorogénico, hiperósido y benzaldehído en orden creciente de valores de R_f .

PÉRDIDA POR SECADO. MGA-FH 0080. Determinar en 2.0 g de la droga vegetal. Secar a 105 °C.

VALORACIÓN. MGA 0241, CLAR.

Fase móvil. Mezcla de metanol:acetato de sodio: 0.01M ácido acético glacial 94:6, pH 2.7 (35:65), si es necesario ajustar con ácido acético glacial.

Preparación de referencia 1. Preparar una solución que contenga 1.0 mg/mL de ácido clorogénico en metanol. Transferir una alícuota de 5 mL a un matraz volumétrico de 10 mL y llevar a volumen con el mismo disolvente. Esta solución contiene 500 μ g/mL de ácido clorogénico.

Preparación de referencia 2. Preparar una solución que contenga 1.0 mg/mL de hiperósido en metanol. Transferir una alícuota de 5 mL a un matraz volumétrico de 10 mL y llevar a volumen con el mismo disolvente. Esta solución contiene 500 μ g/mL de hiperósido.

Preparación de referencia 3. Preparar una solución que contenga 1.5 mg/mL de benzaldehído en metanol. Transferir una alícuota de 2 mL a un matraz volumétrico de 10 mL y llevar a volumen con el mismo disolvente. Esta solución contiene 300 μ g/mL de benzaldehído.

Preparación de la muestra. Extraer de la droga vegetal seca y fragmentada con 200 mL de agua en ebullición. Dejar en reposo 1 h. al cabo del periodo maceración filtrar la solución resultante y transferirla a un matraz volumétrico de 250 mL. Llevar a volumen con agua.

Condiciones del equipo. Cromatografo de líquidos con detector de luz UV a 250 nm y 285 nm, columna de 15 cm x 4.6 mm, empacada con L1 (5 μ m). Velocidad de flujo: 1.0 mL/min.

Verificación del sistema. Inyectar, por sextuplicado, 10 μ L de las preparaciones de referencia y registrar los picos respuesta. El coeficiente de variación entre las réplicas de las inyecciones no es mayor a 2.0. Los tiempos de retención relativos son de 4.1 para el ácido clorogénico, de 11.8 para el benzaldehído y de 24.6 para el hiperósido.

Procedimiento. Inyectar por separado, 10 μ L de las preparaciones de referencia y de la preparación de la muestra; registrar los cromatogramas y medir las áreas de respuesta bajo los picos. Calcular el contenido de ácido clorogénico, hiperósido y benzaldehído utilizando la siguiente fórmula:

$$C D (A_m / A_{ref})$$

Donde:

C= Cantidad por mililitro de hiperósido, ácido clorogénico o benzaldehído en las preparaciones de referencia.

D=Factor de dilución de la muestra.

A_m = Área del pico correspondiente al hiperósido, al ácido clorogénico o al benzaldehído en la preparación de la muestra.

A_{ref} = Área del pico correspondiente al hiperósido, al ácido clorogénico o al benzaldehído en las preparaciones de referencia.

PALO BRASIL, CORTEZA Y MADERA.

Haematoxylum brasiletto Karst.

DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA. Corteza, la cara exterior con apariencia rugosa de color café oscuro, en el interior es liso de color café claro (Figura 1).

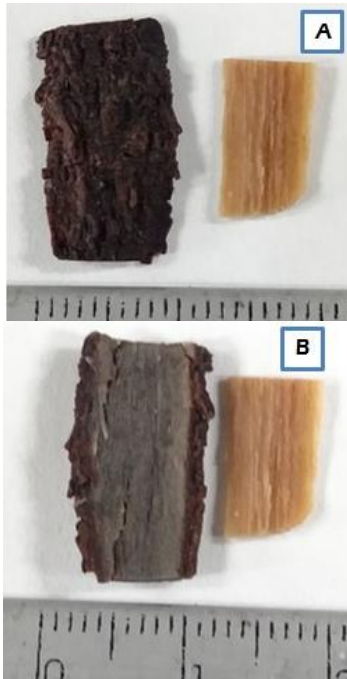


Figura 1. Corteza de la especie *H. brasiletto*. A) Vista de la parte exterior. B) Vista de la parte interior.

DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA. Tejido dérmico: Peridermis con felema, felógeno y felodermis bien definidos. Felema con aproximadamente 10-12 estratos celulares; células de forma rectangular tangencialmente alargadas, generalmente colapsadas, de pared engrosada y suberizadas, sin contenido celular. Felógeno: con aproximadamente dos estratos celulares; células de forma rectangular, de tamaño relativamente más pequeño que las células del felema, de pared celulósica delgada, sin contenido celular. Felodermis: aproximadamente 12-14 estratos; células de forma variada: ovalada, rectangular e isodiamétrica, de tamaños más grandes que las del felema, de pared celulósica más delgada (Figura 2)

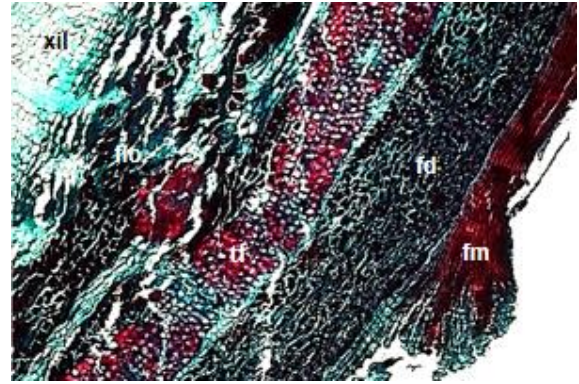


Figura 2. Sección transversal de corteza de *Haematoxylum brasiletto*. A) Corte transversal, X100, campo claro. Felema (fm), felodermis (fd), floema (flo), tejido fundamental (tf), xilema (xil).

Tejido fundamental: diferenciado en dos zonas, una parenquimatosa y otra esclerenquimatosa. Parénquima cortical, con dos estratos aproximadamente, de células con forma irregular y tamaño variado, de pared celular celulósica y delgada. Banda de esclerénquima con aproximadamente 10-12 estratos, de células entre cuadradas e isodiamétricas, la mayoría con pared celular gruesa y lignificada (Figura 3).

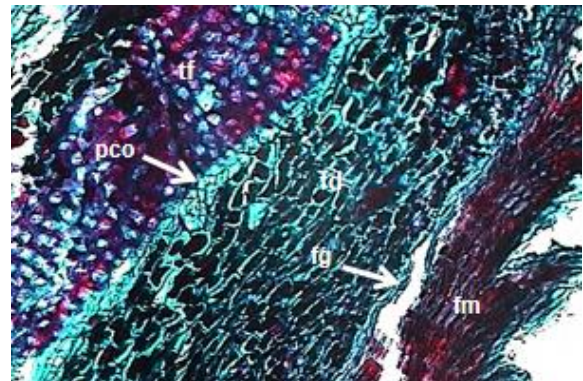


Figura 3. Sección transversal de corteza de *Haematoxylum brasiletto*. Dentro de este tejido se encuentran: Peridermis, X200, campo claro. Felema (fm), felógeno (fg), felodermis (fd), parénquima cortical (pco), tejido fundamental (tf).

Tejido vascular: Floema: Con elementos del metafloema y del protofloema. Los elementos celulares del metafloema están organizados formando varios estratos, células oblongas o irregulares y tangencialmente alargadas, de tamaños irregulares, obliteradas; protofloema con células cribosas y células acompañantes bien diferenciadas formando varios estratos celulares (figura 4A). Cambium vascular: Con aproximadamente 2 estratos celulares, células de forma ovalada, con pared celular delgada (figura 12 B). Xilema: Con traqueidas y elementos de vaso como elementos de conducción y parénquima radial. Los elementos de vaso ubicados cerca del cambium vascular, de diámetro pequeño y con paredes celulares delgadas y poco lignificadas; las células de los radios son de tamaños más pequeñas y arregladas en claras hileras radiales (figura4B).

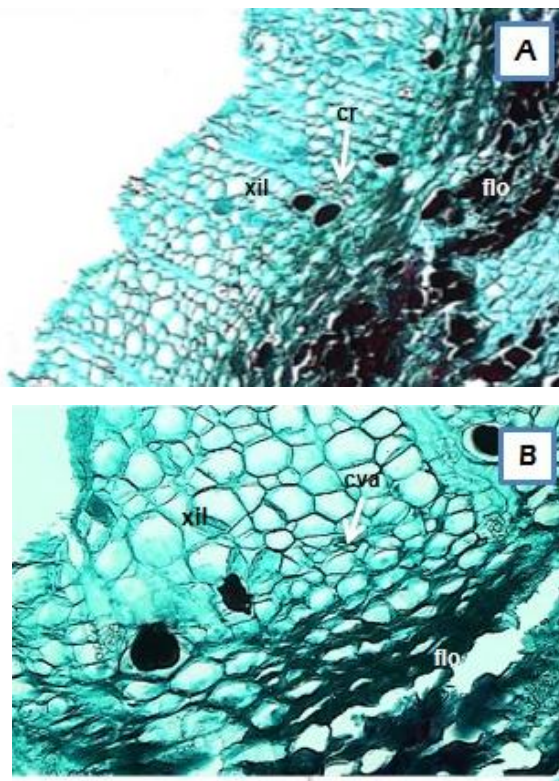


Figura 4. Sección transversal de corteza de *Haematoxylum brasiletto*. A) Tejido vascular, X400, campo claro. B) Tejido fundamental, Cambium vascular, X200, campo claro. Cambium vascular (cva). floema (flo). xilema (xil).

Contenidos celulares: felodermis con abundantes contenidos celulares densos de color oscuro, no determinados; cristales de oxalato de calcio en forma de prismas entre el esclerénquima del tejido fundamental; contenidos celulares fenólicos en el metafloema y cristales de oxalato de calcio prismáticos en las células radiales del xilema (figura 5).

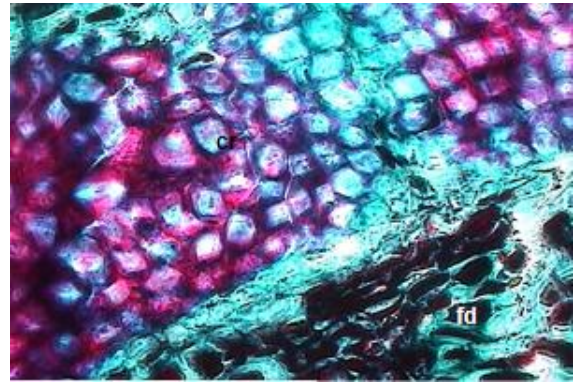


Figura 5. Sección transversal de corteza de *Haematoxylum brasiletto*. Tejido fundamental, cristales entre el esclerénquima del tejido fundamental, X200, campo claro. Cristales (cr), felodermis (fd). tejido fundamental (tf).

DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA. Madera, albura de color amarillo verdoso muy claro el duramen café rojizo con tonalidades naranja y vetas negruzcas, sin olor, sabor dulce astringente en duramen y muy ligero en albura, lustrosa, textura fina grano entrecruzado a irregular, muy dura y pesada, presentando 1.16 de gravedad específica. Los anillos de crecimiento son poco conspicuos y a simple vista se observan claramente bandas confluentes de parénquima axial de color claro que dan a la madera una figura suave. En el centro del tronco predomina el duramen pero en la costilla ocupa menos del 50% de su volumen (Figura 6).

DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA. Vasos: Porosidad difusa, con poros ovalados y algunos redondos principalmente solitarios y algunos grupos de 2 a 5, moderadamente numerosas, 11 poros /mm² de tamaño mediano, con diámetro tangencial de 132µm, en promedio. Los elementos de vasos son muy cortos, con longitud promedio de 204µm, punteaduras bordeadas y

alternas; de vaso a radio areoladas, alternas, muy numerosas y pequeñas de $5\mu\text{m}$ (figura 7A, B). **Parénquima axial:** Paratraqueal aliforme confluyente que a veces forma bandas con algunas marginales muy abundante, con series de 4 células y presencia de fusiformes (figura 7A).

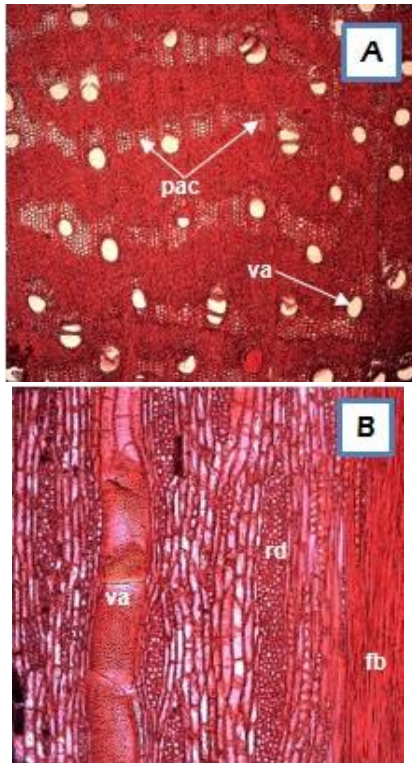


Figura 7. Madera de *Haematoxylum brasiletto*. A. sección transversal. Distribución de los vasos y parénquima axial, X100, campo claro. B. sección tangencial. Vasos, radios y fibras, X200, campo claro. Fibras (fb), parénquima paratraqueal aliforme confluyente (pac),

Parénquima radial: Radios moderadamente numerosos $7/\text{mm}$, homogéneos y multiseriados, formados por células procumbentes, son bajos con altura promedio de $1122\mu\text{m}$ (figura 7B y 8A, B, C). **Contenido celular:** En vasos, parénquima axial y en lumen de las fibras (de menor tamaño) contienen, taninos, abundantes gomas y colorantes, en el parénquima axial hay cristales romboides en cámara (figura 9A, B, C).

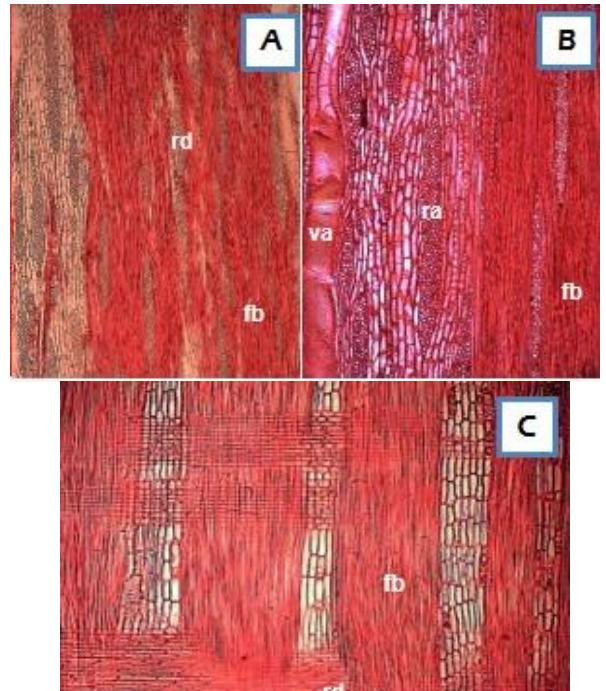


Figura 8. Madera de *Haematoxylum brasiletto*. A y B. Sección tangencial. Distribución de radios y fibras, X100, X200, campo claro. C. Sección radial, X200, campo claro. Fibras (fb), radios (rd), vasos (va).

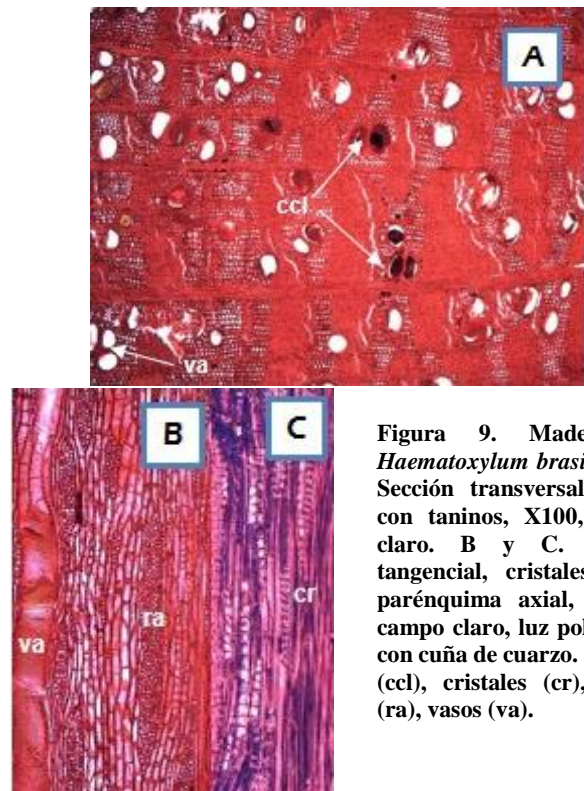


Figura 9. Madera de *Haematoxylum brasiletto*. A. Sección transversal. Vasos con taninos, X100, campo claro. B y C. Sección tangencial, cristales en el parénquima axial, X200, campo claro, luz polarizada con cuña de cuarzo. Taninos (ccl), cristales (cr), radios (ra), vasos (va).

PALO AZUL, MADERA.

Cyclolepis genistoides D. Don.

DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA. Madera Albura de color amarillo claro, duramen café oscuro ambos lustrosos, con textura ligeramente áspera, sin olor, sin sabor y duros (Figura 1A, B, C).



Figura 1. Madera de la especie *H. brasiletto*. A. Albura v Duramen. B. Duramen. C.

DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA. Con elementos de vaso, parénquima y fibras. Elementos de vaso agrupados, cada paquete organizado en hileras radiales, de 2 a 7 en cada paquete, pocos solitarios; con punteaduras bordeadas alternas y placa de perforación simple; de tamaño variado, largo entre 175-229 μ m (en promedio 20 μ m), con diámetro de 123-138 μ m (en promedio 122 μ m), grosor de la pared de 7 μ m (Figura 2A, B, C, D, 3 A, B, C, D).

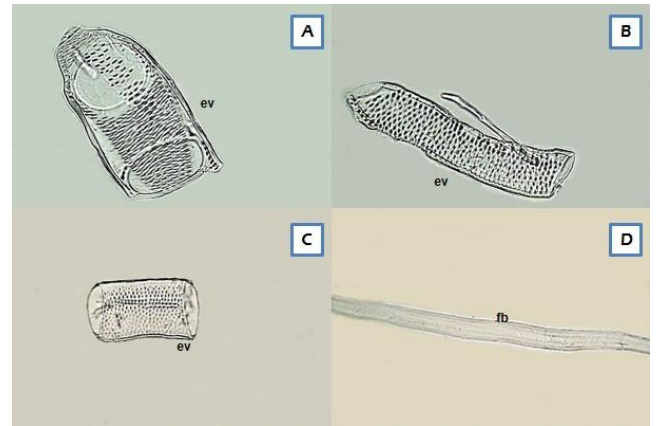


Figura 2. Disociados obtenidos de la madera de *Cyclolepis genistoides*. A, B y C. Elementos de vaso (ev). D. Fibras (fb), X400, contraste de fases.

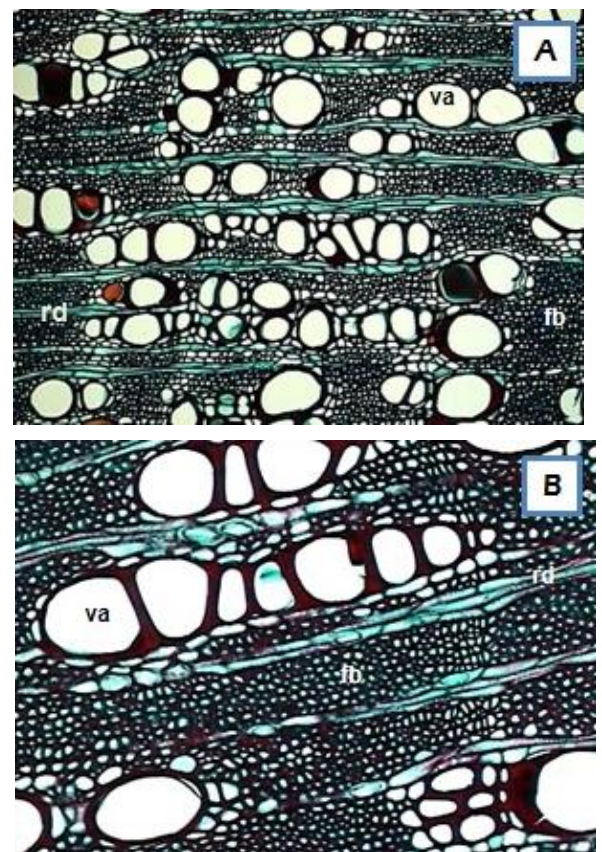


Figura 3. Xilema, agrupación de los vasos de *Cyclolepis genistoides*. A y B. Sección transversal, X100, campo claro, X 200, campo claro. Fibras (fb), radios (rd), leño temprano (lte), leño tardío (ltr), vasos (va).

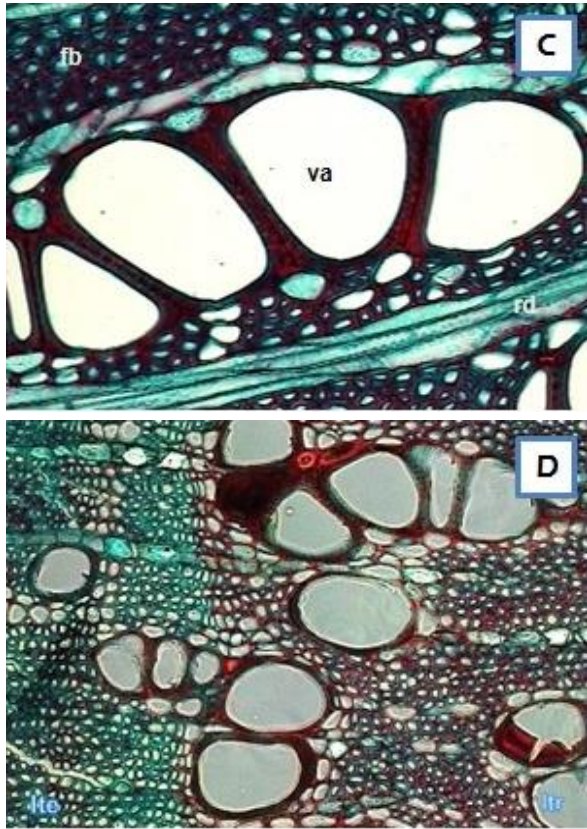


Figura 3. C. Fibrasy radios, X400, contraste de fases. D) Leño, X200, contraste de fases. Fibras (fb), radios (rd), leño temprano (lte), leño tardío (ltr), vasos (va).

Parénquima xilemático: de tipo paratraqueal vasicéntrico (Figura 4A). **Fibras:** Sectadas, ancho de 11.3-12.5µm (en promedio 11.9µm), grosor de pared de 1.8 -3µm (en promedio 2.5µm) (figura 3D, 4B)

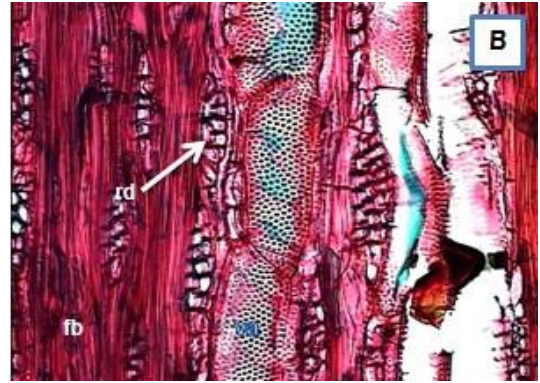
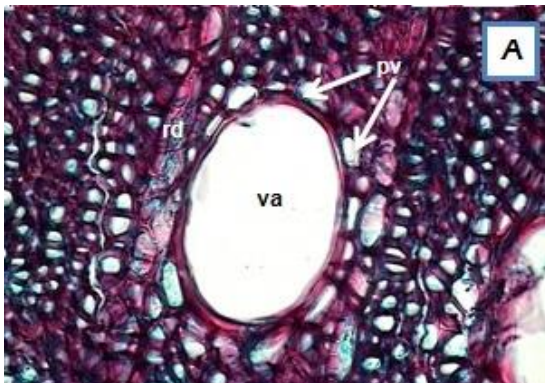


Figura 4. Madera de *Cyclolepis genistoides*. A. Sección transversal detalle de vasos, parénquima paratraqueal vasicéntrico X400, contraste de fases. B. Sección tangencial, detalle de vasos, radios y fibras, en sección longitudinal, X 200, contraste de fases. Fibras (fb), parénquima paratraqueal vasicéntrico (pv), radios (rd), vasos (va).

Radios: Numerosos, biseriados y multiseriados, heterogéneos, formado por células procumbentes y erectas (Figura 5A, B).

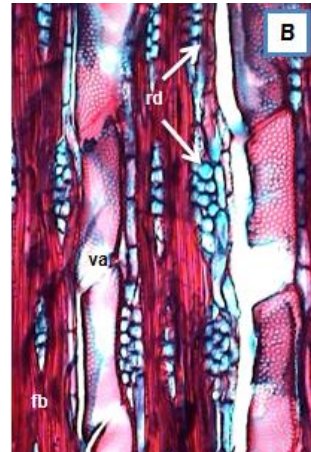
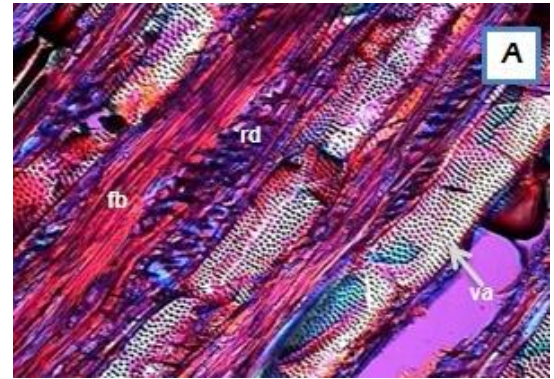


Figura 5. Xilema de *Cyclolepis genistoides*. A. Sección tangencial, detalle de los vasos se observa punteaduras bordeadas alternas, X200, luz polarizada con cuña de cuarzo, contraste de fases. B. Sección tangencial, detalle de los radios, biseriados y multiseriados. Fibras (fb), radios (rd), vasos (va).

Contenidos celulares: Taninos en los vasos y cristales de oxalato de calcio prismáticos en el parénquima radial (Figura 6A, B, C, D, E, F, G).

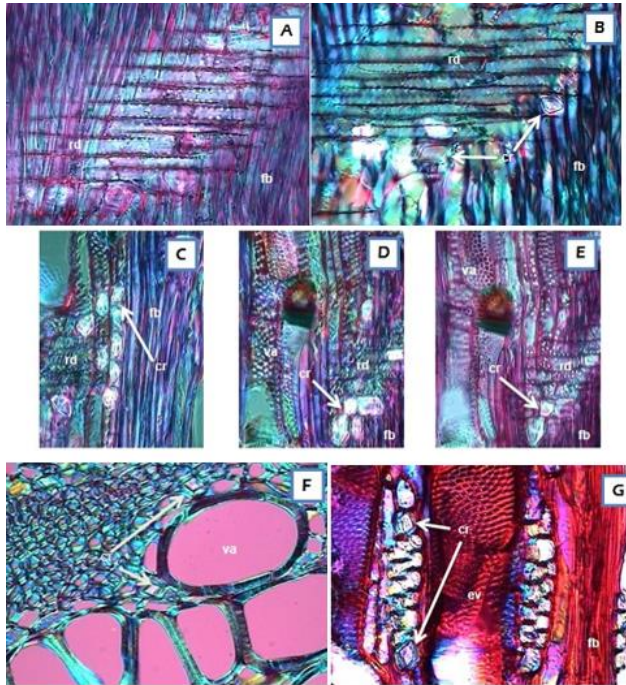


Figura 6. Xilema de *Cyclolepis genistoides*. A y B. Sección radial, detalle de los cristales en los radios, X400, luz polarizada con cuña de cuarzo. C, D, y E. Sección radial, distribución de los cristales en los radios, X200, luz polarizada con cuña de cuarzo. F. Sección transversal, X400, contraste de fases, luz polarizada con cuña de cuarzo. G. Detalles de la sección tangencial, X400, luz polarizada con cuña de cuarzo. Cristales prismáticos (cr), fibras (fb), radios (rd), vasos (va).

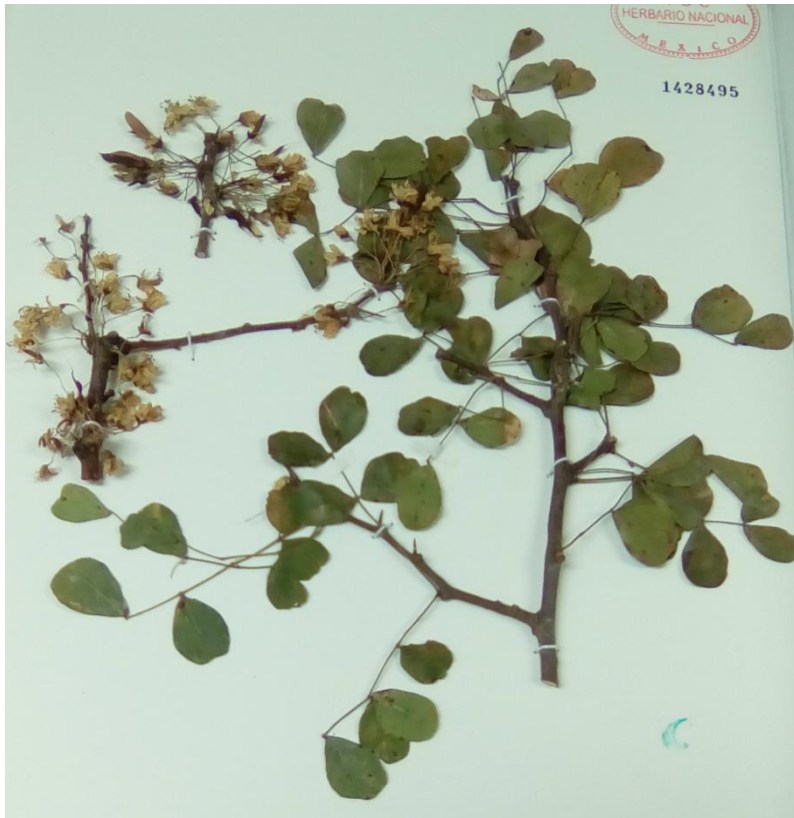
ANEXO 2. Fotografías de las especies *Prunus serotina* Ehrh., *Cyclolepis genistoides*. D.Don. y *Prunus serotina* Ehrh. Las cuales están dentro de la colección del HERBARIO NACIONAL DE MÉXICO, del Instituto de Biología.



HERBARIO NACIONAL DE MEXICO
 INSTITUTO DE BIOLOGÍA
 Plantas de Argentina.
Cyclolepis genistoides D. Don.
 Mpio. Chubut Loc. Salina grande Península
 de Valdés.
 Forma biológica. Arbusto.
 Colector. F. González-Medrano No. 7617
 J.L. Garrido.
 Det. A. L. Cabrera
 Fecha. 6-12-74



HERBARIO NACIONAL DE MEXICO
 INSTITUTO DE BIOLOGÍA
 Plantas de Uruguay.
Cyclolepis genistoides D. Don.
 Estancia Zalazar. Salinas y lagos.
 Coordenadas. 23° 02' 07'' S 059° 11' 19'' W
 Arbusto 1m. Fruto de color crema.
 Elsa Matilde Zardini y Leongino Guerrero 46986.
 Fecha. 28 de julio 1997.
 Supported by National Geographic Society.
 MISSOURI BOTANICAL GARDEN (MO)
 JARDIN BTANICO DE ASUNCION (AS)



HERBARIO NACIONAL DE MEXICO

INSTITUTO DE BIOLOGÍA.

Sociedad para el Estudio de los Recursos
Bióticos de Oaxaca A.C.

Haematoxylon brasiletto Karst.

Hábitat. Selva baja secundaria.

Localidad. El Gavilan

Municipio. San Pedro Huamelula

Distrito. Tehuantepec.

Región. Istmo, OAX. MEX.

Altitud. 185 msnm Coordenadas. 16°
5'43''N 95°39'19''W.

Fecha. 6/03/95

Colector. S. Salas M. y E. Torres B.

Núm.832 determinó. M. Sousa, 1977



HERBARIO NACIONAL DE MEXICO

INSTITUTO DE BIOLOGÍA.

Plantas de México: Oaxaca.

Haematoxylon brasiletto K.

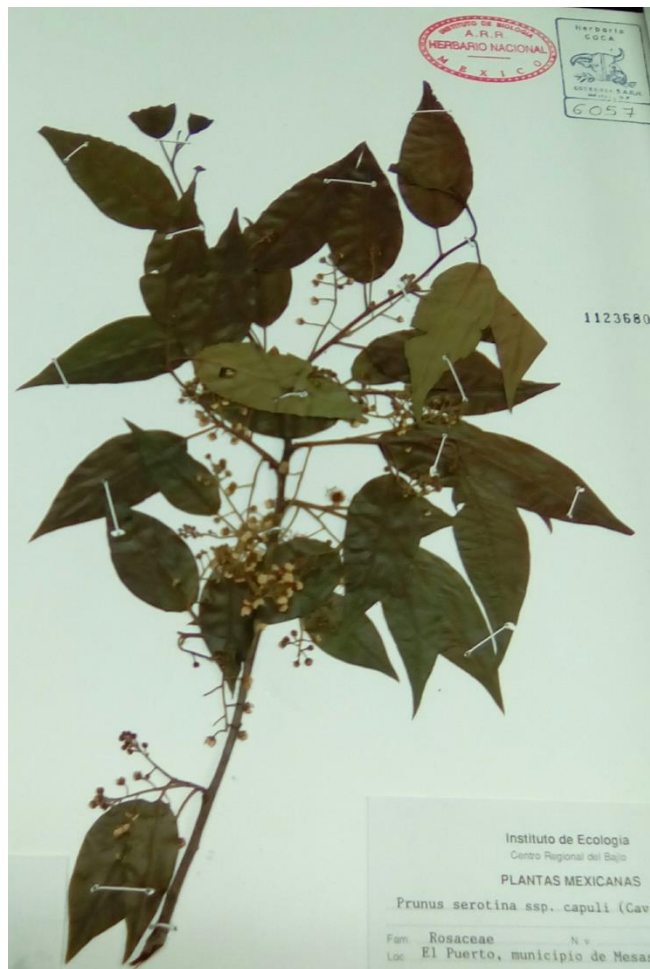
LEGUMINOSAE.

El Salado, 13Km al NO de Jalapa del Marqués,
carretera a Oaxaca. Distrito de Tehuantepec.

Selva baja caducifolia, alt. 260m. Arbusto de
1.5m con flores amarillas.

Col. R. Cedillo Trigos 1080 y R. Torres.

Fecha. 17/02/82



HERBARIO NACIONAL DE MEXICO

INSTITUTO DE BIOLOGÍA.

Instituto de Ecología

Centro Regional del Bajío.

Plantas Mexicanas.

Prunus serotina ssp. *capuli* (Cav) Mc Vaugh.

Fam. Rosaceae.

Loc. El puerto, municipio de Mesas de Jesús.

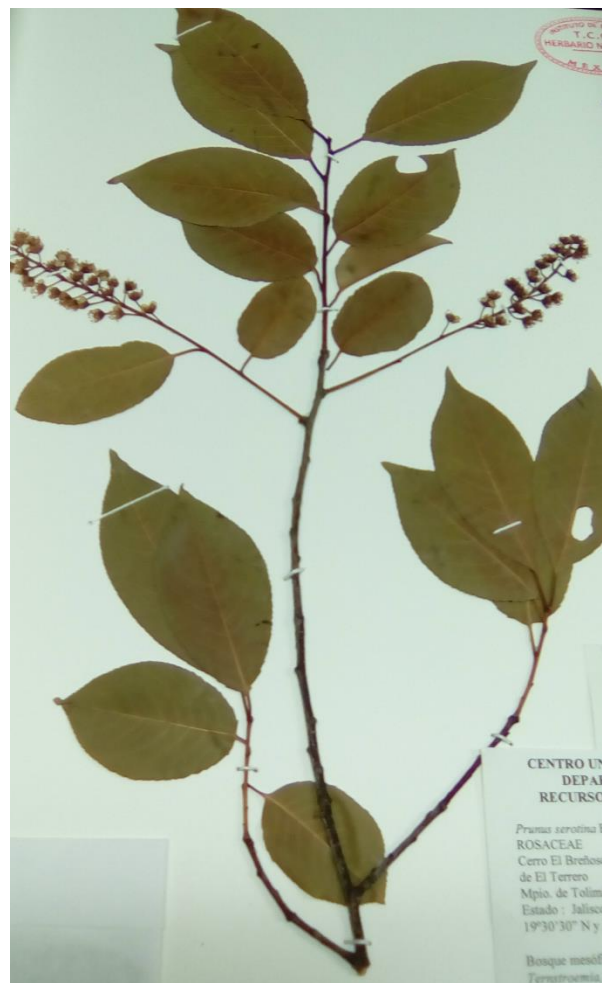
Estado. Guanajuato. Fecha. 21-03-1990.

Hab. Bosque de encino, ladera de cerro.
Alt.2000m.

Col. E. Ventura y E. López. No.7823.

Observ. árbol de 10m de alto; flores blancas;
escasas.

Det. J. Rzedowski.



HERBARIO NACIONAL DE MEXICO

INSTITUTO DE BIOLOGÍA.

CENTRO UNIVERSITARIO DE LA COSTA SUR DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA Y RECURSOS NATURALES HERBARIO ZEA.

Prunus serotina Ehrh. subsp. *capuli* (Cav) Mc Vaugh

“Capulin”

Cerro del breñoso, cerca de la antena de transmisión, 3-4Km al NE de El Terrero. Mpio. De Toluca. Estado. Jalisco. México. 19° 30'30''N 103°56'49''W.

Alt.2100m. Fecha. 17/04/1991

Bosque de mesófilo de montaña con *Quercus*, *Dendropanax*, *Styrax*, *Ternstroemia*, *Ilex*, *Prunus*.

Árbol de 6m de altura con flores blancas; frecuentes. Col. De Niz, J. Cervillos, F. J. Santana M.192. Det. Francisco J. Satana M.