



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MEXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

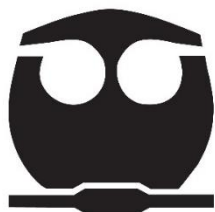
**Investigación química de las especies medicinales
Porophyllum linaria (Cav.) D.C. (Asteraceae) y *Dyssodia
papposa* (Vent.) A.S. Hitchc. (Asteraceae)**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

MIGUEL ÁNGEL ROSALES GARCÍA



Ciudad Universitaria, CD. MX.

2021



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. Rachel Mata Essayag
VOCAL: Dra. Mabel Clara Fragoso Serrano
SECRETARIO: Dra. Isabel del Carmen Rivero Cruz
PRIMER SUPLENTE: Dr. Mario Alberto Figueroa Saldívar
SEGUNDO SUPLENTE: Dra. Berenice Ovalle Magallanes

Sitio donde se desarrolló el tema:

**Laboratorio 124, Edificio de Bioquímica y Farmacia, Conjunto E,
Facultad de Química, UNAM**

SUSTENTANTE:



Miguel Ángel Rosales García

ASESOR:



Dra. Isabel del Carmen Rivero Cruz

Agradecimientos

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) y al Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado de la FQ, UNAM, por los apoyos económicos PAPIIT IN 217320 y PAIP-FQ 5000-9140.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento Ciencia Básica A1-S-11226 otorgado.

Al Sistema Nacional de Investigadores (SNI, CONACyT) por la beca de ayudante de investigador nivel III otorgada para la realización de este proyecto de tesis (Investigador No. 3803).

A la Dra. Rachel Mata Essayag por darme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo, por su confianza, el apoyo incondicional y por todas sus valiosas enseñanzas. Muchas gracias.

A las Dras. Araceli Pérez Vásquez, Berenice Ovalle Magallanes y Mariana Lozano González por sus consejos y valiosa asesoría técnica. Así como a la Dra. Mabel Fragoso Serrano por la revisión de este escrito.

Al Dr. Robert Bye y la M. en C. Edelmira Linares por la recolección y clasificación de las dos especies objeto de estudio.

Agradezco especialmente a la Dra. Isabel Rivero Cruz por permitirme trabajar a su lado, por compartir su valioso tiempo y conocimientos conmigo, por todos sus consejos, paciencia y el apoyo que me ha brindado durante el desarrollo de este trabajo de investigación, pero sobre todo por su invaluable amistad. Muchas gracias.

Índice

| | Página |
|---|------------|
| Lista de Figuras | <i>vi</i> |
| Lista de Esquemas | <i>vi</i> |
| Lista de Cuadros | <i>vii</i> |
| Lista de Tablas | <i>vii</i> |
| Lista de Abreviaturas | <i>vii</i> |
| 1. Introducción | 1 |
| 2. Antecedentes | 5 |
| 2.1 Antecedentes botánicos y etnobotánicos del género <i>Porophyllum</i> . | 5 |
| 2.2 Estudios químicos del género <i>Porophyllum</i> . | 8 |
| 2.3 Generalidades sobre <i>Porophyllum linaria</i> (Cav.) DC. (Asteraceae). | 11 |
| 2.4 Antecedentes del género <i>Dyssodia</i> . | 13 |
| 2.5 Generalidades sobre <i>Dyssodia papposa</i> (Vent.) A.S. Hitchc. (Asteraceae). | 14 |
| 3. Objetivos | 17 |
| 4. Parte experimental | 18 |
| 4.1 Procedimientos generales. | 18 |
| 4.1.1 Análisis cromatográficos. | 18 |
| 4.1.2 Caracterización de los productos naturales. | 19 |
| 4.2 Material vegetal. | 19 |
| 4.3 Preparación de los extractos vegetales orgánicos. | 20 |
| 4.4 Estudio químico de las especies objeto de estudio. | 20 |
| 4.4.1 Fraccionamiento primario del extracto total de <i>P. linaria</i> . | 20 |
| 4.4.2 Aislamiento de la luteína (1) y el β -sitosterol (2) a partir de las fracciones PI-F ₆ y PI-F ₇ . | 22 |
| 4.5 Estudio químico de la especie <i>Dyssodia papposa</i> . | 22 |
| 4.5.1 Fraccionamiento primario del extracto total de <i>D. papposa</i> . | 22 |
| 4.5.2 Aislamiento del compuesto 3 a partir de la fracción primaria Dp-F ₇ . | 24 |

| | Página |
|---|---------------|
| 5. Resultados y discusión | 25 |
| 5.1 Selección primaria de las especies <i>Porophyllum linaria</i> (Cav.) DC. y <i>Dyssodia papposa</i> (Vent.) A.S. Hitchc como candidatos para la obtención de principios activos. | 25 |
| 5.2 Aislamiento y purificación de los principios activos de la especie <i>P. linaria</i> . | 25 |
| 5.2.1 Caracterización de los compuestos aislados. | 26 |
| 5.2.1.1 Caracterización de la luteína (1). | 26 |
| 5.2.1.2 Caracterización del β -sitosterol (2). | 29 |
| 5.2.2 Composición química del aceite esencial. | 29 |
| 5.3 Aislamiento y purificación de los metabolitos secundarios activos de la especie <i>D. papposa</i> . | 32 |
| 5.3.1 Caracterización del compuesto 3. | 33 |
| 6. Resumen y Conclusiones | 34 |
| 7. Perspectivas | 35 |
| 8. Referencias bibliográficas | 36 |

Lista de Figuras

| Figura | | Página |
|--------|--|--------|
| 1 | Imagen del <i>papaloquilitl</i> (tomada del Códice de la Cruz Badiano). | 3 |
| 2 | Ejemplos selectos de metabolitos secundarios aislados del género <i>Porophyllum</i> . | 8 |
| 3 | Ejemplos selectos de metabolitos secundarios aislados de la especie <i>P. ruderale</i> . | 10 |
| 4 | <i>Porophyllum linaria</i> (Cav.) DC. (Asteraceae) (Sinónimo: <i>P. tagetoides</i> Kunth) [imágenes tomadas de Global Biodiversity Information Facility (GBIF, 2021)]. | 11 |
| 5 | Ejemplos selectos de metabolitos secundarios aislados del género <i>Dyssodia</i> . | 14 |
| 6 | <i>Dyssodia papposa</i> (Vent.) A.S. Hitchc. (Asteraceae) [imágenes tomadas de Global Biodiversity Information Facility (GBIF, 2021)]. | 15 |
| 7 | Ejemplos selectos de metabolitos secundarios aislados de la especie <i>D. papposa</i> . | 16 |
| 8 | Cromatograma de gases correspondiente al aceite esencial obtenido a partir de las hojas de <i>P. linaria</i> analizado en una columna DB-5. a) Lote 1; b) Lote 2; c) Lote 3. | 31 |
| 9 | Cromatograma de gases de los componentes volátiles presentes en las hojas frescas de <i>P. linaria</i> analizados en una columna capilar DB-5 por la técnica de HS-SPME. Picos: α -mirceno (1); <i>D</i> -limoneno (2); nonanal (3); decanal (4); 1-decanol (5); 1-hepten-3-ol (6). | 32 |

Lista de Esquemas

| Esquema | | Página |
|---------|---|--------|
| 1 | Extracción y fraccionamiento primario de la especie <i>P. linaria</i> . | 21 |
| 2 | Extracción y fraccionamiento primario de la especie <i>D. papposa</i> . | 23 |

Lista de Cuadros

| Cuadro | | Página |
|--------|--|--------|
| 1 | Sinonimia del término quelite en diferentes lenguas indígenas. | 2 |
| 2 | Localización en México y nombres comunes de algunas especies del género <i>Porophyllum</i> . | 6 |
| 3 | Fraccionamiento primario mediante cromatografía en columna abierta del extracto total de <i>P. linaria</i> . | 21 |
| 4 | Fraccionamiento primario mediante cromatografía en columna abierta del extracto total de <i>D. papposa</i> . | 23 |
| 5 | Fraccionamiento secundario mediante cromatografía en columna abierta de la fracción primaria Dp-F ₇ . | 24 |

Lista de Tablas

| Tabla | | Página |
|-------|--|--------|
| 1 | Constantes espectroscópicas y espectrométricas de la luteína (1). | 27 |
| 2 | Compuestos volátiles identificados por GC-EM a partir de los aceites esenciales de <i>P. linaria</i> . | 30 |

Lista de Abreviaturas

| Abreviatura | Significado | Abreviatura | Significado |
|---------------------------------|--|---------------------|---|
| AcOEt | Acetato de etilo | Hex | Hexano |
| Cm | Centímetro | IR | Espectroscopía en el infrarrojo |
| CDCl ₃ | Cloroformo deuterado | EM-IE | Técnica de ionización por impacto electrónico |
| <i>J</i> | Constante de acoplamiento | MHz | Mega Hertz |
| CC | Cromatografía en columna abierta | MeOH | Metanol |
| CCD | Cromatografía en capa fina | μL | Microlitro |
| CCDP | Cromatografía en capa fina preparativa | μM | Micrómetro |
| δ | Desplazamiento químico | mg | Miligramo |
| CH ₂ Cl ₂ | Diclorometano | mL | Mililitro |
| D | Doblete | min | Minuto |
| Dd | Doble de doble | RMN | Resonancia Magnética Nuclear |
| eV | Electrón volt | ¹ H-RMN | Resonancia Magnética Nuclear de Protón |
| °C | Grado Celsius | ¹³ C-RMN | Resonancia Magnética Nuclear de Carbono-13 |
| G | Gramo | TMS | Tetrametilsilano |

1. Introducción

En México, las enfermedades gastrointestinales son muy comunes principalmente en las comunidades marginadas afectadas por la pobreza que a menudo se transmiten por vía fecal-oral o por el consumo de agua y alimentos contaminados, siendo la población infantil la más vulnerable.

En este contexto, el amplio consumo de plantas medicinales para el tratamiento de estos trastornos, considerando únicamente como criterio de selección el uso etnomédico, hace imperante complementar este conocimiento realizando el estudio químico y la evaluación de los compuestos responsables de la actividad terapéutica de aquellas plantas utilizadas, que cabe destacar a la fecha es escaso.

Así, como parte de un estudio sistemático de plantas mexicanas como fuentes potenciales de agentes terapéuticos, se consideró conveniente realizar la investigación química de las especies *Porophyllum linaria* (Cav.) DC. y *Dyssodia papposa* (Vent.) A. S. Hitchc., ambas pertenecientes a la familia de las asteráceas, la primera es un quelite consumido como alimento desde tiempos prehispánicos, y la segunda es una margarita utilizada para tratar la diabetes, el dolor de cabeza y la fiebre.

La palabra quelite deriva del vocablo náhuatl “quilitl” que significa verdura o planta tierna comestible y tiene su sinonimia en varias lenguas (**Cuadro 1**; Castro *et al.*, 2011) las partes utilizadas como quelites pueden ser la planta completa (sin raíz), plántulas, ramas o retoños jóvenes, hojas tiernas, hojas sin nervaduras, pecíolos y tallos (Basurto *et al.*, 1998).

En México, se consumen más de 350 especies, siendo las más comunes, el pápalo (*Porophyllum ruderale* subsp. *macrocephalum* (DC.) R.R. Johnson, Asteraceae), la pepicha (*Porophyllum linaria* (Cav.) DC, Asteraceae), la verdolaga (*Portulaca oleracea* L., Portulacaceae), el quintonil (*Amaranthus* spp. L., Amaranthaceae), el romerito (*Suaeda nigra* J.F. Macbr., Amaranthaceae), el quelite cenizo (*Chenopodium berlandieri* subsp. *berlandieri* Moq., Amaranthaceae), el huauzontle (*C. berlandieri* subsp. *nuttalliae* Moq., Amaranthaceae), los alaches (*Anoda cristata* (L.) Schltl., Malvaceae), el epazote (*Dysphania ambrosioides* L., Amaranthaceae), la chaya (*Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I.M. Johnst., Euphorbiaceae), la hoja santa (*Piper auritum* Kunth, Piperaceae) y los chepiles (*Crotalaria* spp. L., Fabaceae) (Linares *et al.*, 2015).

Cuadro 1. Sinonimia del término quelite en diferentes lenguas indígenas.

| Término usado | Lengua indígena |
|---------------|-----------------|
| Quilitl | Náhuatl |
| Kaka | Totonaco |
| Yiwa o yube | Mixteco |
| Xakuá | Purépecha |
| Gilibá | Rarámuri |
| Bok itah | Tzeltal |
| Itaj | Tsotsil |
| K'ani | Ñahñu |



De acuerdo con los datos reportados en la literatura, los quelites son consumidos como alimento desde tiempos prehispánicos, y en el caso de México, se cuenta con el registro de su presencia y uso a partir del siglo XVI (Sahagún, 1829).

En el siglo XVI Fray Bernardino de Sahagún en su obra *“Historia general de las cosas de la Nueva España”* (1577), en su undécimo libro dedica a los quelites dos párrafos del capítulo VII, como “de las yerbas comestibles cocidas” y como “de las yerbas que se comen crudas”. En ambos párrafos Sahagún menciona alrededor de 60 plantas reconocidas como quelites y se muestran ilustraciones de varias de ellas como son: el papaloquilitl (papaloquelite), el mozoquilitl (mozote), el yuahquilitl (quelite cenizo o amaranto), entre otras.

El Dr. Francisco Hernández en su *“Historia Natural de la Nueva España”* incluye con el término quilitl (que indica su pertenencia al grupo de las yerbas comestibles), al cococaquilitl o

verdura acuática acre, del que menciona “las flores y hojas son olorosas y de sabor acre algo parecido al mastuerzo, de donde toma el nombre, lo comen los indígenas como hortaliza”.

Finalmente, otra de las fuentes históricas del siglo XVI en donde los quelites son ya descritos es el códice de la Cruz Badiano (**Figura 1**).



Figura 1. Imagen del *papaloquitl* (tomada del Códice de la Cruz Badiano).

Quizás de las especies más utilizadas como quelites en diversas regiones de nuestro país se encuentra los pápalos pertenecientes al género *Porophyllum* Guett.

Por otra parte, además de los quelites, la familia Asteraceae contiene al género *Dyssodia* cuyo nombre se deriva del griego $\delta\upsilon\sigma\omicron\delta\iota\alpha$ (dusodia) que significa "maloliente", varias especies de *Dyssodia* son cultivadas y comercializadas como ornamentales, y otras especies son utilizadas en la medicina tradicional para tratar la diarrea, el vómito y dolores de estómago. Una

característica distintiva de estas especies es su fuerte aroma que deriva de sus hojas y flores haciéndolas útiles en rituales asociados al “día de los muertos” en México.

2. Antecedentes

2.1 Antecedentes botánicos y etnobotánicos del género *Porophyllum*.

El género *Porophyllum* Guett. (Asteraceae) incluye alrededor de 30 especies, distribuidas en el suroeste de los Estados Unidos, México, las Antillas, América Central y América del Sur, principalmente en regiones tropicales y subtropicales (Villarreal-Quintanilla *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2018). El término *Porophyllum* deriva del griego *porus* (poro) y *phyllon* (hoja), haciendo referencia a las cavidades secretoras glandulares que se encuentran tanto en el borde como esparcidos por toda la hoja de muchas especies de este género, que le confieren un tipo de resistencia contra insectos herbívoros. El género consta de alrededor de 25 especies (**Cuadro 2**) de las cuales 19 de ellas se encuentran en el territorio nacional (Villarreal-Quintanilla *et al.*, 2008; Estrada *et al.*, 2016). De éstas, *P. ruderale*, es la especie más representativa del género, y es conocida comúnmente como pápalo, papaloquelite, tepelcacho, pasto de venado o tapegua. En la medicina tradicional las hojas de la planta se utilizan para el tratamiento de mordeduras de serpiente, dolor general y de estómago, edemas, hematomas internos, contra la leishmaniasis y para aliviar la epilepsia además de presentar efecto antinociceptivo, antiinflamatorio, diaforético, enemagogo y sedante (Barbosa *et al.*, 2002; Souza *et al.*, 2003; Fonsceca *et al.*, 2006; Goleniowski *et al.*, 2006; Lima *et al.*, 2011; Takahashi *et al.*, 2011; 2013; Conde-Hernández *et al.*, 2017).

En general, las especies de este género son hierbas o arbustos anuales o perennes, con olor fuerte; los tallos son erectos, glabros, con ramas del estilo filiforme a subuladas, recurvadas y papilosas que generalmente crecen desde la porción inferior. Sus hojas son simples, opuestas o alternas, sésiles o pecioladas, margen entero o sinuado, con glándulas oleíferas transparentes, las inflorescencias son terminales en panículas cimosas, erectas o péndulas o cabezuelas solitarias y sus flores son blancas, pardas o púrpuras tubulares.

Cuadro 2. Localización en México y nombres comunes de algunas especies del género *Porophyllum*.

| Espece | Distribución | Nombres comunes |
|---------------------------------------|--|---|
| <i>P. amplexicaule</i> L. | Coahuila Nuevo León Tamaulipas | <i>No especificado</i> |
| <i>P. calcícola</i> Robinson & Greenm | Morelos Oaxaca Puebla Sinaloa Tabasco | Pipicha |
| <i>P. coloratum</i> (Kunth) DC. | Amplia distribución (26 estados de la República Mexicana) | Hierba del venado Maravilla Pápalo-quilitl (náhuatl) |
| <i>P. crassifolium</i> S. Watson | Baja California Norte Baja California Sur | <i>No especificado</i> |
| <i>P. filiforme</i> Rydb. | Baja California Sur Coahuila Nuevo León San Luis Potosí Tamaulipas | <i>No especificado</i> |
| <i>P. gracile</i> Benth. | Baja California Norte Baja California Sur Sonora | Hierba del venado Odora Poro delgado |
| <i>P. greggii</i> A. Gray | Chihuahua | Hoja de poros de Gregg |
| <i>P. linaria</i> (Cav.) DC. | Amplia distribución (22 estados de la República Mexicana) | Pipicha Pipiche Pepicha Pepiche Pápalochepepicha Pápalo pepicha Pipitza Pipizca Cola de coyote/zorro Escobeta/ Escobetilla |
| <i>P. macrocephalum</i> DC. | Amplia distribución (24 estados de la República Mexicana) | Pápalo Papaloquelite Tepehua Hierba del venado Liendrilla |
| <i>P. maritimum</i> Brandegees | Baja California Norte Baja California Sur | <i>No especificado</i> |

Cuadro 2. Localización en México y nombres comunes de algunas especies del género *Porophyllum* (continuación).

| Espece | Distribución | Nombres comunes |
|--|---|---|
| <i>P. pausodynum</i> Robinson & Greenm | Baja California Sur Sonora Zacatecas | <i>No especificado</i> |
| <i>P. pringlei</i> Rob. | Guerrero Jalisco Michoacán Morelos Oaxaca Sinaloa | <i>No especificado</i> |
| <i>P. punctatum</i> (Mill.) S.F. Blake | Amplia distribución (20 estados de la República Mexicana) | Hierba del venado Mal de ojo/ Mal ojo Pioja/ Piojo Pipisca de venado Quelite Piojillo (náhuatl) susuk xiiw (maya) |
| <i>P. ruderale</i> (Jacq.) Cass. | Amplia distribución (25 estados de la República Mexicana) | Pápalo quelite Tepelcasho Papaloquelita Tepegua/Tepehua |
| <i>P. scoparium</i> A. Gray | Chihuahua Coahuila Durango Nuevo León Tamaulipas Zacatecas | Hierba del venado Jarilla Romerillo |
| <i>P. tridentatum</i> Benth. | Baja California Norte Baja California Sur | <i>No especificado</i> |
| <i>P. viridiflorum</i> (Kunth) DC. | Guerrero Guanajuato Hidalgo Jalisco Michoacán Morelos Oaxaca Querétaro Veracruz | Hierba del venado Pápalo Tepegua |
| <i>P. warnockii</i> R.R. Johnson | Amplia distribución (20 estados de la República Mexicana) | <i>No especificado</i> |
| <i>P. zimapanum</i> B.L. Turner | Hidalgo | <i>No especificado</i> |

2.2 Estudios químicos del género *Porophyllum*.

Desde el punto de vista químico, sólo las especies *P. ruderale*, *P. gracile*, *P. obscurum*, *P. scoparia*, *P. riedelii* y *P. linaria*, han sido investigadas. Los metabolitos secundarios aislados y caracterizados en estos estudios pertenecen a las categorías de los flavonoles derivados de la quercetina, compuestos aromáticos simples y derivados de tiofeno, además de monoterpenos y sesquiterpenos como componentes principales de los aceites esenciales (**Figura 2**) (Bohlmann *et al.*, 1983;1984; Baren *et al.*, 1994; Guillet *et al.*, 1998; Labuckas *et al.*, 1999; Bohm *et al.*, 2001; Postigo *et al.*, 2019; Vázquez-Atanacio *et al.*, 2021).

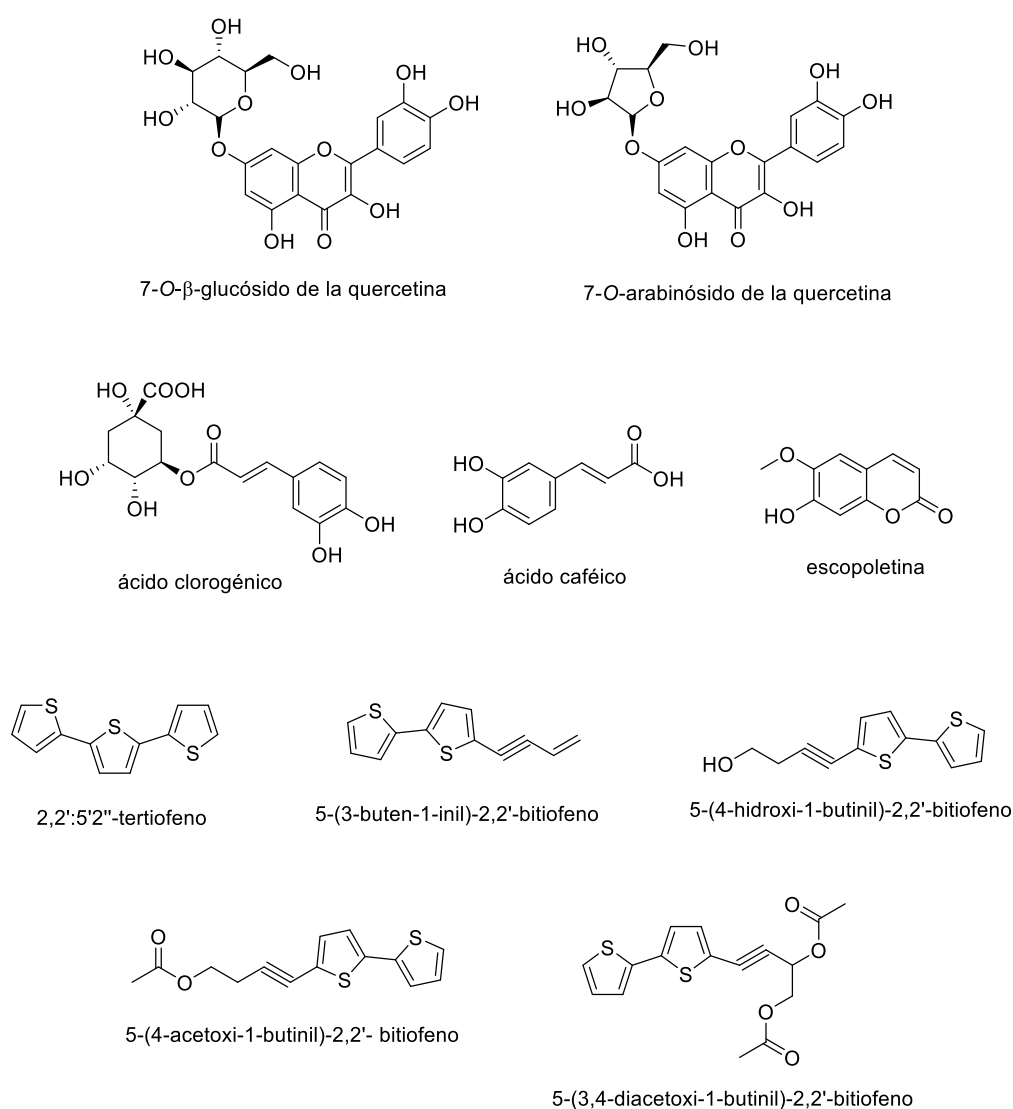


Figura 2. Ejemplos selectos de metabolitos secundarios aislados del género *Porophyllum*.

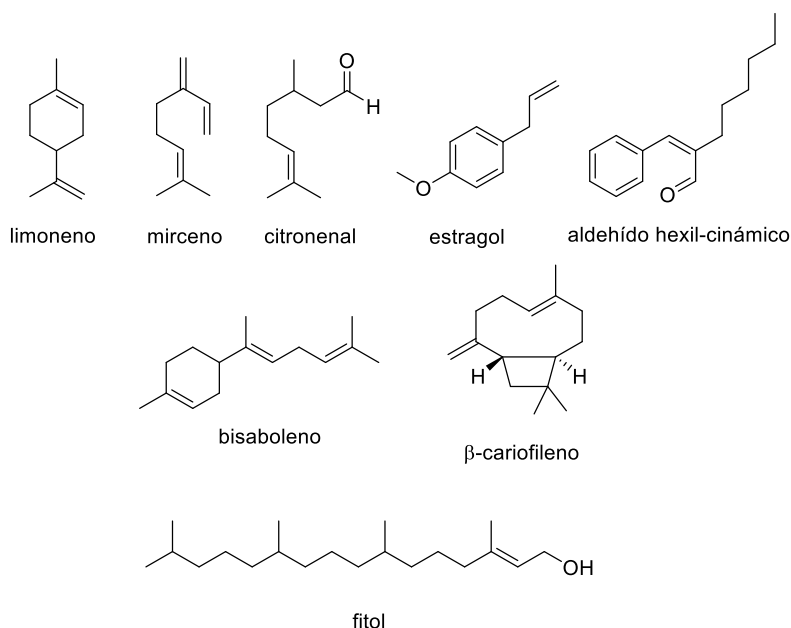
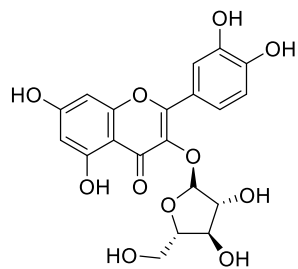


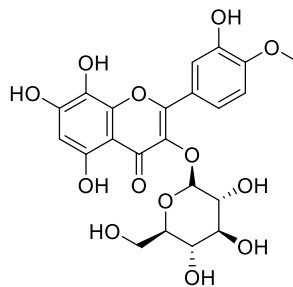
Figura 2. Ejemplos selectos de metabolitos secundarios aislados del género *Porophyllum* -cont.-.

En particular el estudio químico de las partes aéreas de *P. ruderale*, considerada la especie más representativa del género, ha permitido la identificación de flavonoides y derivados de tiofeno (Bohlmann *et al.*, 1980; Bohm *et al.*, 2001; Takahashi *et al.*, 2011; 2013; Ibrahim *et al.*, 2015; Jácomo *et al.*, 2015). El aceite esencial es rico en monoterpenos (sabineno, mirceno, ocimeno, pineno, β-cariofileno, felandreno, limoneno, terpinen-4-ol, α-copaeno, isosafrol, 1-undeceno, decanal, fitol, entre otros) (**Figura 3**; Andrade *et al.*, 1994; Guillet *et al.*, 1998; Loayza *et al.*, 1999; Barbosa *et al.*, 2002; Souza *et al.*, 2003; Fonsceca *et al.*, 2006; Rondón *et al.*, 2008; Fontes-Jr *et al.*, 2012; Héthelyi *et al.*, 2012; Raggi *et al.*, 2015; Conde-Hernández *et al.*, 2017; Rodrigues *et al.*, 2019; Vázquez-Atanacio *et al.*, 2021).

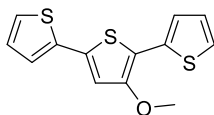
El fitol y el ácido linoleico componentes principales del aceite esencial también son los compuestos activos. El ácido linoleico es un ácido graso esencial que debe consumirse para una salud adecuada y desempeña un papel especial en el cuidado de la salud del corazón. Estudios clínicos han demostrado que reemplazar las grasas saturadas con ácido linoleico reduce el colesterol total y LDL. También hay evidencia de que este metabolito mejora la sensibilidad a la insulina y la presión arterial (Marangoni *et al.*, 2020; Zong, *et al.*, 2019).



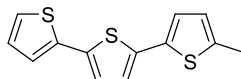
avicularina



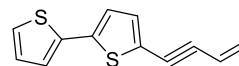
3-O-β-glucósido de la 4-metil-éter-gosipetina



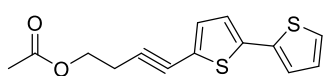
3'-metoxi- 2,2':5'2''-tertiofeno



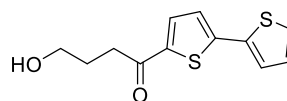
5-metil-2,2':5'2''-tertiofeno



5-(3-buten-1-inil)-2,2'-bitiofeno



5-(4-acetoxi-1-butilil)-2,2'-bitiofeno



5-(4-hidroxi-1-butanona)-2,2'-bitiofeno

Figura 3. Ejemplos selectos de metabolitos secundarios aislados de la especie *P. ruderale*.

2.3 Generalidades sobre *Porophyllum linaria* (Cav.) DC. (Asteraceae).

Porophyllum linaria (Cav.) DC. (Sinónimo: *Porophyllum tagetoides* Kunth) (**Figura 4**) es una planta endémica de México y se encuentra distribuida principalmente en los estados de Aguascalientes, Coahuila, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí y Veracruz donde es comúnmente conocida como chepiche, pepicha o pipicha. Los individuos de esta especie son hierbas perennes de clima cálido, con un aroma intenso similar al del pino y la menta que crece de 10 a 50 cm de altura. Sus tallos son erectos, glabros, ramificados desde la porción inferior; sus hojas tienen forma de aguja de pino sésiles, lineares y aplanadas, base cuneada, ápice largamente acuminado, con margen sinuado y glándulas diminutas en 2 hileras; sus inflorescencias son terminales generalmente como cabezuelas solitarias erectas con flores de rojo a púrpura (Jiménez *et al.*, 2012; Vázquez-Cruz *et al.*, 2018; Villarreal-Quintanilla *et al.*, 2008).

Las hojas tiernas de *P. linaria* presenta un fuerte sabor parecido al cilantro con matices de limón y anís que se consumen crudas o como condimento en la preparación de salsas típicas y platillos (Hernández-Cruz *et al.*, 2019; Jiménez *et al.*, 2012).



Figura 4. *Porophyllum linaria* (Cav.) DC. (Asteraceae) (Sinónimo: *P. tagetoides* Kunth) [imágenes tomadas de Global Biodiversity Information Facility (GBIF, 2021)].

La especie es usada en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de enfermedades inflamatorias. El extracto orgánico de esta planta presenta actividad antioxidante (Jiménez *et al.*, 2012) y un ligero efecto contra el daño renal ocasionado por enfermedades crónicas como la diabetes (Vázquez-Cruz *et al.*, 2018). Por otra parte, el extracto acuoso presenta una importante actividad antinociceptiva y antiinflamatoria, que valida su uso etnomédico (Segura *et al.*, 2019). El aceite esencial tiene un efecto repelente sobre el gorgojo de maíz (*Sitophilus zeamais*) (Hernández-Cruz *et al.*, 2019) además de un efecto antifúngico contra diferentes cepas de hongos presentes en los granos de trigo almacenados (Juárez *et al.*, 2015), lo que la convierte en una alternativa natural al uso de plaguicidas y fungicidas químicos sintéticos utilizados para la protección de estos granos.

Por otra parte, los estudios químicos realizados a la fecha se enfocan en el análisis de la composición del aceite esencial. Los metabolitos más importantes identificados en la esencia son el citronelal, el β -cariofileno, el mirceno, el limoneno, el bisaboleno, el aldehído hexil-cinámico, el 1-undeceno, el ácido linoleico, el fitol, el ácido palmítico, el estragol, el nonanal, y el decanal. Otros productos identificados a partir de esta especie son la vitamina C, carotenoides y taninos (Pérez-Gutiérrez *et al.*, 1996; Jiménez *et al.*, 2012; Juárez *et al.*, 2015; Hernández-Cruz *et al.*, 2019; Vázquez-Atanacio *et al.*, 2021).

2.4 Antecedentes del género *Dyssodia*.

El género *Dyssodia* fue descrito por primera vez en el año de 1969 por Strother, quien lo asoció filogenéticamente con los géneros *Adenophyllum*, *Boeberastrum*, *Boeberoides*, *Comaclinium*, *Dysodiopsis* y *Tkymophylla* para describir a 32 especies de hierbas aromáticas anuales o perenes; de tallos erectos a procumbentes de 10 a 30 cm de altura, generalmente ramificados desde la porción inferior con hojas basales alternadas que contienen glándulas oleíferas submarginales. La disposición de sus flores es terminal o axial en corimbos densos o cabezuelas solitarias y liguladas de pueden ser rojas, amarillas, amarillo-anaranjado con tintes rojizos y rara vez blancas (Strother, 1986; Villarreal-Quintanilla *et al.*, 2008).

Posteriormente, en el año de 1986 se realizó una reclasificación de las 32 especies pertenecientes al género, y en la actualidad se reconocen solo a cuatro individuos pertenecientes al género, las especies *D. decipiens* (Bartl.) M.C. Johnst., *D. papposa* (Vent.) Hitchc., *D. pinnata* (Cav.) B.L. Rob. y *D. tagetiflora* Lag., distribuidas desde el sur de Canadá hasta Guatemala, principalmente en México (Strother, 1986; Bohm *et al.*, 2001).

Las especies *D. tagetiflora*, *D. pinnata* y *D. decipiens* han sido investigadas desde el punto de vista químico. Los metabolitos aislados y caracterizados en estos estudios incluyen derivados del tiofeno, como los principales compuestos en este género (**Figura 5**) (Bohlmann *et al.*, 1976; 1979; Downum *et al.*, 1984; Pérez *et al.*, 2004; García *et al.*, 2018; Arciniegas *et al.*, 2019), así como flavonoles y glucósidos de flavonol, como la avicularina, el hiperósido, la quercetina y derivados, la quercitrina, la quercetagetina, entre otros (Arciniegas *et al.*, 2019; Estrella *et al.*, 2019). El aceite esencial de *D. tagetiflora* presenta como principales componentes al limoneno, al α -terpineno, el β -terpineno y el α -ocimeno, por otra parte, la verbenona, el limoneno, el β -cariofileno y el linalool son los constituyentes principales en *D. decipiens* (García *et al.*, 2018; Pacheco-Hernández *et al.*, 2020).

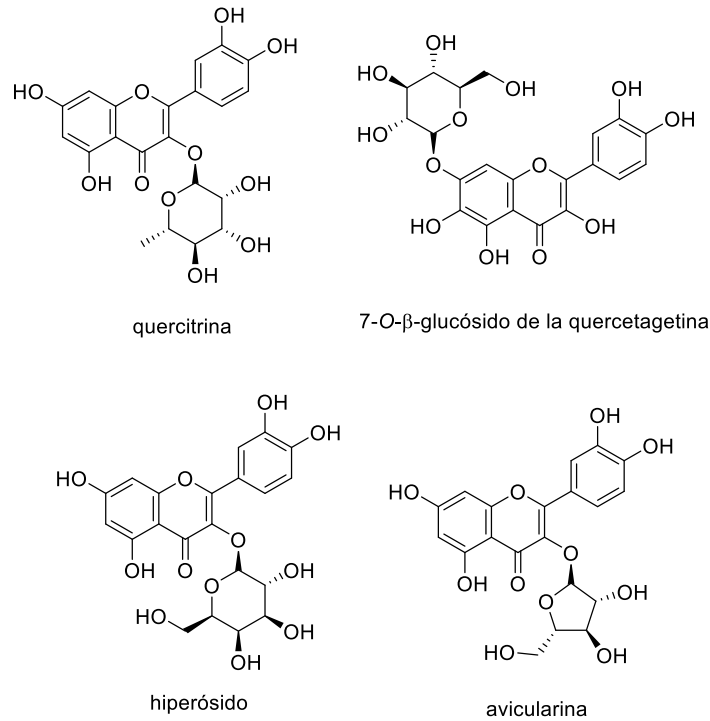


Figura 5. Ejemplos selectos de metabolitos secundarios aislados del género *Dyssodia*.

Popularmente la población del pueblo Otomí y las poblaciones mestizas de Amealco y Tolimán, en el estado de Querétaro, utilizan a *D. pinnata* para el tratamiento de “dolencias gastrointestinales particularmente diarrea y el dolor de estómago” (Aguilar *et al.*, 1994; Rojas *et al.*, 1999; Arciniegas *et al.*, 2019). Otros usos medicinales son como remedio contra la picadura de la hormiga roja de fuego, para el tratamiento de la enfermedad renal, vesical y sudoración abundante (Shemluck, 1982).

2.5 Generalidades sobre *Dyssodia papposa* (Vent.) A.S. Hitchc. (Asteraceae).

La especie *Dyssodia papposa* (Vent.) A.S. Hitchc. (Asteraceae) (**Figura 6**) designada popularmente con los nombres de caléndula fétida, flamenquilla o hierba del arriero, es una especie nativa de gran parte de América central y del norte, distribuida principalmente en las regiones áridas de México. La especie es una planta perenne que florece de agosto a diciembre y crece hasta unos 30 cm de altura, principalmente en áreas alteradas por el hombre como pastizales, matorrales, orillas de caminos y terrenos en descanso. Su raíz es grande con

múltiples ramas erectas y ascendentes; sus hojas son opuestas pinnatífidas con flores liguladas en forma de cabezuelas naranjas a amarillas o con tintes rojizos. Una característica distintiva de esta especie es su fuerte aroma parecido al cempasúchil (Villarreal-Quintanilla *et al.*, 2008; Oldham *et al.*, 2011).



Figura 6. *Dyssodia papposa* (Vent.) A.S. Hitchc. (Asteraceae) [imágenes tomadas de Global Biodiversity Information Facility (GBIF, 2021)].

D. papposa, es una planta que se usa como loción ceremonial y sus semillas son molidas para consumo. Las hojas de la planta se utilizan para disminuir el dolor de cabeza y la fiebre, presenta actividad espasmolítica por lo que se ha reportado su uso frecuente en el tratamiento de desórdenes digestivos como diarrea, dolor de estómago y vomito (Shemluck, 1982; Argueta *et al.*, 1994); además de una importante actividad antibacteriana contra *Bacillus subtilis* (Pérez *et al.*, 2004) y un efecto antifúngico contra *Trichophyton mentagrophytes* (Gutiérrez-Lugo *et al.*, 1996). En el estado de Chihuahua se utiliza la infusión de la planta para el tratamiento de la diabetes (Bye, 2019).

Finalmente, son pocos los estudios químicos realizados sobre esta especie. En el extracto de metanol se han identificado algunos derivados del tiofeno (Bohlmann *et al.*, 1976; Downum

et al., 1983) y sus ésteres (Pérez *et al.*, 2004). Además, de O-glucósidos derivados de la quercetina y la quercetagina (**Figura 7**) (Bohm *et al.*, 2001).

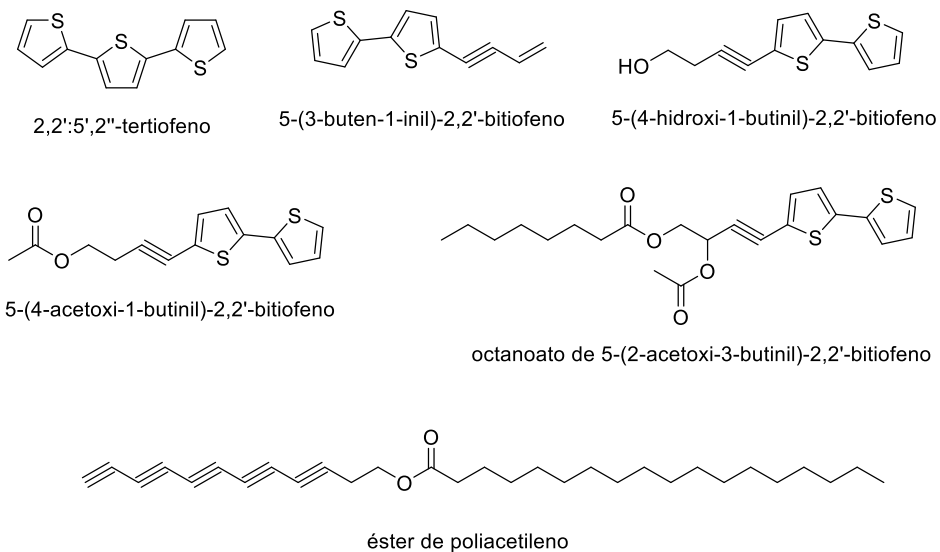


Figura 7. Ejemplos selectos de metabolitos secundarios aislados de la especie *D. papposa*.

3. Objetivos

El objetivo primordial del presente trabajo de tesis es realizar el estudio fitoquímico de las especies *Porophyllum linaria* (Cav.) DC. y *Dyssodia papposa* (Vent.) A.S. Hitchc., y así contribuir al conocimiento del metabolismo secundario presente en plantas de amplio uso medicinal y culinario.

Para el cumplimiento de este objetivo, se plantearon los siguientes objetivos particulares:

- a)** Preparar los extractos orgánicos a mediana escala de las especies seleccionadas mediante un proceso de maceración.
- b)** Realizar el fraccionamiento de los extractos obtenidos y separar los principios presentes en las fracciones seleccionadas, empleando métodos cromatográficos convencionales.
- c)** Caracterizar a los compuestos aislados mediante el empleo de técnicas espectroscópicas y espectrométricas.
- d)** Contribuir al conocimiento del contenido metabólico secundario de las especies *Porophyllum linaria* (Cav.) DC. y *Dyssodia papposa* (Vent.) A.S. Hitchc.

4. Parte experimental

4.1 Procedimientos generales.

4.1.1 Análisis cromatográficos.

La cromatografía en columna abierta (CCA) se realizó utilizando gel de sílice como adsorbente (Kieselgel 60 Merck; tamaño de partícula 0.063-0.200 μm , malla de 70-230 μm ASTM). Los análisis cromatográficos cualitativos, en las modalidades de cromatografía en capa fina analítica (ccf) y cromatografía en capa fina preparativa (ccdp), se realizaron siguiendo las técnicas convencionales en placas de aluminio y/o de vidrio, respectivamente de diferentes dimensiones recubiertas con gel de sílice (60 F₂₅₄ Merck, malla de 3.5-7.0 μm ASTM) de 0.25 mm de espesor (Marcel, 1992). Como agente revelador se empleó una solución de sulfato cérico amoniacal, para el desarrollo de color fue necesario calentar durante dos minutos a 100 °C aproximadamente.

La cromatografía de gases (CG) se realizó en un cromatógrafo Agilent® 6890N (Agilent Technology, Palo Alto, Calif., USA) equipado con un detector de masas (LECO-TOF). Todos los análisis se realizaron en una columna capilar DB-5 0.18 μm (Supelco®) [0.18 mm \times 10 m] utilizando un gradiente de temperatura desde 40 hasta 340 °C (4 °C/min; 40 minutos). El helio se utilizó como gas acarreador (1 mL/min). La identificación de los componentes presentes en las muestras analizadas se realizó mediante el análisis de los índices de retención, y la comparación de los espectros de masas con aquellos reportados en la base de datos (NIST, diciembre 2005).

La técnica de microextracción en fase sólida (SPME) se realizó con fibras de polidimetilsiloxano (PDMS) de un cm de longitud (100 μm ; Supelco® Technology, St. Louis, Mo., U.S.A.). Previo a cada análisis, todas las fibras fueron acondicionadas en el CG a 250 °C durante dos horas. El proceso de extracción se realizó durante 10 minutos a temperatura ambiente, a partir de 500 mg del material vegetal seco y/o fresco, 75 mg de NaCl y 5 mL de agua destilada. Transcurrido el tiempo de extracción, la fase sólida se introdujo en el CG para su subsecuente análisis, utilizando las mismas condiciones analíticas indicadas en el párrafo anterior. Todos los análisis se realizaron por triplicado. El registro de los espectros se efectuó

en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria (USAI) de la Facultad de Química, UNAM.

4.1.2 Caracterización de los productos naturales.

Los espectros en el IR (película o pastilla) se registraron en un espectrofotómetro de rejilla Modelo 599-B, marca Perkin-Elmer. Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear Protónica (RMN-¹H, 400 MHz) y de carbono 13 (RMN-¹³C, 100 MHz) se registraron en un aparato Unity-Inova, marca Varian utilizando CDCl₃ como disolvente y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.

Los espectros de masas generados por la técnica de ionización por electrospray (ESI) en los modos positivo y negativo se registraron en un espectrómetro de masas SQD2 utilizando un barrido de 100 a 1000 unidades de masa-carga (m/z) por segundo.

4.2 Material vegetal.

Las hojas de la especie medicinal *P. linaria* (Cav.) DC. fueron recolectadas en el Municipio Ozumba de Alzate, estado de México, México en mayo de 2019 [Lote 1; Bye y Linares 39516]. Un segundo lote de la especie fue adquirido comercialmente en el mercado del pueblo de Santa María Tomatlán, alcaldía Iztapalapa, CDMX, en octubre del año 2019. Finalmente, un tercer lote de la especie se adquirió en el mercado de la Basílica de Guadalupe, alcaldía Gustavo A. Madero, CDMX, en octubre del año 2019.

La especie *D. papposa* (Vent.) A.S. Hitchc. (partes aéreas) se recolectó en el municipio de Chihuahua, estado de Chihuahua, México en agosto de 2019 [Bye y Linares 39043].

La recolecta y clasificación de las dos especies estuvieron a cargo del Dr. Robert Bye y la M. en C. Edelmira Linares (Instituto de Biología, UNAM).

4.3 Preparación de los extractos vegetales orgánicos.

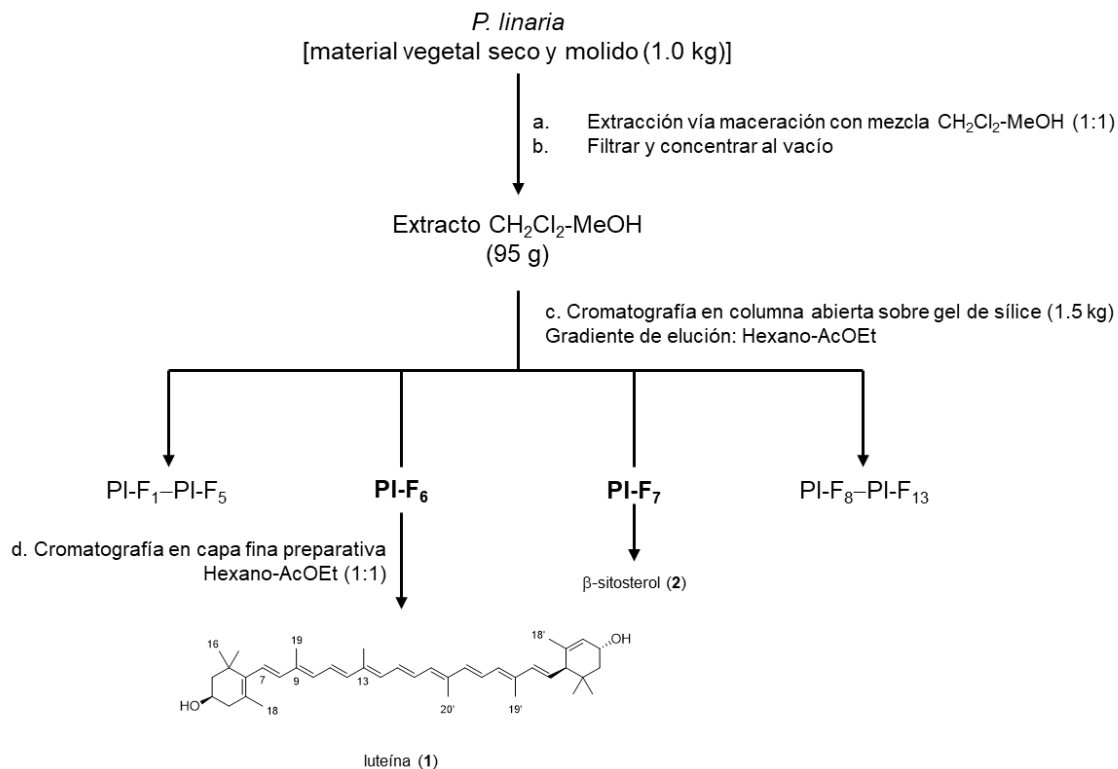
El proceso de desecación del material vegetal se llevó a cabo a temperatura ambiente. Una vez desecado, la droga cruda se fragmentó en un molino de cuchillas Modelo Willey 4. El material vegetal seco y molido de la especie *P. linaria* (1.0 kg) se extrajo mediante un proceso de maceración utilizando una mezcla de CH₂Cl₂-MeOH en una proporción (1:1). El extracto resultante se filtró y concentró al vacío obteniéndose 95 g de un residuo verdoso. De la misma forma 800 g de hojas secas y molidas de *D. papposa* se maceraron con una mezcla de CH₂Cl₂-MeOH (1:1) para así obtener 63.1 g de un residuo café-verdoso.

La preparación de los aceites esenciales [*P. linaria*, Lotes 1–3] se realizó mediante la técnica de hidrodestilación a partir de 300 g de material vegetal fresco y/o seco y 1.5 L de agua destilada. Al término de la extracción, la esencia se separó del destilado, mediante un proceso de partición con diclorometano. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró al vacío.

4.4 Estudio químico de las especies objeto de estudio.

4.4.1 Fraccionamiento primario del extracto total de *P. linaria*.

El extracto resultante (95 g) se sometió a un fraccionamiento primario utilizando gel de sílice como fase estacionaria (1.5 kg), el proceso de elución se efectuó con un gradiente de polaridad entre Hexano-AcOEt. Este proceso generó un conjunto de 13 fracciones primarias (PI-F₁–PI-F₁₃). En el **Esquema 1** se resumen los procesos de extracción y fraccionamiento primario.



Esquema 1. Extracción y fraccionamiento primario de la especie *P. linaria*.

El proceso cromatográfico correspondiente al fraccionamiento primario del extracto total de *P. linaria* se resume en el **Cuadro 3**.

Cuadro 3. Fraccionamiento primario mediante cromatografía en columna abierta del extracto total de *P. linaria*.

| Fase móvil | Proporción | Eluatos | Fracciones reunidas | Clave |
|------------|------------|---------|---------------------|--------------------------|
| Hexano | 100 | 1-14 | 1-26 | PI-F₁ |
| Hex-AcOEt | 9:1 | 15-32 | 27-38 | PI-F₂ |
| | 8:2 | 33-52 | 39-52 | PI-F₃ |
| | 7:3 | 53-70 | 53-61 | PI-F₄ |
| | 6:4 | 71-94 | 62-72 | PI-F₅ |
| | 4:6 | 95-103 | 73-81 | PI-F₆ |
| | 3:7 | 104-124 | 82-99 | PI-F₇ |
| | 2:8 | 125-143 | 100-103 | PI-F₈ |
| | 1:9 | 144-154 | 104-111 | PI-F₉ |
| | AcOEt | 100 | 155-194 | 112-132 |
| | | | 133-149 | PI-F₁₁ |
| | | | 150-172 | PI-F₁₂ |
| | | | 173-194 | PI-F₁₃ |

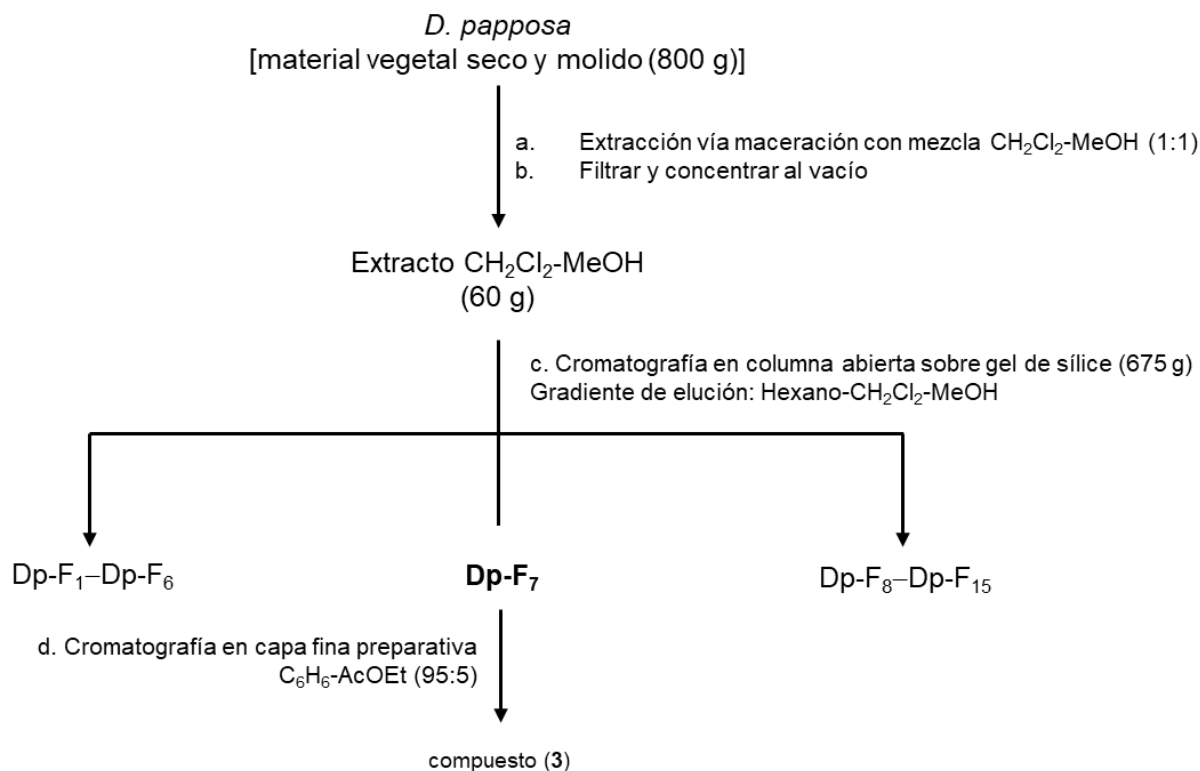
4.4.2 Aislamiento de la luteína (1) y el β -sitosterol (2) a partir de las fracciones PI-F₆ y PI-F₇.

De la fracción PI-F₆ (288 mg) mediante ccdp [Hex-AcOEt (1:1)] se obtuvieron 15 mg de un sólido naranja identificado como la luteína (1). De la fracción secundaria PI-F₇ precipitaron 12 mg de unos cristales de color blanco con punto de fusión 138-140 °C. Este compuesto se identificó como el β -sitosterol (2) por comparación con una muestra auténtica.

4.5 Estudio químico de la especie *Dyssodia papposa*.

4.5.1 Fraccionamiento primario del extracto total de *D. papposa*.

El extracto total de la especie *D. papposa* (60 g) se fraccionó mediante una cromatografía en columna abierta, empleándose como fase estacionaria gel de sílice (675 g); el proceso de elución se efectuó con un gradiente de polaridad Hex-CH₂Cl₂-MeOH en diferentes proporciones (**Cuadro 4**). Este proceso permitió la obtención de 15 grupos de fracciones primarias (**Esquema 2**). Las fracciones resultantes fueron analizadas mediante la espectroscopía en el infrarrojo (IR) para establecer la presencia de grupos funcionales de interés, considerando que la planta no ha sido objeto de estudio químico. A partir de este análisis y considerando la complejidad cromatográfica, así como el rendimiento obtenido, se seleccionó a la fracción primaria Dp-F₇ para continuar con el estudio químico.



Esquema 2. Extracción y fraccionamiento primario de la especie *D. papposa*.

Cuadro 4. Fraccionamiento primario mediante cromatografía en columna abierta del extracto total de *D. papposa*.

| Fase móvil | Proporción | Eluatos | Fracciones reunidas | Clave |
|---------------------------------------|---------------------------------|---------|---------------------|--------------------------|
| Hexano | 100 | 1-17 | 1-8 | Dp-F₁ |
| Hex-CH ₂ Cl ₂ | 9:1 | 18-36 | 9-15 | Dp-F₂ |
| | 8:2 | 37-53 | 16-24 | Dp-F₃ |
| | 7:3 | 54-64 | 25-39 | Dp-F₄ |
| | 6:4 | 65-82 | 40-61 | Dp-F₅ |
| | 1:1 | 83-110 | 62-68 | Dp-F₆ |
| | 4:6 | 111-124 | 69-75 | Dp-F₇ |
| | 3:7 | 125-140 | 76-85 | Dp-F₈ |
| | 2:8 | 141-158 | 86-101 | Dp-F₉ |
| | 1:9 | 159-177 | 102-107 | Dp-F₁₀ |
| | CH ₂ Cl ₂ | 100 | 178-193 | 108-116 |
| CH ₂ Cl ₂ -MeOH | 9:1 | 194-195 | 117-133 | Dp-F₁₂ |
| | | | 134-144 | Dp-F₁₃ |
| | | | 145-164 | Dp-F₁₄ |
| | | | 165-195 | Dp-F₁₅ |

4.5.2 Aislamiento del compuesto 3 a partir de la fracción primaria Dp-F₇.

La resolución cromatográfica de la fracción (Dp-F₇, 340 mg) mediante una cromatografía en columna abierta sobre gel de sílice (30 g) utilizando como fase móvil Hex-AcOEt, generó un conjunto de 10 fracciones secundarias (**Cuadro 5**).

Cuadro 5. Fraccionamiento secundario mediante cromatografía en columna abierta de la fracción primaria Dp-F₇.

| Fase móvil | Proporción | Eluatos | Fracciones reunidas | Clave |
|------------|------------|---------|---------------------|-------------------------|
| Hexano | 100 | 1-9 | 1-8 | Dp-F ₇ -I |
| Hex-AcOEt | 95:5 | 10-36 | 9-15 | Dp-F ₇ -II |
| | 9:1 | 37-51 | 16-24 | Dp-F ₇ -III |
| | 85:15 | 52-68 | 25-39 | Dp-F ₇ -IV |
| | 8:2 | 69-74 | 40-61 | Dp-F ₇ -V |
| | 7:3 | 75-81 | 62-68 | Dp-F ₇ -VI |
| | 6:4 | 82-86 | 69-75 | Dp-F ₇ -VII |
| | 1:1 | 87-90 | 76-85 | Dp-F ₇ -VIII |
| | | | 86-101 | Dp-F ₇ -IX |
| | | | 102-107 | Dp-F ₇ -X |

La resolución de la fracción secundaria Dp-F₇-III mediante ccdp [C₆H₆-AcOEt (95:5)] permitió la obtención de 2.1 mg de un residuo oleoso amarillo identificado como el compuesto **3**. Este producto se encuentra en proceso de caracterización.

5. Resultados y discusión

5.1 Selección primaria de las especies *Porophyllum linaria* (Cav.) DC. y *Dyssodia papposa* (Vent.) A.S. Hitchc como candidatos para la obtención de principios activos.

La selección primaria de las especies *P. linaria* y *D. papposa* se realizó con base en consideraciones de tipo etnomédico. Este criterio tiene su fundamento en el hecho de que las plantas utilizadas en las prácticas médicas populares han demostrado ser de primordial importancia para el descubrimiento de principios bioactivos con posible aplicación terapéutica (Thomford, *et al.*, 2018; Mata, *et al.*, 2019; Newman, *et al.*, 2020). Una vez realizado el proceso de selección primaria, se procedió a la recolección de las especies y a la preparación de los extractos orgánicos en mediana escala.

5.2 Aislamiento y purificación de los principios activos de la especie *P. linaria*.

La preparación del extracto vegetal destinado a la separación y purificación de los metabolitos secundarios presentes en la especie *P. linaria* se realizó mediante un proceso de maceración con una mezcla de CH₂Cl₂-MeOH (1:1) como disolvente. Enseguida el extracto orgánico se fraccionó mediante una cromatografía en columna abierta, usando gel de sílice como fase estacionaria. Este proceso generó un conjunto de 13 fracciones primarias [PI-F₁–PI-F₁₃].

Posteriormente, la resolución de las fracciones PI-F₁ y PI-F₁₂ mediante la aplicación de diversas técnicas cromatográficas condujo al aislamiento de la luteína (**1**), es la xantófila más abundante en las plantas superiores, participa en los mecanismos de transferencia de energía durante la fotosíntesis ya que es uno de los pigmentos captador de luz y bajo su forma esterificada, se distribuye ampliamente en frutas, flores y hojas amarillas en los meses de otoño (Young, *et al.*, 1993; Stange, 2016) y el β-sitosterol (**2**).

5.2.1 Caracterización de los compuestos aislados.

De manera general, la caracterización de los compuestos aislados en el presente estudio se realizó mediante la aplicación de técnicas espectroscópicas y espectrométricas.

5.2.1.1 Caracterización de la luteína (1).

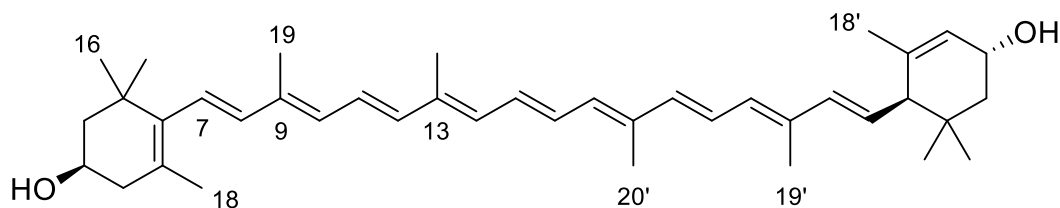
La luteína (1), fue aislada como un sólido naranja, con un punto de fusión de 191-193 °C. Las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas del producto se resumen en la **Tabla 1**.

Las constantes espectroscópicas antes mencionadas, así como consideraciones de tipo quimiotaxonómico, permitieron sugerir la naturaleza carotenoide del compuesto (Prapalert *et al.*, 2016 y referencias ahí citadas). Los carotenoides son pigmentos naranjas o amarillos producidos por algas y plantas superiores, que cumplen con una función protectora.

El análisis detallado de los espectros de RMN (**Espectros 1 y 2**) indicaron que el producto (1) era la luteína (Prapalert *et al.*, 2016 y referencias ahí citadas). Las características más relevantes observadas se indican a continuación:

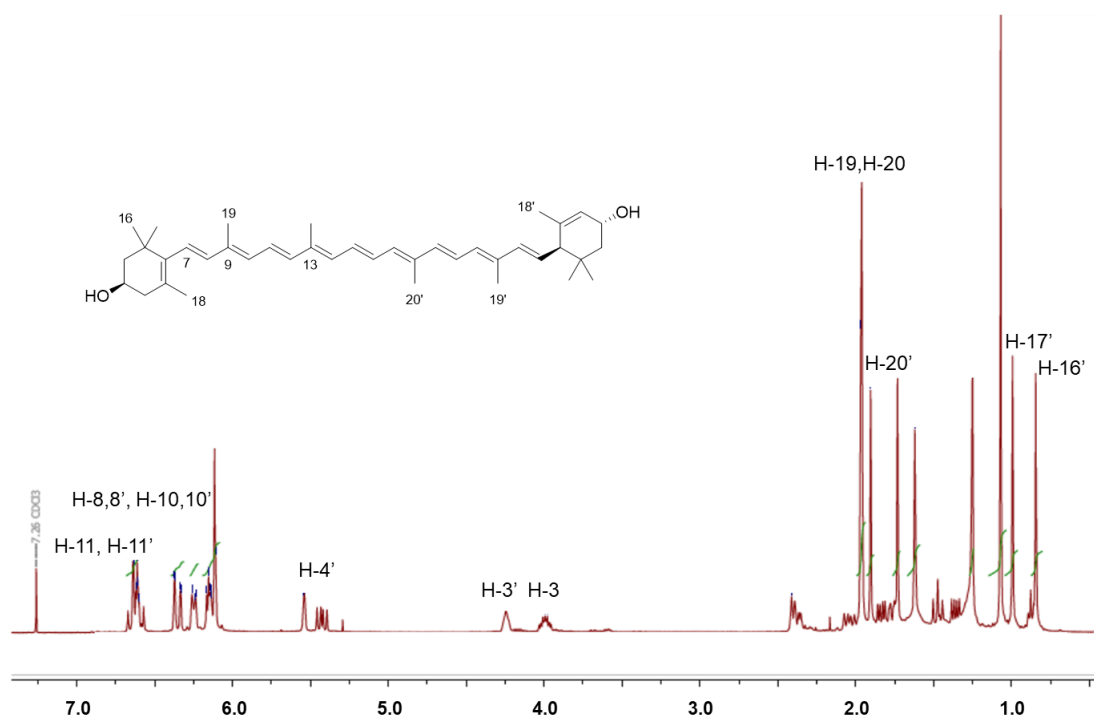
- 1) En δ_H 3.99 (sa) y 4.24 (m) se observan dos señales múltiples diagnósticas para la presencia de dos grupos metino de carbinol.
- 2) En δ_H 5.54 (sa) se observa una señal congruente con la presencia de un protón vinílico (H-4').
- 3) De manera adicional, en la región δ_H 6.64–6.11 (9 H) se aprecian un conjunto de señales diagnósticas con la presencia de dobles enlaces conjugados (H-7,7', H-8,8', H-10,10', H-11,11', H-12,12', H-14,14', H-15,15', H-16,16' y H-17,17').
- 4) En δ_H 5.48 (dd, $J = 15.4, 10.0$ Hz) se observa un doble de doble atribuible al protón H-7' del núcleo base.
- 5) En δ_H 2.36 (d, $J = 16.9$ Hz) / 2.05 (m); 1.77 (dd, $J = 12.9, 3.4$ Hz) / 1.47 (dd, $J = 12.9, 2.1$ Hz) y 1.84 (dd, $J = 12.9, 6.7$ Hz) / 1.36 (dd, $J = 12.9, 6.7$ Hz) se observan seis conjuntos de señales diagnósticas con la presencia de tres grupos metileno (H-4, H-2 y H-2', respectivamente).
- 6) Finalmente, en δ_H 1.97, 1.96, 1.90, 1.73, 1.62, 1.07, 0.99 y 0.84 se aprecian las señales características para diez grupos metilo (H-16,16', H-17,17', H-18,18', H-19,19' y H-20,20').

Tabla 1. Constantes espectroscópicas y espectrométricas de la luteína (1).

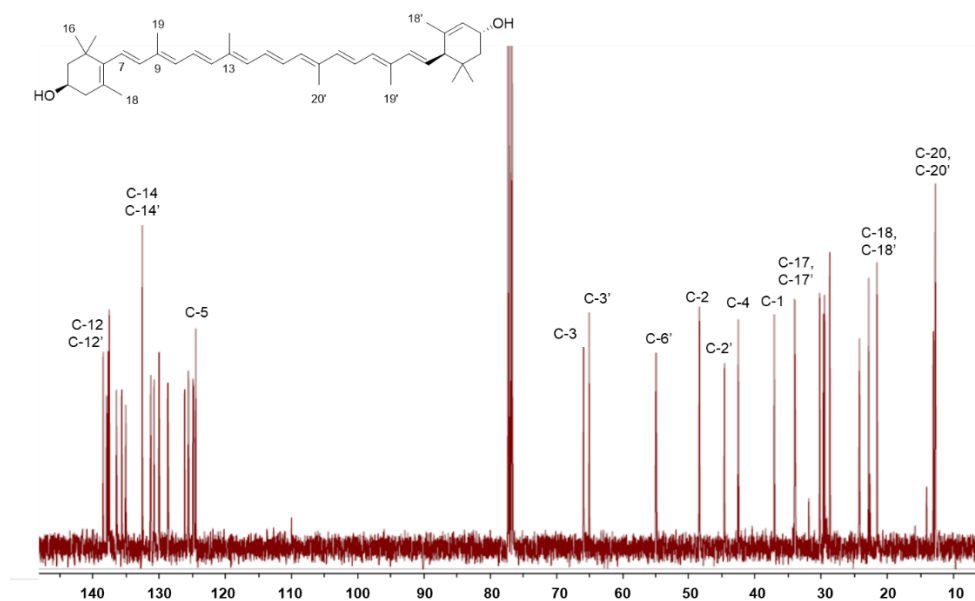


| | |
|---|--|
| Fórmula molecular | C ₄₀ O ₂ H ₅₆ |
| RMN- ¹ H (CDCl ₃) 400 MHz (Espectro 1) | 1.77 (dd, <i>J</i> = 12.9, 3.4 Hz, H-2a), 1.47 (dd, <i>J</i> = 12.9, 2.1 Hz, H-2b), 3.99 (m, H-3), 2.36 (d, <i>J</i> = 16.9 Hz, H-4a), 2.05 (d, <i>J</i> = 16.9 Hz, H-4b), 6.10 (m, H-7), 6.12 (m, H-8), 6.16 (m, H-10), 6.65 (m, H-11), 6.36 (m, H-12), 6.27 (m, H-14), 6.64 (m, H-15), 1.07 (s, H-16, H-17), 1.73 (s, H-18), 1.97 (s, H-19, H-20), 1.84 (dd, <i>J</i> = 12.9, 6.7 Hz, H-2'a), 1.36 (dd, <i>J</i> = 12.9, 6.7 Hz, H-2'b), 4.24 (sa, H-3'), 5.54 (sa, H-4'), 2.41 (d, H-6'), 5.48 (dd, <i>J</i> = 15.4, 10.0 Hz, H-7'), 6.12 (m, H-8'), 6.14 (m, H-10'), 6.59 (m, H-11'), 6.35 (m, H-12'), 6.23 (m, H-14'), 6.62 (m, H-15'), 1.96 (s, H-20'), 1.90 (H-19'), 1.62 (s, H-18'), 0.99 (s, H-17'), 0.84 (s, H-16'). |
| RMN- ¹³ C (CDCl ₃) 100 MHz (Espectro 2) | 37.1, 34.0 (C-1, C-1'), 48.4, 44.6 (C-2, C-2'), 65.1, 65.9 (C-3, C-3'), 42.5, 124.5 (C-4, C-4'), 126.1, 137.9 (C-5, C-5'), 137.8, 54.9 (C-6, C-6'), 125.6, 128.7 (C-7, C-7'), 138.5 (C-8, C-8'), 135.7, 135.1 (C-9, C-9'), 131.3, 130.8 (C-10, C-10'), 124.9, 124.8 (C-11, C-11'), 137.6, 137.5 (C-12, C-12'), 136.5, 136.4 (C-13, C-13'), 132.5 (C-14, C-14'), 130.1, 130.0 (C-15, C-15'), 28.7, 24.2 (C-16, C-16'), 30.2, 29.5 (C-17, C-17'), 21.6, 22.8 (C-18, C-18'), 12.8, 13.1 (C-19, C-19'), 12.7 (C-20, C-20'). |

Con base en las evidencias presentadas, el compuesto **1** se identificó como la luteína, carotenoide presente en muchas especies vegetales (Young *et al.*, 1993; Stange, 2016).



Espectro 1. ¹H-RMN de la luteína (**1**) (CDCl₃, 400 MHz).



Espectro 2. ¹³C-RMN de la luteína (**1**) (CDCl₃, 100 MHz).

5.2.1.2 Caracterización del β -sitosterol (2).

El β -sitosterol (2) identificado como un sólido cristalino color blanco con punto de fusión de 138-140 °C fue caracterizado por comparación de sus constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas con aquellas de una muestra auténtica.

5.2.2 Composición química del aceite esencial.

La identificación de los componentes presentes en el aceite esencial de la especie pipicha se realizó utilizando la cromatografía de gases (CG) acoplada a la espectrometría de masas (EM).

Los resultados obtenidos a partir de estos análisis se ilustran en la **Tabla 2** y en la **Figura 8**. El análisis de las esencias de los tres lotes de *P. linaria* reveló la presencia de 5, 15 y 18 compuestos que representan el 99.9, 99.6 y 99.5% de la composición total. Los productos fueron identificados mediante el cálculo de los índices de retención a partir de los cromatogramas de gases correspondientes y de los espectros de masas de los componentes de la esencia en la modalidad de impacto electrónico. Enseguida, los espectros así generados se compararon con aquellos de la base de datos del equipo y con los reportados en la literatura.

La característica más importante de las esencias de los Lotes 2 y 3 analizadas a partir de los perfiles cromatográficos obtenidos es el elevado porcentaje del α -pineno (13.6–20.0%) y el D-limoneno (19.8–20.1%). Además de los hidrocarburos decanal (8.9–9.2%) y 2-dodecenal (24.8–28.0%) (**Figura 8**). El análisis del aceite esencial de la planta fresca (Lote 1) presenta un perfil cromatográfico diferente, siendo el componente mayoritario la miristicina (77.7%) seguido por el isosafrol (12.5%).

Estos resultados se encuentran en armonía con aquellos realizados a la fecha que describen la composición del aceite esencial, en donde, los metabolitos más importantes identificados son el citronelal, el β -cariofileno, el β -mirceno, el D-limoneno, el α -pineno, además del bisaboleno, el ácido linoleico, el fitol, el ácido palmítico, el estragol, el nonanal y el decanal (Pérez-Gutiérrez *et al.*, 1996; Jiménez *et al.*, 2012; Juárez *et al.*, 2015; Hernández-Cruz *et al.*, 2019).

Tabla 2. Compuestos volátiles identificados por GC-EM a partir de los aceites esenciales de *P. linaria*.

| No. ^a | Compuesto | IR ^b | % de cada componente | | | Método de identificación ^c |
|------------------|--|-----------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------------------|
| | | | Lote 1 (material fresco) | Lote 2 (material seco) | Lote 3 (material seco) | |
| 1 | éster butílico del ácido acético | 211 | | 1.7 | | EM |
| 2 | 3-hexen-1-ol | 251 | | 2.1 | 1.9 | EM |
| 3 | α -pineno | 354 | | 20.0 | 13.6 | EM |
| 4 | <i>d</i> -limoneno | 377 | | 19.8 | 20.1 | EM |
| 5 | 1-etil-2-heptil-ciclopropano | 411 | | 2.1 | 2.0 | EM |
| 6 | nonanal | 417 | | | 3.8 | EM |
| 7 | decanal | 467 | | 8.9 | 9.2 | EM |
| 8 | 1-undecanol | 496 | | 0.9 | 1.0 | EM |
| 9 | 1-hepten-3-ol | 500 | | | 2.3 | EM |
| 10 | isosafrol | 506 | 12.5 | | | EM |
| 11 | 2-octilfurano | 507 | | 2.1 | 4.4 | EM |
| 12 | éster decílico del ácido acético | 552 | | | 2.5 | EM |
| 13 | hexadecanal | 553 | | | 2.5 | EM |
| 14 | dodecanal | 553 | | 1.8 | | EM |
| 15 | β -cariofileno | 563 | | | 1.0 | EM |
| 16 | (<i>E,E</i>)-2,6-nonadienal | 568 | | 1.7 | 2.1 | EM |
| 17 | 1-hexil-3-metil-ciclopentano | 569 | | | 1.9 | EM |
| 18 | (<i>Z</i>)-4-decenol | 572 | | 5.9 | 5.0 | EM |
| 19 | 2-dodecenal | 577 | | 28.0 | 24.8 | EM |
| 20 | germacreno D | 586 | 4.0 | | | EM |
| 21 | α -farneseno | 586 | 4.0 | | | EM |
| 22 | miristicina | 601 | 77.7 | | | EM |
| 23 | 8-fenil-1-octanol | 620 | | 1.0 | | EM |
| 24 | aromadendreno | 628 | 1.7 | | | EM |
| 25 | acetato de (11 <i>E</i>)-10-metil-11-tridecenol | 645 | | | 0.7 | EM |
| 26 | fitol | 784 | | 2.8 | | EM |
| 27 | 9-octadecenamida | 945 | | 0.8 | 1.1 | EM |
| Total | | | 99.9 | 99.6 | 99.5 | |

^aEl número de pico corresponde al indicado en la **Figura 8**. ^bIR índice de retención del cromatograma de gases en la columna DB-5. ^cEM = espectrometría de masas.

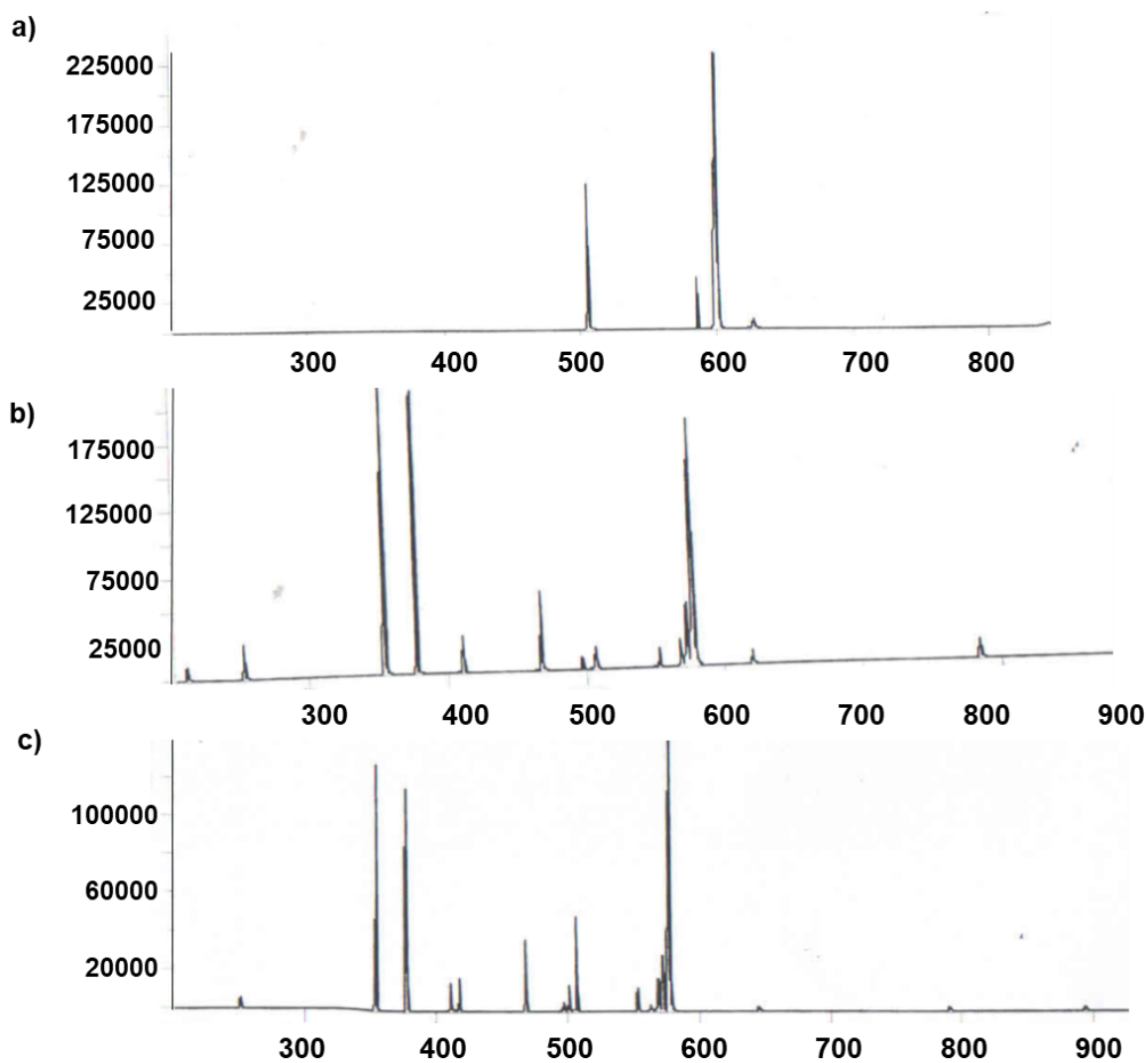


Figura 8. Cromatograma de gases correspondiente al aceite esencial obtenido a partir de las hojas de *P. linaria* analizado en una columna DB-5. **a)** Lote 1; **b)** Lote 2; **c)** Lote 3.

Enseguida, con la finalidad de complementar la información obtenida a partir del análisis de la esencia por CG-EM, y para establecer el contenido de los componentes volátiles con mayor detalle, se realizó un análisis de microextracción sólida en fase gaseosa (HS-SPME) solo del material vegetal seco del Lote 1.

Los resultados obtenidos a partir de estos análisis nos permitieron establecer que los mejores perfiles cromatográficos se obtuvieron con la fase sólida poco polar de PDMS para la especie analizada (**Figura 9**). El α -mirceno (18.8%), el d -limoneno (30.2%), el nonanal (15.2%), el 1-decanol (14.3%) y el 1-hepten-3-ol (15.1%), fueron identificados como los componentes volátiles más abundantes (**Figura 9**).

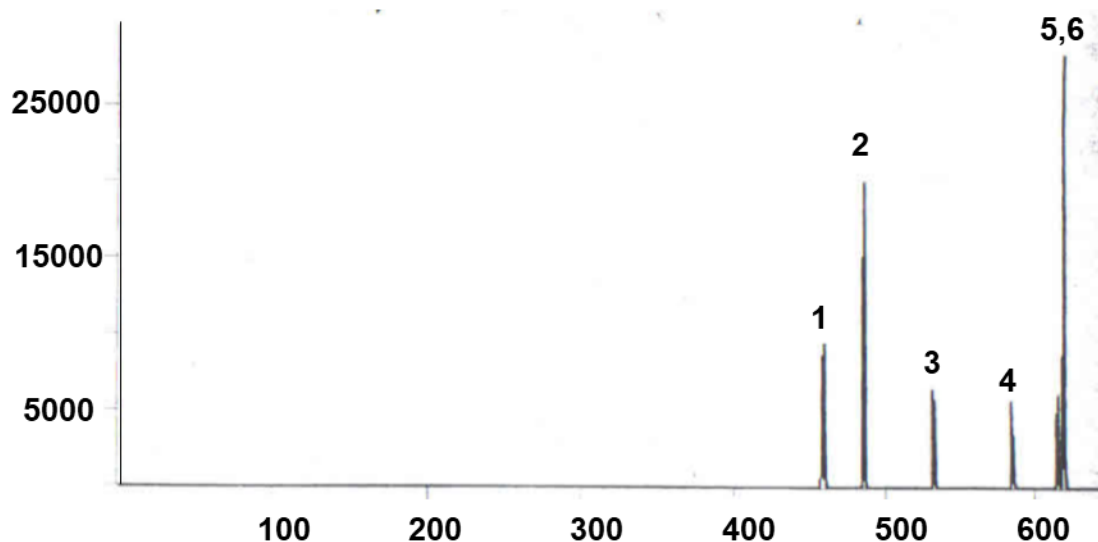


Figura 9. Cromatograma de gases de los componentes volátiles presentes en las hojas frescas de *P. linaria* analizados en una columna capilar DB-5 por la técnica de HS-SPME. Picos: α -mirceno (1); D-limoneno (2); nonanal (3); decanal (4); 1-decanol (5); 1-hepten-3-ol (6).

5.3 Aislamiento y purificación de los metabolitos secundarios activos de la especie *D. papposa*.

La preparación del extracto activo en mediana escala de la especie *D. papposa* se realizó mediante un proceso de maceración como se indicó en la sección experimental (inciso 3.3). Posteriormente, el extracto se fraccionó de manera preliminar mediante una cromatografía en columna abierta, usando gel de sílice como adsorbente. Este procedimiento permitió la obtención de 15 conjuntos de fracciones primarias (**Cuadro 4**, sección experimental). Cada una

de las fracciones primarias se analizó mediante el registro de sus espectros en el IR con la finalidad de detectar grupos funcionales de interés.

5.3.1 Caracterización del compuesto 3.

El compuesto **3** se aisló como un líquido oleoso amarillo este producto se encuentra en proceso de caracterización.

6. Resumen y Conclusiones

1. El estudio fitoquímico del extracto orgánico preparado a partir de la especie *P. linaria* permitió el aislamiento de dos metabolitos secundarios identificados como la luteína (1) y el β -sitosterol (2). Cabe destacar que la luteína (1) es un carotenoide producido por algas y plantas superiores, que cumple con una función protectora.
2. El análisis del aceite esencial de la pipicha por CG-EM permitió establecer, a partir de los perfiles cromatográficos obtenidos, un elevado porcentaje de α -pineno y el *d*-limoneno, característica que permite además diferenciar químicamente a la especie. Por otra parte, el análisis de los componentes volátiles mediante la técnica de microextracción sólida en fase gaseosa (HS-SPME), permitió la identificación del α -mirceno, el *d*-limoneno, el nonanal, el 1-decanol y el 1-hepten-3-ol, como los componentes volátiles más abundantes.
3. El estudio fitoquímico del extracto de las partes aéreas de la especie *D. papposa* permitió el aislamiento de un producto mayoritario (3) que se encuentra en proceso de caracterización.
4. La presente investigación química constituye una contribución original al conocimiento del contenido metabólico secundario de los géneros *Porophyllum* y *Dyssodia* de la flora medicinal de nuestro país.

7. Perspectivas

- a) Continuar con los estudios químicos de ambas especies para establecer el contenido metabólico.
- b) Continuar con el estudio químico de las esencias de *P. linaria* utilizando a la CG-EM con la finalidad de establecer las principales diferencias entre en las drogas crudas y el material vegetal fresco.
- c) Finalizar la caracterización del compuesto **3** aislado a partir de la especie *D. papposa*.
- d) Realizar el estudio químico de los componentes volátiles presentes en la droga cruda de *D. papposa* aplicando a la CG-EM y HS-SPME.

8. Referencias bibliográficas

- Aguilar, A., Camacho, J., Chin, S., Jácquez, P., López, M. Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. Información Etnobotánica. Instituto Mexicano del Seguro Social, México, **1994**, pp 47-48.
- Andrade, M., Cunha, A., Silveira, E. Volatile constituents of *Porophyllum ruderale* Cass. *Journal of Essential Oil Research*, **1994**, 6, 415-417.
- Arciniegas, A., Gómez-Vidales, V., Pérez-Castorena, A., Nieto-Camacho, A., Villaseñor, J., Romo de Vivar, A. Recognition of antioxidants and photosensitizers in *Dyssodia pinnata* by EPR spectroscopy. *Phytochemical Analysis*, **2019**, 31, 252-261.
- Argueta, A., Gallardo, V. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Instituto Nacional Indigenista, México, **1994**, pp 1786.
- Barbosa, M., Andrade-Neto, M., Freitas, M. The essential oil of *Porophyllum ruderale* Cass (Asteraceae). *Journal of Essential Oil Research*, **2002**, 14, 14-15.
- Baren, V., Juarez, B., Ferraro, G., Coussio, J. Phenolic constituents of *Porophyllum obscurum*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **1994**, 22, 543.
- Basurto, F., Martínez, M., Villalobos, G. Los Quelites de la Sierra Norte de Puebla, México: Inventario y formas de preparación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, **1998**, 62, 49-62.
- Bohlmann, F., Zdero, C. Über inhaltsstoffe der gattung *Dyssodia*. *Chemische Berichte*, **1976**, 109, 901-905.
- Bohlmann, F., Zdero, C. Über dimere terpenketone aus *Tagetes gracilis*. *Phytochemistry*, **1979**, 18, 341-343.
- Bohlmann, F., Zdero, C., Grenz, M. Inhaltsstoffe einiger gattungen der tribus Helenieae und Senecioneae. *Phytochemistry*, **1979**, 15, 1309-1310.
- Bohlmann, F., Jakupovic J., Robinson H., King, R. A dithienylacetylene from *Porophyllum ruderale*. *Phytochemistry*, **1980**, 19, 2760.
- Bohlmann, F., Zdero, C., King, R., Robinson, H. Thymol derivatives from *Porophyllum riedelii*. *Phytochemistry*, **1983**, 22, 1035-1036.

- Bohlmann, F., Baruah, R.N., Dominguez, X. A further dithienyl derivative from *Porophyllum scoparia*. *Journal of Medicinal Plant and Natural Product Research*, **1984**, 77, 77-78.
- Bohm, B., Stuessy, T. Flavonoids of the Sunflower Family (Asteraceae). First edition. Nueva York, **2001**, pp 354-355.
- Bye R. (2019). Comunicación personal.
- Castro, D., Basurto, F., Mera, L., Bye, R. Los quelites, tradición milenaria en México. Universidad Autónoma Chapingo. México, **2011**, pp 1-33.
- Castro, D., Bye, R., Mera, L. Diagnóstico del pápaloquelite en México. Universidad Autónoma Chapingo. México, **2011**, pp 1-33.
- Conde-Hernández, L., Guerrero-Beltrán, J. Total phenolics and antioxidant activity of *Piper auritum* and *Porophyllum ruderale*. *Food chemistry*, **2014**, 142, 455-460.
- Conde-Hernández, L., Espinosa-Victoria, J., Guerrero-Beltrán, J. Supercritical extraction of essential oils of *Piper auritum* and *Porophyllum ruderale*. *The Journal of Supercritical Fluids*, **2017**, 127, 97–102.
- Downum, K., Towers, G. Analysis of thiophenes in the Tageteae (Asteraceae) by HPLC. *Journal of Natural Products*, **1983**, 46, 98-103.
- Estrada, A., Ortiz, E., Villaseñor, J., Espinosa-García, F. The distribution of cultivated species of *Porophyllum* (Asteraceae) and their wild relatives under climate change. *Systematics and Biodiversity*, **2016**, 14, 1-11.
- Estrella-Parra, E., Espinosa-González, A., García-Bores, A., Zamora-Salas, S., Benítez-Flores, J., González-Valle, M., Hernández-Delgado, C., Peñalosa-Castro, I., Ávila-Acevedo, J. Flavanol glycosides in *Dyssodia tagetiflora* and its temporal variation, chemoprotective and ameliorating activities. *Food and Chemical Toxicology*, **2019**, 124, 411-422.
- Fonsceca, M., Barbosa, L., Nascimento, E., Casali, V. Essential oil from leaves and flowers of *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cassini (Asteraceae). *Journal of Essential Oil Research*, **2006**, 18, 345-347.
- Fontes-Jr, U., Ramos, C., Serafini, M., Cavalcanti, S., Alves, P., Lima, G., Andrade, P., Bonjardim, L., Quintans-Jr, L., Araújo, A. Evaluation of the lethality of *Porophyllum ruderale* essential oil against *Biomphalaria glabrata*, *Aedes aegypti* and *Artemia salina*. *African Journal of Biotechnology*, **2012**, 11, 3169-3172.

- García-Bores, A., Arciniegas-Arciniegas, A., Reyna-Campos, A., Céspedes-Acuña, C., Ávila-Suarez, B., Alarcón-Ecnos, J., Flores-Maya, S., Espinosa-González, A., Romo de Vivar, A., Pérez-Plasencia, C., Ávila-Acevedo, J. Phytochemical Composition and Biological Activities of *Dyssodia tagetiflora* Lag. *Chemistry and Biodiversity*, **2018**, *15*, 1-12.
- Goleniowski, M., Bongiovanni, G., Palacio, L., Núñez, C., Cantero, J. Medicinal plants from the “Sierra de Comechingones” Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*, **2006**, *107*, 324-341.
- Guillet, G., Bélanger, A., Arnason, J. Volatile monoterpenes in *Porophyllum gracile* and *P. ruderale* (Asteraceae): identification, localization, and insecticidal synergism with α -terthienyl. *Phytochemistry*, **1998**, *49*, 423-429.
- Gutiérrez-Lugo, M., Barrientos-Benitez, T., Luna, B., Ramírez-Gama, R., Bye, R., Linares, E., Mata, R. Antimicrobial and cytotoxic activities of some crude drug extracts from Mexican Medicinal Plants. *Phytomedicine*, **1996**, *2*, 341-347.
- Hernández-Cruz, J., Luna-Cruz, A., Loera-Alvarado, E., Villanueva-Sánchez, E., Landero-Valenzuela, N., Zárate-Nicolás, B., Diego-Nava, F., Granados-Echegoyen, C. Efficiency of the essential oil of *Porophyllum linaria* (Asteraceae) a Mexican endemic plant against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Insect Science*, **2019**, *20*, 1-9.
- Héthelyi, É., Galambosi, B., Szarka, S., Lemberkovics, É., Szőke, É. Phytochemical investigation of medicinal and culinary herbs. *Acta Agronomica Hungarica*, **2012**, *60*, 201-207.
- Ibrahim, S., Abdallah, H., El-Halawany, A., Mohamed, G. Naturally occurring thiophenes: isolation, purification, structural elucidation, and evaluation of bioactivities. *Phytochemistry Reviews*, **2015**, *15*, 197-220.
- Jiménez, M., Guzmán, A., Azuara, E., García, O., Mendoza, M., Beristain, C. Volatile compounds and antioxidative activity of *Porophyllum tagetoides* extracts. *Plant Foods for Human Nutrition*, **2012**, *67*, 57-63.
- Juárez, Z., Hernández, L., Bach, H., Sánchez-Arreola, E., Bach, H. Antifungal activity of essential oils extracted from *Agastache mexicana* ssp. *xolocotziana* and *Porophyllum linaria* against post-harvest pathogens. *Industrial Crops and Products*, **2015**, *74*, 178-182.
- Jácomo, A., De Andrade Velozo, K., Lotti, R., Neves, L., De Gaspari de Gaspi, F., Esquisatto, M., Do Amaral, M., Mendonça, F., Dos Santos, G. Activity of *Porophyllum ruderale* leaf extract and 670-nm InGaP laser during burns repair in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **2015**, *15*, 274.
- Labuckas, D., Zygadlo, J., Faillaci, S., Espinar, A. Constituents of the volatile oil of *Porophyllum obscurum* (Spreng.) D.C. *Flavour and Fragrance Journal*, **1999**, *14*, 107-108.

- Lima, G., Silva, M., Bonfim, R., Thomazzi, S., Santos, M., Quintans-Júnior, L., Bonjardim, L., Araújo, A. Assessment of antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Porophyllum ruderale* aqueous extract. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2011**, *21*, 486-490.
- Linares, M., Bye, R. Las especies subutilizadas de la milpa. *Revista Digital Universitaria*, **2015**, *16*, 1-22.
- Loayza, I., De Groot, W., Lorenzo, D., Dellacassa, E., Mondello, L., Dugo, G. Composition of the essential oil of *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. from Bolivia. *Flavour and Fragrance Journal*, **1999**, *14*, 393-398.
- Marangoni, F., Agostoni, C., Borghi, C., Catapano, A. L., Cena, H., Ghiselli, A. Dietary linoleic acid and human health: focus on cardiovascular and cardiometabolic effects. *Atherosclerosis*, **2020**, *292*, 90-98.
- Mata, R., Figueroa, M., Navarrete, A., Rivero-Cruz, I. Chemistry and Biology of Selected Mexican Medicinal Plants. In *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*; Kinghorn, A., Falk, H., Gibbons, S., Kobayashi, J., Asakawa, Y., Liu, J. Springer Nature Switzerland AG, Suiza. **2019**, pp 1-142.
- Newman, D. and Cragg, G. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, **2020**, *83*, 770-803.
- Oldham, M., Gould, J., Bowles, J. Fetid Dogweed (*Dyssodia papposa*; Asteraceae) and Slender Russian Thistle (*Salsola collina*; Amaranthaceae), new to Alberta, Canada. *The Canadian Field-Naturalist*, **2012**, *125*, 366-369.
- Pacheco-Hernández, Y., Sánchez-Hernández, G., Reyes-Cervantes, E., Romero-Arenas, O., Pérez-Xochipa, I., Villa-Ruano, N. Chemical variation and pharmacological properties of *Dyssodia decipiens* essential oil. *Chemistry & Biodiversity*, **2020**, *17*, 1-10.
- Pérez, A., Herrera, J., Muñoz, V., Vives, J., García-Jimenez, F. Phototoxic compounds in 3 *Dyssodia* species (Asteraceae): (with 1 figure). *Phyton International Journal of Experimental*, **2004**, *73*, 115-117.
- Pérez-Gutiérrez, R., Pérez Gutiérrez, S., Zavala-Sánchez, M., Pérez-González, A. Composición química del aceite esencial de *Porophyllum tagetoides*. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, **1996**, *27*, 1-2.
- Postigo, A., Cardoso, P., Funes, M., Sortino, M. Mechanistic studies of *Candida albicans* photodynamic inactivation with *Porophyllum obscurum* hexanic extract and its isolated thiophenic compound. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, **2019**, *26*, 420-429.

- Prapalart, W., Santiarworn, D., Liawruangrath, S., Liawruangrath, B., Pyne, S. The Isolation of Lutein and Lutein 3'-methyl ether from *Peristrophe lanceolaria*. *Natural Product Communications*, **2016**, *11*, 1793-1795.
- Raggi, L., Young, M., Cordeiro, I., Moreno, P. Differentiation of two *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subspecies by the essential oil composition. *Journal of Essential Oil Research*, **2015**, *27*, 30-33.
- Rodrigues, D., Leporini N., Raggi L., Zara, K., Young M. Influence of mineral nutrition on plant development and chemical composition of volatile oils of *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass subspecies. *African Journal of Agricultural Research*, **2019**, *14*, 1870-1877.
- Rojas, A., Bah, M., Rojas, J., Serrano, V., Pacheco, S. Spasmolytic activity of some plants used by the Otomi Indians of Querétaro (México) for the treatment of gastrointestinal disorders. *Phytomedicine*, **1999**, *6*, 367-377.
- Rondón, M., Delgado, J., Velasco, J., Rojas, J., Rojas, L., Morales, A., Carmona, J. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from aerial parts of *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. Collocated in Venezuela. *Scientific Journal of the Experimental Faculty of Sciences*, **2008**, *16*, 5-9.
- Sahagún, B. "*Historia General de las Cosas de la Nueva España*", **1577**, pp. 138
- Segura, D., Martínez, M., Casas, G., Martínez, G., Guzmán, E., Vázquez, B. Anti-inflammatory and antinociceptive properties of the extracts from the leaves of *Porophyllum tagetoides* and *Annona reticulata*. *Journal of Medicinal Plants Studies*, **2019**, *7*, 50-54.
- Shemluck, M. Medicinal and other uses of the Compositae by indians in the United States and Canada. *Journal of Ethnopharmacology*, **1982**, *5*, 303-358.
- Souza, M., Siani, A., Ramos, M., Menezes-de-Lima, O., Henriques, M. Evaluation of anti-inflammatory activity of essential oils from two Asteraceae species. *Die Pharmazie*, **2003**, *58*, 582-586.
- Stange, C. Carotenoids in Nature. Biosynthesis, regulation, and function. Springer International Publishing. Suiza, **2016**, pp 273-295.
- Strother, J. Renovation of *Dyssodia* (Compositae: Tageteae). *SIDA, Contributions to Botany*, **1986**, *11*, 371-378.
- Takahashi, H., Novello, C., Ueda-Nakamura, T., Filho, B., Palazzo de Mello, J., Nakamura, C. Thiophene derivatives with antileishmanial activity isolated from aerial parts of *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. *Molecules*, **2011**, *16*, 3469-3478.

- Takahashi, H., Britta, E., Longhini, R., Ueda-Nakamura, T., Palazzo de Mello, J., Nakamura, C. Antileishmanial Activity of 5-Methyl-2,2':5',"-terthiophene isolated from *Porophyllum ruderale* is related to mitochondrial dysfunction in *Leishmania amazonensis*. *Planta Medica*, **2013**, *79*, 330-333.
- Thomford, N., Senthebane, D., Rowe, A., Munro, D., Seele, P., Maroyi, A., Dzobo, K., Natural Products for Drug Discovery in the 21st Century: Innovations for Novel Drug Discovery. *International Journal of Molecular Sciences*, **2018**, *19*, 1578.
- Vázquez-Atanacio, M., Bautista-Ávila, M., Velázquez-González, C., Castañeda-Ovando, A., González-Cortázar, M., Sosa-Gutiérrez, C., Ojeda-Ramírez, D. *Porophyllum* genus compounds and pharmacological activities: A review. *Scientia Pharmaceutica*, **2021**, *89*, 1-14.
- Vázquez-Cruz, B., Segura-Cobos, D., Serrano-Parrales R., Amato, D. Effect of the methanolic extract of *Porophyllum tagetoides* on diabetic nephropathy. *Pharmacology online*, **2018**, *3*, 363-374.
- Villarreal-Quintanilla, J. Villaseñor, J. Medina, R. Flora del valle de Tehuacán-Cuicatlán. Instituto De Biología. *Universidad Nacional Autónoma de México*, **2008**, *62*, 11-39.
- Wu, B., Zhao, W., Shi, W., Yang, H., Cui, D. *Porophyllum* Guettard (Asteraceae), A newly naturalized genus to China. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, **2018**, *26*, 299-301.
- Young, A., Britton, G. Carotenoids in Photosynthesis. Springer Science y Business Media. Londres, **1993**, pp 16-71.
- Zong, G., Liu, G., Willett, W., Wanders, A., Alsema, M., Zock, P., Hu, F., Sun, Q. Associations between linoleic acid intake and incident type 2 diabetes among U.S. men and women. *Diabetes Care*, **2019**, *42*, 1406-1413.