



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**Actividad antioxidante y perfil fitoquímico de
Calea ternifolia Kunth, 1818**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

PRESENTA

JOSHUA ALEJANDRO DOMÍNGUEZ ANDRADE

JURADO DE EXAMEN

DIRECTORA: M. EN C. MACHUCA RODRÍGUEZ CATALINA

ASESOR: M. EN C. MENDOZA VALLEJO ERNESTO

ASESOR: M. EN C. MONTAÑO ARIAS GENARO

SINODAL: LIC. SANTANA MARTÍNEZ CARLOS ALBERTO

SINODAL: M. EN C. SANTIAGO ALVARADO MARGARITA



Ciudad de México

Abril, 2025



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.



El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Terapia Molecular (L-7 P.1) de la Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza (UMIEZ) de la FES ZARAGOZA, UNAM bajo la dirección de la M. en C. Catalina Machuca Rodríguez.



Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, así como a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por ser parte esencial y el pilar de mi formación académica.

A la M. en C. Catalina Machuca Rodríguez y al M. en C. Ernesto Mendoza Vallejo por darme oportunidad de desarrollar mi proyecto de investigación bajo su dirección, así como agradezco inmensamente el apoyo personal, siempre impulsándome a concluir este trabajo y seguir adelante.

A Alejandro Silva Muñoz y Benito Barbosa Bartolo mis amigos y compañeros de laboratorio quienes me han apoyado en todo momento, académica y personalmente. Les tengo un enorme aprecio y cariño.

A todas las y los profesores con quienes tuve oportunidad de aprender valiosas enseñanzas tanto para el mundo académico, laboral y personal.



Dedicatorias

El presente trabajo está dedicado a mi madre Maryam Andrade, la mujer más maravillosa y ejemplar que conozco y la persona a quien más admiro. Me ha apoyado en todo momento y ante cualquier circunstancia. Es en ella en quien encuentro fuerza y motivación para seguir adelante y mejorar cada día. A mi madre, espero siempre enorgullecerte y recuerda que te amo infinitamente.

A Karla Pillado, mi mejor amiga, mi confidente, la mujer que amo. Hemos compartido un sinnúmero de experiencias y cada una de ellas me ha brindado valiosos aprendizajes. Agradezco todo el apoyo y el cariño que me has dado y espero que la vida nos permita seguir creando grandes momentos y que sigamos creciendo juntos. Te amo mucho.

A mi mejor amigo Alan Cruz, quien siempre ha estado ahí pese a las diferencias que pudimos tener en su momento, agradezco inmensamente tu amistad y ten presente que te quiero y aprecio mucho.

A mi padre Alejandro Domínguez, a mi tía Elsa Andrade, a mis hermanas Fernanda y Nabil, a mi abuela Silvia, quienes han sido un gran soporte y autores de bellas experiencias y enseñanzas, que la vida nos mantenga siempre juntos y nos dé siempre la voluntad de continuar mejorando. Los amo.

Alhamdu lil-ahi wash shukru lil-lah



ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	3
I. RESUMEN	8
II. INTRODUCCIÓN	9
III. MARCO TEÓRICO	10
3.1 METABOLITOS SECUNDARIOS	10
1. <i>Terpenos</i>	10
2. <i>Compuestos Fenólicos</i>	10
3. <i>Glicósidos</i>	11
4. <i>Alcaloides</i>	11
3.2 FITOQUÍMICA	11
3.3 FAMILIA ASTERACEAE	11
3.3.1 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	12
3.3.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA GÉNERO <i>CALEA</i> L.	13
3.4 ANTECEDENTES	13
3.4.1 ACTIVIDADES BIOLÓGICAS	14
3.4.2 ACEITES ESENCIALES	15
3.5 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE <i>C. TERNIFOLIA</i> KUNTH	16
3.5.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	19
3.5.2 NOMBRES COMUNES	19
3.5.3 USOS	19
3.5.4 DISTRIBUCIÓN	19
3.5.5 COMPUESTOS BIOACTIVOS	20
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
V. HIPÓTESIS	21
VI. OBJETIVO GENERAL	21
6.1 OBJETIVOS PARTICULARES	21
VII. MÉTODO	21
7.1 RECOPIACIÓN DE DATOS ETNOFARMACOLÓGICOS	22
7.2 PREPARACIÓN DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS	22
7.3 FUNDAMENTO DE IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS	23
7.3.1 IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS	23
1. <i>Flavonoides</i>	23
2. <i>Alcaloides</i>	23
3. <i>Cumarinas</i>	24
4. <i>Quinonas</i>	24
5. <i>Fenoles</i>	25
6. <i>Taninos</i>	25
7. <i>Lactonas sesquiterpénicas</i>	26



8. Heterósidos	26
9. Saponinas	26
7.4 CUANTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS	28
1. Flavonoides	28
2. Alcaloides	28
3. Cumarinas	29
4. Compuestos fenólicos	29
5. Taninos	30
6. Lactonas Sesquiterpénicas	30
7. Saponinas	30
8. Triterpenos y esteroides	31
7.5 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	31
7.5.1 MÉTODO DE DECOLORACIÓN DEL RADICAL DPPH [•] (2,2-DIFENIL-1-PICRILHIDRAZIL)	31
7.5.2 PRUEBA DE NEUTRALIZACIÓN DEL RADICAL SUPERÓXIDO O ₂ ^{•-}	32
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
8.1 REGISTRO ETNOFARMACOLÓGICO	32
8.2 PERFIL FITOQUÍMICO	37
8.3 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	45
IX. CONCLUSIONES	49
X. REFERENCIAS	50



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>C. ternifolia</i> Kunth en la zona de estudio.....	18
Figura 2. <i>C. ternifolia</i> Kunth en la zona de estudio.....	18
Figura 3. Mapa de distribución de <i>C. ternifolia</i> Kunth en la república mexicana consultado en iNaturalist México el 08/01/2025.....	20

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Entrevistas etnobotánicas sobre el uso medicinal de <i>C. ternifolia</i> Kunth..	36
Tabla 2. Identificación de metabolitos secundarios en extractos etanólico-acuosos de <i>C. ternifolia</i> Kunth.....	37
Tabla 3. <i>Concentración</i> de metabolitos secundarios <i>de hoja y tallo de C. ternifolia Kunth</i>	41
Tabla 4. Porcentaje de captación del radical DPPH•.....	48

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Usos medicinales de <i>C. ternifolia</i> Kunth en la localidad Plan de limón, Veracruz.....	36
Gráfico 2. <i>Concentración</i> de metabolitos secundarios en hoja y tallo de <i>C. ternifolia Kunth</i>	45
Gráfico 3. Captación del radical DPPH• de los extractos hidroalcohólicos de <i>C. ternifolia</i> Kunth.....	47
Gráfico 4. Porcentaje de captación del radical DPPH•.....	47
Gráfico 5. Porcentaje de neutralización del radical superóxido O ₂ •.....	48



I. RESUMEN

Calea ternifolia Kunth es una planta herbácea perteneciente a la familia Asteraceae. Se distribuye desde el norte de México hasta Panamá. En la república mexicana se encuentra en estados como Aguascalientes, Tamaulipas, Durango, Veracruz, San Luis Potosí, Querétaro, Jalisco, Puebla y Guerrero. En varios de estos estados es conocida como Zacatechichi, planta amargosa, planta de los sueños y menos frecuente recibe nombres como prodigiosa, simonillo o falso simonillo. Se emplea en medicina tradicional contra padecimientos que van desde dolor de estómago hasta enfermedades crónico degenerativas, por ejemplo se emplea como antipirético, antiinflamatorio, neurofarmacológico, anticancerígeno y antidiabético. Entre sus compuestos bioactivos se han identificado lactonas sesquiterpénicas, benzofuranos, alcaloides, flavonoides, saponinas, triterpenos, esteroides, taninos, quinonas, derivados de timol, acetofenonas, fenoles y entre otros compuestos. Diversos estudios han demostrado que los extractos metanólico acuosos de distintas estructuras de Zacatechichi presentan actividad antioxidante y actividad neurofarmacológica. Considerando lo mencionado el objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antioxidante del extracto etanólico-acuoso de hoja y tallo de *Calea ternifolia* Kunth así como identificar los metabolitos secundarios mediante métodos colorimétricos específicos para cada familia de metabolitos. Se evaluó la actividad antioxidante mediante la prueba de decoloración del radical DPPH[•] y la prueba de neutralización del radical superóxido O₂^{•-}. En ambos extractos se observó la presencia de triterpenos, cumarinas, lactonas sesquiterpénicas, compuestos fenólicos, saponinas, flavonoides, alcaloides y taninos. Los resultados señalan que los extractos hidroalcohólicos presentan actividad antioxidante. El extracto de flor demostró el mayor potencial reductor, el cual se atribuye a mayor concentración de triterpenos (1.665 mg/mL). Los extractos de hoja y tallo presentaron menor potencial reductor en contraste con el extracto de flor, sin embargo en estas estructuras se concentran sesquiterpenlactonas de tipo germacranólido las cuales son responsables de sus propiedades cognodislépticas.



II. INTRODUCCIÓN

El oxígeno es el principal elemento químico que utilizan los organismos aeróbicos para obtener energía a partir de nutrientes almacenados en el alimento que consumen, dicha energía se obtiene en forma de adenosín trifosfato o ATP a través del proceso de oxidación (Campbell, 2000 citado por Corrales y Muñoz, 2012). Aunque este elemento es indispensable para la vida aerobia, puede ser perjudicial ya que a partir de este se producen iones nocivos conocidos como radicales libres, los cuales son átomos de oxígeno que presentan al menos un electrón desapareado en su último orbital. Estos radicales se producen de forma natural a partir de procesos metabólicos, sin embargo, debido a su alta reactividad representan un riesgo para la salud dada su capacidad de alterar la estructura molecular de las células afectando su correcto funcionamiento y provocando una cascada de efectos negativos, fenómeno denominado estrés oxidativo. Estos átomos reactivos no sólo se generan a partir de los procesos metabólicos sino que también son producto de una exposición prolongada a agentes externos como radiaciones ionizantes (luz ultravioleta de alta energía, rayos X, y radiación gamma), contaminación ambiental, humo de productos de tabaco y entre otros (Elejalde, 2001). Los radicales libres producen especies reactivas de oxígeno, conocidos como ROS, algunas de estas ROS son el anión superóxido $O_2^{\cdot-}$, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el radical hidroxilo ($OH\cdot$) (Reuter, 2001). A nivel celular, los compuestos lipídicos y las proteínas son el principal objetivo en el ataque oxidativo y una vez que se produce este ataque se modifica su estructura molecular, lo que aumenta el riesgo de mutaciones en el ADN y desarrollar distintos tipos de cáncer, así como otras enfermedades degenerativas. Por otro lado, en la naturaleza existe una amplia variedad de agentes con carácter reductor, comúnmente llamado potencial antioxidante; estos agentes tienen la capacidad de oponerse a la acción reactiva del oxígeno y de sus especies oxidantes. En el cuerpo humano existen diversas enzimas capaces de neutralizar radicales libres generados en los procesos redox celulares, por ejemplo, la catalasa de los peroxisomas encargada de reducir al peróxido de hidrógeno, la glutatión



peroxidasa encargada de reducir al radical hidroxilo y la superóxido dismutasa que reduce al anión superóxido. También, existen compuestos antioxidantes no enzimáticos de origen vegetal entre los que se encuentran metabolitos secundarios. Todos estos compuestos enzimáticos y no enzimáticos contribuyen en la captación y neutralización de las ROS (Korkina y Kostyuk, 2012). En este trabajo se evaluó el contenido de metabolitos secundarios y la capacidad antirradicalaria mediante el ensayo de decoloración del radical DPPH· y la prueba de neutralización del radical superóxido $O_2^{\cdot-}$.

III. MARCO TEÓRICO

3.1 Metabolitos Secundarios

Las plantas producen gran variedad de metabolitos secundarios como medio de defensa al ataque de insectos, microorganismos y como forma de adaptación a ambientes adversos como luz, temperatura, humedad, radiación solar, sequía, etc (Ramakrishna y Aswathanarayana, 2011).

Se entiende por “compuestos bioactivos” a la capacidad que tienen los metabolitos secundarios de provocar efectos farmacológicos y toxicológicos tanto en humanos como en animales (Durmic y Blache, 2012).

Los metabolitos secundarios se clasifican en cuatro grandes grupos de la siguiente manera, dependiendo de sus rutas biosintéticas:

1. Terpenos: Los terpenos, o terpenoides, se trata del grupo más amplio de metabolitos secundarios con más de 40,000 moléculas distintas. Generalmente son insolubles en agua y provienen de la unión de unidades de isopreno (5 átomos de Carbono).

2. Compuestos Fenólicos: Las plantas producen gran cantidad de metabolitos secundarios que poseen un grupo fenol; estas sustancias se conocen como



compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides y provienen del fenol (un anillo aromático con un grupo hidroxilo) como cumarinas, flavonoides, lignina, taninos, entre otros.

3. Glicósidos: Se denomina “glicósido” al enlace de tipo glicosídico formado cuando una molécula de azúcar se condensa con otra molécula con un grupo hidroxilo. En este grupo existen cuatro subgrupos de particular interés como: saponinas, glicósidos cardiotónicos, glicósidos cianogénicos y glucosinolatos.

4. Alcaloides: Se trata de una familia constituida por aproximadamente 15,000 metabolitos secundarios, caracterizados por tener al menos un átomo de nitrógeno en su molécula, además de ser solubles en agua y presentar actividad biológica. La mayoría tienen estructura heterocíclica aunque algunos son no cíclicos o alifáticos (García, 2011).

3.2 Fitoquímica

La fitoquímica es una disciplina científica encargada de obtener compuestos químicos sintetizados de manera natural por las plantas; se obtienen a través de distintas técnicas de extracción, purificación y aislamiento de su estructura química. Esta disciplina también se encarga de caracterizar las diversas actividades biológicas asociadas a compuestos químicos específicos, ya que estos, tienen la capacidad de beneficiar o perjudicar la salud humana, a las plantas, animales y a otros microorganismos. Además, la fitoquímica clasifica a estos compuestos de acuerdo al grupo funcional que presentan y también estudia cómo se distribuyen estos compuestos en las estructuras de la planta, en distintas condiciones ambientales.

3.3 Familia Asteraceae

La familia Asteraceae engloba alrededor de 1,600 géneros y 23,000 especies en todo el mundo, se distribuyen en regiones tropicales y subtropicales,



específicamente en zonas cálidas al sur, sureste y este de Asia, también en África incluyendo Madagascar y a lo largo de Centroamérica (De aguiar *et al.*, 2017).

3.3.1 Descripción botánica

Plantas herbáceas o arbustivas, rara vez árboles o trepadoras; hojas opuestas o alternas, o bien todas radicales; flores individuales por lo general pequeñas, agrupadas por muchas o pocas (en ocasiones una sola) en cabezuelas (capítulos), sésiles y dispuestas sobre un receptáculo, donde en muchos casos cada una se encuentra acompañada por una bráctea, llamada pálea, el conjunto de flores rodeado por fuera por una o varias series de brácteas que constituyen el involucre; flores hermafroditas o estériles, (3)5-meras, actinomorfas o zigomorfas; cáliz propiamente dicho ausente, pero a menudo sustituido por el vilano (pappus) que puede estar formado por cerdas, aristas y/o escamas, o bien faltar por completo; corola simpétala, tubulosa, ligulada (con el limbo en forma de lengua o lengüeta) o bilabiada; estambres con los filamentos por lo general libres e insertos sobre el tubo de la corola, las anteras casi siempre soldadas entre sí formando un tubo alrededor del estilo, con frecuencia provista cada una de un apéndice apical; ovario ínfero, bicarpelar, unilocular, con un solo óvulo, estilo por lo común partido en la porción superior en dos ramas estigmatíferas, que a su vez a menudo se prolongan en apéndices estériles; fruto en forma de aquenio, que en su extremo superior con frecuencia lleva el vilano; semillas sin endosperma. Las cabezuelas pueden estar formadas por un solo tipo de flores, en cuyo caso son homógamas, pero con mayor frecuencia en su periferie se sitúan las flores liguladas (por lo general femeninas o estériles), mientras que el resto está constituido por las “flores del disco”, que suelen ser hermafroditas o algunas veces funcionalmente masculinas; en algunos géneros puede haber otra composición de las cabezuelas, inclusive la presencia de tres tipos de flores.

La familia Asteraceae también conocida como compositae es ampliamente reconocida en nuestro país pues constituye alrededor del 15% de la flora vascular.



Esta familia incluye especies de interés económico como el girasol (*Helianthus annuus* L.), especies nativas de México de uso ornamental como el cempasúchil (*Tagetes*) y también especies de importancia medicinal como la manzanilla y el gordolobo (*Matricaria*) (*Gnaphalium*) respectivamente. Su diversidad se concentra en regiones con climas secos hasta climas húmedos y semihúmedos (García y Koch, 1995)

3.3.2 Descripción botánica género *Calea* L.

Arbustos o plantas herbáceas perennes, a veces trepadoras; hojas opuestas o en ocasiones verticiladas, en algunas especies concentradas cerca de la base de la planta, por lo general 3-5-nervadas y a menudo con puntos resinosos al menos en el envés; cabezuelas solitarias o dispuestas en conjuntos cimosos o corimbosos, heterógamas u homógamas; involucro cilíndrico a campanulado o hemisférico, sus brácteas dispuestas en 2 a 6 series, subiguales a notablemente imbricadas, lanceoladas a orbiculares, membranáceas a cartáceas, a veces las exteriores foliáceas, receptáculo plano a cónico, páleas planas a conduplicadas; flores liguladas 0 a 25, fértiles, sus láminas hasta de 16 mm de largo, aunque a veces muy reducidas, amarillas, anaranjadas o blancas; flores del disco hermafroditas, sus corolas tubulosas, pentámeras, amarillas o blancas, anteras con la base redondeada o auriculada, ramas del estilo algo aplanadas, romas en el ápice, por lo general pubescentes por fuera; aquenios cilíndricos o prismáticos, negros, glabros o pubescentes, vilano de 8 a 25 escamas de forma diversa.

Género neotropical de unas 60 especies mayormente concentradas en las regiones montañosas de Sudamérica, para México se reconocen siete y de la región de estudio se registran dos.

3.4 Antecedentes

Diversos estudios han demostrado la amplia gama de actividades biológicas y farmacológicas que presentan especies del género *Calea* L., se han estudiado



desde sus aceites esenciales como sus extractos metanólicos y/o acuosos, así como sus compuestos aislados.

3.4.1 Actividades biológicas

-Actividad antiinflamatoria

Segura-Cobos y colaboradores en 2010 demostraron que el extracto acuoso de *Calea ternifolia* Kunth (100 y 10 mg/kg⁻¹) previno la formación de edema después de la administración de carragenina en patas de rata. El extracto disminuyó el número de neutrófilos que migraron a la cavidad peritoneal en un 44%; el efecto fue comparable al de los controles positivos, dexametasona (1 mg·kg⁻¹) e indometacina (10 mg/kg⁻¹).

Otra investigación con *Calea ternifolia* realizada por Bork y colaboradores en 1997, demostró que el extracto etanólico (100 μ·mL⁻¹) de la planta inhibe el factor nuclear-kB (NF-kB) el cual es fundamental en la regulación del proceso inflamatorio celular (Mata *et al.*, 2021).

Gómez y Gil en 2011 investigaron la actividad antiinflamatoria de dos derivados de p-hidroxiacetofenona (2-Senecio-4-(metoximetil)-fenol y 2-senecio-4-metoxi fenol) aislados del extracto etanólico de hojas de *Calea prunifolia* utilizando 12 modelos de edema de oreja de ratón inducidos por 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA).

-Actividad antimelanótica

En un estudio realizado con *Calea urticifolia* por Ohguchi y colaboradores en 2009, se registró actividad citotóxica de las principales lactonas sesquiterpénicas aisladas del extracto de acetona, pues mostraron actividad antimelanótica en células de melanoma B16 de ratón. Los resultados indican que los efectos inhibidores de las lactonas sesquiterpénicas sobre la biosíntesis de melanina pueden deberse a la supresión de la expresión de tirosinasa. La 2,3-epoxi-juanislamina (C233) destaca



particularmente por su actividad inhibidora de la melanogénesis mediante la modulación de la maquinaria transcripcional del ARNm de tirosinasa.

-Actividad antimicrobiana

Carvalho y colaboradores en 2014 realizaron un estudio con el aceite esencial de *Calea fruticosa* el cual mostró actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram negativas (*Proteus vulgaris*), dicha actividad demostró ser selectiva ya que no fue efectiva frente a cepas de levadura. Este estudio requirió la hidrodestilación de las hojas, análisis GC/MS del aceite esencial y su posterior evaluación frente a un panel de microorganismos. El aceite esencial se compone mayormente de sesquiterpenos oxigenados e hidrocarburos sesquiterpénicos como el cariofileno y α -cadinol que son los compuestos más abundantes.

-Actividad analgésica

Nuevamente Ohguchi y colaboradores realizaron en 2013 un estudio fitoquímico, toxicológico y un ensayo sobre la actividad analgésica en ratones del extracto clorofórmico de las hojas de *Calea urticifolia*. Del extracto clorofórmico se aislaron cuatro sesquiterpenlactonas (Juanislamina, 2,3-epoxi-juanislamina, Caleína D y 2,3-Epoxicalina D). El uso popular como analgésico de esta especie vegetal ha sido validado ya que el extracto clorofórmico mostró actividad analgésica en el ensayo de contorsiones abdominales en ratones a una dosis de 100 mg/kg, similar al analgésico control Indometacina (De Aguiar *et al.*, 2017).

3.4.2 Aceites esenciales

Hasta ahora han sido pocas investigaciones realizadas con el fin de estudiar la composición química de los aceites esenciales de las diferentes especies de *Calea* L., entre ellas se encuentran *C. pinnatifida*, *C. urticifolia*, *C. clematidea* Baker, *C. fruticosa* y *C. serrata* las cuales han sido las más estudiadas. Estos estudios sugieren que los compuestos bioactivos presentes en estos aceites, así como los compuestos volátiles son muy diversos, esto sugiere que existe una amplia



diversidad química entre las especies de este género. Se ha encontrado que los monoterpenos y los sesquiterpenos son los compuestos más abundantes encontrados en los aceites esenciales de estas especies (Lima *et al.*, 2018).

3.5 Descripción botánica de *C. ternifolia* Kunth

C. ternifolia Kunth es un arbusto, subarbusto o a veces planta herbácea perenne, hasta de 3 m de alto; tallos más o menos densamente pilosos con pelos multicelulares a subtomentosos o glabros; hojas opuestas o en ocasiones verticiladas, peciolo hasta de 6(10) mm de largo, lámina ovada a elíptica, suborbicular o deltoide, de 1 a 12 cm de largo, de 0.5 a 7 cm de ancho, aguda a acuminada, rara vez obtusa en el ápice, redondeada a cuneada en la base, toscamente serrada a subentera en el margen, trinervada o triplinervada, de textura cartácea o coriácea, verde oscura y escábrido-rasposa en el haz, más pálida, notablemente reticulado-venosa y casi glabra a subtomentosa en el envés; cabezuelas agrupadas en conjuntos corimbosos terminales y axilares, a menudo asumiendo la forma de panícula foliosa, pedúnculos primarios hasta de 10 cm de largo, los secundarios con frecuencia ausentes; involucro campanulado a cilíndrico, de 4 a 6(8) mm de largo, manifiestamente graduado, sus brácteas dispuestas en 4 a 6 series, las exteriores a menudo total o parcialmente verdes y foliáceas, al menos en el ápice, oblongas a ovadas o suborbiculares, de 1 a 6 mm de largo, las interiores membranáceas y escariosas, ovadas a obovadas, de 2.5 a 6(8) mm de largo, amarillentas con los ápices cafés o morados, receptáculo convexo- cónico, páleas oblongas, de 4 a 6 mm de largo, conduplicadas, amarillentas; flores liguladas (0)1 a 3, sus láminas oblongas, de 1 a 2 mm de largo, blanquecinas, de color crema o a veces amarillas, glabras; flores del disco 4 a 15(20), sus corolas, tubulosas, de 3 a 4 mm de largo, de color crema, glabras, anteras exsertas, de 1.5 mm de largo, amarillas, ramas del estilo fuertemente enroscadas, truncadas en el ápice; aquenios todos similares, cilíndricos, algo angulosos o ligeramente comprimidos, de 2 a 3.5 mm de largo, negruzcos o morados oscuros, vilosos o glabros, vilano de 8 a 16 escamas oblongas a oblanceoladas, de (0.5)1 a 1.5(2) mm de largo, laciniadas en



el margen, a menudo moradas. Elemento moderadamente frecuente y abundante en bosques de encino y pino encino, así como en los tropicales caducifolios y algunos matorrales xerófilos en el norte y centro de guanajuato, así como en el norte y centro de Querétaro. alt. 700-2000 m. florece de septiembre a diciembre.

Es una especie perteneciente al género *Calea* L, de la familia Asteraceae cuyo género cuenta con 60 especies aproximadamente de las cuales 7 se distribuyen en México y 2 se encuentran en la zona de estudio (Veracruz).



Figura 1. *C. ternifolia* Kunth en la zona de estudio el 23 de Febrero de 2023, por Joshua Alejandro Domínguez Andrade



Figura 2. *C. ternifolia* Kunth en la zona de estudio el 23 de Febrero de 2023, por Joshua Alejandro Domínguez Andrade



3.5.1 Clasificación taxonómica

Reino: Plantae

Filo: Tracheophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Calea* L.

Especie: *Calea ternifolia* Kunth

3.5.2 Nombres comunes

C. ternifolia recibe diversos nombres comunes dependiendo de la zona en que se encuentre, entre ellos se encuentran: planta de los sueños, zacatechichi, planta amargosa, prodigiosa, canilla de zanate, falso simonillo, garañona, jacachicio, juralillo, simonillo, yerba de piojo, zacate amargoso, zaratillo blanco.

3.5.3 Usos

Las diferentes estructuras de *C. ternifolia* se utilizan con frecuencia en medicina alternativa para tratar enfermedades crónicas degenerativas como diabetes, cáncer, hipertensión, trastornos del sueño, problemas gastrointestinales, úlceras gástricas, así como para disminuir la inflamación en general.

3.5.4 Distribución

Las especies de este género se distribuyen desde el norte de México hasta Panamá, a través de Aguascalientes, Tamaulipas, Sinaloa, Durango, Zacatecas, Veracruz, San Luis Potosí, Querétaro, Jalisco, Puebla, Guerrero, Oaxaca hasta Centroamérica (Rzedowski, 2008).

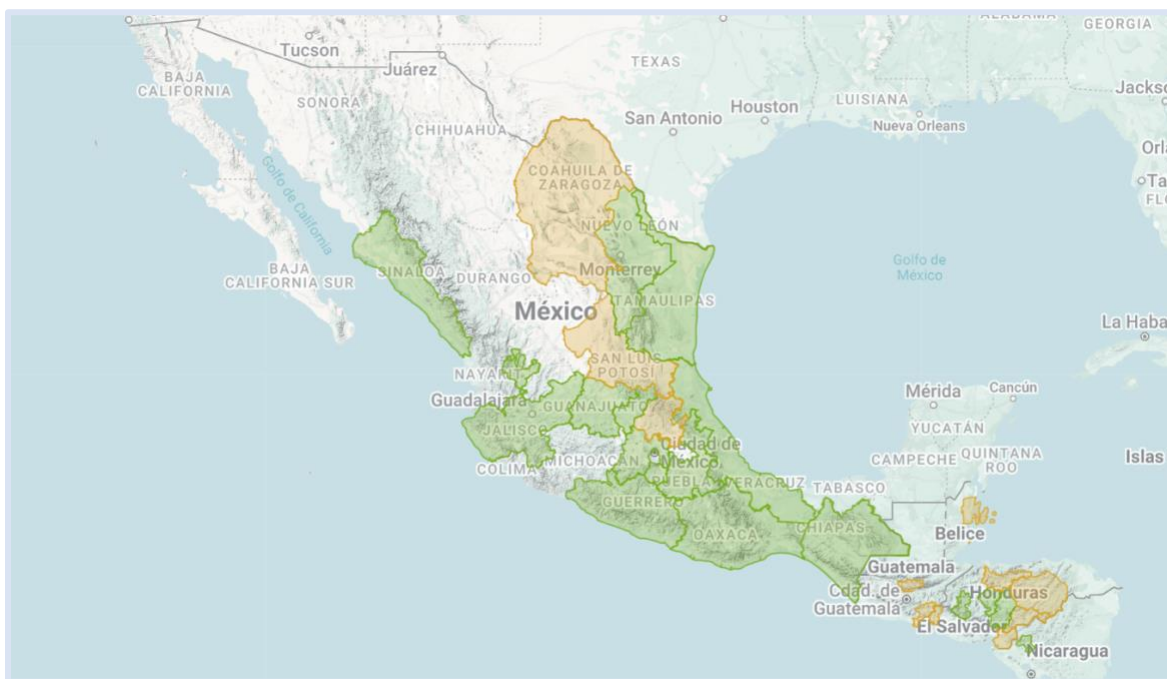


Figura 3. Mapa de distribución de *C. ternifolia* Kunth en la república mexicana consultado en iNaturalist México el 08/01/2025.

3.5.5 Compuestos bioactivos

De las diferentes estructuras de *C. ternifolia* se han identificado más de 260 compuestos bioactivos entre los que destacan están las lactonas sesquiterpénicas, benzofuranos, alcaloides, flavonoides, saponinas, triterpenos, esteroides, taninos, quinonas, derivados de timol, acetofenonas, fenoles y entre otros compuestos. La familia Astaceae se caracteriza por presentar lactonas sesquiterpénicas principalmente, una clase de terpenos conformados por 15 átomos de carbono (Ortiz, 2011).

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La exposición prolongada a radicales libres se asocia directamente con el desarrollo de enfermedades crónicas degenerativas como cáncer, diabetes, hipertensión, entre otras; el uso tradicional de plantas medicinales representa una alternativa viable en el tratamiento de estas enfermedades, por ello en este trabajo se evaluó la capacidad antirradicalaria que poseen las estructuras vegetales de *C. ternifolia*.



V. HIPÓTESIS

Los extractos hidroalcohólicos de hoja y tallo de *C. ternifolia* demostrarán potencial redox debido a la presencia de metabolitos secundarios capaces de neutralizar especies reactivas.

VI. OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la capacidad antirradicalaria y contenido de metabolitos secundarios de *C. ternifolia*.

6.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Registrar información etnofarmacológica en la localidad “Plan de limón”, Veracruz sobre el uso medicinal de *C. ternifolia*
- Cuantificar los metabolitos secundarios de hoja y tallo de *C. ternifolia*
- Cuantificar la captación de radicales libres por el método DPPH
- Cuantificar la capacidad de neutralización de aniones de superóxido por NBT

VII. MÉTODO

Zona de estudio

La zona de estudio se encuentra en la localidad de Plan de Limón, perteneciente al municipio Cazones de Herrera en el estado de Veracruz con coordenadas: 20°39'50" latitud norte, 97°16'35" longitud oeste.

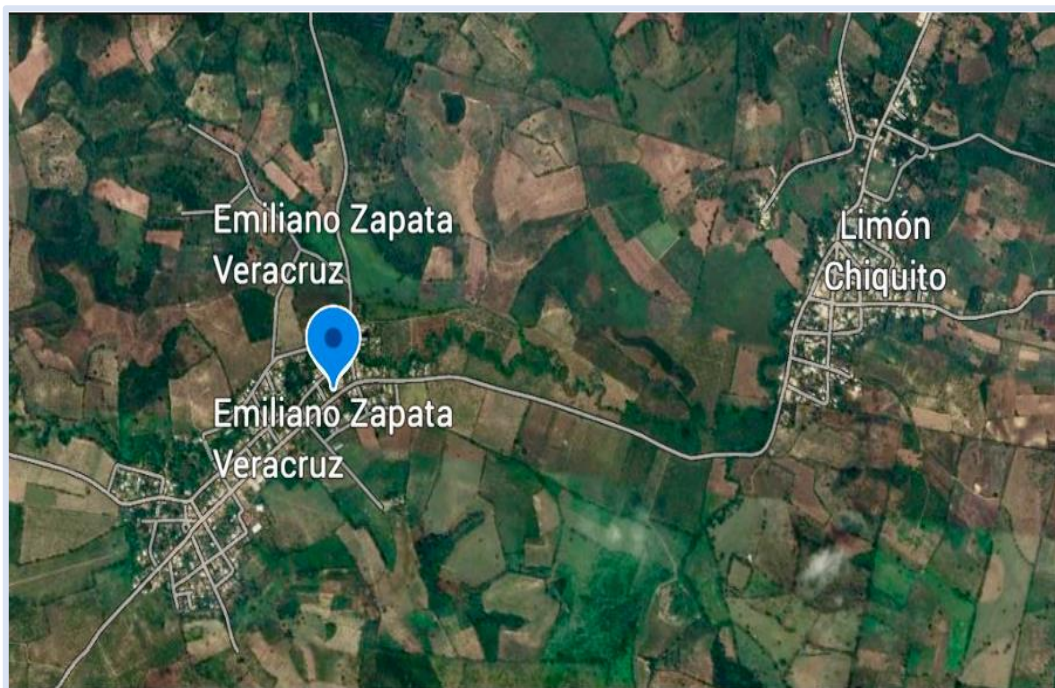


Figura 4. Mapa de la zona de estudio consultado a través de Google Earth con fecha de 28 de octubre de 2023

7.1 Recopilación de datos etnofarmacológicos

Se realizaron entrevistas etnobotánicas a 30 personas habitantes de la localidad Plan de Limón en donde participaron hombres y mujeres de distintas edades. Se recabó la información de manera oral a través de preguntas directas. Se preguntó acerca del conocimiento que se tiene de la planta, también los usos medicinales que se le da a *Calea*, las partes vegetales que se utilizan, así como la cantidad o dosis recomendada y las formas de preparación.

7.2 Preparación de extractos hidroalcohólicos

1. Se pesaron 100 gramos de hoja y 100 gramos de tallo.
2. Cada estructura vegetal se lavó cuidadosamente con agua limpia para retirar el exceso de tierra y polvo para después lavarse con agua destilada.
3. Se cortaron las estructuras en fragmentos muy pequeños.



4. En una botella de plástico de aproximadamente 1 litro se almacenaron 100 gramos de hoja y tallo y después se agregaron 700 ml de etanol al 96% y 300 ml de agua destilada.
5. Se dejó el extracto en reposo por 15 días para asegurar la máxima extracción de compuestos.

7.3 Fundamento de identificación de metabolitos secundarios

La identificación de metabolitos secundarios se llevó a cabo por pruebas fitoquímicas preliminares; pruebas de caracterización que consisten de reacciones químicas que alteran la estructura molecular de algún compuesto, por ejemplo: la modificación de un grupo funcional, la apertura de un sistema anular o la formación de un complejo, lo cual resulta en una manifestación sensible como el cambio de color en un ensayo, la formación de un precipitado o el desprendimiento de un gas. Todo esto nos brinda indicios de la presencia o ausencia de un metabolito secundario específico (Martínez *et al*, 2008).

7.3.1 Identificación de metabolitos secundarios

1. Flavonoides

En un tubo de ensayo se agregó 1 mL de extracto, después se añadió un pequeño trozo de magnesio y 3 gotas de HCl concentrado, si la reacción arroja una coloración amarilla o roja indicará presencia de flavonas y flavonoles, colores como el rojo a magenta indicará flavononoles, rojo, magenta, violeta o azul indicará flavanonas y amarillo para isoflavonas. En la reacción de Shinoda, el HCl concentrado oxida al magnesio generando al H_2 el cual se elimina en forma de gas. Por otro lado el $MgCl_2$ forma complejos con los flavonoides y se forman coloraciones específicas (Vidaurre *et al*, 2007).

2. Alcaloides

- Reactivo de Mayer: En un tubo de ensayo se agregó 1 mL de extracto de la planta, se añadieron de 3 a 5 gotas de reactivo de Mayer. Se considera



positiva la prueba al formarse un precipitado de color amarillo-crema y observar turbidez.

- Reactivo de Wagner: En un tubo de ensayo se agregó 1 mL de extracto de la planta, se añadieron de 3 a 5 gotas de reactivo de Wagner. Se considera positiva la prueba al formarse un precipitado de color marrón rojizo.
- Reactivo de Dragendorff: En un tubo de ensayo se agregó 1 mL de extracto de la planta, se añadieron de 3 a 5 gotas de reactivo de Dragendorff. Se considera positiva la prueba al formarse un precipitado de color rojo sólido.

La identificación de alcaloides se basa en su capacidad (en forma de sal) de combinarse con el yodo y metales pesados para formar precipitados con reactivos como el mercurio yoduro de potasio (Mayer) y yoduro de bismuto (Dragendorff) (Coy, 2014).

3. Cumarinas

Reactivo de Baljet: En un tubo de ensayo se agregó 1 mL de extracto de la planta. Se añadieron 3 gotas de reactivo de Baljet (Solución 1: 1 g de ácido pícrico aforado a 100 mL con etanol. Solución 2: 10 g de hidróxido de sodio aforado a 100 mL con agua destilada).

Se considera positiva la prueba al observar coloración naranja o rojo oscuro. Se utiliza el reactivo de Baljet dado que la interacción entre el ácido pícrico y las lactonas α , β y γ forman un complejo colorido (Orantes, 2008).

4. Quinonas

En un tubo de ensayo se agregaron 3 mL de extracto, 10 mL de etanol al 80%, 30 mL de agua destilada, 10 mL de benceno y finalmente 5 mL de hidróxido de amonio



y se calentó hasta ebullición. Se considerará positiva la prueba al observar un color rojo o rosa intenso.

Las quinonas se identifican por medio de la reacción de Bornträger, que se fundamenta en la hidrólisis de los enlaces glucosídicos y oxidación de antronas y antranoles hasta antraquinonas formando complejos de color rojo (Carvajal *et al.*, 2009).

5. Fenoles

Prueba de Cloruro Férrico (FeCl_3) al 5%: en un tubo de ensayo se agregó 1 mL de extracto de la planta, también se agregaron 5 gotas de cloruro férrico al 5% y después se agitó vigorosamente. Se considera positiva la prueba al observar un color café pardo y un precipitado café pardo oscuro.

Esta prueba colorimétrica se fundamenta en el ataque al hidrógeno del grupo hidroxilo por parte del ion cloruro provocando una ruptura en el enlace, así el grupo fenóxido se une al hierro para formar un complejo lo que produce un cambio de color (Coy *et al.*, 2014).

6. Taninos

Prueba de Cloruro Férrico al 1%: en un tubo de ensayo con 1 mL de extracto de la planta se agregaron 2 mL de agua destilada y 2 mL de cloruro férrico al 1%. Se considera positiva la prueba al formarse un precipitado de color verde oscuro.

Químicamente los taninos son polímeros de polifenoles por lo que al igual que con los compuestos fenólicos se puede usar esta técnica para su identificación. Al formarse el complejo con la unión del grupo fenóxido al hierro, surgen diferentes coloraciones lo que ayuda a diferenciar entre fenoles y taninos.

Una coloración roja o vino indica compuestos fenólicos, una coloración verde intensa indica taninos del tipo pirocatecólicos, mientras que una coloración azul indica presencia de taninos gálicos (Coy *et al.*, 2014).



7. Lactonas sesquiterpénicas

Reacción de Hidroxamato Férrico: en un tubo de ensayo se agregó 1 mL de extracto de la planta, se añadieron 2 gotas de clorhidrato de hidroxilamina 2N, una gota de KOH 2 N en metanol y después se calentó hasta ebullición, en seguida se enfrió rápidamente y se elevó la acidez con ácido clorhídrico 0.5 N para finalmente agregar una gota de cloruro férrico al 1%. Se considera positiva la prueba al observar color violeta o rosa.

Las Y-lactonas forman ácidos hidroxámicos cuando se calientan con hidroxilamina en medio alcalino, posteriormente reaccionan con el ion Fe^{3+} del cloruro férrico y finalmente producen hidroxamatos férricos de color púrpura (Domínguez, 1973).

8. Heterósidos

Reactivo de Grignard: a 0.5 mL de extracto se agregaron 2 gotas de ácido pícrico y 2 gotas de carbonato de sodio, posteriormente se calentó durante varios minutos. Se considera positiva la prueba al observar un color amarillo o naranja rojizo.

La reacción de Grignard consiste en dejar actuar los gases cianhídricos que se desprenden del material vegetal triturado sobre papel absorbente humedecido con ácido pícrico y carbonato de sodio. Estos gases son producto de los glucósidos cianogénicos de las plantas en distintas concentraciones. El cambio en la coloración resulta de la reducción de picrato de sodio (amarillo) a picramato de sodio (rojo oscuro) (Castro y Rodríguez, 2012).

9. Saponinas

- Índice afrosimétrico

En un tubo de ensayo se agregaron 3 mL del extracto de la planta junto con 5 mL de agua destilada, se calentó hasta ebullición y se agitó para finalmente observar la aparición de espuma persistente. La persistencia de la espuma (en minutos) se califica con cruces: de 5 a 20 minutos (+); 20 a 25 minutos (++); 30 minutos o más (+++).



En solución acuosa, las moléculas de saponinas se alinean verticalmente en la superficie con sus extremos hidrofóbicos orientados lejos del agua, esto reduce la tensión superficial del agua, haciendo que se forme espuma y por ello las saponinas se clasifican como agentes tensoactivos (Garaméndez y Marthans, 2020).

- **Prueba de Liebermann-Burchard**

En un tubo de ensayo se agregó 1 mL de extracto de la planta, después se añadieron 2 mL de anhídrido acético y 2 mL de cloroformo (previamente en enfriamiento) y 2 gotas de ácido sulfúrico.

Una coloración azul cambiante a naranja y finalmente a verde, indica que la reacción es positiva pues esta prueba reconoce la presencia de triterpenos (coloraciones rojo, rosa o púrpura) y esteroides (azul-azul verdoso) (Ochoa y Sarmiento, 2018).

- **Prueba de Salkowski**

En un tubo de ensayo se agregó 1 mL de extracto, después 2 mL de cloroformo y 2 mL de ácido sulfúrico. Una coloración rosa o anaranjada indicará que la reacción es positiva.

Las saponinas y sus sapogeninas insaturadas o con varios grupos hidroxilo dan coloraciones con varios reactivos empleados en la identificación de esteroides como Liebermann-Burchard, Salkowski, cloruro de tionilo y tricloruro de antimonio. (Domínguez, 1973).

- **Prueba de Molisch (α -naftol)**

En un tubo de ensayo se agregó 1 mL de extracto, luego 2 mL de etanol y 2 gotas de solución 0.1% de α -naftol, finalmente se añadieron cuidadosamente 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Se considera positiva la prueba si se observa un anillo de color violeta en medio de las fases ya que esta prueba identifica carbohidratos en la molécula de saponina.



Esta prueba se basa en la acción hidrolizante y deshidratante del ácido sulfúrico concentrado sobre los carbohidratos. El ácido fuerte cataliza la hidrólisis de cualquier enlace glucosídico presente en la muestra para deshidratar los monosacáridos resultantes y formar furfurales (hidrólisis de pentosas) los cuales se condensan con el α -naftol del reactivo de Molisch (Garaméndez, 2020).

7.4 Cuantificación de metabolitos secundarios

1. Flavonoides

La cuantificación de flavonoides se fundamenta en la reacción de cloruro de aluminio ya que este forma complejos estables en el carbono 4 y en los hidroxilos del carbono 3 y 5 de flavonas y flavonoles. Para este método se utiliza la quercetina como patrón y se mide la reacción en longitudes de onda altas así se evita que otras sustancias fenólicas interfieran, esto la convierte en una prueba más precisa a diferencia de otras (Cadillo, 2020).

Se cuantificaron flavonoides por el método de AlCl_3 utilizando quercetina como patrón para construir una curva de calibración a una concentración de 0.5 mg/mL. Se pesaron 50 mg del extracto de cada estructura vegetal los cuales se disolvieron en 1 mL de metanol, después se agregó 1 mL de AlCl_3 al 3% y finalmente se agregó 1 mL más de metanol. Se dejó en reposo durante una hora y se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 420 nm (Rojas *et al.*, 2015).

2. Alcaloides

El método de Shamsa se fundamenta en la reacción de aquellos alcaloides que únicamente tienen nitrógeno en su interior con verde de bromocresol, ya que esto da como resultado un complejo de carga alcaloide-verde de bromocresol el cual se muestra de color amarillo y se mide a una longitud de onda de 470nm. Este método ofrece estabilidad y una escasa interferencia de otros complejos. (Rojas *et al.*, 2015)

La cuantificación de alcaloides se llevó a cabo por el método de Shamsa utilizando brucina como patrón a una concentración de 0.5 mg/mL. Se transfirió 1 mL del



extracto a un embudo de separación con 2.5 mL de solución verde de bromocresol 0.00002 M y 2.5 mL de solución fosfato con pH 4.7. Se agitó la mezcla y se retiró el tapón del embudo para expulsar el gas formado en el mismo. El complejo formado se extrajo con 5 mL de cloroformo, agregados cada uno consecutivamente, separando la capa de cloroformo, los extractos se almacenaron en un tubo de ensayo. Se midió la absorbancia a una longitud de onda de 470 nm (Rojas, *et al.* 2015).

3. Cumarinas

Para la cuantificación de cumarinas se utilizó el método de Osorio y Martins modificado ya que se usó umbeliferona como patrón a una concentración de 0.5 mg/mL. Se tomaron 1500 μ L de extracto, se agregaron 500 μ L de acetato de plomo y se aforó hasta 8 mL con agua destilada, después se centrifugó a 3,500 rpm durante 10 minutos y se tomó 1 mL del sobrenadante, a esto se le añadieron 4 mL de HCl 0.1 M y finalmente se midió a una longitud de onda de 320 nm (Osorio y Martins, 2004).

4. Compuestos fenólicos

El ensayo Folin-Ciocalteu se utiliza para medir compuestos fenólicos totales y se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes lo que genera una coloración azulada, esta coloración permite ser determinada a una longitud de onda de 765 nm. Este reactivo es una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con cualquier tipo de compuesto fenólico. (Gutiérrez *et al.*, 2008)

Se cuantificaron fenoles por el método de Folin-Ciocalteu utilizando ácido gálico como patrón a una concentración 25 mg/mL. Se tomó 1 mL de extracto, se agregó 1 mL de agua destilada, posteriormente se añadieron 375 μ L del reactivo de Folin-Ciocalteu 1 N, se agitó y se dejó en reposo por 5 minutos, después se agregaron 1,875 μ L de Na_2CO_3 al 20% nuevamente se agitó y se dejó en reposo por 30 minutos. Finalmente se midió la absorbancia a una longitud de onda de 765 nm.



5. Taninos

Los taninos son compuestos fenólicos secundarios que tienen elevadas masas moleculares, esta prueba determina la cantidad de taninos por la diferencia de valores de la concentración de fenoles totales y los fenoles no taninos, estos se cuantificaron a partir de la norma ISO-1988 modificada, se utilizó ácido tánico como patrón a una concentración de 0.05 mg/mL.

A 0.25 g del extracto se agregaron 5 mL de dimetilformamida y esta suspensión se agitó durante 60 minutos. Después se centrifugó a 1000 rpm por 10 minutos. Del sobrenadante se prepararon dos disoluciones. La primera solución contuvo 1 mL del sobrenadante, 3 mL de agua destilada y 0.5 mL de solución amoniacal. La segunda solución contuvo 0.5 mL del sobrenadante, 2.5 mL de agua destilada, 0.5 mL de citrato férrico y 0.5 mL de solución amoniacal. Se dejó reposar por 10 minutos y finalmente se midieron sus absorbancias a una longitud de onda de 525 nm. El resultado es la diferencia de las absorbancias entre la primera solución y la segunda (Contreras-Sánchez *et al.*, 2015).

6. Lactonas Sesquiterpénicas

Para cuantificar las sesquiterpenlactonas se utilizó Juanislamina como patrón a una concentración de 5 mg/mL. Se tomó 1 mL del extracto y se agregará 1 mL de de cloroformo, se pondrá a baño María hasta evaporar el cloroformo, después se agregaron 2 mL de etanol y 1,200 μ L de picrato de sodio con pH de 11.4, se dejó en reposo por 30 minutos cubierto con papel aluminio para evitar contacto con la luz y finalmente se midió la absorbancia a 495 nm (Villacorta *et al.*, 2012).

7. Saponinas

El método de determinación indirecta de saponinas se realiza cuantificando azúcares reductores, este método se basa en que las saponinas están conformadas por una glucona y una o varias cadenas de azúcares por lo cual para lograr separar estas dos, la glucona que está conformada por azúcares simples debe ser



hidrolizada. Estos azúcares no pueden ser hidrolizados a moléculas más pequeñas pero pueden reaccionar como reductores de otras.

Para esta cuantificación se utiliza el ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) ya que este como producto de la reacción forma un complejo amarillo (3-amino-5-nitrosalicílico) el cual se mide a una longitud de onda de 540 nm. Se utiliza este método ya que el DNS solo hace reacción con azúcares reductores. (Rojas *et al*, 2015).

Se tomaron 100 μ L del extracto en un tubo de ensayo y se agregaron 100 μ L de DNS, se cubrió el tubo con papel aluminio para mantenerlo aislado de la luz, se calentó por 5 minutos en baño entre 95° y 100° C y después se enfrió con baño de hielo por 5 minutos. Una vez frío se agregó 1 mL de agua destilada y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 540 nm (Valle, 2016).

8. Triterpenos y esteroides

El método de Liebermann-Burchard tiene como fundamento la formación de un ion pentaenílico con un máximo de absorción a 620 nm este crea un intermediario que es medido en espectrofotómetro el cual tiene un bajo rendimiento en el tiempo que se considera óptimo para la medición espectrofotométrica del colesterol y esto explica la baja sensibilidad de los métodos que utilizan hierro (III). Se utilizó colesterol como patrón a una concentración de 2 mg/mL.

Se tomó 1 mL de extracto clorofórmico y se realizó la reacción con 2 mL del reactivo de Liebermann (anhídrido acético y ácido sulfúrico proporción 10:1), se agregó 1 mL de cloroformo y se dejó enfriar por 10 minutos, finalmente se midió la absorbancia a una longitud de onda de 626 nm (Mekar, 2017).

7.5 Actividad antioxidante

7.5.1 Método de decoloración del radical DPPH· (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

Para medir la capacidad antioxidante se realizó el ensayo de DPPH· el cual se basa en la reducción del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo utilizando ácido ascórbico como patrón el cual es conocido por ser un potente antioxidante. Este ensayo se



fundamenta en la capacidad de una sustancia para liberar un protón o para capturar el electrón que se encuentra desapareado de un radical, provocando el cambio de coloración de púrpura oscuro a amarillo claro (Rodríguez-Aguirre *et al.*, 2015).

En un tubo de ensayo se agregaron 3 mL del reactivo DPPH $\cdot$ y se midió la absorbancia a 517 nm y se anotó la absorbancia obtenida. Después se preparó una solución blanco con 1 mL de metanol y 2 mL de DPPH $\cdot$ y se leyó en el espectrofotómetro a la misma absorbancia. Posteriormente en un tubo de ensayo se agregó 1 mL del extracto diluido en metanol, 2 mL del reactivo DPPH $\cdot$, se agitó rápidamente y después se midió la absorbancia minuto a minuto durante 25 minutos (Rodríguez-Aguirre *et al.*, 2015).

7.5.2 Prueba de neutralización del radical superóxido O $_2^{\cdot-}$

El reactivo DMSO o dimetilsulfóxido alcalino se utilizó como generador del radical superóxido, éste reacciona al entrar en contacto con NBT (nitroazul de tetrazolio) generando diformazán. En presencia de un agente reductor se puede medir a una longitud de onda de 560nm

Se utilizó ácido ascórbico como patrón en la construcción de la curva de calibración. Se preparó un buffer de fosfato 1M con pH 7.4, se añadió 1 mL de DMSO alcalino y 0.2 mL de nitroazul de tetrazolio (NBT). Se midió la absorbancia a una longitud de onda de 560 nm (Shirwaikar *et al.*, 2006).

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Registro etnofarmacológico

El uso etnobotánico de *Calea ternifolia* Kunth adopta un enfoque en la medicina alternativa. En la actualidad cuando se presenta algún proceso infeccioso (normalmente acompañado de dolor, inflamación, fiebre, sudoración, etc) es común acudir con un médico y recibir tratamiento para el alivio de los síntomas o de la enfermedad, sin embargo en muchos casos el acceso a consulta médica y/o a medicamentos se encuentra limitado ya sea por escasez de recursos o por



inaccesibilidad geográfica y en otros casos no menos importantes, los medicamentos prescritos no son suficientemente eficaces para tratar los padecimientos.

Por otra parte, en la medicina tradicional se utilizan fuentes naturales como materia prima (principalmente plantas, hongos y algas) para la elaboración de tés, extractos, jugos, pomadas y entre otros, ya que poseen metabolitos secundarios los cuales conforman una gran variedad de familias de compuestos químicos con distintas propiedades y muchas de ellas contribuyen al uso farmacológico.

Estos “productos medicinales” son eficaces por ejemplo en el tratamiento de enfermedades estomacales, infecciones, trastornos del sueño y padecimientos crónicos como diabetes, artritis, hipertensión, así como al origen y desarrollo de distintos tipos de cáncer, los cuales se relacionan directamente a altas exposiciones a radicales libres, particularmente a especies reactivas de oxígeno.

Así mismo, se ha documentado su uso en actividades y rituales con carácter espiritual. Si bien muchas de estas propiedades pueden ser benéficas, del mismo modo pueden resultar nocivas para la salud.

Considerando lo anteriormente mencionado la presente tesis evaluó el potencial antioxidante de *Calea ternifolia* Kunth, así como su uso etnobotánico y finalmente el contenido de metabolitos secundarios y sus actividades biológicas.

En la localidad Plan de Limón, ubicada en el municipio de Cazes de Herrera, Veracruz, *C. ternifolia* Kunth es mayormente conocida como “Zacatechichi” y también se le conoce como “amarga” o “amargosa. Se realizaron entrevistas etnobotánicas a 30 personas en la localidad “Plan de limón”, de las cuales el 63.33% fueron mujeres y el 36.66% fueron hombres.

En la tabla 1 y gráfico 1 se observa que un 33.33% mencionó el uso de un cocimiento preparado a partir de hoja y tallo hervida en un litro de agua como



remedio para dolor de estómago y menos frecuente para mejorar la digestión. También mencionan que debe beberse el cocimiento de una a dos veces por día hasta que los síntomas desaparezcan. Este remedio resulta efectivo contra infecciones estomacales ya que se ha demostrado que distintas especies del género *Calea* poseen actividad antibacteriana lo que sugiere que estos preparados o “cocimientos” ayudan a combatir infecciones causadas por agentes bacterianos (Avancini y Wiest, 2008).

Por otro lado se reportó el uso de *C. ternifolia* Kunth en el tratamiento de trastornos del sueño, 16.66% de los entrevistados hierva dos ramas o dos hojas en un litro de agua. Para esta forma de preparación puede usarse hoja o tallo, pero solo una estructura vegetal y solo dos partes por litro de agua.

Este tratamiento se utiliza para tratar el insomnio y se infiere que es efectivo ya que *C. ternifolia* Kunth puede inducir efectos neurofarmacológicos, pues se ha demostrado su capacidad de incrementar el número de sueños lúcidos, especialmente en la etapa REM (Rapid Eye Movement) del sueño lo que sugiere que esta especie posee actividad hipnótica (Mayagoitia *et al.* 1986).

Para tratar el dolor o malestar general un 13.33% utiliza solo la hoja, este porcentaje hierva un puñado de hojas pequeñas en un litro de agua y bebe el cocimiento de una a dos veces por día hasta que los síntomas desaparezcan por completo. Este tratamiento indica que la planta posee actividad antinociceptiva al disminuir el estímulo interpretado como dolor, la cual ha sido demostrada por Segura-Cobos y colaboradores en 2010 en el extracto metanólico de hojas (25 y 50 mg·kg⁻¹) de *C. ternifolia* Kunth.

Por otra parte, 10% de los entrevistados mencionó el uso de *Calea* para disminuir la inflamación, hierven dos hojas en un litro de agua y beben el extracto durante cinco días o hasta desaparecer los síntomas. Este remedio es eficiente ya que se ha demostrado que *C. ternifolia* Kunth presenta actividad antiinflamatoria,



coincidiendo con el estudio de Segura-Cobos y colaboradores en 2010 en donde demostró que el extracto acuoso de *C. ternifolia* (100 y 10 mg·kg⁻¹) previno la formación de edema tras administrar carragenina en patas de ratas.

Asimismo, 16.66% utiliza dos hojas de *C. ternifolia* Kunth para disminuir los procesos febriles de una a dos veces por día hasta desaparecer la fiebre. Finalmente el 10% de los entrevistados mencionó que no conoce a la planta.

Gracias a los datos proporcionados por los habitantes se confirma que el modo de preparación más habitual de Zacatechichi es el cocimiento en un litro de agua, el mayor porcentaje utiliza solo las hojas y mientras que el menor porcentaje combina hoja y tallo. Se bebe el cocimiento de una a dos veces por día hasta que los síntomas desaparezcan y solo en ciertos casos se bebe durante cinco días.

Cabe mencionar que los entrevistados enfatizaron en respetar las dosis y formas de preparación mencionadas de los “remedios”, ya que de lo contrario los efectos pueden no ser favorables agravandose los síntomas e incluso presentarse nueva sintomatología.

Tabla 1. Entrevistas etnobotánicas sobre el uso medicinal de *C. ternifolia* Kunth

Padecimiento	Estructura vegetal	Forma de preparación	Cantidad sobre litro	Forma de aplicación	Entrevistados	Porcentaje
Problemas digestivos	Hoja y tallo	Hervida	2 hojas 2 veces al día	Ingestión oral	10	33.33%
Problemas de sueño	Hoja y tallo	Hervida	2 hojas o 2 ramitas	Ingestión oral	5	16.66%
Dolor en general	Hoja	Hervida	1 puñado de hojas	Ingestión oral	4	13.33%
Inflamación	Hoja	Hervida	2 hojas 2 veces al día	Ingestión oral	3	10%
Fiebre	Hoja	Hervida	2 hojas 2 veces al día	Ingestión oral	5	16.66%
No la conoce	No	No	No	No	3	10%
Total	-	-	-	-	30	100%

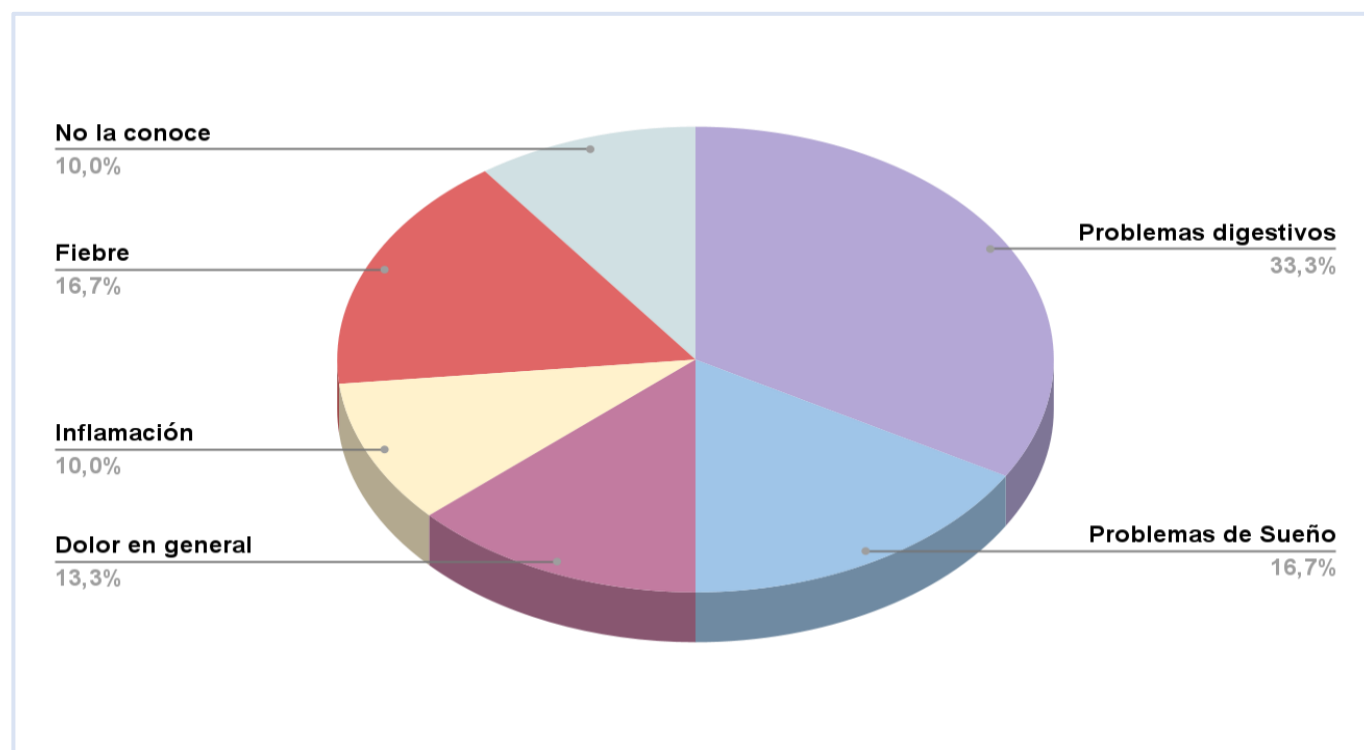


Gráfico 1. Usos medicinales de *C. ternifolia* Kunth en la localidad Plan de limón, Veracruz

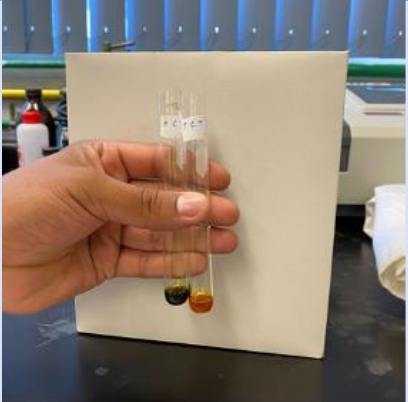
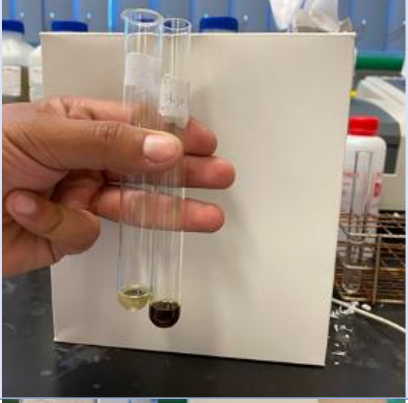
Debido a que el primer muestreo se realizó en el mes de Febrero de 2023 solo se pudo recolectar las estructuras de hoja y tallo con las cuales se realizó el perfil fitoquímico; considerando el ciclo de floración que va desde Septiembre hasta Diciembre, se realizó un segundo muestreo en el mes de Septiembre en donde se recolectó más hoja, tallo y también flor; sin embargo, debido a la escasa abundancia de flor de *Calea* solo se colectó el material disponible *in vivo* para llevar a cabo las pruebas de determinación de actividad antioxidante.

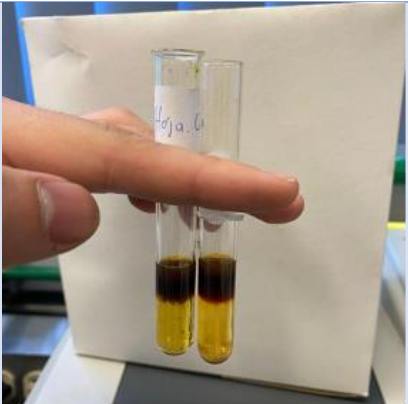
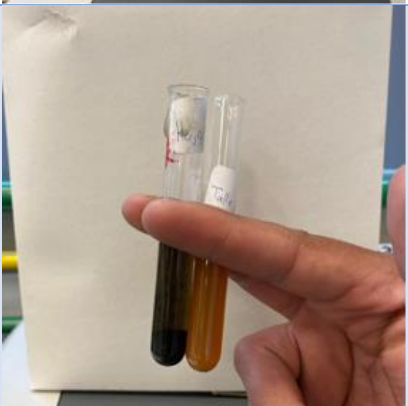
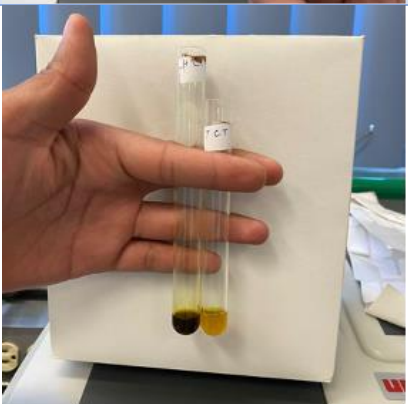
8.2 Perfil fitoquímico

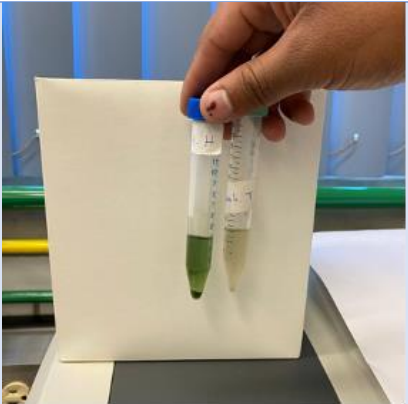
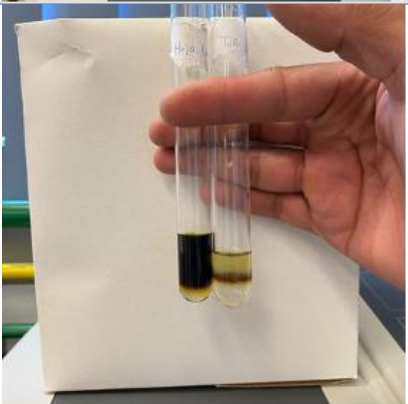
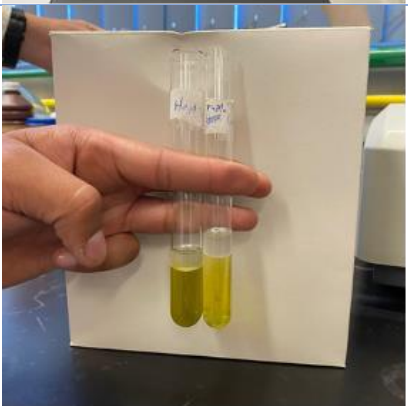
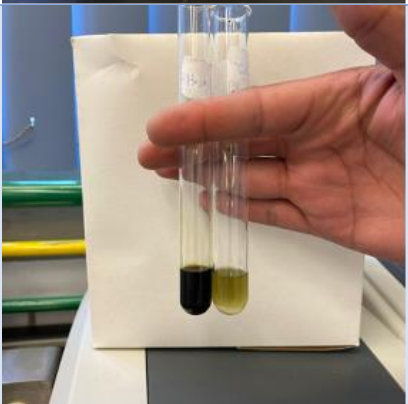
Se realizaron pruebas colorimétricas para la indentificación de metabolitos secundarios. En la tabla 2, las reacciones positivas están señaladas con “+++” lo cual indica presencia y alta concentración del metabolito; “++” indica concentración media, “+” indica baja concentración y finalmente “---” indica presencia nula.

Tabla 2. Identificación de metabolitos secundarios en extractos etanólico-acuosos de *C. ternifolia* Kunth.

#	Metabolito Secundario	Nombre de la prueba	Estructura vegetal (Extracto)		Fotografía
			Hoja	Tallo	
1	Alcaloides	Dragendorff	+++	++	

		Wagner	+++	++	
		Mayer	+++	++	
2	Flavonoides	Shinoda	+++	+	
3	Heterósidos	Grignard	+	---	

4	Lactonas Sesquiterpénicas	Hidroxamato férico	++	+++	
5	Fenoles	Cloruro Férico	+++	++	
6	Taninos	Cloruro Férico	+++	---	
7	Cumarinas	Reactivo de Baljet	+++	---	

8	Triterpenos	Liebermann-Burchard	++	---	
9	Saponinas	Índice Afrosimétrico	++	+	
		α -naftol	+	++	
		Salkowski	++	+++	
		Liebermann-Burchard	+	+++	
10	Quinonas	Bornträger (Hidróxido de Amonio)	---	---	
11	Esteroles	Salkowski	---	---	



En la tabla 3, se observan las concentraciones de los metabolitos secundarios. Los triterpenos (1.665 mg/mL), cumarinas (0.558 mg/mL) y lactonas sesquiterpénicas (0.282 mg/mL) en hoja y tallo de *C. ternifolia* Kunth representan el grupo de metabolitos con mayor concentración, seguido de fenoles (0.265 mg/mL), flavonoides (0.232 mg/mL), saponinas (0.201 mg/mL), y alcaloides (0.189 mg/mL) que es el segundo grupo con mayor concentración, concentrados en mayor y menor proporción en hoja y tallo; finalmente el grupo de metabolitos con menor concentración son los taninos (0.00056 mg/mL).

Tabla 3. Concentración de metabolitos secundarios de hoja y tallo de *C. ternifolia* Kunth

Metabolito secundario	Concentración [mg/mL]	
	Hoja	Tallo
Alcaloides	0.18915546	0.10185166
Flavonoides	0.23206897	0.0793103
Cumarinas	0.55897442	0.279491288
Fenoles	0.2651425	0.3177161
Taninos	0.00056073	0.00131073
Lactonas Sesquiterpénicas	0.282202301	0.642802169
Saponinas	0.201427594	0.178938105
Triterpenos	1.66508764	0.93557556



Los triterpenos o también llamados triterpenoides son los metabolitos con mayor concentración en hoja y tallo de *C. ternifolia*, se trata de estructuras conformadas por 30 átomos de carbono y 6 unidades de isopreno. Estos triterpenos, así como sus saponinas se han asociado a actividades biológicas como anticancerígena, antidiabética y neurofarmacológica (Hill y Connolly, 2017).

Se han encontrado los triterpenos taraxasterol acetato y el escualeno en *C. ternifolia* (Mata *et al.*, 2022) el cual se ha observado que inhibe la proliferación de cáncer de piel e inhibe la promoción tumoral en ratones (Smith, 2000).

El segundo grupo con mayor presencia en Zacatechichi son las lactonas sesquiterpénicas, al observarse el cambio de coloración a rosa intenso. En este grupo se encuentra los “Germacranólidos” de los cuales se ha demostrado actividad antitumoral, citotóxica y efectos fitotóxicos contra depredadores como los insectos, lo que indica actividad insecticida.

La “Caleína D” y la “2,3-epoxijuanislamina” son los germacranólidos que presentan mayor citotoxicidad, seguido de las “Calealactona A”, “Calealactona B” y la “2,3-Epoxicalealactona A” (Lima *et al.*, 2018).

Por otro lado la Caleicina (el éster de la *p*-hidroxicinamida del Junenol) es el compuesto responsable de las propiedades digestivas de *C. ternifolia* Kunth, así como de sus propiedades cognodislépticas las cuales son capaces de estimular la imaginación, avivar sensaciones y fantasía, sin embargo no producen alucinaciones, por ello Zacatechichi (del Nahuatl “hierba amarga”) es frecuentemente utilizada en Oniromancia o adivinación a través de los sueños. Adicionalmente no se ha reportado actividad psicoactiva y también es utilizada como laxante, antipirética y antidiarréica (Díaz, 1979).

El tercer grupo de metabolitos con mayor abundancia son las cumarinas, una gran familia de lactonas derivadas del ácido *p*-hidroxicinámico. Se han identificado dos cumarinas en *C. ternifolia*, la Herniarina y la Escoparona (Mata *et al.*, 2022). Debido



a su gran variedad estructural se han asociado con propiedades farmacológicas como antimicrobianas, antiinflamatorias, antioxidantes e inhibidoras enzimáticas (Herrera *et al.*, 2017).

Posteriormente se observó reducción en la concentración en los grupos de fenoles, flavonoides y saponinas, sin embargo estas concentraciones aún son significativas y pueden presentar actividad biológica.

Los flavonoides son derivados de la γ -benzopirona y se encuentran ampliamente en frutas y verduras. Sus efectos farmacológicos se basan en la inhibición de ciertas enzimas y también en su actividad antioxidante. La Quercetina es uno de los flavonoides más estudiados y se ha documentado que contribuye en la disminución de la inflamación y el dolor ya que tiene la capacidad de inhibir la síntesis de la prostaglandina ciclooxygenasa. Del mismo modo la inhibición de la enzima Aldosa reductasa se traduce en la disminución de la presión ocular en Diabetes mellitus y también la inhibición de la H^+ -ATPasa ayuda en el alivio del resfriado común y contra infecciones virales (Havsteen, 1983).

El grupo de alcaloides mostró menor concentración respecto a los metabolitos anteriormente mencionados. Estos alcaloides en su mayoría son tóxicos, sin embargo participan en procesos antiinflamatorios, antibacterianos, citotóxicos y antitumorales.

Diversos estudios han demostrado la eficacia de estos metabolitos en la supresión de la oncogénesis puesto que modulan vías de señalización específicas implicadas en la proliferación celular y la metástasis. Los alcaloides fungen como agentes terapéuticos provocando daño al ADN y al inducir la apoptosis, sin embargo estos procesos no son selectivos ya que reciben daño células cancerosas y células sanas (Habli *et al.*, 2017). Debido a esto se infiere que la presencia de alcaloides en *C. ternifolia* Kunth contribuye en procesos antiinflamatorios, antibacterianos y citotóxicos.

Finalmente los taninos son el grupo de metabolitos con menor concentración en las estructuras de Zacatechichi. Se trata de compuestos fenólicos poliméricos a los cuales se les atribuye actividad antioxidante, antiinflamatorias, antiséptico, entre otras. Los taninos tienen la capacidad de unirse a proteínas y desnaturalizarlas, debido a esto se les puede considerar toxinas, sin embargo los taninos característicos del vino tinto son benéficos para la salud humana (García y Carril, 2011).

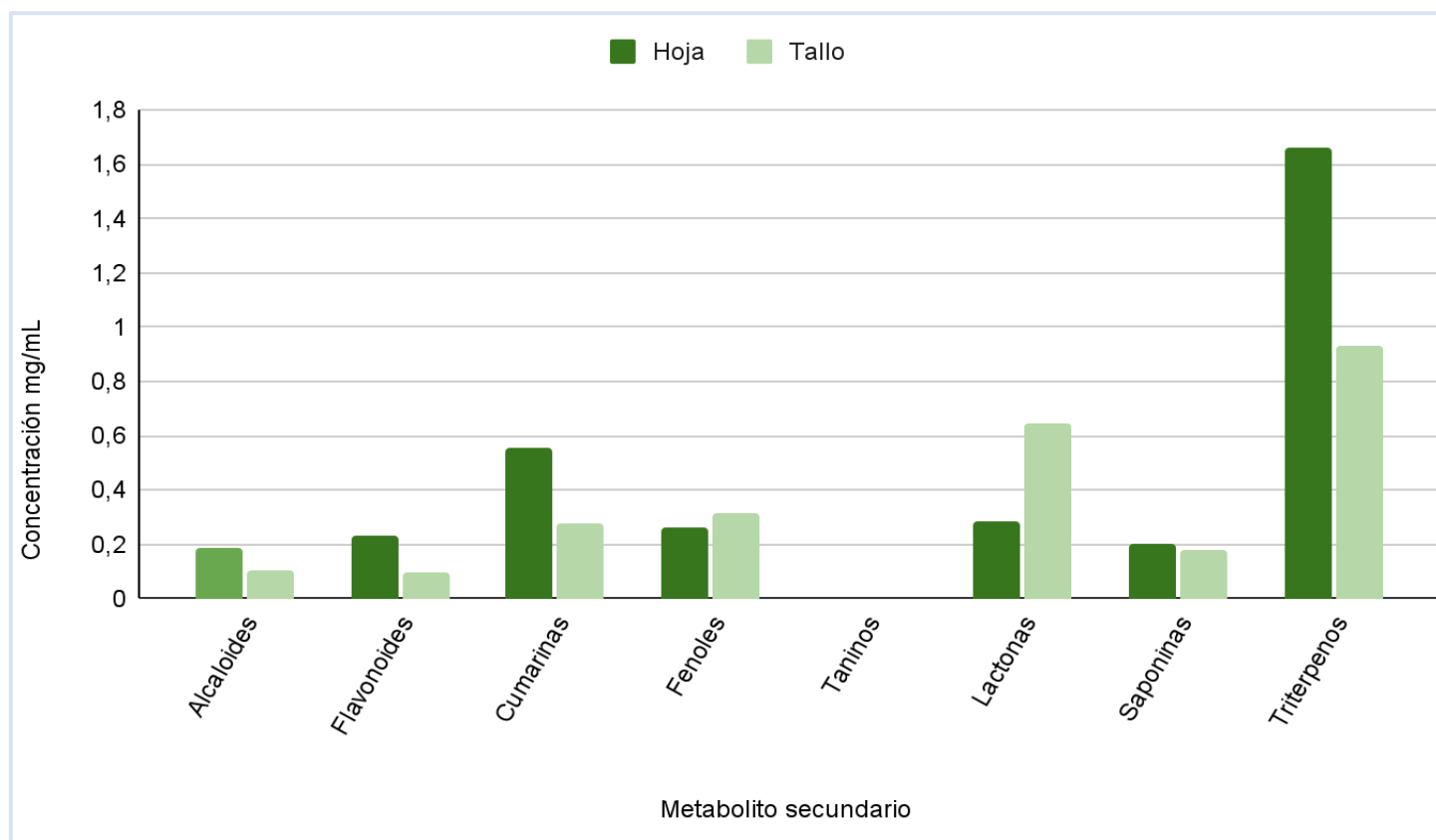


Gráfico 2. Concentración de metabolitos secundarios en hoja y tallo de *C. ternifolia* Kunth



8.3 Capacidad antioxidante

La prueba de reducción del radical DPPH y la prueba de neutralización del anión superóxido señalan que *C. ternifolia* Kunth tiene potencial antioxidante debido particularmente a la presencia de cumarinas, flavonoides, fenoles y en menor proporción a los taninos.

La capacidad antioxidante de *C. ternifolia* Kuth evaluada con la prueba de reducción del radical DPPH se muestra en los gráficos 3 y 4. En el gráfico 3 se observa el comportamiento de los diferentes extractos hidroalcohólicos a través del tiempo. Minuto a minuto se midió la absorbancia de los extractos y se observó que el extracto de flor fue el extracto que mayor potencial de reducción logró frente al radical DPPH puesto que tuvo una absorbancia inicial de 0.130 y concluyó con una absorbancia de 0.99. Después el control positivo (ácido ascórbico) mostró actividad reductora con una absorbancia de 0.301 y finalizó con 0.249. Posteriormente el extracto de hoja de *Calea* fue la segunda estructura con mayor potencial reductor, inició con 0.342 y finalizó con 0.258. Finalmente el extracto de tallo es la estructura con menor actividad reductora de los extractos evaluados, pues inició la lectura con 0.398 de absorbancia y finalizó con 0.311.

En el gráfico 4 se observa el porcentaje de captación del radical DPPH el cual se calculó a través de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Captación} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

Donde A_0 es la absorbancia inicial del blanco de reacción y A_1 es la absorbancia del extracto con DPPH.

Gráfico 3. Captación del radical DPPH• de los extractos hidroalcohólicos de *C. ternifolia* Kunth

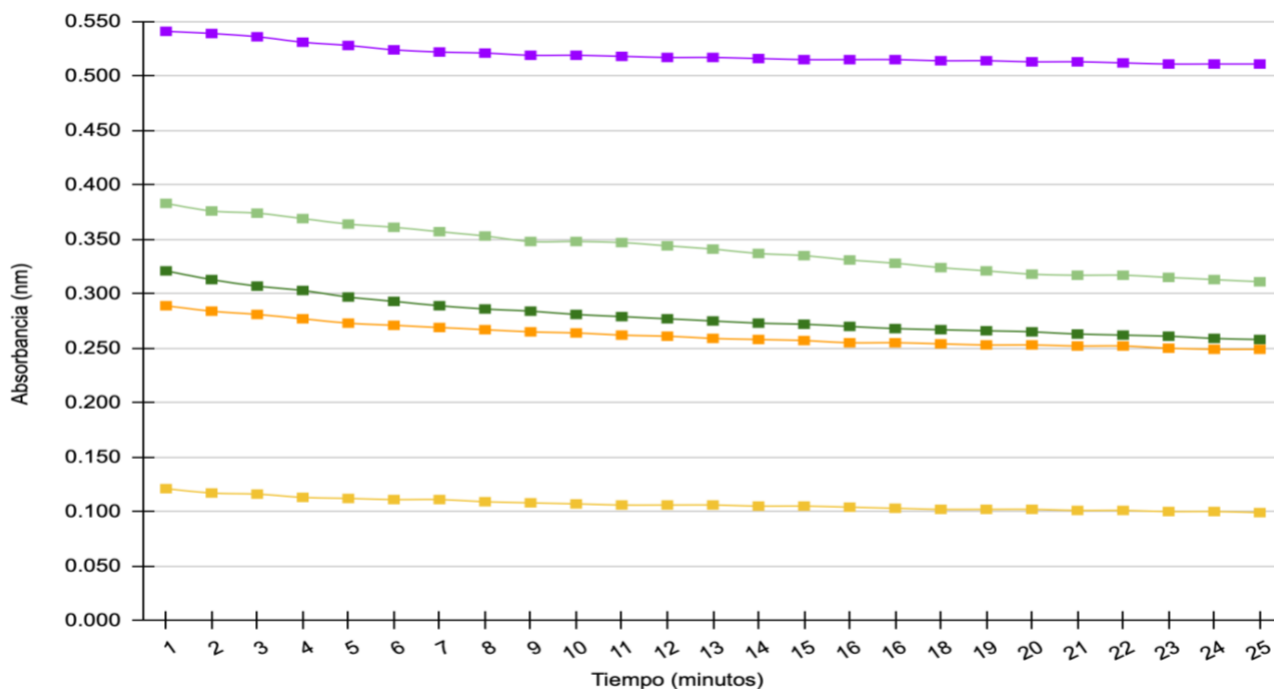
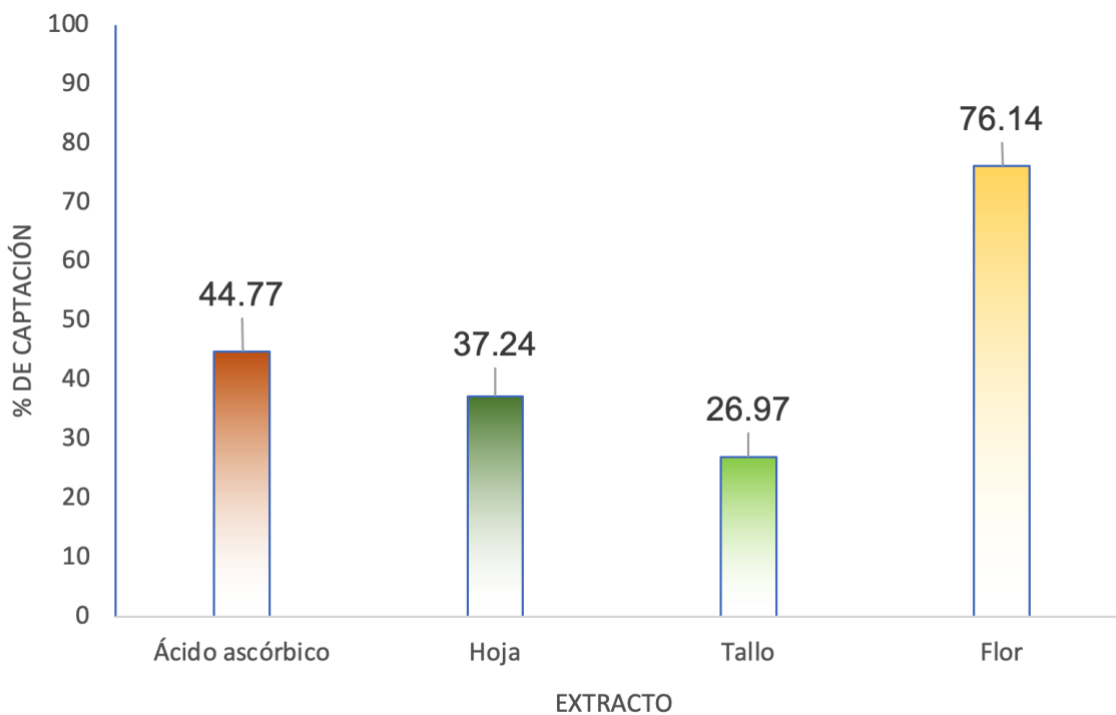


Gráfico 4. Porcentaje de captación del radical DPPH•



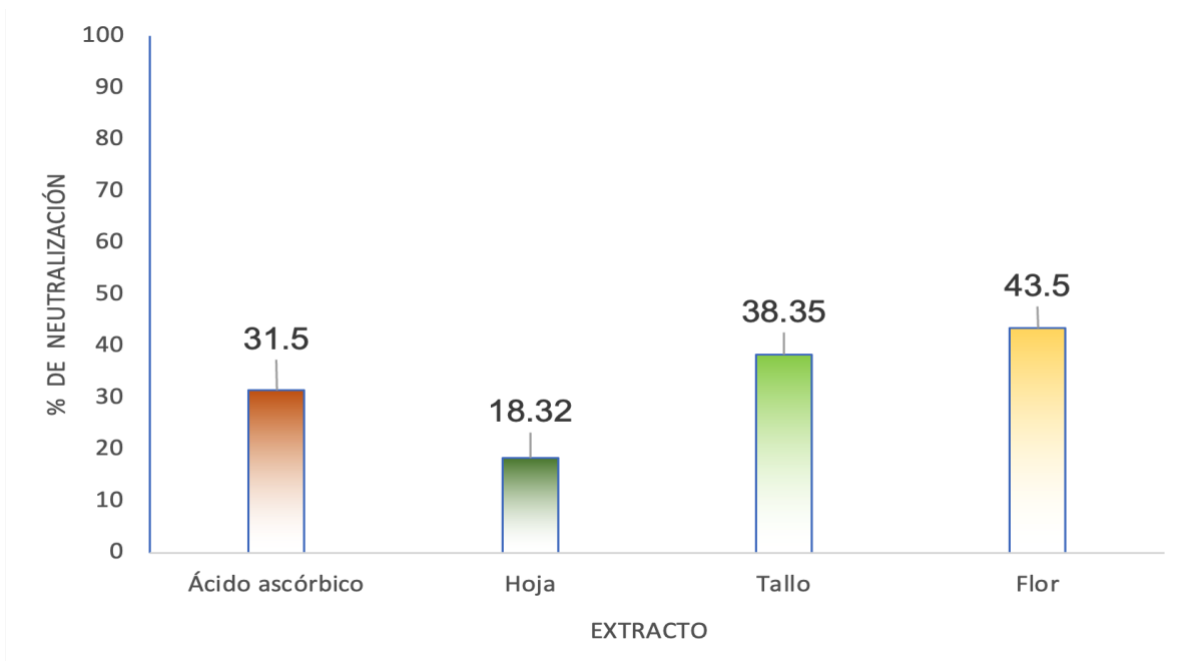


Gráfico 5. Porcentaje de neutralización del radical superóxido O₂•

Tabla 4. Porcentaje de captación del radical DPPH•

Muestra	Concentración mg/mL	Absorbancia	% de captación
Control (ácido ascórbico)	5	0.301	44.77
Hoja	5	0.342	37.24
Tallo	5	0.398	26.97
Flor	5	0.130	76.14

Se utilizó ácido ascórbico como patrón a una concentración de 5 mg/mL, el cual obtuvo una absorbancia de 0.301, posteriormente se calculó el porcentaje de captación del radical dando como resultado 44.77%.

Se calculó el porcentaje de captación de los extractos hidroalcohólicos teniendo 5 mg/mL como concentración constante. En la tabla 4, se observa que el extracto de



hoja mostró 37.24% de captación frente al extracto de tallo con 26.97% y posteriormente el extracto de flor mostró 76.14% de captación siendo esta la estructura con mayor potencial antioxidante.

La capacidad antioxidante de las diferentes estructuras se atribuye a la presencia de metabolitos secundarios, aunque son sus propiedades quienes confieren dicha capacidad. En el campo de la investigación es importante conocer estos detalles debido a que la oxidación celular es uno de los mayores factores que desencadenan el proceso inflamatorio el cual lleva al desarrollo de enfermedades crónico degenerativas y en el proceso también se desarrolla múltiple sintomatología.

Para la prueba de neutralización del anión superóxido se utilizó la fórmula:

$$\% \text{ Neutralización} = A_0 - A_1 / A_0 \times 100$$

Donde A_0 es la absorbancia inicial del blanco de reacción y A_1 es la absorbancia del extracto.

La evaluación de la capacidad antioxidante de *C. ternifolia* Kunth a través de la prueba de neutralización del anión superóxido indica que la estructura de flor posee una capacidad de neutralización mayor al del ácido ascórbico, seguido de las estructuras de hoja y tallo (gráfico 5), sin embargo estos resultados no son significativamente relevantes dado que se encuentran por debajo del 50% de neutralización por lo que los extractos hidroalcohólicos de hoja, tallo y flor son más eficientes en la captación de peróxido de hidrogeno y/o del radical hidroxilo.



IX. CONCLUSIONES

- Los habitantes de la localidad “Plan de limón” utilizan el cocimiento de 2 hojas por litro de agua de *C. ternifolia* Kunth principalmente contra problemas digestivos, trastornos del sueño y disminución de la fiebre.
- Los extractos hidroalcohólicos de hoja y tallo de *C. ternifolia* son fuente de triterpenos, cumarinas, lactonas sesquiterpénicas, fenoles, saponinas, flavonoides, alcaloides y taninos.
- La hoja y tallo presentan altas concentraciones de triterpenos, cumarinas y lactonas sesquiterpénicas; de acuerdo con lo reportado estos metabolitos podrían ser responsables de la actividad citotóxica, antipirética, antiinflamatoria, y neurofarmacológica.
- Se reporta por primera vez que las flores de *C. ternifolia* tiene un potencial antioxidante superior al del ácido ascórbico.



X. REFERENCIAS

- Aguirre, O., Barreiro, W., López, F. (2015). Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Bocconia frutescens* L. (Papaveraceae). Revista de Tecnología (Archivo), 14(2), 21-36. <https://doi.org/10.18270/rt.v14i2.1868>
- Avancini, C., Wiest, J.M. (2008). Veterinary ethnomedicine, ethnonosotaxy and ethnotherapy of skin diseases as a reference for selection and preliminary evaluation of the antibacterial activity of native plants in Southern Brazil. Rev Bras Plantas Med, Botucatu, 10, 21–B9128.
- Cadillo, K. (2020). Polifenoles, flavonoides y actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de Luma chequen (Molina) A. Gray “Arrayan”. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Mayor de San Marcos http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/15624/Cadillo_ek.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Carvajal, L., Hata, Y., Sierra, N., Rueda, D. (2009). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de cupatá (*Strychnos schultesiana* Krukoff). Colombia, 12(1), 161-170 <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=423939612011>.
- Castro, A., Rodríguez, M. (2012). Reacción de Grignard para detectar compuestos del ácido cianhídrico en sorgo. Estación Experimental Agropecuaria Bordenave. <https://inta.gob.ar/documentos/reaccion-de-grignard-paradetectar-compuestos-del-acido-cianidrico-en-sorgo>
- Contreras-Sánchez. (2015). Perspectiva Científica desde la UJAT / W.M 1ª. Ed. Villahermosa, Tabasco, México: Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.



https://archivos.ujat.mx/2016/Divulgacion_cientifica/Perspectiva_UJAT_2014.pdf

- Corrales, L., Muñoz, M. (2012). Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova*, 10(18), 213-225. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca Bogotá, D.C., Colombia. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S179424702012000200009
- Coy C., Parra J., Cuca L. (2014). Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie *Raputia heptaphylla* (Rutaceae), Revista elementos, 4: 31-39. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5085372>
- De aguiar, P., Vanessa, F., Rocha, A., Kautz, J., Citadini-Zanette, V., Lohezic-Le, F., Barlow, J., DalBo, S. (2017). The genus *Calea* L.: A review of isolated compounds and biological activities. *Journal of Medicinal Plants Research*. <https://doi.org/10.5897/JMPR2017.6412>
- Díaz, J. L. (1979). Ethnopharmacology and Taxonomy of Mexican Psychodysleptic Plants. *Journal of Psychedelic Drugs*, 11(1-2), 71-101. <https://doi.org/10.1080/02791072.1979.10472094>
- Domínguez, X. (1973). Métodos de investigación fitoquímica (No. 581.19 D6).
- Durmic, Z., Blache, D. (2012). Bioactive plants and plant products: Effects on animal function, health and welfare. *Animal feed science and technology*, 176(1-4), 150-162. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.018>



- Elejalde, J. (2001). Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. In *Anales de medicina interna* (Vol. 18, No. 6, pp. 50-59). Arán Ediciones, SL. <https://scielo.isciii.es/pdf/ami/v18n6/revision1.pdf>
- Garamendez, E., Marthans, R. (2020). Determinación de la actividad de las sapogeninas presentes en *Pattalus mollis* (pepino de mar) frente a *Candida albicans*. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Lima. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/15529>.
- García, A., Carril, E. (2011). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca* (biología), 2(3). <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/798>
- García, E., Fernández, I., Fuentes, A. (2015). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Universidad Politécnica de Valencia. <http://hdl.handle.net/10251/52056>
- García, E., Koch, S. (1995). Flora del bajío y regiones adyacentes. Fascículo 32, Compositae (Tribu Cardueae) Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío, Pátzcuaro, Michoacán. <http://inecolbajio.inecol.mx/floradelbajio/documentos/fasciculos/ordinarios/Compositae%2032.pdf>
- Gutierrez, D. Ortiz, C. Mendoza, A. (2008). Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal. Universidad Autónoma de Querétaro. https://www.cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/m2/sm2008-m220-1108.pdf



- Habli, Z., Toumieh, G., Fatfat, M., Rahal, O. N., Gali-Muhtasib, H. (2017). Emerging cytotoxic alkaloids in the battle against cancer: overview of molecular mechanisms. *Molecules*, 22(2), 250. <https://doi.org/10.3390/molecules22020250>
- Havsteen, B. (1983). Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochemical pharmacology*, 32(7), 1141-1148. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(83\)90262-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(83)90262-9).
- Herrera, I., Quimis, K., Sorroza, N., García, F., Mariscal, W., Mariscal, R. (2017). Determinación de Taninos y Cumarinas presente en la planta tres filos. *Polo del Conocimiento*, 2(7), 500-522.
- Hill, R., Connolly, J. (2017). Triterpenoids. *Natural Product Reports*, 34(1), 90-122. <https://doi.org/10.1039/C6NP00094K>
- Korkina, L., Kostyuk, V. (2012). Biothechnologically produced secondary plant metabolites for cancer treatment and prevention. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 13:265-275. <https://doi.org/10.2174/138920112798868692>
- Lima, T., De Jesus Souza, R., Da Silva, F., Biavatti, M. (2018). The genus *Calea* L.: A review on traditional uses, phytochemistry, and biological activities. *Phytotherapy Research*, 32(5), 769-795.
- Martínez, A., Ospina, F., Valencia, G., Jiménez, N. (2008). Manual de Prácticas de Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica. Universidad de Antioquia. Facultad de Química Farmacéutica. Departamento de Farmacia. Medellín. Colombia. <https://goo.su/dICuMCU>
- Martínez, M., García, L., Martínez, E., Reyes, S. (2007). Características farmacognósticas de las hojas de *Capparis avicennifolia*. *Revista Médica*



Vallejiana/Vallejian Medical Journal, 4(2), 121-131.

<https://doi.org/10.18050/revistamedicavallejiana.v4i2.2235>

- Mata, R., Contreras-Rosales, A., Gutiérrez-González, J., Villaseñor J. Pérez-Vásquez, A. (2022). *Calea ternifolia* Kunth, the Mexican “dream herb”, a concise review. *Botany*. 100(2): 261-274. <https://doi.org/10.1139/cjb-2021-0063>
- Mayagoitia, L., Diaz, L., Contreras, C. (1986). Psychopharmacologic analysis of an alleged oneirogenic plant: *Calea zacatechichi*. *J Ethnopharmacol*, 18, 229–243.
- Mekar, N., Herawati, I., Ferian, N. (2017). Total Phytosterols Content In Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) Calyx From Subang And Bandung. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. ISSN: 0975-8585. <https://goo.su/5zZxVAw>
- Ochoa, L., Sarmiento, J. (2018). Estudio fitoquímico de la especie vegetal *Bucquetia glutinosa* (L. f.) DC. (Melastomataceae) y evaluación de su actividad biológica. Tesis de grado. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, Bogotá. <https://repository.udca.edu.co/handle/11158/996>
- Orantes, E. (2008). Tamizaje fitoquímico de la especie vegetal guatemalteca *Quararibea yunckeri* Standley Subsp. izabalensis W.S. Alverson ex Véliz (Bombacaceae), Facultad de Ciencias químicas y farmacia, Guatemala. <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/Q187.pdf>
- Ortiz, S. (2011). Evaluación del extracto etanólico de *Calea urticifolia* (Mill.) dc. sobre la regulación de la secreción de adipocinas asociadas a la resistencia a la insulina. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Luis Potosí, México. <https://repositorioinstitucional.uaslp.mx/xmlui/handle/i/3549>



- Osorio, A., Martins, J. (2004). Determinação de cumarina em extrato fluido e tintura de guaco por espectrofotometria derivada de primeira ordem. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 40, 481-486.
- Ramakrishna, A., Aswathanarayana, G. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plants Signaling & Behavior*, 6:11, 1720-1731. <https://doi.org/10.4161/psb.6.11.17613>
- Reuter, S., Gupta, S., Chaturvedi, M., Aggarwal, B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked?. *Free radical biology and medicine*, 49(11), 1603-1616. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006>
- Rodríguez, O., Andrade, W., Diaz, F. (2015). Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Bocconia frutescens* L. (Papaveraceae). Universidad El Bosque. <https://doi.org/10.18270/rt.v14i2.1868>
- Rojas, L., Jaramillo, C., Lemus, M., (2015). Métodos analíticos para la determinación de metabolitos secundarios. Universidad Técnica de Machala. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/6653>
- Rzedowski, J., Calderón de Rzedowski, G., Carrillo-Reyes, P. (2008). Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Fascículo 157, Compositae. *Tribu Heliantheae I (géneros Acmella-Jefea)*. Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío, Pátzcuaro, Michoacán. <https://doi.org/10.21829/fb.91.2008.157>
- Segura-Cobos, D., Venegas-Flores, H., Vázquez-Cruz, B., & Baiza-Gutman, L.A. (2010). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the methanol extract of *Calea zacatechichi* leaves and its fractions. *Pharmacologyonline*, 2,1100–1110.



- Shirwaikar, A., Shirwaikar, A., Rajendran, K., Punitha, I. (2006). In Vitro Antioxidant Studies on the Benzyl Tetra Isoquinoline Alkaloid Berberine. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 29(9), 1906-1910. <https://doi.org/10.1248/bpb.29.1906>
- Smith, T. (2000). Squalene: potential chemopreventive agent. Expert Opinion on Investigational Drugs, 9(8), 1841–1848. <https://doi.org/10.1517/13543784.9.8.1841>
- Varela, L. (2013). Actividad citotóxica del extracto acuoso y en metanol de la planta regional *Rhus trilobata* en la línea celular de cáncer de colon CaCo-2. Tesis de doctorado. Universidad Autónoma de Chihuahua. <https://goo.su/3pCviOk>
- Valle, E. (2016). Caracterización de saponinas de *Agave durangensis* y *salmiana*, y su efecto en la pared y membrana celular de *Kluyveromyces marxianus* y *Saccharomyces cerevisiae*. <http://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1023/423>
- Villacorta, J., Rivas, R., Nuñez, M., Sánchez, J., Martínez, M. (2017). Cuantificación de sesquiterpenlactonas procedentes de las hojas de *Calea urticifolia* (Asteraceae) durante el año 2012. Revista Minerva. ISSN 2521-8794. <https://revistas.ues.edu.sv/index.php/minerva/article/view/894>