

1985-2

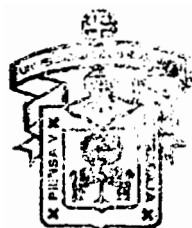
78230126

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS



**CUCBA**



**BIBLIOTECA CENTRAL**

**"CULTIVO AISLAMIENTO Y VARIACION DE  
PRINCIPIOS ACTIVOS DE HELENIUM MEXICANUM"**

**TESIS PROFESIONAL**

PARA OBTENER EL TITULO DE  
**LICENCIADO EN BIOLOGIA**

P R E S E N T A :

**RUTH ARACELI DE CELIS CARRILLO**

**Guadalajara, Jal. 1986**

## C O N T E N I D O

	Págs.
I) <u>RESUMEN</u> -----	1
II) <u>INTRODUCCION</u> -----	2
ANTECEDENTES	
OBJETIVO	
HIPOTESIS	
JUSTIFICACION	
III) <u>MATERIAL</u> -----	6
a) PROCEDENCIA DEL MATERIAL	
ILUSTRACION	
b) SUSTRATO DE CRECIMIENTO	
IV) <u>METODOS</u> -----	9
a) EXTRACCION Y ALMACENAMIENTO DE SEMILLAS	
b) SIEMBRA	
c) COSECHA Y PROCESAMIENTO DEL MATERIAL	
d) AISLAMIENTO DE LAS LACTONAS SESQUITERPENICAS	
V) <u>RESULTADOS</u> -----	14
a) DEL CRECIMIENTO Y FLORACION DE LA ESPECIE PROPAGADA	
b) AISLAMIENTO DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS	

VI) <u>DISCUSION</u> -----	21
a) DE LA NECESIDAD DEL CULTIVO	
b) DE LOS RESULTADOS DEL CRECIMIENTO Y FLORA CION	
c) DE LA EXTRACCION DE LOS PRINCIPIOS ACTI-- VOS Y SUS RESULTADOS	
VII) <u>CONCLUSIONES</u> -----	25
VIII) <u>BIBLIOGRAFIA</u> -----	26

" Bendita seas tú, áspera materia,  
gleba estéril, dura roca,  
Tú que no cedés más que a la violencia  
y nos obligas a trabajar  
si queremos comer.

" Bendita seas, poderosa materia,  
evolución irresistible,  
realidad siempre naciente,  
Tú que haces estallar a cada momento nuestros cuadros  
y nos obligas a buscar,  
cada vez más lejos,  
la verdad.

*Himno a la Materia*

PIERRE THEILARD DE CHARDIN

A mi Padre

Por tus desvelos conmigo  
por tu apoyo y compañía  
por que ahora que te fuiste, más cerca mio estas  
y por tu recuerdo perenne de cada día.

A mi Madre

Para que sea ésta una de las ocasiones  
en que pueda yo reiterarte todo tu amor y  
cariño.

A mis Hermanos

Para todos ustedes, porque son parte de mi  
porque me han ayudado a ser lo que hasta ahora soy  
y porque admiro mucho a cada uno por lo que es y  
porque a cada uno lo quiero de manera especial.

A mis Pequeños

Manuelito, Jenny, Deborita y Gabrielito

A Edmundo Ponce Adame

Con respeto con mucha admiración y el cariño que  
me mereces.

Al Dr. Carlos Astengo Osuna

Por su valiosa, acertada dirección y con todo mi afecto  
respetuoso.

A Tí

Por estar en mis pensamientos eternamente  
invaluable, intangible e imperturbable

A mis Amigos y Compañeros.

## 1) RESUMEN

*Helenium mexicanum*. H.B.K. fue propagada sexualmente, bajo dos diferentes condiciones de crecimiento: en invernadero y al exterior. Esta especie nunca había sido cultivada. Con el fin de determinar la presencia y variación de helenalina, se estudiaron muestras de Helenium mexicanum, se obtuvieron extractos de diferentes edades del vegetal y se separaron sus componentes mediante cromatografía, habiéndose identificado con este procedimiento la presencia de helenalina.

Durante el cultivo de *Helenium mexicanum* se estudiaron los requerimientos para su crecimiento, así como la respuesta a otro tipo de variables pertinentes. Helenium mexicanum completó su ciclo vital en ambos sistemas de cultivo: en invernadero y al exterior. Se demostró que esta especie produce la helenalina bajo las dos formas de cultivo estudiadas.

El cultivo de Helenium mexicanum en invernadero es una alternativa para la obtención de helenalina y ofrece la posibilidad conveniente y económica de poder estudiar las propiedades biológicas y farmacológicas y de su eventual aprovechamiento industrial.

## II) INTRODUCCION - JUSTIFICACION

Helenium mexicanum es una planta herbácea anual, de tallo - recto de forma angular y provisto de pelo corto y ralo. Alcanza de 80 a 90 cm. de altura. Sus hojas son simples, alternas, sésiles, - lineares o laceoladas. Inflorescencia de color amarillo en capítu - los terminales, corimbosos, de 2 - 3 cm. de diámetro, con pedúncu - los largos y pubescentes, arredondados y persistentes. El involu - cro es polifilo, con brácteas uniseriadas, soldadas hasta su parte media, iguales y lineares. Flores del disco tubulosas y hermafrodi - tas; las de la periferia liguladas y femeninas. Florece de agosto - a septiembre (8, 25, 42).

El género fue establecido por Linneo, pertenece a la fami - lia Compositae, subfamilia Tubuliflorae, la especie H. mexicanum - se encuentra descrita en el pródromo de De Candolle, tomo V, pági - na 655 (8).

Reiche (36), la incluye en la tribu I. Tubuliflorae, subfa - milia 6. Helenioideae, grupo primero. Género Helenium. En diferen - tes lugares de México recibe los siguientes nombres vulgares: "ár - nica del país, chapuz, amargosa, rosilla de Puebla, cabezona, hier - ba de las ánimas o manzanilla montés" (35).

El género Helenium se distribuye a través del continente -- Americado (16); en México, la especie H. mexicanum vegeta en terre - nos muy húmedos o inundables del Valle de México, Querétaro, San - Luis Potosí, Guanajuato, Hidalgo, Michoacán, Guerrero, Puebla, Ve -

cruz, Tabasco, Baja California, Sonora, Nuevo León, Durango, Chihuahua y Jalisco (25).

Helenium mexicanum ha sido estudiada en varios países por: - Clark 1936, (9); Adams & Herz 1949, (1); Romo de Vivar 1959, (39); - Olechnowicz 1963, (29); Dollalite 1964, (11); Romo 1964, (38); Lee 1971, (20); Aline 1973, (2); Petit 1973, (33); y en nuestro país -- por: Villaseñor 1836, (45); Carrillo 1887, (8); Prieto 1896, (34); - Armendaris 1896, (3); Martínez del Campo 1897, (24), Bulman 1897, - (7); Orvañanos 1897, (28); Río de la Loza 1900, (37); Hernández --- 1968, (17); Sánchez 1983, (42); Martínez 1974, (26).

Se conocen algunas sustancias o principios activos extraídos de esta planta a los que se han atribuido propiedades medicinales y citotóxicas. Entre estas sustancias se encuentra la helenalina (20) que es un principio activo del tipo de lactonas sesquiterpénicas, - compuestos netamente de origen vegetal (9), aislados de plantas de las familias de las Compuestas, Umbelíferas y Magnoláceas (12).

Las lactonas sesquiterpénicas tienen amplia actividad biológica, destacando la de tener propiedades citotóxicas bien demostradas (29), actúan impidiendo la reproducción celular de tejidos animales (26), lo que las podría hacer útiles en el tratamiento del -- cáncer, toda vez que se disponga de suficiente cantidad para extender las pruebas farmacológicas que ya se tienen "in vivo" e "in vitro" a nivel de ratón, donde dieron prometedores resultados (20, -- 21), hasta la Clínica en humanos (7, 24). Se le consideró "la res--



ponsable de altas reacciones tóxicas presentadas por animales y sujetos de experimentación tales como vomitivo y purgante [Carrillo - 1869, (8); Armendaris 1897, (3), e incluso que actuaba sobre los -- centros nerviosos". Flores y Orvañanos ampliando lo anterior, aseve-- ran que es estornutatoria, e irritante energético que obra sobre el intestino, como un drástico purgante. Utilizaron la planta en va--- rios casos de ataxia locomotriz para calmar los dolores. Reeb en -- 1910 y Lambson en 1913 (43) la consideran como antihelmíntico.

En 1971 y 1972, Lee et al (20), demostraron la alta citotóxi-- cidad de la helenalina para cultivos "in vitro" de las células neo-- plásicas nasofaríngeas y para fibroblastos humanos normales. Tam--- bién la probaron en vivo, en ratas con tumor de Ascitis de Ehrlich. Petit et al (1973, 1974), (33), concluyeron que la helenalina repre-- senta el primer pseudo guainólido que mostró actividad antileucémi-- ca en vivo.

Actualmente son pocos los estudios que se han realizado so-- bre ésta sustancia. Uno de los problemas es que no se conocen las -- características de su cultivo en invernadero que harían más conve-- niente el manejo del arbusto con el fin de obtener en forma contro-- lada y adecuada algunos de sus componentes y estudiar sus propieda-- des biológicas y farmacológicas. Por muchos años ha existido la in-- cógnita de que si la actividad de los medicamentos obtenidos de --- plantas cultivadas era igual a la de los extraídos de plantas que -- carecen en forma silvestre. En 1907 Rippetoe (18), realizó experi--

mentos con plantas cultivadas de Belladona (Atropa belladonna) que demostraron que portaba igual contenido de principios activos que las de origen silvestre. Carr en 1913 demostró que si había una variación entre una y otra. Sievers (18) llega a una conclusión similar diciendo "que el porcentaje de alcaloides en plantas cultivadas era extraordinariamente mayor. Y que plantas ricas en alcaloides -- continuaban produciendo descendencia con alto contenido, así que -- por simple selección se podría producir una mejora en el producto-comercial! El presente estudio se lleva a cabo con el fin de conocer las características de cultivo en invernadero y al exterior para comparar los contenidos de helenalina y determinar si en ambas condiciones se puede extraer la helenalina.

El cultivo de Helenium mexicanum en invernadero permite aislar Helenalina al igual que en la forma silvestre, pero con la ventaja de que se puede cultivar en forma controlada y obtener el producto en forma más accesible.

El propósito de nuestra investigación es verificar si el cultivo al exterior y en invernadero de Helenium mexicanum produce las cantidades adecuadas y convenientes de helenalina para su utilización con fines de estudio de sus propiedades biológicas, farmacológicas y de una eventual industrialización.

### III) MATERIAL

#### a) PROCEDENCIA DEL MATERIAL

*Las plantas y semillas de esta especie que se colectaron - de San Juanito, municipio de Antonio Escobedo, Estado de Jalisco; se localizaron en un maizal abandonado por su periodica inundacion; la planta es regularmente abundante en la zona, en donde alcanza a medir 90 cm. de alto; y fue obtenida en varias recolecciones efectuadas alrededor de los meses de julio a septiembre de 1984, época en que se encontraba en fructificación*



*Helenium mexicanum* H. B. K.

## b) SUSTRATO DE CRECIMIENTO

Se empleo como sustrato de crecimiento para el desarrollo de las plantas a tierra oscura de origen forestal, del bosque de la primavera, que es un bosque de naturaleza mixta de pino y encino, localizado en el municipio de Zapopán, - del estado de Jalisco.

Este sustrato a utilizar, cuenta con las siguientes características Físicas y Químicas.

Color \_\_\_\_\_ Pardo muy oscuro.

Contenido \_\_\_\_\_  
 Arena: 43%  
 Arcilla: 18%  
 Limo: 39%

p H \_\_\_\_\_ 6.40

Materia Organica \_\_ 9:50%

Relación C/ N \_\_\_\_ 15.6

Nitrogeno Total \_\_\_\_ ( en % ): 0.4

Fosforo y Potasio \_ ( en Kg./ha ): 14 y 375 respectivamente.

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

#### IV) MÉTODOS

##### a) EXTRACCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE SEMILLAS.

Los capítulos maduros y secos de Helenium, con solo sacudirlos levemente, dejarón en libertad a los frutos (aquenios), - que tienen una sola semilla cada uno (monospermicos).

Los aquenios fueron pasados por diferentes tamices para liberarlos de las impurezas. Posteriormente fueron conservados en envases de vidrio con tapón de rosca dentro de un refrigerador, del que se sacaron un día antes de la siembra.

##### b) SIEMBRA

Se habilitó un área de un invernadero, que fue diseñado con las necesidades requeridas por los vegetales en estudio.

De igual manera se acondiciono un área al interperie, donde también se repitió la siembra de las semillas.

Con tierra previamente esterilizada con fenol al 5%, se llenaron cajas hasta lograr una capa uniforme de aproximadamente 16 cm de espesor. Un día antes de la siembra se le humedeció y emparejó, trazando posteriormente surcos, que recibieron las semillas.

##### c) COSECHA Y PROCESAMIENTO DEL MATERIAL.

Se hicieron recolecciones periódicas de ejemplares, todas -- fueron arrancadas del suelo, enjuagadas con agua corriente - para lavar las raíces, escurridas para eliminar el exceso de

humedad, pesadas en verde y puestas a secar lentamente a las plantas mediante corrientes de aire frío.

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

AREA	FECHA DE SIEMBRA Y BROTAION	COSECHAS MENSUALES									
		3 de Mayo	4 de Junio	2 de Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	1o. de Diciembre	Enero	5 de Febrero
EXTERIOR	14 de Diciembre										
	27 de Diciembre 1984.	*	*	**				*		*	
		a	b	c				d		e	
AREA	FECHA DE SIEMBRA Y BROTAION	COSECHAS MENSUALES									
INVERNADERO	3 de Diciembre	7 de Febrero	8 de Marzo	9 de Abril	Mayo	Junio	10 de Julio	Agosto	11 de Septiembre	Octubre	12 de Noviembre
	13 de Diciembre 1984.	*	*	*			**		**		*
		f	g	h			i		j		k

(\*) Muestra procesada hasta extracto crudo total, con cuya letra aparecerá en los cuadros de resultados.

(\*\*) Muestra cromatografiada hasta separación de los principios activos buscados.



#### d) AISLAMIENTO DE LAS LACTONAS SESQUITERPENICAS.

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

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

A los extractos así obtenidos, se les cromatografió en placas delgadas de sílice G. usando como testigo muestras auténticas de helenalina ( En el cuadro No. 1 aparecen los datos de las muestras procesadas hasta ese paso ).

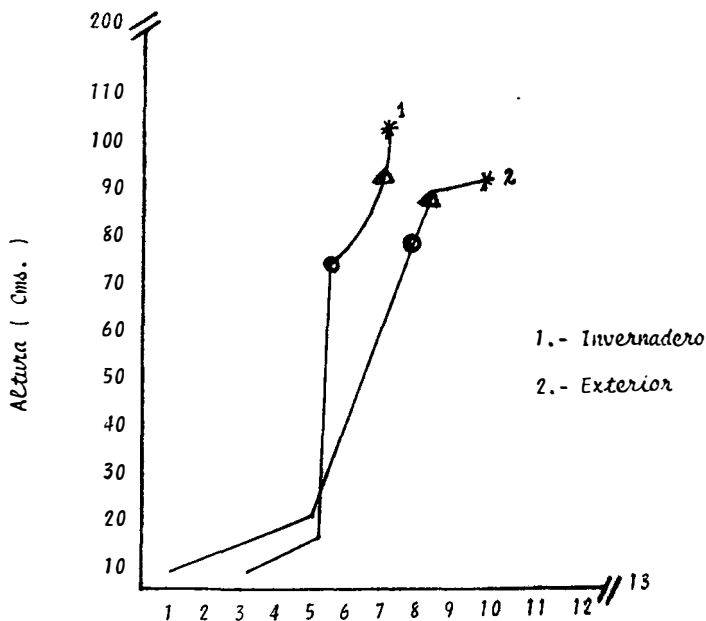
Las placas fueron corridas en una cámara de vidrio empleando como eluyentes al benceno y acetato de etilo (4/1), y se revelaron aplicándoles una aspersión de sulfato cérico disuelto en ácido sulfúrico y en seguida se les calentó en parrilla eléctrica apareciendo los diversos componentes en forma de manchas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

A siete de estos extractos se les separó en fracciones, mediante cromatografía en columna, empleando como adsorbente a la alúmina Alcoa F - 20, ( previamente lavada con acetato de etilo y seca da antes de colocarla en la columna ) y diferentes eluyentes ( ben- ceno puro hasta obtener en una fracción a la helenalina ); las frac- ciones que cristalizaron fueron recristalizadas con acetona y éter- isopropílico, para determinarles puntos de fusión y análisis espec- troscópico con rayos infrarojos para confirmar su identidad.

## V) RESULTADOS

### a) DEL CRECIMIENTO Y FLORACION DE LA ESPECIE PROPAGADA.

Como se puede apreciar en la gráfica No. 1, cuando esta especie se desarrolló en el invernadero, su período de crecimiento, floración y fructificación difirió de las que fueron mantenidas en el exterior, notándose que bajo las condiciones del primero, completó su ciclo vital dos meses antes ( junio y agosto, respectivamente ), además la brotación fué mayor en un 55% y ocupó tres días menos que en el exterior. En ambos casos, se obtuvo semilla fértil, ya que la polinización la realiza el viento.



Edad en meses. (período comprendido de diciembre 1984-

Diciembre 1985)

Plantas de Helerium mexicanum creciendo en el invernadero y-  
en el exterior

- Floración
- ▲ Fructificación
- \* Terminación del ciclo vital.

Gráfica No. 1

Aplicando pruebas estadísticas de  $\chi^2$  se observó un porcentaje de germinación mucho mayor al que se esperaba en ambos medios, - casi un 85% en promedio, lo que dio como resultado que se obtuvieron más plantas, habiéndose hecho labores de aclareo durante los dos primeros meses, con el fin de dejar mayor separación entre las plantas.

Resultados de las pruebas de germinación previas a la siembra. \*

Fechas de		Pretratamiento	Porcentaje de Germinación Esperado	Porcentaje de germinación <u>ob</u> servado.
Cosecha	Siembra			
31 de Julio 1984.	26 de Agosto 1984.	Remojo en agua-corriente durante dos minutos.	25%	100%
31 de Julio 1984.	Diciembre 1984	Ninguno	15%	68%

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

b) AISLAMIENTO DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS.

Un cromatograma en capa fina gel G de sílice de los extractos totales de las muestras de Helenium mexicanum, revelaron la presencia de helenalina al ser comparados con muestras auténticas; en todos los casos se reveló su presencia tanto en el exterior como en el invernadero, así como la muestra de planta que se cosechó en San Juanito, municipio de Antonio Escobedo, Estado de Jalisco y que crecía en forma silvestre.

En el esquema que se muestra en las figuras Nos. 1 y 2 se aprecia una comparación de la cromatoplaque de las diferentes fracciones obtenidas al hacer las respectivas cromatografías en columnas de las muestras C, I, J.

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

La helenalina auténtica funde a 168 - 171°C (39). Como se puede concluir de los datos antes presentados, queda perfectamente aclarada la presencia de helenalina en las muestras analizadas.

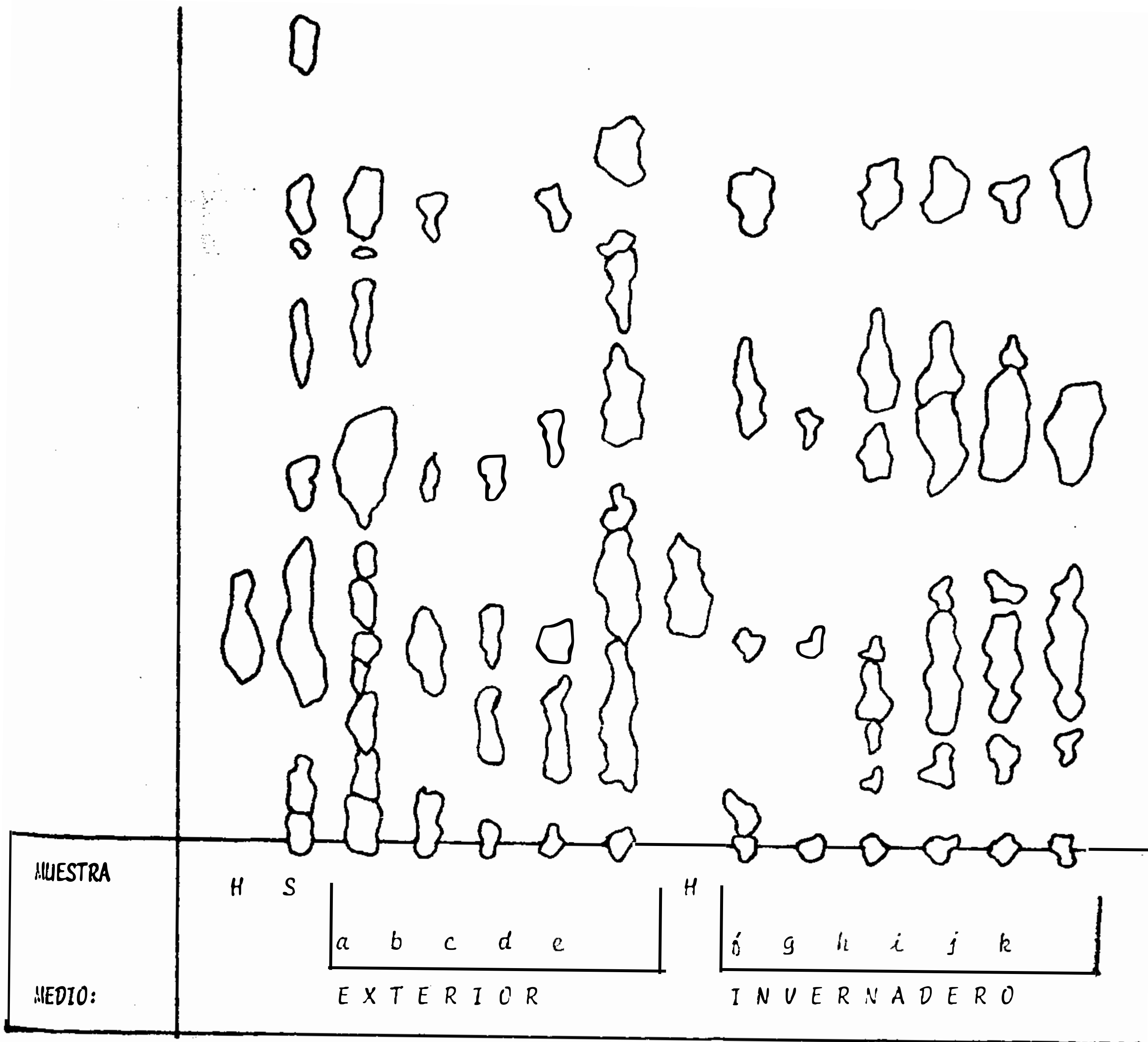


Fig. No. 1 CROMATOGRAFIA DE MUESTRAS DE Helenium mexicanum.

H = Helenalina auténtica.

S = Extracto de planta silvestre.

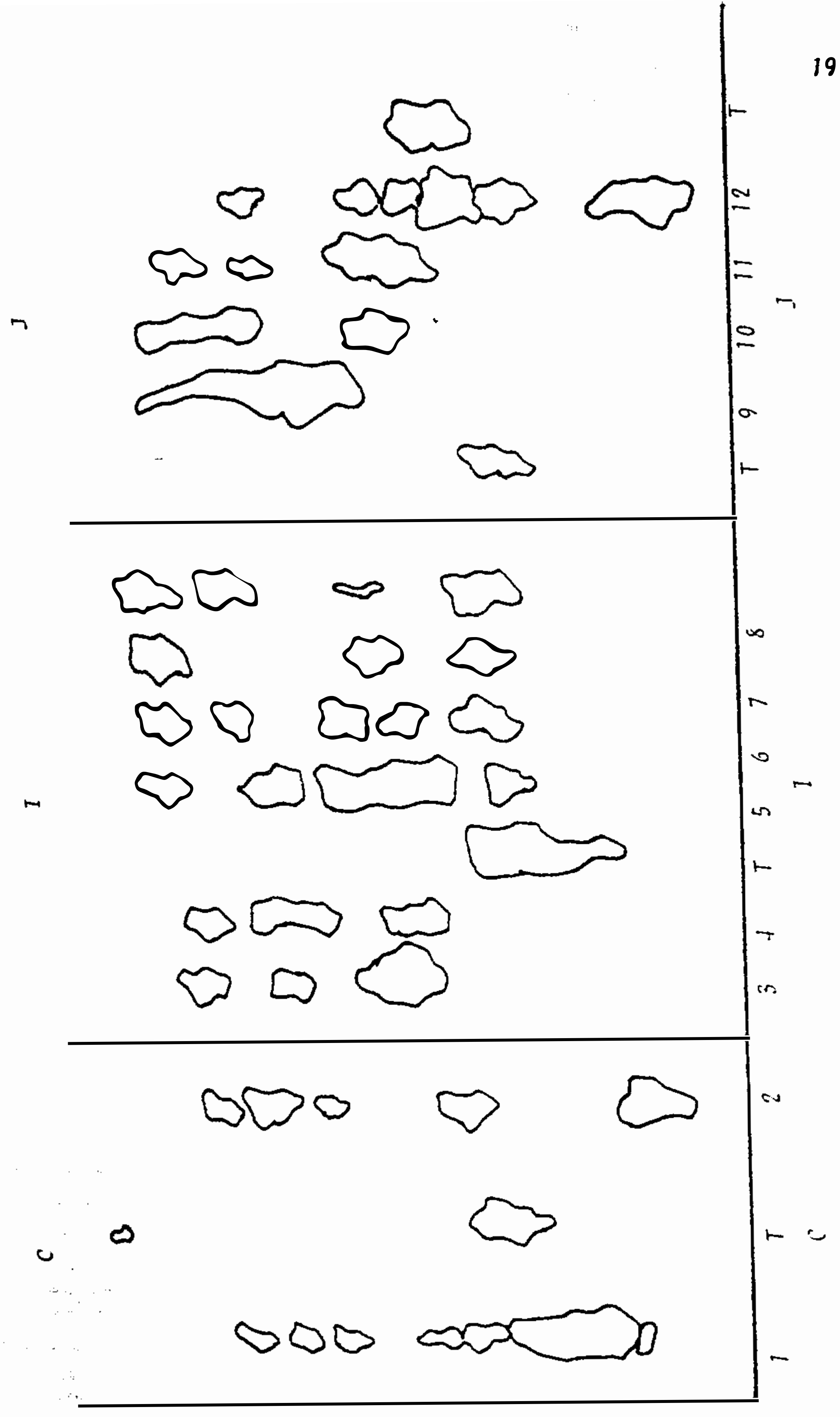
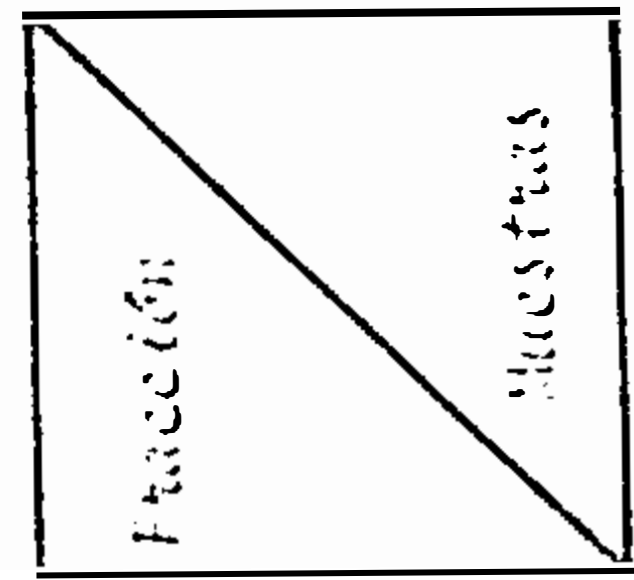
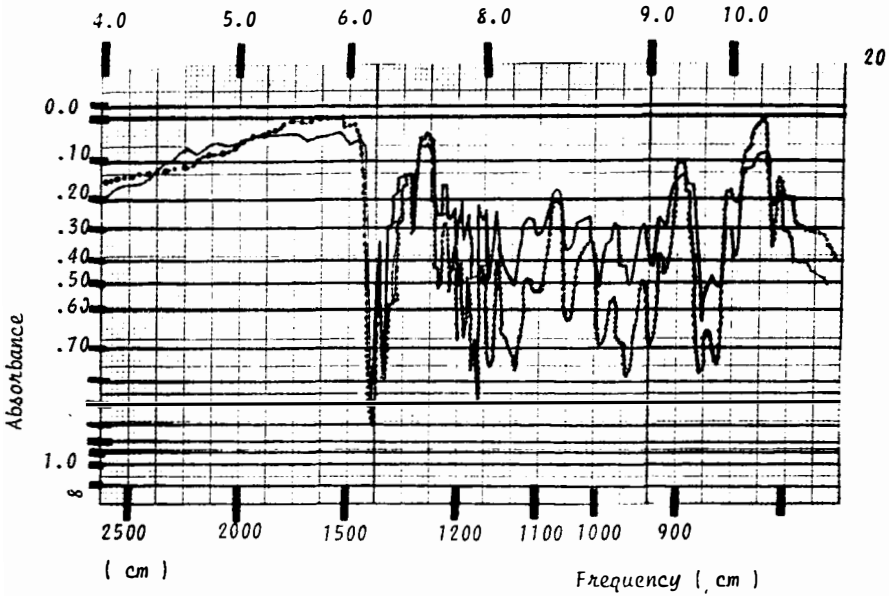


Fig. No. 2  
 Cromatoplacas de varias fracciones de muestras C, I y J (Helianthum mexicanum).  
 T = Helianthum autentica.

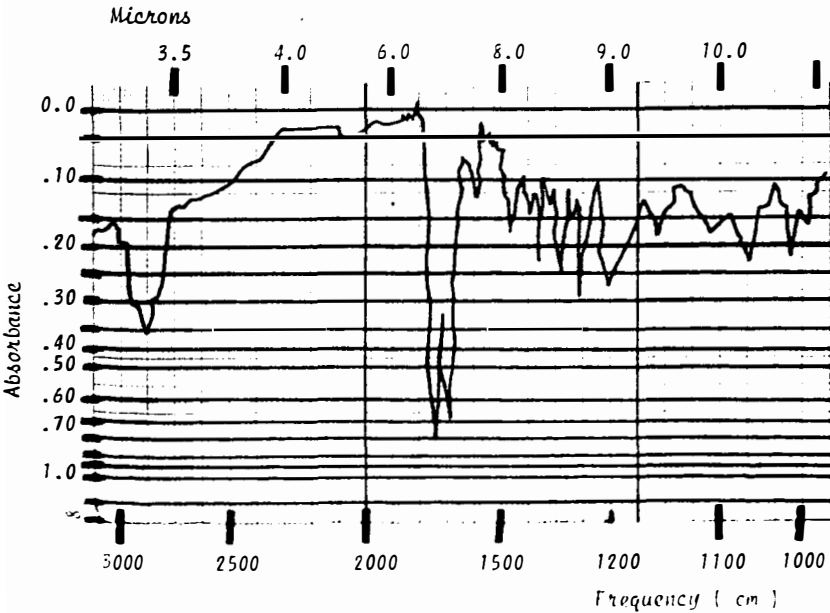




Microns



Espectro No. 1 . . . . . Helenalina Autentica  
Fracciones 1 y 2 de la muestra C



Espectro No. 2 Fracciones 9, 10, 11, 12 de la muestra J

## VI) DISCUSION

## a) DE LA NECESIDAD DEL CULTIVO.

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

Además, al analizar plantas de la misma especie procedentes de diferentes regiones, se vio que su composición química no era la misma, a veces tanto cualitativa como cuantitativamente (39), - lo que indica que las fuentes naturales no son propiamente las mejores.

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

que se requirió la implantación de vedas.

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

También se requiere ampliar los conocimientos acerca de la autoecología de las especies, aquí comenzadas a estudiar, misma -- que haría posible que se le pueda cultivar con mayor margen de seguridad.

#### b) DE LOS RESULTADOS DEL CRECIMIENTO Y FLORACION.

Helenium mexicanum nunca había sido cultivada y es considerada como maleza, venenosa para el ganado, y de la que casi no se sabe nada, excepto la descripción botánica y el análisis químico, -- que son mencionados en la literatura, ignorándose sus hábitos de -- crecimiento. Los resultados obtenidos acerca del crecimiento de -- Helenium mexicanum en cuanto a sus hábitos, parecen ser alentado-- res, para hacer factible sus posibilidades de cultivo y subsecuen-- te domesticación.

Asimismo pudieron ser conocidas en parte, algunas de sus -- respuestas o actitudes, como su germinación, densidad de siembra, --

método de extracción de sus semillas, cosecha y procesamiento del material vegetal. Algunos requerimientos del cultivo, procesos de floración y fructificación de Helenium que ya completó su ciclo vital.

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

#### c) DE LA EXTRACCION DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS Y SUS RESULTADOS.

Aunque laborioso, es relativamente sencillo el proceso para la extracción de las lactonas sesquiterpénicas que elabora Helenium que fue seguido en el curso del trabajo; no así el método para purificarlas, es decir para separar los cristales de las sustancias ya que ellas están incluidas en aceites, lo que aunado a su pequeña proporción, implica un procedimiento en extremo cuidadoso para lograr su separación; por ejemplo, la cantidad de helenalina varía según la etapa del ciclo vital en la que es determinada, desde 0.05

a 0.228% de planta seca (39).

Como se vé en las cifras anteriores, su presencia en la --- planta no es muy abundante, y los autores antes mencionados para - lograr esas determinaciones requirieron de 23 a 25 kg de planta se ca, lo cual haciendo una rápida conversión a planta verde nos dá - 230 a 250 kilos, así podrá imaginarse de qué cantidad y superficie se requerirá disponer si una planta de esta especie al llegar a su madurez pesa ya seca, 2 gramos.

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

Lo interesante es que a pesar de la baja cantidad de planta analizada fue posible detectar que la planta elaboró la lactona, - tanto en condiciones de invernadero, como en las del exterior y en las diferentes edades en las que fue cosechada; apareciendo desde la muestra mas joven que se tomó cuando la planta tenía 2 meses de edad.

## VII) CONCLUSIONES

*Helenium mexicanum* se desarrolló sin problemas, tanto en el invernadero como en el medio ambiente, adaptándose bien a las condiciones de cultivo.

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

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

Es factible su propagación a corto plazo.

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

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

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

## VIII) BIBLIOGRAFIA

- 1.- ADAMS, R & W. HERZ. 1949. Helenalin. I. Isolation and --  
properties.  
J. Amer. Chem. Soc. 71 : 2546 - 2551.
- 2.- ALINE, S.M. y L. PAASCH. 1973. Intoxicación de Borregos-  
con Helenium integrifolium, Veterinaria (Mex.) 4 (3): --  
214 - 222.
- 3.- ARNENDARIS, E. 1896. Continuación del estudio de "chapuz"  
ó "cabezona de Guanajuato", Anales del Instituto Médico-  
Nacional (Mex.) 2 43, 77, 99, 122.
- 4.- BELA, L., NANASI, P. & P. TETENVI. 1971. Investigations-  
on the glycoside content of Digitalis lanata Ehrh Herba-  
Hung. 10 (1) : 23-35.
- 5.- BERENBLUM, G.K. & S.E. MALAWISTA. 1969. El Hombre contra  
el Cáncer.  
Edit. Candelabro. Buenos Aires, Argentina.
- 6.- BHAKUNI, D.S. et al. 1974. Anticancer agents from chi---  
lean plants. Digitalis purpurea L. var. alba. Rev. Lati-  
noamericana Quim. 5 (4) : 230 - 235.
- 7.- BULMAN, F., 1897. Ensayo del "chapuz" a enfermos con he-  
morragia cerebral y tabes espasmódica. Anales del Inst.-  
Med. Nal. (Mex) 3 : 175

- 8.- CARRILLO, A.P. 1887. Estudio sobre la "Rosilla de Puebla (Tesis Farmacéutico), México, En : "El estudio", Monografías Mexicanas de Materia Médica. 1890. Of. Tipog. de la Sría. de Fomento, Mex.
- 9.- CLARK E.P... 1936. Helenalin I. Helenalin. the Bitter -- sternutative substance occurring in Helenium autumnale. - J. Amer. Chem. Soc. : 58 : 1982 - 1983.
- 10.- CLAUS, E.P. & V.E. TYLER. Jr.. 1965. Pharmacognosy. Lea- & Febiger Editors. Philadelphia U.S.A., pp. 315 - 317.
- 11.- DOLLALLITE, J.W., W.T. HARDY & J.B. HENSON. 1964. Toxicity of Helenium microcephalum (small - head sneezweed). - J. Amer. Vet. Med. Ass. 145 (7): 694 - 696.
- 12.- DOMINGUEZ, E. y J. ROMO. 1963. Tetrahedron 19: 1415
- 13.- DOMINGUEZ, X. 1973. Métodos de Investigación Fitoquímica Edit. Limusa, S. A., México. pp. 93 - 108, 211 - 218.
- 14.- EVANS, F.J. & P.S. COWLEY. 1972. Cardenolides and spirostanols in Digitalis purpurea at various stages of development. Phytochemistry 11 : (10) : 2971 - 2975.
- 15.- GIRAL, F. \* S. LADABAUM. 1961. Preparaciones Fitoquímicas. IV. Helenalina. Ciencia (Mex) 21 (1): 25 - 36.
- 16.- GOOD, R. 1974. The Geography of the Flowering plants. -- Fourth Ed. Longman Ltd. London. p. 97.



- 17.- HERNANDEZ, R., A. SANDOVAL, A. SETZER & J. ROMO 1968. --  
Estudio Químico del *Helenium quadridentatum* Labill. Bol-  
Inst. Quim. U.N.A.M. 20 : 81-83. (Mex), En Biol. Abstrac-  
ts. 51 : 10810 (1969).
- 18.- KRAEMER, H. 1916. Applied and Economic Botany. John ---  
 Wiley & Sons Inc., London pp. 727 - 748.
- 19.- KUPCHAN, S.M. et al. 1969. J. Org. Chem. 34 (12): 3867 -  
 3908.
- 20.- LEE, K.H. FURUKAWA, H. & E.S. HUANG. 1971 Antitumor ---  
Agents. 3. Synthesis and citotoxic activity of helenalin  
amine adducts and relate derivaties. J. Med. Chem. 15 (6)  
 609 - 611.
- 21.- -----, HUANG. E.S., PLANTADOSI, C. et al. 1971. Cito-  
toxicity of Sesquiterpene lactones. Cáncer Research 31 :  
 1649 - 1654.
- 22.- -----, H. HALL, MAR, E. Ch., et al. 1977. Sesquiterpe  
ne Antitumor agents; Inhibitors of Cellular Metabolism.-  
Science 196 (4289) : 533 - 535.
- 23.- MADUENO, B.M. 1973. Cultivo de Plantas Medicinales, Pu-  
blicaciones de Extensión Agraria. Ministerio de Agricul  
tura de España. Manual Técnico # 38. Madrid.
- 24.- MARTINEZ DEL CAMPO, J. 1897. Experiencias hechas con el-  
"chapu-" [*Helenium mexicanum*] a varios enfermos. An.Inst.

- Med. Nat. (Mex) 3 : 173.
- 25.- MARTINEZ, M. 1923. Catálogo alfabético de nombres Vulgares y Científicos de plantas que existen en México. --- Srla. de Agricultura y Fomento, México. pp. 108 - 109.
- 26.- MARTINEZ, P.R. 1974. Determinación en vegetales de la actividad biológica de algunas lactonas sesquiterpénicas. - Tesis profesional, Biólogo. Facultad de Ciencias, Universidad Nat. Aut. de Méx.
- 27.- MITCHEL, J.C. 1969. Allergic control dermatitis from Compositae. Trans. St. Jhon's Hosp. Dermatol. Soc. 55 (2) : 174 - 183. In: Biological Abstracts 53 (3) : 4060, (1970)
- 28.- ORVANANLOS, D. 1897. Redacción de artículos de terapéutica de la 2a. parte de la materia Médica Mexicana, relativos a Helenium mexicanum y Artemisa mexicana. An. Inst.-Med. Nat. (México) 2: 117.
- 29.- OLECHNOWICZ, S.W. & S. STEPIEN, 1963. "In vitro" and "In vivo", Studies on the Activity of Helenine and its components against some species of dermatophytes. Dissert --- Pharmaceut. 15 (1): 17 - 22.
- 30.- PAGANI, F. & G. ROMUSSI. 1966. Composition of the principal cardenolide heterosides contained in the leaves and seeds of a sardinian, Digitalis purpurea L., cultivated in the experimental center for Medicinal plants of Sigurguria in Ruta di Canogli. Farm ed Prat 21 (20) 545 - 576

- 31.- PANIAGUA , C.M. 1973. Las plantas Tóxicas de México (Tesis profesional Biólogo). Fac. de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- 32.- PARAV, L. 1958. Las compuestas del Valle Central de México. Bol. Soc. Bot. Mex. 22 : 41 - 47.
- 33.- PETIT, C.R. & G.M. CRAGG. 1973. Antineoplastic agents, - 32. The pseudoguaiainolide Helenalin. Experientia. 29 -- (7) : 781.
- 34.- PRIETO, I. 1896. Preparación de un extracto alcohólico - del "chapuz" An. Inst. Med. Nal. (Mex.) 2 : 117.
- 35.- RAMIREZ, J. y G. V. ALCÓCER. 1902, Sinonimia vulgar y -- científica de las plantas mexicanas. Oficina Tipográfica de la Sría. de Fomento. México.
- 36.- REICHE, C. 1926. Flora Excursionaria en el Valle Central de México. Reproducida y editada por el Subsría. de Enseñanzas Técnicas y Superior, S.E.P. México, 1963. pp. 193, - 197, 204 y 206.
- 37.- RIO DE LA LOZA, M.F. 1900. Estudios de Perfeccionamiento con el "chapuz" (Helenium mexicanum) An. Inst. Med. Nal. (Mex.). 4 : 132.
- 38.- RICH, J. P.J. Nathan & F. Diaz A., 1964. The constituents of Helenium aromaticum. Hook, Bailey. The structures of aromatatin and aromaticin. Tetrahedron 20 (1) : 79 - 85

- 39.- ROMO DE VIVAR, R.A. & J. ROMO. 1959. Constituents of ---  
Helenium mexicanum H.B.K. Chemistry and Industry 27 : 882
- 40.- -----, 1961. Las lactonas de Helenium mexicanum-  
H.B.K. Ciencia (Méx.) 21 (1) : 33 - 35.
- 41.- RYTEL, W.M., R.E. SHOPE & E.D. KILBOURNE. 1966. An anti-  
viral substance from Penicillium funicolosum V. Induc-  
tion of interferon by helenine. J. Exp. Med. 123. (4) :-  
577 - 588. In. Biological Abstracts 47 : 9425.
- 42.- SANCHEZ, S.O. 1983. La flora del Valle de México. Herre-  
ro Editor. México.
- 43.- SILVA, F. 1966 Heredity and alterations of some quali-  
ties in chemocultivars of the foxglove (Digitalis lanata)  
Ehrh. Planta Med. 14: (3): 303 - 309. In. Biological Abs  
tracts 48 : 4167 (1967).
- 44.- SILVA, F. 1966. Results concerting cultivation of Digita  
lis lanata Ehrh. Agr. J : 70 - 81.
- 45.- VILLASENOR, F.F. 1896. Preparación del alcaloide del ---  
"chapuz" (Helenium mexicanum H.B.K.) An. Inst. Med. Nal.  
(Méx). 2 : 116.
- 46.- ZETINA, R.C. 1974. Terpenoides de Artemisia mexicana var  
angustifolia. Tesis profesional Químico, Universidad Au-  
tonoma de México.



**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
**Facultad de Ciencias**

Expediente .....

550/85

Número .....

Srita. Ruth Araceli de Celis Carrillo  
 P r e s e n t e . . -

Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido --  
 aprobado el tema de Tesis "Cultivo Aislamiento y Variación -  
 de principios activos de Helenium Mexicanum" para obtener la  
 Licenciatura en Biología, con Orientación Biomédica.

Al mismo tiempo informo a usted que ha sido ---  
 aceptado como Director de dicha Tesis el Dr. Carlos Astengo--  
 Osuna.




FACULTAD DE CIENCIAS

A T E N T A M E N T E  
 "PIENSA Y TRABAJA!"

Guadalajara, Jal., Septiembre 19 de 1985.

El Director

  
 Ing. Edmundo Ponce Adame.

El Secretario

Arq. Mario Patricio Castillo Paredes.

c.c.p. El Dr. Carlos Astengo Osuna, Director de Tesis.-Pte.  
 c.c.p. El Expediente de la alumna.

'mjsd

BOULEVARD A TLAQUEPAQUE Y CORREGIDORA, S. B.  
 GUADALAJARA, JAL.


TELEFONOS 17-34-89 Y 17-48-17

A QUIEN CORRESPONDA :

Por medio de la presente hago constar que la C. Pasante de Lic. en Biología RUTH ARACELI DE CELIS CARRILLO estuvo trabajando bajo mi supervisión, para la elaboración de la Tesis: " Cultivo -- Aislamiento y Variación de Principios Activos de Helenium mexicanum ".

Se extiende la presente a solicitud de la interesada para los fines legales a que haya lugar, a los ocho días del mes de febrero de mil novecientos ochenta y seis.

A t e n t a m e n t e

  
Dr. Carlos Astengo Osuna

Director de la Tesis.