

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA



**“ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ACARICIDA DE
EXTRACTOS DE PLANTAS DE LA REGION DE BAJA CALIFORNIA”**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA

ROSA ELENA HERNÁNDEZ RAMÍREZ

TIJUANA, B.C.

MARZO DEL 2018

Universidad Autónoma de Baja California

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

FOLIO No. 21

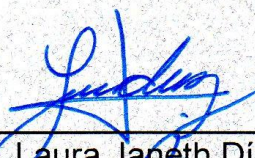
Tijuana, B. C., a 01 de marzo de 2018

C. Rosa Elena Hernandez Ramirez
Pasante de Químico Farmacobiólogo
Presente

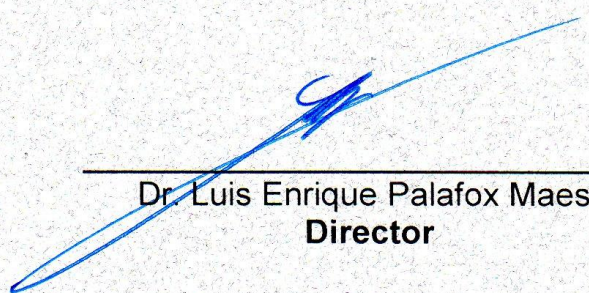
El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la
Opción Tesis

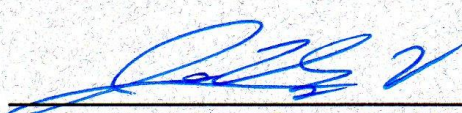
Es propuesto, por la MC. Laura Janeth Díaz Rubio y el Dr. Iván Córdova Guerrero quienes serán los responsables de la calidad del trabajo que usted presente, referido al tema “Estudio de la Actividad Antioxidante y Acaricida de Extractos de Plantas de la Región de Baja California”, el cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

- I.- RESUMEN
- II.- INTRODUCCIÓN
- III.- PARTE EXPERIMENTAL
- IV.- DISCUSIÓN Y RESULTADOS
- V.- CONCLUSIONES
- VI.- REFERENCIAS
- VII.- ANEXOS


M.C. Laura Janeth Díaz Rubio
Directora de Tesis


Dr. Iván Córdova Guerrero
Co-Director de Tesis


Dr. Luis Enrique Palafox Maestre
Director


Dr. José Luis González Vázquez
Subdirector

*“Mira profundamente en la naturaleza y
entonces comprenderás todo mejor”*

Albert Einstein

Dios

En primer lugar te agradezco a ti Dios por haberme permitido llegar hasta este punto, brindándome la salud, sabiduría, fortaleza y coraje para lograr mis metas.

Mi familia

A mis padres y hermano gracias a su apoyo y palabras de aliento crecí como persona, gracias por ayudarme a cumplir mis metas como estudiante. A mi padre por brindarme los recursos necesarios y estar siempre a mi lado apoyándome. A mi madre por hacer de mí una mejor persona a través de sus consejos y enseñanzas. A mi hermano por estar siempre cuidándome brindándome aliento.

M.C Laura Díaz Rubio

Gracias a su confianza, disponibilidad y entusiasmo me ha brindado enseñanzas que han permitido ser mejor persona y estudiante, gracias por apoyarme a que este trabajo llegara a buen término.

Dr. Iván Córdova Guerrero

Infinitas gracias por el tiempo brindado y consejos en la realización de este proyecto, definitivamente usted es un ejemplo a seguir ya que transmite a sus alumnos ese deseo y entusiasmo por aprender cosas nuevas. Siempre le estaré agradecida por permitirme ser parte del Laboratorio de Química Medicinal y productos naturales y confiar en mí.

Ing. Isabel Edurne Cruz

Gracias por todo el apoyo y conocimiento que me has compartido durante la realización de este trabajo me han sido de mucha ayuda. Eres una persona que aprecio mucho y agradezco todos los consejos que me has brindado en este corto tiempo que llevo de conocerte.

Al Laboratorio de Química Medicinal y productos naturales.

A mis compañeros de laboratorio por estar ahí como un equipo, son excelentes personas que admiro su dedicación y aprendo de ustedes todos los días.

Amigos

Gracias por alentarme a seguir en este camino y compartir conmigo muchos momentos importantes en su vida personal así como estudiantil, lidia, Miriam, Anel y Brenda.

RESUMEN



En la presente investigación se muestran las evaluaciones de tipo antioxidante y acaricida de los extractos hidroalcohólicos de las especies vegetales *Adenostoma fasciculatum*, *Eriophyllum confertiflorum* y *Chrysanthemum coronarium* así como las respectivas particiones del extracto de *C.coronarium*.

En la introducción se abordan un poco sobre el tema de las plantas y sus usos a lo largo del tiempo, se hace referencia de la importancia de los productos naturales y la actividad antioxidante que presentan los extractos vegetales frente a enfermedades crónicas degenerativas. También se plantea la problemática que presenta el sector agrícola debido al empleo de insecticidas sintéticos dañinos para el ambiente y salud humana, así como las pérdidas económicas que representa.

En el apartado de antecedentes se describe la taxonomía, distribución geográfica, así como las referencias etnobotánicas y estudios fitoquímicos reportados para cada especie vegetal. Se retoma el tema del daño que generan los radicales libres a las células y la importancia de los antioxidantes naturales. También se hace énfasis en la problemática que la industria agrícola presenta dejando de manifestó las principales plagas que atacan la región así como la importancia los insecticidas y acaricidas naturales.

La metodología se encuentra dividida en secciones donde podemos encontrar la parte de recolección y generación extractos, el tamiz fitoquímico y la evaluación química (antioxidante) y biológica de tipo acaricida.

Finalmente se encuentra la discusión de resultados, seguido de sus respectivas conclusiones.

Índice de figuras	i
Índice de tablas.....	iii
Índice de diagramas.....	v
Índice de gráficas.....	vi
Abreviaturas y acrónimos.....	vii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. HIPÓTESIS.....	6
3. OBJETIVO GENERAL Y PARTICULARES.....	7
4. ANTECEDENTES	
4.1. FLORA DE BAJA CALIFORNIA	
4.1.1. <i>Adenostma fasciculatum</i>	9
4.1.1.1. Taxonomía de <i>A.fasciculatum</i>	10
4.1.1.2. Distribución geográfica de <i>A.fasciculatum</i>	11
4.1.1.3. Referencias etnobotánicas de <i>A.fasciculatum</i>	12
4.1.1.4. Estudios fitoquímicos de <i>A.fasciculatum</i>	13
4.1.2. <i>Eriophyllum Confertiflorum</i>	15
4.1.2.1. Taxonomía de <i>E.confertiflorum</i>	16
4.1.2.2. Distribución geográfica de <i>E.confertiflorum</i>	17
4.1.2.3. Referencias etnobotánicas de <i>E.confertiflorum</i>	17
4.1.2.4. Estudios fitoquímicos de <i>E.confertiflorum</i>	17
4.1.3. <i>Chrysanthemum coronarium</i>	18
4.1.3.1. Taxonomía de <i>C.coronarium</i>	19

4.1.3.2. Distribución geográfica de <i>C.coronarium</i>	20
4.1.3.3. Referencias etnobotánicas de <i>E.confertiflorum</i>	20
4.1.3.4. Estudios fitoquímicos de <i>E.confertiflorum</i>	21
4.2. LAS PLANTAS COMO FUENTE ANTIOXIDANTE	
4.2.1. Antioxidantes y radicales libres.....	27
4.2.2. Efectos de los radicales libres.....	30
4.2.3. Antioxidantes naturales.....	33
4.3. LAS PLANTAS COMO INSECTICIDAS BIOLÓGICOS	
4.3.1. Baja California como estado agrícola.....	36
4.3.2. Plagas agrícolas.....	37
4.3.3. Insecticidas sintéticos.....	39
4.3.4. Insecticidas naturales.....	40
4.3.5. Acaricidas naturales.....	42
5. DESARROLLO EXPERIMENTAL	
5.1. RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.....	43
5.2. TRATAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL.....	44
5.3. GENERACIÓN DE EXTRACTOS.....	45
5.4. PARTICIÓN DEL EXTRACTO CRUDO DE <i>Chrysantemum coronarium</i> ...	46
5.5. TAMIZ FITOQUÍMICO PRELIMINAR.....	48
5.6. EVALUACIÓN QUÍMICA (ANTIOXIDANTE) Y BIOLÓGICA DE TIPO ACARICIDA.....	54
5.6.1. Actividad antioxidante (decoloración oxidativa de β -caroteno)...	55
5.6.2. Actividad antioxidante (reducción del radical libre DPPH).....	57

5.6.3. Actividad antioxidante (reducción del catión- radical ABTS).....	58
5.6.4. Análisis cuantitativo de fenoles totales.....	60
5.6.5. Evaluación de la actividad de tipo acaricida.....	62
 6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	
6.1. ANÁLISIS DEL TAMIZ FITOQUÍMICO PRELIMINAR.....	64
6.2. EVALUACIONES QUÍMICAS ANTIOXIDANTES.....	66
6.3. EVALUACIONES DE TIPO ACARICIDA.....	76
6.4. ANALISIS PRELIMINAR DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE <i>Chrysanthemum coronarium</i>	81
 7. CONCLUSIONES	83
8. BIBLIOGRAFÍA	85
9. APÉNDICE	
9.1. ANEXOS.....	94
9.2. TÉCNICAS EXPERIMENTALES.....	95

ÍNDICE DE FIGURAS



Figura 1. El hombre sedentario.....	1
Figura 2. Productos naturales.....	3
Figura 3. Acción antioxidante.....	4
Figura 4. Plantas de la región de Baja California.....	6
Figura 5. Región florística de Baja California.....	9
Figura 6. Flor de <i>Adenostma fasciculatum</i>	9
Figura 7. Arbusto de <i>A.fasciculatum</i>	10
Figura 8. Morfología de <i>A.fasciculatum</i>	11
Figura 9. Indio chumash de California.....	12
Figura 10. 7 α -hidroxibaruol.....	13
Figura 11. <i>Eriophyllum confertiflorum</i>	15
Figura 12. Morfología de <i>E.confertiflorum</i>	16
Figura 13. Distribución geográfica de <i>E.confertiflorum</i>	17
Figura 14. Flor de <i>Chrysanthemum coronarium</i>	18
Figura 15. Morfología de <i>C.coronarium</i>	19
Figura 16. Alcanfor.....	22
Figura 17. Acetato de bornilo.....	23
Figura 18. Generación de especies reactivas de oxígeno y consecuencias del desbalance oxidante-antioxidante.....	30
Figura 19. Estructura básica de los flavonoides y subclases más usuales.....	35
Figura 20. Región agrícola de Baja California.....	36
Figura 21. Araña roja (<i>Tetranychus urticae</i>).....	37
Figura 22. Tela y daños que produce <i>Tetranychus urticae</i> sobre planta de frutilla..	39

Figura 23. Plantas con actividad insecticida (<i>Chrysanthemum coronarium</i> , <i>Quassia amara</i> , <i>Derris elliptica</i> , <i>Nicotiana tabacum</i>).....	41
Figura 24. Azadiractina.....	42
Figura 25. Zona de recolección de las especies vegetales.....	43
Figura 26. Especies en proceso de secado.....	44
Figura 27. Maceración de una de las especies.....	45
Figura 28. Separación de fracciones.....	47
Figura 29. Obtención de fracciones.....	47
Figura 30. Estructura de β - caroteno.....	55
Figura 31. Reducción del radical libre DPPH.....	57
Figura 32. Oxidación de ABTS por per sulfato de potasio.....	59
Figura 33. Mecanismo de acción del reactivo Folin-Ciocalteu.....	61

ÍNDICE DE TABLAS



Tabla 1. Composición química del aceite esencial de las flores de <i>Chrysanthemum coronarium</i>	22
Tabla 2. Líneas celulares evaluadas con aceite esencial de <i>Chrysanthemum coronarium</i>	24
Tabla 3. Evaluación antioxidante del extracto crudo y fracciones de <i>Chrysanthemum coronarium</i>	25
Tabla 4. Clasificación de los antioxidantes, según su origen.....	29
Tabla 5. Plagas más comunes que afectan cultivos de Baja california.....	37
Tabla 6. Pesos de extractos crudos de las especies vegetales.....	45
Tabla 7. Tamiz fitoquímico preliminar.....	49
Tabla 8. Extractos evaluados frente a <i>Tetranychus urticae</i>	54
Tabla 9. Concentraciones utilizadas en las ventanas biológicas.....	63
Tabla 10. Resultados del tamiz fitoquímico.....	64
Tabla 11. Resultados de la actividad antioxidante por la técnica de β - caroteno de extractos crudos.....	66
Tabla 12. Resultados de la actividad antioxidante por la técnica de β - caroteno de las particiones del extracto de <i>C.coronarium</i> (ECC).....	67
Tabla 13. Resultados de la actividad antioxidante por el método de DPPH de extractos crudos.....	68
Tabla 14. Resultados de la actividad antioxidante por el método de DPPH de las particiones de ECC.....	69
Tabla 15. Resultados de la actividad antioxidante por el método de reducción del radical-catión ABTS de extractos crudos.....	71
Tabla 16. Resultados de la actividad antioxidante de las particiones del ECC por la técnica de ABTS.....	72

Tabla 17. Resultados de la determinación de fenoles totales en extractos crudos..	73
Tabla 18. Resultados de la determinación de fenoles totales de las particiones del ECC.....	74
Tabla 19. Resultados del % de mortalidad del extracto crudo de <i>A.fasciculatum</i> ...	76
Tabla 20. Resultados del % de mortalidad del extracto crudo de <i>E.confertiflorum</i> ..	77
Tabla 21. Resultados del % de mortalidad del extracto crudo de <i>C.coronaium</i>	78

ÍNDICE DE DIAGRAMAS



Diagrama 1. Generación de particiones.....	46
Diagrama 2. Extractos utilizados en la evaluación química antioxidante.....	54

ÍNDICE DE GRÁFICAS



Gráfica 1. Resultados de la actividad antioxidante de extractos crudos.....	66
Gráfica 2. Resultados de la actividad antioxidante de las particiones de ECC por la técnica de β - caroteno.....	67
Gráfica 3. Resultados de la actividad antioxidante de extractos crudos.....	68
Gráfica 4. Resultados de la actividad antioxidante de las particiones de ECC por la técnica de DPPH.....	70
Gráfica 5. Resultados de la actividad antioxidante de los extractos crudos por la técnica de ABTS.....	71
Gráfica 6. Resultados de la actividad antioxidante de las particiones de ECC por la técnica de ABTS.....	72
Gráfica 7. Resultados de la determinación de fenoles totales de extractos crudos.	73
Gráfica 8. Resultados de la determinación de fenoles totales de las particiones de ECC.....	74
Gráfica 9. Resultados del % de mortalidad del extracto crudo de <i>A.fasciculatum</i> (EAF).....	76
Gráfica 10. Resultados del % de mortalidad del extracto crudo de <i>E.confertiflorum</i> (EEC).....	77
Gráfica 11. Resultados del % de mortalidad del extracto crudo de <i>C.coronarium</i> (ECC).....	78
Gráfica 12. Resultados del % de mortalidad de los tres extractos crudos.....	79

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS



° C	Grados centígrados
ABTS	(Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)
A.C	Antes de Cristo
AcOEt	Acetato de etilo
AcOH	Ácido acético
Ac	Absorbancia de la muestra control
Ac ⁰	Absorbancia de la muestra control a 0 minutos
Ac ¹²⁰	Absorbancia de la muestra a 120 minutos
<i>A.fasciculatum</i>	<i>Adenostoma fasciculatum</i>
Am	Absorbancia de la muestra control
Am ⁰	Absorbancia de la muestra a 0 minutos
Am ¹²⁰	Absorbancia de la muestra a 120 minutos
B.C	Baja California
CAT	Catalasa
<i>C.coronarium</i>	<i>Chrysanthemum coronarium</i>
CHCl ₃	Cloroformo
Cm	Centímetros
Cm ³	Centímetros cúbicos
CNPS	Sociedad de Plantas Nativas de California
COFEPRIS	Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios
CONANP	Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas
CE ₅₀	Concentración efectiva media
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
DL50	Dosis letal media
DPPH	Dipicril fenil hidrazilo (por sus siglas en inglés)
etc.	Etcétera
EAF	Extracto de <i>A.fasciculatum</i>

ECC	Extracto de <i>C.coronarium</i>
ECC-n-hexano	Extracto hexánico de <i>C. coronarium</i>
ECC-AcOEt	Extracto de acetato de etilo de <i>C.coronarium</i>
ECC-Ac	Extracto acuoso de <i>C.coronarium</i>
<i>E.confertiflorum</i>	<i>Eriophyllum confertiflorum</i>
EEC	Extracto de <i>E.confertiflorum</i>
ERO	Especie reactiva de oxígeno
ERN	Especies Reactivas de Nitrógeno
EtOH	Etanol
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación
g	gramos
g/mL	Gramos por mililitro
GC/MS	Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas
GMPc	Guanosina monofosfato cíclico
GPx	Glutación peroxidasa
HCl	Ácido clorhídrico
HSV-1	Virus del herpes tipo 1
IR	Índice de retención
Kg	Kilogramo
L	Litro
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
m	Metros
mg	Miligramos
min	Minutos
mL	Mililitros
mg/ mL	miligramos por mililitro

MC	Mortalidad corregida
mm	Milímetros
nm	Nanómetro
NADPH-ox	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato-oxidasa
NIST	National Institute of Standards and Technology
O	Orto
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
POL	Peroxidación lipídica
RBrS	Especies reactivas de bromo
RCIS	Especies reactivos de cloro
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
SOD	Superóxido dismutasa
t	Tiempo
TGF- β 1	Factor de crecimiento transformante beta 1
TNF α	Factor de necrosis tumoral
UABC	Universidad Autónoma de Baja California
UV	Ultravioleta
μ L	Microlitros
μ g/mL	Microgramos por mililitro
%AA	Porcentaje de actividad antioxidante
¹ O ₂	Oxígeno singlete
$\cdot$ OH	Radical hidroxilo

INTRODUCCIÓN



El ser humano y su interacción con las plantas.

Cuando el hombre dejó la vida nómada para convertirse en sedentario comenzó a establecerse en diversos lugares por periodos de tiempo largos adiestrándose en la agricultura como fuente de alimento, a partir de ese momento dió inicio el proceso de protección y cuidado hacia las plantas.

El hombre aprendió a desarrollar habilidades para sembrar y cosechar, pero no solo empleó las plantas para su alimentación, sino que también descubrió sus propiedades curativas y venenosas.

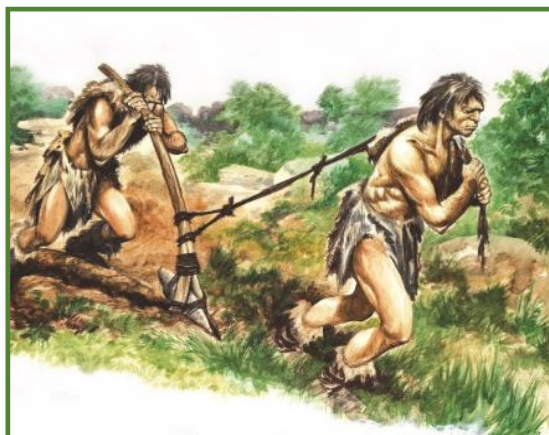


Figura 1. El hombre sedentario

Conocimientos que en un principio fueron transmitidos de forma oral, tiempo más tarde se haría a través de la escritura. Uno de los primeros escritos sobre plantas medicinales es el llamado *Papiro de Ebers* con más de 3.500 años de antigüedad, es uno de los escritos mas importantes sobre la medicina egipcia en el que se han podido identificar unas ciento cincuenta especies vegetales con utilidad terapéutica, sin embargo, también los sumerios 2500 A.C conocían las propiedades curativas de las plantas y a lo largo del tiempo fueron surgiendo diversos escritos con relación a las mismas. (Vallejo *et al.*, 2009)

En México el uso de productos naturales para el tratamiento de enfermedades se remonta desde los pueblos indígenas, inclusive antes de la llegada de los conquistadores ya existía una gran riqueza de medicina tradicional (Cosme, 2008).

En la actualidad, la sociedad Mexicana de Agricultura Sostenible (Somas) reporta cerca de 30 mil especies de plantas en México de las cuales aproximadamente son 4 mil a las que se les atribuyen usos medicinales, algunos ejemplos de plantas que se han destacado por su amplio uso en comunidades mexicanas lo es *Artemisia ludoviciana* también conocida como (estafiate), que por sus múltiples usos es

recomendada a nivel nacional como eficaz para tratamiento auxiliar de diabetes, para dolores estomacales, diarreas, cólicos intestinales, dolor e inflamación en la boca del estómago, utilizada en forma de infusiones que por lo regular van acompañadas de otras plantas como el epazote (*Dysphania ambrosioides*), manzanilla (*Matricaria recutita*) o ruda (*Ruta chalepensis*), estados desde Baja California hasta Veracruz emplean mucho la especie. El epazote (*Dysphania ambrosioides*) es otra planta medicinal muy utilizada por la comunidad tarahumara, es mayormente utilizada en casos de infección por lombrices, amenorrea, dismenorrea, siendo empleada en forma de infusión, aunque también se usa en gastronomía (Escamilla *et al.*, 2015)

El siglo XX trae consigo la búsqueda sistematizada de compuestos menos tóxicos y la introducción de sustancias sintéticas como fármacos, la medicina moderna se ha valido del empleo de medicamentos sintéticos que gradualmente han tendido al mal uso o abuso de ellos ocasionando efectos nocivos a la salud; cabe destacar que hoy en día, un gran número de medicamentos y cosméticos utilizan sustancias extraídas de plantas y esta realidad queda atestiguada en el hecho de que las estructuras hasta hoy conocidas por ser biológicamente activas, el 85% tienen origen natural y solo el 15% provienen de la síntesis química (Cecchini *et al.*, 2016).

La química de los productos naturales y sus diversas aplicaciones.

Hablar de productos naturales (PN) es referirse a todos los compuestos orgánicos provenientes del metabolismo secundario de organismos vivos, dichos organismos provienen de una fuente natural, ya sea: vegetal, animal, marino, fúngico o bacteriano.

Estos compuestos orgánicos llamados metabolitos secundarios, son producidos en respuesta ante una condición externa: estrés hídrico, térmico, de superpoblación y radiante, siendo en general señales químicas frente a herbivoría plagas y simbiosis con otros organismos (Pomilio, 2012).

En cuanto a los productos naturales de origen vegetal, la gran mayoría de estos



compuestos son metabolitos secundarios de tipo terpenoide y sus glucósidos, alcaloides, agliconas naturales, O y C-glucósidos de flavonoides, o bien, O-glucósidos acilados en distintas posiciones, biflavonoides, proantocianas diméricas y oligoméricas, entre otros.

Figura 2. Productos naturales

Estos compuestos son de interés ya poseen en su estructura química algunas subestructuras que son bioactivas en organismos animales, incluido el hombre. Son diversas las disciplinas que involucran a los productos naturales como parte de su estudio.

Gracias a los productos naturales se han logrado desarrollar nuevos fármacos para el tratamiento de diversos padecimientos actuales, a nivel de investigación, se ha probado diferentes bioactividades tales como: la antitumoral, antiviral, antibacteriana, antiinflamatoria, antimicobacteriana y antioxidante (Pomilio, 2012).

En los últimos años el interés por los antioxidantes naturales se ha incrementado dramáticamente debido principalmente a tres razones:

1. La baja seguridad que ofrece el consumo de antioxidantes sintéticos.
2. La eficacia antioxidante de una gran variedad de agentes fitoquímicos.
3. La idea generalizada de que el consumo de ciertos agentes naturales puede afectar de manera positiva la patología de las enfermedades crónicas degenerativas y el proceso de envejecimiento; además de que los productos naturales son innatamente más seguros que los compuestos sintéticos y por consiguiente son comercialmente mas aceptados (Dorman *et al.*, 2004).

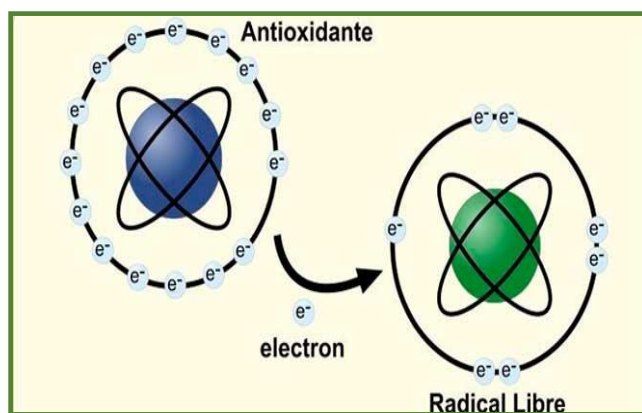


Figura 3. Acción antioxidante

Las moléculas con perfil antioxidante de origen vegetal son un amplio grupo de metabolitos secundarios estructuralmente variados desde el punto de vista fitoquímico pueden ser taninos, lignanos, estilbenos, cumarinas, quinonas, xantonas, ácidos fenólicos, flavones, flavonoles, catequinas, antocianinas y proantocianinas los cuales debido a sus propiedades redox pueden actuar como donadores de hidrógeno y de esta manera prevenir o retrasar el desarrollo de enfermedades crónico degenerativas (Marwah *et al.*, 2007, & Perez, 2006).

Los productos naturales poco a poco han ido incursionando en diversas industrias, no solo la farmacéutica, actualmente la industria cosmética ha generado grandes ganancias económicas gracias a la utilización de productos de origen vegetal, así como la industria de alimentos (Pomilio, 2012). Otro campo de aplicación para los PN muy poco estudiado es el sector agrícola.

En la actualidad, una de las problemáticas más preocupantes de salud pública a nivel mundial es la contaminación con plaguicidas altamente tóxicos en alimentos, suelo y agua, que dañan la salud tanto de productores y consumidores. El uso de insecticidas sintéticos ha causado daños en la salud del hombre, desarrollo de resistencia en plagas, surgimiento de plagas secundarias, así como el ataque a organismos no blanco (benéficos), por lo que dichos productos deberían ir siendo desplazados del uso cotidiano (Rosas *et al.*, 2006).

Ante este panorama, la búsqueda de nuevas alternativas más amigables al medio ambiente y capaces de controlar las plagas debería ser una prioridad.

Los extractos vegetales al ser biodegradables y no generar resistencia en ácaros e insectos, han sido un blanco de estudio para el control de plagas agrícolas sin afectar el medio ambiente motivo por el cual el estudio de los concentrados vegetales se han intensificado debido a la demanda de alimentos orgánicos y las exigencias actuales de defensa fitosanitaria de los productos hortícolas (Regnault-Roger *et al.*, 2000).

En México, como en todo existe una amplia variedad de especies vegetales cuyo potencial biológico aún no ha sido confirmado, es por eso que la investigación fitoquímica representa un recurso viable en la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos para su aplicación en la resolución de problemáticas nacionales.

HIPÓTESIS



Los estudios fitoquímicos biodirigidos de las especies vegetales de la familias Asteraceae y Rosaseae (Sudheer *et al.*, 2015, Abd, 2014, Torrance *et al.*, 1969, & Bouttemy *et al.*, 2014) indican que las plantas *Chrysanthemum coronarium*, *Eriophyllum confertiflorum* y *Adenostoma fasciculatum*, presentan metabolitos secundarios que generan una amplia gama de actividades biológicas, tales como el potencial antioxidante y un efecto acaricida frente a plagas de interés agrícola.



Figura 4. Plantas de la región de Baja California (*Chrysanthemum coronarium*, *Eriophyllum confertiflorum*, *Adenostoma fasciculatum*)

OBJETIVO GENERAL Y PARTICULARES



Objetivo general

Evaluar la actividad antioxidante y acaricida frente a *Tetranychus urticae*, de los extractos y particiones de la parte aérea de las especies vegetales *Chrysanthemum coronarium*, *Eriophyllum confertiflorum*, *Adenostoma fasciculatum*.

Objetivos particulares

1. Llevar a cabo la recolección sistemática y autenticación taxonomía del material vegetal para este proyecto.
2. Generar los extractos de interés para el estudio fitoquímico, mediante metodologías de maceración y partición.
3. Identificar cualitativamente metabolitos secundarios, mediante pruebas químicas colorimétricas.
4. Determinar la actividad antioxidante de los extractos utilizando los siguientes métodos
 - 1). Decoloración oxidativa de β -Caroteno
 - 2). Reducción del radical libre DPPH (Difenil Picril Hidrazilo)
 - 3). Reducción del catión-radical ABTS (2-2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin- 6-sulfónico))
5. Realizar ventanas biológicas requeridas para evaluar el perfil acaricida de los extractos seleccionados frente a *Tetranychus urticae*.

ANTECEDENTES



4. ANTECEDENTES

4.1 FLORA DE BAJA CALIFORNIA

El estado de Baja California comprende de dos regiones fitogeográficas: la región californiana o también llamada mediterránea y la región del desierto central o desierto sonorense (CONANP, 2015).

Baja California cuenta con seis tipos de comunidades vegetales (de oeste a este) las cuales son:

1. Línea costera
2. Matorral costero
3. Chaparral
4. Bosque de coníferas
5. Desierto
6. Ripario

El estado es muy rico en especies y géneros de plantas vasculares nativas comprendiendo alrededor de 3.000 especies en un área de aproximadamente 143.780km², la región posee un clima de tipo mediterráneo (Peinado *et al.*, 1994).

La flora vascular de Baja California se caracteriza también por un elevado número de taxones endémicos (651), del cual el número de géneros endémicos son de 22.

Se estima que la flora consiste en más de 4.000 taxones de los cuales aproximadamente el 30% se conocen solo en Baja California, en el estado se reportan alrededor de 155 familias por nombrar algunas están *Asteraceae*, *Fabaceae*, *Lamiaceae*, *Agavaceae*, *Euphorbiaceae*, *Rosaceae*. De las cuales se destaca *Asteraceae* por presentar 138 taxones endémicos, 32 géneros y 42 especies reportadas (Delgadillo *et al.*, 2002, & Peinado *et al.*, 1994).

Las familias que se abordaran serán *Asteraceae* con las especies (*Chrysanthemum coronarium*, *Eriophyllum confertiflorum*) y la familia *Rosaceae* con la especie (*Adenostoma fasciculatum*).



Figura 5. Región florística de Baja California

4.1.1 *Adenostoma fasciculatum*

La especie también conocida como chamizo, es perteneciente a la familia *Rosaceae*. *A. fasciculatum* es un arbusto grande de hoja perenne de hasta cuatro metros de altura con hojas cortas de 5 a 13 mm, son hojas brillantes y parecidas a



agujas. Sus ramas son de aspecto seco, estando difusamente ramificados desde el suelo parecido a palos que terminan en racimos de flores tubulares blancas pequeñas de aproximadamente 3 mm de diámetro, con cinco pétalos y estambres largos (Bouttemy *et al.*, 2014).

Figura 6. Flor de *Adenostoma fasciculatum*

Sus tallos son esbeltos, números, resinosos y rígidos con una corteza rojiza cuando son jóvenes y se van tornando a un tono grisáceo con la edad. Sus frutos son ovoides, semillas de aproximadamente 2,5 mm de largo. La especie es muy tolerante a sequía y adaptable con la capacidad de crecer en el suelo árido y seco

pobre en nutrientes, y afloramientos rocosos. La biología reproductiva de la especie es principalmente por semilla, aunque se reportan reproducciones sexuales como vegetativas, *A. fasciculatum* es de larga vida, con estimaciones de 100 a 200 años (Munz, 1973, Kummerow *et al.*, 1977, McMurray, 1990, & Jones, 2013).

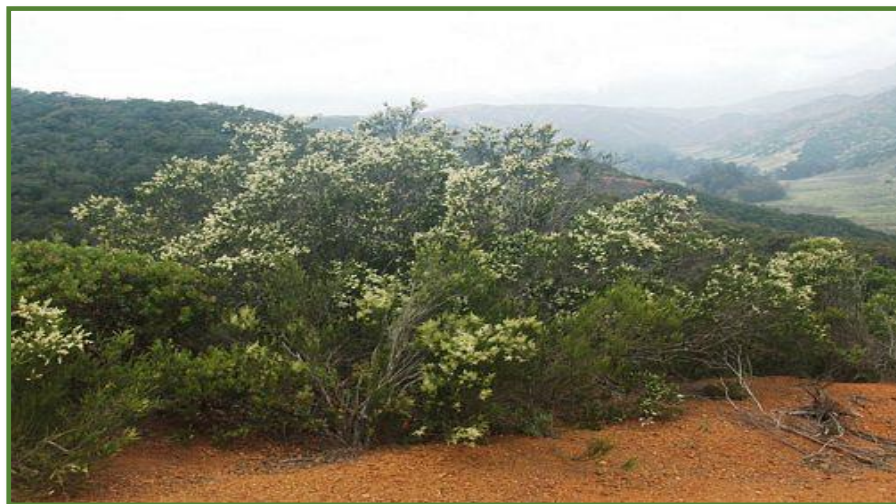


Figura 7. Arbusto de *A. fasciculatum*

4.1.1.1 Taxonomía de *A. fasciculatum*

Adenostoma fasciculatum fue descrita por Hook *et al.*, en el año 1832 y publicado en *The Botany of Captain Beechey's Voyage*. La especie es perteneciente al reino *Plantae*, al subreino *Tracheobionta* o también conocidas como plantas vasculares las cuales presentan una distribución del agua y nutrientes por el sistema vascular, el xilema y el floema.

Superdivisión; *Spermatophyta* que hace referencia a las plantas con semillas, de la división; *Magnoliophyta*, plantas con flores.

Clase; *Magnoliopsida* tradicionalmente conocida como dicotiledóneas, plantas fanerógamas angiospermas cuyos embriones de las semillas presentan dos cotiledones u hojitas iniciales, opuestos por lo común.

Subclase; *Rosidae*, siendo una de las más grandes de las dicotiledóneas, poseen hojas compuestas presentando numerosos estambres.

Orden; *Rosales*, presentando una morfología floral muy variables que va desde flores muy llamativas con grandes pétalos a flores pequeñas y reunidas.

Familia; *Rosaceae*, es una familia que presenta características por ser arboles perennes o plantas herbáceas, con hojas generalmente alternas, raramente opuestas simples o compuestas e inflorescencias en racimos.

Género; *Adenostoma* nombre que deriva de las palabras griegas *adeno* = glandula y *estoma* = boca, en referencia a las 5 glandulas en la boca de los sépalos (Charters, 2005).



Figura 8. Morfología de *A.fasciculatum*

4.1.1.2 Distribución geográfica de *A. fasciculatum*

A. fasciculatum es una especie endémica de la región árida del sur de California y Baja California, además de ser una de las más dominantes del chaparral californiano (Proksch *et al.*, 1985). La especie también se registra como nativa en áreas pequeñas de los estados vecinos de Nevada y el Suroeste de Oregón (Jones, 2013).

No hay registros de cómo se introdujo en otros lugares, como Australia, China o Europa sin embargo hay indicios de que su introducción fue como uso ornamental.

4.1.1.3 Referencias etnobotánicas de *A. fasciculatum*

La especie se usó como remedio tradicional para resfriados, convulsiones, mordeduras de serpientes, calambres, trismo e inflamaciones. El follaje en grasa se convierte en una pomada curativa, y los nativos americanos empleaban una infusión de corteza y hojas como una cura para la sífilis (Conrad, 1987).

La planta también fue utilizada tradicionalmente por los indios Chumash de California para tratar afecciones de la piel como eczema, usaron también las ramas en cestería y parte de la planta como pegamento (Moerman, 1998).



Figura 9. Indio Chumash de California

4.1.1.4 Estudios fitoquímicos de *A. fasciculatum*

La bibliografía reporta que el extracto metanólico de la planta contiene cinco glúcidos de flavonoides llamados:

1. Quercetin 3 –O-glucósido
2. Quercetin 3-O- rhamnoglucosido
3. Kaempferol 3-O-glucósido
4. Kaempferol 3-O-rhamnoglucosido
5. Isorhamnetin 3 - O – rhamnoglucosido

El extracto de las hojas y tallos contiene otros compuestos como el ácido cinámico (52.5%), ácido 7-hidrobenzoico (26.8%), ácido p-cumárico (10.6%) según lo reportado por el análisis de cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa, otras fuentes bibliográficas han reportado la presencia de ácido ferúlico, ácido sirínico, ácido vainílico, hidroquinona, arbutina, umbeliferona (cumarina) y florizina (una chalcona) (Chou *et al.*, 1971, Proksch *et al.*, 1980, & Proksch *et al.*, 1985).

Bouttemy *et al.*, 2014, reportaron la composición química de *A. fasciculatum* en donde el extracto de acetonitrilo, mostró la siguiente composición; presencia de geranial, ácido oleico, campesterol, suberosol, diterpenoides incluido thaliandiol, thalianol, triterpenoides como el glutaniol. La especie presenta un triterpenoide desconocido 7 α -hidroxibaruol.

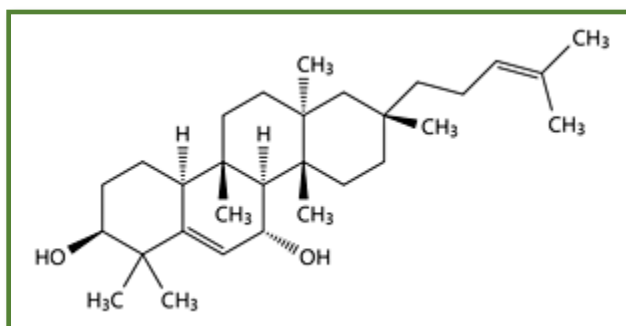


Figura 10. 7 α -hidroxibaruol

La especie ha sido usada en la cura de enfermedades de la piel empleando un bálsamo con el extracto, aceite de olivo y cera de abejas, en pacientes diagnosticados previamente con eczema, seborrea, psoriasis o enfermedad de Adamshan, con resultados favorables (Bouttemy *et al.*, 2014).

Las actividades biológicas que presentan algunos de los compuestos presentes en la planta son diversas como, la hidroquinona se usa como agente blanqueador de la piel y se considera segura. Se absorbe a través de la piel y puede ser irritante si se usa en altas concentraciones.

La administración sistémica de hidroquinona es tóxica para los riñones (Davida *et al.*, 1998). Sin embargo, la hidroquinona tiene una actividad contra los neutrófilos, que puede aliviar la inflamación (Hebeda *et al.*, 2012).

Geranial tiene una actividad antifúngica y puede causar hipersensibilidad (Kim *et al.*, 2012 & Hagvall *et al.*, 2012).

El campesterol es un fitosterol con poca actividad citotóxica (Callaghan *et al.*, 2013). También tiene varios mecanismos de anti-inflamación, como la inhibición de la síntesis de óxido nítrico, la inhibición de la expresión de la ciclooxigenasa 2 y la inhibición de la producción del mediador inflamatorio, incluyendo el factor de necrosis tumoral, la interleucina-1 y el tromboxano B2 (De la paz *et al.*, 2012).

Se sabe que el suberosol de fitosterol modula la actividad de los linfocitos y puede ser antiinflamatorio. (Li *et al.*, 1993)

Thaliandiol y thalianol no han sido examinados para la actividad farmacológica en la literatura actual. Muchos fitoesteroides y diterpenoides se absorben a través de la piel (Bhattacharya *et al.*, 1972). Glutanol tiene un potente analgésico y una actividad antiinflamatoria moderada (Gaertner *et al.*, 1999, & Ding *et al.*, 2010).

La actividad de 7-hidroxibaruol no se conoce aún pero se sabe que varios triterpenoides atraviesan la piel. La capacidad de glutinol ó 7 α -hidroxibaruol para cruzar la piel no se conoce todavía.

4.1.2 *Eriophyllum confertiflorum*

La especie *E. confertiflorum* es también conocida por sus nombres comunes como milenrama dorada o milenrama amarilla, es perteneciente a una de las más numerosas familias del reino vegetal con alrededor de 20.000 de especies, perteneciendo a la familia *Asteraceae*.

La planta es un pequeño arbusto perenne que crece en grandes grupos o rodales de muchos tallos erectos (lanudos) que a menudo superan el medio metro de altura.



La botánica Nancy Dale en el año 2000 describe el patrón de crecimiento como “ordenado”. Las hojas y tallos son blanquecinos cuando son jóvenes, debido a estar cubiertos de pelos blancos lanudos, luego se vuelven verdosos a gris-verde. Las hojas tienen 3-5 lóbulos profundos (Clarke *et al.*, 2007)

Figura 11. *Eriophyllum confertiflorum*

La parte superior de cada tallo está ocupada por una inflorescencia de hasta 30 cabezas de flores brillantes de color amarillo dorado con un gran centro de flósculos de disco y generalmente una franja de flores de rayos redondeados a ovalados, la cabeza mide hasta 3/8 con la parte superior plana, con flores de disco. La fruta es un aquenio que es un fruto pequeño seco que posee una sola semilla con un pezón muy corto.

Presenta un periodo de floración de aproximadamente enero a julio, flora que se ve muy atraída por polinizadores como mariposas. La especie es bastante tolerante al frío pero se convierte en caducifolia bajo estrés por sequía, tolera el suelo árido y suelo sódico (CNPS, 2014).

4.1.2.1 Taxonomía de *E. confertiflorum*

Pertenece al reino *Plantae*, subreino *Tracheobionta*, división *Magnoliophyta*, clase *Magnoliopsida*, subclase *Asteridae* constituyente del grupo más avanzado de dicotiledóneas, comprendiendo casi un tercio de la familia *Asteraceae* (Mooring, 1997).

Orden *Asterales*, es característico por poseer plantas herbáceas o levemente arbustivas, con morfología floral diversa, de la cual se sitúan dentro las margaritas. Familia *Asteraceae* se caracteriza por presentar las flores agrupadas en capítulos, inflorescencia que funcionalmente se comporta como una flor. De genero *Eriophyllum*, cuyo significado es “flor densamente”.



Figura 12. Morfología de *E. confertiflorum*

4.1.2.2 Distribución geográfica de *E. confertiflorum*

Es una especie nativa de California y Baja California, *E.confertiflorum* crece principalmente en Sierra Nevada y las cordilleras de la Costa de California y Baja California.

Se puede encontrar en varias comunidades de plantas y hábitats. En las montañas de Santa Mónica de California, es común en lugares abiertos que están lejos de la costa (Dale, 2000).



Figura 13. Distribución geográfica de *E.confertiflorum*

4.1.2.3 Referencias etnobotánicas de *E. confertiflorum*

La bibliografía reporta que las tribus del sur de California utilizaron los pelos blancos y lanosos de la planta como remedio para el reumatismo enrollando los pelos en una bola, colocándolos en la parte afectada y encendiéndolos en llamas, también las hojas y tallos de la planta hervidas en agua se ha empleado para el tratamiento de espinillas en la cara (Yaeger, 1941).

4.1.2.4 Estudios fitoquímicos de *E. confertiflorum*

La bibliografía reporta que tanto la familia *Asteraceae* como la especie se caracterizan por ser rica en lactonas sesquiterpénicas.

Del extracto de cloroformo de la parte aérea (hojas y tallos) de *E.confertiflorum* se han identificado los siguientes compuestos: Erioflorin (I), Eriophyllin-B (deacetyleriophyllin) (III), Eriophyllin-C (deacetyldehydroeriophyllin) (IV), Eriolin y hydroxyeriolin (Torrance *et al.*, 1969).

Morris *et al.*, 1977, reportaron el aislamiento de dos nuevos germacradienolides presentes en el extracto de *E. confertiflorum*, eriofertopina y 2-O-acetyleriofertopin los cuales mostraron ser inhibidores tumorales activos.

Las lactonas sesquiterpénicas derivadas de fuentes vegetales presentan diversas actividades biológicas tales como antibacteriana, anticancerígena, antiviral, antifúngica, así como efectos en el sistema nervioso central y cardiovascular. La amplia diversidad estructural potencial biológica hace que los científicos se vean cada vez más interesados por estas moléculas (Riuz *et al.*, 2015).

4.1.3 *Chrysanthemum coronarium*

Chrysanthemum coronarium o también conocida por otros nombres comunes como: antimonia, belide menuda, besantemon oloroso, coronaria, crisantemo, crisantemo silvestre, estrella española entre otros más.



Figura 14. Flor de *Chrysanthemum coronarium*

Es una planta anual, robusta de tallos erectos y muy ramificados de hasta 80 cm de alto, sus hojas presentan de 3 a 6 cm de largo con control general oblongo a obovado, sésiles y ligeramente abrazando el tallo, sus laminas mas o menos profundamente 2 veces divididas resultando segmentos agudos de 1 a 2 mm de ancho. Su inflorescencia está compuesta de cabezuelas solitarias en el extremo de las ramas, sobre pedúnculos hasta de 18 cm de largo, presenta flores de dos tipos: Flores liguladas femeninas; ubicadas en la cabezuela, corola de color amarillo, a veces blancas en el apéndice y de hasta 15 mm de largo.

Flores del disco; hermafroditas (ambos sexos), ubicadas en la parte central; corola dividida en 5 lóbulos agudos de color amarillo y de aproximadamente 5 mm de largo.

El fruto de la especie es seco y no se abre, contiene una sola semilla, se le conoce como aquenio. Las flores liguladas presentan forma de pirámide pero invertida de aproximadamente 3 mm de largo, mientras que las flores del disco son lateralmente comprimidas con un largo de aproximadamente 2.5 mm. El periodo de floración de la especie desde febrero a mayo. Se desarrolla casi en cualquier tipo de suelo, aunque prefiere el húmedo.

La especie crece frecuentemente de manera numerosa en márgenes de caminos, campos de cultivo y bosques abiertos siendo muy vistosa en el periodo de floración.

(Ferris *et al.*, 1960, Cronquist, 1980, Dillon, 1981, Nash *et al.*, 1976, Rzedowski *et al.*, 2001, Turner, 1996 & Villaseñor, 1989).

4.1.3.1 Taxonomía de *C.coronarium*

C.coronarium fue descrita taxonómicamente por Carlos Linneo en *species plantarum* en 1753.



Reino: *Plantae*, Subreino: *Tracheobionta*, División: *Magnoliophyta*, Clase: *Magnoliopsida*, Subclase: *Asteridae*, Orden: *Asterales*, Familia: *Asteraceae*, Género: *Chrysanthemum*.

Figura 15. Morfología de *C.coronarium*

El género *Chrysanthemum* se encuentra dentro de la familia *Asteraceae*, incluyendo más de 30 especies diferentes, siendo arbustos perennes de hasta metro y medio de altura con hojas lanceoladas y muy perfumadas, este género se puede clasificar

según su inflorescencia como: sencillas, anemonas, recurvadas, reflejas, pompones y decorativas.

4.1.3.2 Distribución geográfica de *C.coronarium*

La especie es nativa de la región mediterránea y el oeste de Asia (Basta *et al.*, 2007). Esta especie se encuentra principalmente naturalizada en Estados Unidos y Perú. En México es posible que se encuentre en proceso de naturalización, su distribución en el estado se encuentra reportada en Baja California, Chiapas, Coahuila, Distrito federal, Estado de México, Oaxaca, Puebla, Tabasco y Veracruz (Villaseñor *et al.*, 1998).

4.1.3.4 Referencias etnobotánicas de *C.coronarium*

La especie se ha utilizado desde tiempos inmemoriales en la medicina, aunque también se ha empleado con fines culinarios y decorativos, su uso se ha extendido mucho en países de Asia oriental. En China las hojas y las flores se usan para hacer té de verano que se emplea como diurético y expectorante.

En muchos otros países del este, *Chrysanthemum coronarium* se usa como vegetal las partes como pétalos y hojas verdes se emplean en diversas comidas como: ensaladas, sopas o guisos ya que aportan una buena fuente nutricional de vitaminas (ácido fólico), fibra, calcio y flavonoides, además de utilizarse como tratamiento para heridas en la piel, abscesos, furúnculos, hinchazón en los pies, bronquitis, para abrir el apetito, estreñimiento y evitar indigestión, inclusive en la India se ha utilizado para tratar la gonorrea, mientras que en Egipto las flores se consideran vermífugas y se emplean para mitigar el dolor (Von *et al.*, 1997 & Rayner, 2013).

La especie tiene una gran importancia significativa en la cultura Japonesa, ya que la consideran un símbolo de larga vida y realeza, tanto que la flor también conocida como kiku se celebra en Japón en el otoño en el día nacional del crisantemo en el festival de la felicidad (Valencia, 2008). En México se utiliza principalmente como ornamenta.

4.1.3.4 Estudios fitoquímicos de *C.coronarium*

La composición química de *C.coronarium* es muy variada, sus hojas, flores, tallos y raíces poseen diferentes metabolitos secundarios como: terpenoides, lactonas sesquiterpénicas, derivados de dihidrochrysanolide, poliacetilenos, flavonoides, compuestos fenólicos, campesterol y esteroides (Sudheer *et al.*, 2015).

Las hojas son ricas en quercetina y glucósidos además de contener rutina, e isoquercetina. Los tallos pueden presentar emodina (en formas de aglicona y glucósido), antraquinonas y crisofanol, las raíces contienen crisofanol y crisazina (Gins *et al.*, 1999).

En las flores de *C.coronarium* se encuentra una mezcla de compuestos llamados piretrinas hasta un 20 -25% del extracto seco de estas flores las contienen.

Dentro de las piretrinas se conocen seis sustancias biológicamente activas con propiedades insecticidas. Estas moléculas se clasifican en dos grupos el grupo piretrinas I, que son ésteres del ácido crisantémico y el grupo piretrinas II, que son ésteres del ácido pirétrico (Casida, 1980).

Piretrinas I

1. Piretrinas I, formula molecular de $C_{21}H_{28}O_3$.
2. Cinerina I, formula molecular de $C_{20}H_{28}O_3$.
3. Jasmolina I, formula molecular de $C_{21}H_{30}O_3$.

Piretrinas II

1. Piretrina II, formula molecular de $C_{22}H_{28}O_5$.
2. Cinerina II, formula molecular de $C_{21}H_{28}O_5$.
3. Jasmolinall, formula molecular de $C_{22}H_{30}$

La especie es rica en aceite esencial y presenta una coloración azulada debido a la presencia de un compuesto llamado camazuleno, el aceite es muy aromático y se le atribuyen múltiples actividades biológicas. Estudios de la composición

química del aceite esencial ponen de manifiesto la presencia de alcanfor, acetato de crisantenilo, mirceno, α - pineno, β -pineno, acetato de linalilo y camazuleno como constituyentes principales. La composición química del aceite puede variar dependiendo del origen y la estación del año en el que se llevó la recolecta del material vegetal (Chuda *et al.*, 1996).

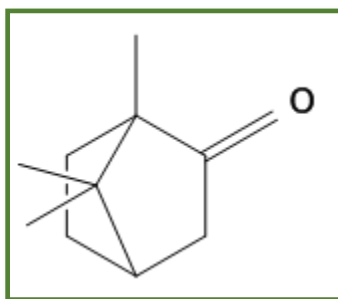


Figura 16. Alcanfor

Álvarez-Castellanos *et al.*, en el año 2001 reportaron 15 compuestos constituyentes del aceite esencial, siendo una de las primeras caracterizaciones.

Tabla 1. Composición química del aceite esencial de las flores de *Chrysanthemum coronarium*.

Componente	Porcentaje (%)
α -Pineno	14.8
Canfeno	5.2
α -Felandreno	2.6
β -Pineno	9.5
4-Metilenciclohexeno	Trazas
Limoneno	0.7
β -Ocimeno	0.3
Alcanfor	29.2
Acetato del 2,7,7-Trimetilbicyclo- [3.1.1] hept-2-en-6-ol	3.8
Acetato de bornilo	0.9
Acetato de liralilo	9.8
β -Cariofileno	1.1
Germacreno D	2.7
p -Menta-1,3,8-trieno	3.4
Camazuleno	0.5

En otro estudio posterior en el año 2004, se analizó el aceite esencial de las flores de *C. coronarium* de dos localidades diferentes del sur de Italia (Lascari y Palinuro) arrojando 68 constituyentes que ascienden a 89.0% - 91.6% de aceite, de los cuales los principales componentes fueron trans-espirocetal-enol éter 2-(2,4-hexadienilideno)-1,6-dioxaspiro[4.4]non-3-eno(trans-tonghaosu) con crisanteno y éster de liracilo y alcanfor (Senatore *et al.*, 2004).

Wesolowska *et al.*, en el año 2015 mostraron más constituyentes, un total de 105 que representan 97.71% - 99.5% de la composición total del aceite, se observaron concentraciones más altas de cis-crisantemol (7.98%), acetato de bornilo (7.96%), isovalerato de cis-crisanteno (96.61%), y alcanfor (5.68%).

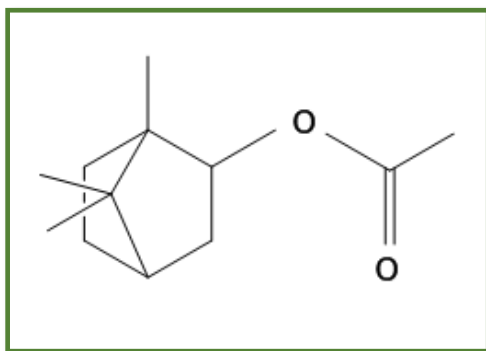


Figura 17. Acetato de bornilo

Diversos estudios reportan las actividades biológicas que presenta *C. coronarium*.

Actividad antiinflamatoria:

En un estudio de ocho extractos etanolicos de plantas seleccionadas, *C. coronarium* fue uno de los siete extractos que mostraron propiedades antiinflamatorias prometedoras, ya que el extracto disminuyo la síntesis de óxido nítrico y el factor de necrosis tumoral α (TNF α) en células de origen monocítico activas con lipopolisacárido LPS (Strzelecka *et al.*, 2005).

Actividad antibacteriana:

Se reporta actividad antibacteriana de cuatro especies tunecinas de crisantemo, mostrando que los extractos presentaron actividad contra el virus Herpes simplex tipo 1, (anti HSV-1) mediante el método de incorporación de rojo neutro (Sassi *et al.*, 2008).

El aceite esencial ha presentado actividad contra bacterias gram positivas como *B.aureus* y *S.aureus*), bioactividad que podría atribuirse a algunos componentes como; alcanfor, germacreno D, α -felandreno, limoneno, canfeno y β -Cariofileno (Hosni *et al.*, 2013).

Actividad antiangiogénica / antiproliferativa:

Campesterol, un esteroide vegetal conocido por reducir el colesterol y presentar efectos anticancerígenos, el campesterol aislado a partir de una fracción de acetato de etilo de la especie *C.coronarium* mostro resultados prometedores en la inhibición de la proliferación y diferenciación celular endotelial capilar (Chio *et al.*, 2007).

Sin embargo el aceite esencial también se ha reportado por ser eficaz para la inhibición del crecimiento de diversas líneas celulares tumorales, inhibiendo en un 50% el crecimiento de células cancerosas (Sanaa *et al.*, 2015).

Tabla 2. Líneas celulares evaluadas con aceite esencial de *Chrysanthemum coronarium*.

Línea celular
Tumor epitelial de mama humano <i>T47D</i>
Adenocarcinoma de mama humano <i>MCF-7</i>
Adenocarcinoma de colon humano <i>Caco-2</i>
Carcinoma epitelial humano <i>HeLa</i>

Actividad Fitotóxica:

Los efectos fitotóxicos de los extractos acuosos de *C.coronarium* se han probado en la germinación de semillas y plántulas como; (*T.durum*, *Z.mays*) y en malas hierbas como; (*S.sinapis*, *P.canariensis*), el efecto de los extractos es más selectivo hacia a las malas hierbas, los compuestos aleloquímicos a los cuales se les atribuye

la actividad son; tricin y miricetin 3 –O- galactósido (Hosni *et al.*, 2013).

Actividad hepatoprotectora:

Estudios muestran que el extracto etanolico reduce las actividades séricas elevadas del marcador hepático enzimático, generando actividad hepatoprotectora evaluada en modelos animales como ratas (Abd El Raheim *et al.*, 2014).

Actividad antioxidante:

La bibliografía científica reporta la evaluación antioxidante de la especie *C.coronarium* mediante la técnica de DPPH (Difenil picril Hidraxilo) del extracto crudo y sus fracciones (ver tabla 3).

Tabla 3. Evaluación antioxidante del extracto crudo y fracciones de *Chrysanthemum coronarium*.

Diferentes extractos	Inhibición %	TEAC
Extracto crudo	34.85±2.15	0.92±0.06
Extracto de dietil	14.50±1.2	0.54±0.02
Extracto de cloroformo	36.30±1.4	0.98±0.03
Extracto de acetato de etilo	49.45±1.45	1.65±0.4
Extracto de butanol	24.50±2.4	1.29±0.02

TEAC: Capacidad Antioxidante Equivalente Trolox.
Abd El Raheim (2014).

La fracción de acetato de etilo mostro una actividad más alta. Los compuestos fenólicos, flavonoides, rutina, luteolina y luteolina-7-O-glucosido, constituyentes del extracto son responsables de ser eliminadores de radicales (Abd El Raheim *et al.*, 2014).El aceite esencial también ha sido evaluado por la misma técnica y a mostrado una moderada eliminación de radicales (Hosni *et al.*, 2013).

Actividad insecticida / nematicida:

La planta es bien conocida por presentar actividad insecticida significativa, la bibliografía reporta varios artículos en donde se emplean distintos insectos para la realización de variados bioensayos tales como: el de incorporación a la dieta, aplicaciones tópicas, toxicidad por contacto con discos entre muchos otros.

ejemplo de ello son las larvas y pupas de *Tribolium castaneum* que se han empleado en los bioensayos anteriormente mencionados utilizando el extracto crudo y fracciones mostrando resultados de mortalidad e inhibición del desarrollo de pupas favorables, poniendo de manifiesto la función reguladora de la hormona del crecimiento aunque también presenta acción por ingestión (Villalobos ,1996).

Un estudio demostró que el extracto de la flor de *C.coronarium* presenta actividad insecticida en el gusano de la hoja de algodón *Spodoptera littoralis*, las larvas tras ser alimentadas con hojas tratadas muestran un efecto significativo en el surgimiento de adultos, siendo las fracciones de acetato de etilo y cloroformo quienes reflejaron mejores resultados (Mourad *et al.*, 2008).

Los constituyentes principales de la fracción de acetato de etilo fueron 3-dihidro-metileno-2-(3H) furanona (17.8%), Jasmolina I (15.6%), Carveol I (13.6%), Ácido fosfórico, éster de tributilo (11,4%) y cinerina II (11,1%), mientras que en la fracción de cloroformo se encontraron 5-hidroxi-3-metil-1H-pirazol (42,7%) y carveol I (24,8%) (Shonouda *et al.*, 2008).

La bibliografía también ha mostrado actividad nematocida, frente a ciertos fitopatógenos tras la aplicación de *C.coronarium* en el suelo como abono, nematodos agalladores (*Meloidogyne incognita* y *M. javanica*) presentes en las raíces de los tomates, generando un mejoramiento del peso fresco de la planta tras inhibir a estos. El extracto acuoso ha presentado una actividad nematocida in vitro hacia los nematodos juveniles de segunda etapa y ha inhibido la eclosión de huevos y masas de huevos (Bar-Eyal *et al.*, 2006).

El uso de formulaciones de plantas con propiedades insecticidas es una alternativa prometedora para el manejo integrado de plagas, generando protección de cultivos y por ende mayor rendimiento en la producción de productos hortícolas sin poner en riesgo la salud del hombre y su entorno.

El extracto crudo, fracciones y aceite esencial de *C.coronarium* muestran una amplia gama de bioactividades, siendo una especie prometedora en la investigación científica.

4.2. LAS PLANTAS COMO FUENTE ANTIOXIDANTES

4.2.1 Antioxidantes y radicales libres

El oxígeno es un elemento imprescindible para la vida aerobia, representa la fuerza motriz para el mantenimiento del metabolismo y viabilidad celular, al mismo tiempo que involucra un peligro potencial debido a las características paramagnéticas de este gas, responsable de la formación de intermediarios parcialmente reducidos y dotados de alta reactividad conocidos como especies reactivas de oxígeno (ERO) o radicales libres (Tova, 2013).

Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado, por lo que son muy reactivos, ya que tienden a captar un electrón de otros átomos con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. El término “radical libre” enfatiza una reactividad más alta comparada con moléculas cuyos átomos están ligados a otros por covalencia (enlace por compartición de electrones). Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón (reducción) que necesita, la molécula estable que lo pierde (oxidación) se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una reacción en cadena, debido a que estos radicales no poseen receptores específicos tienen capacidad de agresión indiscriminada sobre células y tejidos vivos (Maldonado *et al.*, 2010).

Sin embargo a bajos niveles presentan una función fisiológica en el organismo, como la de participar en la fagocitosis, favoreciendo la síntesis de colágeno y prostaglandinas, funcionando también como mensajeros secundarios de ligandos específicos incluyendo el factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF- β 1) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), mediando varias respuestas biológicas incluyendo la expresión de genes, proliferación celular, angiogénesis, inmunidad innata y muerte celular programada (apoptosis) (Martínez, 2007).

Como producto de nuestro metabolismo se generan distintos tipos de radicales libres tales como:

Especies Reactivas de Oxígeno (ERO)

1. Anión Superóxido
2. Anión Peróxido
3. Radical Perhidroxilo
4. Radical Hidroxilo

Especies Reactivas de Nitrógeno (ERN)

1. Óxido nítrico
2. Radical Peroxinitrito

Especies que se originan tanto en procesos fisiológicos normales como en procesos patológicos sin excluir también que existen especies procedentes de otros elementos como Cloro (RCIS) y Bromo (RBrS), aunque (ERO) y (ERN) son dos grandes grupos implicados dentro de la biología redox.

Existen varias fuentes capaces de producir estos radicales libres, las mitocondrias constituyen la principal fuente aunque también existen otros como los peroxisomas (organelas del citosol ricas en oxidasa), leucocitos polimorfonucleares (cuando se activan por diversas proteínas que actúan sobre ellas como interleukinas durante procesos inflamatorios) y la enzima xantina deshidrogenasa en endotelios (Vázquez *et al.*, 2004).

Los radicales libres se pueden generar por factores como: el propio metabolismo de los alimentos, la respiración, el ejercicio, estar expuestos a elementos del medio ambiente como la contaminación industrial, el consumo del tabaco, la radiación, medicamentos, aditivos químicos en alimentos procesados, pesticidas, herbicidas y ciertas circunstancias como la dieta hipercalórica o dieta insuficiente en antioxidantes, procesos inflamatorios, traumatismos, fenómenos de isquemia y perfusión (Maldonado *et al.*, 2010).

Los sistemas biológicos en ambientes oxigenados han desarrollado mecanismos de defensa, tanto a nivel fisiológico como bioquímico. Entre ellas destacan a nivel

fisiológico el sistema microvascular cuya función es mantener los niveles de O_2 en los tejidos y a nivel bioquímico la defensa antioxidante.

Un antioxidante al colisionar con el radical, le cede un electrón oxidándose y transformándose en una sustancia inocua. Los antioxidantes pueden ser enzimáticos o no, clasificándose en endógenos (se encuentran en el organismo y son sintetizados por sus células) y exógenos (ingresan a través de la dieta) (Martinez, 2007, Mayor *et al.*, 2010, Corrales *et al.*, 2012, & Tovar, 2013).

Tabla 4. Clasificación de los antioxidantes, según su origen.

Origen	Acción
1.Exógenos	
Vitamina E	Neutraliza el oxígeno, captura radicales libres hidroxilo, O_2 , neutraliza peróxidos
Vitamina C	Neutraliza el oxígeno singlete, captura radicales libres de hidroxilo y O_2
Betacarotenos	Neutraliza el oxígeno singlete
Flavonoides, Licopenos	Neutraliza radicales hidroxilo y superóxido
2.Endógenos	
Enzimáticos	Cofactor
Superóxido dismutasa (SOD)	Cataliza la dismutación de radicales O_2 y H_2O_2
Catalasa (CAT)	Cataliza la descomposición del peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno
Glutation peroxidasa (GPx)	Selenoproteína es un agente reductor, cataliza la reducción de peróxido de hidrogeno
3.No enzimáticos	
Glutación	Barreras fisiológicas que enfrenta el oxígeno a su paso desde el aire hasta las células
Coenzima Q	
Ácido tioctico	Transportadores de metales (transferrina y ceruloplasma)

Las células están equipadas con sistemas de defensa (antioxidantes endógenos) que permiten mantener bajas concentraciones de dichas especies reactivas, sin embargo si hay un exceso de estas, se genera el estrés oxidativo que es responsable de numerosas patologías por ello los antioxidantes exógenos actúan como moléculas suicidas ya que se oxidan al neutralizar al radical libre, por lo que la reposición de ellos debe ser continua, mediante la ingestión de los nutrientes que los contienen (Venereo, 2002).

4.2.2 Efectos de los radicales libres

Las especies reactivas de oxígeno y el establecimiento del estrés oxidativo se ve relacionado con las modificaciones que sufren ciertas biomoléculas como lípidos, proteínas, carbohidratos y ADN, como muestra la (figura.18) las especies reactivas atacan estas estructuras fundamentales en el cuerpo humano trayendo como consecuencia a largo plazo alteraciones metabólicas (Weyemi *et al.*, 2012 & Navarro *et al.*, 2016).

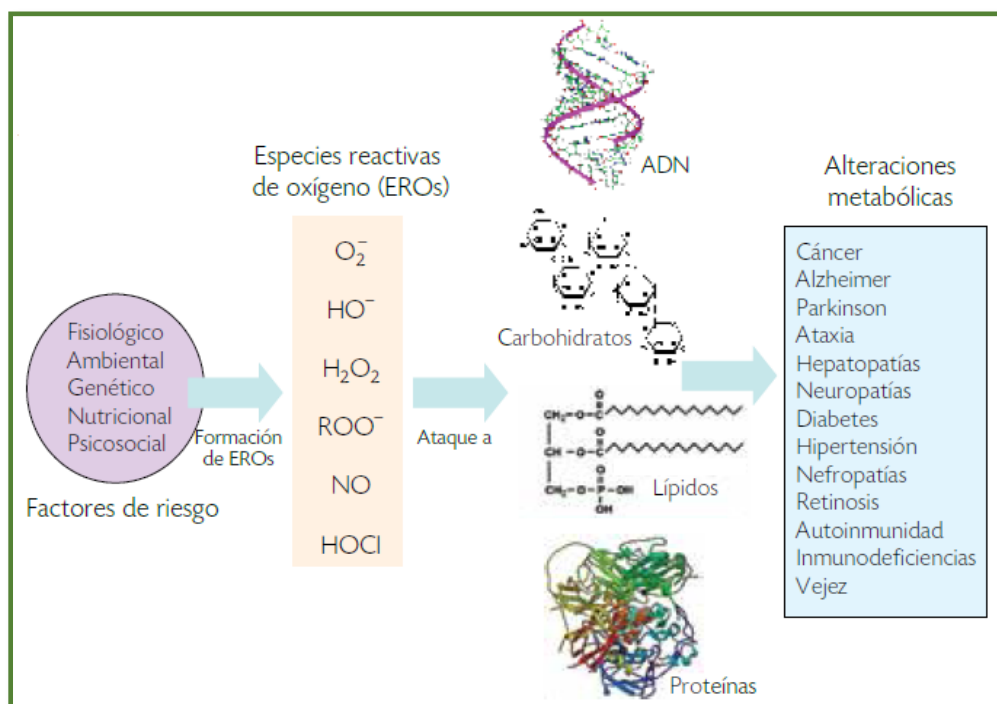


Figura 18. Generación de especies reactivas de oxígeno y consecuencias del desbalance oxidante-antioxidante.

Sin embargo los radicales libres juegan un papel fisiológico clave en la homeostasis, como es el caso del óxido nítrico sintetizado por la enzima óxido nítrico sintasa. El óxido nítrico participa en la relajación muscular, el control del tono vascular y varias otras funciones que dependen de la guanosina monofosfato cíclico (GMPc). El superóxido (O_2^-) formado por la oxidasa NAD(P)H controla la producción de eritropoyetina, participa en el control de la ventilación, en la relajación del músculo liso y en la transducción de señales de varios receptores membranales que activan funciones inmunes. En general, las especies reactivas de oxígeno intervienen en la respuesta del estrés oxidativo (el bombardeo persistente de moléculas por radicales de oxígeno reactivo) y mantienen la homeostasis redox.

Pero un desbalance en estos desencadena consecuencias que a primera instancia ejercen un daño en macromoléculas esenciales como:

Lípidos: provocan la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados y de los fosfolípidos de las membranas, la peroxidación lipídica (POL) conduce a un aumento considerable de la permeabilidad de las membranas celulares, originando alteraciones irreversibles de las propiedades funcionales de la célula que pueden conducir a su lisis total o a la formación de derivados tóxicos como los hidroperóxidos.

Proteínas: los radicales libres son capaces de oxidar un grupo de aminoácidos como fenilalanina, tirosina, histidina, metionina, además de formar entrecruzamientos de cadenas peptídicas y formación de carbonilos.

ADN: los daños fundamentalmente son la hidroxilación de las bases nitrogenadas que constituyen el ADN, entrecruzamientos e inhibición de la síntesis de proteínas, nucleótidos y ácidos grasos causados por el radical hidroxilo ($\cdot OH$) y el oxígeno singlete (1O_2), también se generan fenómenos de mutación y carcinogénesis (Tova, 2013).

De acuerdo con Núñez (2011) se han estudiado alrededor de 100 enfermedades y su relación con el desbalance del sistema oxidativo. Estas enfermedades pueden clasificarse en las generadas por pro-oxidantes que modifican el estado redox y

alteran la tolerancia a la glucosa, favoreciendo el estrés oxidativo mitocondrial en enfermedades como el cáncer y diabetes mellitus, el segundo incluye estrés oxidativo de tipo inflamatorio y una mayor actividad de enzima nicotinamida adenina dinucleótido fosfato-oxidasa (NADPH-ox) que conduce a la aterosclerosis e inflamación crónica y el tercer grupo deriva del sistema xantina-oxidasa generando especies reactivas implicadas en lesión isquémica por perfusión (Sanchez *et al.*, 2013)

Enfermedades como el Alzheimer, Parkinson, Esclerosis lateral amiotrófica, cáncer, diabetes mellitus, enfermedades hepáticas y cardiovasculares se destacan habitualmente como patologías más asociadas en el estrés oxidativo.

Entre estas las enfermedades de tipo cardiovascular presentan una amplia relevancia epidemiológica, la oxidación de las LDL (lipoproteínas de baja densidad) colesterol parece representar la “llave maestra” en el desarrollo de la aterosclerosis, en tanto pueden ser citotóxicas de las células endoteliales y baja la motilidad del tejido macrófagico (Stanner *et al.*, 2015).

El Alzheimer se caracteriza por la pérdida de neuronas asociada con la agregación de placas de proteína β -amiloide y marañas neurofibrilares, en esta enfermedad los radicales libres generados por las mitocondrias mantienen al paciente en estrés oxidativo presentando marcadores de oxidación de proteínas elevados.

En la enfermedad de Parkinson el estrés oxidativo está implicado en la pérdida de células nigro-estriadas y defensas en la cadena respiratoria mitocondrial, en la esclerosis lateral amiotrófica se presenta la degradación de neuronas motoras en la corteza cerebral y cordón espinal, las altas concentraciones de proteínas oxidadas en tejidos post-mortem son generadas por radicales libres.

En el cáncer el estrés oxidativo y el proceso tumoral se encuentran estrechamente relacionadas a través de la oxidación del material genético ya que el peróxido de hidrogeno juega un papel crucial como segundo mensajero en la transducción de señales para la activación, diferenciación y proliferación celular (Sánchez *et al.*, 2013 & Coronado *et al.*, 2015).

Otra enfermedad muy recurrente es la diabetes mellitus ya que es la primera causa de muerte en México, en esta enfermedad los radicales libres están implicados en el daño tisular, encontrándose la actividad antioxidante disminuida, aquí las especies reactivas se asocian con la hiperglucemia crónica que es caracteriza la patología.

Con base al avance en la investigación científica se puede afirmar que en condiciones normales los radicales libres no son dañinos para nuestro organismo y además están involucrados en diversos procesos fisiológicos benéficos, sin embargo cuando las defensas antioxidantes se ven superadas por especies oxidantes nuestras células se ven comprometidas por el estrés oxidante que se establece generando gran número de enfermedades como las ya mencionadas (Maldonado *et al.*, 2010).

4.2.3 Antioxidantes naturales

Antioxidante natural el término alude a aquellas sustancias, con propiedades antioxidantes que se presentan o pueden ser extraídas de las plantas. Debido a la mala imagen adquirida y al rechazo por parte del consumidor de los antioxidantes sintéticos, los naturales han generado un gran interés en los últimos años.

Dentro de la gama de antioxidantes se encuentran los polifenoles (alcoholes y ácidos fenólicos, ácidos cinámicos sus derivados y glucósidos, cumarinas, flavonoides y sus glucósidos, catequinas, fenoles condensados o taninos, sin embargo los carotenoides, vitaminas, y ciertos oligoelementos constituyen también un potencial antioxidante. (Navarro *et al.*, 2016).

Estos compuestos que presentan la actividad han adquirido una gran importancia desde el punto de vista biológico, pues ellos pueden mostrar una serie de beneficios que van desde el retraso del deterioro de celular, la inhibición de ciertos tipos de cáncer, hasta la prevención de patologías asociadas al estrés oxidativo (Carrasco *et al.*, 2005).

Un ejemplo de ello es la capacidad antioxidante que presentan los flavonoides encontrados ampliamente en las plantas, frutas y vegetales, son actualmente un grupo de compuestos fitoquímicos de gran interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana, estas sustancias se forman en el reino vegetal a partir de los aminoácidos fenilalanina y tirosina, el tipo de conjugación y la localización de los flavonoides en el organismo, determina la capacidad de inhibición enzimática y su capacidad antioxidante, estos compuestos no solamente son capaces de inhibir la peroxidación lipídica sino que pueden actuar como barredores directos de radicales libres y como agentes quelantes de metales, además de poseer un efecto aditivo de defensa antioxidante endógena aumentando o manteniendo dicha defensa. La estructura química de estos compuestos es la que les confiere su capacidad para actuar como captadores de radicales (Slullitel, 2012). Se ha encontrado que la actividad de los flavonoides puede ser afectada por la naturaleza de los sustituyentes presentes en su estructura al igual que su posición, estableciendo así condiciones generalizadas, para una actividad antioxidante significativa (Apak *et al.*, 2007) tales como:

1. Una sustitución orto-dihidroxi en el anillo B, impartiendo estabilidad a los radicales ariloxi formados por la oxidación del flavonoide posiblemente por puentes de hidrógeno y/o electrón-deslocalización (Apak *et al.*, 2007).
2. Un doble enlace entre los átomos de carbono 2 y 3 que facilita la transferencia de electrones en conjugación con la función carbonilo del carbono 4 a través de electrón-deslocalización.
3. Presencia de grupos hidroxilo en ambos carbonos 3 y 5 que ayudan a la formación de estructuras estables una vez los flavonoides se hayan oxidado.

Siguiendo estos criterios, el flavonoide quercitina es el que mejor reúne los requisitos para ejercer una efectiva función antioxidante.

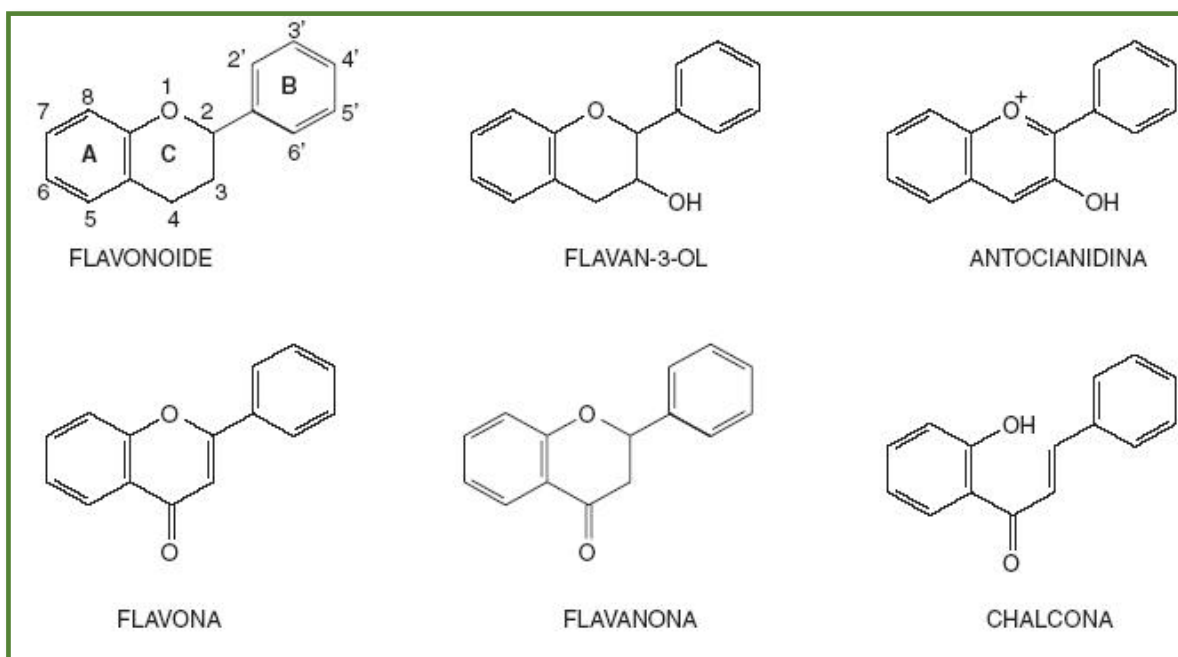


Figura 19. Estructura básica de los flavonoides y subclases más usuales.

Estos compuestos han sido sujeto de estudio ya que juegan un papel importante en la prevención, reducción y manejo de los síntomas ocasionados por distintas enfermedades crónicas degenerativas.

La familia de los carotenoides también presenta efectos antioxidantes potentes y reduce el riesgo de cáncer, unos valores bajos del carotenoide licopeno constituyen un posible riesgo de cáncer de próstata, los carotenoides se encuentran en verduras de hojas de color verde oscuro y en la frutas y verduras de color amarillo-naranja a mayor intensidad de color, mayor es la concentración de carotenoides, estos compuestos ofrecen una protección frente a la oxidación de las LDL, reducen el riesgo de aterosclerosis, ataques cardiacos e ictus. Existen alrededor de 600 carotenoides de los cuales cerca de 50 son precursores de la vitamina A o retinol (Anderson *et al.*, 2009).

La investigación científica aporta datos sobre el beneficio del consumo de productos con propiedades antioxidantes de origen vegetal como parte de la dieta ya que mejora la calidad de vida de la población, sin duda la acción antioxidante que presentan las plantas genera gran interés en la comunidad científica puesto que

representa una ayuda al combate de enfermedades provocadas por el estrés oxidante.

4.3 LAS PLANTAS COMO INSECTICIDAS BIOLÓGICOS

4.3.1 Baja California como estado agrícola

Baja California es uno de los estados más atractivos del país, debido a su dinámica económica y su cercanía con el mercado estadounidense, la agricultura ha sido una de las actividades primas que aportan ganancias económicas al estado. El 43% del uso de suelo agrícola en Baja California se encuentra en el municipio de Ensenada, que sumado a las porciones de Tijuana, Rosarito y Tecate componen el 50% del uso agrícola estatal, donde el 54% corresponde a agricultura de temporal y el 46% de riego. Mexicali corresponde el otro 50% restante el cual está destinado a agricultura de riego.

Los principales cultivos del estado son el trigo ocupando la tercera posición a nivel nacional atrás de Guanajuato y Sonora, el tomate rojo ubica a Baja California en la segunda posición con una producción de 1,090 millones de pesos detrás de Sinaloa, la cebolla logro el primer lugar en producción a nivel nacional en el año 2008 y en actualidad sigue siendo un cultivo sobresaliente, la producción de uva en la región vinícola del estado es de amplio reconocimiento internacional, sin embargo otros cultivos como la fresa, algodón, olivo, la alfalfa por superficie sembrada, frambuesa y chile verde también representan un gran valor comercial (SAGARPA, 2010).



Figura 20. Región agrícola de Baja California

4.3.2 Plagas agrícolas

El sector agrícola de Baja California se enfrenta diariamente con diversas plagas como hongos e insectos que infestan sus cultivos y adquieren un gran poder de resistencia tras el empleo incontrolado de distintos agroquímicos, desencadenando grandes pérdidas económicas al estado.



Un ejemplo de ello es la araña roja (*Tetranychus urticae*) es una de las especies que más daños y pérdidas económicas provoca en la producción de cultivos en el mundo no solo en México, sin embargo hay otras plagas que también generan un gran impacto de daño.

Figura 21. Araña roja (*Tetranychus urticae*)

Tabla 5. Plagas más comunes que afectan cultivos de Baja california

Plaga	Cultivo	Acción de daño
Araña roja (<i>Tetranychus urticae</i>)	Principal plaga que daña muchos cultivos ejemplo: algodón, maíz y fresa.	Ácaros que al picar y chupar la savia de la planta ocasionan decoloración, deformación así como caída prematura de las hojas.
Chicharrita (<i>Homalodisca vitripennis</i>)	Algodón, alfalfa, frijol, maíz y soya.	Insectos pequeños, el daño se manifiesta por el amacollamiento de las hojas y algunas veces por el achaparramiento de la planta.
Chiche lygus (<i>Lygus lineolaris</i>)	Algodón, alfalfa, fresa etc...	Insectos que se alimentan chupando la savia de las terminales, generando flores deformes y puntos negros.

Gusano bellotero (<i>Helicoverpa zea</i>)	Algodón, maíz, sorgo, sandía, melón, pepino, berenjena, cártamo, soya, garbanzo y otros cultivos.	Este insecto daña los frutos de los cultivos.
Minador (<i>Liriomyza trifoli</i>)	Tomate, chile, frijol, melón, sandía etc...	Las larvas al alimentarse originan galerías o minas en las hojas, haciendo que se sequen y caigan.
Mosca blanca (<i>Trialeurodes vaporariorum</i>)	Algodón, calabaza, chile, frijol etc...	Tanto las ninfas como los adultos se localizan en el envés de las hojas succionando la savia de las plantas.
Pulgón del follaje (<i>Schizaphis graminum</i>)	Trigo, maíz, sorgo, cebada y otros cultivos.	Áfido que se alimenta de la savia de las plantas ocasionando manchas amarillentas que se tornan café oscuras, los tejidos mueren a causa de las toxinas inyectadas.
Pulgón amarillo (<i>Melanaphis sacchari</i>)	Sorgo y trigo	Succionan la savia de hojas y generan lesiones rojizas afectando cultivos enteros.
Trips (<i>Thrips tabaci</i>)	Algodón, alfalfa, frijol, hortalizas, remolacha y otros cultivos.	El daño que causan los adultos y ninfas al raspar y chupar tejidos epidérmicos, es la aparición de manchas blanquecinas, rasgaduras y arrugas en la hoja.

SAGARPA, (2015). Agenda Técnica Agrícola de Baja California.

Estas plagas son algunas de las principales que atacan cultivos productivos de Baja California, sin embargo hay muchas otras en el estado, estas generan severas afecciones en el producto hortícola y derrames económicos elevados de aquí la importancia de la búsqueda de soluciones a la problemática (SAGARPA, 2015).



Figura 22. Tela y daños que produce *Tetranychus urticae* sobre planta de frutilla.
(Guagole, 2012)

4.3.3 Insecticidas sintéticos

Los productos sintéticos destinados a controlar las plagas y enfermedades en los vegetales han tenido un rol muy marcado en el incremento de la producción agrícola. Sin embargo el uso continuo e indiscriminado de estas sustancias, no solo ha causado enfermedades y muertes por envenenamiento a corto y largo plazo, sino también ha afectado al medio ambiente, acumulándose por bioconcentración en los distintos eslabones de la cadena alimenticia, en el suelo y agua. Son responsables además de la resistencia insecticida, el surgimiento de plagas secundarias, así como el ataque a organismos no blanco, como polinizadores o animales de sangre caliente (Rosas *et al.*, 2006).

Uno de los principales insecticidas sintéticos empleados en el siglo XX fue el DDT (dicloro difenil tricloroetano) el cual se utilizó para controlar diversas infecciones causadas por insectos vectores, fue a partir de éste que se sintetizaron diferentes compuestos análogos, lo cuales fueron suspendidos en la década de los 70's por su persistencia en el medio ambiente (Torres *et al.*, 2007).

Otros plaguicidas sintéticos como los orgafoforados, derivados halogenados, carbamatos, piretroides, derivados de la urea y compuestos heterocíclicos fueron surgiendo dando origen a la era de los insecticidas sintéticos, sin embargo,

actualmente en el mercado mundial se comercializan miles de estos productos con efectos nocivos a la salud y el ambiente, sin que esto sea una limitante para su venta. El uso de insecticidas en México ha aumentado en las últimas décadas, preocupantemente la (FAO) reporta que en nuestro país fueron utilizados en promedio 4.55 toneladas de plaguicidas (funguicidas, herbicidas e insecticidas) por cada 1000 hectáreas entre los años 2009 y 2010. En el año 2011 del total de plaguicidas registrados ante COFEPRIS, aproximadamente el 90% son de origen químico y el 10% de origen biológico (SAGARPA, 2014).

México hoy en día emplea por lo menos 30 insecticidas prohibidos en otras naciones por su alto nivel de toxicidad como: azinfos metílicos, carbarilo, dicofol, forato y paraquat entre otros, esto debido a que no existe ningún tipo de regulación o monitoreo en el país (Arellano *et al.*, 2016).

Son 13 los estados de la república que utilizan casi el 80% del total de plaguicidas empleados a nivel nacional, entre ellos esta Baja California (Albert *et al.*, 2005).

De acuerdo con el Instituto Nacional de Investigación Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP, 2007) los plaguicidas, funguicidas y herbicidas de mayor uso en la región de Baja California son: Diazinón, Ambush, Diazinón 25, Lannate, Bravo 720, Goal, Azufre, Dimetoato, Goal 2-Ec, Fli, Lannate 90, Maneb, Manzate, Malatión 1000 E, Metomil, Cupravit, Maneb 80, Sevin 80, Lannate 90, Robrán, Azinfos metílico, Paraquat, Talstar, Dacthal, Promilo, Tamarón, Gramoxone, Thiodan, Bensulide, Prefar, Vydate, Cabrio.

Debido a las consecuencias que han ocasionado los plaguicidas sintéticos, la comunidad científica está en búsqueda de nuevas sustancias que presenten las actividades deseadas, beneficiando el sector agrícola pero mitigando los efectos secundarios.

4.3.4 Insecticidas naturales

Desde épocas tempranas del surgimiento y desarrollo del hombre, se tuvo la necesidad de combatir las plagas que afectaban sus cultivos y productos, con el uso

de sustancias capaces de eliminarlos. La llamada “era de los productos naturales” comprendió desde antes de nuestra era hasta mediados del siglo XIX, en donde se tienen evidencias en documentos escritos por Homero, del uso del azufre como sustancia purificadora para eliminar los hongos, el uso de flores de piretro como insecticida usado por el rey de Persia y los chinos utilizaron los arsenitos para el control de roedores y otras plagas (Del Puerto *et al.*, 2014).

El uso de extractos de plantas como insecticidas data de la época del imperio Romano. Sin embargo, solo a partir de los años 30 del siglo recién pasado se produjeron los avances más importantes en el uso de los insecticidas como nicotina (alcaloide derivado del tabaco), rotenona (flavonoide extraído de las raíces de *Derris elliptica*), cuasina (terpenoide extraído del árbol *quassia*) y piretrinas (esteres extraídos de las flores de *Chrysanthemum*) (Villalobos, 1996, & Rodríguez *et al* 2003).



Figura 23. Plantas con actividad insecticida (*Chrysanthemum coronarium*, *Quassia amara*, *Derris elliptica*, *Nicotiana tabacum*) (Lizana, 2005).

En los últimos años se está retornando en el estudio del uso de las plantas como fuente insecticida a partir de la necesidad por encontrar una nueva alternativa para el control de plagas y reemplazar así a los insecticidas sintéticos ofreciendo una eficiente opción agronómica.

La ventaja del empleo de estos nuevos insecticidas naturales son básicamente que el material es renovable biodegradable, no contaminante, es de bajo costo

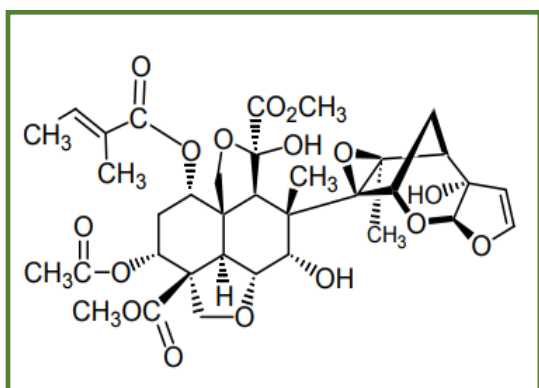
y riesgo a la salud humana, presentan menor efecto sobre organismos benéficos, es un material de alta disponibilidad al igual que mantiene el equilibrio de la fauna entomológica ya que los compuestos vegetales no persisten mucho tiempo en el medio y sus parámetros farmacocinéticos son poco tóxicos a organismos superiores, generando menos contaminación (Lizana, 2005).

Sin lugar a dudas los insecticidas naturales a partir de extractos vegetales constituyen una muy interesante alternativa de control de insectos además de que solo se han evaluado muy pocas plantas en relación a la fuente que ofrece el planeta por lo que las perspectivas futuras en cuanto a investigación, son aún mayores.

4.3.5 Acaricidas naturales

Un acaricida es una sustancia que se emplea para el control biológico de ácaros, estos son artrópodos diminutos de cuerpo ovalado en los que la cabeza, tórax y abdomen se encuentran fusionados en un cuerpo no segmentado.

Probablemente el acaricida más estudiado los últimos veinte años es un triterpenoide llamado azadiractina que es el principal constituyente del extracto y aceite de los productos derivados de las semillas del árbol de neem indio. Los



productos Neem están registrados en más de 40 países como productos para el combate de plagas tanto de tipo insecticida como acaricida, en esta actividad ha mostrado ser altamente tóxico en las distintas etapas de desarrollo del ácaro.

Figura 24. Azadiractina

Los monoterpenoides y sesquiterpenos presentan el antecedente de mostrar toxicidad aguda en insectos y ácaros, la bibliografía reporta que tanto extractos como aceites esenciales de una diversidad de plantas muestran actividad acaricida, frente a ácaros de importancia en el sector agrícola (Marcic *et al.*, 2011).

DESARROLLO EXPERIMENTAL



RECOLECCIÓN Y GENERACIÓN DE EXTRACTOS



RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

La parte aérea de las especies *Adenostoma fasciculatum* y *Eriophyllum confertiflorum* fueron recolectadas el 22 de marzo del 2017 en San Antonio de las minas, Ensenada Baja California con unas coordenadas de 31° 58' 5 N y 116° 37' 30 O, temperatura ambiente de 18 °C y a una altura de 330 metros sobre el nivel del mar; la especie *Chrysanthemum coronarium* fue recolectada cerca del mismo punto anterior a 31° 52' 46 N y 116° 40' 57 O, temperatura de 14°C y 10 metros sobre el nivel del mar.

Todas las especies fueron autenticadas por el Dr. José Delgadillo Rodríguez (Botánico).



Figura 25. Zona de recolección de las especies vegetales.

TRATAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL.

El material vegetal se dejó secar a temperatura ambiente durante un mes, pasado este tiempo se trituro con la finalidad de tener una mejor superficie de contacto con el disolvente. Este procedimiento fue realizado con las 3 especies.



Figura 26. Especies en proceso de secado.

GENERACIÓN DE EXTRACTOS

La generación de los extractos se llevó a cabo mediante un proceso de maceración hidroalcohólica, para las especies *A.fasciculatum* y *E.confertiflorum* se emplearon 100 g de material vegetal y 1.5 litros de disolvente (50% agua/ 50% metanol); para *C.coronarium* se emplearon 500 g de material vegetal y 6 litro de disolvente en la misma proporción.

Los extractos se concentraron a presión reducida utilizando un rotaevaporador Buchi R-210 y finalmente liofilizados.

Tabla 6. Pesos de extractos crudos de las especies vegetales

Especie vegetal	Extracto crudo (g)
<i>A.fasciculatum</i>	24.6
<i>E.confertiflorum</i>	19.6
<i>C.coronarium</i>	123.9



Figura 27. Maceración de una de las especies.

PARTICIÓN DEL EXTRACTO CRUDO DE *Chrysanthemum coronarium*

Para la generación de las particiones se pesaron 100 gramos de extracto seco de *C.coronarium* y se redisolvió en una disolución metanol/agua en proporción 2:3, subsecuentemente se realizaron extracciones con solventes de polaridad creciente dando como resultado 3 particiones: n- hexano, acetato de etilo e hidroalcoholico.

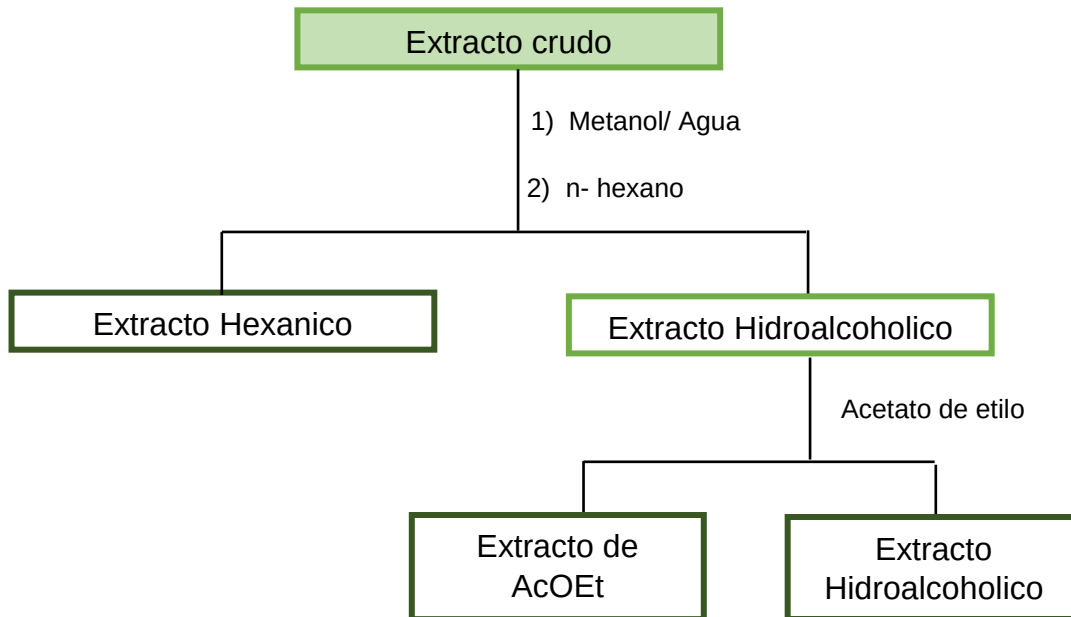


Diagrama 1. Generación de particiones

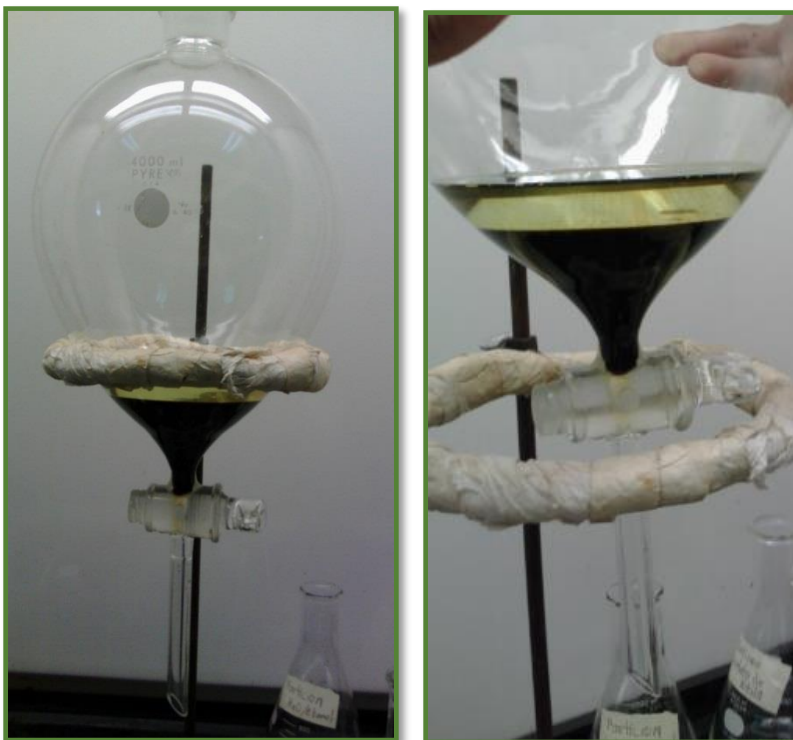


Figura 28. Separación de fracciones



Figura 29. Obtención de fracciones

TAMIZ FITOQUÍMICO



Existen algunos factores fundamentales para un investigador al momento de llevar a cabo la recolección de un material vegetal: estar seguro de que el material pertenece a determinada familia o género, que parte de la planta debe recolectar para garantizar una mayor abundancia del o los principios activos buscados, etc., como una medida de apoyo al momento de recolecciones en campo existen distintos ensayos cualitativos para identificación de metabolitos secundarios mayoritarios, dichos ensayos tienen la ventaja de ser pruebas químicas sencillas, sensibles, específicas y rápidas que no requieren de mucho equipo o gastos económicos elevados. Pueden ser clasificados de la siguiente manera:

1. **Histológicos:** basados en el comportamiento de los cortes de tejidos frente ciertos reactivos, formando precipitados.
2. **Químicos:** tratamiento de extractos con agentes cromógenos que generan precipitados, etc.
3. **Fisicoquímicos:** con el uso de cromatografía para la localización de bandas de absorción.
4. **Biológicos:** basado en el comportamiento de extractos frente a cultivos microbiológicos, órganos aislados, tejidos, etc.

El reconocimiento de los metabolitos secundarios por medio de ensayos fitoquímicos resulta conveniente para predeterminar o dar preferencia a las plantas con un mejor perfil. Estas pruebas químicas de caracterización consisten en una reacción química que produce alteración rápida en la estructura molecular del compuesto, ejemplo: la modificación de un grupo funcional, apertura de un sistema anular, formación de un complejo etc., dando por resultado una manifestación sensible como puede ser el cambio de color, la formación de precipitado o el desprendimiento de un gas. Generando indicios de la presencia de algún metabolito secundario específico.

Los extractos de *A.fasciculatum*, *E.confertiflorum* y *C.coronarium* fueron evaluados mediante el tamiz fitoquímico en la búsqueda preliminar de metabolitos secundarios

Tabla 7. Tamiz fitoquímico preliminar

Prueba	Método (s)
Alcaloides	Mayer Dragendorff Wagner
Taninos	Cloruro férrico Gelatina
Esteroides y triterpenoides	Lieberman- Burchard
Flavonoides	Shinoda
Carbohidratos	Benedict
Saponinas	Espuma
Glucósidos antraquinónicos	Borntrager
Cumarinas	Erlich

Alcaloides

El análisis fitoquímico preliminar para estos compuestos se basa en la capacidad que tienen los alcaloides en su estado de sal (extractos ácidos), para combinarse con yodo y metales pesados, formando precipitados con reactivos como el mercurio y yoduro de potasio (reactivo de Mayer) y el yoduro de potasio (reactivo de Dragendorff) (Coy *et al.*, 2014).

Mayer (+): precipitado color crema

Dragendorff (+): precipitado café- rojo

Wagner (+): precipitado café- rojo

Procedimiento

1. Preparar una solución a concentración de 1mg/ mL del extracto a evaluar en ácido clorhídrico al 5%.
2. Calentar a baño maría por 5 minutos y dividir la solución en 3.
3. Adicionar 8 gotas de reactivo correspondiente. Observar cambios.

Utilizar sulfato de quinina como control positivo para estas pruebas.

Taninos

Químicamente los taninos son polímeros de polifenoles con 1% a 2% de Hidroxilos fenólicos libres, estos compuestos precipitan en presencia de Cloruro Férrico y tienen la propiedad de unirse a las proteínas y precipitarlas.

Cloruro férrico (+): coloración verde, azul o negra

Gelatina (+): precipitado blanco

Procedimiento

1. Preparar una solución a concentración de 1mg/ mL del extracto crudo a evaluar en etanol.
2. Adicionar 8 gotas del reactivo de FeCl_3 y observar los cambios.

Utilizar ácido gálico como control positivo para estas pruebas.

Esteroides y triterpenoides

Estos constituyen sin duda un amplio grupo de metabolitos secundarios, para su análisis preliminar en plantas la prueba más comúnmente usada es la de Lieberman- Burchard, existiendo una reacción del colesterol con diferentes ácidos fuertes generando coloraciones verdes- azules.

Esteroides y triterpenoides (+): coloraciones azul- verde y violeta.

Procedimiento

1. Preparar una solución a concentración de 1mg/ mL del extracto a evaluar en etanol.
2. Adicionar 1 mL de anhídrido acético y mezclar ligeramente
3. Agregar 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado (lentamente) y observar los cambios.

Utilizar colesterol como control positivo para esta prueba.

Flavonoides

Los flavonoides son compuestos fenólicos en su mayoría pigmentos responsables de la coloración de numerosas flores y de frutas. El elemento estructural común de estos compuestos es el núcleo benzopirona. La prueba de Shinoda produce coloraciones rojizas dependiendo de la estructura del flavonoide cuando se produce la liberación de hidrógeno al reaccionar con magnesio metálico y HCl concentrado.

Flavonoides (+): tonalidades rojo

Procedimiento

1. Preparar una solución a concentración de 0.5mg/ mL del extracto a evaluar en etanol.
2. Adicionar limaduras de magnesio metálico y dejar reposar 5 minutos, una coloración naranja es indicativo de la presencia de flavonas, coloración rojo flavonoides y coloración magenta de flavononas.
3. En la misma solución anterior, adicionar 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado, dejar reposar unos minutos, coloración roja indica la presencia de auronas o chalconas.

Utilizar un extracto cítrico como control positivo para esta prueba.

Carbohidratos

Benedict es una reacción de oxidación que nos ayuda en el reconocimiento de azúcares reductores, es decir aquellos compuestos que presentan un OH anomérico libre, como por ejemplo la glucosa, lactosa, maltosa, celobiosa, etc., en la reacción de Benedict el Cu^{2+} que presenta un color azul (en solución) se reduce en medio alcalino para producir el ión cúprico el cual se observa como precipitado rojo ladrillo correspondiente al óxido cuproso (Cu_2O).

Procedimiento

1. Preparar una solución a concentración de 1mg/ mL del extracto a evaluar en etanol.
2. Agregar 8 gotas del reactivo de Benedict.
3. Colocar a baño maría entre 5-10 minutos y observar cambios.

Utilizar fructosa como control positivo para esta prueba.

Saponinas

Las saponinas son un grupo de glucósidos esteroidales o de triterpenoides que se disuelven en agua y disminuyen la tensión superficial de esta, formando una espuma abundante y relativamente estable.

Saponinas (+): espuma estable por lo menos 15 minutos

Procedimiento

1. Prepara una solución a concentración de 1mg/ mL del extracto a evaluar en etanol.
2. Adicionar de 1-2mL de agua destilada, agitar vigorosamente y observar los cambios.

Utilizar una saponina como control positivo para esta prueba.

Glucósidos antraquinónicos

Estos compuestos contienen una aglicona derivada de la antraquinona y son utilizados como laxantes, en el análisis fitoquímico preliminar se utiliza una solución de ácido clorhídrico acuoso diluido, el cual hidroliza los glucósidos antracénicos y oxida las antronas y antranoles hasta antraquinonas, se extrae con cloroformo y esta fase se pone en contacto con una solución ácida diluida, presentando una tonalidad rojo cereza.

Glucósidos antraquinónicos (+): anillo rosa-rojo en la superficie de la fase acuosa.

Procedimiento

1. Preparar una solución a concentración de 1mg/ mL del extracto a evaluar en etanol.
2. Adicionar 1 mL de ácido clorhídrico al 5%.
3. Adicionar 1 mL de cloroformo.
4. Agregar 4 gotas de hidróxido de amonio al 10% y observar cambios.

Utilizar ácido carminico como control positivo para esta prueba.

Cumarinas

Las cumarinas son una gran clase de lactonas de origen natural procedentes de la ruta del ácido shikímico y se caracterizan por contener un núcleo benzo -2- pirona. El reactivo de Erlich (*p*-dimetilamino benzaldehído) se utiliza para determinar la presencia de cumarinas, que aunado a con el ácido clorhídrico generan una coloración naranja.

Cumarinas (+): coloración naranja

Procedimiento

1. Preparar una solución a concentración de 1mg/ mL del extracto a evaluar en etanol.
2. Calentar la solución y posteriormente adicionar 2 gotas de reactivo de Erlich.
3. Agregar una gota de ácido clorhídrico y observar cambios.

EVALUACIÓN QUÍMICA Y BIOLÓGICA



EVALUACIÓN QUÍMICA (ANTIOXIDANTE) Y BIOLÓGICA DE TIPO ACARICIDA

La evaluación química de tipo antioxidante realizada a los diferentes extractos vegetales (ver diagrama 2) se llevó a cabo mediante las siguientes técnicas: decoloración oxidativa de β -caroteno, reducción del radical libre DPPH, reducción del catión-radical ABTS y determinación de polifenoles totales como prueba complementaria

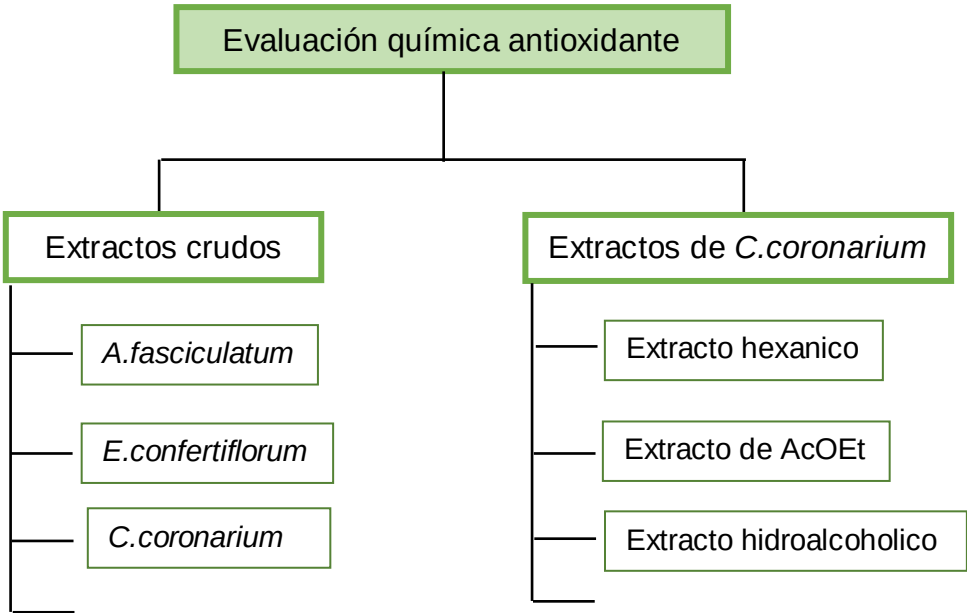


Diagrama 2. Extractos utilizados en la evaluación química antioxidante

Para la evaluación acaricida se realizaron las ventanas biológicas de los 3 extractos crudos frente al ácaro *Tetranychus urticae* (ver tabla 8).

Tabla 8. Extractos evaluados frente a *Tetranychus urticae*.

Evaluación biológica de la actividad de tipo acaricida
Extractos crudos de:
<i>A.fasciculatum</i>
<i>E.confertiflorum</i>
<i>C.coronarium</i>

Decoloración oxidativa del β -caroteno

La inhibición de la decoloración oxidativa β -caroteno es una metodología bien conocida para la evaluación de la capacidad antioxidante en productos naturales, ya que los carotenoides son extremadamente susceptibles a la oxidación por radicales libres. Esta técnica se basa en la medición espectrofotométrica de la decoloración de carotenoides (β -caroteno) causada por su interacción con radicales peroxilo producidos durante la oxidación del ácido linoléico. La reacción que tiene lugar es una adición del radical peroxilo al sistema poliénico de los carotenoides, produciendo un radical estabilizado por resonancia capaz de reaccionar con otros radicales, generando moléculas estables (etapa de terminación); de no ocurrir esto, el nuevo radical estabilizado añadirá oxígeno molecular en una etapa de propagación de una reacción en cadena, produciendo un radical caroteno-peroxilo. Si existen antioxidantes en la muestra a evaluar, los radicales reaccionaran con dichos compuestos en lugar de atacar al β -caroteno, evitando su decoloración; en consecuencia cuanto mayor sea la actividad antioxidante en la sustancia de interés, menor será la decoloración. (Chaillou *et al.*, 2006).

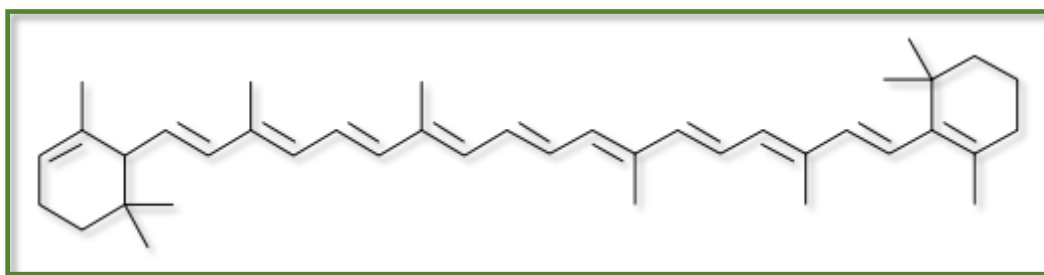


Figura 30. Estructura de β -caroteno

Procedimiento

1. Poner a burbujeo constante agua destilada durante un periodo no menor a 1 hora.
2. Preparar una disolución de carotenoides para ello: disolver 0.2 mg de β -caroteno en 1-2 mL de cloroformo y adicionar 25 μ L de ácido linoléico y 200 μ L de Tween 20, mezclar y guardar en oscuridad hasta la evaporación del disolvente.

3. Preparar una solución de muestra a evaluar a una concentración de 1 mg/mL.
4. Disolver la solución de β -caroteno (ya sin cloroformo) en 50 mL de agua destilada previamente en burbujeo para generar la emulsión.
5. Tomar 350 μ L de la solución de la muestra y adicionar 2.5 mL de la emulsión de β -caroteno.
6. Inmediatamente realizar una primera lectura de la muestra a tiempo cero (Am^0) a una longitud de onda de 470 nm. Medir la absorbancia de la emulsión sin muestra a tiempo cero (Ac^0).
7. Mantener las muestras en baño a una temperatura de 50°C durante 120 minutos.
8. Realizar una segunda lectura a las muestras a las 2 horas (Am^{120}) así como de la emulsión (Ac^{120}).
9. El ensayo es realizado por triplicado.

Las absorbancias obtenidas se promedian para realizar los cálculos correspondientes del porcentaje de actividad antioxidante mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Actividad antioxidante} = [1 - (Am^0 - Am^{120}) / (Ac^0 - Ac^{120})] \times 100$$

Dónde:

Am^0 = Promedio de las absorbancias de la muestra a tiempo cero.

Am^{120} = Promedio de las absorbancias de la muestra a tiempo 120 min.

Ac^0 = Promedio de las absorbancias de la emulsión tiempo cero.

Ac^{120} = Promedio de las absorbancias de la emulsión a tiempo 120 min.

Utilizar α -tocoferol como control positivo para este ensayo.

Reducción del radical libre DPPH

Uno de los procedimientos más aplicados por la comunidad científica para evaluar la actividad antioxidante es el método de DPPH. Este es un método espectrofotométrico en el que se utiliza el radical libre difenil picril hidrazilo (DPPH), el cual presenta una coloración violeta en solución y al ponerse en contacto con una sustancia que puede donar átomos de hidrogeno, capaz de estabilizarlo, el color violeta intenso decae a un color residual amarillo pálido del grupo picril aún presente, con la consecuente disminución de la absorbancia (Molyneux, 2004).

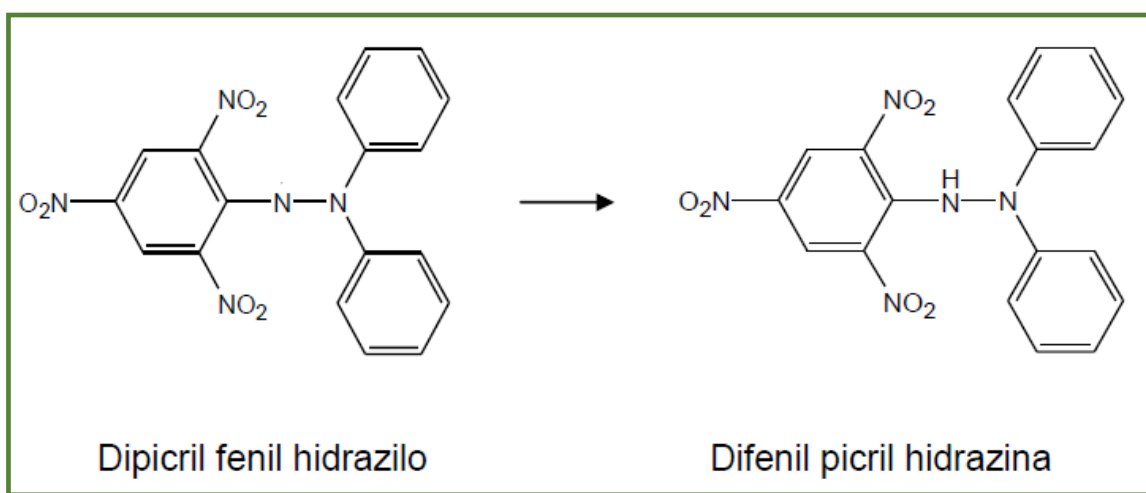


Figura 31. Reducción del radical libre DPPH

Procedimiento

1. Preparar una solución patrón de la muestra a evaluar a una concentración de 1mg/ mL.
2. A partir de la solución patrón, realizar 10 diluciones seriadas de la muestra por triplicado.
3. Preparar una solución 125 μ L del radical DPPH en metanol (7.5 mg/ 250 mL).
4. Añadir 500 μ L de solución de DPPH a todas las diluciones seriadas preparadas anteriormente.
5. Incubar durante 30 minutos en oscuridad.
6. Realizar la lectura de las muestras en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm; leer la absorbancia de la solución de DPPH sin muestra.

Realizar la lectura de las muestras en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm; leer la absorbancia de la solución de DPPH sin muestra.

Las absorbancias obtenidas se promedian para realizar los cálculos correspondientes del % de reducción del DPPH mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Actividad antioxidante} = [1 - (A_m/A_c)] \times 100$$

Dónde:

A_m = Absorbancia promedio de la muestra

A_c = Absorbancia de la muestra control (solución de DPPH)

Graficar los % de reducción del DPPH calculados contra la concentración para la obtención de la concentración efectiva media (CE_{50}).

Utilizar quercetina como control positivo para este ensayo.

Reducción del catión-radical ABTS

La generación del radical $ABTS^{\bullet+}$ (Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) constituye la base de uno de los métodos espectrométricos que han sido aplicados para medir la actividad antioxidante, tanto en muestras hidrosolubles como liposolubles eligiendo el disolvente apropiado en cada caso, esta técnica implica la producción directa del cromóforo $ABTS^{\bullet+}$ verde-azul a través de la reacción entre ABTS y persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$). La adición de antioxidantes al radical pre-formado conduce a la reducción, disminuyendo la coloración de esta manera el grado decoloración como porcentaje de inhibición del radical catiónico está determinado en función de la concentración y el tiempo (Tovar, 2013).

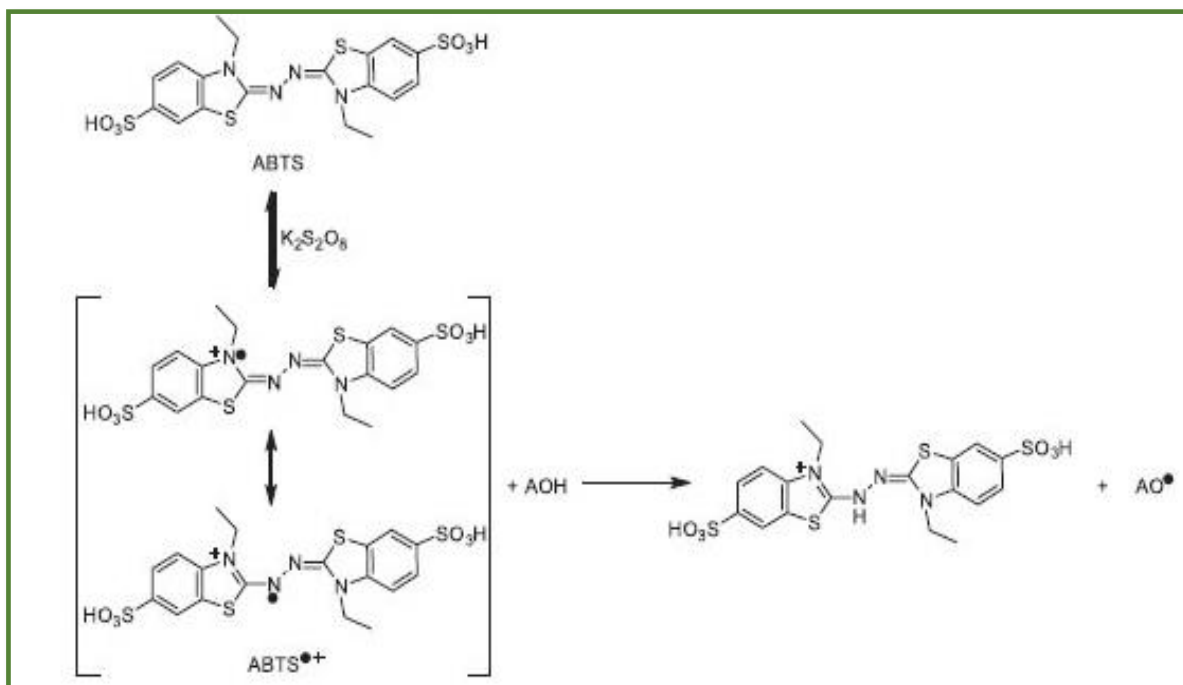


Figura 32. Oxidación de ABTS por persulfato de potasio

Procedimiento

1. Pesar 0.0033 g de persulfato de potasio y 0.0194 g de ABTS, disolverlos en 5 mL de agua desionizada, dejar reposar en oscuridad durante 18 horas.
2. Aproximadamente 30 minutos antes de cumplirse las 18 horas de incubación del radical, preparar la solución patrón de la muestra a evaluar en metanol a una concentración de 1 mg/ mL.
3. A partir de la solución patrón, realizar 10 diluciones seriadas de la muestra por triplicado.
4. Preparar la solución de ABTS, para ello se toman 150 μ L de la solución patrón de ABTS y se diluyen en 15 ml de metanol. Cubrir de la luz.
5. Mezclar 20 μ L de la solución de la muestra a evaluar con 980 μ L de la solución de ABTS.
6. Incubar durante 6 minutos en oscuridad.
7. Realizar la lectura de las muestras en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 734 nm; leer absorbancia de la solución de ABTS sin muestra.

Las absorbancias obtenidas se promedian para realizar los calculas correspondientes del % de reducción del catión–radical ABTS mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Actividad antioxidante} = [(Ac-Am/Ac)] \times 100$$

Dónde:

Am = Absorbancia promedio de la muestra

Ac = Absorbancia de la muestra control (solución de ABTS)

Graficar los % de reducción del catión- radical ABTS calculados contra la concentración para la obtención de la concentración efectiva media (CE₅₀).

Utilizar quercetina como control positivo para este ensayo.

Determinación de fenoles totales

El ensayo de Folin-Ciocalteu se utiliza como medida del contenido en compuestos fenólicos totales en productos vegetales. Esta técnica se basa en la capacidad de los compuestos fenólicos para reaccionar con el reactivo Folin a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente. El reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico estas 2 sales (en medio ácido) forman el ácido fosfomolibdotúngstico de color amarillo, el cual al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul, cuya intensidad es proporcional al contenido de polifenoles (García *et al.*, 2015).

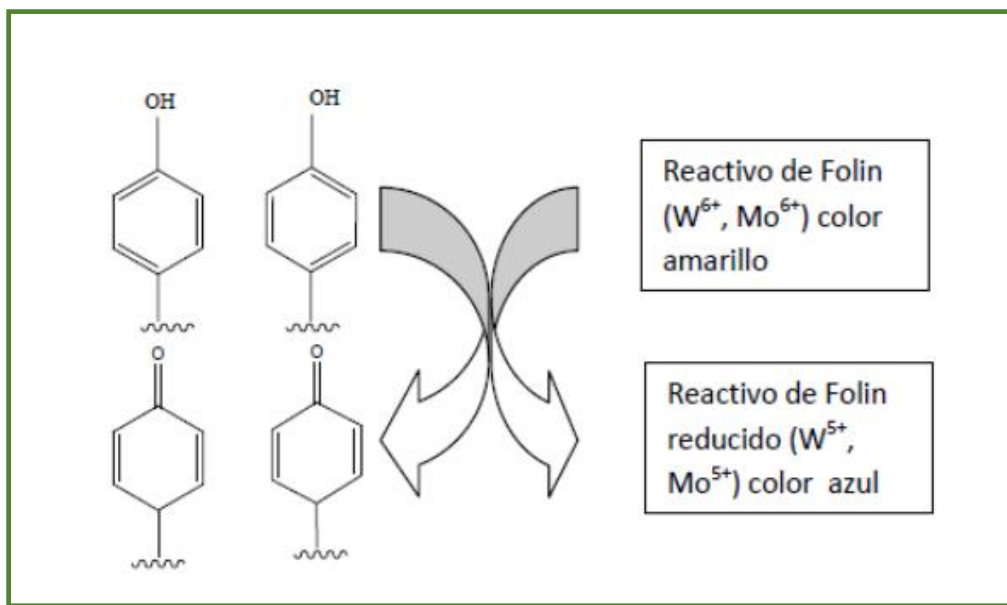


Figura 33. Mecanismo de acción del reactivo Folin-Ciocalteu

Procedimiento

1. Preparar una solución de la muestra a evaluar en etanol a una concentración de 1 mg/ mL. Esta técnica se realiza por triplicado
2. En un tubo de ensaye adicionar 3 mL de agua destilada, 0.1 mL de solución de la muestra a evaluar y 0.5 mL de reactivo Folin, dejar reposar durante 3 minutos.
3. Adicionar 2 mL de carbonato de sodio al 20%, agitar para homogenizar e incubar durante 1 hora en condiciones ambientales de luz y temperatura.
4. Leer absorbancias de las muestras en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 650 nm.

Determinar el contenido de polifenoles totales expresados como g EAG/100 g (Gramos equivalentes de Ácido Gálico por cada 100 gramos de extracto seco) mediante una curva de calibración con ácido gálico.

Evaluación de la actividad de tipo acaricida

Para las ventanas biológicas realizadas se utilizó como modelo a *Tetranychus urticae*, tomado del insectario perteneciente al laboratorio de Química Medicinal y Productos Naturales, de la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, UABC, donde se mantienen en plantas de frijol peruano (*Phaseolus vulgaris*). Los ensayos se realizarán por la técnica de “Inmersión de círculos de hoja” reportada por Cahill (1996) con algunas modificaciones.

Procedimiento

1. Preparar una solución patrón al 10% de la muestra a evaluar utilizando como solvente una solución de Tween 20 (al 10% en agua destilada).
2. Realizar diluciones seriadas a partir de la solución patrón (ver tabla 8).
3. Cortar los discos de hoja de frijol de tamaño correspondiente a la caja petri empleada.
4. Sumergir los discos de hojas en la disolución correspondiente y dejar secar a temperatura ambiente aproximadamente 20 minutos.
5. Se utilizan cajas petri de 35 mm previamente impregnados al igual que los discos de hoja con la disolución correspondiente.
6. Colocar los discos de hoja en cada caja petri correspondiente y depositar 20 ácaros adultos en cada caja con ayuda de un estereoscopio. Los ensayos fueron realizados por duplicado (dos repeticiones y 40 adultos por concentración).
7. Sellar las cajas y evaluar la mortalidad a las 24 horas, realizando un conteo de los ácaros muertos, considerando como muertos a todos aquellos que no muestran movimiento al tacto.

Tabla 9. Concentraciones utilizadas en las ventanas biológicas

Número de tubo	% Concentración
1	10%
2	5%
3	2.5%
4	1.25%
5	0.6%
6	0.3%
7	Control

Los valores obtenidos se promediaran para determinar el % de Mortalidad mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Mortalidad} = \frac{\text{Número de muertos} \times 100}{\text{Adultos tratados}}$$

Se utilizan la fórmula de Abbot (1925) para determinar el % de Mortalidad corregida:

$$\% \text{ Mortalidad corregida} = \frac{[(\% \text{ Mortalidad} - \% \text{ Mortalidad del control})] \times 100}{100 - \% \text{ Mortalidad control}}$$

DISCUSIÓN DE RESULTADOS



TAMIZ FITOQUÍMICO PRELIMINAR



Los resultados obtenidos de las pruebas fitoquímicas preliminares se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 10. Resultados del tamiz fitoquímico

Prueba	Método (s)	EAF	EEC	ECC
Alcaloides	Mayer Dragendorff Wagner	-	-	+
Taninos	Cloruro férico gelatina	+	+	+
Esteroides y triterpenoides	Lieberman - Burchard	+	-	-
Flavonoides	Shinoda	+	+	-
Carbohidratos	Benedict	+	+	+
Saponinas	Espuma	-	-	-
Glucósidos antraquinónicos	Borntrager	-	-	-
Cumarinas	Erlich	+	-	-

EAF: extracto de *A.fasciculatum*. EEC: extracto de *E.confertiflorum*. ECC: extracto de *C.coronarium*

De los tres extractos evaluados mediante las 8 pruebas para identificación de metabolitos secundarios, *A.fasciculatum* presentó un mayor número de pruebas positivas: taninos, esteroides y triterpenoides, flavonoides, carbohidratos y cumarinas. McPherson *et al.*, en 1971 reportaron la presencia de compuestos fenólicos como phloridzin, ácido cumárico, ácido ferúlico, ácido siríngico, umbeliferona, ácido vanílico, ácido p-hidroxibenzoico, hidroquinona y urbutina en el lixiviado de las hojas de *A. fasciculatum*, confirmando la abundancia de metabolitos de tipo taninos y cumarinas en esta planta. Por otra lado Proksch *et al.*, en el año de 1985 estudiaron el extracto clorofórmico de *A.fasciculatum* reportando la presencia de 2 flavonoides ya conocidos (galangina y pinocembrina) aislados por primera vez; en este mismo artículo reportan la presencia de triterpenoides pentacíclicos, reafirmando nuevamente los resultados obtenidos en este trabajo.

Eriophyllum confertiflorum arrojó la presencia mayoritaria de taninos, flavonoides y carbohidratos. En 1969 Torrance y col., así como en el año 1977 Kumpchan y col., aislaron por primera vez nuevas sesquiterpenolactonas de *E.confertiflorum*, sin embargo, al no ser metabolitos mayoritarios, un resultado negativo en la prueba de terpenos es esperado.

Respecto a *Chrysanthemum coronarium*, las pruebas realizadas mostraron resultados positivos para alcoholes, taninos y carbohidratos; la bibliografía reporta la presencia de alcaloides en diferentes especies del género Crisantemo como *Chrysanthemum morfolium* (Min Gui et al., 2014).

Los tres extractos resultaron positivos para taninos y carbohidratos, lo cual es congruente debido al hecho de que aproximadamente el 50% del peso seco de las hojas de una planta son taninos (Condori, 2017).

EVALUACIÓN ANTIOXIDANTE

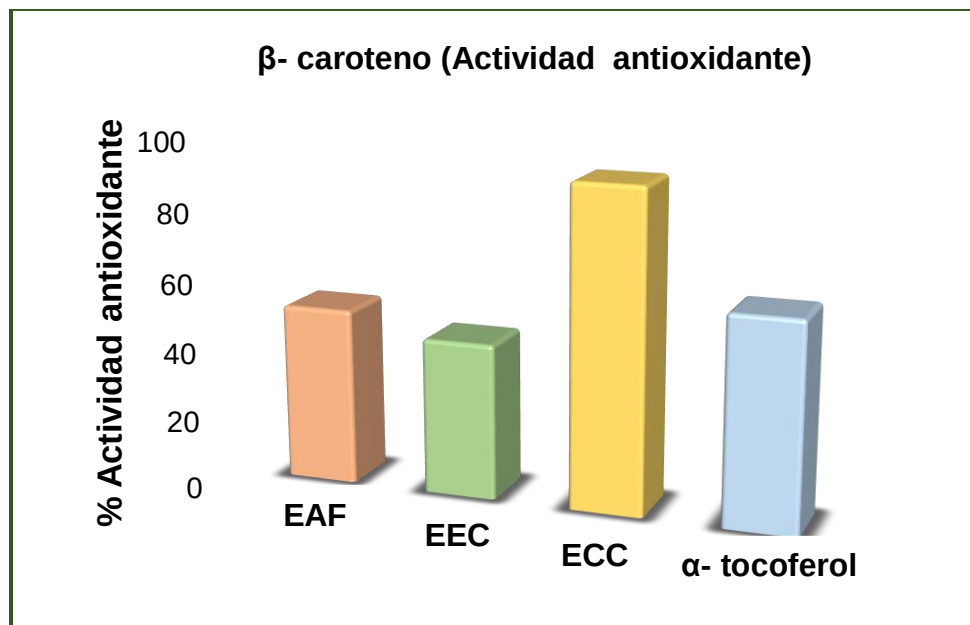


Resultados de la actividad antioxidante por la técnica de la decoloración oxidativa de β - caroteno

Tabla 11. Resultados de la actividad antioxidante por la técnica de β - caroteno de extractos crudos.

Extracto	%AA
EAF	51
EEC	45
ECC	92
Control	60

EAF: extracto de *A.fasciculatum*, EEC: extracto de *E.confertiflorum* ECC: extracto de *C.coronarium*, %AA: Actividad Antioxidante Control: α -tocoferol



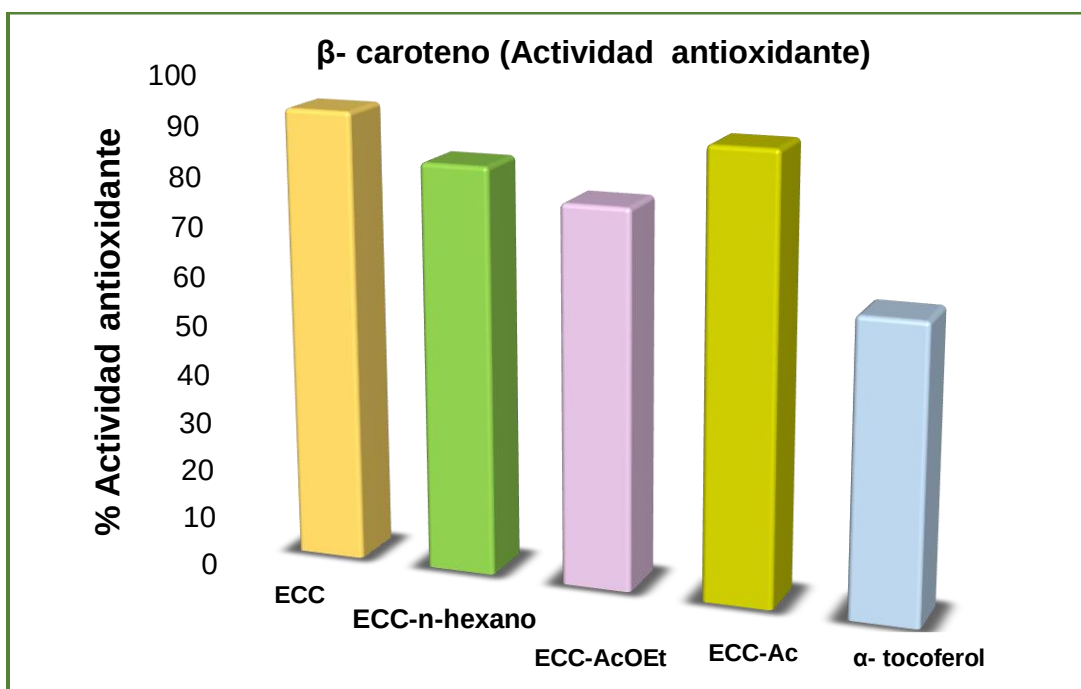
Gráfica 1. Resultados de la actividad antioxidante de extractos crudos

Los resultados obtenidos por el método de la decoloración oxidativa de β - caroteno mostraron una mayor actividad para el extracto ECC con un 92% en este experimento, superando así al control utilizado α -tocoferol que mostro un 60%. Los extractos restantes EAF y ECC presentaron un 51% y 45% respectivamente como inhibidores oxidativos.

Tabla 12. Resultados de la actividad antioxidante por la técnica de β - caroteno de las particiones del extracto de *C.coronarium* (ECC)

Extracto	%AA
ECC	92
ECC-n-hexano	83
ECC-AcOEt	77
ECC-Ac	90
Control	60

ECC: Extracto de *C.coronarium*, ECC-n-hexano: Extracto hexánico, ECC-AcOEt: Extracto de acetato de etilo, ECC-Ac: Extracto acuoso, %AA: Actividad Antioxidante Control: α -tocoferol



Gráfica 2. Resultados de la actividad antioxidante de las particiones de ECC por la técnica de β - caroteno

Los resultados de actividad antioxidante obtenidos por el método de decoloración oxidativa de β - caroteno para las diferentes particiones obtenidas del extracto crudo de *C.coronarium* ECC, mostraron que la partición ECC-Ac fue la más activa con un 90%, sin embargo, el ECC continuó mostrando un resultado mayor del 92%.

Los datos de estos experimentos antioxidantes presentan una coherencia con la naturaleza polar de la composición química que suelen identificarse en los extractos acuosos, principalmente taninos, compuestos fenólicos, azúcares y carbohidratos entre otros.

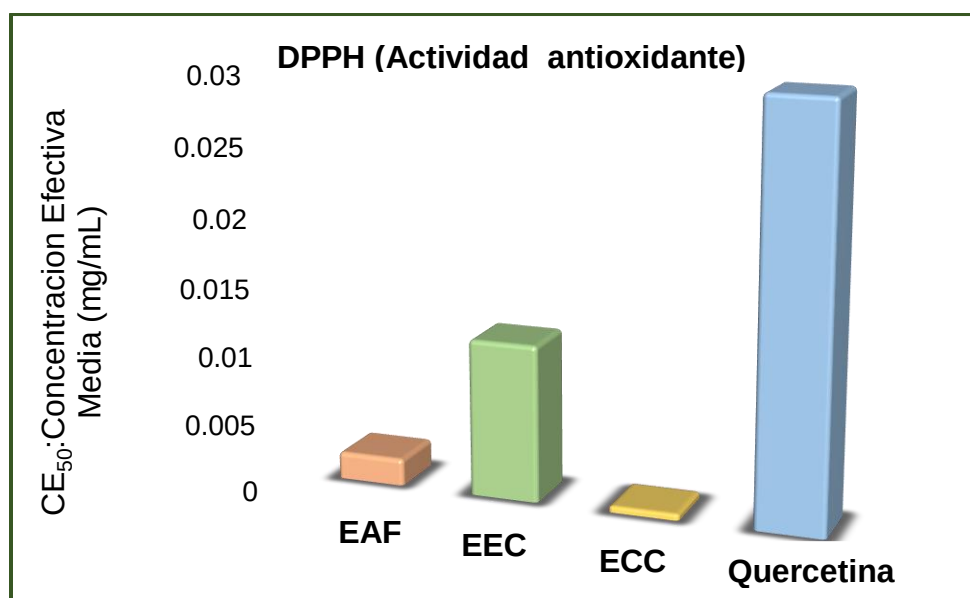
El resultado que arrojo este estudio con la partición de n-hexano (83%) y de acuerdo a numerosas investigaciones reportadas (Muñoz *et al.*, 2010), sugiere que algunos carotenoides y fitoesteres pueden ser los responsables de este efecto antioxidante.

Resultados de la actividad antioxidante por la técnica de reducción del radical libre de DPPH

Tabla 13. Resultados de la actividad antioxidante por el método de DPPH de extractos crudos

Extracto	CE ₅₀ (mg/mL)
EAF	2×10^{-3}
EEC	1.15×10^{-2}
ECC	4.79×10^{-4}
Control	3×10^{-2}

EAF: Extracto de *A.fasciculatum*, EEC: Extracto de *E.confertiflorum*, ECC: Extracto de *C.coronarium*, CE₅₀: Concentración efectiva media Control: Quercetina



Gráfica 3. Resultados de la actividad antioxidante de extractos crudos

Los resultados obtenidos por medio de la técnica de reducción de radical libre DPPH en extractos crudos, mostraron que el extracto ECC requirió 4.79×10^{-4} mg/mL para poder inhibir el 50% del radical DPPH. Cabe destacar que este extracto también fue más activo que el control Quercetina que presentó una concentración 3×10^{-2} mg/mL para inhibir el radical.

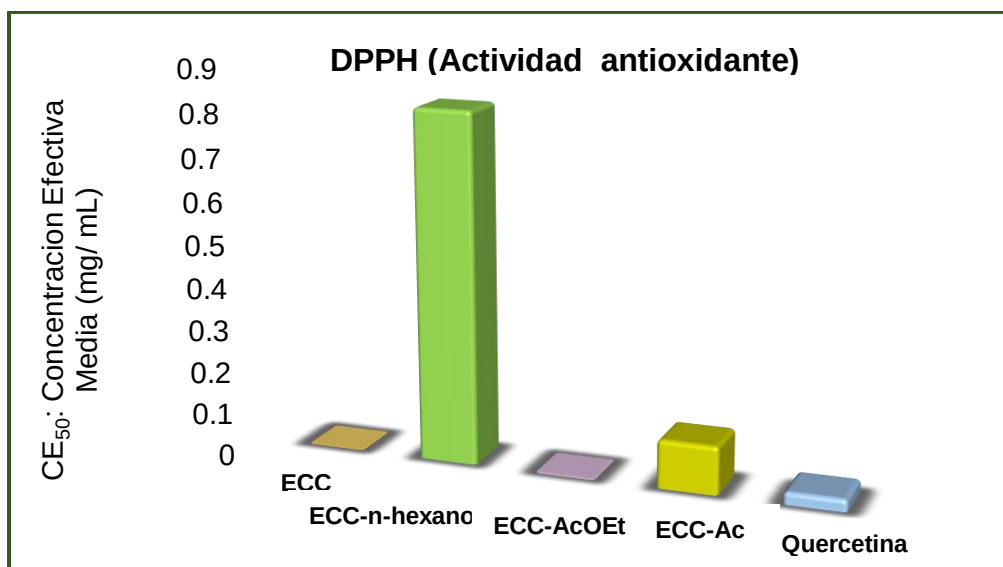
Es importante mencionar, que existe un estudio de la actividad antioxidante de un extracto crudo de *C.coronarium* por esta técnica (Abd, 2014), en donde se indica que uno de los extractos más activos reportado en este trabajo fue del 34%, mientras que en nuestro trabajo el mejor % de inhibición con esta planta fue de 78% a diferentes concentraciones.

Los extractos EAF y EEC mostraron una concentración efectiva media de 2×10^{-3} mg/ mL y 1.15×10^{-2} respectivamente. Este resultado también indica una mayor efectividad que el control utilizado quercetina.

Tabla 14. Resultados de la actividad antioxidante por el método de DPPH de las particiones de ECC

Extracto	CE ₅₀ (mg/mL)
ECC	4.79×10^{-4}
ECC-n-hexano	8.17×10^{-1}
ECC-AcOEt	2.20×10^{-3}
ECC-Ac	1.14×10^{-1}
Control	3×10^{-2}

ECC: extracto de *C.coronarium*, ECC- n-hexano: extracto hexánico, ECC-AcOEt: extracto de acetato de etilo, ECC- Ac: extracto acuoso, CE₅₀: Concentración efectiva media, Control: Quercetina



Gráfica 4. Resultados de la actividad antioxidante de las particiones de ECC por la técnica de DPPH

En algunos estudios reportados (Abd, 2014), se ha estudiado el extracto crudo y las particiones de *C.coronarium*, en donde se reporta la partición de ECC-AcOEt como la de mayor inhibición a este radical con un 49%, seguida del extracto crudo con 34% en sus concentraciones más altas.

Los resultados generados por el presente trabajo muestran que el extracto crudo mediante esta técnica presenta un mejor perfil antiradicalario que el reportado en la bibliografía, asimismo, el extracto de ECC-AcOEt presentó una CE₅₀ menor a la del control.

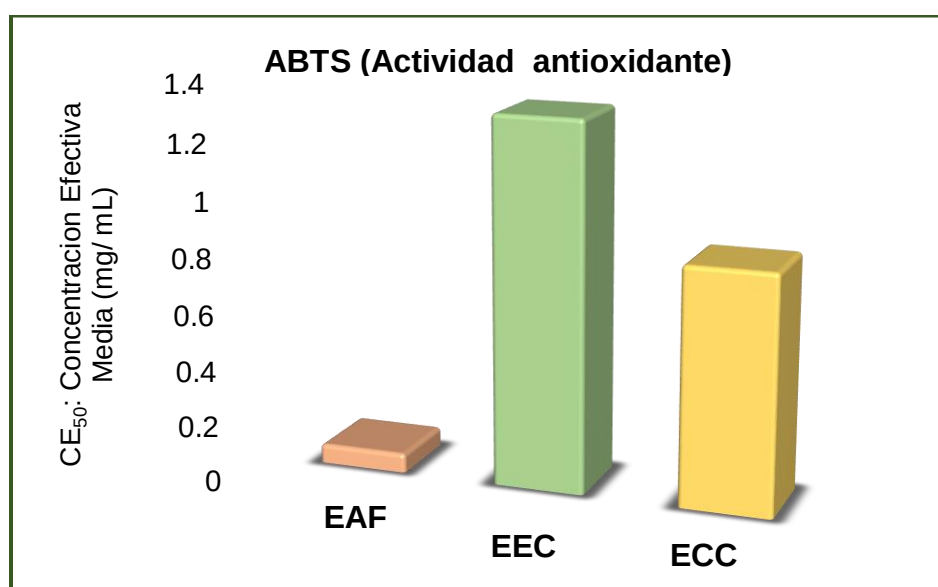
Estos resultados sugieren, que los componentes de ECC actúan de manera sinérgica para presentar esta actividad antioxidante, y de acuerdo a lo reportado en referencias bibliográficas (Sudheer *et al.*, 2015), los extractos de polaridad media como los de AcEOt, son los flavonoides y ciertos terpenos los posibles protagonistas en este efecto antioxidante.

Resultados de la actividad antioxidante por la técnica de reducción del catión-radical ABTS

Tabla 15. Resultados de la actividad antioxidante por el método de reducción del radical-catión ABTS de extractos crudos

Extracto	CE ₅₀ (mg/mL)
EAF	6.9×10^{-2}
EEC	1.305
ECC	8.43×10^{-1}

EAF: Extracto de *A.fasciculatum*, EEC: Extracto de *E.confertiflorum*, ECC: Extracto de *C.coronarium*, CE₅₀: Concentración efectiva media



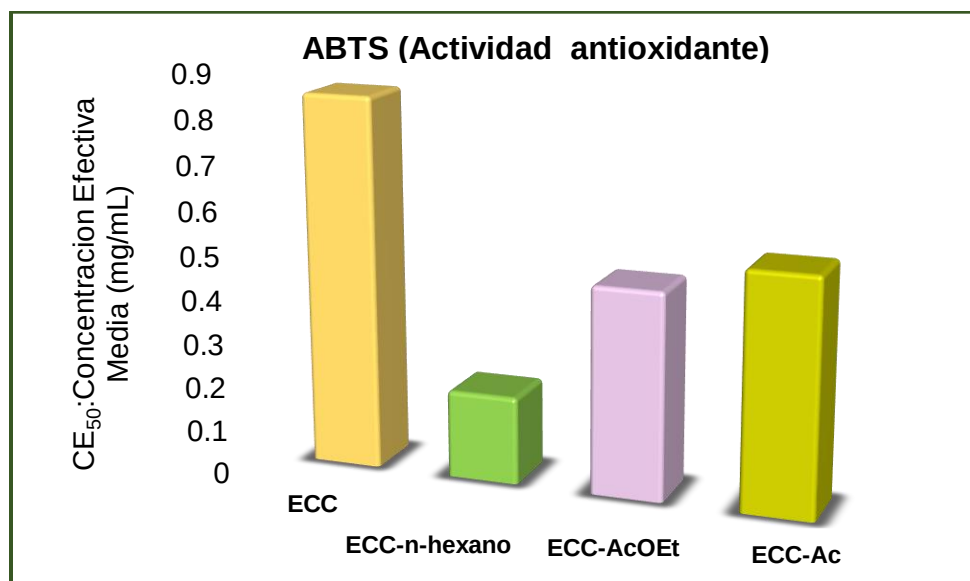
Gráfica 5. Resultados de la actividad antioxidante de los extractos crudos por la técnica de ABTS

Los resultados obtenidos de actividad antioxidante para los extractos crudos por el método de reducción del catión-radical ABTS, mostro que EAF requiere una concentración de 6.9×10^{-2} mg/mL para inhibir el 50% del radical ABTS, siendo el extracto más activo, ya que ECC y EEC requirieron una CE₅₀ de 8.4×10^{-1} mg/ mL y 1.305mg/mL respectivamente en estos experimentos.

Tabla 16. Resultados de la actividad antioxidante de las particiones del ECC por la técnica de ABTS

Extracto	CE ₅₀ (mg/mL)
ECC	8.34x10 ⁻¹
ECC-n-hexano	0.198
ECC-AcOEt	0.468
ECC-Ac	0.533

ECC: extracto de *C.coronarium*, ECC- n-hexano: extracto hexánico, ECC- AcOEt: extracto de acetato de etilo, ECC-Ac: extracto acuoso, CE₅₀: Concentración efectiva media



Gráfica 6. Resultados de la actividad antioxidante de las particiones de ECC por la técnica de ABTS

Los resultados por la técnica de ABTS mostraron una concentración efectiva media (CE₅₀) más baja para la partición de ECC-n-hexano (0.198 mg/ mL), seguida de la partición de acetato de etilo (ECC-AcOEt) con 0.468 mg/mL y 0.533 mg/mL para la partición acuosa (ECC-Ac).

ECC muestra una mayor concentración efectiva media más alta a las anteriores particiones, de 0.843 mg/ mL para la inhibición del 50% de este radical.

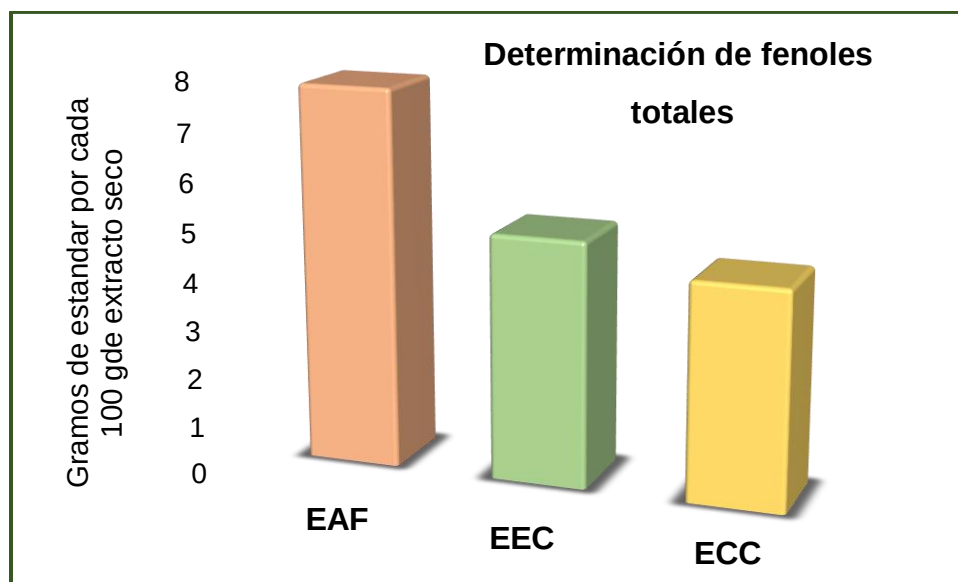
Cabe mencionar que la mayor parte de los métodos antioxidantes pueden evaluar solamente compuestos hidrosolubles, debido a la naturaleza hidrofílica de las especies reactivas y de los sustratos oxidables que se emplean, sin embargo algunas técnicas como la de reducción del ABTS, son de gran utilidad para poder analizar antioxidantes de tipo lipofílico.

Determinación de fenoles totales

Tabla 17. Resultados de la determinación de fenoles totales en extractos crudos

Extracto	g ag/100 ext
EAF	7.792
EEC	5.051
ECC	4.471

EAF: Extracto de *A.fasciculatum*, EEC: Extracto de *E.confertiflorum*, ECC: Extracto de *C.coronarium*, g ag/100 ext: Gramos de ácido gálico por cada 100 g de extracto seco



Gráfica 7. Resultados de la determinación de fenoles totales de extractos crudos

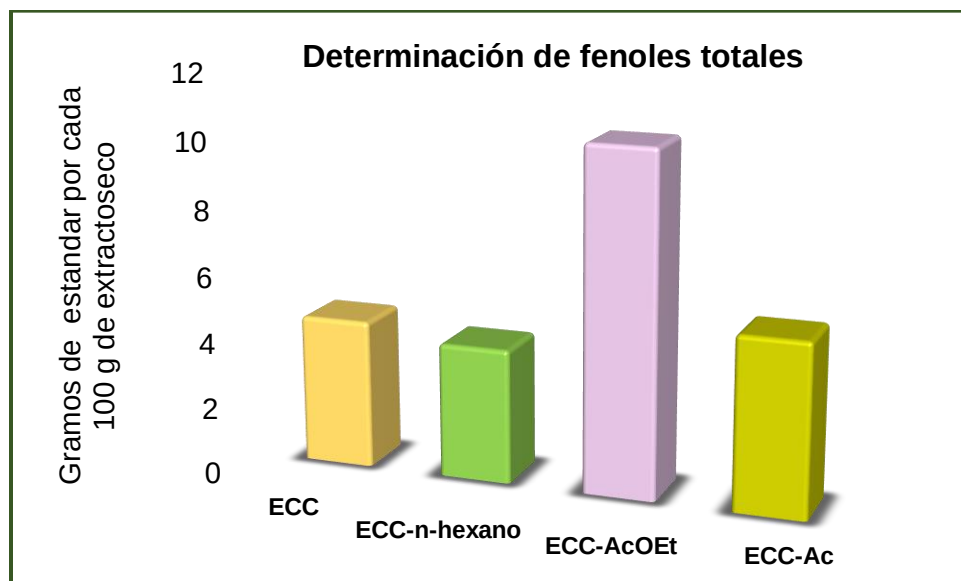
Estos resultados indican que EAF presenta 7.79 gramos de ácido gálico por cada 100 g de extracto seco. Cabe mencionar, que en la bibliografía se reporta (Chou *et al.*, 1971, Proksch *et al.*, 1980 & Proksch *et al.*, 1985) la presencia de una gran variedad de compuestos fenólicos en este tipo de extractos, por lo que existe una coherencia con los resultados obtenidos en este ensayo.

EEC arrojó un resultado de 5.051 g ag/100 g extracto seco, mientras que ECC fueron 4.471 g ag/100 g de extracto seco, observándose una ligera menor concentración de estos productos naturales.

Tabla 18. Resultados de la determinación de fenoles totales de las particiones del ECC

Extracto	g ag/100 ext
ECC	4.471
ECC-n-hexano	4.055
ECC-AcOEt	10.289
ECC-Ac	5.214

ECC: extracto de *C.coronarium*, ECC -n-hexano: extracto hexánico, ECC-AcOEt: extracto de acetato de etilo, ECC-Ac: extracto acuoso, g ag/100 ext: Gramos de ácido gálico por cada 100 g de extracto seco



Gráfica 8. Resultados de la determinación de fenoles totales de las particiones de ECC

En este experimento se muestra una notoria cantidad de compuestos polifenólicos para la partición de ECC-AcOEt con 10.289 g ag/100g de extracto seco, resultado atribuible a la gran cantidad de flavonoides que presenta la especie *C. coronarium* (Raheim *et al.*, & 2014, Sudheer *et al.*, 2015) y que pudieran estar en abundancia en la partición de polaridad media.

La partición acuosa muestra en promedio la mitad de estos compuestos (5.0214 g ag/100g de extracto seco) en relación al extracto de AcOEt

ECC presento 4.471 g ag/100g de extracto seco, cantidad aproximada a la partición acuosa y la partición de n-hexano mostró la menor cantidad con un 4.055 g ag/100g.

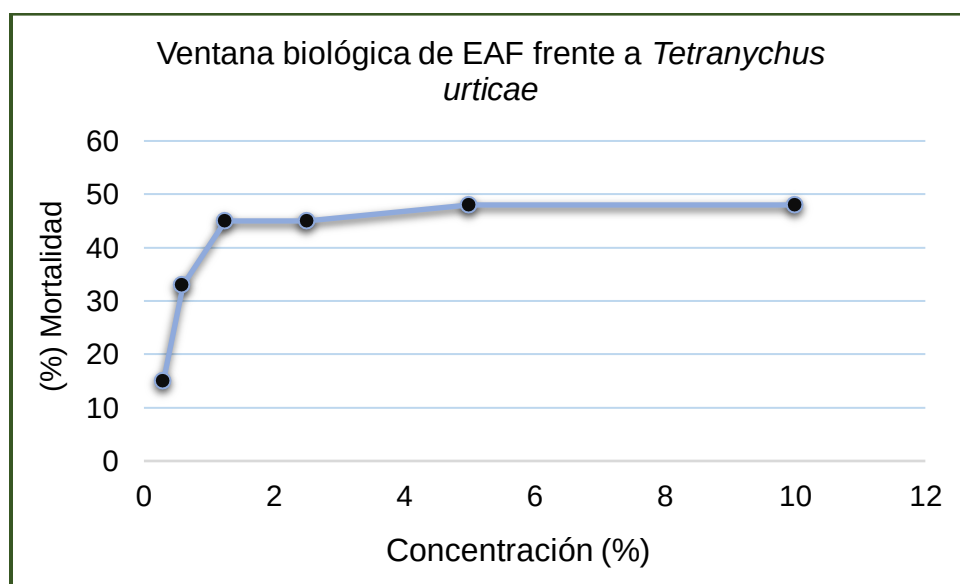
EVALUACIÓN DE TIPO ACARICIDA



Resultados de la actividad acaricida

Tabla 19. Resultados del % de mortalidad del extracto crudo de *A.fasciculatum*

Concentración	% mortalidad
10%	48%
5%	48%
2.5%	45%
1.25%	45%
0.6%	33%
0.3%	15%



Gráfica 9. Resultados del % de mortalidad del extracto crudo de *A.fasciculatum* (EAF)

Tabla 20. Resultados del % de mortalidad del extracto crudo de *E.confertiflorum*

Concentración	% mortalidad
10%	70%
5%	60%
2.5%	55%
1.25%	43%
0.6%	38%
0.3%	23%

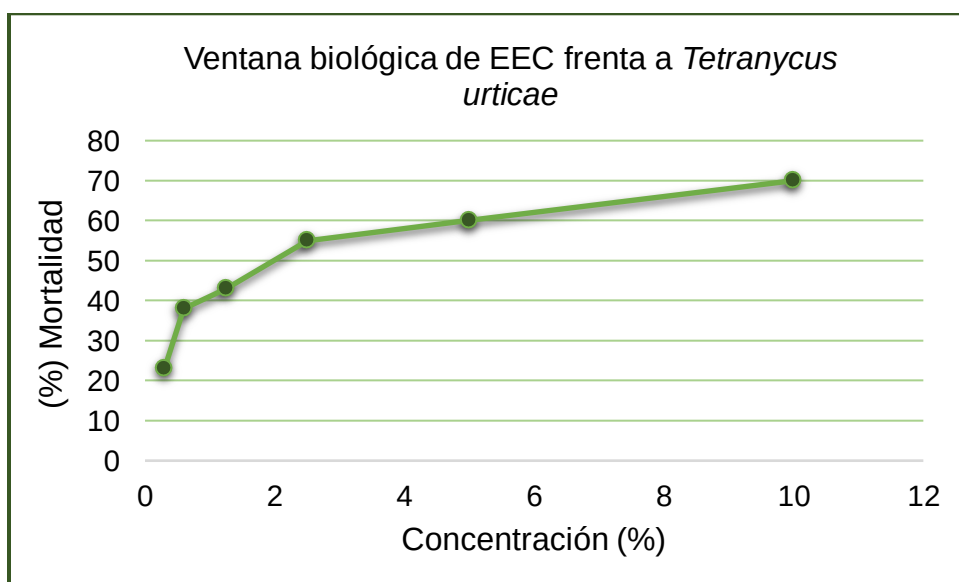
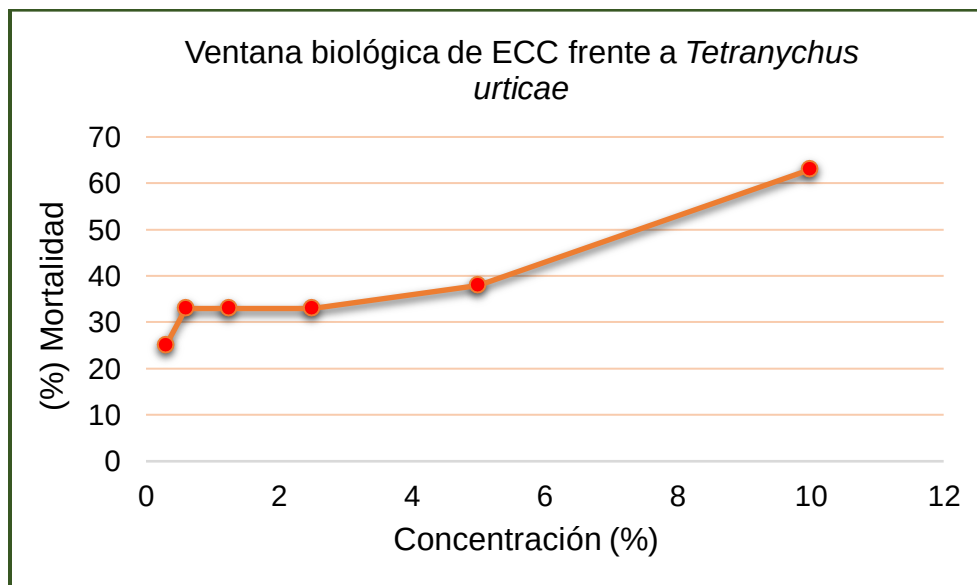
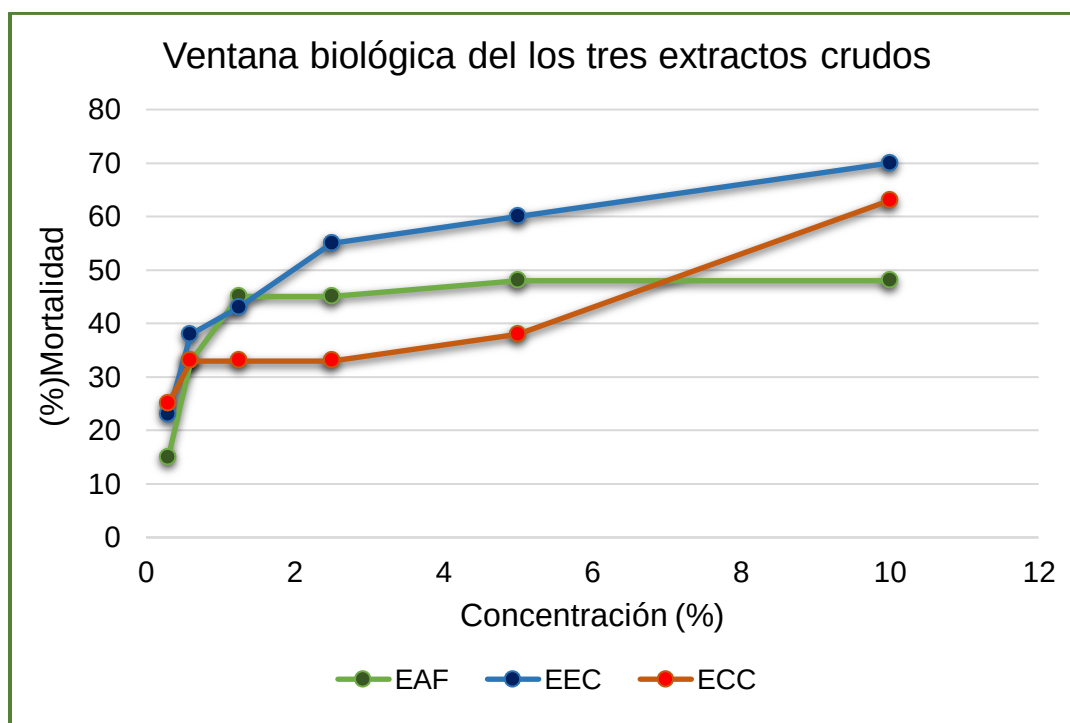
**Gráfica 10.** Resultados del % de mortalidad del extracto crudo de *E.confertiflorum* (EEC)

Tabla 21. Resultados del % de mortalidad del extracto crudo de *C.coronarium*

Concentración	% mortalidad
10%	63%
5%	38%
2.5%	33%
1.25%	33%
0.6%	33%
0.3%	25%



Gráfica 11. Resultados del % de mortalidad del extracto crudo de *C.coronarium* (ECC)



EAF: extracto de *A.fasciculatum*, EEC: extracto de *E.confertiflorum*, ECC: extracto de *C.coronarium*

Gráfica 12. Resultados del % de mortalidad de los tres extractos crudos

Los resultados obtenidos de actividad acaricida frente al ácaro *Tetranychus urticae*, muestran que el EEC fue el extracto que obtuvo un mayor porcentaje de mortalidad de un 70% a una concentración de 10%. Cabe mencionar que en la bibliografía se reporta que los extractos de esta especie (Torrance *et al.*, 1969), se han identificado en abundancia lactonas sesquiterpénicas, a estos compuestos presentes en las plantas de la familia Asteraceae, se les atribuyen actividades importantes de tipo insecticida e inclusive los sesquiterpenos han sido descritos por presentar actividad acaricida frente a garrapatas (González *et al.*, 2014), lo cual explicaría el potencial acaricida que presentó en los experimentos de nuestro estudio.

Otro dato importante en este trabajo es el resultado del extracto de *C.coronarium* (ECC) que mostró un 63% de mortalidad a una concentración de 10%. Una vez más hacemos énfasis en que la especie es muy conocida por presentar actividad insecticida por la presencia de lactonas sesquiterpénicas, compuestos fenólicos y

piretrinas, siendo responsables de dicha actividad. También se menciona que la especie si podría presentar un efecto acaricida frente a *Tetranychus urticae* debido a la naturaleza de sus biomoléculas (Santos *et al.*, 2015).

Por último, EAF fue el que presentó un menor porcentaje de mortalidad mostrando con un 48% a una concentración de 10% frente al ácaro.

Hasta el momento no hay reportes bibliográficos que registren la presencia de actividad acaricida de las tres especies en este estudio, pero no descartamos que puedan presentar este perfil por los reportes y antecedentes ya mencionados.

ANÁLISIS PRELIMINAR DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE *Chrysanthemum coronarium*



Composición Química

En la caracterización química del extracto de *Chrysanthemum coronarium* utilizando un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (GC/MS), preliminarmente se lograron identificar doce compuestos.

Es importante establecer que el porcentaje de abundancia de estos productos es muy bajo, por lo que tenemos que continuar con la identificación y separación cromatográfica convencional y su caracterización estructural por espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear de protón y C-13.

Tabla 20. Composición química preliminar del extracto de *Chrysanthemum coronarium*

Núm.	Compuesto	TR	% de abundancia
1	4,5-dimetil-2-pentadecil-1,3- dioxolano	11.237	3.529
2	Fenol	11.559	10.036
3	5-metil, 2-heptanamina	16.380	1.503
4	Maltol	17.247	1.165
5	Resorcinol	20.761	1.848
6	Hidroquinona	22.949	2.317
7	Eugenol	23.737	3.592
8	Azuleno,7-etil-1,4-dimetil	30.260	3.288
9	Ester etil de ácido linoleico	33.393	7.699
10	Biciclo [10.1.0] tridec-1-eno	33.393	7.699
11	Santolina trieno	33.498	12.348
12	Isocitronellol	43.608	3.042

TR: tiempo de retención

De los compuestos identificados en este extracto, santolina trieno fue el metabolito que es el compuesto que presento un mayor porcentaje de abundancia con un 12.34%. La bibliografía lo reporta como parte de la composición química del aceite esencial de *Chrysanthemum coronarium*. Otro compuesto también fue Eugenol (3.59%) presente en el aceite de la especie (Twaha *et al.*, 2010).

Por otro lado el metabolito conocido como azuleno, 7-etil-1,4-dimetil o camazuleno y responsable de la coloración azulada del aceite esencial fue identificado en este análisis con un 3.28% de abundancia.

CONCLUSIONES



1. Los estudios de la actividad antioxidante de los extractos crudos de *C.coronarium* mediante la técnica de la decoloración oxidativa de β -caroteno, muestran que el extracto (ECC) es el más eficiente con un 92% de esta acción inhibitoria oxidativa, superando al control α -tocoferol que presentó 60% y a sus particiones.
2. Los experimentos de la técnica de reducción del radical libre DPPH para los extractos crudos de las especies vegetales estudiadas, muestran que el extracto de *C.coronarium* (ECC) fue el más activo con una CE_{50} de 4.79×10^{-4} mg/mL. Este resultado también predomina sobre los obtenidos de las particiones de este extracto.
3. El resultado obtenido de la evaluación antioxidante por la método de la reducción del catión radical ABTS para los extractos crudos, comprueban que el extracto de *A.fasciculatum* (EAF) fué el de mayor eficacia con una CE_{50} de 6.9×10^{-2} mg/mL.
4. El análisis de las particiones de *C.coronarium* por el método reductivo del radical catiónico ABTS, establece que la partición hexánica presenta mayor actividad con una CE_{50} de 0.198 mg/mL.
5. En la determinación de fenoles totales de los extractos crudos, se muestra que el extracto de *A.fasciculatum* (EAF) arrojó una mayor concentración de estos componentes con 7.792 gramos de ácido gálico por cada 100 g de extracto seco.
6. El análisis de las particiones del extracto de *C.coronarium* en la determinación de fenoles totales, muestra que la partición de AcOEt fue la que presentó una mayor cantidad de estos productos de 10.289 g ag/100 ext.
7. Los resultados de la evaluación de inhibición oxidativa por los tres métodos utilizados en este estudio, muestran que los extractos crudos son más eficientes que sus respectivas particiones. Este comportamiento sugiere que

la acción antioxidante de los componentes que forman los extractos es sinérgica.

8. En la evaluación de la actividad acaricida para los extractos crudos en este estudio, se pudo establecer que el extracto de *E.confertiflorum* (EEC) presentó un mayor porcentaje de mortalidad frente a *Tetranychus urticae*.

BIBLIOGRAFÍA



1. Abd El Raheim, M. (2014). Biological activity of *Chrysanthemum coronarium* L. extracts. Annual Research & Review in Biology, 4, pp-2617-2627.
2. Abrams, L., & Ferris, S. (1960). Bignonias to Sunflowers. Illustrated Flora of the Pacific States, 4, p.732.
3. Ada, M., & Chiba, K. (1994). Novel plant growth and insect antifeedant from *Chrysanthemum coronarium* (Japanese name shungiku). Agricultural and Biological Chemistry, 48, pp. 1367-1369.
4. Albert, L. (2005). Panorama de los plaguicidas en México. Revista de toxicología en línea (RETEL).URL: <http://www.sertox.com.ar/retel/default.htm>
5. Álvarez-Castellanos, P., Bishop, C., & Pascual, M. (2001). Antifungal activity of the essential oil of flowerheads of garland Chrysanthemum (*Chrysanthemum coronarium*) against agricultural pathogens. Phytochemistry, 57, pp.99-102.
6. Anderson, R., & Rakel, D. (2009). Prescripción de antioxidantes. En Medicina Integrativa. (pp.1063-1075). Wisconsin, Estados Unidos: Elsevier Masson.
7. Apak, R., Guclu, K., Demirata, B., Ozyurek, M., Celik, S., Bektasoglu B, Isil Berker, K., & Ozyurt, D. (2007). Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assay to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. Molecules, 12, pp. 1496-1547.
8. Bar-Eyal, M., Sharon, E., & Sipiegal, E. (2006). Actividad nematocida de *Chrysanthemum coronarium*. Revista Europea de Fitopatologia, 114, pp.427-433
9. Basta, A., Pavlovi, M., Couladis, M., & Tzakou, O. (2007). Essential oil composition of the flowerheads of *Chrysanthemum coronarium* L. from Greece. Flavour Frag. J, 22, pp.197-200.
10. Bhattacharya, A., Connor, W., & Spector, A. (1972). Excreción de esteroides de la piel de humanos normales e hipercolesterolémicos, implicaciones para los estudios de equilibrio de esterol. Revista J Clin Invest, 51, pp.2060-2070.
11. Bouttemy, A., Ruiter, O., Fiho, F., Adams, J., & Williams, T. (2014). *Adenostoma fasciculatum*, California Chamizo: química y uso en condiciones en la piel. Integral Medicina Internacional, 1, pp.25-31.
12. Carrasco, A., Cardona, V., Espinoza, C., & Gallardo, C. (2005). Síntesis de probables antioxidantes naturales derivados de Eugenol. Revista Cubana de Química, 3, pp.209-214.
13. Casida, J. (1980). Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. Environmental Health Perspectives, 34, pp.189-202.
14. Chaillou, L., & Nazareno, M. (2006). New method to determine antioxidant activity of polyphenols. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, pp.8397-8402.
15. Charters, M. (2005). California plant Names. Calflora.net. URL: <http://www.calflora.net/botanicalnames/index.html>

16. Checchini, T., & Ticli, B. (2016). El libro de las hierbas medicinales. Irlanda: Vecchi.
17. Choi, J., Lee, H., Kim, k., Shim, N., Song, M., Baek, N., & Kim, S. (2007). Identificación de campesterol de *Chrysanthemum coronarium* L. y sus actividades antiangiogénicas. *Phytotherapy*, 21, pp.954-959.
18. Condori, R. (2017). Curtición vegetal de piel de alpaca (*Vicugna pacos* Wedd) con extracto tanico de tola (*Parastrephia lepidophylla*) y sábila (*Aloe vera*), (Tesis de Licenciatura), Universidad Nacional Altiplano.
19. Chou, C., & Mueller, C. (1971). Constituyentes alelopáticos del arbusto de chaparral *Adenostoma fasciculatum*. *Phytochemistry*, 10, pp.2925-2933.
20. Chuda, Y., Ono, H., Kameyama, M., Nagata, T., & Tsushida, T. (1996). Identificación Estructural de dos derivados de Ácido Quínico antioxidante de Garland (*Chrysanthemum coronarium* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, pp.2037-2039.
21. Chuda, Y., Suzuki, M., Nagata, T., & Tsushida, T. (1998). Contenido y pérdida de cocción de tres derivados de ácido quinínicos de Garland (*Chrysanthemum coronarium* L.) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, pp.1437-1439.
22. Cosme, I. (2008). El uso de plantas medicinales. *Intercultural*, pp.23-24
23. Conrad, C. (1987). Arbustos comunes del chaparral y ecosistemas asociados del sur de California. Informe Técnico General estación experimental y de Suroeste del Pacífico USDA, 99, p.86.
24. Corrales, L., Muñoz, M. (2012). Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova-Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*, 10, pp.135-250.
25. Coronado, M., Vega, S., Gutierrez, L., Vasquez, M., & Radilla, C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de nutrición*, 42, pp.206-212.
26. 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 Elemento*, 4, pp.31-40.
27. Cronquist, A. (1980). Asteraceae, Vascular flora of the southeastern united states. The University of North Carolina Press, Chapel Hill, North Carolina.
28. Cuñat, P., Primo, E., Sanz, I., Garcera, M., March, M., Bowers, S., & Martínez, R. (1990). Biocidal activity of some spanish mediterranean plants. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 38, pp.497-500.
29. David, R., Totman, L., Moyer, C., O'Donoghue J. (1998). Falta de nefrotoxicidad y proliferación de células renales después de la aplicación dérmica subcrónica de la crema de hidroquinona. *Food Chem Toxicol*, 36, pp.609-616.

30. Delgadillo, J., & Macias, M. (2002). Componente florístico del desierto de San Felipe, Baja California, México. Boletín de la Sociedad Botánica de México, 70, pp-45-65.
31. Delgado, M. (2016). Perspectiva actual de los flavonoides en México. Revista Entretextos, 21, pp.1-12.
32. Delgado, O., Betanzos, G., & Sumaya, M. (2010). Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. Redalyc, Investigación y ciencia, 50, pp.10-15.
33. Del Puerto, A., Suarez, S., & Palacios, D. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. Revista cubana, Hig Epidemiol, 52, pp.372-387.
34. De la Paz S, Fernández, A., Martín, M., & García, M. (2012). Los esteroides aislados del aceite de onagra modulan la liberación de mediadores proinflamatorios. Phytomedicine, 19, pp.1072-1076.
35. Del Tio, R. (1996). Estudios biológicos y modelos de predicción para el control integrado de Lobesia botrana Denis y Schiffermüller (*Lepidoptera tortricidae*) en el marco de Jerez. (Tesis Doctoral). Universidad de Sevilla.
36. Diaz, G., Escobar, W., & Pizarro, E. (2013). Estrés oxidativo cuando el equilibrio se pierde. Revista Motricidad y Persona, 13, pp.45-60.
37. Dillon, M. (1981). Family Compositae: Part II- Tribe Anthemideae, flora of Peru. Fieldiana Botany, New Series 7, pp.1-21.
38. Ding, Y., Liang, C., Kim, J., Lee, Y., Hyun, J., Kang, H., Kim, J., Min, B., & Kim, Y. (2010). Compuestos de triterpeno aislados de *Acer mandshuricum* y su actividad antiinflamatoria. Bioorg Med Chem Lett, 20, pp.1528-1531.
39. Dorman, H., & Hultunen, R. (2004). Fe (III) reductive and free radical scavenging properties of summer savory (*Satureja hortensis* L.) Extract and subfractions. Food Chemistry, 88, pp-193-199.
40. Escamilla, B., & Moreno, P. (2015). Plantas medicinales de la Matamba y el Piñonal, municipio de Jamapa, Veracruz. México: Instituto de Ecología A.C. (INECOL).
41. Ewan, C., & Linus, P. (1978). Suplemental ascorbate in the supportive treatment of cancer: reevaluation of prolongation of survival times in terminal human cancer. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 75, pp.4538-4542.
42. Flamini, G., Cioni, P., & Morelli, I. (2003). Diferencias en las fragancias de polen, hojas y partes florales de la guirnalda (*Chrysanthemum coronarium*) y composición del aceite esencial de las flores y las hojas. Journal of Agriculture and Food Chemistry 51, pp .2267- 2271.
43. Franz, V. (1997). Manual de práctica farmacéutica de Hager, Springer-Verlag.
44. Gaertner, M., Müller, L., Roos, J., Cani, G., Santos, A., Niero, R., Calixto, J., Yunes, R., Delle, F., Cechinel-Filho, V. (1999). Triterpenos analgésicos de las raíces *Sebastiania schottiana*. Fitomedicina, 6, pp.41-44.

45. Garcia, E., Fernandez, I., & Fuente, A. (2015). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin Ciocalteu, Universidad Politécnica de Valencia.
46. González, A., Reina, M., & Olmeda, A. (2014). Uso de sesquiterpenos eremofilanos como garrapaticidas. Oficina Española de patentes.
47. Guole, M. (2012). Manejo Integrado de la plaga *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) en cultivos de frutilla del Cinturón Hortícola Platense. (Tesis Doctoral), Universidad Nacional de la plata.
48. Hagvall, L., Karlberg, A., & Christensson, J. (2012). Alergia de contacto al geraniol expuesto al aire: observaciones clínicas e informe de 14 casos. *Revista Dermatitis de contacto*, 67, pp.20-27.
49. Hebeda, C., Pinedo, F., Bolonheis, S., Ferreira, Z., Muscara, M., Teixeira, S., & Farsky, S. (2012). Mecanismos intracelulares de toxicidad de hidroquinona sobre los neutrófilos activados por endotoxina. *Arch Toxicol*, 86, pp.1773-1781.
50. Hosni, K., Hassen, I., Sebei, H., & Casabianca, H. (2013). Secondary metabolites from *Chrysanthemum coronarium* (Garland) flowerheads: Chemical composition and biological activities. *Industrial crops and products*, 44, pp.263-271.
51. Jones, W. (2013). *Adenostoma*. Jepson e Flora (ed. por Jepson Flora Project). URL:http://ucjeps.berkeley.edu/cgi-bin/get_IJM.pl?tid=53568
52. Kim, E., & Park, I. (2012). Actividad antifúngica fumigante de los aceites esenciales de *Myrtaceae* y componentes de *Leptospermum petersonii* contra tres especies de *Aspergillus*. *Revista Moléculas*, 17, pp.10459-10469.
53. Kummerow, J., Krause, D., & Jow, W. (1977). Sistemas de raíces de arbustos de chaparral. *Revista Oecología*, 29, pp.163-177.
54. Kupchan, M., Ashmore, J., & Snedent, A. (1977). Eriofertopin and 2-O-Acetyleriofertopin, new tumor inhibitor y germacradienolides from *Eriophyllum confertiflorum*, *Phytochemistry*, 16, pp.1834-1835.
55. Lamyaa, F., Waled, M., & Usama, M. (2007). Análisis espectral de RMN de flavonoides de *Chrysanthemum coronarium*. *Revista Química de compuestos naturales*, 43, pp.659-662.
56. Li, H., Sun, N., Kashiwada, Y., Sun, L., Sinder, J., Cosentino, L., Lee, K. (1993). Agentes contra el SIDA, 9. Suberosol, un nuevo principio de triterpeno y antiviral del tipo lanostano C31 de *Polyalthia suberosa*. *Journal Nat Prod*, 56, pp.1130-1133.
57. Lizana, D. (2005). Elaboración y evaluación de extractos del fruto de *melia azedarach* l. como insecticida natural. (Tesis de Licenciatura). Universidad de Chile, Santiago.
58. Londoño, J. (2012). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. En *Desarrollo y Transversalidad serie Lasallista*

59. Investigación y Ciencia (pp.129-162). Colombia: Corporación Universitaria Lasallista.
60. Maldonado, O., Jiménez, E., Guapillo, M., Ceballo, G., & Méndez, E. (2010). Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico- degenerativas. *Rev.Med*, 10, pp.32-39.
61. Martínez, J. (2007). Evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de *heliocarpus terebinthinaceus*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Tecnológica de la Mixteca, Huajapan de león, Oaxaca.
62. Martínez, S., Rodríguez, C., Pérez, R., Granados, C., Donaji Y., & Florean, F. 2015). Evaluación de tres extractos vegetales en la población de mosca blanca en el cultivo orgánico de jitomate en invernadero. *Entomología Agrícola*, 2, pp.371-375.
63. Marcic, D., Peric, P., & Milenkovic, S. (2011). Acaricidas: perfiles biológicos, efectos y usos en la protección moderna de cultivos. *Pesticidas Formulación effect fate*, 3, pp.37-72.
64. Marwah, R., Fatope, M., Mahrooqi, R., Varma, G., Abadi H., & Kamis S. (2007). Antioxidant capacity of some edible and wound healing plants in Oman. *Food chemistry*, 101, pp.465-470.
65. Mayor, R. (2010). Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante. *Rev. Inst. Med. Trop*, 5, pp.23-29.
66. McMurray, N. (1990). *Adenostoma fasciculatum*, Sistema de información de efectos de fuego, Fort Collins, Colorado, EE. UU. Estación de Investigación de las Montañas Rocosas, Laboratorio de ciencias del fuego. URL: <http://www.fs.fed.us/database/feis/plants/shrub/adeffas/all.html>
67. McPherson, J., Chou, C., & Muller, C. (1971). Allelopathic constituents of the chaparral shrub *Adenostoma fasciculatum*. *Phytochemistry*, 10, pp.2925-2933.
68. Mingloli, T., & Holbrook, N. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Revista Nature*, 408, pp.239-247.
69. Mi, G., Jun, D., Jiamin, G., Baiquan, X., Wei, Y., & M, L. (2014). Aqueous Extract of *Chrysanthemum morifolium*. Enhances the Antimelanogenic and Antioxidative Activities of the Mixture of Soy Peptide and Collagen Peptide. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 4, pp.171-176.
70. Moerman, D. (1998). *Etnobotánica Indígena Americana*. Oregón, EE. UU Timbres press, p.927.
71. Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 2, pp.211-219.
72. Mourad, L., Shonouda, O., Osama, S, & Amal, A. (2008). Insecticidal Effect of *Chrysanthemum coronarium* L. Flowers on the Pest *Spodoptera*

73. *littoralis* Boisd and its Parasitoid *Microplitis rufiventris* Kok. with Identifying the Chemical Composition. *Journal of Applied Sciences*, 8, pp.1859-1866.
74. Muñoz, A., Ramos, F., Ortiz, C., Castañeda, B., Barnett, E., Yañez, J. & Cajaleón, D. (2010). Evaluación del contenido de fitoesteres, compuestos fenólicos y métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en la semilla de sancha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) Revista de la sociedad de química del Perú, 76, pp-234-241.
75. Munoz, M., & Gutierrez, D. (2008). Determinación de actividad antioxidante de diversas partes del árbol nicotiana glauca. Universidad Autónoma de Querétaro.
76. Clarke, O., Svehla, F., Ballmer, G., & Montalvo, A. (2007). Flora of the Santa Ana River and Environs with References to World Botany. Heyday Books, Berkeley, CA.
77. Munz, P. (1973). Una flora y suplemento de California. Universidad de California.
78. Nash, D., & Williams, L. (1976). Flora of Guatemala, Compositae. Part XII. Fieldiana Botany, 24, pp.96-97.
79. Navarro, L., Ramírez, A., & Conde, J. (2016). Oxígeno bueno y oxígeno malo y antioxidantes. Revista de la Academia Mexicana de Ciencias, 67, pp.33-41.
80. Núñez, A. (2011). Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades. Revista Cubana de Salud Pública, 37, pp.644-660.
81. O'Callaghan, Y., O'Connell, N., Maguire, A., McCarthy, F., & O'Brien, H. (2013). Síntesis y evaluación de la toxicidad relativa de los derivados oxidados de campesterol y dihidro brassicasterol en células U937 y HepG2. Revista Bioquímica, 95, pp.496-503.
82. Peinado, M., Alcaraz, F., Delgadillo, J., Aguado, I. (1994). Fitogeografía de la península de Baja California, México. Anales Jard. Bot. Madrid, 51, pp.255-277.
83. Pérez, J. (2006). Efecto de Fibra Antioxidante de Uva en status antioxidante y parámetros de riesgo cardiovascular en humanos. (Tesis Doctoral). Universidad de Madrid.
84. Pomilio, A. (2012). Investigación en Química de Productos Naturales en Argentina: Vinculación con la Bioquímica. Acta bioquímica clínica latinoamericana, 46, pp.73-82.
85. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente: Guía de salud y seguridad de la hidroquinona. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 1996.
86. Proksch, M., Weissenböck, G., & Rodríguez, E. (1985). Flavonoides y ácidos fenólicos en *Adenostoma*, un género dominante del chaparral californiano. Fitoquímica, 24, pp.2889-2891.

87. Pruski, J., & Sancho, G. (2004). Asteraceae or Compositae (Aster or Sunflower Family). Flowering Plants of the Neotropics, 5, pp.33-39.
88. Qing-Lei, S., Shu, H., Jian-Hui, Y., Xin, Q., Yue-Rong, L. (2010). Flavonoids and volatiles in *Chrysanthemum morifolium* Ramat flower from Tongxiang county in china. African journal of biotechnology, 9, pp. 3817-3821.
89. Rayner, I. (2013). Growing food in the southwest mountains. Arizona: lifeweaver.
90. Regnau, c., Philogene, B., & Vincent, C. (2004). biopesticidas de origen vegetal. mundi-prensa. madrid, españa. p.337.
91. Rodríguez, C., Silva, G, & Djair, V. (2003). Bases para el manejo racional de insecticidas: insecticidas de origen vegetal. facultad de agronomía, universidad de concepción, y fundación para la innovación agraria. pp. 89-111.
92. Rosas, N., & De luna, E. (2006). Diseño de una matriz microencapsulante a partir de compuestos biodegradables para la elaboración de un bioinsecticida. Revista internacional de contaminación ambiental, 22, pp.135-142.
93. Ruiz, E., & Suarez, M. (2015). Lactonas sesquiterpénicas. Diversidad estructural y sus actividades biológicas. CENIC ciencias biológicas, 46, pp.2221-2450.
94. Rzedowski, G., & Rzedowski, J. (2001). Flora fanerogámica del Valle de México. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.
95. Sánchez, V., Méndez, N. (2013). Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. Revista de Investigación Médica Sur de México, 20, pp.161-168.
96. Sanaa, K., Mohammad, M., Khaled, A., & Rasha, M. (2015). Studies on the In Vitro Antiproliferative, Antimicrobial, Antioxidant, and Acetylcholinesterase Inhibition Activities Associated with *Chrysanthemum coronarium* Essential Oil. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, pp.1-6.
97. San Aguilar, P. (2008). nuevas perspectivas de investigación sobre Asia pacífico. Editorial Universidad de Granada : Granada
98. Santos, A., Chico, R., Teixeira, A., Andrade, G., Pina, O., & Ferreira, D. (2015). Acaricidal activity of Annonaceae fractions against *Tetranychus tumidus* and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and the metabolite profile of *Duguetia lanceolata* (Annonaceae) using GC-MS. Ciencias Agrárias, Londrina, 36, pp.4119-4132.
99. Sassi, A., Harzallah, S., Bourgougnon, N., & Aouni, M. (2008). Actividades antimicrobianas de cuatro especies de *Chrysanthemum* tunecinas. Indian Journal of Medical Research, 127, pp.183-192.

100. Seaman, F. (1982). Sesquiterpene lactones as taxonomic characters in the asteraceae. The botanical Review, 48, pp.121-353.
101. Senatore, F., Rigano, D., De fusco, R., & Bruno, M. (2004). Composition of the essential oil from flowerheads of *Chrysanthemum coronarium* L. (Asteraceae) growing wild in Southern Italy. Flavour Fragrance Journal, 19, pp.149-152.
102. Shonoudo, M., Osman, S., Salama, O., & Ayoub, A. (2008). Efecto insecticida de *Chrysanthemum coronarium* L. Flores en el parásito *Spodoptera littoralis* (Boisd) y su Parasitoide *Microplitis rufiventris* (Kok) con la identificación de la composición química. Journal of Applied Sciences, 8, pp.1859-1866.
103. Slullitel, J. (2012). Valoración de la importancia nutricional del consumo de antioxidantes en personas de 40 a 50 años. (Tesis de Licenciatura). Universidad Abierta interamericana Buenos Aires.
104. Stanner, S., Hughes, J., Kelly, C., Buttriss, J. (2004). Review of the epidemiological evidence for the “antioxidant hypothesis”. Public Health Nutr, 7, pp. 407-22.
105. Strzelecka, M., Bzowska, M., Koziel, J., Szuba, B., Dubiel, O., Rivera, D., Heinrich, M., & Bereta, J. (2005). Anti-inflammatory effects of extracts from some traditional mediterranean diet plants. Journal of physiology and pharmacology, 56, pp.139-156.
106. Tawaha, K., Hudaib, M. (2010). Volatile oil profiles of the aerial parts of Jordanian garland, *Chrsanthemum coronarium*. Pharmaceutical Biology, 48, pp. 1108-1114.
107. Todd, G., Wohlers, D., & Citra M. (2003). Toxicology profile for pyrethrins and pyrethroids. Department of Health and Human Services. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta, EE UU. URL: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/TP.asp?id=787&tid=153>
108. Torres-Sánchez, L., & López-Carrillo, L. (2007). Efectos a la salud y exposición a p, p'-DDT y p, p'-DDE. El caso de México. Ciênc. saúde coletiva, 12, pp.51-60.
109. Torrance, S., Geissman, T., & Chedekel, M. (1969). Sesquiterpene lactones. Los constituyentes de *Eriophyllum confertiflorum*. Fitoquímica, 8, pp.2381-2392.
110. Tovar, J. (2013). Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecoregión cafetera. (Tesis de Licenciatura). Universidad Tecnológica de Pereira.
111. Turner, B. (1996). The Comps of Mexico: A systematic account of the family Asteraceae, Tageteae and Athemideae. Phytology Memoirs 10.

112. Vallejo, J., Santayana M., & Peral, D. (2009). La Historia de la fitoterapia en Egipto: un capo abierto a múltiples disciplinas. *Medicina naturista*, 3, pp.101-105.
113. Vázquez, P., Pietro, B., & Contreras, P. (2004). El envejecimiento y radicales libres. *Ciencias* 75, pp. 36-43.
114. Venéreo, J. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 31, pp.126-133.
115. Villalobos, M. (1996). Evaluación de la actividad insecticida de extractos vegetales de *Chrysanthemum coronarium* L. *Bol. San. Veg*, 22, pp.411-420.
116. Villalobos, P. (1996). Plaguicidas naturales de origen vegetal: Estado actual de la investigación. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Madrid, p. 35.
117. Villaseñor, J., & Espinosa, F. (1998). Catálogo de malezas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica. México, D.F.
118. Villaseñor Ríos, J. (1989). Manual para la identificación de las Compositae de la Península de Yucatán y Tabasco. Rancho Santa Ana Botanic Garden Technical Report 4. Claremont, CA.
119. Wesolowska, A., Grzeszczuk, M., & Kulpa, D. (2015). GC–MS Analysis of the Essential Oil from Flowers of *Chrysanthemum coronarium* L. Propagated Conventionally and Derived from In Vitro Cultures. *Acta Chromatographica*, 27, pp.525–539.
120. Weyemi, U., Dupuy C. (2012). The emerging role of ROS-generating NADPH oxidase NOX4 in DNA-damage responses. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 7, pp. 77-81.
121. Yanez, P., Escoba, A., Molina, C., & Zapata, G. (2011). Comparación de la actividad acaricida de los aceites esenciales de *Ocimum basilicum*, *Coriandrum sativum* y *Thymus vulgaris* contra *Tetranychus urticae*. *Revista de ciencias de la vida*, 19, pp.21-33.

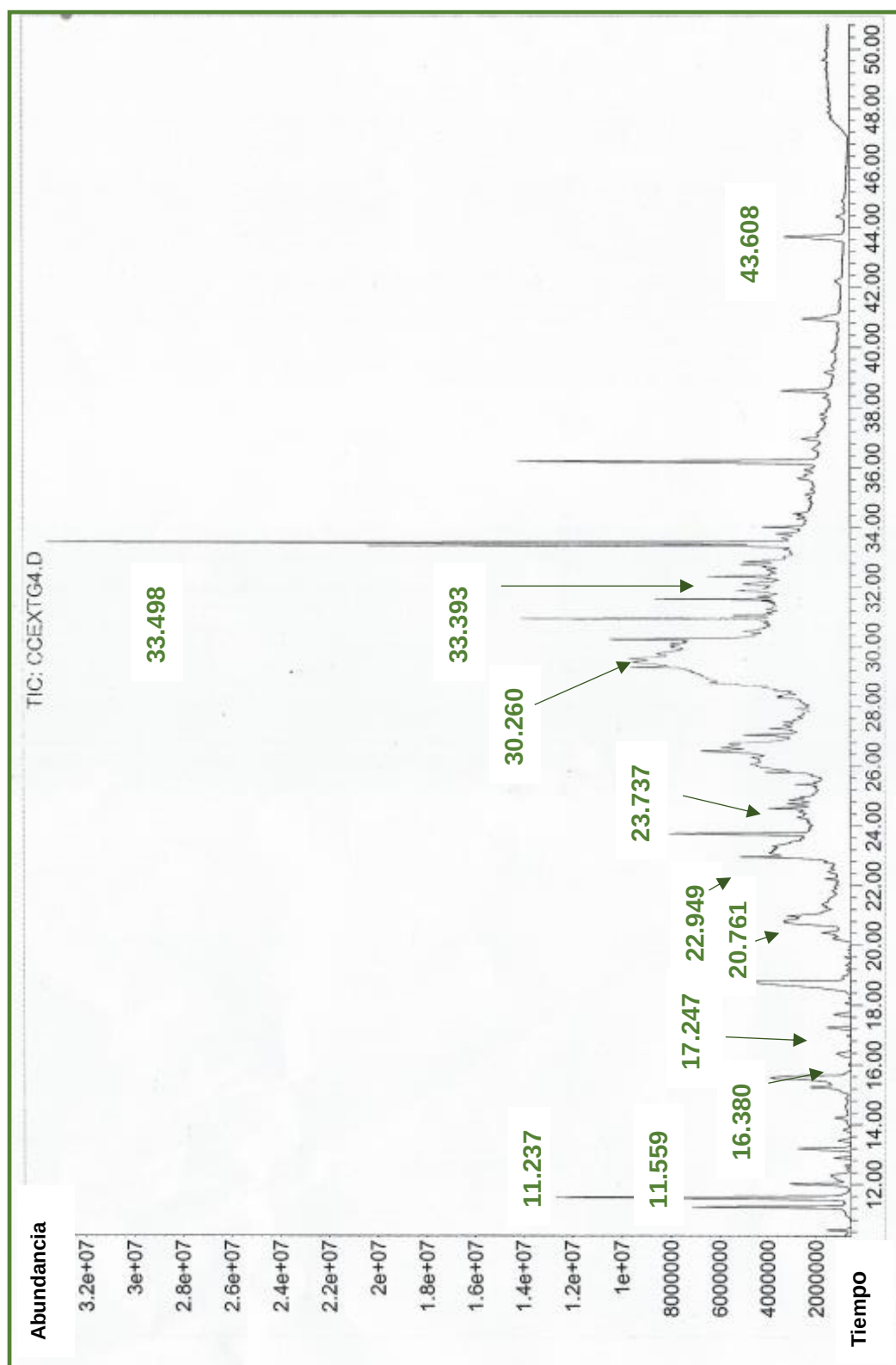
APÉNDICE



ANEXOS



CROMATOGRAMA



Grafica 13. Cromatograma de gases de la composición química del extracto de *Chrysanthemum coronarium*

TÉCNICAS EXPERIMENTALES



INSTRUMENTACIÓN

CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A ESPECTROMETRÍA DE MASAS (GC/MS)

Se utilizó un cromatógrafo de gases acoplado a masas Agilent Technologies 7890A /5975C, con una columna capilar de 30m × 0.25 mm × 0.25 µm utilizando un volumen de inyección 0.5 µL. Se realizó una dilución con gas de 1:2000. La temperatura de columna inició con 70°C marcando una rampa de temperatura de 2°C/min hasta llegar a 100°C., continuando con una rampa de 10°C/min hasta llegar a 250°C. En cuanto al inyector la temperatura de éste fue de 250°C.

El espectro de masas obtenido fue comparado con los proporcionados por la base de datos NIST.

ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA (UV)

Las mediciones de absorbancia de las pruebas antioxidantes se realizaron en un espectrofotómetro THERMO SCIIENTIFIC, modelo Genesys 20, en celdas de cuarzo de 10 mm. Como disolvente se empleó metanol o agua destilada. Los valores de absorbancia (λ) se expresan en nm.