

Etnobotánica, micrografía analítica de hojas y tallos y fitoquímica de *Cuphea aequipetala* Cav. (Lythraceae): una contribución a la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (FHEUM)

[Ethnobotany, analytical micrograph of leaves and stems and phytochemistry of *Cuphea aequipetala* Cav. (Lythraceae): a contribution to the Herbal Pharmacopoeia of the United Mexican States (FHEUM)]

Silvia AGUILAR-RODRÍGUEZ¹, Nayeli L. ECHEVESTE-RAMÍREZ¹, Ma. Edith LÓPEZ-VILLAFRANCO²,
Abigail AGUILAR-CONTRERAS³, Elisa VEGA-ÁVILA⁴ & Ricardo REYES-CHILPA⁵

¹Unidad de Morfología y Función, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México.

²Herbario IZTA, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México.

³Herbario IMSSM, Instituto Mexicano del Seguro Social.

⁴División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa.

⁵Instituto de Química. Universidad Nacional Autónoma de México.

Contactos / Contacts: Silvia AGUILAR-RODRÍGUEZ - E-mail address: siagro@campus.iztacala.unam.mx

Abstract

Cuphea aequipetala Cav. (Hierba del cancer) is used in Mexican traditional medicine. In the present work, its most frequent medicinal applications were determined through interviews, revision of herbarium specimens, and bibliography. The quoted applications were: to treat pounds and wounds. For these purposes, the drug (leaf and stem) is prepared and administered as infusion, or as poultice. In order to provide data for inclusion of this species in the Herbal Pharmacopoeia of the United Mexican States (FHEUM) we describe its leaf architecture and diagnostic anatomical characters of drug. The anatomical study revealed that the three types of trichomes observed can aid to differentiate this species from other *Cuphea* species. Anatomical variation was observed mainly in the midrib of the leaf. Leaf architecture is first described for this species, and provides the basis for future comparisons. In addition, the acetone-water extract of the aerial parts previously reported as cytotoxic activity against DU-145 (human prostate carcinoma) and HCT-15 (human colon carcinoma), showed the presence of polyphenolic compounds of the type of hydrolysable and condensed tannins, mannitol was isolated and identified.

Keywords: Hierba del cancer, microscopic analysis, phytochemistry, quality control

Resumen

Cuphea aequipetala Cav., Lythraceae (Hierba del cáncer) es utilizada en la medicina tradicional mexicana. En el presente trabajo se determinó mediante entrevistas, consultas de herbario y revisión bibliográfica sus aplicaciones médicas más frecuentes, a saber: para tratar golpes y heridas, para lo cual la droga (hoja y tallo) es preparada en infusión, o administrada en emplastos. Con la finalidad de aportar datos que ayuden a la inclusión de esta especie en la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (FHEUM), se describen la arquitectura foliar y los caracteres anatómicos de la droga. El estudio anatómico reveló que los tres tipos de tricomas reconocidos en la especie estudiada apoyan a diferenciarla de otras especies de *Cuphea* sp. Se observó variación anatómica principalmente en la nervadura central de la hoja. La arquitectura foliar se describe por primera vez para la especie y sienta las bases para futuras comparaciones. Por otra parte, el extracto acetona-agua de las partes aéreas que previamente ha sido reportado con actividad citotóxica contra células DU-145 (carcinoma de próstata humano) y HCT-15 (carcinoma de colon humano) mostró la presencia de compuestos polifenólicos del tipo de los taninos hidrolizables, taninos condensados, y se aisló manitol.

Palabras Clave: Hierba del cáncer, análisis microscópico, fitoquímica, control de calidad.

Recibido | Received: 23 de Enero de 2012.

Aceptado en versión corregida | Accepted in revised form: 13 de Marzo de 2012.

Publicado en línea | Published online: 30 de Julio de 2012.

Este artículo puede ser citado como / This article must be cited as: Silvia Aguilar-Rodríguez, Nayeli L. Echeveste-Ramírez, Ma. Edith Lopez-Villafranco, Abigail Aguilar-Contreras, Elisa Vega-Ávila, Ricardo Reyes-Chilpa. 2012. Etnobotánica, micrografía analítica de hojas y tallos y fitoquímica de *Cuphea aequipetala* Cav. (Lythraceae): una contribución a la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (FHEUM). *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat* 11(4): 316–330.

INTRODUCCION

En México los estudios de plantas medicinales orientados al control de calidad son escasos. En este sentido la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (FHEUM) se encarga de establecer los métodos de análisis y especificaciones técnicas que deben cumplir las plantas con algún uso medicinal. Cada especie incluida en dicha Farmacopea debe contener datos anatómicos y fitoquímicos como parte indispensable de la información requerida. Actualmente en la FHEUM se tienen registradas con estos datos 40 especies medicinales. Sin embargo, los caracteres anatómicos provienen en su mayoría de aportaciones realizadas en el extranjero, debido principalmente al origen europeo de las especies (FHEUM, 2001) y a que en México poca atención se le ha dado a este tipo de estudios. Una de las plantas de origen americano utilizada en la herbolaria mexicana es *Cuphea aequipetala* Cav. (Aguilar *et al.*, 1994); actualmente esta planta se encuentra en la lista de especies de uso etnobotánico en México de la Extrafarmacopea Herbolaria.

Los estudios anatómicos de la droga, hojas y tallos de *C. aequipetala*, pueden aportar información para distinguir entre especies del género, pues actualmente se reconocen principalmente con base en caracteres morfológicos de la flor. Taxonómicamente *C. aequipetala* (Figura. 1) es una planta perenne de hábito herbáceo o subfruticosa; tallo ramificado, ascendente, rastrero o procumbente, de hasta 1 m de long, tomentoso, hispido, sarmentoso o glabro, generalmente de color rojo oscuro a morado. Sus hojas son opuestas, sésiles o con un pecíolo hasta de 0.7 cm de long, con lámina ovada a lanceolada, de 1 a 5 cm de long por 0.2 a 3.3 cm de lat, ápice agudo, borde entero, base aguda o redondeada, glabras o algo hispíduladas sobre todo en el envés. Las flores presentan un tubo calicinal morado verdoso, de 1.3 a 2.3 mm de long, hispido a parcialmente glabro, con 6 dientes cortos en el borde superior; pétalos 6 de color morado-oscuro, desiguales, de 0.5 cm de long (Graham, 1991, Graham, 1994; Rzedowski, 2001).

C. aequipetala es una especie de amplia distribución en México, principalmente en la zona centro y sur, fuera del país se registra hasta Guatemala; crece en vegetación de zonas tropicales, templadas y secas, habitando frecuentemente sitios perturbados y como maleza que afecta cultivos de frijol, maíz y sorgo. Generalmente se localiza por arriba de los 3 200 m s.n.m., pero puede crecer desde

los 20 m de altitud. Esta planta recibe el nombre popular de hierba del cáncer, alfilerillo o árnica falsa, entre otros.

Diversas especies del género se han estudiado anatómicamente con fines taxonómicos fuera de México (Metcalf y Chalk, 1950; Amarasinghe *et al.*, 1991). En el país los estudios fitoquímicos reportados para *C. aequipetala* pertenecen a Waizel *et al.* (2003) y Vega-Ávila *et al.* (2004). En esta investigación se realiza la descripción anatómica de los órganos vegetativos, hojas y tallos, así como un estudio fitoquímico preliminar de los mismos órganos, para la incorporación de *Cuphea aequipetala* a la FHEUM. Dichos datos aportarán información a los rubros “Descripción macroscópica” y “Descripción microscópica”, que forman parte de cada una de las especies incluidas en la Farmacopea mencionada.

MATERIAL Y MÉTODOS

Etnobotánica

Las categorías de uso de la hierba del cáncer (*C. aequipetala*) se obtuvieron a través de entrevistas abiertas (Martínez, 1976; Alexiades, 1996) a los vendedores y compradores del mercado Sonora en el Distrito Federal y del tianguis de Villa del Carbón, Estado de México, así como de la consulta de ejemplares etnobotánicos depositados en los herbarios IMSS e IZTA y de la información obtenida de bibliografía especializada.

Anatomía

El material botánico para la descripción anatómica se obtuvo del campo, mercados y de colecciones científicas de los herbarios IZTA (Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM), IMSSM (Instituto Mexicano del Seguro Social) y MEXU (Instituto de Biología de la UNAM). El ejemplar de referencia de campo está depositado en la colección etnobotánica del herbario IZTA, con el número 1764-IZTA. Nueve plantas de *C. aequipetala* se fijaron en una solución de F.A.A. (formaldehído 40%, 10 ml; alcohol etílico al 96%, 50 ml; ácido acético glacial, 5 ml; agua, 35ml). Los cortes se obtuvieron a mano alzada y como medio de montaje se utilizó gelatina glicerina coloreada con safranina y cristal violeta (Aguilar-Rodríguez, 1998). Se analizaron la zona basal, media y superior de los tallos y la parte media de las hojas. Otras muestras de tallo y hoja se deshidrataron en alcoholes etílicos graduales;

posteriormente pasaron a xilol y se incluyeron en

parafina histológica a 58-60° C (Curtis, 1986; Ruzin,

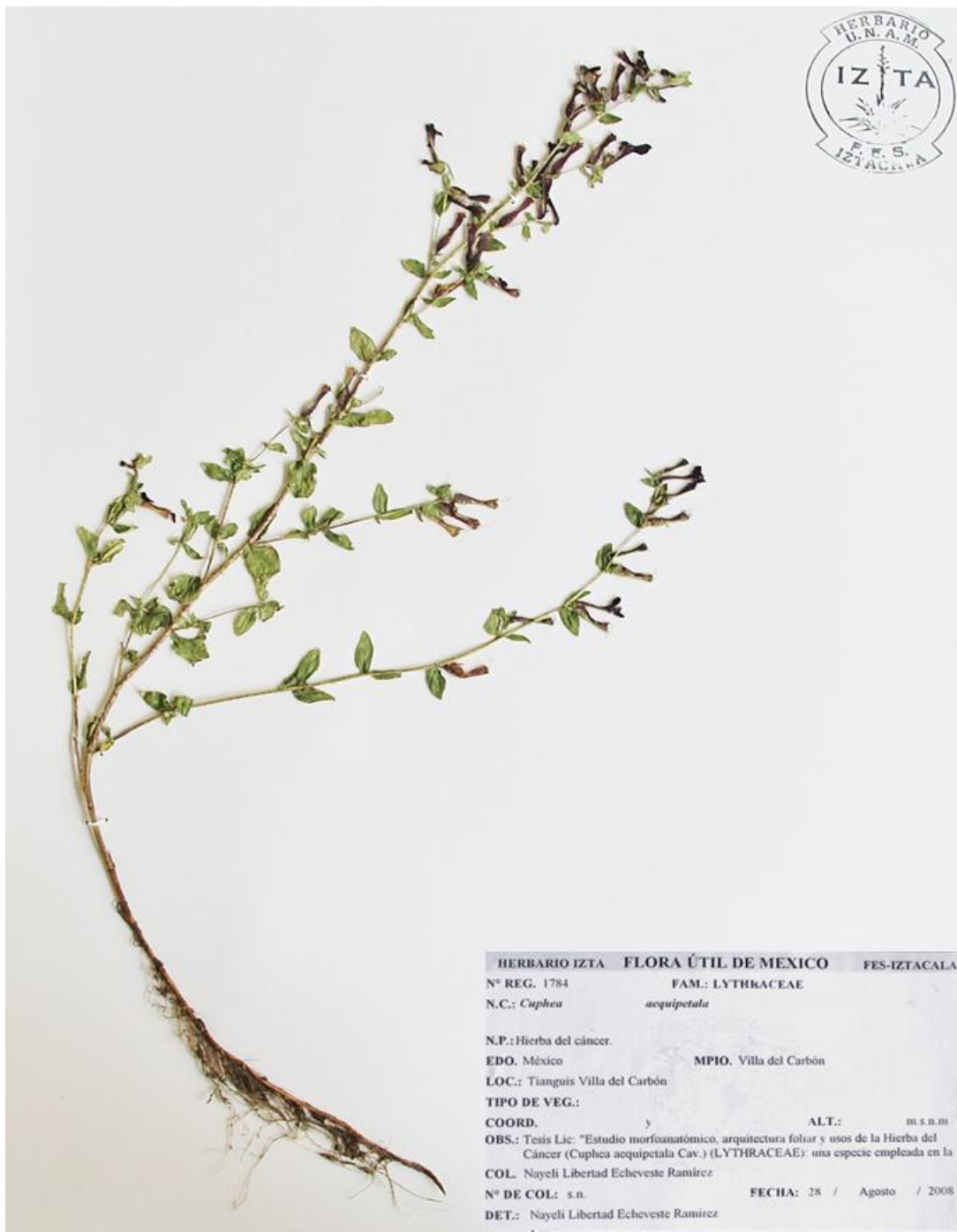


Figura 1
Cuphea aequipetala Cav. Ejemplar de referencia (No. registro 1784 - IZTA).

1999). Se obtuvieron secciones transversales de aproximadamente 15 µm de grosor, para lo cual se utilizó un micrótopo de rotación. Se continuo con la

técnica de tinción usando safranina “O”-verde rápido FCF y finalmente se montaron en resina sintética. La observación superficial de las células epidérmicas y de

los estomas se realizaron en cortes paradermales de la zona media de la hoja. Las descripciones anatómicas se elaboraron siguiendo la terminología de Metcalfe y Chalk (1979), Fahn (1985) y para tricomas la de Amarasinghe *et al.* (1991). Los valores cuantitativos se presentan en intervalos y solo para diámetro de vasos del xilema secundario se obtuvieron la media, desviación estándar y valores máximo y mínimo.

Arquitectura foliar

Hojas maduras de ejemplares de *C. aequipetala* colectados en campo, se diafanizaron con NaOH al 5% durante 8 días a temperatura ambiente, reemplazando esta solución cada dos días. Se lavaron y se agregó hipoclorito de sodio al 30% hasta que se blanquearon. Para dar contraste de los tejidos, las hojas diafanizadas se tiñeron con safranina acuosa; se deshidrataron en una serie de alcoholes (50, 70, 96 y 100%), y se montaron con resina sintética. Las descripciones se realizaron de acuerdo a Hickey (1974) y de Leaf architecture working group (1999).

Las observaciones y mediciones se llevaron a cabo en un microscopio óptico marca Carl Zeiss a 10, 20, 40x aumentos y con el analizador de imágenes NIS-Elements BR 2.33. (Nikon Corporation, 1991-2006). Además, se realizaron dibujos de la arquitectura foliar y morfología de tricomas en cámara clara usando un microscopio Nikon SMZ 800.

Fitoquímica

Se adquirió “hierba del cáncer” fresca en el Mercado de Plantas Medicinales “Sonora” de la Ciudad de México y fue identificada como *Cuphea aequipetala*. Un ejemplar está depositado en el Herbario de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa con el número de registro UAMIZ56709. Las partes aéreas de la droga (tallos y hojas), se molieron (500 g) y se maceraron a temperatura ambiente con acetona-agua (7:3). De este extracto se formó de manera espontánea un precipitado el cual dio positiva la reacción con gelatina. El sólido soluble en agua se analizó por cromatografía en capa fina bidimensional (n-butanol-ácido acético-agua 4:1:5, seguido de ácido acético 2%) en comatoplacas de celulosa que al ser revelada con FeCl₃ mostró 9 manchas, 7 de color azul y 2 de color verde. Posteriormente, de la porción acuosa precipitó un compuesto con punto de fusión de 165-167° C. Dicho compuesto fue identificado como manitol con base en sus datos de resonancia magnética nuclear de

carbono (¹³C-RMN) y el experimento DEPT para determinar metinos, metilenos y metilos, así como espectrometría de masas de impacto electrónico (EME) y espectroscopia de infrarrojo (IR).

Manitol. Sólido blanco, p.f. 165-167° C (reportado 168-189° C; Pouchert y Behnke, 1993).

IR (KBr): ν max (cm⁻¹): 3169 (OH), 2754 (C-H), 1451 (CH₂), 1373 (CH), 1089, 1021 (C-O).

RMN ¹³C (75 MHz, D₂O), δ ppm: 63.2 (CH₂OH), 69.3 (CHOH), 70.8 (CHOH).

EMIE (70 eV, m/z): 183 M+1 [C₆H₁₄O₆ + H] (3%), 123 (20%), 103 (65%), 73(100%), 61(75%), 43(35%) y 31 (18%).

RESULTADOS

Etnobotánica

Los 30 informantes entrevistados indicaron conocer la hierba del cáncer (*C. aequipetala*). El 50 % reconoce a la planta por la forma de la flor y su época de crecimiento, 23 % solo por su época de crecimiento, 20 % por el color de la flor y 7 % la ubican por el hábitat donde crece, mencionando lo siguiente:

“...se da en la época de lluvias entre junio y agosto, por eso solo en esa época la vendemos fresca...”

“...por que crece en la rocas húmedas, a la orilla del camino o entre las milpas...”

Con respecto a su empleo como planta medicinal 47% de los entrevistados menciono que la información ha sido proporcionada por sus padres, abuelos, compañeros de trabajo y vecinos, 46% la reconoce pero no la ha usado y 7% por prescripción naturista. El 52% la ha empleado para tratar algunas afecciones del sistema músculo esquelético, como son golpes y heridas; 21% mencionó usar la hierba del cáncer (*C. aequipetala*) para tratar enfermedades del aparato digestivo, como son los cólicos provocados por gastritis o úlceras. Las del aparato genitourinario, como son los cólicos menstruales, se reportó por un 9%, mientras que aquellas relacionadas con la piel, como la caspa, se mencionó por el 6%. El 12% de los entrevistados la indicó para tratar el cáncer. En la figura 2 se muestran los porcentajes por afecciones. Desde el punto de vista del conocimiento popular sobre la parte usada y la forma de preparación del remedio herbolario 100% de los informantes indicaron el empleo de toda la planta, la cual, se puede utilizar fresca o seca; preparando una infusión o té.

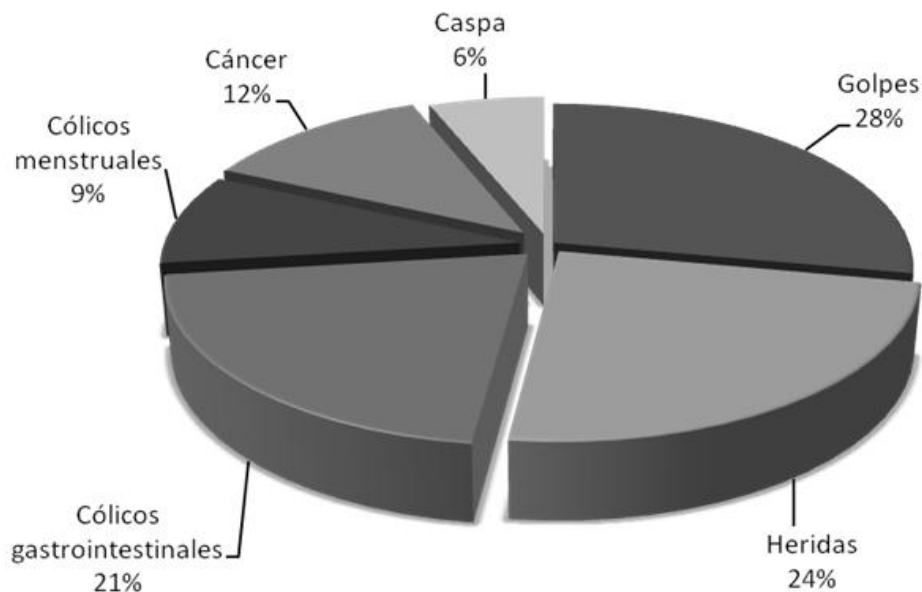


Figura 2

Porcentaje de usos medicinales de *Cuphea aequipetala* Cav., reportados por los habitantes de Villa del Carbón Estado de México.

“...hechas un manojito en el agua que ya esta hirviendo y lo dejas que siga hirviendo por 2 minutos y te la tomas como agua de uso....”

“...hechas un manojo en agua para un litro y la dejas reposar 24 horas, después te la tomas como agua de uso o tres veces al día.

“.....se prepara un té con un manojo de la planta, ya sea fresca o seca y se deja hervir

10 minutos y se toma 3 veces al día. Es como el árnica, te va a desinflamar.....”

En cuanto a la vía de administración 73% de los entrevistados la toma como agua de uso (es decir se toma durante todo el día) y 27% la recomiendan a manera de emplastos en caso de heridas y golpes.

En México *C. aequipetala*, se utiliza principalmente como recurso herbolario, pero es frecuente su uso como planta ornamental y también se reporta como estabilizador de suelos y cubresuelos en jardines fuera del país

http://www.sfbotanicalgarden.org/cuphea_span.pdf

.

Anatomía

Hoja (Figura 3). En vista superficial las células epidérmicas de la superficie adaxial y abaxial

presentan paredes sinuosas con estomas de tipo anisocítico y diacíticos (Figura 3A). Adaptando las descripciones de Amarasinghe *et al.* (1991) se reconocen dos tipos de tricomas glandulares: a) Tipo 1; multicelulares, multiseriados, constituidos con más de nueve hileras de células arregladas en tres series, con una longitud de 109-455 μm , con contenidos de forma esférica y de color amarillento en la base y centro del tricoma y b) Tipo 2; tuberculados, unicelulares, parecidos a espinas, con la pared gruesa y ornamentaciones en forma de verruga. Se reconocen dos variantes: el Tipo 2a, tricomas con la base expandida asociada con contenido y espina que se proyecta de forma oblicua sobre la superficie, presentes en el margen de la lámina (Figura 6E) y el Tipo 2c, tricomas erectos parecidos a espina con contenido en su interior, sin una base expandida evidente (Figura 3B). Se observa variación sobre la presencia/ausencia de los tricomas, en algunos casos son más abundantes en la superficie adaxial que en la abaxial (Figura 3C), mientras que en otros individuos estos apéndices no existen en la lamina foliar (Figura 3D); en la vena

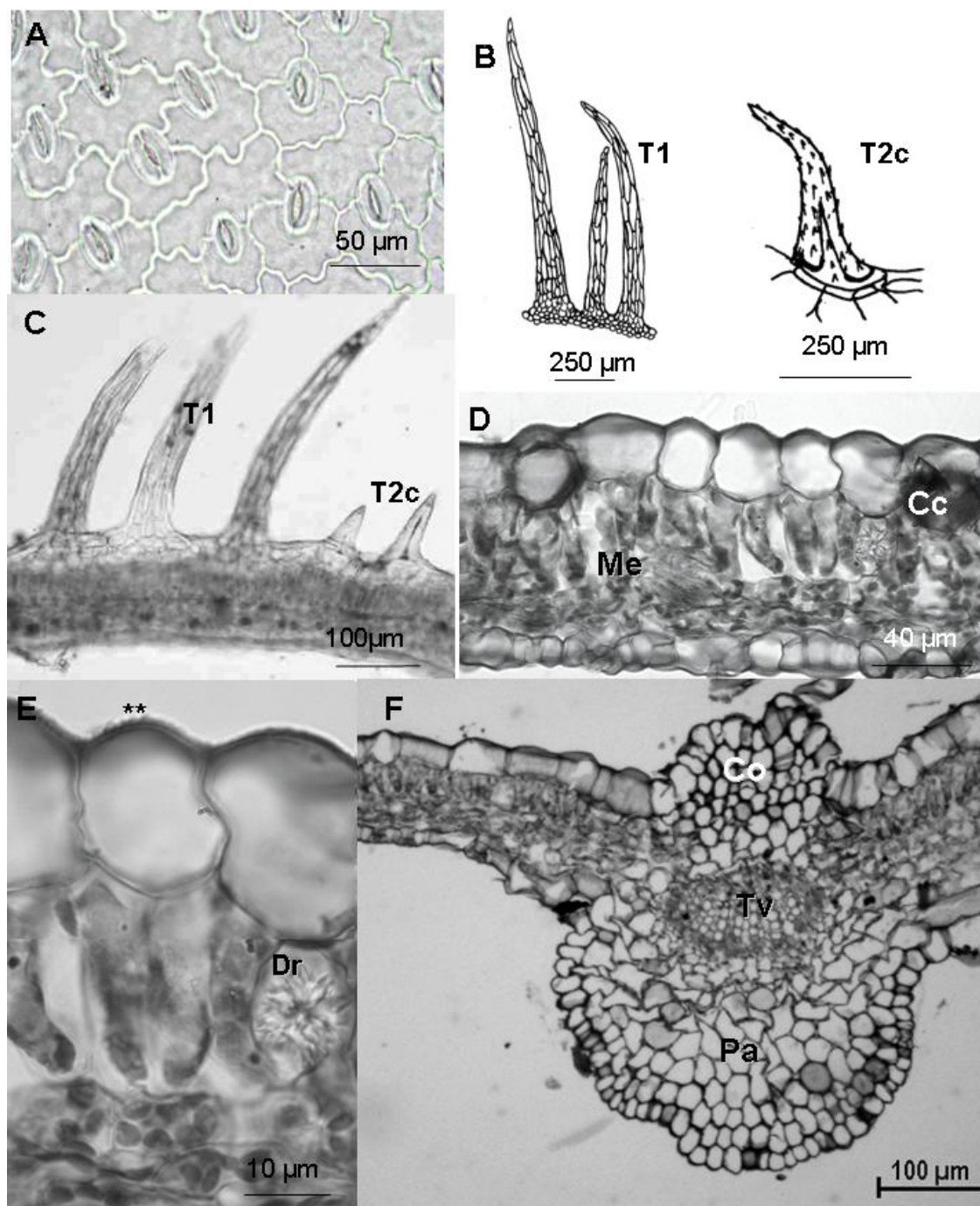


Figura 3

Lámina foliar de *Cuphea aequipetala* Cav. **A)** vista superficial; **B)** tricomas; **C)** vista trasversal con tricomas glandulares en la superficie adaxial; **D)** vista trasversal de mesofilo bifacial; **E)** cutícula crenada y drusas; **F)** características de la vena media. T1= tricoma multicelular multiseriado; T2c= tricoma erecto parecido a espina con contenido en su interior, sin una base expandida evidente; Me= mesofilo; Cc = célula con contenido oscuro; Dr = drusa; Co= colénquima; Tv= tejido vascular; Pa= parénquima; **=cutícula.

media son tan abundantes o más que en la superficie adaxial. En vista transversal (Figuras 3D, E) la

epidermis de la superficie adaxial y abaxial es uniestratificada con cutícula algo estriada (Figura 3E).

Las células de la superficie adaxial son de forma isodiamétrica, angular o redondeada de tamaño variable, con 14-40 μm por lado, paredes delgadas y lumen amplio. La epidermis abaxial tiene células que están comprimidas radialmente, con tamaños de 10-45 μm de alto y 10 - 59 μm de ancho. Asociadas a la superficie adaxial se presentan células redondeadas con contenido oscuro. El mesofilo es bifacial, diferenciado en parénquima en empalizada hacia la superficie adaxial y parénquima esponjoso hacia la abaxial (Figura 3D). El parénquima en empalizada está constituido por una capa de células alargadas de 20-59 μm de alto y 6-20 μm de ancho, en ocasiones también existen drusas (Figuras 3D, E); el parénquima esponjoso presenta de 4-5 capas de células, de formas redondeadas arregladas laxamente; con presencia de contenidos de forma esférica. A nivel de la nervadura central, las células epidérmicas de la superficie adaxial muestran una cutícula lisa, sus células típicas son un poco más cuadrangulares que las del resto de la lámina con tamaños de 16-28 μm de lado (Figura 3F). En otros casos estas células pueden ser evidentemente más redondeadas e isodiamétricas (16-30 μm) pero cubiertas por una cutícula ligeramente estriada, en otros individuos estas células son más ovaladas que las del resto de la lámina foliar con 20-34 μm de alto y 10-28 μm de ancho y cubiertas por una cutícula lisa (Figuras 4B, D, F); la región por debajo de la superficie adaxial es reducida y está conformada en su totalidad por 6-10 células de colénquima laminar que contienen algunas drusas ocupando todo el lumen celular (Figura 4B). En ocasiones en esta región se observaron de 3-5 capas de colénquima laminar y de 3-6 capas de parénquima. Cuando es mayor el número de células de colénquima, se forma una saliente en la superficie adaxial, por debajo del cual se encuentran de 4-5 capas de células de parénquima (Figura 4 F). Próximo al colénquima existe una vaina constituida por un estrato de células con paredes delgadas. Esta vaina encierra a 3-7 capas de células con cloroplastos y está asociada con el floema. En el cordón vascular el xilema puede presentar diferentes grados de desarrollo (Figuras 4 A, C, E). Hacia la superficie abaxial existe una zona de parénquima con cloroplastos o esclerénquima formando un arco (Figuras 4C, E), seguido de 2-7 capas de parénquima y de 2-3 capas de colénquima.

Tallo: En sección transversal es terete, de sección circular u ovalado (Figura 5A). La epidermis de la parte superior del eje presenta cutícula estriada y es lisa en la base. Presenta dos tipos de tricomas

epidérmicos en la zona superior y media del tallo. El Tipo 1, con tricomas semejantes a los de la lámina foliar, pero con mayor longitud (198-1188 μm), compuestos por más de 9 hileras de células y el Tipo 4, que corresponde a tricomas uniseriados con 5-8 células, con paredes delgadas, con una longitud de 178-396 μm (Figura 5B). La epidermis es uniestratificada, con células redondeadas o cuadrangulares (Figuras 5A, D). Hacia la parte basal de los tallos más desarrollados, existe una peridermis con 3-7 capas de células en donde se alternan hileras uniestratificadas de células con paredes gruesas y delgadas (Figuras 5C, F). El córtex en sección transversal mide de 115 μm en la base del eje a 130 μm en la parte superior. En las zonas media y superior del eje, por debajo de la epidermis se muestra una banda uniestratificada de células esclerosadas, seguida de una capa ancha y continua de parénquima, generalmente constituida por más de 10 hileras de células que se comprimen conforme se acercan al floema (Figura 5D) intercalados entre este parénquima se desarrollan algunos paquetes de células esclerosadas con paredes gelatinosas, alargados tangencialmente y formados por 1-3 hileras de más de 5 células; en la región media del eje se puede formar una banda de células de súber en capas intermedias del córtex (Figura 5D); existen células dispersas con cloroplastos y células con drusas, cuyo número aumenta conforme se acercan a la zona basal del tallo. Próximo al floema se observa una vaina continua de clorénquima formada por 1-2 hileras de células. Seguido de esta vaina se distingue el floema secundario poco desarrollado, formando una banda continua y angosta de células; en las partes más desarrolladas del tallo, el floema secundario presenta radios de parénquima con células amplias y contenidos oscuros (Figura 5C). El xilema secundario presenta diferentes grados de desarrollo a lo largo del tallo; siendo más ancho en la base donde llega a formar 2-3 anillos de crecimiento; los vasos en este nivel se encuentran solitarios o en grupos de 3 a 6, formando series radiales; con un diámetro tangencial del lumen de $595 \pm 190 \mu\text{m}$ (275-785 μm); con algunas fibras gelatinosas. En la periferia de la médula se localizan regiones de floema interno (Figura 5E). La médula ocupa el área central del tallo y su diámetro aumenta en la zona superior del eje; sus células parenquimáticas son de forma isodiamétrica y de mayor tamaño conforme se acercan al centro; generalmente presenta gran cantidad de drusas.

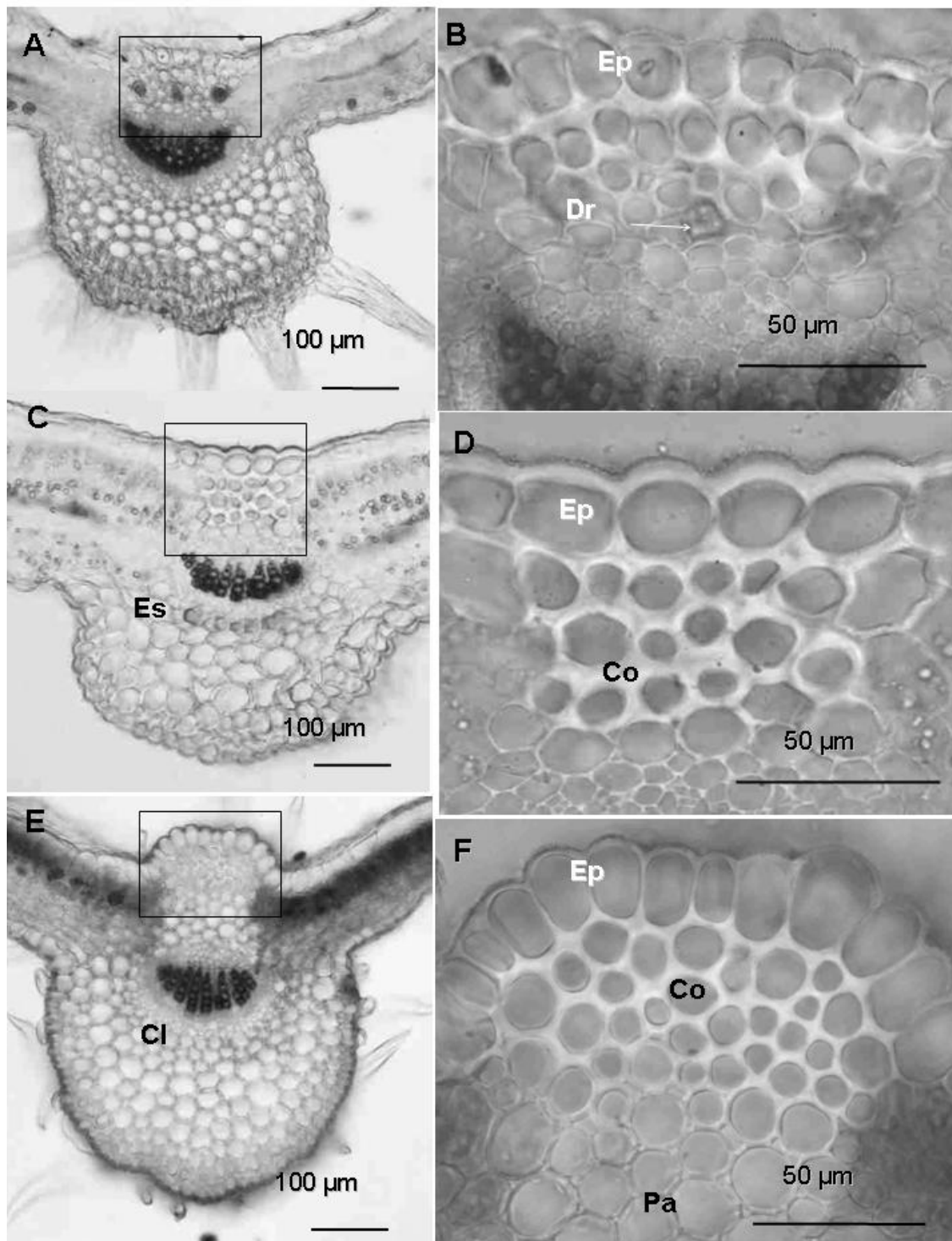


Figura 4

Vena media de la hoja de *Cuphea aequipetala* Cav., variación anatómica de la vena media de la lámina foliar. **A-B)** ejemplar Villa del Carbón; **C-D)** Mercado Sonora; **E-F)** Lontla, Hidalgo. Ep= epidermis; Dr= drusa; Es= esclerenquimas; Co= colénquima anular; Cl= clorénquima; Pa= parénquima.

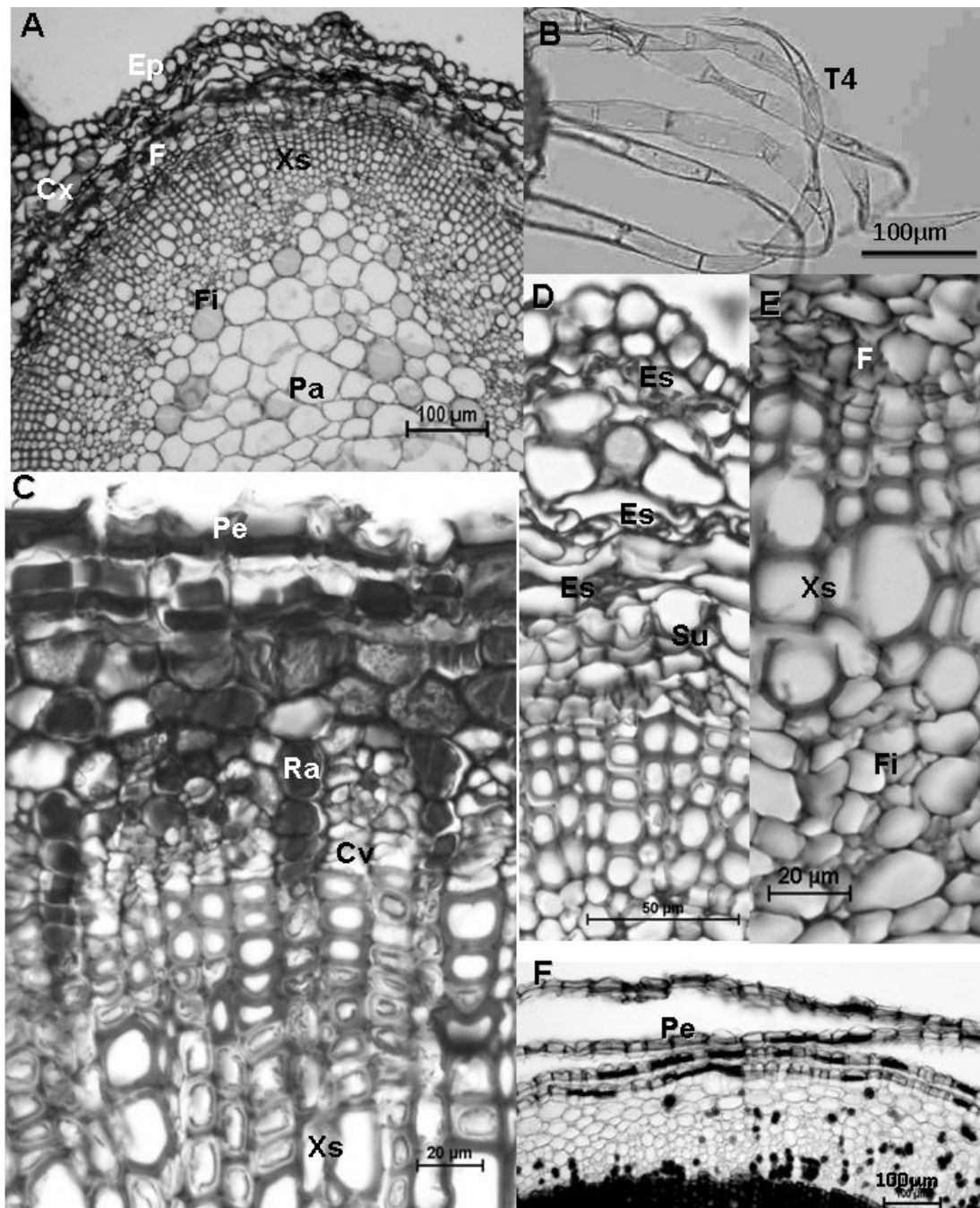


Figura 5

Tallo de *Cuphea aequipetala* Cav. **A)** corte trasversal; **B)** tricomas uniseriados; **C)** vista trasversal de tallo basal; **D)** tallo sección media mostrando células esclerosadas con paredes gelatinosas; **E)** tallo medio superior mostrando floema interno; **F)** peridermis. Ep= epidermis; Cx= córtex; F= Floema; Xs= xilema secundario; Fi= floema interno; Pa= parénquima; T4= tricoma uniseriado; Pe= peridermis; Ra= radio; Cv= cilindro vascular; Es= esclerénquima; Su= súber.

Arquitectura foliar

Lámina entera y simétrica; de forma ovada, ápice agudo y base agudo-cuneada (Figura 6A); margen de la hoja entero con tricomas Tipo 1 y Tipo 2a (Figuras 6C, D) que se rompen con facilidad. Textura cartácea, pecíolo normal sin engrosamientos. Venación de tipo pinnada camptodroma-broquidódroma, la vena primaria o media sigue un recorrido recto, las venas secundarias surgen de la vena primaria y tienen un ángulo de divergencia de $45^\circ - 65^\circ$, las superiores con ángulo de divergencia más agudo que las inferiores; su

recorrido es curvado abruptamente, uniéndose a secundarias superadyacentes en ángulo obtuso a recto y encerrados por arcos secundarios. Las venas de tercer orden se originan en ángulo recto con respecto a las secundarias (Figuras 6A, B), con patrón reticulado al azar, las de cuarto y quinto orden forman areolas con desarrollo imperfecto (Figuras 6B, D), son de forma irregular y tamaño pequeño de < 0.3 mm; vénulas simples o ramificadas una vez. La venación última marginal es incompleta.

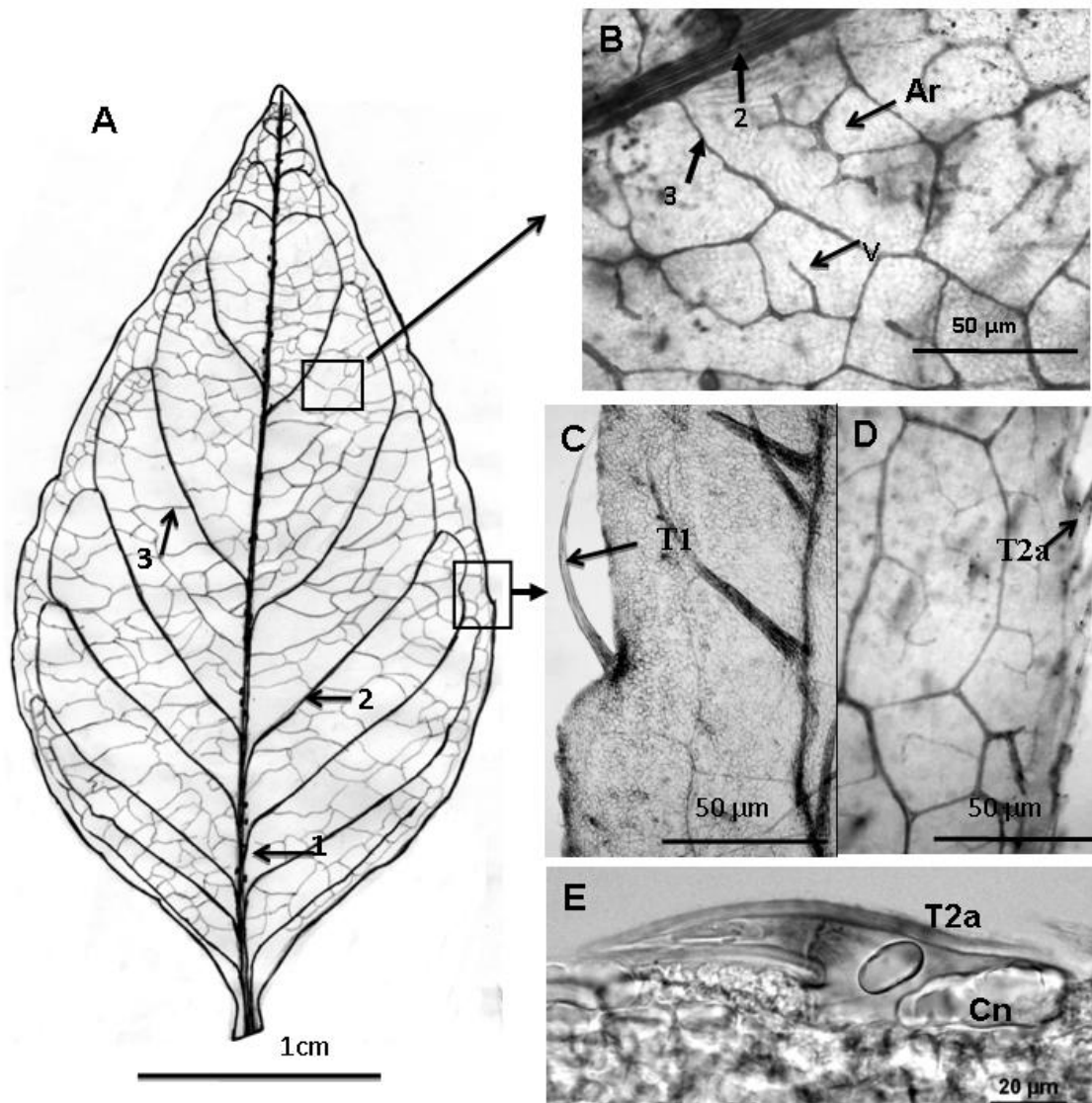


Figura 6

Arquitectura foliar de *C. aequipetala* Cav. A) tipos de venación; B) detalle de la venación de orden mayor; C) detalle de la venación del margen mostrando tricoma Tipo 1; D) detalle de margen mostrando tricoma Tipo 2a y venas que forman areolas; E) tricoma tipo T2a. 1= primaria; 2 = secundaria; 3 = terciaria; Ar = areola, T1 = multicelular multiseriado, T2a = tricoma con la base expandida con contenido y espina que se proyecta de forma oblicua sobre la superficie, Cn = contenido en la base del tricoma.

Fitoquímica

El sólido obtenido del extracto de acetona-agua precipitó la solución de gelatina lo que indicó la presencia de taninos. La prueba positiva con FeCl_3 indicó que se trataba de compuestos polifenólicos. Al analizar la muestra por cromatografía bidimensional se visualizaron 7 manchas azul y 2 verdes sugiriendo la presencia de taninos hidrolizables -elagitaninos- (azul) y condensados (verde), respectivamente (Haslam, 1989). De este extracto precipitó posteriormente manitol, el cual se identificó con base en los siguientes datos. El espectro de ^{13}C RMN mostró tres señales en 63.2, 69.3 y 70.8 ppm, Estos valores de desplazamiento químico indicaron que cada átomo de carbono debe estar unido a un átomo de oxígeno. Además, el experimento DEPT indicó que estas señales corresponden a los carbonos de un metileno (63.2) y dos metinos (69.3, 70.8), respectivamente. Este conjunto de datos sugiere la presencia de un monosacárido tipo hexosa. Al comparar los datos de RMN, así como el punto de fusión de este compuesto con los reportados con la literatura se encontró que concordaban con los del compuesto D-manitol, cuya fórmula molecular es $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$, con peso molecular de 182. La identidad de este compuesto se corroboró mediante el espectro de masas obtenido por impacto electrónico. Dicho espectro mostró el ión $\text{M}+\text{H}$ en m/z 183, así como el patrón típico de fragmentación de manitol, observando el pico base en $m/z = 73$.

DISCUSIÓN

Etnobotánica

Los resultados expuestos sobre el conocimiento tradicional del uso medicinal de la hierba del cáncer (*C. aequipetala*), demuestran que su empleo como recurso herbolario sigue vigente. Los datos obtenidos de fuentes históricas, etnobotánicas y de las entrevistas realizadas, han permitido complementar y actualizar la información etnobotánica como recurso medicinal y ampliar su categoría de uso, reportándola como cubresuelos. Desde el punto de vista etnobotánico, en el siglo XVI Francisco Hernández en su obra Historia Natural de la Nueva España, documenta que "es una planta de naturaleza fría, seca y astringente y por ello se utilizaba como paliativo de heridas y golpes". Actualmente gran parte de la población mexicana la sigue utilizando para curar estos padecimientos relacionados con el sistema músculo esquelético (Aguilar *et al.*, 1994; Argueta *et al.*, 1994); En el caso de los habitantes de Villa del Carbón y Estado de

México también ocupan a *C. aequipetala* para tratar la caspa y el cáncer. Con respecto a este último padecimiento, aunque está implícito en el nombre popular de la especie (hierba del cáncer), es importante destacar lo difícil que es entender e interpretar esta nosología en el contexto de la medicina tradicional popular, ya que se puede referir a un grano con pus o a una infección vaginal (Aguilar *et al.*, 1994; Zolla *et al.*, 1994); por lo que se tendría que realizar el estudio sobre etnobotánica médica para indagar su patología y saber cuáles son las causas, signos y síntomas que permitan ubicar este padecimiento ("cáncer") dentro alguna clasificación nosotaxonomía. Con respecto al saber popular sobre el reconocimiento de esta especie, los habitantes adultos y especialmente las amas de casa de Villa del Carbón, son quienes fundamentalmente la ubican e identifican por el color de la flor y la época del año en la que crece, pero no por sus caracteres morfológicos vegetativos o su aroma, a diferencia de otras plantas medicinales (Santillán-Ramírez *et al.*, 2008). En la comunidad los pobladores cuentan con un amplio conocimiento empírico y manejo cuidadoso en la preparación y administración de *C. aequipetala* como recurso terapéutico vegetal, pues habitualmente utilizan toda la planta, preparándola en infusión o cocimiento; además es administrada de forma oral o local. Las nosologías tratadas con mayor frecuencia por la población entrevistada, con la hierba del cáncer (*C. aequipetala*) fueron las gastrointestinales y las afecciones del sistema músculo-esquelético, lo cual coincide con lo reportado por Aguilar *et al.* (1994) y Argueta *et al.* (1994) para las zona centro de México. Los resultados muestran la incorporación de otros recursos de atención diferente a las instituciones de salud pública, como la de personas que practican el naturismo, quienes también recomiendan el uso de esta planta para padecimientos relacionados con heridas y golpes.

Anatomía

Hoja. Los estomas de tipo anisocítico fueron comunes en *Cuphea aequipetala*, y en menor proporción se observaron diacíticos. El primer tipo es el más común en Lythraceae, pero puede existir variación dependiendo de la especie (Metcalf y Chalk, 1950). Por otro lado, se señala que en la epidermis de esta familia son comunes las células mucilaginosas (Metcalf y Chalk, 1950), carácter que también se evidenció en la especie estudiada. Con base en la

revisión de los ejemplares de herbario, se mostró que diferentes individuos de *C. aequipetala* pueden presentar gran cantidad de tricomas en tallo y hoja, o bien ser glabros independientemente del hábitat y/o altitud. En este sentido, Amarasinghe *et al.* (1991) mencionan que en una misma población pueden existir formas con tricomas glandulares y ser glabras, por lo que la presencia/ausencia de tricomas tiene un valor taxonómico limitado para los taxa que los presentan. Para el caso de *C. aequipetala* probablemente los tricomas apoyen en la separación de variedades. Los dos tipos de apéndices reconocidos en la lamina foliar de *C. aequipetala* también son descritos por (Amarasinghe *et al.*, 1991); sin embargo, se observaron diferencias en la base de los tricomas glandulares Tipo 1. Ellos mencionan que esta base se extiende a manera de bulbo, característica que no se aprecia en la especie estudiada, aunque sí se reconocieron contenidos de color ámbar en el interior de las células basales y a lo largo del tricoma. Los tricomas unicelulares o uniseriados bicelulares son frecuentes en diferentes especies de *Cuphea* y se consideran taxonómicamente significativos, principalmente a nivel de especie (Amarasinghe *et al.*, 1991). Las observaciones que Metcalfe y Chalk (1950) realizan sobre las verrugas de los tricomas unicelulares (Tipos 2a y 2c) es que éstas se componen de sílice; este mineral lo utiliza la planta como defensa ante el ataque de patógenos y contra la herbívora (Evert, 2006).

El mesófilo bifacial y su capa única de células en empalizada, observados en la hoja de *C. aequipetala*, también se reportan en otras litráceas, encontrándose que el número de estratos de este parénquima puede variar entre 1 y 3 en distintas especies (Metcalfe y Chalk, 1950). Sin embargo, los contenidos de forma esférica y drusas presentes en el mesófilo no se reportan por Metcalfe y Chalk (1950), pero estos autores sí reconocen algunos cristales asociados a racimos vasculares en algunas venas del pecíolo en las Lythraceae. Con respecto a los contenidos de forma esférica, probablemente sean de naturaleza lipídica, ya que Waizel *et al.* (2003) describe la presencia de ácidos grasos en esta especie. En la nervadura central se revelaron diferencias anatómicas entre individuos, como son la forma y tamaño de las células de la epidermis adaxial, cantidad de capas de colénquima laminar y de parénquima que existen por debajo de éste. Otros caracteres como la presencia hacia el envés de clorénquima en unos casos y esclerénquima en otros, contribuyen también a la

variación anatómica de esta región. Estas dos posibilidades, clorénquima-esclerénquima, posiblemente respondan a las necesidades mecánicas del órgano donde se desarrollan estos tejidos, o estar asociados con la madurez de la planta. En general estas diferencias pueden estar relacionadas con adaptaciones de los individuos, como respuesta al ambiente donde se desarrollan, como se ha visto en numerosas angiospermas (Metcalfe y Chalk, 1983; Shweingruber *et al.*, 2006). Para el tallo Metcalfe y Chalk (1950) describen que en sección transversal, tallos jóvenes de varias especies de *Cuphea* forman un polígono de 4-5 ángulos, contrario a esto, en la especie estudiada este eje posee un contorno circular a ovalado en los tres niveles. De los tres tipos de tricomas epidérmicos reconocidos para *C. aequipetala* en este trabajo, sólo los Tipos T1 y T4 se observan en el eje; de éstos únicamente el Tipo 4 es reportado por Amarasinghe *et al.* (1991). A diferencia de lo Metcalfe y Chalk (1950) describen en el córtex de *Cuphea*, en *C. aequipetala* no se observó un sistema de espacios intercelulares, ni una endodermis con bandas de Caspari evidentes en la parte más interna del córtex; sin embargo, una vaina de parénquima apenas perceptible rodea al cilindro central en la sección superior del tallo, misma que se pierde en estadios posteriores de madurez del mismo (hacia la base). Otros caracteres presentes en el córtex, como el esclerénquima pobremente desarrollado o ausente y la presencia de fibras aisladas se reportan en el córtex de varios representantes de las Lythraceae. Para la especie estudiada células esclerosadas están presentes formando paquetes, Zago *et al.* (2009) se refieren a estos paquetes como capas de células mucilaginosas en el córtex de *C. glutinosa*. Uno de los caracteres de mayor peso para distinguir a la familia es la presencia de floema intraxilemático. En *C. aequipetala*, hacia el interior del xilema secundario y periféricos a la médula, se distinguen regiones de floema que aquí lo definimos como floema interno.

Arquitectura foliar

Hickey (1974) utiliza el término arquitectura foliar para definir características externas de la hoja, basándose en que la mayoría de las familias y géneros poseen modelos de organización arquitectónica consistente y reconocible. Con base en esto en este trabajo se encontró que caracteres de *C. aequipetala* como la lámina simple, con el margen entero, así como la venación pinnada con venación secundaria broquidódroma, son compartidos con las Myrtales

(Hickey y Wolfe, 1975). Con respecto al margen foliar, estos autores reportan que algunos representantes de las Myrtales muestran la presencia de diente tipo theoide; sin embargo, en la *Cuphea* estudiada no fue observado. Por otro lado, Mundo (2007) menciona que en otras Lythraceae, como en *Lafoensia pacari*, las hojas están constituidas por una venación pinada, camptódroma de tipo broquidódromo, debido a que las nervaduras secundarias no terminan en el margen y se unen en una serie de arcos prominentes; estos caracteres también se presentan en *C. aequipetala*. Otros aspectos de la venación como son los de orden superior, no han sido descritos anteriormente para las especies del género *Cuphea*, pero podrían ser útiles en la identificación de *C. aequipetala* (Martínez-Cabrera *et al.*, 2003).

Fitoquímica

El extracto de acetona-agua de *Cuphea aequipetala* ha sido previamente reportado con actividad citotóxica *in vitro* contra las líneas tumorales humanas DU-145 (próstata) y HCT-15 (colón) con $DE_{50} = 8.15$ y 18.70 $\mu\text{g/ml}$ (Vega-Ávila *et al.*, 2004). Otros estudios han mostrado que los extractos, procedentes de las hojas de *C. aequipetala*, obtenidos con hexano, cloroformo y etanol no presentaron actividad citotóxica ($ED_{50} > 20$ $\mu\text{g/ml}$) sobre los cultivos de células P388 (leucemia murina), KB (carcinoma nasofaríngeo humano) y KB-V1 (células de carcinoma nasofaríngeo resistente a vincristina) (Villarreal *et al.*, 1992).

El extracto de acetona-agua de *C. aequipetala* mostró la presencia de taninos hidrolizables (elagitaninos) y condensados. Se ha reportado que algunas fracciones de dicho extracto, las cuales contienen taninos presentaron actividad citotóxica *in vitro* sobre la línea celular cancerosa DU-145 (Vega-Ávila *et al.*, 2004). Otras especies relacionadas, como *Cuphea hyssopifolia* sintetizan los elagitaninos macrocíclicos cufina D₁, cufina D₂, oenoteina B y woodfordina C (Chen *et al.*, 1999), dichos compuestos inhibieron *in vitro* el crecimiento de las líneas tumorales humanas KB, HeLa, DU-145, HL-60 y Hep 3B (Wang *et al.*, 1999). Estos taninos también inhibieron el crecimiento de tumores S-180 en ratones. La cufina D₁ ocasionó el mayor incremento en la sobrevivencia de los ratones con tumores S-180 (Wang *et al.*, 1999). Las células HL-60 tratadas con CD₁ presentaron condensación de cromatina, además de que el análisis de citometría de flujo mostró que las células tenían bajo contenido de ADN, disminución de la población celular en la fase G2/M y un incremento

de la población celular en la fase G1. CD₁ también causó fragmentación de DNA e inhibió la expresión en las células HL-60. Estos resultados sugieren que CD₁ induce la expresión de Bcl-2 en las células HL-60 y que actúa induciendo la apoptosis. (Wang *et al.*, 2000)

Los análisis realizados con el extracto de acetona-agua en el presente trabajo indicaron que *C. aequipetala* también contiene manitol, el cual también ha sido identificado de especies relacionadas como *C. writii* (Pérez-Castorena y Maldonado, 2003), *C. epilobifolia*, *C. infundibulum*, y *C. carthagenesis* (González *et al.*, 1994). A la fecha se desconoce si el manitol posee propiedades citotóxicas, empero se sabe que su DL_{50} es muy alta (13500 mg/kg) por vía oral en ratas, por lo cual prácticamente es inocuo en este modelo. Sin embargo, el manitol se ha empleado junto con medicamentos antitumorales con resultados interesantes. En el caso del 5-fluoruracilo (5-FU), se administró el fármaco en forma de tabletas cubierta con manitol a pacientes con cáncer gastrointestinal, observando que el 5-FU/manitol fue más efectivo que el 5-FU solo, además de que no presentó efectos mielosupresivos (Cartei *et al.*, 1996).

CONCLUSIONES

El conocimiento acerca de la hierba del cáncer sigue vigente y es una de las especies de uso frecuente en la herbolaria mexicana, como alternativa importante en el cuidado de la salud. En este estudio se registraron seis categorías de uso para la hierba del cáncer *C. aequipetala*: heridas, golpes y cólicos gastrointestinales fueron las más mencionadas, mientras que cáncer, cólicos menstruales, y caspa fueron las menos representativas.

En relación a la anatomía de *C. aequipetala*, se reconocen tres tipos de tricomas en los individuos que los presentaron; su presencia/ausencia, abundancia y tipos, pueden ser usados para la separación de taxa por debajo del nivel de especie. Existen diferencias marcadas en la nervadura central, éstas se basan principalmente en la forma y tamaño de las células epidérmicas, en la cantidad de capas de colénquima laminar y de parénquima, así como en la presencia de clorénquima en unos casos y esclerénquima en otros. La arquitectura foliar de *C. aequipetala* es descrita por primera vez y puede contribuir parcialmente en la resolución de problemas de índole taxonómico.

Los estudios químicos preliminares indican la presencia de taninos y manitol. Algunos elagitaninos aislados de especies de *Cuphea* han mostrado

actividad antiproliferativa *in vitro* sobre las líneas tumorales humanas.

Con los estudios realizados se dan a conocer datos que serán tomados en cuenta para que *C. aequipetala* se incluya en la FHEUM.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar A, Camacho JR, Chino S, Jáquez P, López ME. 1994. **Plantas medicinales del Herbario** 1ª Ed. Instituto Mexicano del Seguro Social. México DF, México.
- Aguilar-Rodríguez S. 1998. **Técnicas de laboratorio para el estudio de las Embriofitas**. In Tejero DJD, Granillo VMP (Eds.): *Plantae: Introducción al estudio de plantas con embrión*. Ed. Facultad de Estudios Superiores Iztacala-UNAM, Estado de México, México.
- Alexiades MN. 1996. Collecting ethnobotanical data. Selected Guidelines for Ethnobotanical Research. Ed. MN Alexiades. New York, The New York Botanical Garden Press, New York, USA.
- Amarasinghe V, Graham SA, Gram A. 1991. Trichome morphology in the genus *Cuphea* (Lythraceae). **Bot Gaz** 152: 77 - 90.
- Argueta V, Cano AL, Rodarte ME. 1994. **Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana**. Instituto Nacional Indigenista. México DF, México.
- Cartei F, Cartei G, Giraldi T, Interlandi G, Meneghini G, Imperato A, Vigevani E, Tabaro G. 1996. A phase II study of oral fluorouracil for gastrointestinal cancer. **Anticancer drugs** 7: 48 - 53.
- Chen LG, Yang LL, Ken KY, Hatano T, Okuda T, Yoshida T. 1999. Macrocytic ellagitannin dimers, cuphins D1 and D2 and accompanying tannins from *Cuphea hyssopifolia*. **Phytochemistry** 50: 307 - 312.
- Curtis P. 1986. **Microtecnia vegetal**. Ed. Trillas. México.
- Evert, FR. 2006. **Esau's plant anatomy. Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body: Their Structure, Function, and Development**. Ed. Wiley-Interscience. New Jersey, USA.
- Fahn A. 1985. **Anatomía Vegetal**. Ed. Pirámide. Madrid, España.
- FHEUM. 2001. **Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos**. Secretaría de Salud, México DF, México.
- González AG, Valencia E, Siverio ET, Bermejo BJ, Gupta MP. 1994. Chemical components of *Cuphea* species. Carthagenol: A new triterpene from *C. carthagenensis*. **Planta Med** 60: 592 - 593.
- Graham SA. 1991. Lythraceae. **Flora de Veracruz** 66: 1 - 94
- Graham SA. 1994. **Lythraceae. Flora del Bajío y regiones adyacentes**. Instituto de Ecología AC. Centro Regional del Bajío, Pátzcuaro, Michoacán, México.
- Grantham M. 2012. Las *Cuphea* en el arboretum strybing. http://www.sfbotanicalgarden.org/cf/pdf/cuphea_span.pdf (Consultado 13 de Mayo de 2012).
- Haslam E. 1989. **Plants polyphenols-vegetable tannins revisited**. In Chemistry and pharmacology of Natural Products. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Hickey LJ. 1974. Arquitectura de las hojas dicotiledóneas. **Bol Soc Argent Bot** 16: 1 - 26.
- Hickey LJ, Wolfe AJ. 1975. The bases of angiosperm phylogeny. Vegetative morphology. **Ann Missouri Bot Gard** 62: 538 - 589.
- Leaf architecture working group. 1999. **Manual of leaf architecture morphological description and categorization of dicotyledonous and net-veined monocotyledonous angiosperms**. Smithsonian Institution. Department of Paleobiology. Washington DC, USA.
- Martínez AMA. 1976. **Posible metodología a seguir en el estudio de las plantas medicinales mexicanas**. In Viesca TC (Ed.): *Estudios Sobre Etnobotánica y Antropología Médica*, Ed. IMEPLAM. México DF, México.
- Martínez-Cabrera D, Terrazas T, Zavala-Chávez F. 2003. Arquitectura foliar y anatomía de la corteza y la madera de *Quercus sartorio* y *Q. xalapensis* (Fagaceae). **Bol Soc Bot Méx** 73: 63 - 72.
- Metcalf CR, Chalk L. 1950. **Anatomy of the dicotyledons**. Ed. Clarendon Press, Oxford, UK.
- Metcalf CR, Chalk L. 1979. **Anatomy of the dicotyledons, Systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject**. Ed. Clarendon Press, Oxford, UK.
- Metcalf CR, Chalk L. 1983. **Anatomy of the dicotyledons, wood structure and conclusion of the general introduction**. Clarendon Press, Oxford, UK.

- Mundo SR. 2007. **Caracteres morfoanatómicos de folha e caule de espécies brasileiras de uso medicinal: *Calophyllum brasiliense* CAMBESS. (Clusiaceae), *Cupania vernalis* CAMBESS. (Sapindaceae) e *Lafoensia pacari* A.ST.-HIL. (Lythraceae).** Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Defesa, Curitiba, Brasil.
- Pérez-Castorena AL, Maldonado E. 2003. Triterpenes and flavonoid glycosides from *Cuphea wrightii*. **Biochem Syst Ecol** 31: 331 - 334.
- Pouchert CJ, Behnke J. 1993. **The Aldrich Library of ¹³C and ¹H FT NMR Spectra.** Edition I. Aldrich Chemical Co Inc, USA.
- Ruzin S. 1999. **Plant Microscopy and Microtechnique.** Oxford University Press, New York, USA.
- Rzedowski GC de. 2001. Lythraceae, pp. 470- 76. In Rzedowski GC. de y J Rzedowski (Eds.): Flora Fanerogámica del Valle de México.. Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán) México.
- Santillán-Ramírez MA, López-Villafranco ME, Aguilar-Rodríguez S, Aguilar-Contreras A. 2008. Estudio etnobotánico, arquitectura foliar y anatomía vegetativa de *Agastache mexicana* sp. *mexicana* y *A. mexicana* sp. *xolocotziana*. **Rev Mex Biodiv** 79: 513 - 524.
- Shweingruber FH, Börner A, Schulze E-D. 2006. **Atlas of woody plant stems. Evolution, structure, and environmental modifications.** Ed. Springer, Berlin Heidelberg, New York, USA.
- Vega-Ávila E, Tapia-Aguilar R, Jiménez-Estrada M, Villarreal-Ortega ML, Ramos RR. 2004. Cytotoxic activity of *Cuphea aequipetala*. **Proc West Pharmacol Soc** 47: 129 - 133.
- Villarreal ML, Alonso DE, Melesio G. 1992. Cytotoxic activity of some mexican plants used in traditional medicine. **Fitoterapia** 63: 518 - 522.
- Wang CC, Chen LG, Yang LL. 1999. Antitumor activity of four macrocyclic ellagitannins from *Cuphea hyssopifolia*. **Cancer Lett** 140: 195 - 200.
- Wang CC, Chen LG, Yang LL. 2000. Cuphiin D1, the macrocyclic hydrolysable tannin induced apoptosis in HL-60 cell line. **Cancer Lett** 149: 77 - 83.
- Waizel BJ, Martínez PG, Villarreal OM, Alonso CD, Pliego CA. 2003. Estudio preliminar etnobotánico, fitoquímico, de la actividad citotóxica y antimicrobiana de *Cuphea aequipetala* Cav. (Lythraceae). **Polibotánica** 15: 99 - 108.
- Zago AM, Palermo MM, Farias M A, Dolejal ZG. 2009. Morfonatomia do caule de *Cuphea glutinosa* Cham. & Schldl. (Lythraceae). **Rev Bras Farmacogn** 19: 720 - 726.
- Zolla C, Mata S, Méndez D, Zurita M.1994. **Diccionario enciclopédico de la medicina tradicional mexicana.** Instituto Nacional Indigenista. Tomo I. México DF, México.
- http://www.sfbotanicalgarden.org/cf/pdf/cuphea_span.pdf (Consultado el 7 de mayo de 2012). Grantham Martin, Las *Cuphea* en el Arboretum Strybing. Autorizado por Pacific Horticulture 63(4).