

**ESTUDIO PRELIMINAR ETNOBOTÁNICO, FITOQUÍMICO, DE LA
ACTIVIDAD CITOTÓXICA Y ANTIMICROBIANA
DE *CUPHEA AEQUIPETALA* CAV. (LYTHRACEAE)**

José Waizel-Bucay

*Depto. de Investigación. Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía
Instituto Politécnico Nacional. Becario COFAA-PEDD, IPN*

Graciela Martínez-Porcayo

*Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía, IPN
Guillermo Massieu Núm. 239, Col. La Escalera, Ticomán 07320, México, DF.
Tel. 57 29 60 00 ext. 55540, fax. 55 86-47 41. Correo electrónico: josewaizel@hotmail.com*

Ma. Luisa Villarreal-Ortega

*Centro de Investigación en Biotecnología. Universidad Autónoma de Morelos
Av. Universidad Núm.1001, Chamilpa, Cuernavaca, Morelos*

Daniel Alonso-Cortés

*Centro de Investigación Biomédica del Sur del Instituto Mexicano del Seguro Social
Calle Argentina Núm. 1, Xochitepec, Morelos*

Amada Pliego-Castañeda

*Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI
Instituto Mexicano del Seguro Social
México, DF*

RESUMEN

Cuphea aequipetala es una especie mexicana, de forma herbácea, cuyas hojas y tallos han sido empleados empíricamente en el tratamiento de golpes, diarreas, padecimientos estomacales, paperas, baños posparto; para lavar lesiones, disminuir la fiebre en sarampión, viruela y otras enfermedades, en tumores y heridas

cutáneas de difícil cicatrización y contra la caída del cabello. En este estudio, se demostró la presencia de: alcaloides, flavonoides y glucósidos en las fracciones metanólica y de acetato de etilo. Los glicósidos también se encontraron en la fracción hexánica, mientras que las lactonas sesquiterpénicas sólo fueron encontradas en la porción metabólica, la que mostró ligera acción citotóxica sobre la línea celular de

cáncer de cérvix [cuello uterino] (UISO-SQC1). Los demás extractos no mostraron ninguna actividad citotóxica, sobre las líneas: carcinoma nasofaríngeo (KB) y de colon (HCT-15 Coladcar). Las pruebas de eficacia antimicrobiana no exhibieron inhibición significativa en cultivos de bacilos, cocos y levaduras. Los resultados preliminares indican actividad biológica positiva, por lo que se recomienda continuar estos estudios con material proveniente de diferentes localidades.

Palabras clave: Farmacología, etnobotánica médica, fitoquímica, citotoxicidad, ensayos antimicrobianos, *Cuphea*, Lythraceae, plantas medicinales.

ABSTRACT

The leaves and stems of the Mexican herb *Cuphea aequipetala* Cav. have been used empirically to treat bruises, diarrhea, stomach ailments and goiters; for postpartum or hip baths; to disinfect wounds; to lower the fever associated with measles and smallpox; for tumors and skin wounds of difficult cicatrization; and to counter hair fall. In this work we showed the presence of alkaloids, flavonoids and glycosides in the methanolic and ethyl acetate extracts of the plant; glucosides were also found in the hexanic extract, whereas sesquiterpene lactones were only found in the methanolic fraction, which showed small cytotoxic activity against cervix carcinoma cells (UISO-SQC1). The other extracts did not show cytotoxic activity against nasopharyngeal (KB) and colon cancer cells (HCT-15, coladcar).

The antimicrobial assays did not exhibit significant inhibition against bacteria and yeast cultures compared to common antibiotics. The results showed positive biological ac-

tivity, but we cannot make definitive conclusions about their pharmacological activity without expanding these assays to cover specimens obtained from different localities in the country.

Key words: Pharmacology, medical ethnobotany, phytochemistry, cytotoxicity and antimicrobial assays, *Cuphea*, Lythraceae, medicinal plants.

INTRODUCCIÓN

El género *Cuphea* L. posee alrededor de 300 especies, muchas de las cuales han sido usadas como ornamentales por la belleza de sus flores. Actualmente es motivo de estudios agronómicos debido a que algunas especies como *C. viscosissima* Jacq. –entre otras–, elaboran ácidos grasos de 8, 10 y 12 átomos de carbono que almacenan en sus semillas, y que tienen importancia económica para la industria aceitera (Roath, WW. *et al.*, 1993). Por otro lado, muchas de las especies del género tienen gran diversidad de usos en la medicina tradicional.

En este trabajo se tratará de convalidar científicamente algunos de los usos populares que se le dan a *Cuphea aequipetala*, así como también se pretende contribuir al conocimiento de su composición química mediante el análisis fitoquímico preliminar, y la determinación de algunos grupos de metabolitos secundarios. También se realizaron, con las fracciones aisladas, ensayos de su actividad citotóxica y antimicrobiana.

Sinonimia científica

Cuphea aequipetala Cavanilles, ha recibido también la siguiente denominación científica:

Cuphea scabrida HBK, *Cuphea virgata* Cav. y *Parsonsia aequipetala* (Cav.) Standley.

Sinonimia común

Se le denomina popularmente entre otros nombres, como: “alcancer, alfilerillo, *apancholoa* (náhuatl), *atlanchán*, cachanchillo, cordón de San Francisco guinda, hierba del ángel, hierba del cáncer, calavera, miel de abeja, mirto, mirto morado, moyote, pantillo, pelatito, percha del abejorro, petalito, rama roja, topo de indias, tripa de tuza, *nochleb vonon*, *tzoyleb vonon*, *tzoyob vonon* (maya), violeta, x’cuan de la (zapoteca).

Descripción botánica

La especie se agrupa en el orden Myrtales, dentro de la familia Lythraceae, y tiene las siguientes características: hierba perenne de 40 cm y hasta 1 m de altura, aunque comúnmente mide de 30-40 cm, con ramas entrelazadas, frecuentemente es postrada. Tallo por lo general de color morado o rojo oscuro con ramas ascendentes, con la superficie cubierta de pelillos violáceos o rojizos. Hojas sésiles o sobre un peciolo hasta de 0.7 a 1 cm de largo, opuestas o verticiladas, estrechamente ovadas, de 0.8-3 cm de longitud por 0.4 a 1.5 cm ancho. Flores interpeciolares pequeñas con pedicelos de 1 a 6 mm de largo, dotadas de un par de bracteolas pequeñas cerca del ápice; con pétalos desiguales purpúreo-violáceos, de 0.5 a 1 cm de largo, 11 estambres con filamentos glabros o algunos poco pubescentes; fruto del tipo cápsula elipsoide que mide 8 mm de largo y contiene alrededor de cinco semillas; es originaria de México (Rzedowski, 1985; Ann y Berlin, 2001; Torres, s/f). Se ilustra en la figura 1.

Se le considera planta venenosa y se caracteriza por ser visitada por abejas y abejorros, de allí los diferentes nombres que recibe en lengua tzotzil.

Hábitat

Crece en lugares con climas: cálido, semicálido, semiseco y templado, desde los 1,000 m.s.n.m. en bosques: espinoso, mesófilo de montaña, de encino, pino, mixto de pino encino y de junípero, también en el bosque tropical caducifolio y subcaducifolio, en matorral xerófilo y pastizal.

Utilización en medicina tradicional

En el libro I, Cap. XXXVII, Francisco Hernández (1570-76, citado en la edición del año 1942) menciona, respecto del *apancholoa* o “hierba que brota en las aguas”: identificada como *Cuphea aequipetala* Cav.¹, que, ...“es de naturaleza fría, seca y astringente, por lo cual cura la quemadura o las úlceras de la boca; el agua en la que se hayan remojado por algún tiempo las raíces después de machacarlas, colada y tomada, detiene el flujo de vientre, principalmente el de los niños, y evita el aborto, pero más eficazmente si se mezclan con una planta que se llama *cozticpotoncaxochitl*, triturándolas y macerándolas con ella; presenta además otros muchísimos auxilios propios de dicho temperamento. Nace en lugares campestres de regiones templadas como la de *Tetzoco*, donde tuvimos cuidado de pintarlo, en terrenos mojados o acuosos, de donde toma el nombre”. Además, en la referida obra se presenta una breve descripción botánica de la especie junto con la determinación taxonómica antes citada, y respecto de sus usos se comenta que vulgarmente la planta se usa en forma de cocimiento como

¹ La determinación botánica es de la edición de 1942, y no se dice quién la realizó.



Fig. 1. *Cuphea aequipetala* Cav.: A. Rama con flores; B. Flor disecada, a. cáliz, b. pétalo; C. Corte transversal del ovario. Tomado de “Flora fanerogámica del Valle de México”, Rzedowski & Rzedowski, 2001. Dibujo elaborado por Alberto Velázquez.

vulneraria (propia para la curación de las heridas) o aplicada a las heridas contusas y tumores, también como corroborante para las parturientas frotando la espalda y caderas con la hierba fresca y machacada después del baño de temazcal, además se dice que “es algo venenosa”.

Otra información de tipo etnomédico fue proporcionada por el biólogo Fermín Bringas C., quien refiere que la planta es empleada, en el lugar de recolecta del material vegetal utilizado en este estudio (Canalejas, en el Estado de México), para curar “llagas o tumores que tardan mucho tiempo en sanar”.

La bibliografía consultada refiere que sus tallos y hojas cocidas y en fomentos, han sido empleadas en México en forma empírica o popularmente, para desinfectar heridas contusas, en el tratamiento de golpes, enfermedades tumorales y en heridas de la piel difíciles de cicatrizar (Martínez, 1959).

En forma de infusión, por vía oral, ha sido usada para tratar la disentería o la diarrea (con o sin expulsión de sangre) y malestares del estómago. Las flores y hojas machacadas en el tratamiento de las paperas, en baños posparto, o en baños de asiento para bajar la temperatura por sarampión, viruela u otras causas; también “pueden aplicarse directamente a las heridas, los polvos preparados a partir de las hojas o trozos de corteza secos, o cataplasmas elaboradas con el material herbolario fresco, o bien cociones que se aplican para lavar la lesión” (Mata *et al.*, 1994).

“Las hojas de esta planta más la “salvia de monte” se usan para embarazarse. La infusión de la parte aérea se emplea en afecciones hepáticas y contra tumores

cancerosos. La planta hervida con sal y o en cataplasma se emplea para curar heridas y tumores. El cocimiento de la planta se usa para lavar heridas, granos, golpes e inflamaciones. También se emplea en afecciones urinarias, estomacales, ardores, diarrea, disentería, afecciones en los ojos, para purificar la sangre y como somnífero. Además, en casos de paperas, dolor de cintura, caída del pelo y como tónico y vulnerario”, además la planta completa se emplea en rituales de tipo ceremonial y religioso (Torres, s/f).

La *Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos* (2001) refiere que sus tallos y hojas tienen atribuciones tradicionales en caso de “diarrea” y “heridas”.

Siete especies del mismo género también se utilizan en la medicina tradicional mexicana, para aliviar el “empacho”, “para enamorar”, “en recaída de calentura”, contra la caída del pelo, “en baños para señoras”, etc. (Aguilar, *et al.*, 1994). Mientras que *Cuphea carthagenesis* (Jacq.) J. F. Macbr., se emplea en Brasil en el tratamiento de la sífilis y contra la malaria, y en Guatemala se le refiere como remedio para múltiples propósitos (González, A. G., *et al.*, 1994), dicha especie también habita en México.

Algunos aspectos fitoquímicos de *Cuphea* spp.

Además de ácidos grasos, también se reportan para el género la presencia de triterpenos, esteroides, sapogeninas, glucosidos (manitol, fitoesteroides, betasitosterol, estigmasterol, ergosterol, beta-amirina, ácido betulínico y epifriedelinol), (González, *op. cit.*; Roath, WW. *et al.*, 1993.).

D. Martins y N. F. Roque (1995) aislaron compuestos fenólicos, flavonoides, esteroides y glicósidos de *Cuphea aperta* usada en Brasil como antihipertensiva. Mientras que Santos Dyac, *et al.* (1995), al estudiar 16 especies del género del mismo país, aislaron 35 flavonoides.

MATERIAL Y MÉTODOS

Procedencia del material botánico

La planta fue recolectada por Fermín Bringas Contreras en un bosque de pino-encino, a una altitud aproximada de 2,400 m. s.n.m., en Canalejas, municipio de Jilotepec, Estado de México. Se depositó un ejemplar de respaldo en el herbario de la Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía, del Instituto Politécnico Nacional, en la ciudad de México (especimen Núm. 349). La determinación botánica fue llevada a cabo por Fermín Bringas Contreras y José Waizel-Bucay.

Análisis fitoquímico

El material vegetal colectado fue secado al aire a temperatura ambiente y sus hojas, flores y tallos se pulverizaron en molino de cuchillas. A 40 g de dicho polvo y mediante el aparato denominado "soxhlet", se le realizaron tres extracciones de ocho horas cada una, en los disolventes: hexano, acetato de etilo y metanol, las que se concentraron a presión reducida en el rotavapor, dejando evaporar a sequedad a temperatura ambiente.

Se realizó la identificación de los principales grupos de metabolitos secundarios en cada extracto: alcaloides con los reactivos de Mayer, Dragendorff, Wagner y prueba del ácido silicotúngstico. La determinación de glicósidos se llevó a cabo con las técnicas

de Molish y Legal; los flavonoides mediante las pruebas de Shinoda, la del ácido sulfúrico y las técnicas de Demroth, y las llevadas a cabo con los ácidos bórico y cítrico.

Por último, la identificación de las lactonas sesquiterpénicas se realizó siguiendo las pruebas de hidroxamato, Legal y la de Baljet, (Domínguez, 1979).

Pruebas de citotoxicidad

Los ensayos de citotoxicidad de los tres extractos hexánico, metanólico y el obtenido a partir de acetato de etilo, se probaron de acuerdo a protocolos internacionalmente aceptados para evaluar la citotoxicidad de extractos vegetales (Geran, *et al.*, 1972 y Villarreal *et al.*, 1992) sobre cultivos de tres líneas celulares provenientes de cánceres humanos: KB (Carcinoma nasofaríngeo), UISO-SQC1 (células escamosas de carcinoma de cérvix [cuello uterino]) y HCT-15 COLADCAR (carcinoma de colon). Las líneas celulares UISO-SQC1 y HCT-15 COLADCAR, utilizadas en la presente investigación, fueron donadas al Centro de Investigación Biomédica del Sur del Instituto Mexicano del Seguro Social, por el Programa de Productos Naturales del Instituto Nacional de Cáncer de los Estados Unidos de Norteamérica, mientras que la línea KB, originalmente obtenida de ATCC, fue donada por el Departamento de Farmacognosia de la Universidad de Illinois.

Todas las líneas celulares cultivadas en medio RPMI adicionado de 10% de suero fetal bovino (FBS) previamente inactivado, se mantuvieron a una temperatura de 37° C y en una atmósfera de 5% CO₂ en aire (100% humedad). Los cultivos celulares en fase de crecimiento exponencial (72 horas después

de su siembra) fueron subcultivados a una densidad de 25,000 cel/ml; 2.85 ml fueron depositados en tubos estériles y tratados por triplicado con varias concentraciones de los extractos vegetales (1.0, 10.0 y 100 ug/ml), agregándose un volumen de 0.15 ml de dichos extractos a cada tubo problema con suspensión celular y 0.15 ml de DMSO (disolvente dime-tilsulfóxido, utilizado para redissolver el extracto vegetal) al 10% a los tubos control.

Los cultivos fueron incubados por 72 horas en las mismas condiciones de temperatura y humedad. La concentración celular se determinó por análisis de proteínas de acuerdo al método de Oyama (Oyama, 1956).

Pruebas de la actividad antimicrobiana

En el Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, del Instituto Mexicano del Seguro Social, y siguiendo el método de impregnación de disco de Bawer *et al.* (1966), se realizaron los ensayos de la actividad antimicrobiana de las tres fracciones de la planta, con y sin diluir en el disolvente original, contra cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus sp.* (coagulasa-negativo), *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, y *Candida albicans* aisladas de productos diversos de pacientes oncológicos, comparándoseles con los siguientes antibióticos: amoxicilina, ampicilina, carbenicilina, cefalotaxina, cefalotina, cloranfenicol, fosfomicina, gentamicina, penicilina, sulfametoxazol-trimetopim.

RESULTADOS:

1. Análisis fitoquímico

Los resultados de la determinación de

grupos de metabolitos secundarios se muestran en el cuadro 1.

2. Citotoxicidad

De acuerdo con los resultados obtenidos sólo se apreció ligera actividad citotóxica en el extracto metanólico (ED50=17.4ug/ml), sobre la línea celular UISO-SQC1. Los demás extractos no mostraron actividad citotóxica.

3. Actividad antimicrobiana

Las pruebas de la actividad antimicrobiana, no mostraron inhibición significativa del halo de crecimiento de los microorganismos utilizados al compararlos con antibióticos de uso común.

CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES

De este estudio preliminar multidisciplinario, se puede concluir que la especie elabora: alcaloides, flavonoides, glicósidos y lactonas sesquiterpénicas; compuestos que pueden ser responsables de la actividad biológica que presenta la planta, por lo que sería conveniente ampliar los estudios utilizando otras líneas celulares cancerosas, y otros microorganismos patógenos. Así también sería importante realizar las investigaciones con material en fresco de la planta recién colectada, y compararlos con los resultados obtenidos con planta seca.

AGRADECIMIENTOS

Los autores reconocen el apoyo económico para la realización de este estudio a la (entonces denominada) Dirección de Estudios de Posgrado e Investigación del

Cuadro 1. Análisis fitoquímico preliminar de *Cuphea aequipetala*.

Significado de las claves: N/det, no se determinó; -, prueba negativa; <+, ligeramente positiva; +, positiva; ++, positiva en mayor concentración.

Grupo químico: **Alcaloides**

Prueba/fracción	Metanólica	Acetato de etilo	Hexánica
Meyer	+	+	N/det
Dragendorf	++	++	N/det
Wagner	+	++	N/det
AC.Silicotúngstico	<+	+	N/det

Grupo químico: **Flavonoides**

Prueba/fracción	Metanólica	Acetato de etilo	Hexánica
Shinoda	+	<+	-
Ácido sulfúrico	+	+	-
Demroth	-	-	-
Ácido bórico	-	-	-
Ácido cítrico	-	-	-

Grupo químico: **Glicósidos**

Prueba/fracción	Metanólica	Acetato de etilo	Hexánica
Molish	+	-	-
Legal	+	-	-

Grupo químico: **Lactonas sesquiterpénicas**

Prueba/fracción	Metanólica	Acetato de etilo	Hexánica
Hidroxmato	-	-	-
Legal	+	-	-
Bajjet	+	-	-

Instituto Politécnico Nacional (Proyecto Núm. 950874) y también al Instituto Mexicano del Seguro Social. De igual modo, se reconoce a la Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas y al Programa de Apoyo al Desempeño Docente del IPN por la beca conferida al Doctor José Waizel Bucay.

Se agradece la lectura crítica al manuscrito realizada por la maestra en ciencias Josefina Herrera Santoyo.

LITERATURA CITADA

- Aguilar, C. A., J.R. Camacho, S. Chino, P. Jácquez y M.E. López, 1994. *Herbario medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. Información Etnobotánica*. Edición del IMSS México. pp. 129-130.
- Ann, E. y B. Berlin, 2001. "Plantas Medicinales de los Altos de Chiapas". ECOSUR. En: <http://www.ecosur.mx/eemm/cuphea.htm>
- Argueta, V. A. (Coord.), 1994. *Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana*. Ed. del Inst. Nal. Indigenista. México.
- Bawer, W. A.; W. M. M. Kirby, & J. C. Sherris, *et al.*, 1966. "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method". *Am. J. Clin. Pathol.*, **45**:493-496.
- Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 2001. *Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos*. Ed. de la Secretaría de Salud. México. Anexo II. p.47.
- Domínguez, A. X., 1979. *Métodos de investigación fitoquímica*. Edit. Limusa. México. pp. 40-43.
- Font Quer, P. s/f, *Botánica Pintoresca*. Edit. Ramón Sopena, SA, Barcelona, España. p. 543.
- Geran, R.I. *et al.*, 1972. "Protocols for screening chemical agents and natural products against animal tumors and other biological systems". *Cancer Chemotherapeutics Reports*. Part 3(2).
- González, A. G., Valencia, E., Siverio-Expósito, T. & J. Bermejo-Barrera, 1994. "Chemical components of *Cuphea* species. Carthagenol; a new triterpene from *C. carthagenensis*". *Planta Médica*, **60**(6):592-593.
- Mata, S.P., D. Méndez, E., M.A. Marmolejo M., J.A. Tascón, M., M. Zurita, E. *et al.*, 1994. *Diccionario Enciclopédico de la Medicina Tradicional Mexicana*. vol. I. Ed. del Inst. Nal. Indigenista. México. 256-258.
- Martins D. & N.F. Roque, 1995. "Constituents of *Cuphea aperta*". *Fitoterapia*, **66**(2):187.
- Martínez, M., 1959. *Plantas medicinales de México*. Edit. Botas, SA, México, DF.
- Oyama, V. I. & W. Eagle, 1956. "Measurement of cell growth in tissue culture". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **91**:305-307.
- Regalado, G.G., 1981. *Plantas medicinales de la vertiente sur de la Sierra de*

- Pachuca, Hgo.* Tesis Prof. Biólogo. Esc. Nal. de Ciencias Biológicas, IPN. México, DF, p.78.
- Roath, W.W., M.P. Widrlechner & J.H. Kirkbride, 1993. "Collecting *Cuphea* in Brazil, Mexico and United States". *Plant-Genetic-Resources-Newsletter*, **93**:29-33.
- Rzedowsky, J. y G. C. Rzedowsky (Edits.), *Flora Fanerógamica del Valle de México*. vol. II. *Dicotyledoneae*. Ed. de la ENCB. e Inst. Ecología. México. pp. 136-138.
- Rzedowsky, J., 1985. "*Cuphea aequipetala* Cav". En: *Plantas medicinales de Jesús del Monte*. <http://www.ccu.umich.mx/museo/hist-natural/botanica/plantas-medicinal/lythra.html>
- Santos D. Y. A. C.; M. L. F. Salatino & A. Salatino. 1995. Flavonoids of species of *Cuphea* (Lythraceae) from Brazil. *Biochemical Systematics & Ecology*, **23**(1):99-103.
- Torres, R. J. M. s/f. Semarnap (Secretaria de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca). *Catálogo de especies y productos no maderables en bosques de encino, pino y pino-encino en los estados de Chihuahua, Durango, Jalisco, Michoacán, Guerrero y Oaxaca*. Semarnap y CIDE, México.
- En: Internet: <http://www.semarnat.gob.mx/pfnm/CupheaAequipetala.html>.
- Villarreal, M. L. D. Alonso y G. Melesio, 1992. "Cytotoxic activity of some mexican plants used in traditional medicine". *Fitoterapia*, **LXII**:518-522.