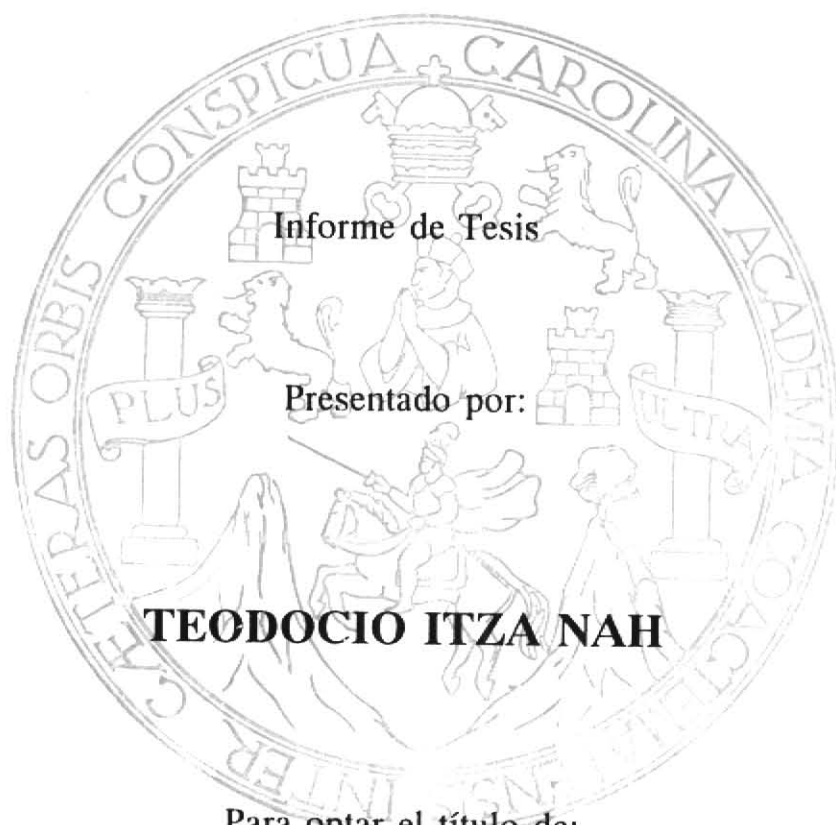


891
236.51

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**DETERMINACION DE ACTIVIDAD CONTRA UN
COMPLEJO ACIDO DESOXIRRIBONUCLEICO-
VERDE DE METILO DE EXTRACTOS ETANOLICOS
DE CINCO PLANTAS UTILIZADAS EN LA MEDICINA
POPULAR GUATEMALTECA**



Informe de Tesis

Presentado por:

TEODOCIO ITZA NAH

Para optar el título de:

QUIMICO BIOLOGO

Guatemala, junio de 1998

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

06
T(1891)
e.4

**JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

DECANO	LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
SECRETARIO	LIC. OSCAR FEDERICO NAVE HERRERA
VOCAL I	DR. OSCAR MANUEL COBAR PINTO
VOCAL II	LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN
VOCAL III	LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE
VOCAL IV	BR. HERBERTH RAUL AREVALO ALVARADO
VOCAL V	BR. MANOLA ANLEU FORTUNY

DEDICATORIA

A DIOS

Fuente infinita de luz que siempre ilumina mi camino.

A MI MADRE

Anita Nah de Itza

Ejemplo de fe y esperanza: ahora en la eternidad.

A MI PADRE y A MIS HERMANOS

Perfecto Itza B.

Raquel, Gregoria, Dominga, Dalia C., Josué y Eliseo

Todos los cuales aceptaron pacientemente las molestias y las ausencias debidas a mi larga dedicación a este trabajo y a quienes debo el logro alcanzado.

A REV. TOM LACEY

Por su amistad, apoyo y comprensión: ahora en la eternidad.

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS

Por el apoyo y la amistad que me brindan.

A MI PATRIA

Belice.

AGRADECIMIENTOS

A: Lic. Armando Cáceres, sin cuya ayuda hubiera sido imposible la elaboración de esta tesis.

Licda. Evelyn Rodas por su valiosa orientación y ayuda.

El Laboratorio y Droguería de Productos Fitofarmacéuticos FARMAYA que proporcionó las muestras e información sobre las plantas utilizadas.

El apoyo del subprograma X (Química Fina Farmacéutica) del Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED) que proporcionó los procedimientos y algunos de los reactivos.

El Departamento de Citohistología, en cuyas instalaciones se efectuó parte de los trabajos.

Todas las personas que colaboraron con la realización del presente trabajo.

INDICE

	Página
1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Antecedentes	3
3.1 Plantas de uso medicinal en Guatemala	3
3.2 Etnofarmacología de plantas utilizadas	3
3.3 Evaluación de toxicidad	14
4. Justificaciones	20
5. Objetivos	21
6. Hipótesis	22
7. Materiales y métodos	23
8. Resultados	29
9. Discusión de resultados	32
10. Conclusiones	34
11. Recomendaciones	35
12. Referencias	36
13. Anexos	45

1. RESUMEN

En esta investigación se evaluó la actividad de desoxirribonucleasa de cinco plantas de las familias Apocynaceae (*Rauvolfia tetraphylla*), Euphorbiaceae (*Croton guatemalensis*), Sapotaceae (*Chrysophyllum cainito*), Solanaceae (*Solanum americanum*) y Sterculiaceae (*Guazuma ulmifolia*), las cuales han demostrado actividad de algún tipo y que se utilizan en la medicina popular guatemalteca. Las plantas fueron proveídas por el Laboratorio y Droguería de Productos Fitofarmacéuticos Farmaya provenientes de sus grupos de proveedores, se secaron a la sombra y se prepararon extractos etanólicos que posteriormente fueron concentrados utilizando un rotavapor.

Para evaluar la actividad de desoxirribonucleasa se utilizó un complejo ácido desoxirribonucleico-verde de metilo (ADN-VM). En placa de 96 pozos se agregaron 100 μ l de complejo ADN-VM los cuales fueron tratados con 100 μ l de extractos en concentraciones de 10, 100 y 1,000 μ g/ml de cada una de las plantas estudiadas. Se leyó la absorbancia inmediatamente y a las 24 horas después de tratar el complejo. Se utilizó berenil a una concentración de 60 μ g/ml como control positivo. La actividad de desoxirribonucleasa se observó por medio de la disminución de la absorbancia inicial de cada uno de los tratamientos y por comparación con el control positivo el cual si demostró una disminución de absorbancia cumpliéndose la relación dosis/efecto.

De las cinco plantas estudiadas, solamente *Solanum americanum* demostró actividad contra el complejo ADN-VM a una dosis de 1,000 μ g/ml. Las restantes cuatro plantas no mostraron actividad en ninguna de las tres concentraciones.

2. INTRODUCCION

Guatemala es un país que por sus características geográficas y topográficas presenta una variedad de aspectos climáticos, hídricos, ambientales y bióticos, que permite poseer riqueza y diversidad en los ecosistemas (1).

Desde tiempos remotos los pobladores del campo aprendieron el aprovechamiento de esta diversidad biológica, utilizando una amplia variedad de plantas como un importante fuente de recursos alimenticios o medicinales, aunque sin tener una base científica o técnica para su utilización, usando la experiencia y la observación como principal instrumento para la diseminación de conocimientos de generación en generación (2).

Actualmente, muchas son las personas que recurren a los diferentes centros naturistas donde les son recetados remedios de procedencia vegetal por tiempos prolongados sin que exista un control sobre los posibles efectos tóxicos y/o mutagénicos que poseen. Esto talvez se deba a la escasez de información sobre los posibles efectos tóxicos que diferentes plantas poseen.

Con el presente estudio se logró montar el método colorimétrico de ácido desoxirribonucleico-verde de metilo (ADN-VM) en el Departamento de Citohistología para detectar la presencia o ausencia de actividad de desoxirribonucleasa o tóxico genético de componentes presentes en extractos de cinco plantas, que han demostrado actividad contra algún microorganismo patógeno al hombre y que actualmente se utilizan como medicamentos para enfermedades diversas.

3. ANTECEDENTES

3.1 Plantas de uso medicinal en Guatemala

Recientemente se han realizado en nuestro país varias investigaciones que han contribuido al conocimiento de las propiedades biológicas y farmacológicas de una amplia variedad de plantas utilizadas en la medicina popular guatemalteca. Gracias a esta información, el uso de muchas de las plantas en forma tradicional ha dejado de ser empírico (3).

Con la divulgación de ésta información, la medicina vegetal ha evolucionado de manera acelerada, que hoy día en nuestro medio, se puede encontrar en el mercado muchos medicamentos elaborados a base de plantas medicinales.

3.2 Etnofarmacología de las plantas utilizadas

3.2.1 Familia: Apocynaceae

Nombre científico: *Rauvolfia tetraphylla* Lamy

Nombre Popular: Alcotán, Amatillo, Cabamuc, Curarina,

Matacoyote, Señorita, Viborilla, Chalchupa

3.2.1.1 Descripción botánica

Arbusto semileñoso, 1-4 m de alto, ramificado, finamente pubescente, con abundante látex. Hojas en 3-5 verticilos, delgadamente oblongos a anchamente ovadoelípticas, 2-13 cm de largo, agudas u obtusas. Inflorescencia condensada, más corta que las hojas, pocas flores, glabras o puberulentas; corola muy pequeña, puberulenta o glabra; estambres insertos a la mitad de la corola. Frutos en drupa subglobosa, 5-8 mm de diámetro, color rojo que se torna negro al madurar (4).

3.2.1.2 Hábitat

Nativo de México, Centro América, Caribe y norte de Sud América en matorrales secos o húmedos, frecuentemente como crecimiento secundario tropical o maleza en campos abandonados y orilla de caminos hasta 2,000 msnm; introducida en la India. En Guatemala se ha descrito en Baja Verapaz, Chimaltenango, El Progreso, Escuintla, Huehuetenango, Izabal, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa (4,5,6).

3.2.1.3 Usos medicinales

La decocción de raíz se usa oralmente para tratar malaria, mordeduras de culebra (4,7-9), dolor de estómago (10), bajar la presión arterial (11), como depurador (12) y febrífugo (13,14). La infusión de hojas se usa para tratar disentería y malaria (15,16). La savia o látex se usa en hidropesía y tos crónica (15); se aplica en ojos inflamados y edema; la corteza se usa para desintegrar muelas (7,17).

Tópicamente se usa el cocimiento de tallos o frutos machacados en emplastos para mordedura de serpientes, piquetes de avispas y alacranes; el cocimiento y hojas del tallo se usa para curar úlceras, sarna, sífilis y otras enfermedades cutáneas (3,7,18); la ceniza de la planta quemada se aplica en las heridas para evitar infecciones; la decoción de la raíz se usa para bajar la hipertensión (5) y tratar afecciones orales (7) y erisipela (19); el extracto de la corteza con aceite sirve para curar sarna y otras afecciones cutáneas (13,20). El látex se usa para caries dentales, fortalecer las encías, como colirio oftálmico y cicatrizal (15). Los frutos machacados se usan para tratar tinea (7).

A la hoja, tallo, corteza y raíz se les atribuye propiedad febrífuga, antimalárica y sedante (13,21). A la savia o látex se le atribuye propiedad catártica, diurética, emética y expectorante (7,15).

3.2.1.4 Otros usos populares

El fruto produce un colorante azul oscuro (22).

3.2.1.5 Farmacología

Estudios antibacterianos demuestran que los extractos acuoso y etanólico de la planta completa son inactivos contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (21). Estudios antifúngicos demuestran que la tintura de hojas no presenta actividad contra hongos patógenos a 200 mg/ml (23).

3.2.1.6 Composición química

El tamizaje fitoquímico de la planta completa indica la presencia de alcaloides, glicósidos cardiotónicos, taninos y triterpenos (21). Contiene múltiples alcaloides, (deserpídina, heterofilina, isoreserpínina, reujemídina, reserpídina, reserpilina, reserpina, rauwolscina, tetrafilicina, tetrafilina, α -yohimbina) (4,7,19,24).

3.2.1.7 Toxicología

El extracto etanólico de la planta completa produce ligero efecto sedante en peces (40 ppm) y toxicidad (500 ppm) (20). El fruto es generalmente considerado tóxico, el látex puede causar dermatitis (4,7). Los síntomas de intoxicación por los frutos son: dolor de la boca, constricción faríngea, náusea, vómitos y aún la muerte (18).

3.2.2 Familia: Euphorbiaceae

Nombre científico: *Croton guatemalensis* Losty

Sinonimias: *Croton eluterioides* Losty, *Croton reflexifolius* HBK

Nombres Populares: Copalchí, Caché, Chul, Guanacaste, Hoja amarga, Perexcutz, Quina, Sasafrás, Zicché

3.2.2.1 Descripción botánica

Arbol o arbusto delgado, hasta 8 m de alto. Hojas firmes membranosas, en largos o cortos peciolo delgados, ovadas o anchamente trianguladas, 7-15 cm de largo, acuminadas, cordadas o truncadas a la base, enteras, verdes en la superficie superior, glabras con el tiempo, densamente lepidotas por debajo, plateado blanquecinas. Inflorescencia en racimos axilares, numerosas, más cortas que los sépalos; pétalos ovado-lanceolados, ciliados, glabros; 15 estambres, ovario densamente lepidoto. Cápsula subglobosa, 8 mm de largo, lepidota (25).

3.2.2.2 Hábitat

Nativo de Mesoamérica en bosques secos o húmedos, frecuentes en colinas pedregosas hasta 1,800 msnm, a veces plantados como rompevientos en plantaciones de café. Se encuentran del sur de México a Costa Rica. En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Escuintla, Guatemala, Quetzaltenango, Quiché, Retalhuleu, Sacatepéquez, Santa Rosa y Suchitepéquez (25,26).

3.2.2.3 Usos medicinales

Las hojas secas se venden en Guatemala con fines medicinales (7); la decocción se usa como desinfectante (11). La decocción de corteza es amarga y se usa para tratar fiebres intermitentes, inflamación (25), anemia, escalofríos, malaria, resfrío (10,11,13,19,27,28-30), reumatismo (12,18) y enfermedades gastrointestinales (diarrea, dispepsia, empacho, vómitos) (27), renales y respiratorias (tuberculosis) (21). De la corteza se prepara un elixir para la malaria y tuberculosis (12,13). El cocimiento de la raíz se usa para tratar asma (15).

El cocimiento de las hojas y raíz se usa tópicamente para tratar abscesos, heridas y tenia (15); la resina se utiliza para cauterizar heridas (20). El cocimientos de la corteza en enjuagues y baños se usa para lavar heridas (27).

Se le atribuye propiedad analgésica, antimalárica, desinfectante, diurética, emoliente, estimulante, febrífugo y tónica (13,12,30).

3.2.2.4 Otros usos populares

Se siembra como sombra del café. La corteza se utiliza para darle sabor a una bebida de maíz (29).

3.2.2.5 Farmacología

Estudios antibacterianos demuestran que los extractos acuoso y etanólicos tienen moderada actividad contra *S. aureus*, son inactivos contra *E. coli* (12). La tintura es inactiva contra bacterias gram-positivo y gram-negativo, pero es activa contra *Candida albicans* (32).

La infusión al 10% de corteza de *C. guatemalensis* tiene actividad contra esquizontes de *Plasmodium berghei* (70 mg/kg), las hojas tienen actividad aunque en menor grado, se demostró que es mejor que la actividad de la droga de referencia (artemisinina, 50 mg/kg) (33).

El elixir a base de la corteza fue usado como antimalárico y tónico hace tiempo, con aparentes buenos resultados, por lo que recibió un premio en un Congreso en El Salvador (18).

3.2.2.6 Composición química

Esta especie ha sido poco estudiado en su composición química (32).

3.2.2.7 Toxicología

Los extractos acuoso y etanólico de hojas y corteza (500 ppm) son tóxicos a peces de género *Mollinesia* (21); se recomienda no ingerir el látex (27). La administración oral de 3 g/kg de la infusión acuosa al 10% liofilizada no produce ningún efecto tóxico en ratones (33).

3.2.3 Familia: Sapotaceae

Nombre Científico: *Chrysophyllum cainito* Losty

Nombre Popular: Caimito, Chico zapote

3.2.3.1 Descripción botánica

Arbol de 8-30 metros de altura, perennifolio, con jugo lechoso; hojas ovales o anchamente elípticas u oblongas, cortamente acuminadas, de color verde por arriba y marrón por el envés de 5.5-12 cm; flores pequeñas; fruto globoso del tamaño de una naranja, blanco o morado, con pulpa blanca muy jugosa y dulce, comestible; con muchas semillas medianas de color café oscuro (7,17).

3.2.3.2 Hábitat

Originario de las Antillas y que se cultiva en diversas regiones tropicales de México. En Guatemala se ha descrito en la mayoría de las regiones cálidas del país (8,17).

3.2.3.3 Usos medicinales

El cocimiento de las hojas se utiliza, por vía oral, como expectorante y se le atribuye propiedades astringentes (8).

Al fruto se le atribuye propiedades astringentes o laxante según se usen maduros o verdes. La pulpa lechosa es utilizada para el tratamiento de gastritis y parasitismo intestinal (8,34).

Las semillas tienen propiedades diuréticas (8).

El látex es utilizado para el tratamiento de infecciones micóticas superficiales y en infecciones de las encías (35).

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

3.2.3.4 Otros usos populares

Su principal producto es el fruto, artículo de comercio en los mercados de tierra caliente.

La madera es de buena calidad y se utiliza para construcción y en trabajos de carpintería.

En algunos lugares se utiliza como planta de sombra y ornato en parques y jardines por la belleza de su follaje (7,8,17).

3.2.3.5 Composición química

Se ha reportado la presencia de saponinas, coumarinas y alcaloides en el género (35).

Se ha reportado la presencia de gluco-mircetinas en ésta especie (35).

3.2.3.6 Toxicología

Esta especie ha sido poco estudiada y se desconoce si tiene alguna propiedad tóxica (17,25).

3.2.4 Familia : Solanaceae

Nombre científico: *Solanum americanum* Miller

Sinonimias: *Solanum nodiflorum* Jacq.

Nombre Populares: Macuy, Hierba mora, Quilete

3.2.4.1 Descripción botánica

Es una hierba de 1 m de alto; tallo pubescente. Hojas en pares o solitarias, 3-14 cm de largo, lanceoladas, ápice agudo. Inflorescencia internodal, racemiforme, pedunculado, pocas flores. Flores en cálices de 1-2 mm, lóbulos ovalados, agudos; corola blanca, limbo partido, 5-8 mm de ancho, estilo 2.5-3.5

cm de largo, más largo que los estambres, ovario globoso. Fruto globoso, negro al madurar, 4-8 mm de diámetro; semillas pequeñas (36).

3.2.4.2 Hábitat

Solanum americanum es nativa de América, crece en matorrales y sembradíos 350-1,500 msnm. En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Escuintla, Guatemala, Huehuetenango, Jutiapa, Petén, Retalhuleu, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa (36).

3.2.4.3 Usos medicinales

El cocimiento de las hojas y semillas se utiliza, por vía oral en el tratamiento de afecciones gastrointestinales (cólico, diarrea, estreñimiento, gastritis, úlcera gástrica) (37) y afecciones respiratorias (asma, amigdalitis, tos ferina) (15), anemia y cirrosis (15), dolor de muelas (27), escorbuto, hinchazón, meningitis, nerviosismo, paludismo (12), hipertensión, retención urinaria y reumatismo (7,38).

La decocción de hojas se usa por vía tópica para el tratamiento de afecciones dermatomucosas (acné, abscesos, dermatitis, eczema, ericipela, exantema, heridas, leucorrea, llagas, mezquinos, pústulas, tiñas, úlceras y vaginitis) (10,38-40); la cataplasma de hojas frescas se usa para tratar ericipela (27), los frutos se usan para tratar verrugas y madurar abscesos (41).

Se le atribuye propiedad aperitiva, calmante, depurativa, diurética, desinflamante, emoliente, febrífuga, mineralizante, reconstituyente, sedante y vulneraria (7,10,11,38-40,42).

3.2.4.4 Otros usos populares

Como alimento en caldo o frita con huevo, es una hierba que se consume en grandes cantidades en el país y es frecuente encontrarla en los mercados y

supermercados, se acostumbra ingerirlo para la convalecencia y recuperación de diversas enfermedades (36,38,43).

3.2.4.5 Composición química

Aunque poco estudiada se sabe que contiene alcaloides (solasodina, solasonina, glucoalcaloides y alcalinas) y cantalosaponinas (40).

3.2.4.6 Farmacología

Estudios antibacterianos demuestran que la decocción de las hojas tiene actividad antibiótica contra *S. aureus* (44-46).

Estudios antimicóticos demuestran que la decocción y tintura de hojas son activas contra *C. albicans* (38,47) y *Cryptococcus neoformans* (48).

La decocción de hojas presenta cierta actividad inmunomoduladora medida por la proliferación de la población de linfocitos y el aumento en títulos de anticuerpos séricos contra eritrocitos de carnero (49). La infusión tiene actividad antiinflamatoria (50) y espasmolítica (51).

3.2.4.7 Toxicología

Estudios de citotoxicidad demuestran que el extracto presenta actividad hemolítica aun en altas diluciones (1:1,000); en las concentraciones terapéuticas no presenta citotoxicidad hacia células de fibroblastoma (1:64), en diluciones 1:32 el 64% permanece viable después de incubación por 30 min (52).

Los frutos de *S. nigrum* al ser ingeridos se consideran tóxicos al ganado, ovejas, pollos y patos, aunque las opiniones con relación a la toxicidad de esta planta son contradictorias, ya que se han dado casos de envenenamiento en animales domésticos, pero también se usa en la cocina y la elaboración de pasteles; los principios tóxicos se atribuyen a solanina y solanidina; los síntomas de intoxicación son: vómitos, diarrea, dolores de cabeza y estómago, dificultad para ver y hablar, debilidad, sudoración fría, alteración del pulso, alucinaciones e

inconsciencia, sin embargo esta toxicidad no ha sido demostrada en *S. americanum* (53).

3.2.5 Familia: Sterculiaceae

Nombre científico: *Guazuma ulmifolia* Lam

Sinonimias: *Theobroma guazuma* L.; *Guazuma polybotrya* Cav.;

Guazuma tomentosa HBK.; *Guazuma guazuma* L.; Cacerola.

Nombre Popular: Caca de mico, Contamal, Chicharrón, Guácima,

Pixoy, Tapaculo, Xuyuy, Caulote.

3.2.5.1 Descripción botánica

Arbol de 12-20 m de alto, ramas extendidas. Hojas verdes, alternas, oblongo-ovadas, 5-15 cm de largo, dentadas en la base, peludas. Flores fragantes, amarillas, 5 partes, en pequeños grupos en las axilas foliares. Fruta redonda, 1-4 cm de largo, verrugosa, carnosa, pulpa mucilaginosa dulce cuando inmadura; negra, seca y espinosa al madurar; semillas 3-4 mm de largo (25).

3.2.5.2 Hábitat

Nativo de México hasta Sur América y Caribe, en pastos y bosques secundarios hasta 1,200 msnm; introducida en los trópicos de Asia y Africa (54). En Guatemala se ha descrito en la mayoría de departamentos del país (25).

3.2.5.3 Usos medicinales

El cocimiento de frutos se usa para tratar diarrea, resfrío (18) y problemas renales (55); la infusión y cocimiento de corteza se usa para tratar malaria, sífilis (12,15,28,56), calvicie, gonorrea, fracturas (57), elefantiasis (7,56,58) y afecciones respiratorias (gripe, tos, sarampión)(57); las hojas se usan para tratar afecciones del hígado y riñones, asma, bronquitis, fiebre y gonorrea (10,20). La

corteza de raíz se usa contra hemorroides y disenteria (59). El cocimiento de corteza se usa tópicamente para tratar afecciones dermatomucosas (estomatitis, lepra, piodermia, quemaduras), fracturas e inflamaciones (18,31,57).

Se le atribuye propiedad antiinflamatoria, aperitiva, depurativa, digestiva, diurética, febrífuga, lipolítica, sudorífica y tónica (57,60).

3.2.5.4 Otros usos populares

La madera tiene múltiples usos en carpintería, para fabricar herramientas, para construcción y leña (61), es rosada, sin olor y poco sabor, textura burda, fácil de trabajar y poco durable (62); el jugo del tronco se usa para clarificar la miel en la fabricación de azúcar (7,9,59); las semillas se usan para elaborar bebidas refrescantes; la corteza fibrosa se usa para fabricar cuerdas (7). La fruta se come cruda o cocida (7,55,57); se usa para alimentar pollos (89). El mucilago se usa para fijar peinados y repellar paredes (46).

3.2.5.5 Farmacología

Estudios antimicrobianos demuestran que la tintura de hojas es poco activa contra *E. coli*, *Streptococcus pneumoniae* y *S. aureus* (44,63), es inactiva contra *Pseudomonas aeruginosa*, *C. albicans*, *Aspergillus niger* (56) y *Neurospora crassa* (63); ninguno de los extractos con diferentes disolventes presenta actividad contra enterobacterias (64). El extracto etanólico es inactivo contra *Entamoeba histolytica* (65). La hoja es activa contra herpesvirus, pero no contra polio (56). El extracto etanólico de raíz y tallo no tiene actividad citotóxica contra células B asesinas, el extracto de hojas es potente inhibidor (97.3%) (63).

Estudios farmacológicos demuestran que la decocción de hojas no tiene actividad diurética(66) ni hipotensora (67) en ratas.

3.2.5.6 Composición química

El tamizaje fitoquímico indica que la hoja no tiene compuestos mayores (68) salvo cafeína. La corteza contiene bufadienólicos, cardenólicos, esteroides insaturados, flavonoides, leucoantocianinas y β -sitosterol y terpenoides (24,43). Las flores contienen flavonoides (43).

3.2.5.7 Toxicología

Grandes dosis del fruto causan náusea, vómito y disenteria (16). La dosis letal (DL_{50}) del extracto acuoso de hojas por vía oral en ratón es 25 g/kg; intraperitoneal es 5.9 g/kg (56).

3.3 Evaluación de toxicidad

3.3.1 Mecanismos para la toxicidad

3.3.1.1 Citotoxicidad basal

Incluye procesos que afectan estructuras y funciones comunes a todas las células del cuerpo, como membrana celular, mitocondria, ribosomas, cromosomas y lisosomas, los cuales pueden demostrarse como resultado del ataque a la integridad de la membrana celular, actividad mitocondrial o a la síntesis proteica (o de ADN) (69).

3.3.1.2 Citotoxicidad órgano específica

Incluye procesos en la cual una sustancia tóxica afecta las funciones especializadas características de un tipo celular tisular en particular (69).

3.3.1.3 Toxicidad a nivel de organismo

Incluye procesos en las cuales las sustancias químicas interfieren con productos del metabolismo o secreciones considerados como interferentes de funciones órgano específicas, pueden llegar a afectar el organismo en su totalidad (69).

3.3.2 Métodos para evaluación de la toxicidad

3.3.2.1 *In vivo*

3.3.2.1.1 Toxicidad aguda

Los ratones de laboratorio son animales bastante sensibles a sustancias tóxicas presentes en las plantas. La administración de los extractos en cantidades crecientes permite evaluar los límites de toxicidad; idealmente deben probarse dos vías, tres dosis y ambos sexos, debiendo tomarse en cuenta factores como edad, sexo, peso, especie, condiciones ambientales, acceso a la comida y al agua. Las observaciones que se efectúan incluyen: relación dosis-respuesta, síntomas y signos tóxicos, conducta del animal durante el periodo de observación, tiempo de muerte, velocidad de recuperación y autopsia de los animales muertos (32). El procedimiento se basa en el descrito por Spearman & Karber, que sirve para determinar la DL_{50} en una administración única (72).

3.3.2.1.2 Toxicidad subaguda

La evaluación de esta toxicidad se realiza mediante la administración de la sustancia a evaluar en cantidad constante durante 30 días (32).

3.3.2.1.3 Toxicidad crónica

Se realiza igual a lo anterior solo que por 90 días en lugar de 30 días (32).

3.3.2.1.4 Teratogenicidad

Se entiende por teratógeno a cualquier sustancia capaz de inducir malformaciones estructurales, disfunciones fisiológicas, alteraciones de la conducta y deficiencias en la progenie, al nacer o inmediatamente después del periodo post-natal, cuando se aplica a hembras durante el periodo de embarazo (32,69,73).

Los métodos para evaluar teratogenicidad utilizan generalmente, roedores y conejos, principalmente por su corto período gestacional en comparación a otras especies (21 y 32 días respectivamente), además de la cantidad de crías por gestación, ya que se puede obtener de 8 a 10 embriones por embarazo. Esto permite determinar el número de fetos afectados y es un indicador particular de la selectividad y medida de toxicidad. El procedimiento usualmente incluye la exposición a la sustancia a evaluar antes o inmediatamente después de la concepción (73).

3.3.2.1.5 Ensayo de micronucleos

Este ensayo se utiliza para medir la toxicidad que se manifiesta por un daño genético. Dicho ensayo estudia el posible daño genético *in vivo* basándose en contabilizar los trozos de cromatina que han sido generados por la acción de un agente químico sobre los cromosomas celulares. Para visualizar este daño se usa como modelo celular eritrocitos jóvenes de ratón que recientemente han expulsado el núcleo (74,75).

3.3.2.2 *In vitro*

3.3.2.2.1 Toxicidad basados en la interacción con el ADN

3.3.2.2.1.1 Ensayos que utilizan el principio de mutagenicidad

Se entiende con mutágeno a cualquier sustancia que posee la capacidad para producir cambios a nivel genético (76).

Estos métodos utilizan ciertas bacterias o células especialmente preparados, las cuales tienen incorporado un fago en lisogenia que les confiere una deficiencia metabólica específica y que en presencia de un mutágeno puede mutar y producir una progenie que no presenta el defecto inicial. Existen ensayos específicos con cepas mutadas de *E. coli* (77), *Salmonella typhimurium* (76,78) y *Bacillus subtilis* (79) que pueden medir la capacidad mutagénica de un extracto o compuesto químico y que aplican al estudio de productos naturales (80-82).

3.3.2.2.1.2 Ensayo de clonación

Es un ensayo que revela el daño producido a nivel de ADN. Mide la capacidad que una célula tiene para dividirse como mínimo seis veces después de ser sometida a un tratamiento. Se realiza con cultivos de la línea celular V-79 incubados con extractos de plantas o sustancia química por un corto período de tiempo, luego de la cual se siembran en un medio especial y se incuban por una semana para permitir el crecimiento de clones, cuyo número determina la eficiencia clonogénica (No. de clones por pozo/No. de células sembradas) que es una medida directa de la integridad reproductiva de las células (83).

3.3.2.2.1.3 Inhibición de la acción de Topoisomerasas I y II.

Las topoisomerasas son una clase de enzimas que modulan la estructura topológica del ADN. Las topoisomerasa facilitan la replicación semiconservativa de dos bandas helicoidales de ADN manteniendo la integridad molecular y estructural. Debido a la naturaleza de las reacciones catalizadas por estas enzimas, la inhibición de las mismas por agentes tóxicos puede inducir una respuesta biológica adversa (84-86).

3.3.2.2.1.4 Ensayo de excisión del ADN

Este ensayo utiliza como sustrato un ADN circular superenrollado con unión covalente, el cual es incubado por 30 min a temperatura ambiente en presencia de cofactores como iones de cobre (Cu^{2+}) y de una sustancia química o extracto natural que potencialmente tenga la capacidad de producir una excisión de un fragmento de ADN. LA unión única dentro de los miles de pares de bases de ADN circular superenrollado resultaría en la relajación de la forma A a la forma B; ésta última, es separable por medio de electroforesis en gel de agarosa, el cual es altamente sensible. La mezcla resultante, por lo tanto, es separada por electroforesis y la cantidad de la forma B separada refleja el grado de capacidad de excisión del compuesto analizado (86).

3.3.2.2.1.5 Cromatografía líquida de alta presión (HPLC-del inglés)

Este método utiliza una columna analítica con carbono activado. El ADN tiene la propiedad de eluir con un pico no retenido, por lo que la aplicación conjunta de sustancias que posean afinidad al ADN, disminuye el tamaño del pico y velocidad de elución del ADN. Para hacer ésta determinación es necesario hacer un fraccionamiento de los extractos de las plantas a estudiar utilizando ADN y procedimientos de elución con Cromatografía líquida de alta presión (86).

3.3.2.2.1.6 Microensayo colorimétrico ADN-VM

El colorante histoquímico verde de metilo (VM) en su forma libre en condiciones ligeramente alcalinas (pH 7.5) sufre una hidrólisis mediante la cual una molécula de agua se une a su estructura química provocando la formación de un carbinol incoloro. Este colorante que formando un complejo reversible con ADN polimerizada es utilizado como sustrato experimental para la detección de sustancias cuyos bioreceptores son moléculas de ADN. Es estable a un pH 7.5 teniendo una coloración verde claro con un coeficiente de extinción molar con absorbancia máxima a una longitud de onda mayor a la del verde de metilo (87).

Este ensayo es utilizado para la detección de agentes que interactúan directamente con el ADN teniendo actividad de ADNasa o capacidad de desplazamiento por hidrólisis enzimática de bases; actividades que en determinadas condiciones podrían favorecer intercalaciones críticas de segmentos de ADN interfiriendo así con el aparato genético celular (87,88).

Se conoce poco sobre la estructura del complejo ADN-VM, por lo que es difícil inferir el mecanismo por el cual el colorante es desplazado de la doble hélice del ADN. El VM se une al ADN con una estequiometría de una molécula por trece nucleótidos e inhibe la fotodimerización de pirimidinas sobre un intervalo crítico de veinte pares de bases. En su forma compleja con el ADN, el colorante VM es estable y protegido de la oxidación producida por el peróxido de

hidrógeno. La unión del VM es de preferible con una doble hélice de ADN polimerizada. El ADN desnaturalizado por calor une poco VM (89).

Estudios anteriores de afinidades de drogas sintéticas, antibióticos y alcaloides, a la doble hélice del ADN, han concluido en que el colorante no está intercalado en la doble hélice, sino que se une a está en su conformación B, con fuerzas que son predominantemente electrostáticas (89).

Este ensayo se basa en la detección de actividad de ADNasa presente en compuestos químicos sintéticos o naturales mediante la liberación del VM de un complejo ADN-VM. Se utiliza éste complejo ADN-VM como sustrato de ADNasa el cual es estable a pH 7.5 a diferencia de la inestabilidad de VM libre a éste pH, el cual experimenta cambios moleculares por la unión de una molécula de agua dando en la formación de un carbinol incoloro, reacción que puede ser seguida espectrofotométricamente en base a la extinción de la absorbancia ($\lambda=630$ nm) causada por la liberación del VM del complejo ADN-VM y la formación de un carbinol incoloro a pH 7.5 (87-89).

4. JUSTIFICACION

En Guatemala, actualmente existe una gran cantidad de centros naturistas a los que recurren las personas buscando tratamiento para algún tipo de enfermedad. En la mayoría de los casos a la gente le son recetados medicamentos de procedencia vegetal que según la experiencia tienen propiedades medicinales tales como antimicrobianas, diuréticas, antiinflamatorias y estimulantes. En muchos de los casos, estos son utilizados en exceso y en forma no controlada sin que el médico o el paciente tenga algún conocimiento sobre los posibles efectos citotóxicos que poseen.

En nuestro medio existe poca información sobre los posibles efectos tóxicos que estas plantas puedan poseer. Esto posiblemente se deba a que los ensayos *in vivo* utilizando animales son muy tardados y de alto costo. Por lo que se hace necesario disponer de métodos rápidos y sensibles para detectar una acción adversa de componentes presentes en las plantas utilizadas como medicamentos por la población.

El ensayo colorimétrico con ADN-VM es una prueba fácil, rápida, de bajo costo y disponible en nuestro medio que nos facilita la obtención de información acerca los posibles efectos tóxico-genéticos de plantas utilizadas en la medicina popular guatemalteca.

5. OBJETIVOS

5.1 General

5.1.1 Establecer procedimientos que permitan evaluar la potencialidad tóxico-genética de extractos de plantas medicinales por métodos *in vitro*.

5.2 Específicos

5.2.1 Montar y estandarizar el método colorimétrico ADN-VM en el departamento de Citohistología.

5.2.2 Detectar el potencial de interacción con el ADN en cinco plantas de uso medicinal seleccionadas por haber demostrado actividad contra algún microorganismo patógeno al hombre.

6. HIPOTESIS

Las cinco plantas a analizar carecen de actividad de desoxirribonucleasa contra el complejo ácido desoxirribonucleico-verde de metilo.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 Universo de trabajo

7.1.1 Universo de estudio

El universo estuvo constituido por plantas utilizadas en la medicina popular guatemalteca y que han demostrado actividad antimicrobiana en estudios previos.

7.1.2 Muestra

La muestra estuvo constituida por extractos etanólicos de cinco plantas usadas en la medicina popular guatemalteca que han demostrado bioactividad en estudios previos. Tales como *Guazuma ulmifolia* (caulote), *Ravolfia tetraphylla* (matacoyote), *Croton guatemalensis* (copalchi), *Chrysophillum cainito* (caimito) y *Solanum americanum* (quilete) (Tabla 1).

7.2 Recursos

7.2.1 Humanos

Tesista : Br. Teodocio Itza Nah

Asesor : Lic. Armando Cáceres Estrada

7.2.2 Físicos

7.2.2.1 Materiales

Balón de aforar

Percoladores

Vasos de precipitar

Viales con tapadera de rosca

Pipeta automática de 50-200 ul, con puntas desechables

Placas con 96 pozos

Cajas de petri de vidrio

Espátula

Papel encerado

Varilla de vidrio

Tijeras

Tierra de diatomeas

Algodón

Papel filtro

Jeringas de 3ml

Cinta adhesiva

Soporte de metal

Anillos de metal

7.2.2.2 Equipo

Autoclave (Omron, Japón)

Balanza analítica (Mettler, Suiza)

Desecadora (Sanpla, Suiza)

Refrigerador (Lab-line, EE.UU)

Mezclador magnético (Corning, EE.UU)

Potenciómetro (Corning, EE.UU)

Lector de absorbancia (Sigma, EE.UU)

Rotavapor (Büchi, Suiza)

7.2.2.3 Reactivos

Etanol al 85%

Aqua destilada

Acido clorhídrico 1N (HCl) (5 ml)

Sulfato de magnesio ($MgSO_4$) (5 gr)

Dimetilsulfóxido (DMSO) (100 ml)

Complejo ADN-VM 20 mg (Sigma # D-2376)

Solución amortiguadora Tris-HCl 0.05 M, pH 7.5 1000 ml (Sigma # M 9397)

Extractos etanólicos de las cinco plantas seleccionadas

Berenil (Sigma # D-7770)

7.2.3 Institucionales

7.2.3.1 Departamento de Citohistología, Escuela de Química Biológica; Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC y Laboratorio y Droguería de Productos Fitofarmacéuticos FARMAYA.

7.3 Método

7.3.1 Recolección de las plantas

Las plantas fueron proveídas por el Laboratorio FARMAYA provenientes de sus grupos de productores. Se herborizaron y se les hizo una determinación botánica. El material se lavó, se secó a la sombra y se almacenó en bolsas plásticas hasta el momento de su análisis (90).

7.3.2 Obtención de extractos vegetales

Se pulverizó la materia seca vegetal. Se pesaron 500 g y se introdujeron en un percolador y se le agregaron 500 ml de etanol al 85 por ciento. Se dejó reposar por 24 horas, después se eluyó el disolvente y se colocó en frascos oscuros. Se repitió este procedimiento dos veces más con la materia restante en el percolador (91).

Se colocó el eluyente de etanol que contiene el extracto vegetal en el balón del rotavapor y se puso a rotar en el baño de agua a una temperatura de 45 °C hasta que se destiló todo el solvente y quedó únicamente la materia vegetal. Se colocó éste material en una caja de petri previamente tarada y puso en la desecadora para eliminar los residuos de disolvente que pudiera haber quedado (91).

7.3.3 Preparación de reactivos

7.3.3.1 Solución amortiguadora Tris-HCl 0.05 M, pH 7.5

Se disolvió el contenido del sobre (Sigma # M-9397) en 200 ml de agua destilada y se aforó a 1 litro, se ajustó a pH 7.5 con HCl 1N, utilizando un Potenciómetro. Esta solución se almacenó en un frasco de polietileno a temperatura ambiente (Se recomienda leer instrucciones de etiqueta del producto) (88).

7.3.3.2 Solución del complejo ADN-VM

Se disolvió 20 mg del complejo ADN-VM (Sigma # D-2376) en 100 ml de solución amortiguadora Tris-HCl 0.05 M, pH 7.5 conteniendo 7.5 mM MgSO₄, se mezcló a 37 °C durante 24 horas con mezclador magnético. Se recomienda utilizar solución poco tiempo de haber terminado la agitación por 24 horas. Esta solución se guardó a 0 °C. Se puede preparar menos solución dependiendo la cantidad a utilizar en el ensayo (88).

7.3.3.3 Solución de berenil (control positivo)

Se disolvió 60 µg/ml de berenil (Sigma # D-7770) en solución amortiguadora Tris-HCl 0.05 M, pH 7.5; se puede preparar la cantidad deseada dependiendo la cantidad a utilizar (88).

7.3.3.4 Preparación de extractos vegetales para análisis

Se disolvió completamente, con ayuda de un vibrador, las cantidades deseadas (10, 100 y 1,000 µg/ml) de extracto con la mínima cantidad de DMSO posible y se ajustó el volumen con solución amortiguadora pH 7.5. Se preparó 6 ml de cada concentración y se filtró tres veces con tierra de diatomeas (Se prepararon columnas de tierra en jeringas nuevas de 3 ml) para eliminar exceso de color que pudiera interferir en la lectura de la absorbancia.

7.3.4 Procedimiento

En microplacas de 96 pozos, compatible con lector de absorbancia (Sigma Multi-Reader II), se colocaron 100 µl de cada concentración de los extractos de cada una de las cinco plantas a analizar, seguidamente se agregaron 100 µl de solución del complejo ADN-VM. Se procedió de igual manera con la solución de berenil (control positivo). Se prepararon blancos de reactivos utilizando solamente solución amortiguadora Tris-HCl 0.05 M pH 7.5 más solución de ADN-VM. Se leyó la absorbancia máxima de la mezcla extracto/ADN-VM

inmediatamente a $\lambda=630$ nm utilizando el lector de absorbancia. Las placas se incubaron a temperatura ambiente, en cámara oscura durante 24 horas. Al término de este tiempo, se leyeron nuevamente las absorbancias (88).

Los resultados de absorbancia fueron corregidos con blanco reactivo y analizados con método estadístico seleccionado.

7.4 Diseño estadístico

Los tratamientos fueron: Berenil como control positivo a una concentración de 60 $\mu\text{g/ml}$ y extractos etanólicos de cada una de las cinco plantas los cuales se utilizaron en concentraciones de 10, 100 y 1,000 $\mu\text{g/ml}$.

El número de repeticiones fue de 7 por tratamiento con un nivel $\alpha=0.05$ y un nivel $\beta=0.30$, con un límite de error igual a dos desviaciones estándar.

Para el análisis estadístico, se trabajó con los promedios de diferencias entre absorbancia inicial y final a las 24 horas de tratar el complejo ADN-VM. Por medio de un análisis de varianza de una vía (ANDEVA) se determinó si existía o no diferencia entre los tratamientos y el control positivo (berenil), al existir, se hicieron comparaciones múltiples entre absorbancia del control positivo y las tres distintas concentraciones de cada uno de los extractos de cada planta estudiada por medio de la prueba de Dunnett.

8. RESULTADOS

Para determinar y conocer el principio del método se observó el comportamiento del control positivo (berenil) utilizando las concentraciones de 30, 60, 120, 240 y 480 $\mu\text{g/ml}$ para tratar el sustrato ADN-VM. El control positivo si demostró una clara disminución como esperado de la absorbancia inicial a las 24 horas de incubación. Esto se puede apreciar en la Tabla 2 y Gráfica 1.

Los datos analizados se obtuvieron mediante lecturas realizadas a $\lambda=630$ nm de absorbancia inicial (A_0 ; tiempo cero de incubación) y de absorbancia final (A_f) después de 24 horas de incubación. Al existir algún grado de actividad, la A_f presenta un valor menor a A_0 . Esto se debe al desplazamiento del colorante verde de metilo del complejo ADN-VM con la subsecuente formación de un carbinol incoloro a pH 7.5 lo cual causa el decrecimiento de la intensidad de color que se refleja en la absorbancia. La actividad del control positivo y de los extractos naturales evaluados se analizó en base a las diferencias de absorbancia A_0 y A_f que presentaba cada uno de los tratamientos. Se tomó como A_0 para todos los tratamientos la lectura del blanco ya que el color de la solución del complejo es igual para todos al inicio de la reacción y como A_f las lecturas de absorbancia a las 24 horas corregidas con absorbancia de extractos tratados con solución amortiguadora en lugar de solución de ADN-VM. De esta manera se elimina la interferencia que pudiera presentar el color natural del extracto en la lectura de la absorbancia. Para el análisis estadístico se utilizó como referencia al control positivo (berenil; 60 $\mu\text{g/ml}$), esta concentración fue elegida de acuerdo a revisión bibliográfica sobre la actividad como ADNasa que presenta el berenil (88).

Al evaluarse únicamente la disminución de la absorbancia a las 24 horas de cada uno de los tratamientos asociado con la liberación del verde de metilo del complejo de ADN-VM; de los ensayos realizados, únicamente una de las cinco

plantas analizadas presenta actividad contara el complejo ADN-VM, siendo ésta *Solanum americanum* (quilete) presentando un comportamiento similar a la del control positivo.

8.1 Actividad de desplazamiento de VM por *Guazuma ulmifolia* (caulote), *Rauvolfia tetraphylla* (chalchupa), *Chrysophyllum cainito* (caimito) y *Croton guatemalensis* (copalchi)

En las Tablas del 3 al 6 y Gráficas del 2 al 5 respectivas se puede apreciar el comportamiento de las diferentes concentraciones comparado con el control positivo de cuatro de cinco plantas estudiadas. A las 24 horas de incubación ninguna de las tres concentraciones tuvieron un comportamiento similar a la del control positivo.

Al realizar el análisis de varianza se comprobó que existe diferencia significativa ($p < 0.05$), por los que al menos un tratamiento es diferente a los demás. Se hicieron comparaciones múltiples demostrándose que existe una diferencia estadísticamente significativa, entre el control positivo y concentraciones de 10, 100, 1,000 $\mu\text{g/ml}$ de extracto de las cuatro plantas respectivamente (Tablas del 3 al 6 y Gráficas del 2 al 5), comprobándose que *Guazuma ulmifolia* (caulote), *Rauvolfia tetraphylla* (chalchupa), *Chrysophyllum cainito* (caimito) y *Croton guatemalensis* (copalchi) no presentan actividad de ADNasa por no existir evidencia de desplazamiento del VM. En las Tablas del 3 al 6 y Gráficas del 2 al 5 se pueden apreciar las diferencias entre los tratamientos y la variabilidad que existió entre los datos de cada uno de las cuatro plantas respectivamente.

8.2 Actividad de desplazamiento del VM por *Solanum americanum*

En la Tabla 7 y Gráfica 6 se puede observar el comportamiento de las tres concentraciones de esta planta comparado con el control positivo. Esta planta presente un comportamiento similar a la del control positivo.

A través de la prueba de análisis de varianza se demostró que existe diferencia significativa ($p < 0.05$), por lo que al menos un tratamiento es diferente a los demás. Posteriormente, se realizaron comparaciones múltiples, con las cuales se comprobó que no existe diferencia estadísticamente significativa, entre el control positivo y concentración de 1,000 $\mu\text{g/ml}$. Por otro lado, se comprobó que existe alguna diferencia significativa entre el control positivo y concentraciones de 10 y 100 $\mu\text{g/ml}$. En la Tabla 7 se puede visualizar las diferencias entre los tratamientos y la variabilidad que existió entre los datos.

9. DISUCUSION DE RESULTADOS

En este estudio se evaluó la presencia de actividad de ADNasa en extractos etanólicos de cinco plantas de uso medicinal en Guatemala, utilizando como sustrato un complejo de ADN-VM. Se estudió específicamente la acción de desplazamiento *in vitro* del colorante verde de metilo, seguido espectrofotométricamente mediante la extinción de la absorbancia a pH 7.5 y a una longitud de onda de 630 nm.

El análisis de desplazamiento de verde de metilo del complejo ADN-VM por el control positivo (berenil) demostró que su comportamiento era el esperado. La curva patron obtenida de los resultados de interacción del berenil con el ADN se ajusta mejor a una ecuación hiperbólica que a una lineal (Gráfica 1). Se utilizó una concentración de 60 µg/ml de berenil como control positivo siguiendo las recomendaciones en la literatura.

Aunque los extractos fueron tratados por absorción con tierra de diatomeas con el proposito de eliminar el color natural de los mismos, la coloración restante a concentraciones de 1000 µg/ml en algunos extractos definitivamente influyó el la lectura de la absorbancia de tal manera que a ésta concentración se observa una respuesta dosis-efecto que no correlaciona con la presentada por los tratamientos en concentraciones de 10 y 100 µg/ml, ya que se obtuvo una menor diferencia entre la absorbancia inicial y la final con la concentración mayor (1000 µg/ml) que con las últimas mencionadas (Gráficas del 2 al 5). Esto se puede atribuir a que a concentraciones altas algunos extractos no se disuelvan completamente, si no que solo se suspenden pero que con varias horas de reposo sin agitación se precipitan dando lugar a la formación de una capa gruesa de extracto sedimentado que al leer la absorbancia a las 24 horas de reposo se obtiene una lectura mayor a la obtenida al inicio, razón por la cual los cálculos de las diferencias fueron basados únicamente en el cambio existente en el complejo ADN-VM. Por lo que se debe tomar en cuenta que para implementar este método

colorimétrico deben utilizarse preferiblemente fracciones obtenidas de los extractos y verificar la solubilidad completa.

En el análisis de los resultados obtenidos para *Guazuma ulmifolia* (caulote), *Rauvolfia tetraphylla* (chalchupa), *Chrysophyllum cainito* (caimito) y *Croton guatemalensis* (copalchi) se observa que la diferencia es estadísticamente significativa con respecto al control positivo de berenil, con lo cual se concluye que no existe acción potencial como ADNasa en las mismas.

En el análisis de los resultados obtenidos para *Solanum americanum* se observa un comportamiento similar con respecto al control positivo de berenil, además la diferencia no es estadísticamente significativa a una concentración de 1000 µg/ml. Por lo que se concluye la existencia de acción potencial como ADNasa a ésta concentración en esta planta medicinal (Gráfica 6). En consecuencia a este resultado se rechaza la hipótesis inicialmente planteado en la cual se esperaba que ninguna de las cinco plantas estudiadas presentara actividad de ADNasa.

Como se puede apreciar en el análisis estadístico de cada una de las plantas analizadas, las desviaciones estándar calculados a partir de las siete repeticiones que se practicaron por tratamiento, son aceptables. Además, el error calculado no excede el diez por ciento en ninguno de los casos. Por lo tanto se considera el microensayo colorimétrico de ácido desoxirribonucleico-verde de metilo un método reproducible para la evaluación del potencial de interacción con el ADN.

10. CONCLUSIONES

- 10.1 El extracto etánolico de *Solanum americanum* presentó un comportamiento similar a del control positivo, por lo que se concluye la existencia de un posible potencial de acción como ADNasa.
- 10.2 Los extractos etánolicos de *Guazuma ulmifolia* (caulote), *Rauvolfia tetraphylla* (chalchupa), *Chrysophyllum cainito* (caimito) y *Croton guatemalensis* (copalchi) no demuestran tener potencial de acción como ADNasa.
- 10.3 La determinación del potencial de acción como ADNasa de muestras químicas sintéticas o naturales utilizando el ensayo colorimétrico ADN-VM puede ser afectada por la presencia de coloraciones muy fuertes, ya que el color influye fuertemente en la lectura de las absorbancias.
- 10.4 Debido a la disponibilidad de reactivos en el comercio, su bajo costo y a la facilidad de su aplicación en el laboratorio, el ensayo colorimétrico ADN-VM no brinda la opción de obtener información confiable, en poco tiempo sobre la actividad de ADNasa de compuestos químicos y naturales.
- 10.5 El ensayo colorimétrico ADN-VM no representa un sustituto para ensayos generales de toxicidad utilizados actualmente, pero si representa un método simple para la detección específica de agentes que poseen afinidad por el ADN.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Los compuestos a analizar utilizando el método colorimétrico ADN-VM deben tener el mínimo de color posible después de disolverse completamente, ya que los colores intensos influyen grandemente en la lectura de la absorbancia. Si se utilizan compuestos con colores fuertes se aconseja la absorción de varias veces (tres como mínimo) con tierra de diatomeas.
- 11.2 Se propone el uso del ensayo ADN-VM como un método de tamizaje bioquímico en la selección o en el desarrollo de compuestos biológica o terapéuticamente activos cuyos bioreceptores son específicamente moléculas de ADN.
- 11.3 En esta investigación se determinó que *Solanum americanum* presenta potencial de acción de ADNasa, por lo que se recomienda ampliar los estudios de toxicidad de ésta especie en vista a su amplio uso popular en Guatemala como alimento y medicamento.

12. REFERENCIAS

1. Castañeda C. Interacción Naturaleza y Sociedad Guatemalteca. Guatemala: Editorial Universitaria, 1991. 148p.
2. Villatoro EM. Comp. Etnomedicina en Guatemala. Guatemala: Centro de estudios folklóricos, 1984. 316p.
3. Meza k. Actividad antimicótica de siete plantas nativas de uso medicinal del departamento de Alta Verapaz. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1995. 53p.
4. Standley PC, Williams LO. Flora of Guatemala. USA: Fieldiana: Botany 1966;24(8):381p.
5. Ronquillo FA, *et al.* Especies vegetales de uso actual y potencial en alimentación y medicina de las zonas semiáridas del nororiente de Guatemala. Guatemala: Cuadernos DIGI, 1988. 249p.
6. Lundell CL. The Vegetation of Petén. Carnegie Institution of Washington Publication, No. 478, 1937. 207p. (p181).
7. Morton JF. Atlas of Medicinal Plants of Middle America: Bahamas to Yucatán. USA: Charles C. Tomas, 1981. 1,492p.
8. Nelson CH. Plantas Comunes de Honduras. Tegucigalpa: Ed. Universitaria, 1986. 922p.
9. Williams LO. The useful plants of Central America. Ceiba 1981; 24:316. (p32).
10. IIN. Aspectos de la medicina popular en el área rural de Guatemala. Guatemala: Guatemala Indígena 1978;13:1-616p.

11. Mallen GA. El uso de las plantas medicinales en Guatemala. Guatemala:Guatemala Indígena 1974; 9:102-151p.
12. Mejía JV. Geografía de la república de Guatemala. Guatemala: Topografía nacional 1927. 400p.
13. Aguilar JI. Relación de Unos Aspectos de la Flora Util de Guatemala. Guatemala: Min. Agricultura, 1966;108-375p.
14. Alcorn JB. Huastec Mayan Ethnobotany. Austin: University of Texas Press 1984. 982p.
15. Mendieta RM, Amo S. Plantas Medicinales del Estado de Yucatán. México: Ed. Continental, 1981. 428p.
16. Duke JA. CRC Handbook of Medicinal Herbs. Boca Raton: CRC Press, 1985. 677p.
17. Standley PC. Flora of Yucatán. Chicago: Bot Ser Pub 279, 1930; 3(3): 3;492p.
18. Altschul S. Drugs and Foods from Little-known Plants. Cambridge: Harvard University Press, 1975. 366p.
19. Martínez M. Las Plantas Medicinales de México. 5^{ta} ed. México: Ed. Botas, 1969. 656p.
20. Nuñez E. Plantas Medicinales de Costa Rica y su Folklore. San José: Universidad de Costa Rica, 1986. 318p. (p41).
21. PLANTER . Obtención y Aprovechamiento de Extractos Vegetales de la Flora Salvadoreña. San Salvador: Universidad de El Salvador, 1989. 619p.
22. Martínez M. Plantas Útiles de la Flora Mexicana. México: Ed. Botas, 1959. 621p.

23. Mendia BP. Actividad antifúngica de tinturas de plantas de uso popular en Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas Y Farmacia), 1994. 42p.
24. Glasby JS. Dictionary of Plants Containing Secondary Metabolites. London: Taylor & Francis, 1991. 488p.
25. Standley PC, Steyermark JA. Flora of Guatemala. USA: Fieldiana: Botany, 1949;24(6):440p.
26. Lundell CL. The Vegetation of Petén. Carnegie Institution of Washington Publication 1937; 478: 207p.
27. House PR, *et al.* Plantas Medicinales comunes de Honduras. Tegucigalpa: UNAH/CIMN-H7CID/CIIR/GTZ, 1995. 555p.
28. Díaz JL. Usos de las Plantas Medicinales de México. México: IMEPLAM, 1976. 329p.
29. Nelson CH. Plantas Comunes de Honduras. Tegucigalpa: Ed. Universitaria, 1986. 922p. (p344).
30. Hirschhorn HH. Botanical remedies of South and Central America, and the Caribbean: An archival analysis. Part I. J. Ethnopharmacol. 1981; 4:149-158p.
31. Guzmán DJ. Especies utiles de la Flora Salvadoreña (tomos I y II). San Salvador: Min. de Educación, 1975. 703p. (p114).
32. Cáceres A. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Ed. Universitaria; Colección Monografías Vo.1, 1996. 402p.
33. Medinilla B. Evaluación farmacológica y toxicológica in vitro de algunas plantas comúnmente empleadas en Guatemala contra la malaria. Rev. Cient. Fac CCQQ. 1993;9:7-10p.

34. Lebrón M. Herbario Dominicano. Santo Domingo: Academia Dominicana de Medicina, 1987. 75p.
35. Schultes RE, Raffauf RF. The Healing Forest. Portland: Dioscorides Press, 1990. 484p.
36. Gentry JL, Standley PC. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany, 1974;24:10-151p.
37. ACCT. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques a la Dominique. Paris: ACCT, 1985;400p. (p180-181).
38. Girón LM. Investigación de la inhibición de *C. albicans* por preparaciones de plantas usadas en la medicina popular. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1983. 48p.
39. Giron LM, *et al.* Ethnobotanical survey of the medicinal flora used by the Caribs of Guatemala. J. Ethnopharmacol. 1991;34: 173-187.
40. Linares E, *et al.* Selección de plantas medicinales de México. México: Ed. Limusa, 1988. 125p.
41. Macal DR. Ensayo clínico de *Solanum nigrescens* (Hierba Mora) en el tratamiento de verrugas vulgaris. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1992. 52p.
42. CEMAT-FARMAYA. Fichas Populares sobre Plantas Medicinales (serie 1). Guatemala, 1990. 174p.
43. Ronquillo FA, *et al.* Especies vegetales de uso actual y potencial en alimentación y medicina de las zonas semiáridas del nororiente de Guatemala. Guatemala: Cuadernos DIGI, 1988. 249p.

44. Cáceres A, *et al.* Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against enterobacteria. *J. Ethnopharmacol.* 1990; 30:55-73p.
45. Cáceres A, *et al.* Plants used for the treatment of respiratory diseases. 1. screening of 68 plants against Gram-positive bacteria. *J. Ethnopharmacol.* 1991;31:193-208p.
46. Cáceres A, *et al.* Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal disease. *J. Ethnopharmacol* 1987;20:223-237p.
47. Girón L. Anticandidal activity of plants used for the treatment of vaginitis in Guatemala and clinical trial of a *Solanum nigrescens* preparation. *J. Ethnopharmacol.* 1988;22:307-313p.
48. Coony G, *et al.* Fungicidal activity of Solanum plant extract from Guatemala, C.A. Washington: FIP; Abstracts Pharmacy World Cong., 1991. 52p.
49. Lara R, *et al.* Determinación de la actividad inmunomoduladora de los extractos de zarzaparrilla, quilete y pericón. Guatemala: Memorias. VI Cong. Nac. Microbiol. 1991. 88p.
50. Rios VG. Evaluación de la actividad antiinflamatoria in vivo de *Artemisia absinthium* L (ajenjo), *Solanum nigrescens* Mart&Gal (macuy) y *Verbena litoralis* HBK (Verbena). Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1993. 43p.
51. Cruz AM. Estudio Farmacológico de la actividad antiespasmódica in vitro de *Medicago sativa* (alfalfa), *Linum usitatissimum* L. (linaz), *Jasminum grandiflorum* L. (jazmín), *citrus medica* L. (cidra) y *solanum nigrescens mart&gal* (quilete). Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1990. 63p.

52. He XG. An antifungal compound from *Solanum nigrescens*. *J. Ethnopharmacol.* 1994; 43:173-177p.
53. Escobar N. *Flora Tóxica de Panamá*. Panamá: EUPAN, 1972. 279p.
54. Adams CD. *Flowering Plants of Jamaica*. Mona: University of the West Indies, 1972. 848p.
55. Cambar PJ. *Plantas medicinales de Honduras*. Tegucigalpa: UNAH, 1984. 323p.
56. Robineau L. *Hacia una Farmacopea Caribeña*. Santo Domingo: ENDA-Caribe, UNAH, 1991. 474p.
57. Niembro A. *Arboles y Arbustos Útiles de México*. México: Ed. Limusa, 1990. 206p.
58. Duck JA. *Isthmian Ethnobotanical Dictionary*. Jodhpur: Scientific Publishers, 1986. 205p.
59. Vasquez L. *Plantas y Frutas Medicinales de Colombia y América*. Cali: Ed. Climent 1982; 274p.
60. Aquilar JM, Aquilar MA. *Arboles de Biosfera Maya Petén*. Guatemala: CECON/CI/Field Museum 1992; 272p.
61. Morton JF. Some folk-medicine plants of Central American markets. *Quart J. Crude Drug Res.* 1977;15:165-192p.
62. Romero R. *Frutas Silvestres de Colombia*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, 1969. 384p.
63. Nascimento SC, Chiappeta AA, Lima RMOC. Antimicrobial and cytotoxic activities in plants from Pernambuco. *Brazil: Fitoterapia* 1990;61:353-355p.

64. Cáceres A, *et al.* Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 3. Confirmation of activity against enterobacteria of 16 plantas. *J. Ethnopharmacol.* 1993;38:31-38p.
65. Heinrich M, *et al.* Parasitological and microbiological evaluation of Mixe indian medicinal plants (México). *J. Ethnopharmacol.* 1992;36:81-85p.
66. Cáceres A, Girón LM, Martínez AM. Diuretic activity of plants used for the treatment of urinary ailments in Guatemala. *J. Ethnopharmacol.* 1987;19:233-245p.
67. Viera JEV, *et al.* Pharmacologic screening of plants from Northeast Brazil. II. *Rev. Brasil Farm.* 1968;49:67-75.
68. Villatoro EJ. Recopilación botánica y análisis químico cualitativo de algunas especies de plantas medicinales de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1979. 63p.
69. Barile F. Introduction to in vitro citotoxicology: Mechanisms and methods. Florida: Boca Raton, 1994. 250p. (p45, 101-105, 127-146).
70. Williams P, Burson J. Industrial toxicology safety; a health applications in the work place. New York: Rein Hold Company, 1985. 150p.
71. Winter A, Risley E, Nuss G, Antinflammatory and antipyretic activities of Indomethacin. *J. Pharm. Exp. Therapy* 1963;141:69-73p.
72. Spearman and Karber DJ. Finney statistical method in biological assay. London: C. Griffin & Co. 1952. 524p.
73. Scharolein JL, Schwetz BA, Denel MF. Species sensitives and prediction of tetratogenic potencial. *Environmental Health Perspectives* 1985;61: 55-67p.
74. Sladek NE. Ensayo de Micronúcleos. *Can. Res.* 1972;32:535-542p.

75. Schimid W. Chemical mutagens, principles and methods for their detection. USA: A)Hollaender Plenum Press 1976;31-53p.
76. Maron DM, Ames BN. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutataion Res.* 1983;113:173-215p.
77. Moreau P., Bailon A., Devoret R.. Prophage 1 induction in *Escherichia coli* k12 envA uvrB: A highly sensitive test for potential carcinogens. USA: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1976;73:3700-3704p.
78. Gee P, Maron D, Ames BN. Detection and classification of mutagens: A set of base-specific Salmonella tester strains. USA: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1994;89:59-80p.
79. D'Aquino M, Antini P, Morreton J. Estudio comparativo de métodos microbianos para la detección de tóxicos genéticos. Argentina: *Rev. Arg. Microbiol.* 1979;11:57-63p.
80. Mahmoud I, Alkofahi A, Abdelaziz A. Mutagenic and toxic activities of several spices and some Jordanian medicinal plants. *J. Pharamacog.* 1992;30:81-85p.
81. Bresolin S, Ferrao VM. Mutagenic potencies of medicinal plants screened in the Ames test. *Phytother. Res.* 1993;7:260-262p.
82. Wall ME. Antimutagenic agents from natural products. *J. Nat. Prod.* 1992;55:1561-1568p.
83. Manual de Técnicas de Investigación del Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo. marzo 1997. 47p.
84. Drlica K, Franco RJ. Inhibitors of DNA topoisomerases. *Biochem.* 1988;27:2253-2259p.

85. Liu LF. DNA topoisomerase poisons as antitumor drugs. *Ann. Rev. of Biochem.* 1989;58:351-375p.
86. Suffness M, Pezzuto J. Assay related to cancer drug discovery. *Methods in plant Biochem.* 1991;6:71-133p.
87. Kurnick NB. The Determination of Desoxyribonuclease Activity by Methyl Green; Application to Serum. *Arch. of Biochem.* 1950; 29:41-53p.
88. Burres N, *et al.* A coloremtric microassay for the detection of agents that interact with DNA. *J. Med. Plan. Res.* 1992;55:1582-1587p.
89. Krey AK, Hahn FE. Studies on the Methyl Green-DNA Complex and Its Dissociation by Drugs. *Biochem.* 1975;14:5061-5067p.
90. Cáceres A, *et al.* Plantas de uso medicinal en Guatemala. Detección Etnobotánica y Bibliográfica. *Rev. USAC* 1991;9:55-77.
91. González SC. Acción tripanostática en un modelo en raton de tres extractos vegetales de la familia Euphorbiceae de uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1995. 45p.

13. ANEXOS

Tabla 1

Resumen de plantas utilizadas

Familia	Nombre científico	Nombre popular	Procedencia	Parte utilizada	No. de herbarios (FARMAYA)
Apocynaceae	<i>Rauvolfia tetraphylla</i>	Matracoyote	Samayac, Suchitépéquez	Raíz	437
		Chalchups			
Euphorbiaceae	<i>Croton guatemalensis</i>	Copalchi	Guatemala, Guatemala	Corteza	366
		Quina			
Sapotaceae	<i>Chrysophyllum cainito</i>	Caimito	Samayac, Suchitépéquez	Hoja	340
Solanaceae	<i>Solanum americanum</i>	Quitote	Samayac, Suchitépéquez	Hoja	401
		Herba mora			
Sterculiaceae	<i>Guazuma vitifolia</i>	Caulote	Samayac, Suchitépéquez	Hoja	486
		Piroy			

Nota: Todos los extractos son etanólicos.

Tabla 2

Interacción con el ADN de Berenil a diferentes concentraciones
(Ensayo Colorimétrico ADN-VM)

Concentración de Berenil	Diferencia de Absorbancias ($A_T - A_0$)
30 ug/ml	0.165
60 ug/ml	0.181
120 ug/ml	0.191
240 ug/ml	0.193
480 ug/ml	0.195

Gráfica 1

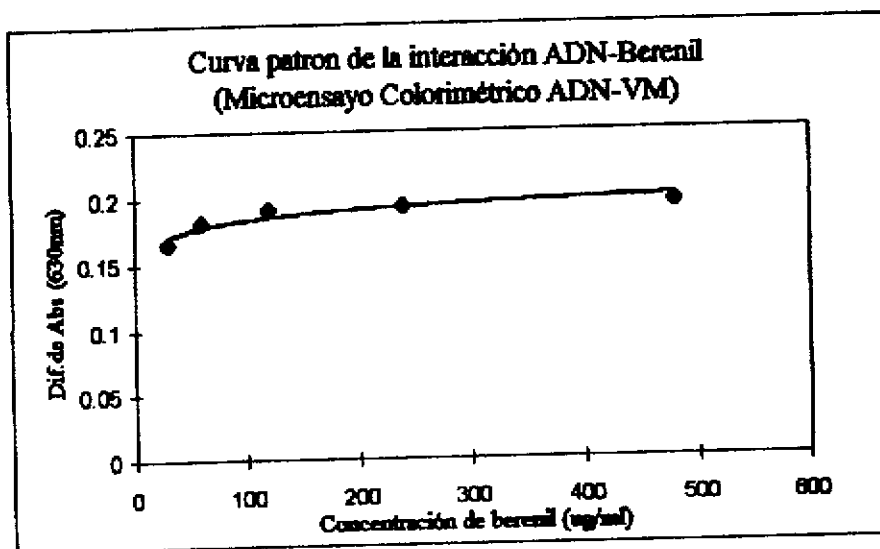
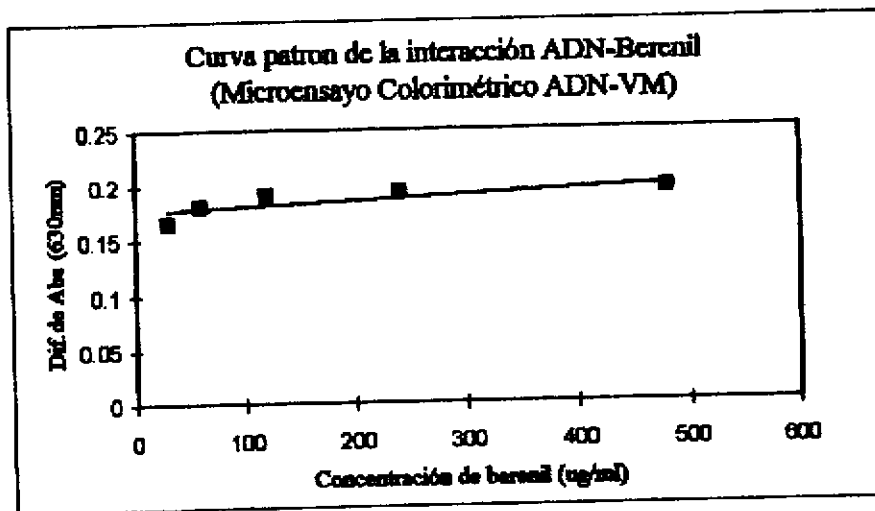


Tabla 3

Resultados de interacción con el ADN del extracto etanólico de *Guazuma ulmifolia* (Microensayo colorimétrico ADN-VM)

Tratamiento	Δ Abs ($X \pm Ds$; n=7)	Error Estándar (%)
Berenil 60 μ g/ml	0.181 \pm 0.020	8
<i>G. ulmifolia</i> 10 μ g/ml	0.145 \pm 0.027	10
<i>G. ulmifolia</i> 100 μ g/ml	0.153 \pm 0.009	3
<i>G. ulmifolia</i> 1000 μ g/ml	0.113 \pm 0.027	10

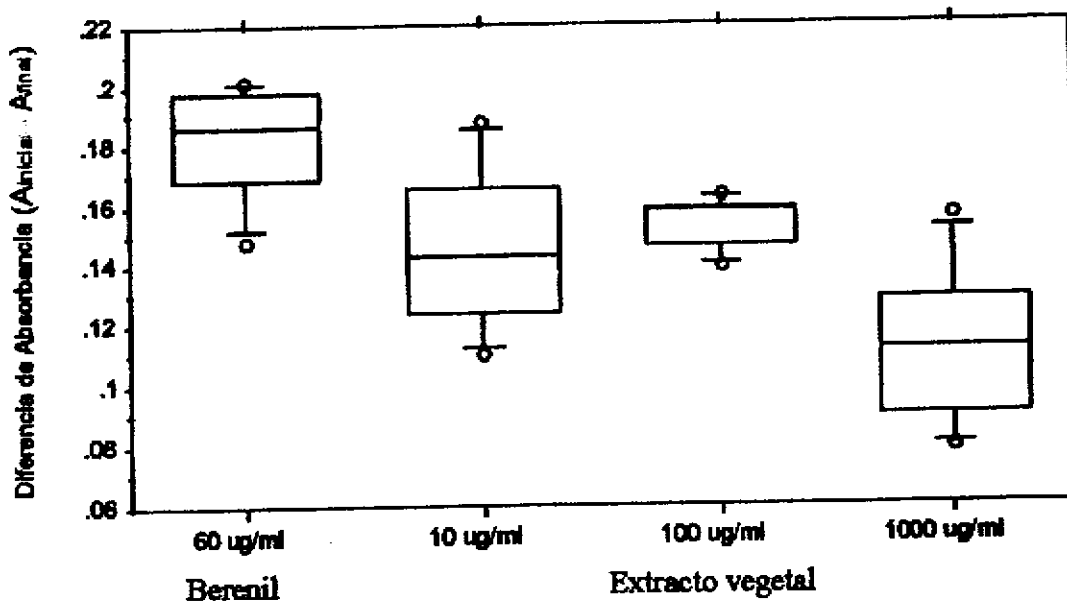
Pruebas estadísticas de los resultados de interacción con el ADN de *Guazuma ulmifolia*

Grupos a comparar	Promedio de Dif.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett t
Berenil 60 μ g/ml vs. <i>G. ulmifolia</i> 10 μ g/ml	0.036	0.016*	6.951*	4.566
Berenil 60 μ g/ml vs. <i>G. ulmifolia</i> 100 μ g/ml	0.028	0.016*	4.108*	3.511
Berenil 60 μ g/ml vs. <i>G. ulmifolia</i> 1000 μ g/ml	0.068	0.016*	24.987*	8.66

*Diferencia significativa del 95% con el control positivo (60 μ g/ml)

Gráfica 2

Interacción con el ADN del extracto etanólico de *Guazuma ulmifolia*



Donde la A_{final} es la absorbancia ($\lambda=630$ nm) después de 24 hrs de incubación.

Tabla 4

Resultados de interacción con el ADN del extracto etanólico de *Rauvolfia tetraphylla* (Microensayo colorimétrico ADN-VM)

Tratamiento	Δ Abs ($X \pm Ds$; n=7)	Error Estándar (%)
Berenil 60 $\mu\text{g/ml}$	0.181 ± 0.020	8
<i>R. tetraphylla</i> 10 $\mu\text{g/ml}$	0.166 ± 0.012	4
<i>R. tetraphylla</i> 100 $\mu\text{g/ml}$	0.165 ± 0.016	6
<i>R. tetraphylla</i> 1000 $\mu\text{g/ml}$	0.156 ± 0.014	5

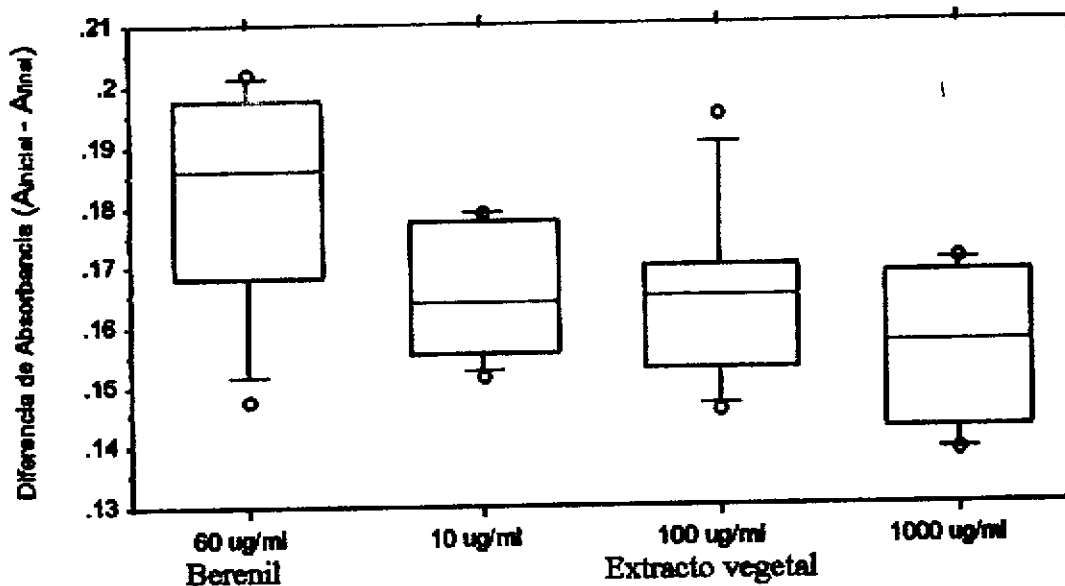
Pruebas estadísticas de los resultados de interacción con el ADN de *Rauvolfia tetraphylla*

Grupos a comparar	Promedio de Dif.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett t
Berenil 60 $\mu\text{g/ml}$ vs. <i>R. tetraphylla</i> 10 $\mu\text{g/ml}$	0.015	0.013*	2.113	2.518
Berenil 60 $\mu\text{g/ml}$ vs. <i>R. tetraphylla</i> 100 $\mu\text{g/ml}$	0.016	0.013*	2.49	2.733
Berenil 60 $\mu\text{g/ml}$ vs. <i>R. tetraphylla</i> 1000 $\mu\text{g/ml}$	0.025	0.013*	5.669*	4.124

*Diferencia significativa del 95% con el control positivo (60 $\mu\text{g/ml}$)

Gráfica 3

Interacción con el ADN del extracto etanólico de *Rauvolfia tetraphylla*



Donde la A_{final} es la absorbancia ($\lambda=630$ nm) después de 24 hrs de incubación.

Tabla 5

Resultados de interacción con el ADN del extracto etanólico de *Chrysophyllum cainito* (Microensayo colorimétrico ADN-VM)

Tratamiento	Δ Abs ($X \pm Ds$; n=7)	Error Estándar (%)
Berenil 60 $\mu\text{g/ml}$	0.181 ± 0.020	8
<i>C. cainito</i> 10 $\mu\text{g/ml}$	0.173 ± 0.027	10
<i>C. cainito</i> 100 $\mu\text{g/ml}$	0.159 ± 0.023	9
<i>C. cainito</i> 1000 $\mu\text{g/ml}$	0.160 ± 0.028	10

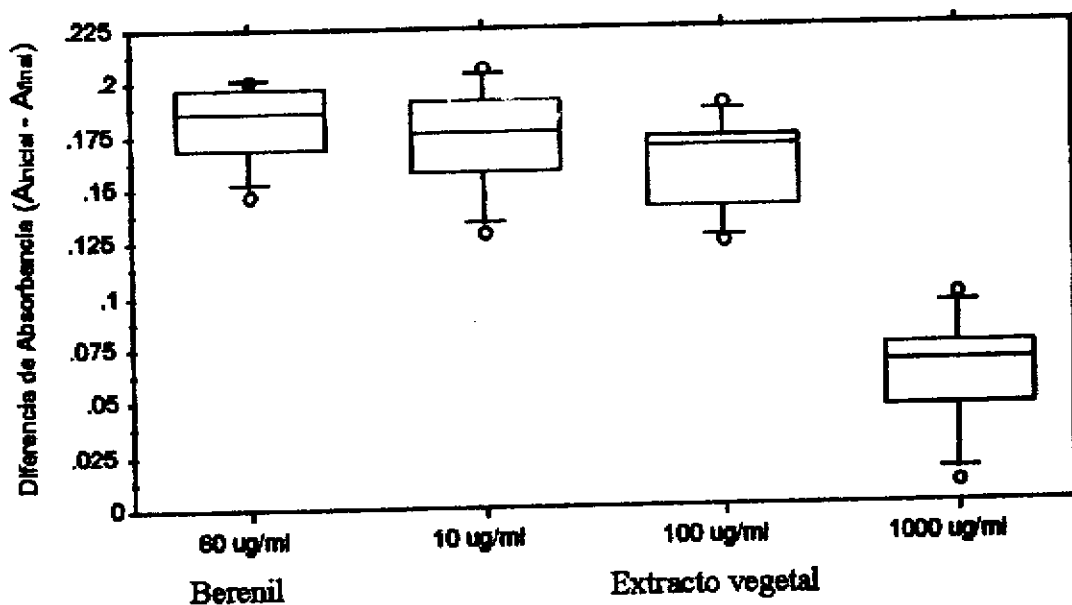
Pruebas estadísticas de los resultados de interacción con el ADN de *Chrysophyllum cainito*

Grupos a comparar	Promedio de Dif.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Duaneit t
Berenil 60 $\mu\text{g/ml}$ vs. <i>C. cainito</i> 10 $\mu\text{g/ml}$	0.008	0.018	0.319	0.978
Berenil 60 $\mu\text{g/ml}$ vs. <i>C. cainito</i> 100 $\mu\text{g/ml}$	0.022	0.018*	2.250	2.598
Berenil 60 $\mu\text{g/ml}$ vs. <i>C. cainito</i> 1000 $\mu\text{g/ml}$	0.121	0.018*	68.066*	14.280

*Diferencia significativa del 95% con el control positivo (60 $\mu\text{g/ml}$)

Gráfica 4

Interacción con el ADN del extracto etanólico de *Chrysophyllum cainito*



Donde la A_{710} es la absorbancia ($\lambda=630$ nm) después de 24 hrs de incubación.

Tabla 6

Resultados de interacción con el ADN del extracto etanólico de *Croton guatemalensis* (Microensayo colorimétrico ADN-VM)

Tratamiento	Δ Abs ($\bar{X} \pm Ds$; n=7)	Error Estándar (%)
Berenil 60 $\mu\text{g/ml}$	0.181 ± 0.020	8
<i>C. guatemalensis</i> 10 $\mu\text{g/ml}$	0.119 ± 0.027	10
<i>C. guatemalensis</i> 100 $\mu\text{g/ml}$	0.149 ± 0.014	5
<i>C. guatemalensis</i> 1000 $\mu\text{g/ml}$	0.049 ± 0.030	10

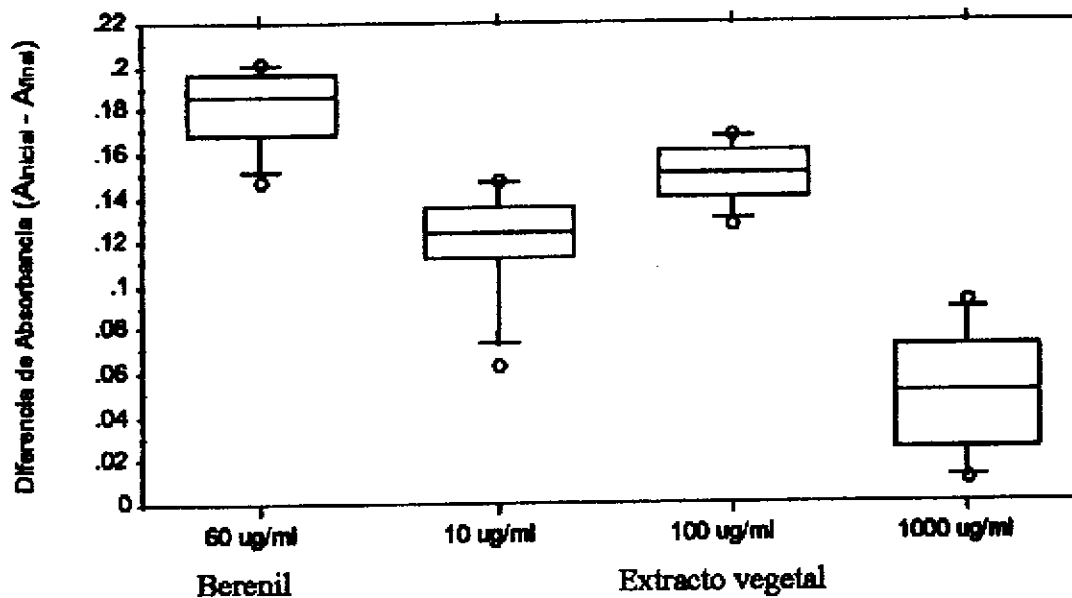
Pruebas estadísticas de los resultados de interacción con el ADN de *Croton guatemalensis*

Grupos a comparar	Promedio de Dif.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett t
Berenil 60 $\mu\text{g/ml}$ vs.				
<i>C. guatemalensis</i> 10 $\mu\text{g/ml}$	0.062	0.018*	17.27*	7.198
Berenil 60 $\mu\text{g/ml}$ vs.				
<i>C. guatemalensis</i> 100 $\mu\text{g/ml}$	0.032	0.018*	4.62*	3.723
Berenil 60 $\mu\text{g/ml}$ vs.				
<i>C. guatemalensis</i> 1000 $\mu\text{g/ml}$	0.132	0.018*	77.418*	15.24

*Diferencia significativa del 95% con el control positivo (60 $\mu\text{g/ml}$)

Gráfica 5

Interacción con el ADN del extracto etanólico de *Croton guatemalensis*



Donde la A_{630} es la absorbancia ($\lambda=630$ nm) después de 24 hrs de incubación.

Tabla 7

Resultados de interacción con el ADN del extracto etanólico de *Solanum americanum* (Microensayo colorimétrico ADN-VM)

Tratamiento	Δ Abs ($X \pm Ds$; n=7)	Error Estándar (%)
Berenil 60 $\mu\text{g/ml}$	0.181 ± 0.020	8
<i>S. americanum</i> 10 $\mu\text{g/ml}$	0.156 ± 0.028	10
<i>S. americanum</i> 100 $\mu\text{g/ml}$	0.156 ± 0.017	7
<i>S. americanum</i> 1000 $\mu\text{g/ml}$	0.183 ± 0.017	6

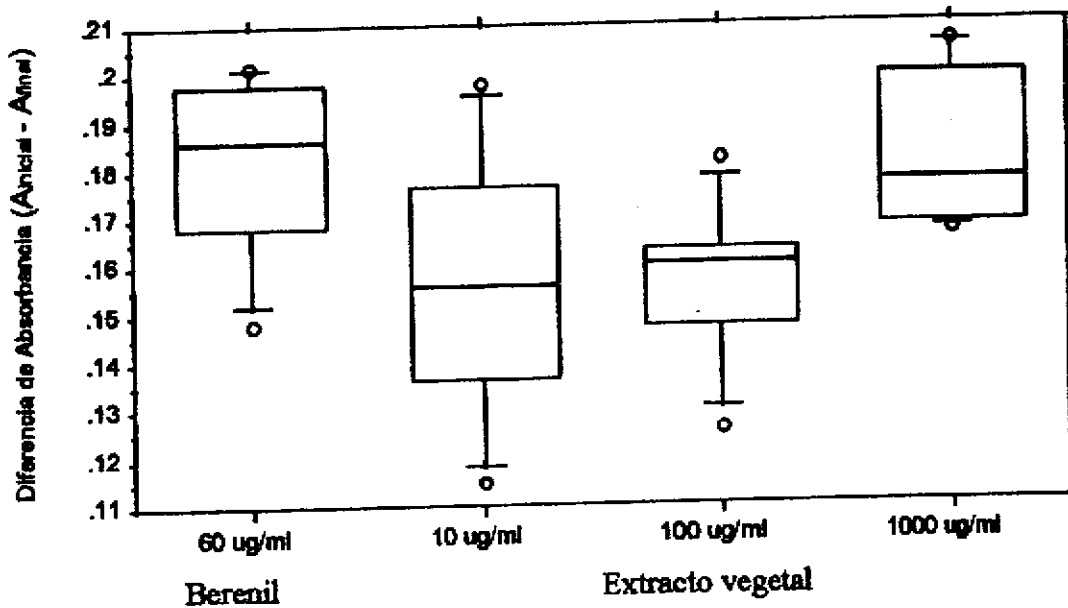
Pruebas estadísticas de los resultados de interacción con el ADN de *Solanum americanum*

Grupos a comparar	Promedio de Dif.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett t
Berenil 60 $\mu\text{g/ml}$ vs. <i>S. americanum</i> 10 $\mu\text{g/ml}$	0.025	0.02*	2.31	2.633
Berenil 60 $\mu\text{g/ml}$ vs. <i>S. americanum</i> 100 $\mu\text{g/ml}$	0.025	0.02*	2.446	2.708
Berenil 60 $\mu\text{g/ml}$ vs. <i>S. americanum</i> 1000 $\mu\text{g/ml}$	-0.002	0.02	0.009	0.167

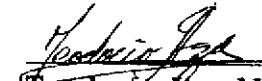
*Diferencia significativa del 95% con el control positivo (60 $\mu\text{g/ml}$)


Gráfica 6


Interacción con el ADN del extracto etanólico de *Solanum americanum*

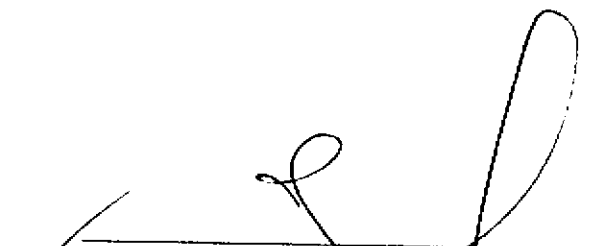


Donde la A_{final} es la absorbancia ($\lambda=630$ nm) después de 24 hrs de incubación.


Teodocio Itza Nah
Autor


Lic. Armando Cáceres Estrada
Asesor


Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalán
Director


Lic. Jorge Rodolfo Pérez Holgar
Decano