

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



**CARACTERIZACIÓN DE LAS ESPECIES BOTÁNICAS,
UTILIZADAS POPULARMENTE COMO CARDO MARIANO EN
GUATEMALA**

SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN

PRESENTADO POR

CLAUDIA IRENE POLANCO POLANCO

VICTOR HUGO PÉREZ DE LEON

PARA OPTAR AL TÍTULO DE

QUIMICO BIÓLOGOS

GUATEMALA AGOSTO 2012

INDICE

	Pág.
1. AMBITO DE ESTUDIO	1
2. RESUMEN	2
3 ANTECEDENTES	4
3.1 Generalidades	4
3.2 Control de calidad de plantas medicinales	5
3.2.1 Parámetros de control de calidad	5
3.3 Características de identidad	6
3.4 Histología vegetal	8
3.5 Material vegetal	15
3.5.1 <i>Silybum marianum</i>	15
3.6 Otras especies conocidas como cardo	25
3.6.1 <i>Cirsium mexicanum</i>	25
3.6.2 <i>Argemone mexicana</i>	28
4. JUSTIFICACIÓN	36
5. OBJETIVOS	37
6. HIPOTESIS	38
7 MATERIALES Y MÉTODOS	39
7.1 Universo de trabajo	39
7.2 Muestra	39
7.3 Recursos	39
7.4 Metodología	40
7.5 Diseño de la investigación	52
8 RESULTADOS	54
9 DISCUSIÓN	99
10 CONCLUSIONES	105
11 RECOMENDACIONES	107
12 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	108
13 ANEXOS	116

1. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

Este estudio forma parte de la línea de investigación de plantas medicinales, que durante años ha venido desarrollándose en el departamento de Citohistología de la Escuela de Química Biológica, el cual contribuyó a ampliar la base de datos sobre la especie de *Silybum marianum* (L.) Gaertner y permitió establecer parámetros de identidad y pureza para la posterior elaboración de las monografías de calidad de *S. marianum*, *Cirsium mexicanum* DC y cualquier especie que se identifique durante el desarrollo de la presente investigación y así mismo contribuyó al control de calidad de la materia vegetal comercializada como cardo mariano o Cardo de María.

Se realizó con la colaboración del Laboratorio de Investigación en Productos Naturales (LIPRONAT) de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y la Facultad de Agronomía.

2. RESUMEN

El uso de plantas medicinales como parte de las terapias alternativas en el manejo de las enfermedades, ha tenido un auge en la población mundial debido a la eficacia que estas han demostrado. Sin embargo, el producto que el mercado ofrece al consumidor, no siempre cumple con los controles de calidad necesarios, que garanticen la correcta identificación de la materia vegetal.

La falta de normas para el control de calidad de la diversidad de plantas medicinales que Guatemala tiene a su disposición, motiva el planteamiento de esta investigación, ya que generalmente la población reemplaza las plantas medicinales mundialmente reconocidas con plantas nativa de características similares.

Cardo es el nombre común para plantas que se caracterizan por poseer hojas con márgenes espinosos, generalmente este término hace referencia a la tribu *Cynarea*, en especial los géneros *Silybum* y *Cirsium*, sin embargo existen plantas fuera de esta tribu que son llamadas de igual manera, por lo que el nombre cardo determina un grupo polifilético y en consecuencia heterogéneo de plantas.

La existencia de varias plantas con el nombre común de cardo, aunado a la falta de control de calidad en la comercialización de las plantas medicinales en los mercados nacionales, permite la distribución errónea de materia vegetal de cardo mariano que al ser confundido con otros cardos, no cumple con el propósito esperado por el usuario. Por lo que este estudio se centró en la determinación de los caracteres micromorfológicos de las especies botánicas utilizadas popularmente como cardo mariano en Guatemala comercializadas en cinco mercado del altiplano central.

Se realizó un estudio descriptivo para definir parámetros de diagnóstico concreto de *Silybum marianum* y compararlo con materias medicinales comercializadas bajo el nombre de cardo mariano en cinco mercado del altiplano central (Chimaltenango, San Juan Sacatepéquez, San Pedro Sacatepéquez, La Florida y el mercado central de la capital) y se

establecieron parámetros de identidad botánica por medio de la observación macroscópica de cultivo piloto de *S. marianum* y su correcta identificación a través de la elaboración de un ejemplar en herbario, parámetros micromorfológicos, a través de la realización de láminas de referencia empleando la metodología de cortes transversales a mano alzada, diafanizado, disociado y parámetros histoquímicos en los que se determinaron metabolitos secundarios.

Los resultados comparativos mostraron en la hoja, diferencias en formación en tejido fundamental, tejido vascular, presencia de tricomas, tipo de estomas y en semilla se observó diferencia en la formación de sus tejidos.

Se concluyendo que las especies que se comercializan como cardo mariano en los mercados del altiplano central de Guatemala y del Mercado Central capitalino se identificaron como *Cirsium mexicanum* y en el mercado La Florida zona 19 se identifico *Argemone mexicana*.

3. ANTECEDENTES

3.1 Generalidades

La farmacobotánica es la rama de la farmacognosia que se ocupa del estudio integral de las plantas con utilidades medicinales, su descripción, clasificación y distribución (Fuentes, 2001). Toda planta que tiene propiedades farmacológicas o que en alguno de sus órganos contenga un principio activo, el cual administrado en dosis convenientes tiene algún efecto beneficioso o curativo, es clasificada como planta medicinal, hoy en día estas son la principal fuente de fármacos con fines terapéuticos (Pahlow, 1985).

La fitoterapia es el conjunto de tratamientos terapéuticos basados en la utilización de las plantas medicinales y sus derivados con finalidad de prevenir, aliviar o curar las enfermedades (Volak, & Stodola, 1988).

El uso de las plantas medicinales como tratamiento en enfermedades es probablemente el método más antiguo que la humanidad ha utilizado para tratar los padecimientos del cuerpo humano, por esta razón son empleados terapéuticamente en todo el mundo, siendo un aspecto importante de los diversos sistemas de medicina tradicional, aunque estos sistemas poseen diferentes modelos teóricos y culturales todos se incorporan en el concepto de la fitoterapia (World Health Organization [WHO], 2007).

Guatemala posee una amplia diversidad de plantas de uso medicinal, este conocimiento ha sido heredado desde los mayas hasta la actualidad haciendo de nuestra flora un suministro farmacológico a nuestro alcance (Barreno, 2010). La práctica y el uso del conocimiento transmitidos de forma tradicional, utilizado para la prevención y curación de enfermedades es llamado medicina tradicional o etnomedicina (Volak, & Stodola, 1988).

3.2 Control de Calidad de Plantas Medicinales

El empleo de las plantas medicinales como herramientas terapéuticas se ha basado en su accesibilidad y lo económico que resulta su uso, esto ha permitido la explotación de este recurso y ha obligado a la creación de parámetros de calidad para su comercialización y exportación (Azevedo, 2003).

Las normas y leyes de Iberoamérica se basan principalmente en la seguridad, eficacia y calidad que deben cumplir los productos que se distribuyen en toda la población. Existen una diversidad de legislaciones cuyos criterios de clasificación varían, por ejemplo: especies medicinales en suplemento de dieta, medicina tradicional y en medicamentos fitoterapéuticos. Cuando la Asamblea Mundial de la Salud reconoció la importancia de integrar disciplinas tradicionales en los sistemas de salud de sus países miembros, el tema de las plantas medicinales fue uno de los primeros en tomarse en cuenta (Azevedo, 2003).

3.2.1 Parámetros de Control de Calidad

El control de calidad de las plantas medicinales tiene un impacto directo en su eficiencia y seguridad. Existen muchas medidas de control para la medicina natural, y el primer paso importante es controlar la calidad de la droga vegetal (WHO, 2007). Entre los aspectos que incluye el control de calidad se encuentra:

3.2.1.1 Examen físico y organoléptico

A partir de una muestra representativa se realiza una inspección visual de la materia para identificar rápida y sencillamente la pureza, calidad y la presencia de material extraño. Se evalúa su color, consistencia, olor y sabor según una planta de referencia o muestra patrón (WHO, 1998).

3.2.1.2 Parte de la planta que no corresponde a la prescrita

Los principios activos de una planta no se distribuyen uniformemente, se localizan en algunas estructuras específicas. La utilización de partes que no contienen el principio activo, da como resultado un producto con concentraciones reducidas de sus sustancias activas o incluso la obtención de un producto carente de las mismas (Sharapin, 2000).

3.2.1.3 Contenido de cenizas

Este parámetro está diseñado para medir la cantidad de materia restantes después de la ignición, el cual incluye a las cenizas fisiológicas que corresponde a las sustancias minerales que componen a la planta y las cenizas no fisiológicas que son el residuo de materia extraña adherido a la superficie de la planta (WHO, 1998).

3.2.1.4 Contenido de componentes activos diferente al prescrito

Es un reflejo de la baja calidad de materia prima vegetal cuando el contenido de sustancia activa se encuentra en valores inferiores al prescrito, esto es un índice de un rendimiento bajo, elevando el contenido de sustancias o componentes secundarios (Sharapin, 2000).

3.3 Características de Identidad

El examen de identidad es realizado con la ayuda de la farmacobotánica, cuyo objetivo es determinar plenamente la identidad vegetal de la especie y la parte usada con fines medicinales. Para esta actividad es necesario contar con drogas y esquemas patrón, así como, con un herbario de referencia, cumpliendo con la colección, prensado, herborización, montaje, identificación y conservación (Akerle, Heywood, & Synge 1991).

3.3.1 Morfología vegetal

3.3.1.1 Macroscópica

La identificación macroscópica de la planta medicinal se basa en su forma, tamaño, color, características de superficie, textura, características de fractura y apariencia en el corte de superficie. Sin embargo, dado que estas características son evaluadas subjetivamente y sustancias o adulteraciones pueden ser muy similares a la materia original, es necesario realizar examen microscópico (WHO, 1998).

3.3.1.2 Microscópica

La evaluación microscópica permite una identificación bastante certera mediante la observación de estructuras y características vegetales propias como distribución de sus tejidos y presencia de especialización celular. Esta evaluación se vale de técnicas especializadas como: cortes a mano alzada, diafanizado, semidiafanizado o disociado, cada técnica es utilizada de acuerdo a la estructura o parte de la planta que se va analizar (Schultz, 2002).

3.3.1.3 Elaboración de esquemas

Las técnicas anatómicas e histológicas aportan los elementos taxonómicos necesarios para establecer la identidad botánica de las muestras. Metclafe & Chalk (1979 citado en González, & Casares, 1996) exponen que “cualquier intento de identificar material vegetal en condiciones fragmentarias, parcialmente descompuesto o sin órganos reproductores, solo puede llevarse a cabo mediante métodos de histología comparada”, las cuales se obtienen por medio de la técnica de micrografía que provee una imagen obtenida a través del microscopio y permite detallar la microestructura de la superficie observada.

3.3.2 Identificación química de compuestos vegetales

Las propiedades medicinales de una planta dependen en gran medida de la presencia de diferentes metabolitos secundarios, estas sustancias químicas son muy diversas, y se han clasificado en cuatro clases que son de gran importancia para el ser humano estos son terpenoides, alcaloides, fenilpropanoides y flavonoides, o se pueden clasificar en categorías de menor inclusión como lo son betalaínas, glucosinolatos, glucósidos cianogenéticos, poliacetilenos, antocianina y otros flavonoides (Judd, Campbell, Kellogs, Stevens, & Donoghue, 2002). Cada familia de plantas, género y especie produce una mezcla característica de estos productos químicos y a veces se pueden utilizar como caracteres taxonómicos en la clasificación de las plantas (Schultz, 2002).

3.3.3 Identificación por cromatografía en capa fina

Es una manera simple y eficiente de control de calidad, basado en la identificación de extractos, tinturas y metabolitos vegetales. Cuando se desconocen los principios activos de una droga, pueden identificarse al realizar una determinación de sustancias características de la planta en estudio (marcadores positivos), inclusive cuando no tengan alguna actividad farmacológica (Sharapin, 2000).

El fundamento de la prueba consiste en la obtención de bandas coloreadas con relación a su posición en un sistema de disolventes específicos y reveladores (cromatograma). Este método es muy útil para identificar posibles alteraciones o falsificaciones cuando se comparan con sustancias de referencia (Sharapin, 2000).

3.4 **Histología vegetal**

Las plantas a nivel histológico poseen estructuras (células o sistemas) que permiten identificación y clasificación, entre estas estructuras se encuentran:

3.4.1 Xilema

El sistema vascular de las plantas superiores está constituido por el xilema, cuya función principal es el transporte de agua y soluto. En base a su importancia fisiológica y filogenética, el xilema se ha utilizado para clasificar un amplio grupo de plantas (Fahn, 1982).

El xilema de todas las plantas vasculares contiene traqueidas, que son células largas que se estrechan en los extremos. Las traqueidas se alinean unas con otras para formar sistemas continuos de conducción de agua. La pared celular secundaria de una traqueida presenta unas regiones más finas denominadas punteaduras, en las que solo existe pared primaria. Las punteaduras de traqueidas adyacentes están normalmente alineadas, lo que permite que el agua y los minerales fluyan de una traqueida a otra que esté por encima, por debajo o al lado de la misma (Murray, 2006).

El xilema de la mayoría de las plantas con flores y de unas pocas Gimnospermas contienen otras células conductoras del agua llamadas elementos de los vasos, que transportan agua y minerales más rápido que las traqueidas. Los elementos de los vasos al igual que las traqueidas, mueren en su madurez, y la pared celular forma entonces tubos huecos. Sin embargo, son generalmente más amplios, más cortos y menos estrechos que las traqueidas. Tienen el mayor diámetro de todas las células conductoras (hasta 100 μm , en comparación con los 10 μm de las traqueidas) y pueden transportar una cantidad de agua mayor que las traqueidas. Los elementos vasculares pierden algo o gran parte de su pared celular en cada extremo, dejando unas placas de perforación que permite que el agua fluya a la vez que confiere sostén. De este modo, los elementos de los vasos se hunden para formar un conducto o vaso. Los elementos de los vasos también poseen punteaduras (Murray, 2006).

3.4.2 Floema: tejido conductor de alimentos

El floema constituye un sistema de transporte intercelular a la larga distancia, que movilizan los carbohidratos producidos en la fotosíntesis, moléculas mensajeras, así como otras sustancias hacia las zonas de crecimiento y diferenciación. El floema en las plantas con flores consiste en células denominados elementos de los tubos cribosos, también conocidos como miembros de los tubos cribosos. La mayoría de los tubos cribosos permanecen vivos y activos en su madurez. Se agrupan extremo con extremo para formar el tubo criboso, conducen los nutrientes orgánicos desde la hoja hasta otras partes del vegetal (Flores, 1999).

Un rasgo distintivo de los elementos de los tubos cribosos es la presencia de una placa cribosa, que es una pared celular con poros que bordea la membrana y permiten que los materiales pasen de una célula a otra, sin cruzar la membrana plasmática ni la pared celular. Los elementos de los túbulos cribosos forman una conexión citoplasmática continua a lo largo de todo el vegetal. Otro rasgo característico de estos elementos es que en su madurez carecen de núcleo, y dependen por eso de células adyacentes. Las células anexas poseen núcleo, y en consecuencia puede suministrar proteínas a los elementos de los tubos cribosos (Cronquist, 1982).

El floema y el xilema se hallan asociados no sólo en su conjunto, sino también por lo regular dentro de sus partes, es decir, en los haces vasculares. Las diferentes maneras de disponerse los tejidos vasculares dentro de los haces ha permitido clasificarlos en distintos tipos:

3.4.2.1 Haces colaterales abiertos

Son aquellos que conservan algunas células meristemáticas entre el floema y el xilema, productoras de elementos secundarios con origen primario.

Estas células procambiales constituyen una zona generatriz, integrada por células meristemáticas situadas entre el floema y el xilema, la cual por repetidas divisiones tangenciales de sus células produce xilema secundario hacia la parte interna y floema secundario hacia el exterior (Cronquist, 1982).

3.4.2.2 Haces colaterales cerrados

Se consideran cerrados los haces donde el floema y el xilema están en contacto inmediato, incapaces de modificar su estructura primitiva. Este tipo de haz es característico de las plantas monocotiledóneas. En estos tipos de haces todas las células del procambium se diferencian en elementos del xilema y el floema y ninguno permanece en estado meristemático como las Gimnospermas y Dicotiledóneas. Debido a la ausencia del cambium, la mayoría de las monocotiledóneas no experimentan crecimiento en grosor (Cronquist, 1982).

3.4.2.3 Haces bicolaterales

Se presentan en determinadas familias de plantas como cucurbitáceas y solanáceas; estas poseen dos zonas de floema: una en posición normal, como en el haz colateral y la otra más hacia adentro y menos desarrollado que la primera (Cronquist, 1982).

3.4.2.4 Haces concéntricos

En algunas pteridofitas y monocotiledóneas el tipo de haz es denominado concéntrico; los hay de dos clases atendiendo a la posición de los tejidos vasculares. Con el xilema en la parte externa rodeando el floema, (tipo frecuente en los rizomas de las Monocotiledóneas), llamándose por ello concéntrico perixilemático. Y con el xilema en la parte central y el floema al exterior (frecuentemente se presenta en los helechos, por ejemplo en el género *Pteris*), se designa con el nombre de concéntrico perifloemático (Cronquist, 1982).

3.4.2.5 Haces radiales

Se encuentra en la raíz y son característicos de este órgano. Este haz conductor radial comprende varios cordones xilemáticos y floemáticos, que se disponen como los radios de una rueda, alternando los de una clase con lo de la otra. El conjunto de los cordones xilemáticos de ordinario aplanado lateralmente, presenta pues forma estrellada en la sección transversal. Los entrantes comprendidos entre las láminas leñosas están ocupados por los cordones cribosos, que quedan separados de los cordones xilemáticos por una o varias capas de células parenquimáticas (Cronquist, 1982).

En los haces radiales, la formación de todos los elementos de los cordones xilemáticos y floemáticos avanzan progresivamente de la periferia del haz hacia el centro del mismo, en la porción más externa quedan por ello las células primiciales o primarias (el protoxilema y profloema); les sigue hacia el interior los elementos diferenciados más tarde (metaxilema y metafloema). Estos haces son típicos de raíces; en el vástago se presenta raramente, por ejemplo, en algunos helechos. El número de radios xilemáticos varía de unas especies a otras y da origen a la clasificación en dranceas, tetranceas, etc. (Cronquist, 1982).

3.4.3 La hoja

Histológicamente la hoja está compuesta de tres tipos de sistemas de tejidos: epidermis, mesófilo y tejido vasculares.

3.4.3.1 Epidermis

La epidermis de hojas de distintas plantas varía en cuanto a número de capas, forma, estructura, disposición de estomas, tipo y disposición de tricomas y existencia de células especializadas. Dada la estructura normalmente aplanada de la hoja se hace una distinción entre los tejidos epidérmicos de las dos superficies foliares la superficie de la hoja que está

más próxima al entrenudo superior, y que normalmente mira hacia arriba se denomina superficie adaxial; la otra superficie se denomina superficie abaxial (Fahn, 1982).

En las distintas plantas es posible encontrar diferentes tipos de células epidérmicas: células típicas de la epidermis, células aisladas o grupos de células con estructura, forma o contenido especial; células relacionadas con estomas y apéndices epidérmicos o tricomas (Fahn, 1982).

3.4.3.1.1 Estomas

Los estomas son aberturas de la epidermis rodeados por dos células oclusivas que, al cambiar de forma, hacen que el poro se abra o se cierre. En numerosas plantas se puede distinguir células subsidiarias o accesorias que difieren morfológicamente de las células epidérmicas típicas y suelen ser dos o más células que bordean a las células estomáticas, con las que aparentemente parecen estar relacionadas funcionalmente. Los estomas pueden ser de tres tipos; estomas mesógenas en los que las células subsidiarias y estomáticas tienen un origen común, estomas perígenas en las que las células subsidiarias se desarrollan a partir de células protodérmicas adyacentes a la célula madre de las estomáticas y estomas mesoperígenas, en los que las células que rodean al estoma tienen un origen dual; uno o a veces varias, de las células subsidiarias tienen un origen común con las estomáticas mientras que la otra u otras no (Evert, 2006).

En las hojas de venación reticulada y los estomas se distribuyen sin un orden aparente, pero en las hojas que son mayoritariamente paralelinervias los estomas toman una disposición también paralela (Evert, 2006).

Morfológicamente se han diferenciado distintos tipos de estomas que han permitido la clasificación taxonómica de las plantas.

3.4.3.1.1.1 Tipo amonocítico (ranúncolaceo) en que las células estomáticas están rodeadas por un cierto número de células que no se diferencian en forma y tamaño de las

restantes células epidérmicas. Este tipo es frecuente en las ranunculáceas, geraneaceas, caparidáceas, cucurbitáceas, malváceas, escrofulariáceas, tamaricáceas y papaveráceas.

3.4.3.1.1.2 Tipo anisocítico (crucífero), en que las células estomáticas están rodeadas de tres células subsidiarias de tamaño desigual. Este tipo es frecuente en las crucíferas.

3.4.3.1.1.3 Tipo paracítico (rubiáceo), en el que cada célula estomática se encuentra acompañada por uno o más células subsidiarias, cuyo eje longitudinal son paralelos a los de las células estomáticas y a la apertura del estoma este tipo es frecuente en las rubiaceas.

3.4.3.1.1.4 Tipo diacítico (cariofiláceo), en el que cada estoma está rodeado por dos células subsidiarias cuya pared común forma un ángulo recto con el eje longitudinal del estoma. Este tipo es común en las cario filaceas, acantáceas y otros.

3.4.3.1.1.5 Tipo actinocítico, en el que el estoma está rodeado por una corona de células dispuestas radialmente (Flores, 1999).

3.4.1.2 Apéndices epidérmicos

Tanto los apéndices unicelulares como los pluricelulares que se presentan en la epidermis se denominan tricomas. Estructuras de una mayor masa como pueden ser las verrugas, algunas estructuras secretoras y los acúleos (espinas) están formados por tejidos tanto epidérmico como subepidérmico y reciben el nombre de emergencias. La utilización de los tricomas en la taxonomía vegetal es de sobra conocida. Algunas familias se pueden identificar con facilidad teniendo en cuenta la presencia o ausencia de algún tipo o tipos de pelos. En ocasiones, los pelos pueden ser importantes en la clasificación de géneros, especies e híbridos interespecíficos. Los tricomas se han clasificados en tricomas glandulares y tricomas no glandulares (Fahn, 1982).

3.4.3.2 El mesófilo

El mesófilo es el tejido parenquimático situado entre las epidermis adaxial y abaxial. Normalmente el mesófilo sufre una diferenciación para dar lugar a los tejidos

fotosintéticos y por ello sus células tienen cloroplastos. En muchas plantas, y sobre todo entre las dicotiledóneas, pueden distinguirse en el mesófilo dos tipos de parénquima: el parénquima en empalizada y el parénquima lagunoso o esponjoso. Las células del parénquima en empalizada típico son alargadas, y en una sección transversal de la hoja tienen apariencia tubular y se encuentran dispuestas en hileras, las células en empalizadas se encuentran inmediatamente por debajo de la epidermis, que puede ser uniestratificada o pluriestratificada. Las células del parénquima en empalizada, pueden disponerse en una o varias capas este tejido se encuentra normalmente en la superficie adaxial de la hoja (Evert, 2006).

Las células del parénquima esponjoso tienen distinta forma. Pueden parecerse a las células del parénquima en empalizada o ser isodiamétricas, o alargadas en dirección paralela a la superficie de la hoja, sin embargo es una característica de todas las células del parénquima esponjoso, la presencia de lóbulos que contactan con los de las células vecinas (Fahn, 1982).

La posibilidad de distinguir entre el parénquima en empalizada y esponjoso no es siempre fácil, especialmente cuando el primero tiene varias capas (Fahn, 1982).

3.5 Material Vegetal en Estudio

3.5.1 *Silybum marianum* (L.) Gaertner

3.5.1.1 Sinonimias

Carduus marianus L.

3.5.1.2 Nombres populares

Cardo mariano, Cardo María, Cardo Asnal, Cardo Lechero, Cardo Blanco, Cardo de María.

3.5.1.3 Descripción botánica

El cardo mariano es un miembro de la familia Asteraceae, la cual incluye una diversidad de cardos, siendo *S. marianum* uno de los miembros medicinales más importantes de este género (Mulrow, 2000).

Es un subarbusto anual o bianual, la planta crece entre 200 a 250 cm con un tallo erguido, robusto, ramificado. Hojas oblongas a elípticas, pinasfitadas, con una longitud de 30 a 50 cm y 24 cm de ancho, verdes, sin peciolo, en el haz presentan manchas blancas a lo largo de las nervaduras, margen ondulada, dentada; espinas amarillas grandes en los ápices; las hojas inferiores son caulinares, sésiles y profundamente lobuladas; las superiores son mas enteras, abrasadoras al tallo mediante dos estipulas redondeadas y espinosas. Flores de color purpura tubulares agrupada en capítulos esféricos de 6 cm, terminales solitarios hasta 10 cm de diámetro, con brácteas recurvas, glabras, de margen espinoso y ápice que termina en una espina gruesa (Fonnegra, & Jimenez, 2007). Frutos aquenios oblongos de 0.6 a 0.7 cm de largo y 0.3 cm de ancho, con un grosor aproximado de 0.15 cm. Tegumento de color negro pardusco brillante o pardo grisáceo opaco con estrías oscuras de color gris blanquecino. Presentan en el extremo superior una protuberancia cartilaginosa anular de color amarillo, para favorecer la dispersión por el viento presenta pappus en cepillo (Cañigual, Vila, & Wichtl, 1998).

3.5.1.4 Descripción microscópica

Las hojas presentan células epidérmicas ondulado-sinuosas; en ambas caras pueden observarse estomas, con 3 a 5 células anexas. El mesófilo de la hoja presenta tres estratos de células en empalizada, muy anchas, y un parénquima lagunar muy laxo, casi de tipo arenquimático. Los granos de polen tienen unos 50 μm de diámetro y son aculeados (Cañigual, Vila, & Wichtl, 1998), la vista superficial de la semilla presenta una epidermis con esclereidas poligonales amarillas, en el corte transversal se observa la epidermis ondulada que consiste en macrosclereidas amarillas elongadas en forma de S, aproximadamente de unos 100 μm de longitud, dispuestos en una capa de empalizada, con

paredes secundarias incoloras y de pequeño calibre; las células cerca del esclerénquima contiene cristales prismáticos de oxalato de calcio; el endosperma está conformado de una capa de células redondas, alrededor de los cotiledones las células son un poco espesas; las elongadas células del cotiledón de paredes gruesas contienen pequeños grupo de cristales de oxalato de calcio, de aproximadamente 6 μm de diámetro y glóbulos de aceite (Upton, Graff, Jolliffe, Länger, & Williamson, 2011).

3.5.1.5 Hábitat y obtención

Es una planta originaria del mediterráneo que por siglos se ha expandido su crecimiento por toda Europa, emigró a Norte América por comerciantes europeos (Kumar, 2008). En Guatemala se cultiva ocasionalmente en el altiplano central (Cáceres, 1996).

Se encuentra principalmente en suelos muy ricos en nutrientes y muy poco arenosos. Su propagación es a partir de la diseminación de sus semillas, apareciendo sus frutos a los 150 días. Cuando éstos se encuentran maduros poseen la mayor concentración del principio activo, se procede a colectarlos, dejándolos terminar este proceso a la sombra para posteriormente extraer la semilla. Es importante almacenar la semilla en un lugar seco y bien ventilada (Thorne, 1999).

3.5.1.6 Partes empleadas o materia médica

Se utilizan principalmente las semillas, sumidades floridas, hojas y a veces las raíces (Volak, & Stodola, 1988; Gruenwald, Brendler, & Jaenicke 2000; Fonnegra, & Jimenez, 2007).

3.5.1.7 Usos tradicionales

Existen registros de más de 2000 años que demuestran el uso del cardo mariano como hepatoprotector, los romanos en el siglo I, lo empleaban con frecuencia para enfermedades relacionadas con el hígado. En Europa se encuentran registros de la

utilización de la planta y su uso está muy difundido. En el siglo XVIII y XIX era prescrito para uso medicinal. Sin embargo fue hasta 1960 cuando se aisló la silimarina (Krapp, & Longe, 2006).

En países europeos hoy en día es utilizada la cocción de las semillas de cardo mariano como digestivo, laxante, antiinflamatorio, antineoplásico, hipotensor, astringente y diurético (Abascal, 2003).

Las hojas de *S. marianum* son utilizadas como estimulante para trastornos funcionales del hígado, vesícula, enfermedades del bazo y útero, en caso de metropatías y esplenopatías. Está también fue utilizada en tratamiento de malaria, emenagogo y molestias uterinas, (Cañigual, et al., 1998; Gruenwald, et al., 2000). Font (1976 citado en Cáceres, 2006) señala que es utilizada para tratar afecciones respiratorias, hipotensión y leucorrea, así como se le atribuye propiedad febrífuga.

3.5.1.8 Farmacología experimental

Se ha demostrado su propiedad antioxidante y los efectos beneficios en varias afecciones hepáticas como hepatotoxicidad secundaria aguda y crónica, hepatitis viral e intoxicación por hongos (Flora, Hahn, Rosen, & Denner, 1998).

Estudios han reportado que la silimarina, el principio activo de la planta, protege las células endoteliales e inhibe la liberación de enzimas hepáticas, esto fue comprobado en un cultivo celular primario de hepatocitos de rata con citotoxicidad inducida al administrar tetracloruro de carbono (CCl₄) y galactosamina, donde se observó su efectividad previniendo las lesiones celulares, además revierte o previene los cambios bioquímicos e histológicos producto de la intoxicación alcohólica, (Hikino, Kiso, Wagner, & Fiebig, 1984).

Feher & Vereckei (1991 citado en Alonso, 2004) demostró que la silimarina en intoxicaciones por agentes tóxicos como los hidrocarburos, tolueno y xileno, en dosis de

420 mg diarios durante 30 días disminuye drásticamente, los niveles enzimáticos hepáticos alterados.

En caso de intoxicación hepática inducida por tioacetamida que promueve el estrés oxidativo en la células hepática, cambia la permeabilidad de las células, incrementa la concentración intracelular de calcio, aumenta el volumen nuclear e inhibe la actividad mitocondrial provocando la muerte celular, la silimarina tiene un efecto hepatoprotector, el cual fue comprobado con extractos de polifenoles de *S. marianum* en ratas con hepatotoxicidad inducida con tioacetamida, en dosis de 25 mg/kg, los extractos provocaron una disminución significativamente en los valores de aminotransferasas, fosfatasa alcalina, bilirrubina en comparación con el grupo control. El efecto hepatoprotector observado en este estudio es atribuido a la presencia de compuestos flavonoides y antioxidante (Madani, Talebolhosseini, Asgary, & Naderi, 2008).

Der Marderosian & Liberti (1988 citado en Alonso, 2004) comprobaron que en caso de intoxicación por *Amanita phalloides* administrando silimarina a 60 pacientes, 20 mg/kg se evita la muerte respecto con el 50 % de las muertes esperadas. Foster (1991 citado en Alonso 2004) en un estudio realizado en Europa demostró que la administración del extracto acuoso de silibina por vía intravenosa disminuyó la tasa de mortalidad de un 22.5 % a 12.8 % comparada con tratamientos convencionales, en un grupo de 220 caso de envenenamiento por amanita.

Ensayos clínicos han demostrado el efecto positivo en la reducción de glicemia en pacientes diabéticos tratados con *S. marianum*. Un estudio clínico aleatorio doble ciego en 51 pacientes con diabetes tipo II, se comprobó que el uso en un periodo de cuatro meses de silimarina disminuye significativamente los valores de la hemoglobina glicosilada, glucosa, colesterol total, lipoproteínas de baja densidad (LDL), triglicéridos, alanina aminotransferasa (ALAT) y aspartato aminotransferasa (ASAT) (Fallah, et al., 2003).

Estudios experimentales en ratas con edema inducido con carragenina y formalina, tratados oralmente con dosis de 10 mg/kg de extractos metanólicos de las hojas secas de *S.*

marianum, inhibe la formación del edema significativamente en un 74.0 a un 93.9 % (Katiyar, 2005).

Clínicamente en un estudio doble ciego realizado en 170 pacientes con cirrosis demostró que dosis de 140 mg de silimarina tres veces al día en un periodo de dos años reduce de forma significativa la mortalidad en paciente con cirrosis alcohólica (Ferenci, et al., 1989).

El cardo mariano tiene una función bien establecida como hepatoprotector, varias investigaciones han encontrado que las semillas contienen compuestos con actividad hepatoprotectora, también es considerado como un protector renal y muestra ser un fuerte componente en los tratamientos para el cáncer como apoyo complementario a la quimioterapia y la radioterapia al potenciarlas y previniendo la resistencia a dichos medicamentos, estudios realizados han demostrado que la silimarina muestra una gran capacidad como preventivo y coadyuvante en el tratamiento de muchos tipos de cáncer (Abascal, 2003; Tyler, 1993).

La efectividad de silibina como agente quimiopreventivo fue demostrado en un estudios con ratones con cáncer de pulmón inducido por la administración de 1 mg/kg de uretano por 7 semanas y silibina en dosis de 742 mg/kg por 18 semanas, demostrando que la silibina inhibe la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) enzima importante que promueven el crecimiento de los tumores, así mismo disminuye el número y tamaño de los tumores en un 71 % (Ramasamy, et al., 2011).

Otro estudio efectuado en ratones con tumores establecido en el adenocarcinoma de la próstata tratados con silibina, demostraron que inhibe el crecimiento, progresión, invasión a vesícula seminal y metástasis a distancia que implica la supresión de la angiogénesis tumoral y la transición epitelio-mesenquimal (Singh, Raina, Sharma, & Agarwal, 2008). De igual manera la silibina demostró que impide la tumorigénesis intestinal; en la formación de pólipos en la porción proximal, media y distal del intestino delgado en un 27, 34 y 49 % respectivamente, en colon con una reducción del 55 % en el

número de pólipos. La silibinina mostró una disminución significativa en los pólipos de gran tamaño (> 3 mm) en un 66 % y una supresión completa en pólipos de > 3 mm de tamaño. Los análisis moleculares sugieren que la silibina ejerce su eficacia como quimiopreventivo al inhibir la proliferación celular, la inflamación y la angiogénesis e inducir la apoptosis, disminuyendo la actividad transcripcional y modulación del perfil de expresión de las citoquinas (Rajamanickam, Velmurugan, Kaur, Singh, & Agarwal, 2010).

Experimento *in vitro* con células de riñón demuestran que la administración de los flavolignanos de *S. marianum* disminuye o evita el efecto nefrotóxico ocasionado por los medicamentos utilizados en quimioterapia como la cisplatino, vincristina y paracetamol (Sonnenbichler, Scalera, Sonnenbichler, & Weyhenmeyer, 1999).

Estudios clínicos en pacientes en quimioterapia tratados con cisplatino el cual actúa como un promotor de la apoptosis celular, mostró que la silimarina tiene un efecto protector contra el daño producido a las células renales, esta no interfiere con los mecanismos citotóxicos del cisplatino frente a las células cancerosas, creando la opción de una terapia combinada que promueva la calidad de vida del paciente (Ninsontia, Pongjit, Chaotham, & Chanvorachote, 2011).

3.5.1.9 Composición química y principios activos

El principal componente medicinal de la planta (silimarina) se encuentra en las semillas (4 al 6 %). Presenta una mezcla de diversos derivados flavonónicos localizados exclusivamente en el tegumento cuyos componentes principales son silibina, silicristina y silidianina (Cañigual, et al., 1998). Además presenta apigenina, silibonol, quercetina, aceites esenciales, principios amargos, ácido fumárico, ácidos grasos con una elevada proporción de ácido linoleico del 60 %, ácido oleico 30 % y ácido palmítico 9 %, en sus triglicéridos contiene tocoferol y esteroides, como colesterol campesterol, estigmasterol y sitosterol, albumina y pequeñas cantidades de mucílagos (Gruenwald, et al., 2000). Las hojas contienen flavonoides: como la apigenina, 7-O-glucosil-apigenina, 7-O-glucuronil-apigenina, 4,7'-diglucosil-apigeninana, kempferol, 7-O-glucosil-kempferol, 7-O-glucosil-

kempferol-3-sulfato, luteolina, y 7-O-glucosil-luteolina. Otros componentes como sitosterol y su glucósido, un triterpeno acetilado, poliacetilenos, ácido fumárico (3.3 %) histamina, tiramina, taninos metales como calcio, cobre, hierro crómico, magnesio, potasio y cinc, así como vitaminas C, E y K (Alonzo, 2004; Cañigüeral, et al., 1998).

Estudios realizados comprueban que el principio activo que protege y regenera el hígado se encuentra en el extracto crudo y sus componentes aislados. La silimarina estimula la síntesis de proteínas, acelerando el proceso de regeneración hepática, inhibe la lipooxigenasa y la sintetasa de prostaglandinas y aumenta el contenido hepático de glutatión reducido y oxidado (Fiebrich, & Koch, 1979). La actividad antioxidante se le atribuye al grupo hidróxido fenólico como también a los flavonoides y los alcoholes coniferil en la estructura de la silimarina (Haraduga, & Haraduga, 2009).

Se ha demostrado, tanto *in vitro* como *in vivo*, que la silibina aumenta la velocidad de síntesis de ARN ribosomal, a través de la estimulación de la polimerasa I de los nucléolos. Esto da lugar a un aumento de la síntesis de proteínas y una aceleración de los procesos de regeneración celular. Por lo tanto, además de la acción profiláctica, también existen efectos curativos (Stephen, et al., 2010).

La silimarina actúa como antagonista frente a diversos agentes hepatotóxicos, faloidina y α -amanitina, lantánidos, CCl_4 , galactosaminas, tioacetamidas. La eficacia terapéutica de la silimarina se basa en dos puntos de ataque o mecanismos de acción: por una parte, modifica la estructura de la membrana celular externa de los hepatocitos impidiendo la penetración de los agentes hepatotóxicos a la célula; por otra parte estimula la actividad de la polimerasa A de los nucleósidos, con el consiguiente aumento de la síntesis proteica ribosomal (Blumenthal, et al., 1998), estos efectos hepatoprotectores similares *in vitro* se han demostrado contra el etanol y acetaminofén en animales (Thorne, 1999).

Estudios realizados en cultivo de células hepáticas demuestran que los flavolignanos puro derivados de la silimarina puede inhibir la infección por el virus de la hepatitis C (VHC), al bloquear las proteínas del VHC y la expresión del ARN (Stephen, et al., 2010).

Datos obtenidos en una investigación comprueban que la silimarina ejerce un efecto protector durante las lesiones tejidos isquémicos en mucosa gástrica por reperfusión, al interferir con el metabolismo oxidativo de los neutrófilos, lo que disminuye la extravasación del neutrófilo y la citotoxicidad mediada por neutrófilo (Alarcón, et al., 1994).

Bisset (1994 citado en Cáceres, 1996) explican que la actividad que tiene la planta en el sistema nervioso, respiratorio y sistema porta se debe a la presencia de los metales y tinturas extraídas de la hoja.

3.5.1.10 Indicaciones terapéuticas

Es indicada para la profilaxis y el tratamiento de los daños hepáticos, toxicometabólicos, en las alteración funcionales del hígado durante y después de la hepatitis, en las hepatopatías degenerativas crónicas como cirrosis y esteatosis hepática y en hepatitis latentes (Cañigüeral, et al., 1998).

Se recomienda su uso en el tratamiento de insuficiencia hepatobiliar, hepatitis aguda y crónica, cirrosis, disquinesias hepatobiliares, inapetencia, digestión lenta, cistitis, urolitiasis y oliguria (Cáceres, 2006), intoxicación por setas, psoriasis, así como ayuda en el tratamiento a personas que viven con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) (Krapp, & Longe, 2006).

Se administra dos a tres veces al día después de las comidas durante 4 a 6 semanas, de 3 a 5 g por tasa de infusión, 1 a 2 mL de extracto fluido 1:1, 1 a 3 mL de tintura o 0.5 – 1 g de extracto seco nebulizado 4:1 (Cáceres, 2006).

Las tinturas de cardo mariano se toman en dosis de 1 a 2 mL tres veces al día (Krapp, & Longe, 2006).

3.5.1.11 Toxicología

Estudios realizados en humanos han demostrado que la silimarina generalmente no causa ningún efecto secundario y no es tóxico, cuando se administra la dosis adecuada de 240-900 mL/día divididas en tres dosis durante el día para adultos, una dosis mayor (\geq 1500 mL/día) puede producir efectos de laxante ya que esto puede incrementar la secreción biliar (Kumar, 2008).

Los efectos secundarios más comunes observados en un ensayos clínicos fueron hinchazón, dispepsia, náusea y diarrea observada en un porcentaje de 2-10 % de pacientes (Kumar, 2008).

La silimarina no es tóxica ni siquiera en dosis elevadas.

No se ha demostrado ningún efecto tóxico al embrión, ni a largo plazo, ni su seguridad durante el embarazo (Cáceres, 2006).

Estudios en células humanas hepáticas muestran que la silibina interactúa de manera inhibitoria con el sistema enzimático citocromo P-450, reduciendo la actividad de algunos fármacos y afecta la actividad de las enzimas CYP3A4 (metaboliza eritromicina), CYP2C19 (mefenitoina) produciendo la disminución en la eliminación de ciertas drogas lo que potencia el aumento de la toxicidad de las mismas (Venkataramanan, et al., 2000; Sridar, Goosen, Kent, Williams, & Hollenberg, 2004).

3.5.1.12 Contraindicaciones

Se encuentra contraindicado únicamente en casos de presentar algún tipo de alergia a las plantas de la familia Asteraceae (WHO, 2002).

3.5.1.13 Precauciones y reacciones adversas

Se han reportado un suave efecto laxante (WHO, 2002).

3.6 Otras especies conocidas como cardo

Cardo es el nombre común que se les da a plantas herbáceas espinosas con flores, en su mayoría pertenecientes a la familia de las compuestas (Asteraceas). El nombre cardo proviene del latín, *Carduus* de la raíz *carridus*, refiriéndose a su aspereza (Font-Quer, 1953).

Silybum marianum pertenece a la subtribu Carduinae que comprende a los géneros: *Arctium*, *Carduus*, *Cirsium*, *Notobasis*, *Onopordum*, *Silybum*, los cuales poseen características muy similares entre sí, lo que facilita una equivocación en la identificación de las especies. El cardo mariano en los mercados populares de Guatemala es comúnmente confundido con *Cirsium mexicanum* el cual es una especie nativa de Mesoamérica a diferencia de *S. marianum*.

3.6.1 *Cirsium mexicanum* DC

3.6.1.1 Descripción botánica

Hierba anual, entre 50 a 150 cm de altura. Las hojas basales pueden medir hasta 45 por 18 cm de largo, superiores entre 2 a 30 cm de largo y entre 1 a 17 cm de ancho, lacerado-pinnatífidas, espinosas en el ápice de los lobos y sobre los dientes en el margen; sésiles, leve perfoliadas y decurrentes sobre los tallos. Inflorescencia compuesta de cabezuelas solitarias o en glómérulos. Cabezuelas discoides, con 8 o 9 series de brácteas involúcras, cabezuelas externas de glabradas a esparcido y blanco tomentosas, espinosas únicamente en el ápice, cabezuelas internas entre 2.5 a 3.5 cm de largo. Flores entre 2.5 y 3 cm de largo, de violeta a moradas, lóbulos entre 0.4 a 0.5 cm de largo, incisos

aproximadamente 1/5 del largo de la corola, anteras entre 0.4 a 0.5 cm de largo. Aquenios entre 0.4 a 0.5 cm de largo, glabros; vilano entre 2 a 2.7 cm largo (Nash, 1976).

C. mexicanum se distingue por su hábito arbustivo, hojas opuestas, lámina foliar y brácteas involucreales espinosas, cabezuelas discoides, flores violeta o moradas y por sus aquenios con vilano compuesto de cerdas plumosas (Nash, 1976).

3.6.1.2 Hábitat y obtención

Generalmente se encuentra en suelos húmedos o mojados, en campos o matorrales, pastizales, en bosque de pino. Nativa del sur de México, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica (Nash, 1976). En Guatemala es frecuentemente encontrado en Jutiapa, Chimaltenango, Alta Verapaz, Huehuetenango, Sololá, Jalapa, Petén, Quetzaltenango, El Quiché, Retalhuleu, Sacatepéquez, Santa Rosa, Totonicapán (Mellen, 1974).

La planta se obtiene exclusivamente por recolección en los campos de crecimiento silvestre en las regiones frías y montañosas del altiplano del país. Si bien es una planta relativamente frecuente en el país, raramente se encuentra en forma abundante en una localidad determinada. Florea de febrero a junio, pero las hojas y flores se colectan hacia finales de la floración y se secan a la sombra (Nash, 1976).

3.6.1.3 Partes empleadas o materia médica

La materia vegetal popularmente utilizada como medicina son las hojas, tallos y flores secas, que deben reunir las mismas características fisicoquímicas y sanitarias de las otras materias primas usadas para la elaboración de productos fitofarmacéuticos (Instituto Indígena Nacional [IIN], 1978; Mellen, 1974).

3.6.1.4 Usos tradicionales

Uno de los primeros escritos que describe el uso terapéutico de *C. mexicanum* es el manuscrito Badiano el cual menciona que ramas y raíces molidas eran utilizadas para tratar la sangre negra, que formaba parte de diferentes mixturas para curar la sarna, refrescar el cuerpo de calor excesivo, quemaduras, frialdad del cuerpo y fiebre (De La Cruz, 1991).

Estudios etnofarmacológicos en México indican que se utiliza para tratar cáncer, problemas del riñón utilizando infusiones de las partes aéreas de la planta como también la decocción de la raíz como hipoglucemiante (Hernández, et al., 2002; Andrade, & Heinrich, 2005; Andrade, 2009). Infusiones con las flores son utilizadas para el mal de orín y bajar la fiebre (Argueta, Cano, & Rodarte, 1994) y es utilizada en enfermedades del sistema respiratorio (Martínez, 1934).

En Guatemala popularmente es utilizado la preparación de té de las hojas, a las que se le atribuye una acción de narcótico, oftálmico, sudorífico, purgante, tónico, febrífuga, depurativo y diaforético (Mellen, 1974). La decocción de las hojas se suministra por vía oral para el tratamiento de inflamación de los riñones y derrame biliar. Parte del tratamiento para aliviar la tos se basa en la decocción de la flor. Otras partes utilizadas es el tallo que se hierven para el tratamiento de fiebre y tosferina (IIN, 1978).

3.6.1.5 Farmacología experimental

Estudios antibacterianos realizados por Cáceres, et al. (1990 y 1991 citados en Cáceres, 1996), demuestran que la tintura de hojas no tiene actividad contra enterobacterias (*Escherichia coli* enteropatógena, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*) y que el extracto etanólico de hojas tiene una ligera actividad contra *Staphylococcus aureus*, pero no produjo inhibición de *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes*.

3.6.1.6 Composición química

En la revisión realizada en las bases de datos y la literatura disponible no se encontró ningún dato sobre la composición química de esta especie. El tamizaje fitoquímico preliminar indica la presencia de alcohol cirílico, ácidos grasos, alcanfor y aceites esenciales (Álvarez, 1987).

3.6.1.7 Indicaciones terapéuticas

El uso de las hojas y flores está indicado por vía oral como colagogo y sudorífico, por lo que se usa para el tratamiento de diversas afecciones digestivas, hepáticas y respiratorias. Se recomiendan administrar tres veces al día una dosis de 2- 4 g/taza de agua en infusión o decocción, 3-5 mL de tintura 1:10 en etanol 35 % (Cáceres, 1996).

3.6.1.8 Toxicología

No se encontraron estudios relacionados con su toxicología (Cáceres, 1996).

3.6.2 *Argemone mexicana* L.

3.6.2.1 Descripción botánica

Hierba anual de 100 cm o menos de altura, en ocasiones su tiempo de vida supera el año, su tallo es glabro pero provisto de numerosas espinas en todo su largo, con un color glauco, el follaje presenta manchas, sus hojas presentan una forma sinuadospinnatífidas de 8 a 20 cm de largo con márgenes espinosas sus lóbulos son cortos y anchos. Las flores solitarias en los extremos de las ramas, cada subtendidos conformado de 2 a 3 hojas de brácteas, tres sépalos espinosos de punta robusta cilíndrica, 6 pétalos blanco cremoso o amarillo, generalmente de 2 a 3 cm de largo, su cápsula de 4 a 6 valvas, de 4 a 5 cm de largo armado con pocas espinas. Semillas globosas, numerosas y reticulares, alrededor de 0.25 cm de diámetro (Nash, 1976).

3.6.2.2 Hábitat

Se encuentra lugares secos o húmedos o de mucha vegetación, a menudo junto a caminos o en terrenos arenosos, se han encontrado en alturas superiores a 2500 metros sobre el nivel del mar. Es originaria de la región de las Antillas, Florida y Centroamérica y Península de Yucatán (Rzedowski, & Calderón, 1991). Actualmente su distribución es cosmopolita en México, localizada desde honduras hasta Panamá, en el Occidente de la India y América del Sur (Nash, 1976). En Guatemala es frecuentemente encontrado en, Peten, Jalapa, Jutiapa, Escuintla, Guatemala, Sacatepéquez, Chimaltenango, Quiche, Huehuetenango, Quetzaltenango (Mellen, 1974).

3.6.2.3 Parte empleadas o materia médica

Es utilizado toda la planta, tallo, raíz, hojas, flores y semillas (Mellen, 1974; Alonso, 2004).

3.6.2.4 Usos tradicionales

Popularmente los frutos y el aceite o la trituración de las semillas son utilizadas para gastroenteritis, fiebres intermitentes, hipnosedantes, tónica cardíaca, diurética, abortiva y purgante. Las flores son utilizadas como sudoríficas, anticatarrales y abortivas. La raíz es utilizada externamente como cicatrizantes y para tratar alopecia. El jugo de las hojas se instila como colirio en problemas oftalmológicos, en tanto el jugo de la raíz se recomienda como anticancerígeno y anticonceptivo (Alonso, 2004). El látex de las flores es utilizado para eliminar manchas de la córnea, también es utilizada para eliminar la sarna y la tiña haciendo moliendas de la semilla. La decocción de la raíz y la hoja son aplicadas en la piel para curar edemas, inflamación, dolor de músculos, úlceras, yagas, y remover verrugas, es utilizada como enjuague bucal y para curar infecciones del ojo. La sabia de la hoja es empleada en gotas para curar inflamación del oído y las hojas machacadas se coloca en los temporales cuando existe dolor de cabeza (González, López, González, & Tena, 1997;

Schmelzer, & Fakim, 2008). La tintura amarilla de la corteza actúa como purgante expulsando helmintos intestinales (Estrada, 1992).

En Guatemala, el látex es colocado en los ojos para aliviar afecciones. Es registrado que indígenas de San Miguel Acatán (Huehuetenango), emplean la planta para curar embriaguez, pero la manera administrada no es descrita (Nash 1976), en enfermedades del sistema gastrointestinal es utilizado el jugo, la hoja, la semilla y el tallo para curar, diarrea, disentería, estreñimiento, es utilizado emético, tónico y aperitivo y para tos fuerte. Para enfermedades de la piel y mucosas es utilizado el látex de la sabia (Cáceres, Girón, & Freire, 1989, 1990). En las áreas Cakchiquel y Tzutujil, utilizan la sabia para curar el mal de ojo (IIN, 1978).

3.6.2.5 Farmacología experimental

Estudios en ratas albinas han comprobado que extractos etanólicos de las hojas de *A. mexicana*, posee una alta actividad antiinflamatoria y analgésica significativa en dosis de 200 mg/kg, en comparación con la aspirina y otras drogas de uso comercial suministrada a los grupos de control (Sharma, & Sharma, 2010).

La actividad antibacteriana se ha comprobado con extractos metanólicos de la semilla y de la hoja, demostrando mayor actividad contra *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* y *Bacillus subtilis* los extractos metanólicos de la semilla (Bhattacharjee, Cjatterjee, & Chandra, 2006) Hussain y Deeni (1991) en su estudio comprobaron la inhibición de *E. coli* con extractos metanólicos obtenidos de hojas de *A. mexicana*. Así mismo extracto de cloroformo de la semilla muestran una actividad antibacteriana significativa contra bacterias transmitidas por el agua tales como *E. coli*, *Shigella* sp, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Salmonella* sp. (Kumar, Pandey, Singh, & Singh, 2009), como también contra *Klebsiella pneumoniae* y *P. aeruginosa* con una concentración mínima inhibitoria de 1.5625 a 3.125 mg/mL (Solanki, 2010), esta actividad puede ser atribuida a la presencia de algunos componentes bioactivos presentes como alcaloides, fenoles y ácidos grasos (Rahman, Salehin, Mostofa, Parvin, & Alam, 2011). Estudios realizados por Gehlot

y Bohra (2000) demuestran que tanto el extracto acuoso como el alcohólico del tallo de *A. mexicana* presentan actividad antimicrobiana contra *S. typhi*.

El efecto hepatoprotector se observó en un estudio realizado en ratones intoxicados con CCl₄ donde extractos acuosos de toda la planta de *A. mexicana* en dosis de 250 mg/kg y 150 mg/kg en un periodo de 7 días, ocasionó una reducción significativa de ASAT y ALAT, fosfatasa alcalina, proteínas y albumina sérica (Panda, & Ranjan, 2009).

Estudios oncológicos experimentales en ratones inoculados con células tumorales de leucemia linfocítica P-388 y sarcoma 37 tumor ascítico de Ehrlich, comprobaron que extracciones de una mezcla de polisacáridos a partir de hojas de la planta en floración de *A. mexicana* incrementa moderadamente la actividad antitumoral en los ratones portadores del sarcoma, así mismo se observó un incremento de la actividad antitumoral en los ratones tratados previamente con un combinado del extractor crudo y el citostático 5-fluoracilo evidenciándose en el rechazo en la implantación del tumor de Ehrlich, este efecto se le atribuye a la estimulación sobre el sistema inmune de los animales (Pérez, et al., 2005).

Argemone mexicana se establece como una patente para el tratamiento de escleroderma ya que ha mostrado en los extractos de la hoja y tallo, poseer una acción de inmunosupresión, inhibición de la linfoproliferación, modulación de citoquinas, tales como la inhibición de la interleucina-2 (IL-2), interferón gama (IFN- γ), inducción de la interleucina-1 (IL-10), la inhibición de la proliferación de queratínocitos, actividad de los queratolítica, la inhibición de la proliferación de células endoteliales, la inhibición de la expresión de moléculas de adhesión celular, tales como molécula de adhesión intracelular-1 (ICAM-1), MEST, e inhibición de la enzima tirosin quinasa p60src (Pope, 2007).

Su efecto nematocida fue observado en una suspensión de agua de extractos de metanol, acetato etílico y hexano de *A. mexicana* en un experimento *in vitro* contra *Meloidogyne javanica*, en el estudio el extractos de metanol a 10 g/L mostro la mayor mortalidad seguido de extractos de metanol de 1 g/L, extractos de acetato de etilo y de hexano exhibieron la menor actividad (Shahid, Siddiqui, Khan, & Zaki, 2002). Extractos de

éter de petróleo demostró tener un efecto potente contra el nematodo *Meloidogyne incognita*, esta actividad nematocida se le atribuye a un triglicérido del extracto crudo (Saleh, Rahman, Ibrahim, & Taha, 1987).

Un estudio realizado con la decocción de *A. mexicana* en un aldea de Malí, demostró que en un 89 % de los pacientes tratados con *A. mexicana* como tratamiento antimalárico de primera línea no requieren tratamiento de segunda línea durante los 28 días de seguimiento, en comparación con el 95 % entre los pacientes tratados con terapia de combinación basada en artemisinín (TAC, por sus siglas en inglés), mostrando que *A. mexicana* como tratamiento de primera línea puede ser capaz de prevenir la malaria grave en zona palúdica de alta transmisión con el fin de reducir la resistencia en el tratamiento de la malaria con el medicamento TAC, como también puede constituir una los primeros auxilios cuando el acceso a otros antipalúdicos se retrasa (Graz, Willcox, Diakite, Falquet, Dackuo, Sidibe, et al., 2009).

3.6.2.6 Composición química y principio activo

A. mexicana contiene alrededor de veinte alcaloides isoquinolínicos del tipo protopina 0.3 %, alocriptopina 0.4 %, berberina 0.01 %, sanguinarina, dihidrosanguinarina, norsanguinarina, queilantifolina, nor-queleritrina, dihidroqueleritrina, copticina, criptipina, esculerina, estilopina, muramina, talifolina, reframidina, oxihidrastinina y argemexicaínas A y B. El total de la fracción de alcaloides en las raíces y tallo es de 0.25 %, en su mayoría protopina y beberina. La semilla contiene 35-40 % de un aceite amarillo-naranja que está constituido por ácido linoleico (54-61 %) y ácido oleico (21-33 %), de igual manera contiene concentraciones venenosas de sanguinarina de 10 g/L (Nash, 1976; Alonso, 2004; Schmelzer, & Fakim, 2008).

Extractos de la raíz de *A. mexicana* posee una alta capacidad de eliminación de radicales libre, lo que es atribuido a su contenido de polifenoles y otros componentes fitoquímicos, como alcaloides y esteroides. La raíz puede ser una fuente potencial de antioxidantes naturales que podrían tener mayor importancia como agente terapéutico de

prevenir o disminuir el estrés oxidativo relacionado con enfermedades degenerativas (Kantamreddi, Lakshmi, & Kasapu, 2010; Perumal, et al., 2010).

Varios extractos evaluados de las hojas de *A. mexicana* demostraron la capacidad de sanar heridas en ratas, los resultados revelaron un alto potencial de curación de los extractos metanólicos y acuosos, el cual se le atribuye a la presencia de fitoconstituyentes como alcaloides, triterpenos, taninos y flavonoides, en extractos que se sabe que promueven el proceso de cicatrización de las heridas, principalmente debido a sus propiedades astringentes, propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Dash, & Murthy, 2011).

Un estudio mostro que extractos de metanol de la hoja *A. mexicana* con una concentración de 5 µg/mL exhibe más del 60 % de inhibición del VIH-1 en concentraciones no citotóxicas y extractos de butanol de las hojas con concentración de 15 µg/mL mostraron una actividad moderada contra VIH-1 en un 40 % en concentración no citotóxicas, esta actividad de inhibición se le atribuye a la presencia de los alcaloides de estructura similar a los alcaloides de los medicamentos anti-VIH tales como buchapina, nitidina, la morfina, y FK-3000. (Sabde, Bodiwala, Karmase, Deshpande, Kaur, Ahmed, et al., 2011).

3.6.2.7 Indicaciones terapéuticas

Dado la toxicidad de la planta se limita su uso (Weniger, & Robineau, 1988; Alonzo, 2004), sin embargo en Guatemala es utilizada en varios sectores para diferentes afecciones del ojo; en la zona de Cakchiquel de Sololá se instila savia de *A. mexicana* en la comisura de los ojos dos veces al día. En la zona Tzutujil de San Juan la Laguna se mezcla la savia con leche materna y se instilan dos gotas en cada ojo tres veces al día. En Santiago Atitlán se instila una gota de savia de *A. mexicana* cada cuatro horas hasta que la nube de los ojos desaparezca (IIN, 1978).

3.6.2.8 Toxicología

Esta especie pertenece a la misma familia de *Papaver somniferum* L. (amapola de opio), tanto *P. somniferum* como *A. mexicana*, se reporta que son tóxicos y que ocasiona efectos psicotrópicos. Sus principios activos son alcaloides, principalmente beberina y protropina, que en grandes dosis tienen acciones paralizantes a nivel muscular. Otros de los alcaloides que posee producen irritación en la piel y mucosas (González, et al., 1997). La semilla puede ser venenosa, algunas veces es administrada como emético o purgativo pero su uso puede ser peligroso (Nash, 1976). Es de mucha importancia dejar libre de *A. mexicana* las zonas donde pastan los animales de granjas, ya que pueden crear intoxicaciones al ser ingerido por los animales, causando pérdidas económicas a los propietarios de las fincas y granjas (Aganga, Nsinamwa, Oteng, & Maule, 2011).

Sanguinarina y deshidrosanguinarina dos principales alcaloides de *A. mexicana*, causan dilatación capilar generalizada, la proliferación y aumento de la permeabilidad capilar lo que provoca la fuga de los componentes plasmáticos ricos en proteínas, a los compartimientos extracelular conduciendo a la formación de edema (Sharma, Malhatra, Bhatia, & Rathe, 1999). Estudios ha comprobado que la intoxicación aguda de extractos metanólicos y de acetato de etilo de *A. mexicana* en modelos animales no mostraron mortalidad hasta dosis de 2500 mg/ kg peso corporal (Anarthe, & Chaudhari, 2011).

La sintomatología de la intoxicación en el hombre debido a la ingesta de la semilla o de su aceite, presentan una serie de alteraciones tales como; edema bilateral de las piernas, dolores, ligera diarrea, disnea, anemia, alopecia, fuerte aumento de la presión intravascular que conduce al glaucoma, insuficiencia cardiaca ocasionando la muerte (Weniger, & Robineau, 1988).

3.6.2.9 Contraindicaciones

El uso de *A. mexicana* no es recomendado por muchos autores. En caso de prescripción médica facultativa, no debe de ser administrado los extractos del hoja en

embarazadas ni en pacientes con úlceras gástrica, tampoco el extracto de las semillas cuando se padece insuficiencia hepática cirrosis o hepatitis (Alonzo, 2004).

4. JUSTIFICACIÓN

El cardo mariano posee propiedades medicinales reconocidas a nivel mundial, que se le atribuyen efectos, antineoplásico, hepatoprotector y citorregenerador.

En estudios previos realizados por el departamento de Citohistología se ha comprobado que en algunos casos cuando las especies medicinales que se comercializan internacionalmente, no son nativas, la población guatemalteca la reemplaza por otras con características botánicas parecidas o que se les atribuyen propiedades similares, (Velásquez, 2009; Herrera, 2009), sin embargo muchas de estas no han sido adecuadamente estudiadas, en cuanto a su contenido y sus propiedades, lo que hace mas importante aun establecer caracteres de identidad de las especies involucradas.

Por lo que este estudio pretende determinar si las especies botánicas utilizadas popularmente como Cardo de María, que se distribuyen en diferentes mercados del altiplano central y centros naturistas corresponden a los caracteres micromorfológicos de *S. marianum*. Tomando en cuenta que dicha especie no crece en forma silvestre en nuestro país.

Mediante el establecimiento de parámetros de identidad y pureza de las especies involucradas el estudio contribuirá a establecer parámetros para el control de calidad de la especie en estudio, así como ampliará la base de datos de la línea de investigación de plantas medicinales, del Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Determinar los caracteres micromorfológicos de las especies botánicas utilizadas popularmente como cardo mariano en Guatemala.

5.2 Específicos

- 5.2.1 Establecer un cultivo piloto a partir de semillas de cardo mariano.
- 5.2.2 Determinar los caracteres macro y micromorfológicos de los ejemplares cultivados de *S. marianum* y de cada una de las diferentes especies recolectadas plenamente identificadas.
- 5.2.3 Obtener material vegetal comercializado como cardo mariano en cinco mercados del altiplano central.
- 5.2.4 Elaborar cartillas micrográficas de las especies identificadas.
- 5.2.5 Comparar los caracteres micromorfológicos de las muestras comerciales con las micrografías realizadas y tratar de establecer la identidad de las mismas.
- 5.2.6 Realizar el perfil fitoquímico de *S. marianum* bajo condiciones de cultivo, de *C. mexicanum* y *A. mexicana*.

6. HIPOTESIS

No se plantea hipótesis debido a que es un estudio descriptivo.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 **Universo:** Plantas medicinales de uso popular en Guatemala investigadas en el departamento de Cito histología.

7.2 **Muestra:** *Silybum marianum* (L.) Gaertner (Cardo mariano), bajo condiciones de cultivo y especies comercializadas como cardo mariano en el Altiplano Central de Guatemala.

7.3 Recursos

7.3.1 Humanos

7.3.1.1 Br. Claudia Polanco (estudiante)

7.3.1.2 Br. Víctor Pérez (estudiante)

7.3.1.3 Lic. María Eugenia Paredes Sánchez (asesora)

7.3.1.4 Ing. Vicente Martínez (co-asesor)

7.3.2 Institucional

7.3.2.1 Departamento de Cito histología, Escuela de Química Biológica, Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC)

7.3.2.2 Secadores de Herbario de la Escuela de Biología (BIGU), USAC

7.3.2.3 Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), USAC

7.3.2.4 Laboratorio de Ecología de la Facultad de Agronomía, USAC

7.3.3 Materiales

- Tijeras de podar
- Etiquetas
- Libreta de campo
- Bolsas de plástico
- Lápiz
- Papel periódico
- Marcador indeleble

- Cartulina
- Cartón corrugado
- Papel secante
- Fólderes
- Papel kraft
- Goma
- Hoja de afeitar
- Vidrio de reloj
- Pincel
- Lupa
- Beakers
- Caja de petri
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Tubo de ensayo
- Algodón
- Erlenmeyer
- Pipetas pasteur
- Probeta
- Viales color ámbar
- Agua de chorro
- Agua destilada

7.3.4 Equipo

- Microscopio
- Estereoscopio
- Estufa eléctrica
- Baño María
- Balanza semianalítica
- Desecadora

7.3.5 Reactivos

- Alcohol al 70 %
- Alcohol al 96 %
- Hidróxido de potasio al 5 %
- Gelatina-glicerina
- Hidróxido de sodio al 5 %
- Hipoclorito de sodio al 50 %
- Safranina al 1 %
- Safranina fast green
- Bálsamo de Canadá
- Alcohol al 80 %
- Alcohol al 100 %
- Xilol
- Hidróxido de potasio al 10 %
- Ácido crómico al 25 %
- Reactivo de Dragendorff
- Lugol
- Reactivo de sudan III o sudan IV
- Azul de cresil al 1 %
- Ácido sulfúrico concentrado
- Sulfato férrico
- Metanol
- Agua destilada

7.4 Metodología

7.4.1 Pruebas de identidad

7.4.1.1 Características macroscópicas y descripción botánica

7.4.1.1.1 Herborización de ejemplares frescos

7.4.1.1.1.1 Colecta y secado de muestras

- Observar las plantas de interés para determinar si pueden obtenerse suficientes muestras de ellas y si están sanas.
- Anotar en una libreta de campo datos como especie, familia, nombre común, localidad de la colecta, sitio de colección, altitud, descripción del hábitat, descripción del espécimen (hábito, hábitat, tamaño, hoja, flor, fruto), usos, número de colecta y fecha de colecta.
- Con la ayuda de tijeras de podar o machete, obtener al menos 5 ejemplares.
- Una vez colectadas, cada muestra se coloca en medio de 2 hojas de papel periódico. Anotar los datos básicos sobre el papel periódico con lápiz o marcador indeleble.
- Colocar primero 2 muestras por cada cartón corrugado. Así ir formando una pila de muestras. En ambos extremos de la pila poner cartón para retener mejor el calor.
- Colocar la pila de muestras en una prensa, amarrarla y apretarla lo más posible.
- Colocar la prensa en la secadora del herbario durante 24 horas, tiempo después del cual debe revisarse, si es necesario que permanezcan por otras 24 horas. De ser necesario cambiar el papel periódico para mantener las muestras libres de humedad y evitar así el desarrollo de hongos.

7.4.1.1.1.2 Montaje de muestras y etiquetas.

- Colocar cada muestra seca sobre una hoja de cartulina blanca de las dimensiones requeridas. Dejar libre la parte inferior derecha para colocar allí la etiqueta de

identificación. Sujetar la planta a la cartulina utilizando tiras de papel engomado, o bien utilizar goma.

- Si se han caído frutos o semillas de la muestra, elaborar una bolsita con papel kraft y pegar en un espacio adecuado en la cartulina.
- Elaborar y pegar la etiqueta de identificación de acuerdo a los requerimientos del Herbario BIGU.
- Colocar la cartulina con la muestra debidamente pegada e identificada en una hoja de papel periódico blanco.
- Colocar dentro del fólder que identifica a cada herbario.

7.4.1.1.2 Determinación de los requisitos macromorfológicos

Revisar a simple vista y con microscopio estereoscopio todos los caracteres que permitan una correcta identificación de la materia fresca y seca.

7.4.1.1.3 Descripción botánica diagnóstica

Elaborar una descripción botánica en base a obras florísticas generales y monografías, que permitan una clara identificación de la planta en estudio.

7.4.2 Caracteres micromorfológicos e histológicos

El estudio microscópico de una droga vegetal, exige siempre la elaboración de cortes del material en estudio, los cuales pueden ser hechos a mano libre o con un micrótopo.

7.4.2.1 Corte a mano libre (Anexo 12)

- Colocar un trozo de hoja o tallo entre dos trozos de duroport.

- Sostener fuertemente con una mano el material a cortar, ya acondicionado y con la otra mano, deslizar de manera perpendicular una hoja de afeitar en buenas condiciones.
- Recibir los cortes obtenidos en un vidrio de reloj con agua destilada.
- Seleccionar los cortes más delgados y parejos con la ayuda de una aguja de disección y colocarlos en láminas portaobjetos.
- Procesar según la técnica elegida.
- Observar al microscopio.

7.4.2.2 Técnica de diafanizado (Anexo 13)

- Colocar al menos cuatro hojas de la especie vegetal en un cristalizador con alcohol al 96°.
- Llevar a ebullición durante 30 min aproximadamente, hasta que ya no se observe coloración verde en las hojas.
- Pasar las hojas a una solución de partes iguales de alcohol al 96° e hidróxido de sodio al 5 %.
- Llevar a ebullición por 10 min.
- Lavar el material con agua destilada tibia varias veces hasta que el agua quede totalmente limpia.
- Pasar a una caja de petri que contenga una solución de hipoclorito de sodio al 50% hasta que las hojas queden blanco-transparentes.
- Lavar el material tratado con agua destilada varias veces hasta eliminar el hipoclorito de sodio.
- Proceder a colorear según técnica de coloración con safranina.
- Trasladar cada hoja a un portaobjetos, cuidando que unas preparaciones sean de la cara abaxial y otras de la cara adaxial.
- Agregar de dos a tres gotas de gelatina-glicerina.
- Cubrir suavemente con un cubreobjetos procurando no originar burbujas.
- Sellar los extremos del cubreobjetos utilizando esmalte para uñas.

Al material así obtenido podemos realizarle una coloración con safranina al 1% en agua y montarlos con gelatina-glicerina o bien una coloración con safranina fast Green con deshidratación y montarlos con bálsamo de Canadá.

7.4.2.3 Técnicas de coloración (Tinciones) (Anexo 14)

7.4.2.3.1 Coloración con safranina

- Seleccionar el material vegetal a colorear.
- Sumergir el material en un vidrio de reloj conteniendo Safranina al 1 % durante aproximadamente 3 min.
- Retirar con ayuda de una aguja de disección el material vegetal que fue coloreado.
- Trasladar a un portaobjetos.
- Agregar una a dos gotas de gelatina-glicerina.
- Cubrir suavemente con un cubreobjetos procurando no originar burbujas.
- Sellar los extremos del cubreobjetos utilizando esmalte para uñas.

Resultados: las paredes lignificadas y la cutícula se tiñen de color rojo intenso y las paredes celulósicas toman color rosado.

7.4.2.4 Métodos de disociado

7.4.2.4.1 Método de disociado débil (Anexo 15)

Se utiliza para hojas, tallos, herbáceos y cortezas comerciales. Se procede así:

- Cortar finamente el material vegetal.
- Colocar el material cortado finamente en un cristalizador que contenga solución de hidróxido de sodio al 5 %.
- Hervir durante 5 min.
- Lavar con agua destilada hasta que el líquido quede limpio.

- Proceder a colorear según técnica de coloración con safranina.
- Trasladar una pequeña cantidad del material a un portaobjetos.
- Agregar dos gotas gelatina glicerina.
- Cubrir suavemente con un cubreobjetos procurando no originar burbujas.
- Sellar los extremos del cubreobjetos utilizando esmalte para uñas.

7.4.2.4.2 Método de disociado fuerte (Método de maceración de Boodle) (Anexo 16)

Se utiliza para tallos, raíces y tegumentos de semillas. Se procede así:

- Cortar finamente el material vegetal.
- Colocar el material cortado finamente en un cristizador que contenga solución de hidróxido de potasio al 10 %.
- Hervir durante 5-10 min.
- Lavar con agua destilada hasta que el líquido quede limpio.
- Colocar el material así tratado en un tubo de ensayo con ácido crómico al 25 % y dejar actuar durante 30 min o más.
- Retirar cuando al pinchar el material tenga consistencia de manteca.
- Lavar varias veces.
- En el último lavado agitar fuertemente el tubo de ensayo contra la palma de la mano, de manera que todo el material se disgrega contra las paredes del mismo.
- Trasladar una pequeña cantidad del material a un portaobjetos con ayuda de un pincel.
- Añadir una gota de safranina al 1 % en agua.
- Agregar dos gotas gelatina glicerina.
- Cubrir suavemente con un cubreobjetos procurando no originar burbujas.
- Sellar los extremos del cubreobjetos utilizando esmalte para uñas.

7.4.2.5 Tamizaje fitoquímico

7.4.2.5.1 Identificación microquímica (Anexo 17)

Las especies vegetales se caracterizan por la presencia de determinados compuestos químicos. La identificación microquímica se puede realizar tanto con material fresco como de herbario y aún conservado, siendo preferible al estado fresco. Se procede, en general de la siguiente manera:

- Realizar cortes transversales del tejido vegetal en estudio.
- Colocar el corte seleccionado sobre un extremo del portaobjetos.
- Proceder a investigar la presencia del compuesto químico de interés.

7.4.2.5.1.1 Alcaloides

- Agregar una gota del reactivo de Dragendorff.
- Dejar actuar por unos minutos.
- Colocar un cubreobjetos.
- Observar al microscopio.
- La presencia de un precipitado rojo ladrillo se considera positiva.

7.4.2.5.1.2 Aleuronas

- Agregar una gota de naranja G.
- Colocar un cubreobjetos.
- Observar al microscopio.
- Los cristaloides de aleurona se tiñen de color rojo-anaranjado mientras el globoide desaparece poco a poco.
- Remover el cubreobjetos.
- Agregar una gota de alcohol iodado.
- Observar al microscopio.
- Los granos de aleuronas se colorean de amarillo-marrón a marrón.

7.4.2.5.1.3 Almidón

- Agregar una gota de lugol.
- Colocar un cubreobjetos.
- Observar al microscopio.
- La presencia de gránulos color azul o azul-violáceo en el citoplasma de las células se considera positivo.

7.4.2.5.1.4 Carbonato de calcio

- Agregar una gota de ácido acético o ácido clorhídrico diluido.
- Los cristales o depósitos de carbonato de calcio se disuelven lentamente observando la presencia de efervescencia.

7.4.2.5.1.5 Celulosa

- Agregar una gota de cloruro de cinc.
- Dejar actuar unos minutos.
- Agregar una gota de solución de yodo al 0.1 mol/L.
- Dejar actuar unos minutos.
- Remover el exceso de reactivo con papel filtro.
- Agregar una gota de ácido sulfúrico diluido.
- Colocar un cubreobjetos.
- Observar al microscopio.
- Las paredes celulósicas se tiñen de azul o azul violeta.

7.4.2.5.1.6 Grasas y aceites

- Agregar una gota de reactivo sudan IV.
- Dejar actuar por 10 min.
- Lavar, transfiriendo a un vidrio de reloj que contenga alcohol al 70°.

- Colocar el corte en un portaobjetos y cubrir con un cubreobjetos.
- Observar al microscopio.
- Una coloración roja o rosada se considera positivo.

7.4.2.5.1.7 Inulina

- Agregar una gota de 1-naftol y una gota de ácido sulfúrico.
- Colocar un cubreobjetos.
- Observar al microscopio.
- Los cristales de inulina se observan de color rojo-amarronado.

7.4.2.5.1.8 Lignina

- Agregar una gota de floroglucina.
- Flamear suavemente.
- Retirar de la llama y colocar por el borde del cubreobjetos una gota de ácido clorhídrico 25 %.
- Las paredes lignificadas se tiñen de rojo.

7.4.2.5.1.9 Pectato y sustancias pécticas

- Agregar una gota de rojo de rutenio al 0.1 %.
- Los pectatos y sustancias pécticas se tiñen de color rosado.

7.4.2.5.1.10 Mucílagos

- Agregar una gota de azul de cresil al 1 %.
- Transferir el corte a otro portaobjetos con una gota de agua destilada.
- Observar al microscopio.
- Una coloración azul francia se considera positivo.

7.4.2.5.1.11 Saponinas

- Agregar una gota de ácido sulfúrico concentrado.
- Observar al microscopio.
- La aparición de una coloración amarilla inmediatamente, que a los 30 min cambia a rojo y finalmente a azul verdoso o lila se considera positivo.

7.4.2.5.1.12 Taninos

- Agregar una gota de sulfato férrico.
- Dejar actuar por 2-3 min.
- Una coloración azul-verdosa se considera positivo.

7.4.3 Pruebas de pureza

7.4.3.1 Cenizas totales

Esta prueba se realiza sobre el material pulverizado y nos dice el contenido de minerales que contiene el material en estudio.

7.4.3.1.1 Método I

- Incinerar 2 a 3 g de polvo del material vegetal en un plato previamente tarado de sílica o platino, a una temperatura no mayor de 450 °C hasta que esté libre de carbón, enfriar y pesar. Si no se puede obtener una ceniza libre de carbono de esta manera, añadir agua caliente a la masa quemada y recoger el residuo sobre papel filtro libre de cenizas, incinerar a una temperatura no mayor de 450 °C.
- Calcular el porcentaje de ceniza utilizando como referencia el peso del material secado al aire.
- Para otras sustancias utilizar este método con 1 g de material. Calcular el porcentaje de ceniza.

7.4.3.1.2 Método II

- Calentar un plato de evaporación de sílica o platino al rojo por 30 min, permitir que se enfríe en un desecador y pesar.
- Distribuir 1 g del material en estudio sobre el plato.
- Secar de 100-105 °C por 1 h e incinerar hasta peso constante en una mufla con temperatura entre 575 y 625 °C.
- Dejar enfriar el plato de evaporación dentro de un desecador luego de cada incineración. No se deben producir llamas en ningún momento durante el procedimiento.
- Si luego de una prolongada incineración, no se logra obtener una ceniza libre de carbón, disolver en agua caliente, filtrar a través de papel filtro libre de ceniza e incinerar el residuo junto con el papel filtro. Combinar el filtrado con la ceniza y cuidadosamente evaporar a sequedad e incinerar hasta peso constante.

7.4.3.1.3 Método UPS

- Pesar con exactitud una cantidad de la muestra, representando 2-4 g de material secado al aire, en un plato de evaporación, tarado, e incinerar, suavemente al inicio y gradualmente incrementar la temperatura a 675 ± 25 °C, hasta que esté libre de carbón y determinar el peso de la ceniza.
- Si no se puede obtener una ceniza libre de carbón de esta manera, extraer la masa quemada con agua caliente, pasar el residuo insoluble por un papel filtro libre de cenizas, incinerar el residuo junto con el papel filtro, hasta que la ceniza esté blanca o casi blanca, agregar el filtrado, evaporar a sequedad y calentar todo a una temperatura de 675 ± 25 °C.
- Si no se llega a obtener, una ceniza libre de carbón, enfriar el plato, añadir 15 mL de alcohol, romper la ceniza con una varilla de vidrio, quemar el alcohol y otra vez calentar a una temperatura de 675 ± 25 °C.
- Enfriar en un desecador, pesar la ceniza, y calcular el porcentaje de ceniza total a partir del peso utilizado de la droga.

7.4.3.2 Determinación de humedad

Para determinar el porcentaje de humedad del material vegetal se debe seleccionar una parte representativa de la cantidad total, como muestra, asegurando su homogeneidad. Moler la muestra y distribuir en un platillo para luego introducirlo en la balanza que determinará el contenido de humedad.

7.5 Diseño estadístico

7.5.1 Tipo de estudio

Estudio de tipo descriptivo

7.5.2 Cultivo piloto

Se creó un cultivo piloto conformado por 30 de semillas obtenidas de dos sucursales agrícolas de Chimaltenango con la finalidad de tener material fresco y legítimo de referencia.

7.5.2.1 Condiciones de cultivo

El cultivo se desarrolló bajo condiciones ambientales de luz, temperatura y humedad del departamento de Mixco en los meses de febrero a agosto de 2011.

7.5.3 Variables a analizar

7.5.3.1.1 Características microscópicas

Se realizó cortes a mano libre, disociados y diafanizados de la primera muestra recolectada de cada mercado para observar microscópicamente la disposición y

conformación de sus tejidos y estructuras tanto para las hojas como para las semillas las cuales se analizaron descriptivamente.

7.5.3.1.2 Características macroscópicas

Se evaluó las características de identificación de la primera muestra recolectada de cada mercado, color y forma de hojas y fruto, las cuales se analizaron descriptivamente.

7.5.4 Muestras obtenidas de mercados

Se muestrearon cinco mercados del altiplano central, localizados en San Juan Sacatepéquez, San Pedro Sacatepéquez, Chimaltenango (cabecera departamental), Mercado Central y mercado La Florida del departamento de Guatemala. En cada mercado se tomaron cinco muestras de cada puesto de venta, durante un periodo comprendido de dos meses. Los lugares fueron escogidos por conveniencia debido al interés que se tiene sobre el altiplano central en la demanda de plantas medicinales.

Como parte del muestreo se verificó si la droga vegetal mantenía las mismas características macroscópicas que las primeras muestras recolectadas.

El volumen mínimo que se recolectó de cada puesto fue de 3 ejemplares frescos y 10 g en base seca.

Cada ejemplar se caracterizó macroscópicamente y microscópicamente según los criterios establecidos anteriormente. Se determinó descriptivamente si cumplen con los criterios para establecer si se está distribuyendo la planta correcta bajo el nombre de cardo mariano.

7.5.5 Tamizaje fitoquímico

Se realizó un análisis cualitativo con descripción de los hallazgos según estén o no presentes de los grupos de alcaloides, aleuronas, almidón, grasa y aceites, mucilagos.

8. RESULTADOS

1. Recolección y herborización de ejemplares frescos

Se recolectaron semillas de *Silybum marianum* en el Instituto de Ciencias y Tecnología Agrícola (ICTA) y Asociación de Servicios Comunitarios de Salud (ASECSA), en Chimaltenango para la creación de un cultivo piloto desarrollado bajo condiciones ambientales de luz, temperatura y humedad del departamento de Mixco en los meses de febrero a agosto de 2011 (Figura 1, Anexo 1), posteriormente fue ingresado un ejemplar en el Herbario de la escuela de Biología (BIGU) con el número de registro 58531 (Anexo No.2).

Además se recolectaron cinco muestras comercializadas bajo el nombre de cardo mariano en cinco mercados del altiplano central que expenden plantas medicinales. En tres de ellos Chimaltenango, San Juan Sacatepéquez y La Florida, el material obtenido se encontró como materia fresca, en el mercado central de la ciudad capital y en San Pedro Sacatepéquez la droga se vendía en forma seca. Las muestras obtenidas en los mercados de Chimaltenango, San Juan Sacatepéquez y las muestras secas por sus características macroscópicas fueron identificados como *Cirsium mexicanum* en el herbario de escuela de biología BIGU, mientras que el material obtenida del mercado la Florida fue identificado de igual manera como *Argemone mexicana*.



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 1: Cultivo piloto de *Silybum marianum* [fotografía].

2. Caracteres macroscópico, micromorfológicos e histológicos

2.1 *Silybum marianum* –cultivo piloto-

2.1.1 Descripción de la droga fresca y seca

La materia médica de *S. marianum*, está constituida por hojas y semillas. Las características macroscópicas de *Silybum marianum* es una planta con tallo erecto de tamaños entre 50 a 130 cm, posee hojas pinafitadas de 20 a 35 cm de largo por 8 a 10 cm de ancho, carecen de peciolo, en el haz presentan un color verde brillante con manchas blancas correspondientes a las nervaduras, los márgenes dentados múltiples espinas en los ápices de las de cada lóbulo. La disposición de las hojas varía según su localización, las hojas inferiores son caulinares, sésiles con lóbulos marcados; las superiores son más enteras, abrasadas al tallo por medio de dos estipulas redondeadas con espinas grandes y duras. El tallo es liso de color verde con manchas blancas en forma de líneas verticales. Las flores presentan única cabezuela o agrupadas en pares, tubulares agrupada en capítulos esféricos de 6 cm de color purpura posee brácteas recurvas, glabras, de margen espinoso y ápice que termina en una espina gruesa.

La droga seca conserva las características de la droga fresca, sin embargo presenta una disminución de intensidad de color y brillo, y el olor es más intenso.

La semilla es un aquenio de 0.6 a 0.8 cm de largo y de 0.3-0.4 cm de ancho, forma alargada con prominencia polar en uno de sus lados, con un grosor de 0.1-0.15 cm, presenta un color café oscuro brillante, con líneas delgadas a lo largo de color más claro. En el extremo superior puede observar una protuberancia cartilaginosa, anular de color amarillento, vilano con un promedio de 100 cerdas blanquecinas, desiguales, de 1.2 a 2.0 cm de largo. Son inodoras, sabor aceitoso y amargo.

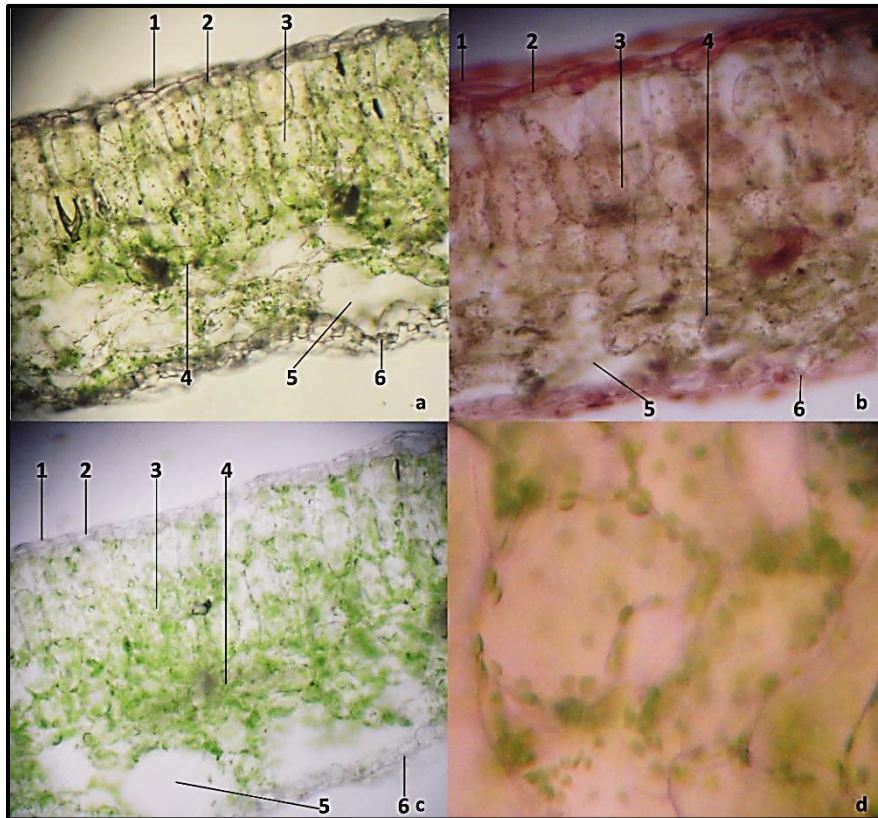
2.1.2 Cortes a mano alzada

En el corte transversal de la hoja se observa cutícula seguido de una epidermis monoseriada en la superficie adaxial, en el interior de la hoja se encuentran células párenquimáticas con numerosos cloroplastos. El parénquima en empalizada situado debajo de la epidermis adaxial posee células cilíndricas y dispuesta en forma perpendicular a la superficie de la hoja, este está compuesto por tres capas de células, bajo el cual se encuentra el parénquima esponjoso, con células de forma irregular y con numerosas cámaras subestomáticas. Finalizando con la superficie abaxial la cual está formada por una epidermis uniseriada (Figura 2).

La nervadura central constituida generalmente por tres haces en la parte media de la hoja. Presenta una epidermis monoestratificada, parénquima cortical con células isodiamétricas haciéndose más pequeñas las cercanas a la epidermis y al sistema vascular, el cual está rodeado de esclerénquima (Figura 3).

El tallo en el corte transversal, presenta una epidermis de una sola capa; parénquima angular; parénquima cortical formado por células isodiamétricas; por debajo de este se encuentra el sistema vascular, sobre el cual se localizan fibras extrafloemáticas bajo del sistema vascular se observan células del esclerénquima. Los haces del sistema vascular son continuos en todo el contorno del parénquima medular, el cual tiene células en forma hexagonales grandes en el centro, que se hacen más pequeñas hacia los haces conductores (Figura 4).

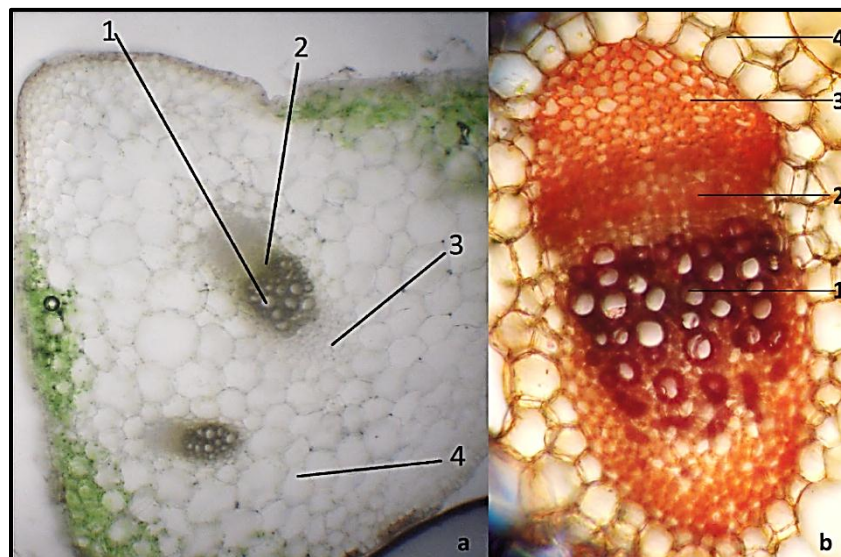
La raíz presenta una forma cilíndrica y poliarca describiéndola desde la epidermis a la médula, muestra una capa de epidermis seguida por la filodermis la cual está compuesta por seis capas dispuestas en filas ordenadas; el parénquima de la corteza conformado por células isodiamétricas, se sitúa por encima del floema. Por debajo del floema se encuentra el xilema, el cual está rodeado por esclerénquima (Figura 5).



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 2: Corte transversal de hoja [fotografía].

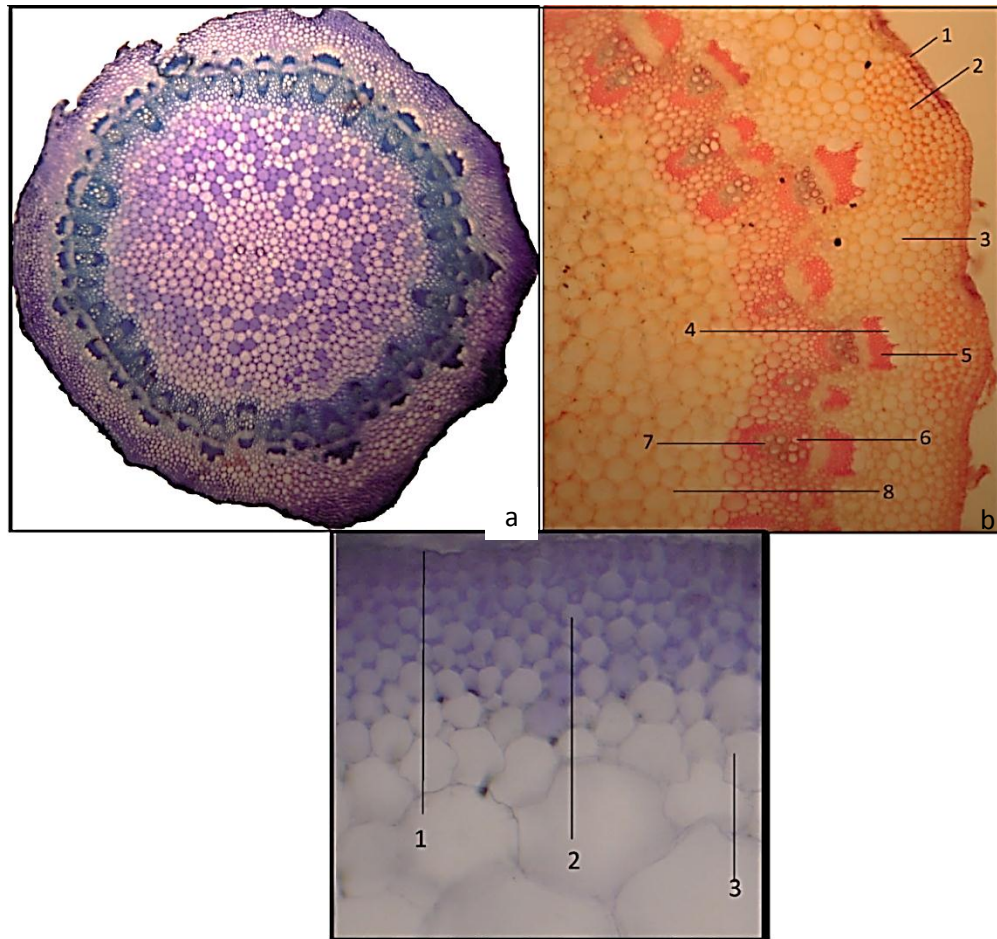
(a-c) (1) Cutícula (2) Epidermis adaxial (3) Parénquima en empalizada (4) Parénquima esponjoso (5) Cámaras substomáticas (6) Epidermis abaxial. (d) Cloroplastos 400X. (a,c,d) Sin teñir (b) Safranina 1%.



Polanco, C & Pérez, V. (2011)

Figura 3: Corte transversal de hoja [fotografía].

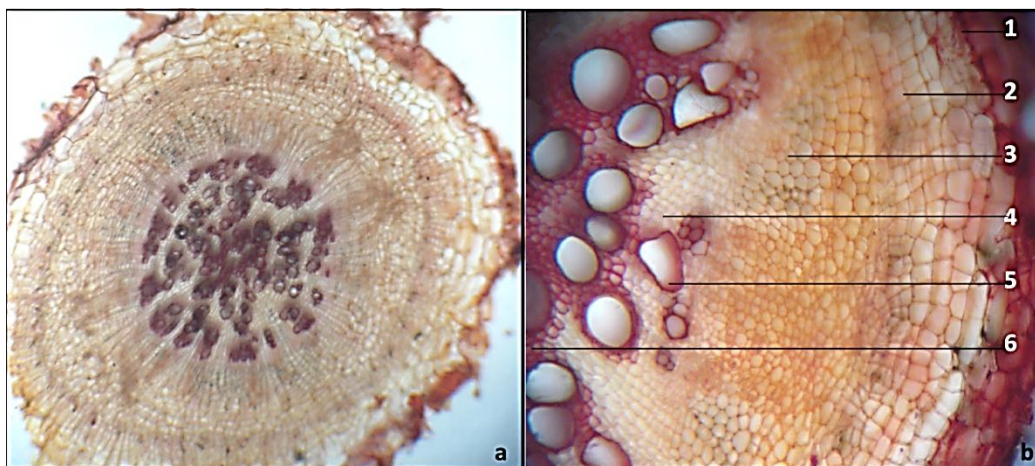
(1) Xilema y (2) Floema (3) Esclerenquima (4) Parénquima cortical. 400X. (a) Sin teñir (b) Safaranina 1%.



Polanco, C & Pérez, V. (2011). C

Figura 4: Corte transversal de tallo [fotografía].

(a) Tallo (b) (1) Epidermis (2) Colénquima angular (3) Parénquima (4) Células de cambium (5) Esclerénquima
fibras floemáticas (6) Xilema (7) Floema (8) Parénquima medular. (c) Parénquima angular
100X (b,c) 400X. (a,c) Fast green. (b) Safranina 1%.



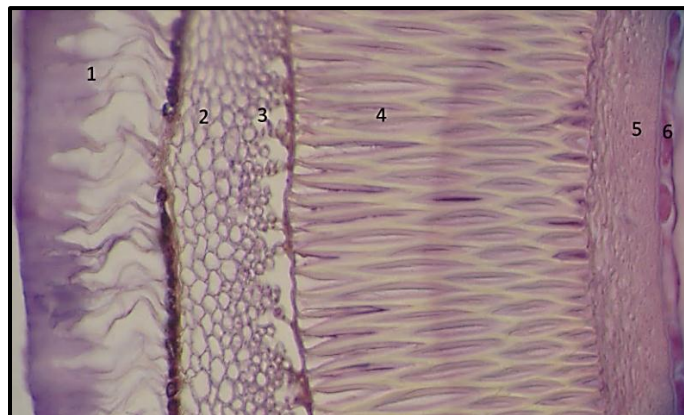
Polanco, C & Pérez, V. (2011)

Figura 5: Corte transversal de raíz [fotografía].

(a) Raíz (b) (1) Epidermis (2) Filodermis (3) Corteza (4) Xilema (5) Floema (6) Esclerénquima
(a) 40X. (b, c) 400X Safranina 1%.

2.1.3 Corte con micrótopo

El corte de la semilla muestra las tres capas del pericarpio (Figura 6), iniciando con las células de empalizada del exocarpo que presentan una forma irregular y alargada, seguido de una línea de pigmento rojo, por debajo de esta se observa el tejido del mesocarpo que está compuesto por células redondas de mediano tamaño, las células del endocarpo presentan una forma redonda de menor tamaño que el tejido previo, en dichas células se encuentra cristales de oxalato de calcio (figura 7). La testa de la semilla inicia con una capa de macrosclereidas (células de Malpighi), estas muestran una forma de rombo alargado y se sitúan por encima de una capa gruesa de esclerénquima; el endosperma conformado por una sola capa de células grandes y romas de paredes delgadas, este tejido recubre al cotiledón el cual posee numerosos cuerpos proteicos (Figura8).

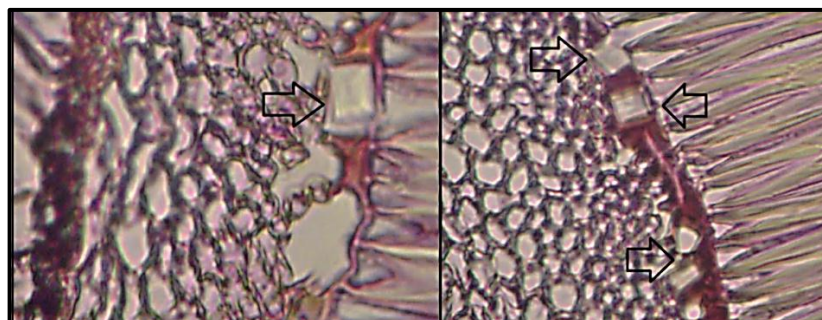


Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 6: Corte transversal de semilla [fotografía].

(1)Empalizada del exocarpo (2)Mesocarpo (3) Endocarpo (4)Macrosclereidas (5) Esclerénquima
(6)Endosperma.

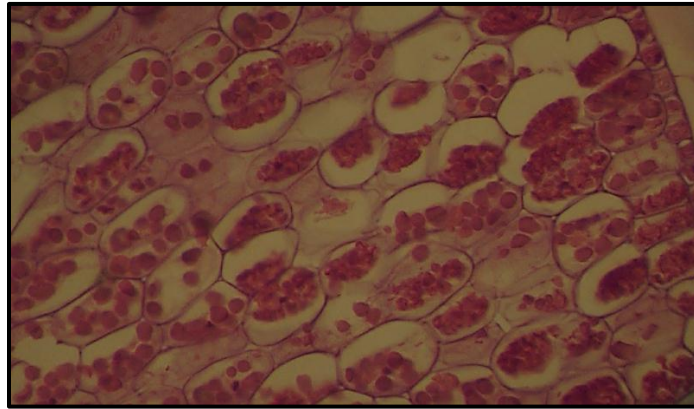
400X. Hematoxilina Eosina



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 7: Corte transversal de semilla [fotografía].

Cristales prismáticos de oxalato de calcio en endocarpo.400X. Hematoxilina Eosina.



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 8: Corte transversal de semilla [fotografía]. Cotiledon
400X. Hematoxilina Eosina

2.1.4 Diafanizado de la hoja

En el diafanizado de la hoja se observó una nerviación de tipo reticular abierta y cuadrada, con márgenes denticulados que finalizan en espinas nervadas de 0.05 a 0.26 cm y emergencias epidérmicas de 0.02 a 0.03 cm. Las células epidérmicas presentan paredes gruesas observándose bordes rectos en el lado adaxial y bordes sinuosos en el lado abaxial (Figura 9).

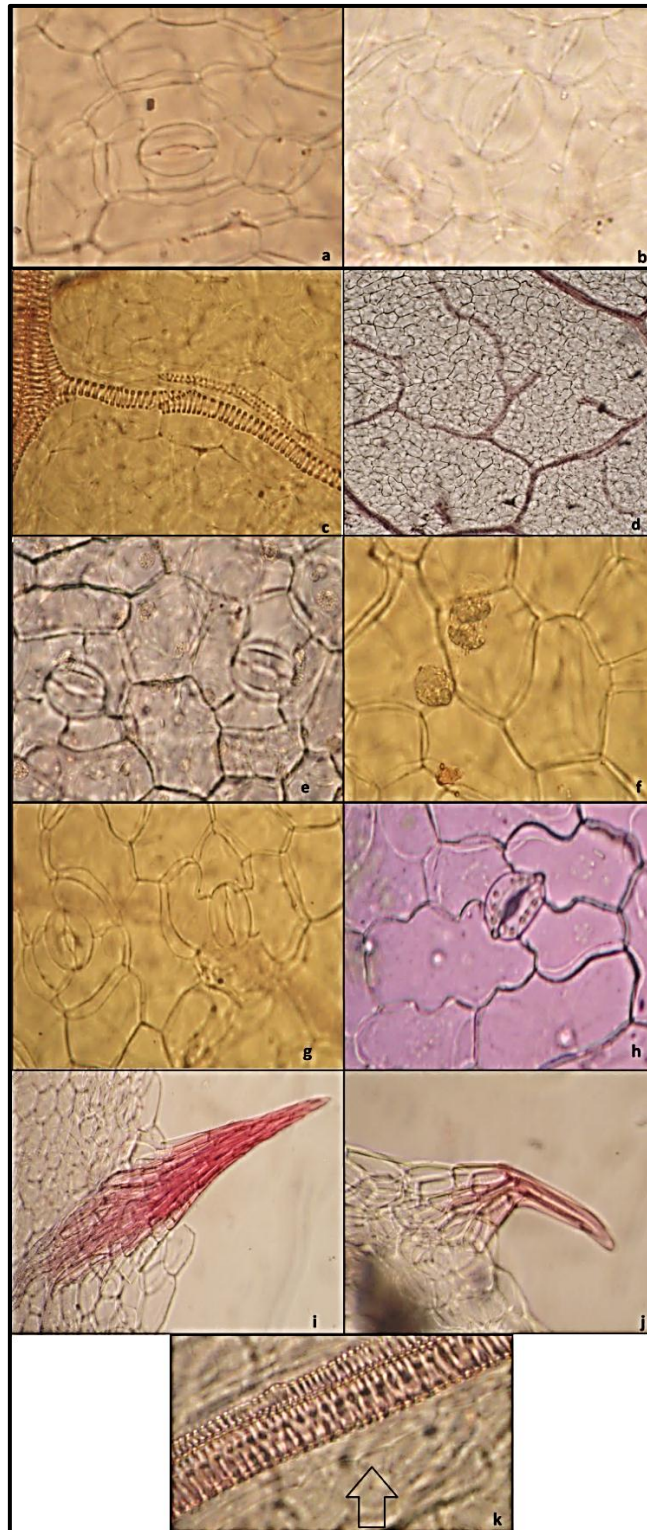
La hoja es anfiestomática y presenta tanto en el lado adaxial como en el abaxial estomas tipo tetracíticos y estomas anomocíticos estos últimos rodeados por cuatro a cinco células, también se observó la presencia de cristales de oxalato de calcio del tipo arenoso en agrupaciones circulares, se visualizó la presencia de xilema de tipo helicoidal el cual es acompañado a un costado por esclereidas delgadas y alargadas (Figura 9).

2.1.5 Disociado

En el disociado de la hoja se observó la presencia de cadenas de xilema helicoidal, macroesclereidas de forma cilíndrica paredes gruesas truncada en su base y su ápice, se visualizó estomas anomocitos rodeados por cuatro células promedio. Se presentaron dos tipos de cristales de oxalato de calcio arenoso dispersos sobre el tejido del parénquima y

rafidios dispuestos en parejas, como también se encontraron gránulos de reserva (Figura 10).

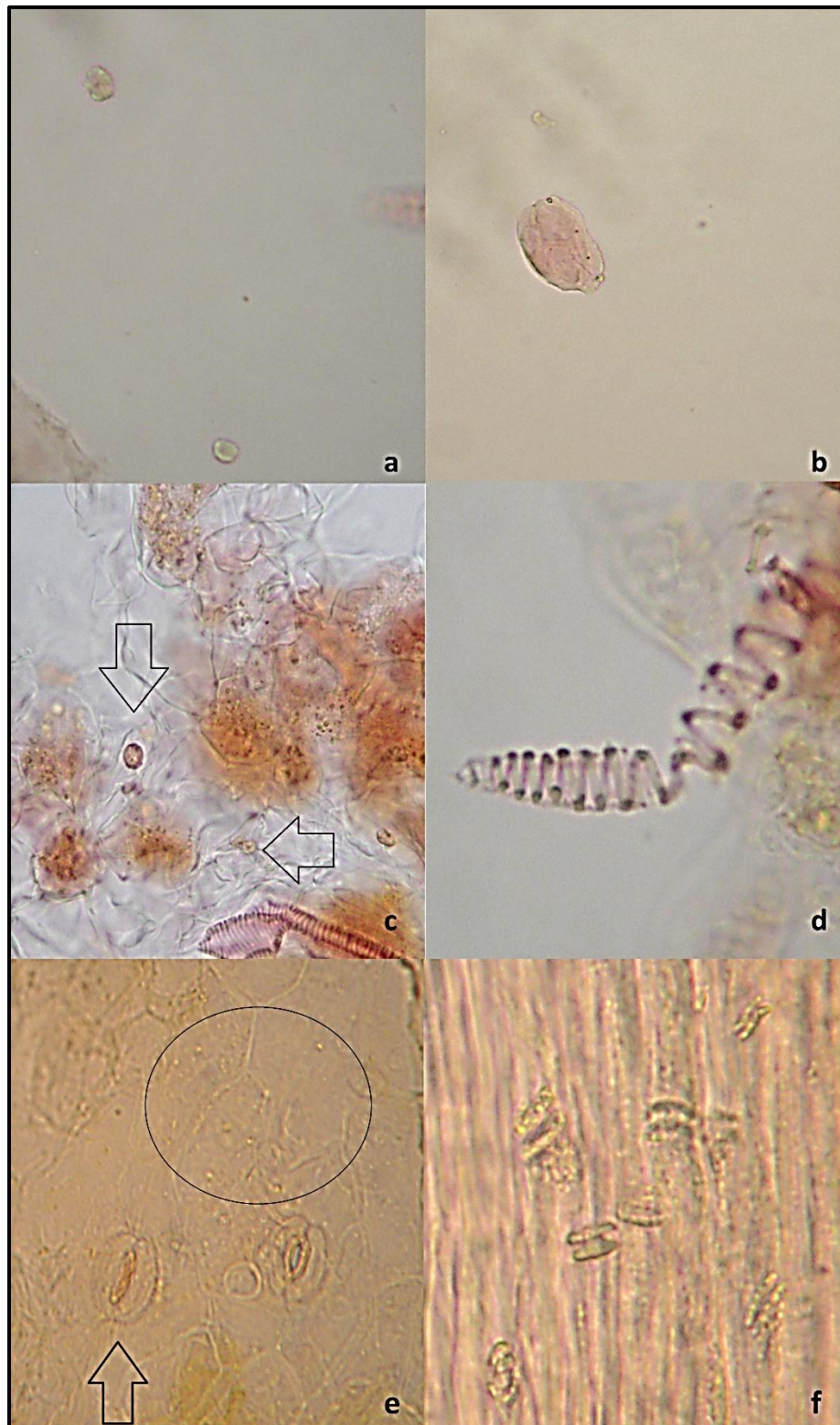
Las células observadas en el disociado de la semilla fueron células del exocarpo ordenadas paralelamente, células del endosperma con inclusiones de aceite y cristales de oxalato de calcio, macroesclereidas y células alargadas de fibroesclereidas



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura: 9 Diafanizada de hoja de *Silybum marianum* [fotografía].

(a) Estoma tetracíticos adaxial (b) Estoma anomocítico adaxial (2) Cristales de oxalato arenosos (c) Xilema helicoidal (d) Nervacion Reticulada abierta y cuadrada (e) Estoma tetracíticos abaxial y Cristales de oxalato de calcio (f) Cristales de oxalato de calcio (g) Estoma anomocítico y tetracíticos abaxial (h) Estoma anomocítico en fresco (i-j) Espinas (k) Esclereidas 400X. (a-g) Safranina 1% (h) En fresco.

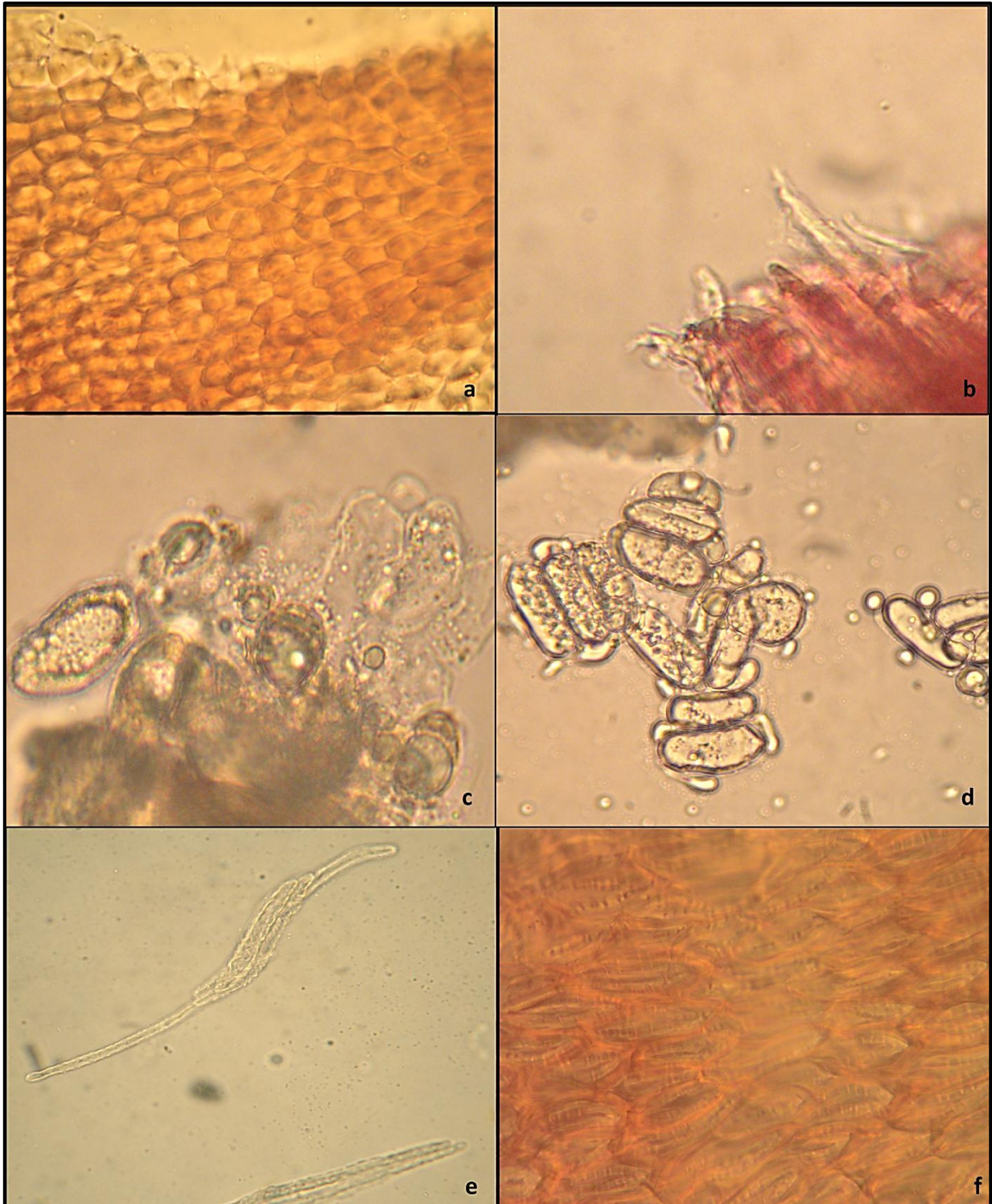


Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura: 10 Disociado de hoja de *Silybum marianum* [fotografía].

(a-b) Esclereidas (c) Gránulos de reserva (d) Xilema helicoidal (e) Cristales de oxalato circulados y estomas anomocíticos (f) Cristales de oxalato de calcio.

400X. Safranina 1%.



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura: 11 Disociado de semilla de *Silybum marianum* [fotografía].

(a) Células del exocarpo (b) Fibroesclereidas (c-d) Endosperma con inclusiones de aceite y cristales de oxalato de calcio (e) Fibroesclereidas (f) Macroesclereidas.

400X. Safranina 1%.

2.2 Muestras recolectadas bajo el nombre Cardo mariano

2.2.1 Chimaltenango

Las características macroscópicas de la muestra recolectada en Chimaltenango fueron hojas frescas que se presentaban en el tallo de manera alternas, 10 a 20 cm de largo y 3 a 12 cm de ancho, lacerado-pinnatífidas con márgenes lobados y ápices espinosos con una base foliar sésil, venación reticulada, dorsiventral presentando tricomas de color blanco a grisáceo. Su flor de 2 a 3 cm constituido por una flor tubular violeta rodeada de brácteas que terminan en espina que al estar seco presenta un vilano amarillo. Su olor, sabor ligeramente amarga

Fruto aquenio entre 0.4 a 0.5 cm de largo y 0.03 a 0.04 cm de ancho, alargado de color café claro brillantes, en unos de sus polos presenta protuberancia cartilaginosa, anular de color amarillento, vilano amarillas a blanco de cerdas desiguales. Son inodoras, sabor aceitoso y amargo.

2.2.1.1 Corte a mano alzada

En el corte transversal de la hoja se observó cutícula, epidermis adaxial y abaxial es monoestratificada de células alargadas de mediano tamaño; parénquima en empalizada conformado por una doble capa de células, siendo aproximadamente las células de la primera capa dos tercios más largas que la segunda, por debajo se encuentra el parénquima esponjoso en el cual se sitúan cámaras subestomáticas. Estos tejidos parenquimáticos están compuestos por células que contienen numerosos cloroplastos. La hoja muestra indumento formado por una gran cantidad de tricomas pluricelulares en el borde (Figura 12).

La nervadura central presenta desde su centro el sistema vascular el xilema y el floema rodeado de esclerenquima seguido por tejido del parénquima cortical con células isodiamétricas el cual se extiende hasta la epidermis monoestratificada está muestra múltiples tricomas pluricelulares. (Figura 13).

El corte transversal del tallo exhibe una epidermis monoestratificada; la filodermis se compone de dos tipos de células de forma ovalada y dispuestas desorganizadamente y células ovaladas aparejadas acomodadas en orden, por debajo de este tejido se localizan las fibras perivasculares (extraxiliares) estas se encuentran espaciadas entre sí y se disponen alrededor de todo el cilindro vascular dentro de este se encuentra el floema que se sitúa por arriba de metaxilema y protoxilema; el parénquima medular presenta células isodiamétricas (Figura 14).

La raíz muestra una epidermis de una sola capa, seguido por la filodermis compuesta por seis capas de células de filas ordenadas de diferente tamaño entre sí; el parénquima de la corteza se sitúa por arriba del floema y del xilema este último se encuentra rodeado por células del esclerénquima (Figura 15).

2.2.1.2 Corte de microtomo

El corte transversal de la semilla muestra las tres capas del pericarpio exocarpo, mesocarpo y pericarpio (Figura 16), las células de la segunda y tercera capa del pericarpio son redondas siendo más pequeñas las pericarpio dentro de las cuales se encuentran cristales de oxalato (Figura 17). La testa de la semilla se conforma por macroesclereidas, que son células grandes y alargadas de paredes gruesas espaciadas entre sí; por debajo se encuentra una capa de células del esclerénquima; el endosperma se presenta como una sola capa gruesa de células cuadradas de paredes anchas las cuales revisten al cotiledón el cual presenta una distribución irregular de cuerpos proteicos. (Figura 18).

2.2.1.3 Diafanizado de la hoja

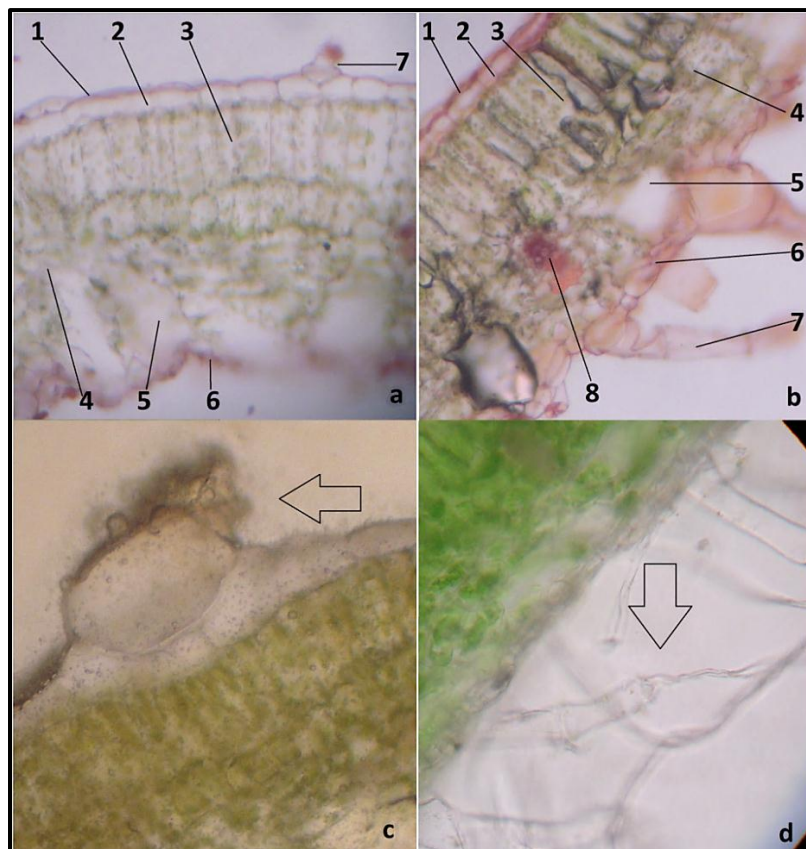
El lado abaxial de la hoja muestra estomas de tipo anomocíticos rodeado de cuatro células anexas en promedio. Está conformado por células epidérmicas de paredes gruesas y bordes rectos. Presenta cristales de oxalato de calcio. Se observan tricomas pluricelulares y xilema en forma de espiral (Figura 19).

El lado adaxial de la hoja muestra estomas anomocíticos rodeados de células epidérmicas de paredes gruesas de bordes sinuosos de paredes irregulares, se observó presencia de cristales de oxalato de calcio (Figura 19).

2.2.1.4 Disociado

En el disociado de la hoja se observó la presencia de xilema helicoidal, células epiteliales, tricomas y estomas anomocíticos (Figura 20).

Las estructuras observadas en el disociado de la semilla fueron células del esclerénquima, células del endosperma con inclusiones de cristales de oxalato de calcio y oxalatos de calcio en forma de drusas (Figura 21).

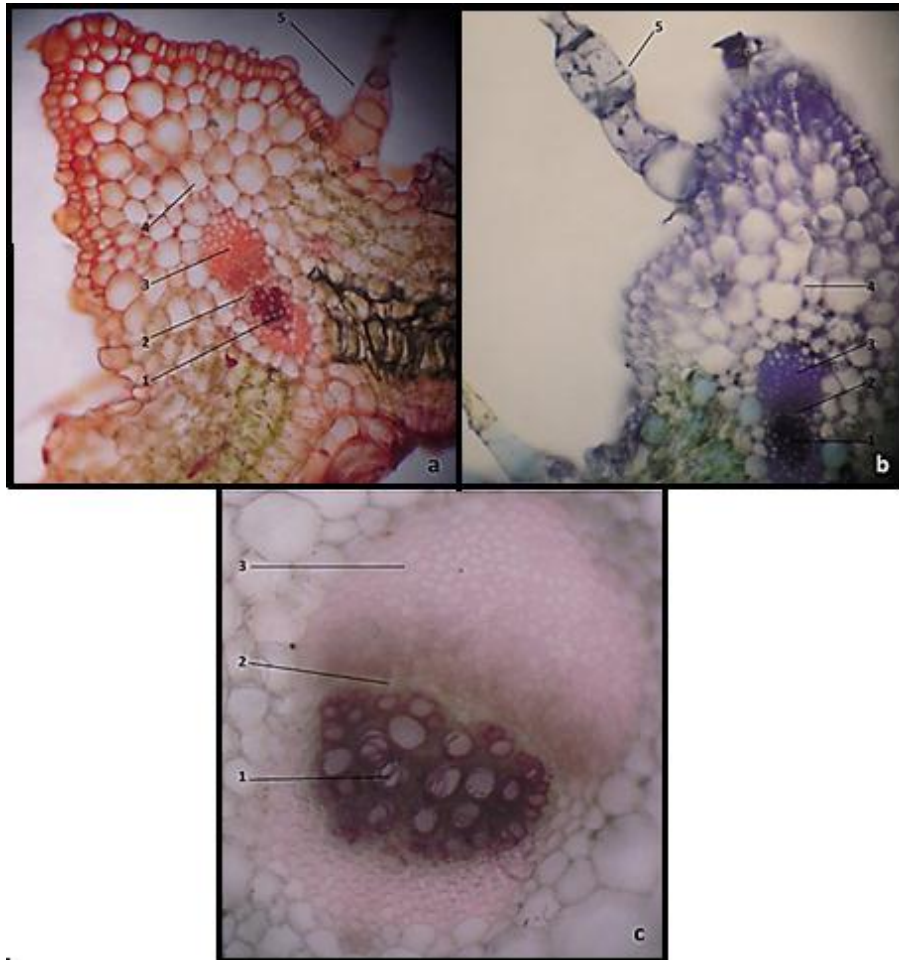


Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura: 12. Corte transversal hoja de mercado de Chimaltenango [fotografía].

(a,b) (1) Cutícula (2) Epidermis adaxial (3) Parénquima de empalizada (4) Parénquima esponjoso (5) Cámaras subestomáticas (6) Epidermis abaxial (7) Tricoma glandular (8) Nervadura secundaria (c) Base de tricoma glandular. (d) Tricomas pluricelulares

400X. (a-b) Safranina 1% (c-d) En fresco.

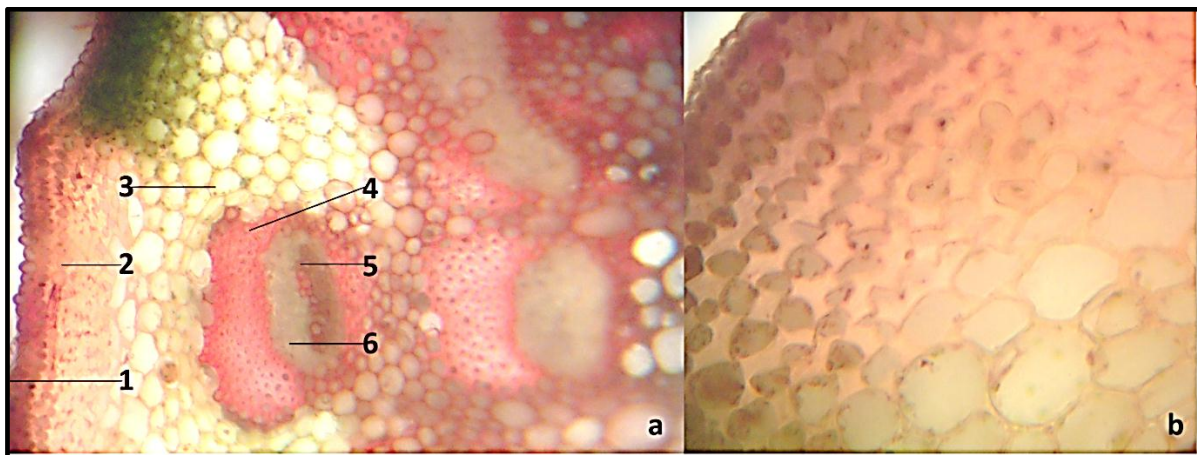


Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 13: Corte transversal de hoja del mercado de Chimaltenango [fotografía].

(a, b) Nervadura central (c) Sistema vascular

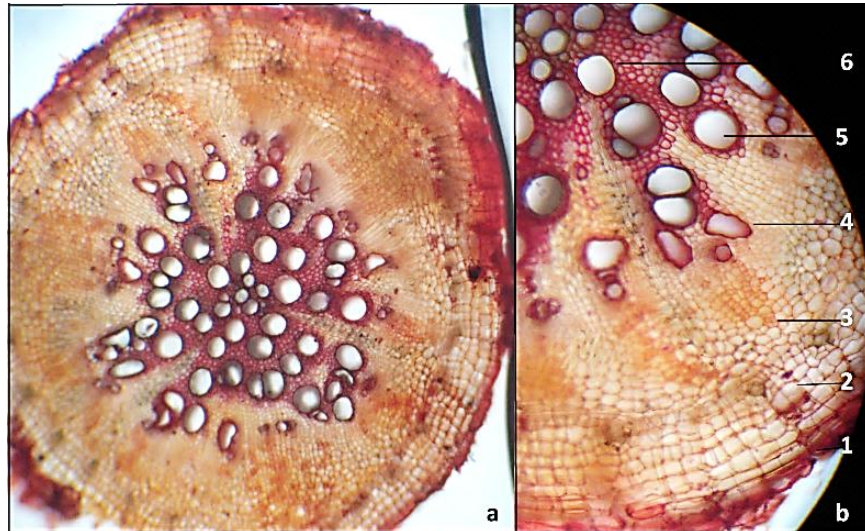
(1) Xilema (2) Floema (3) Esclerenquima (4) Parénquima Cortical. (5) Tricomas pluricelulares glandulares
400X. (a-c) Safranina 1% (b-d) Fast Green



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

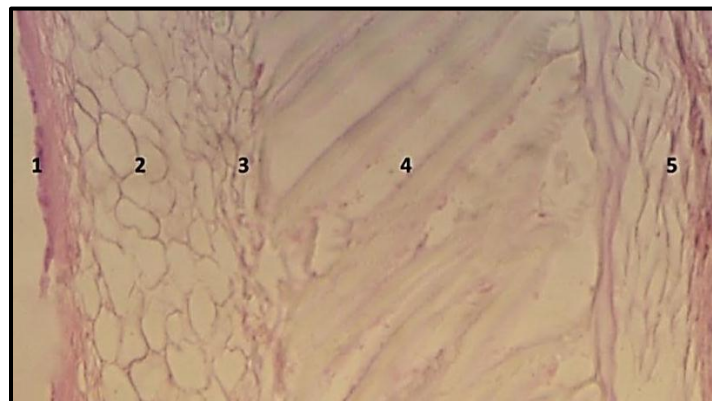
Figura 14: Corte transversal de tallo de planta del mercado de Chimaltenango [fotografía]

(a) (1) Epidermis (2) Colénquima angular (3) Parenquima (4) Esclerenquima (5) Xilema (6) Floema (b) Colénquima angular.
400X. Fast Green.



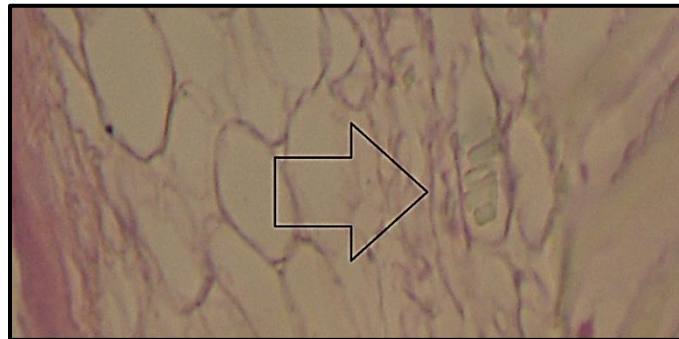
Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 15: Corte transversal de raíz de mercado de Chimaltenango [fotografía]
 a. Raíz (b) (1) Epidermis (2) Filodermis (3) Corteza (4) Xilema (5) Floema (6) Esclerénquima
 (a) 40X (b) 400X Safranina 1%.



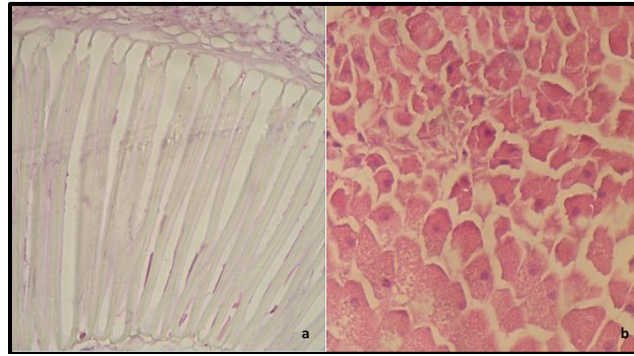
Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 16: Corte transversal de semilla [fotografía].
 (1) Exocarpo (2) Mesocarpo (3) Endocarpo (4) Macroesclereidas (5) Esclerenquima
 400X. Hematoxilina Eosina.

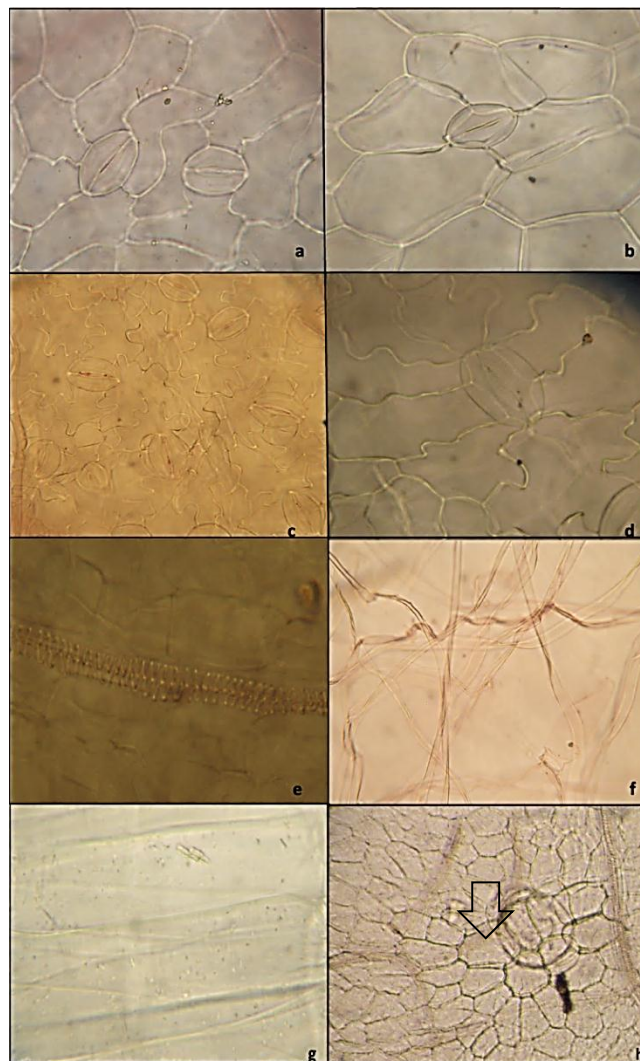


Polanco, C & Pérez, V. (2011)

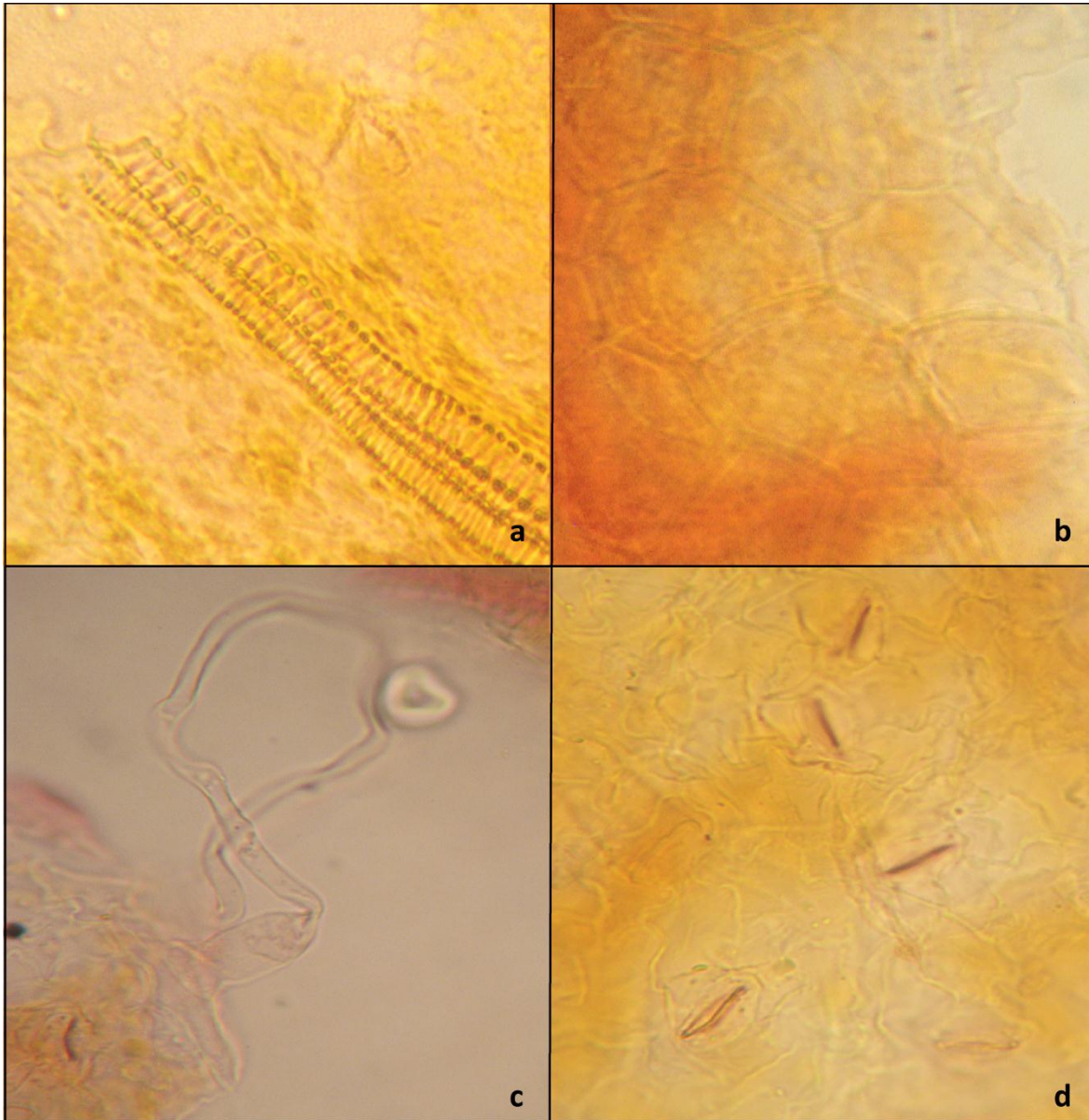
Figura 17: Corte transversal de semilla [fotografía].
 Cristales de oxalato de calcio en endocarpo
 400X. Hematoxilina Eosina.



Polanco, C & Pérez, V. (2011).
 Figura 18: Corte transversal de semilla [fotografía].
 (a) Macroscleireidas (b) Cotiledon
 400X. Hematoxilina Eosina



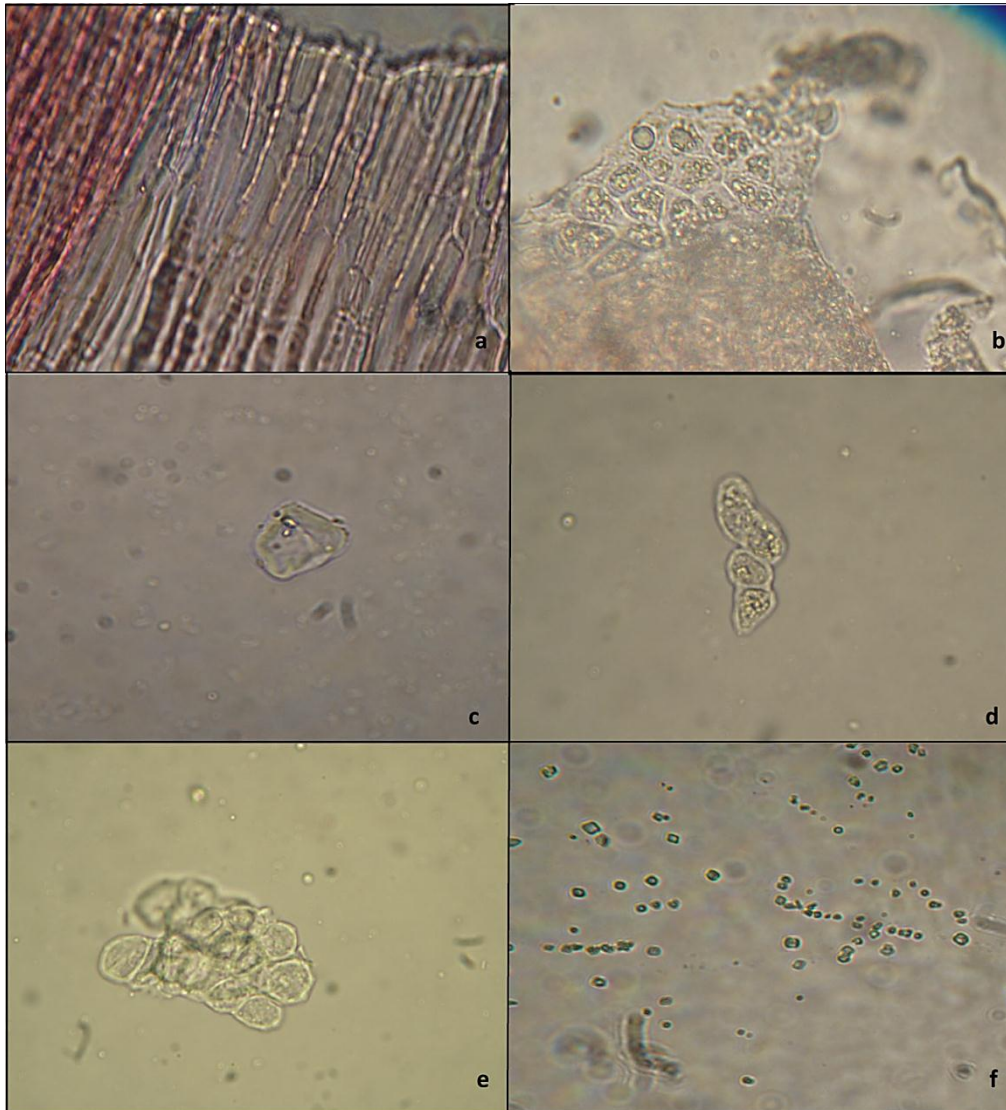
Polanco, C & Pérez, V. (2011).
 Figura: 19 Diafanizada de hoja del mercado de Chimaltenango [fotografía].
 (a, b) Estoma anomocítico adaxial (c, d) Estoma anomocítico abaxial (e) Xilema helicoidal (f) Estomas (g) Cristales de oxalato de calcio rafidios y arena cristalina (h) Base de tricoma y señalado tricoma.
 400X. Safranina 1%.



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 20 Disociado de hoja Chimaltenango [fotografía].

(a) Xilema helicoidal. (b) Células epiteliales (c) Tricomas (d) Estomas anomocíticos
400X. Safranina 1%.



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 21 Disociado de semilla [fotografía].

- (a) Células del esclerénquima (b-e) Células del cotiledon con inclusiones de cristales de oxalato de calcio
 (f) Cristales de oxalato de calcio drusas
 400X. Safranina 1%.

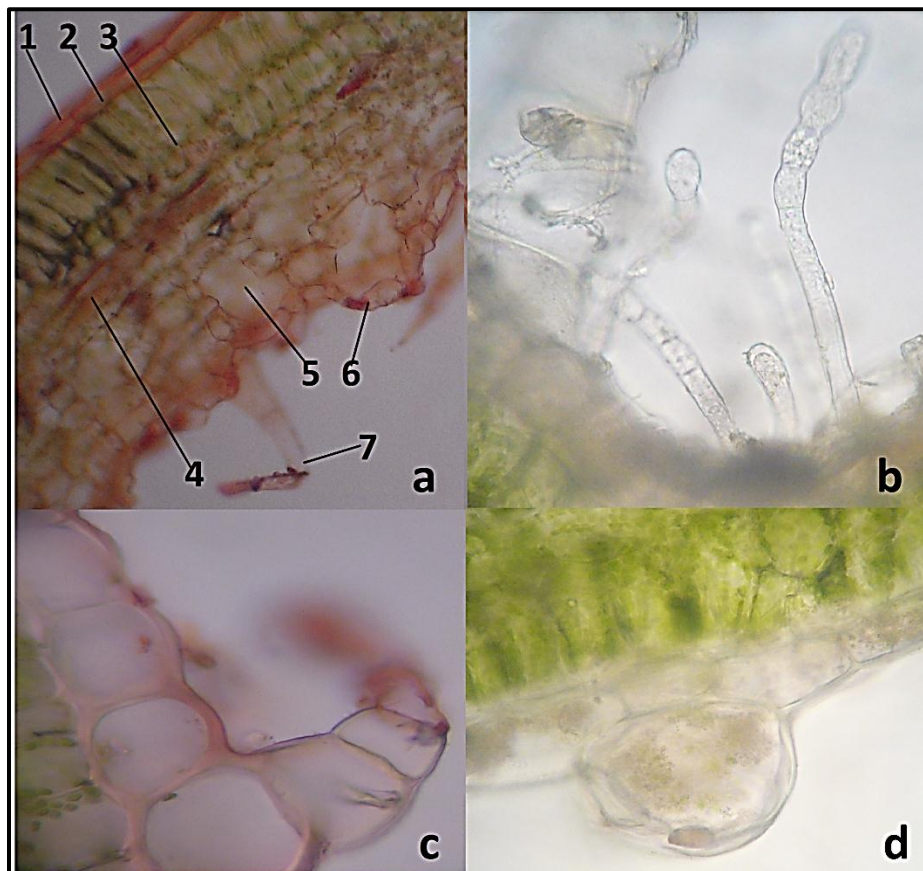
2.2.2 San Juan Sacatepéquez

El material fresco recolectado en el mercado de San Juan Sacatepéquez presentó una filotaxia alterna en el tallo, la hoja mostró una composición simple, una forma pinnatipartida con márgenes lobados y ápices espinosos con una base foliar sésil, venación reticulada, es una hoja dorsiventral porque presenta del lado ventral una superficie blanco tomentosa por la presencia de tricomas. Su flor de 1 a 3 cm constituido por una flor

tubular violeta rodeada de brácteas que terminan en espina que al estar seco presenta un vilano amarillo de 20 a 27 mm de largo. Olor casi impercibible moderadamente amargo.

2.2.2.1 Corte a mano alzada

El corte transversal de la hoja, presentó del lado abaxial y adaxial una epidermis constituida por un estrato de células, el parénquima en empalizada es conformada por dos capas de células siendo de mayor tamaño las células de la primera capa, por debajo se sitúa el parénquima esponjoso el cual es interrumpido por cavidades subestomáticas. La hoja evidenció tricomas pluricelulares y glandulares alrededor de la epidermis abaxial y adaxial como también glándulas secretoras de aceite (Figura 22).



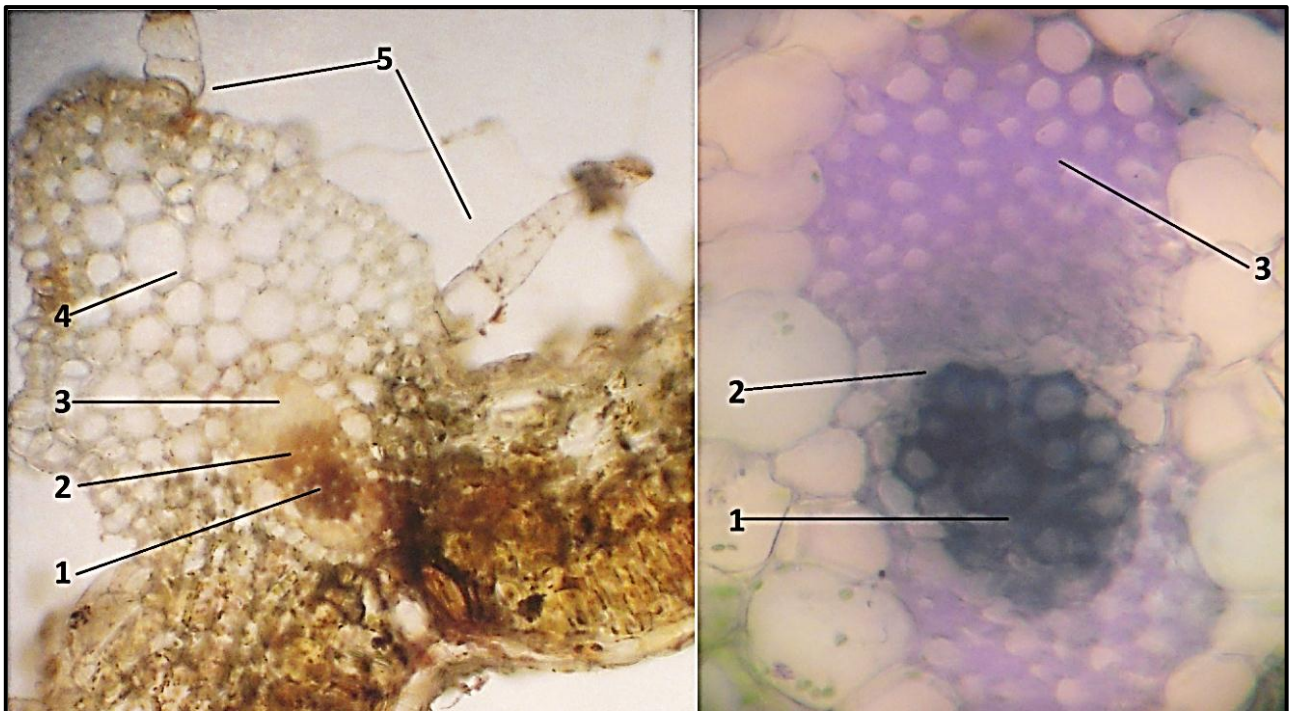
Polanco, C & Pérez, V. (2011)

Figura: 22. Corte transversal hoja [fotografía].

(a,b) (1)Cutícula (2) Epidermis adaxial (3) Epitelio de empalizada (4) Epitelio esponjoso (5) Cavidades subestomáticas (6)Epidermis abaxial (7) Tricoma. (b, c) Tricomas pluricelulares(c) Tricoma secretora de aceite 400X. (a, c) Safranina 1% (b,d) En fresco

La nervadura central mostró un sistema conductor rodeado de parénquima angular; el parénquima cortical formado por células isodiamétricas que se extienden hacia la epidermis monoseriada en la cual se encuentran tricomas pluricelulares glandulares (Figura 23).

El tallo presentó una epidermis monoestratificada, seguido por colénquima angular, debajo del parénquima se encuentran las fibras perivasculares extraxilemáticas que rodean el sistema vascular disponiéndose de forma aleatoria, por debajo se encuentra el floema, metaxilema y protoxilema, en el centro del tallo se localizó el parénquima medular con células isodiamétricas (Figura 24).



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 23: Corte transversal de hoja [fotografía].

(1) Xilema (2) Floema (3) Clorenquima angular (4) Parenquima en nervadura central (5) Tricoma.
400X. (a) Lugol (b) Fast Green.

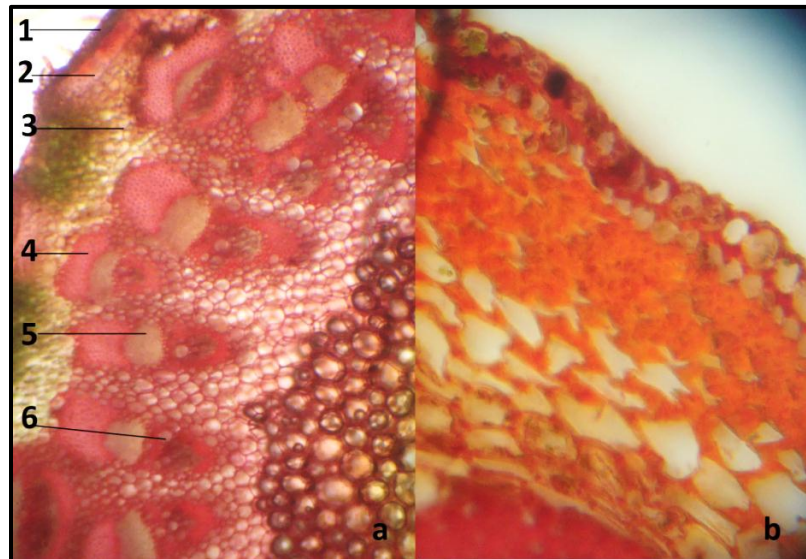
2.2.2.2 Diafanizado de hoja

El diafanizado de la hoja mostró una nervación reticulada, presencia de estomas anomocíticos en los dos lados de la hoja, mostrando una diferencia en las células

epidérmicas de la superficie abaxial ya que estas poseen un contorno irregular comparadas con las células de la superficie adaxial, se observó la presencia de cristales solitarios de oxalato de calcio y xilema helicoidal (Figura 25).

2.2.2.3 Disociado de la hoja

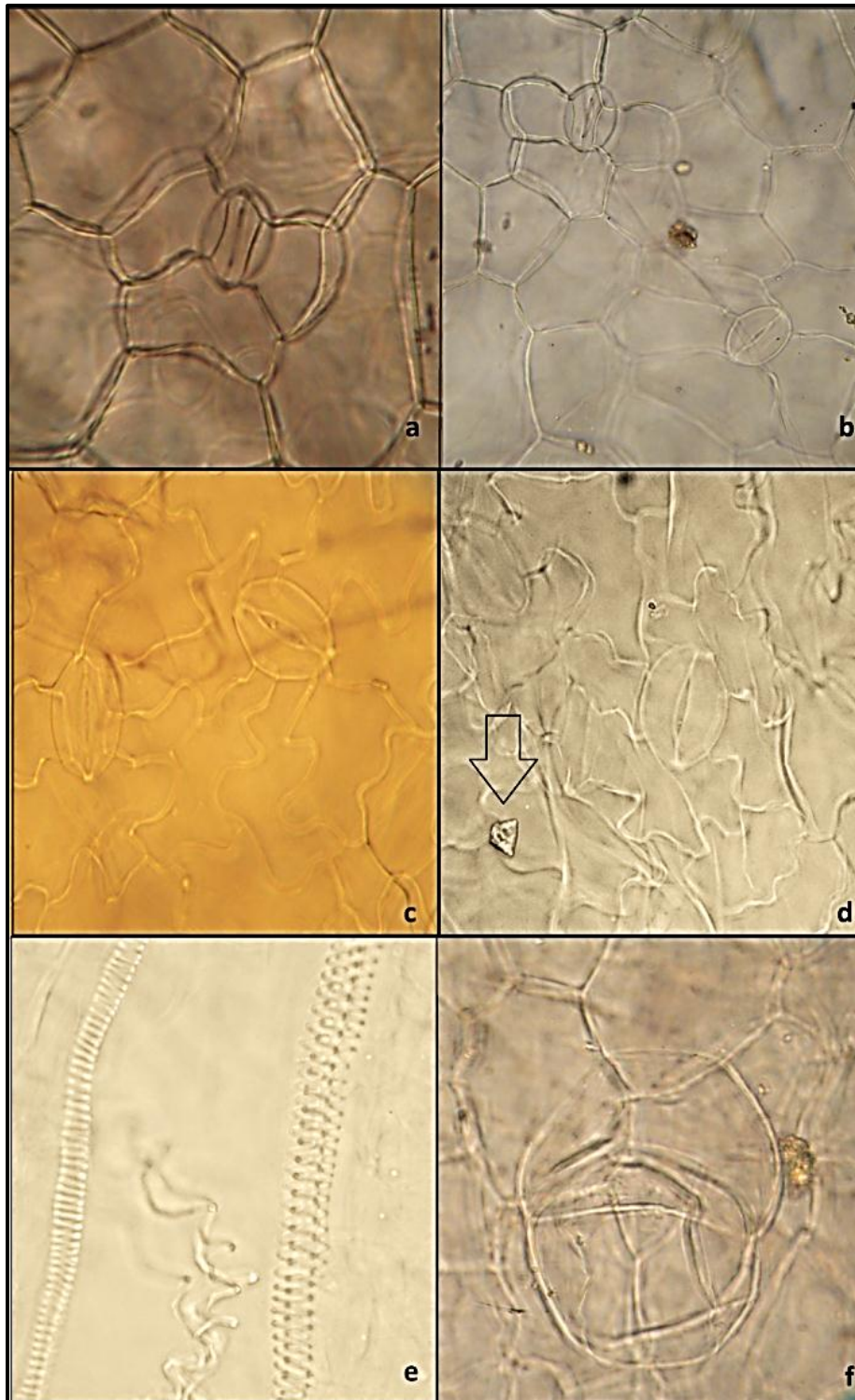
En el disociado de la hoja se observan estomas anomocíticos, fibroescleridas, tricomas. Xilema helicoidal y la presencia de cristales de oxalato de calcio arenosos (Figura 26).



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

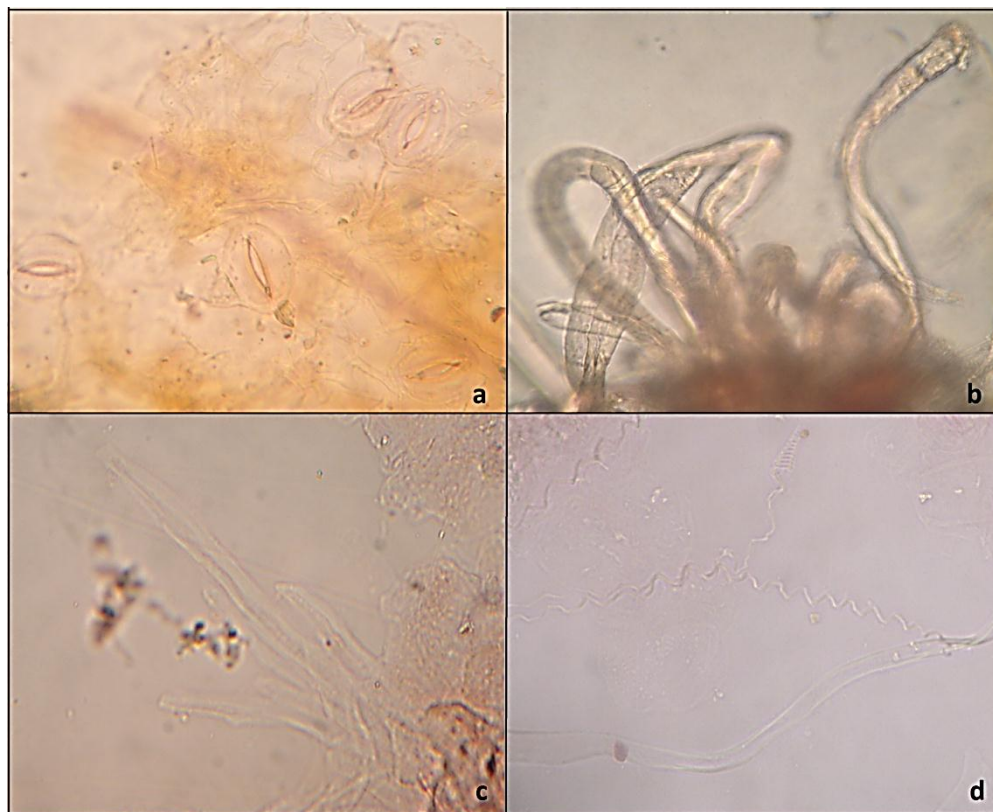
Figura 24: Corte transversal de tallo [fotografía].

(a) 1) Epidermis (2) Colénquima (3) Corteza (4) Esclerenquima (5) Floema (6) Xilema (b) Colénquima angular
400X. Fast Green



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 25 Diafanizado de hoja mercado de San Juan Sacatepequez [fotografía].
 (a-b) Estoma anomocitico lado adaxial de hoja (c-d) Estoma anomocitico lado abaxial de la hoja (d)Cristal
 solitario de oxalato de calcio (e) Xilema helicoidal (f) Base de tricoma.
 400X. Safranina 1%.



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

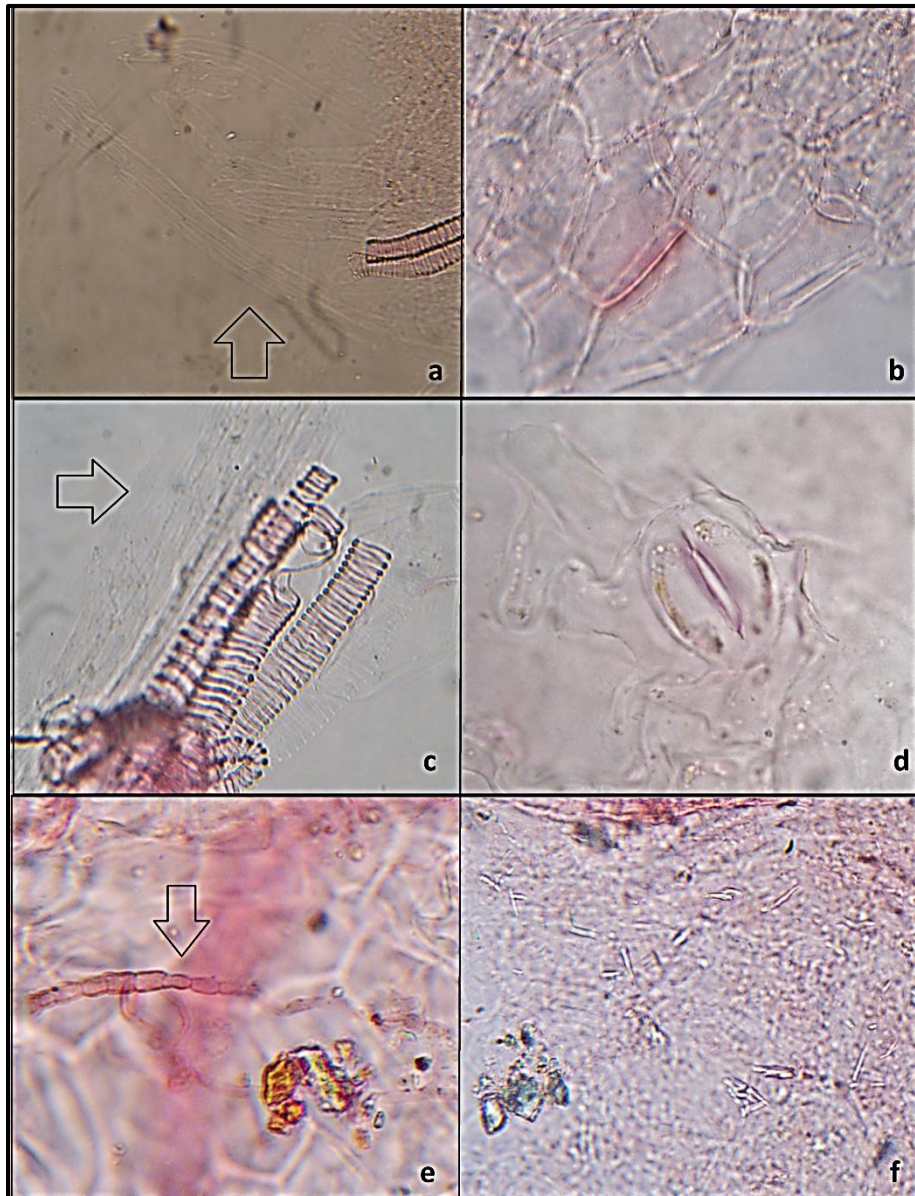
Figura 26 Disociado de hoja de Mercado de San Juan Sacatepequez [fotografía].
 (a) Estomas (b) Tricomas (c) Fibroesclereidas (d) Xilema helicoidal
 400X. Safranina 1%

2.2.3 San Pedro Sacatepéquez

El material recolectado se encontró en estado seco compuesto por pedazos de hojas tomentosas, de color verde a café, con bordes sinuoso-lobado, provisto de gruesas espinas de color más claro que la hoja; fragmento gruesos de tallo, ligeramente café. Presentó un olor dulce, herbáceo seco, sabor moderadamente amargo.

2.2.3.1 Disociado Débil

En el disociado de la materia seca se pudo observa la presencia de xilema helicoidal, estomas, tricomas pluricelulares, células epiteliales y cristales de oxalato de calcio en forma de rafidios (Figura 27).



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 27 Disociado de Hoja de Mercado de San Pedro Sacatepequez. [fotografía].

(a) Fibroesclereidas (b) Celulas epitelieales (c) Fibroesclereidas y Xilema helicoidal (d) Estoma anomocitico
(e) Tricoma pluricelular (f) Cristelas de oxalato de calcio rafiticos

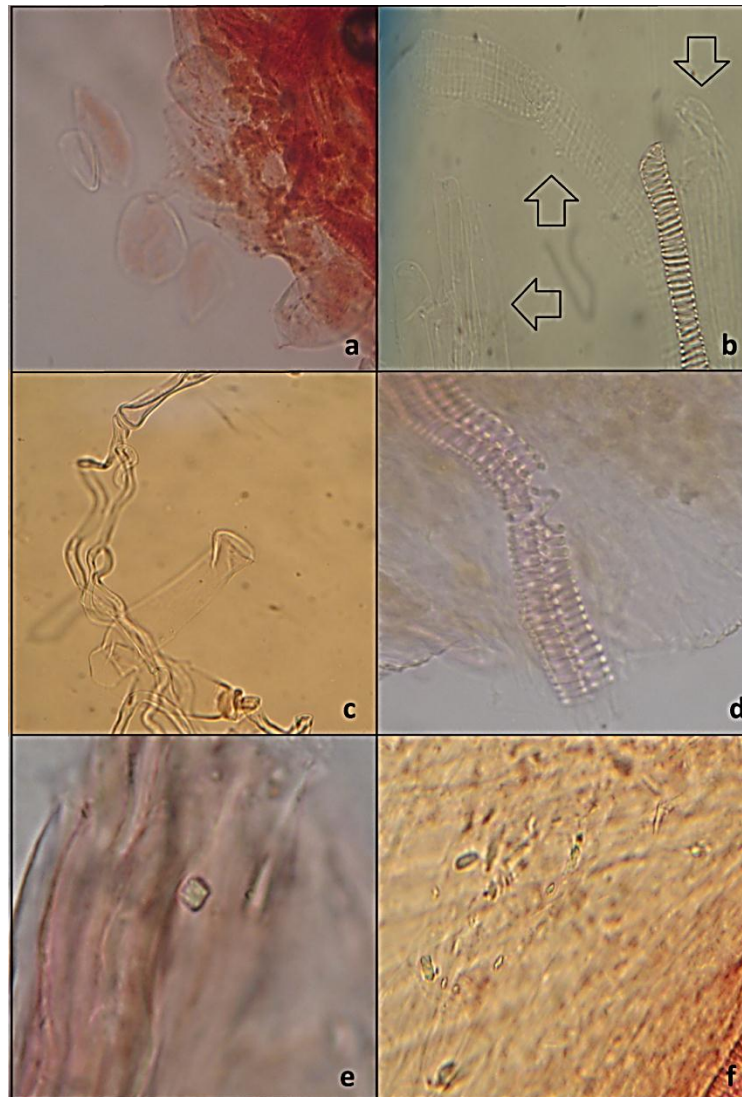
2.2.4 Mercado central capital

El material recolectado en este mercado se encontró en forma seca, con características macroscópicas de hojas basales y caulinares, con márgenes, espinosos, lobulares, pinnatífidas, sésiles y decurrentes en el tallo de 18- 25 cm de largo y 12-15 cm de

ancho con venación reticulada y dorso tomentoso. Presenta un olor herbáceo seco dulce, sabor moderadamente amargo.

2.2.4.1 Disociado Débil

Se puede observar la presencia de macroesclereidas xilema helicoidal, fibroesclereidas, tricomas y cristales de oxalato de calcio (Figura 28)



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 28 Disociado de hoja Mercado Central

(a) Macroesclereidas (b) Fibroesclereidas (c) Tricoma (d) Xilema helicoidal (e) Cristales de oxalato solitario (f) Cristales de oxalato rafidios

2.2.5 La Florida zona 19

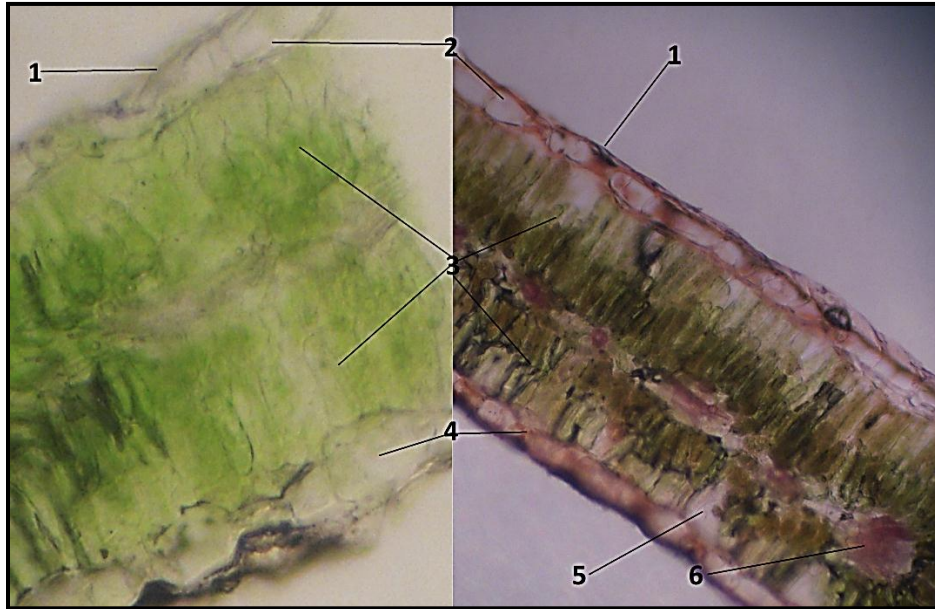
2.2.5.1 Descripción macroscópica

Se obtuvo la materia fresca del mercado de La Florida. Es un arbusto con raíz aproximadamente de 32 cm de altura, tallo glabro de aproximadamente 0.7 cm de diámetro, con espinas a lo largo del mismo, hojas de color verde opaco, son sinuadopinafitas, márgenes espinosos y lobulado, con espinas duras en el ápice, la venación en el haz de la hoja presentaba manchas blancas, las flores de color amarillo brillante de 6 pétalos, las semillas contenidas en una capsula de 6 balbas cubierta por espinas, las semillas son negras, redondas y brillantes corrugadas de aproximadamente 0.2 cm de diámetro. Las hojas son difíciles de romper, al ser laceradas liberan un látex de color amarillo, de un fuerte olor característico desagradable.

La materia seca posee las mismas características que la droga fresca, sin embargo pierde la coloración verde y se torna con un color violeta pálido, la consistencia es más quebradiza y las espinas se tornan de color amarillo.

2.2.5.2 Corte a mano alzada

El corte del tejido de la hoja muestra una disposición unifacial debido a que la epidermis está formada por células elongadas y romas están presentes tanto en el lado adaxial como abaxial; la hoja está compuesta por una fuerte cutícula seguido de una ordenada epidermis, posee cuatro capas de parénquima en empalizada distribuyéndose en dos estratos de células en cada uno de los extremos, las cuatro capas se encuentran separadas por el sistema de conducción en la parte media de la hoja. Las células que tiene contacto con la epidermis de la hoja presentan pequeñas cámaras subestomáticas (Figura 29).



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 29: Corte transversal de hoja.

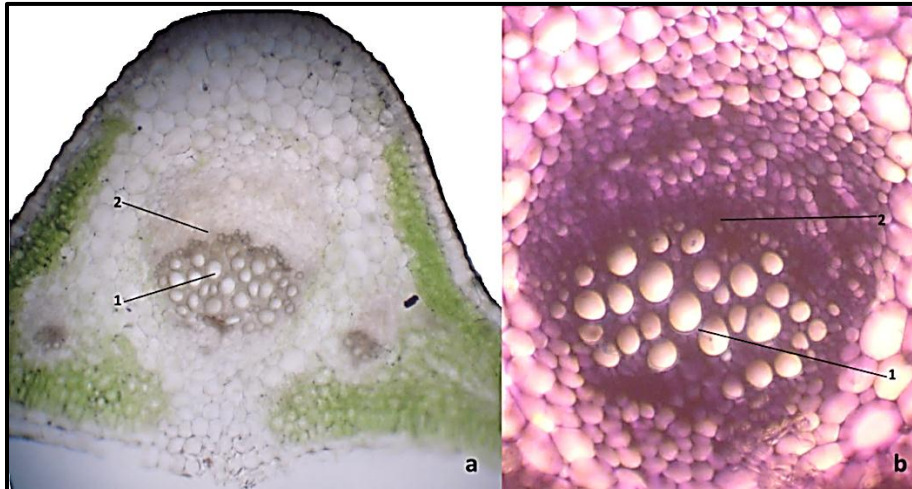
(1) Cutícula (2) Epidermis adaxial (3) Tejidos empalizada (4) Epidermis abaxial (5) Cavidades Subestomáticas (6) Nervadura Secundaria.

400X. (a) Sin teñir (b) Safranina 1%.

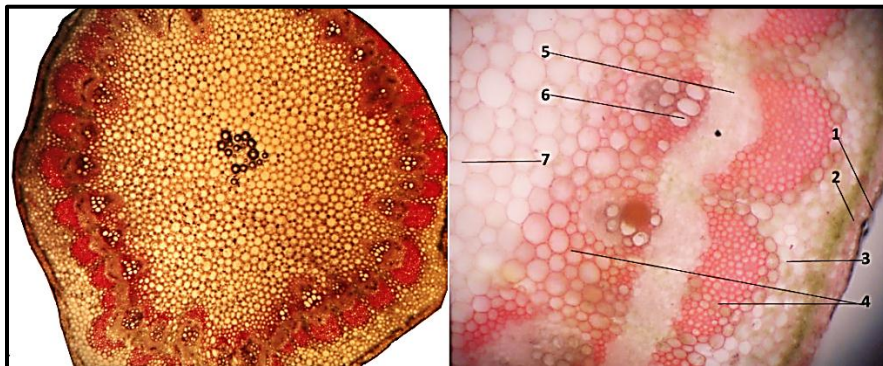
La nervadura central mostró 3 haces en la parte media de la hoja, presentó un sistema vascular central bastante ancho que ocupa gran parte de la nervadura central, está compuesto por haces de xilema y floema el cual está rodeado de esclerénquima; el parénquima de la corteza formado por células isodiamétricas se dispone hasta la epidermis unicelular (Figura 30).

El tallo presentó una epidermis monoestratificada seguido de colénquima angular de dos capas; parénquima cortical, por debajo de este se encuentra esclerénquima de células de paredes gruesas que envuelve al floema y xilema, bajo el cual se localizan las células del parénquima cortical (Figura 31).

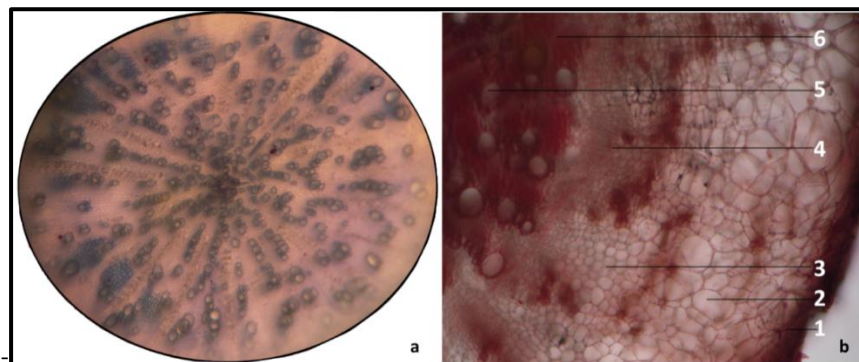
La raíz presentó una forma cilíndrica y los haces de xilema se disponen en forma poliarca, esta presentó epidermis de una sola capa; la filodermis formado por una capa de células heterogéneas en forma y tamaño por debajo se encontró el parénquima de la corteza el cual es delimitado por el floema y el xilema (Figura 32).



Polanco, C & Pérez, V. (2011).
 Figura 30 Corte transversal de hoja nervadura central.
 (1) Xilema y (2) Floema (3) Esclerenquima
 400X. (a) Lugol (b) Fast Green



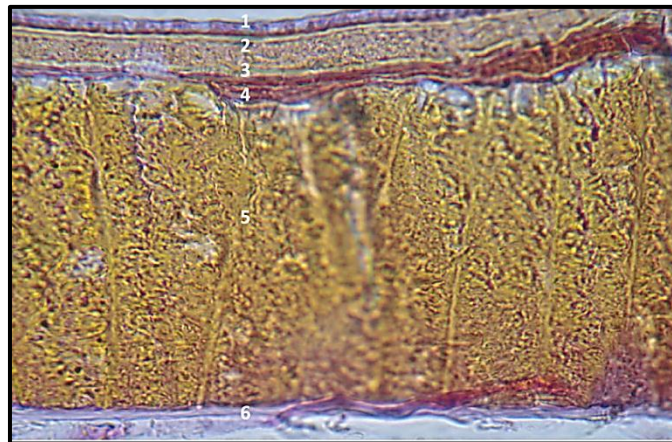
Polanco, C & Pérez, V. (2011).
 Figura 31: Corte transversal de tallo.
 (a) Disposición del tallo (b) (1) Epidermis (2) Colénquima angular (3) Parénquima cortical (4) Esclerenquima (5) Floema (6) Xilema (7) Parénquima medular
 (a) 100X (b) 400X. Safranina 1%.



Polanco, C & Pérez, V. (2011).
 Figura 32: Corte transversal de raíz.
 (a) Disposición de raíz poliarca y cilíndrica. (b) (1) Epidermis (2) Filodermis (3) Endodermis (4) Floema (5) Xilema (6) Esclerenquima
 400X. (a) Fast Green (b) Safranina 1%.

2.2.5.3 Corte con Micrótomo

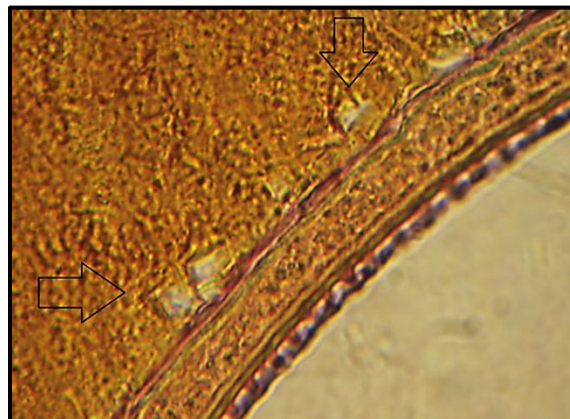
El corte transversal de la semilla mostró las tres capas de endocarpo, el exocarpo evidenció ser una capa delgada seguido por el mesocarpo y endocarpo siendo casi indistinguibles el uno del otro (Figura 33). El fruto comienza con macroesclereidas seguido por una capa gruesa de esclerénquima en medio de estas dos tejidos se encontró inclusiones de cristales de oxalato de calcio (Figura 34). El endosperma que es una capa delgada de células que cubre a los cotiledones el cual está compuesto por células redondas con uno a dos cuerpos proteicos (Figura 35).



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 33: Corte transversal de semilla.

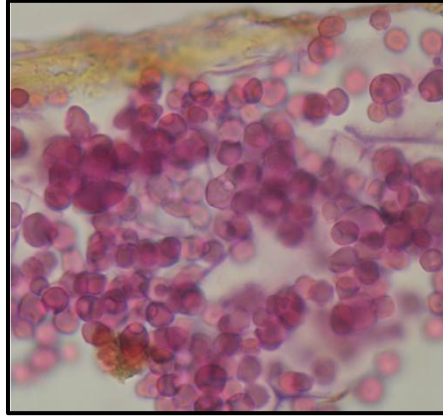
(1) Exocarpo (2) Mesocarpo (3) Endocarpo (4) Macroesclereidas (5) Esclerenquima (6) Endosperma
400X. Hematoxilina Eosina.



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 34: Corte transversal de semilla.

Cristales de Oxalato de Calcio
400X. Hematoxilina Eosina.



Polanco, C & Pérez, V. (2011).
Figura 35 Corte transversal semilla (Cotiledon)
400X. Hematoxilina Eosina

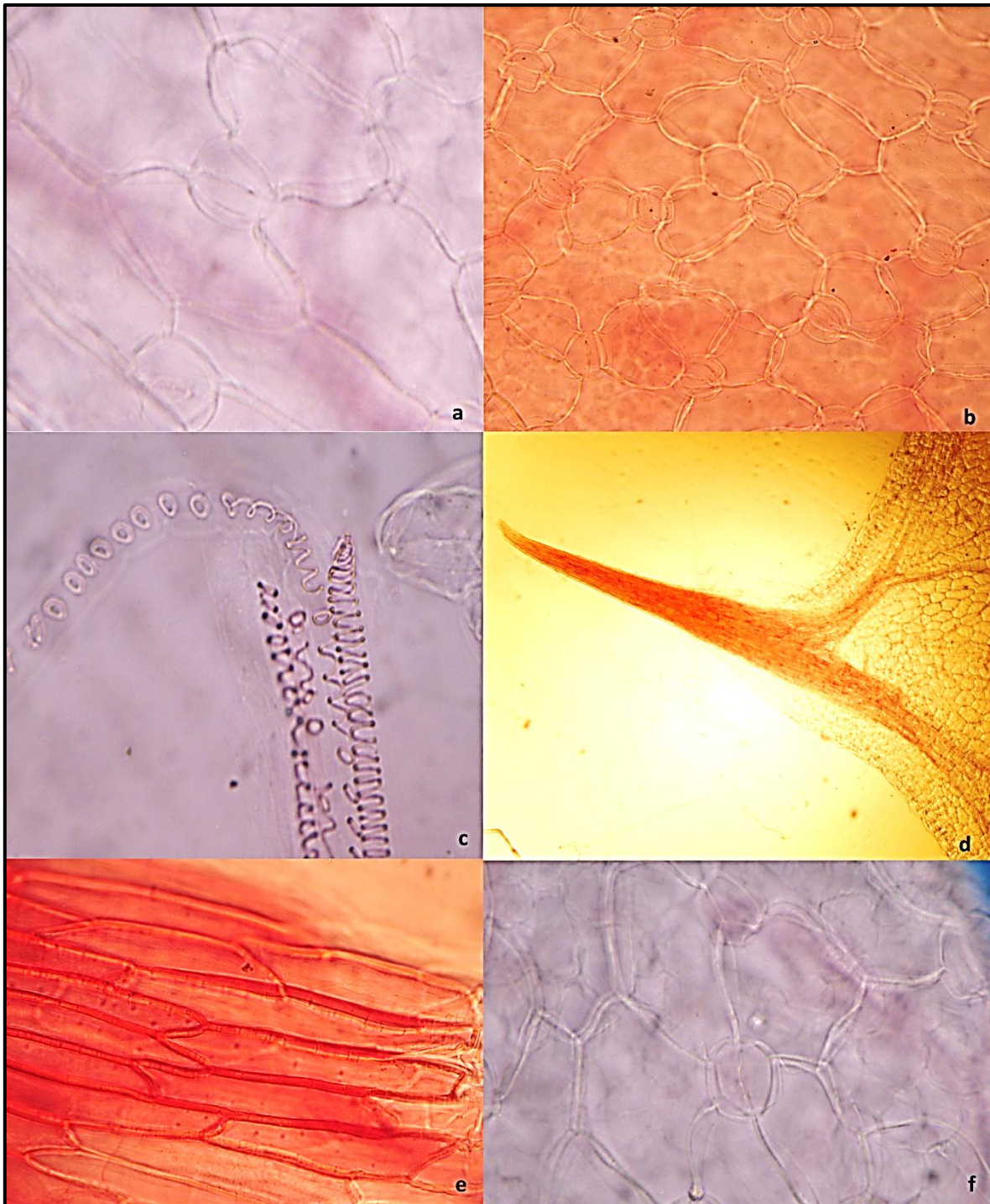
2.2.5.4 Diafanizado de la hoja

La hoja es tipo afiestomática ya que presentó tanto del lado adaxial como abaxial estomas anomocíticos rodeados de cuatro células anexas. Se observaron células epiteliales y xilema en forma de espiral y anular como también espinas terminales con venación interna (Figura 36).

2.2.5.5 Disociado

El disociado de la hoja mostró fibroesclereidas, xilema helicoidal anular y estomas anomocíticos (Figura 37)

La semilla mostró abundancia de macroesclereidas y células del esclerenquima (Figura 38)

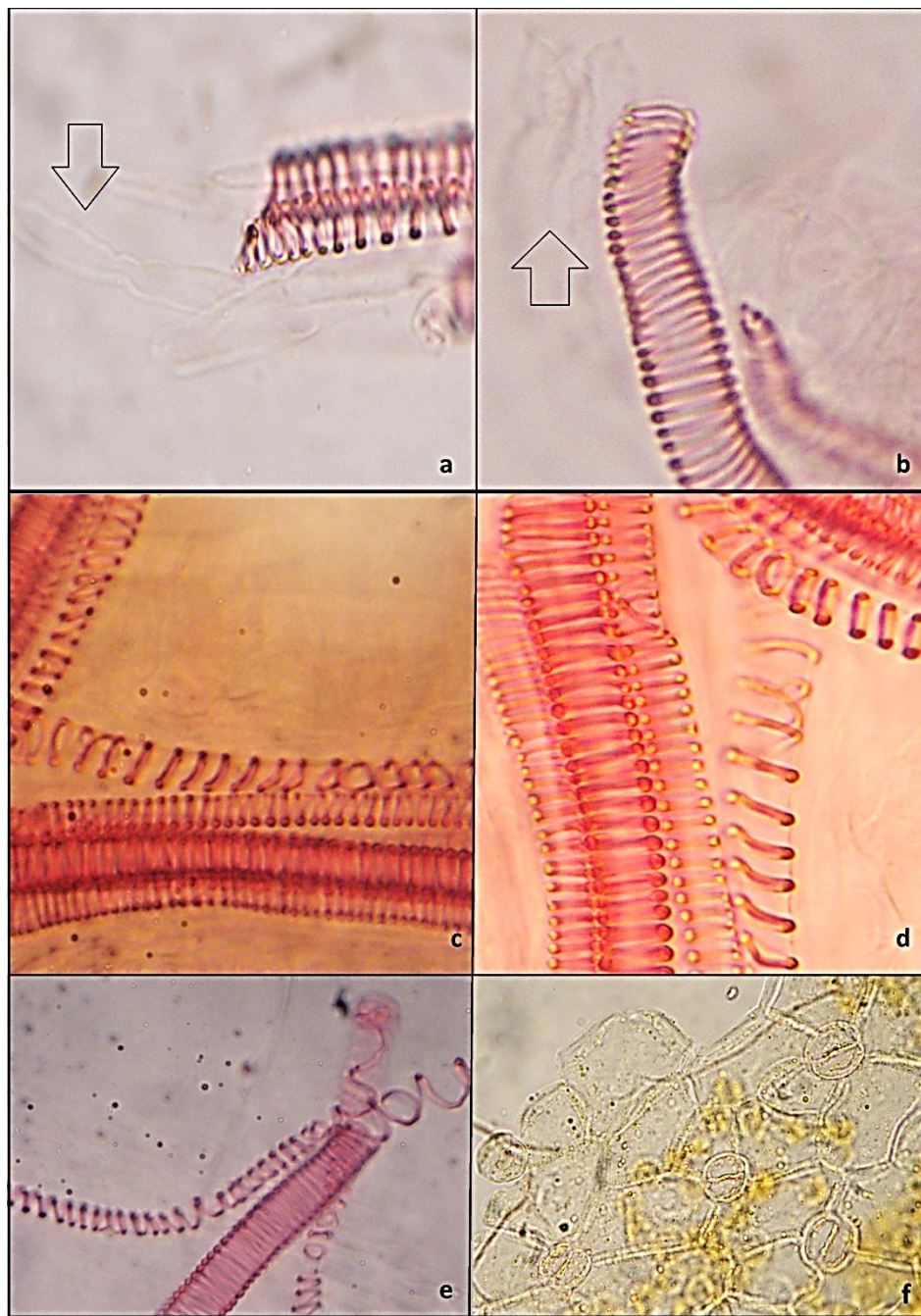


Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 36: Diafanizado hoja

(a y b) Estomas anomociticos adaxial, (c) xilema anular (d) Espina (e) células epiteliales (f) Estoma anomociticos abaxial.

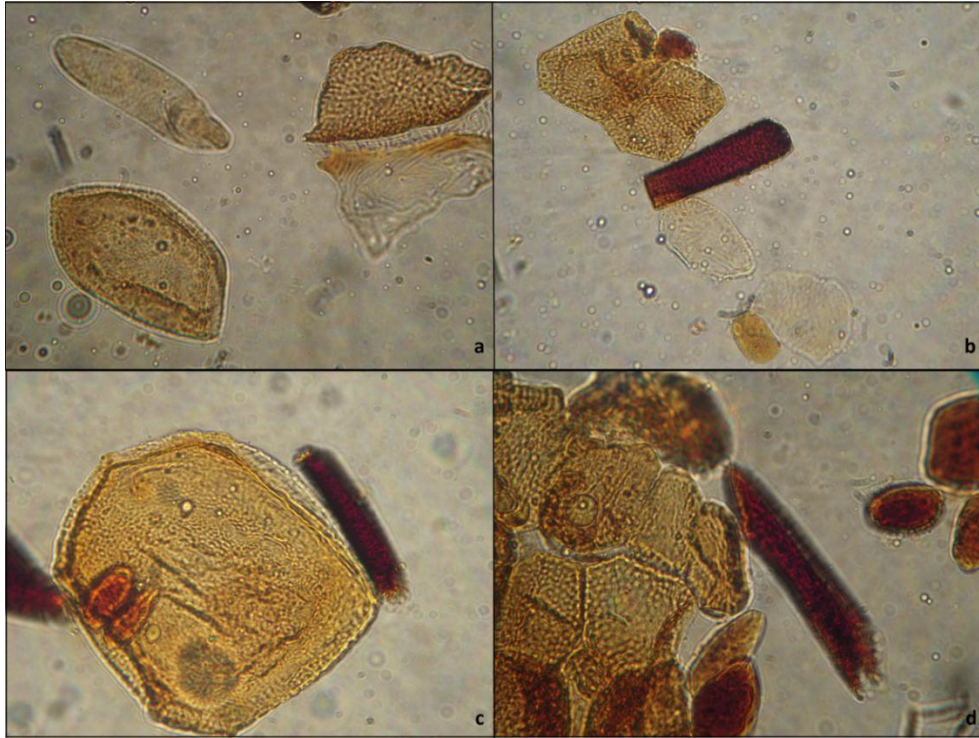
400X(a-c; e-f) 100X (d). Safranina 1%



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 37 Disociado Hoja

(a y b) Fibroesclereidas (c y d) Xilema anular (e) xilema helicoidal. (f) Estomas anomocíticos.
400X. Safranina 1%



Polanco, C & Pérez, V. (2011).
 Figura 38: Disociado de Semilla
 (a-d) Células del esclerenquim, macrosclereidas
 400X. Safranina 1%

3. Características micromorfológicas del Polen

El polen de *S. marianum* y *C. mexicanum* presentaron una simetría isopolar, forma esferoidal, triporado y una ornamentación equina, *A. mexicana*, mostró una simetría isopolar, forma esferoidal, inaperturado con una ornamentación reticular.



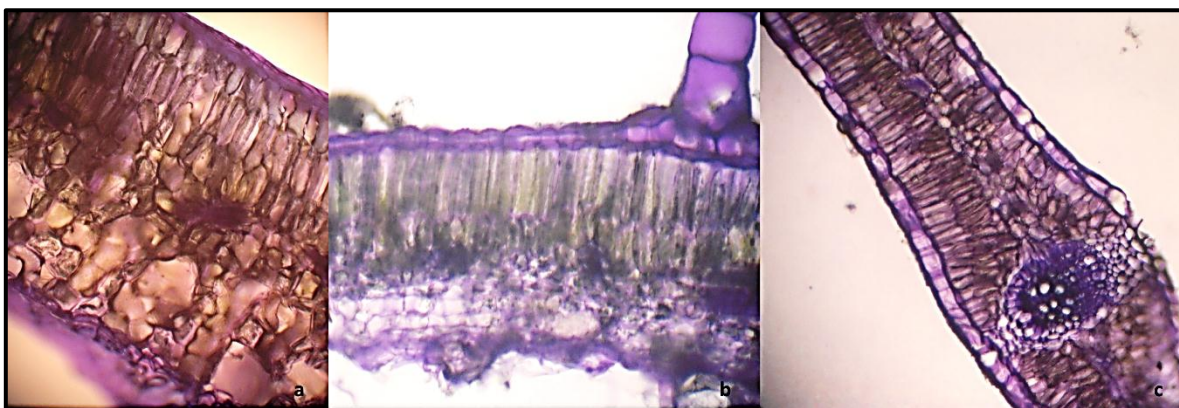
Polanco, C & Pérez, V. (2011).
 Figura 39 Polen
 a. *Silybum marianum* b. *Cirsicum mexianum* c. *Argemone Mexicana*

4. Tamizaje fitoquímico

Las hojas de *Silybum marianum*, *Cirsium mexicanum* y *Argemone mexicana* presentaron aleuronas, aceites esenciales positivo, alcaloides únicamente *Argemone mexicana*. *Cirsium mexicanum* fue el único que no presentó almidones en su estructura (Figura 40-43).

El tallo de las plantas únicamente para las tres fue positivo para mucílagos, *Argemone mexicana* presentó almidón positivo (Figura 45).

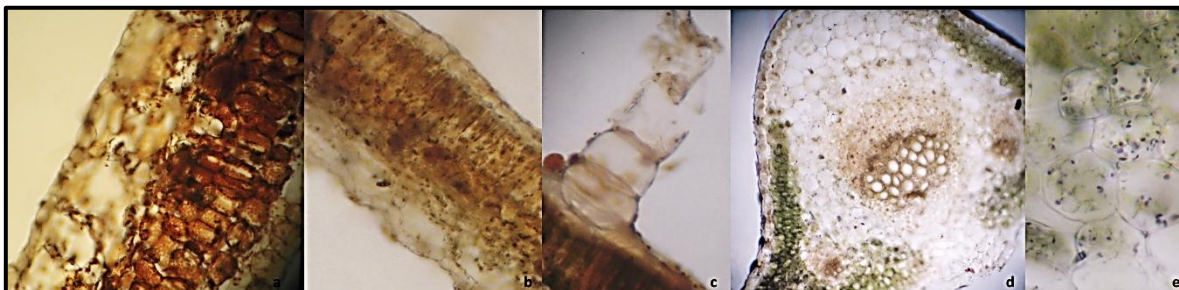
La raíz de las tres plantas no dio positivo a ningún metabolito secundario (Figura 46-47).



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura:40 Azul de Cresil 1%

(a)*Silybum marianum* (b) *Cirsium mexicanum* (c) *Argemone mexicana*



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura: 41 Prueba de Almidones Lugol

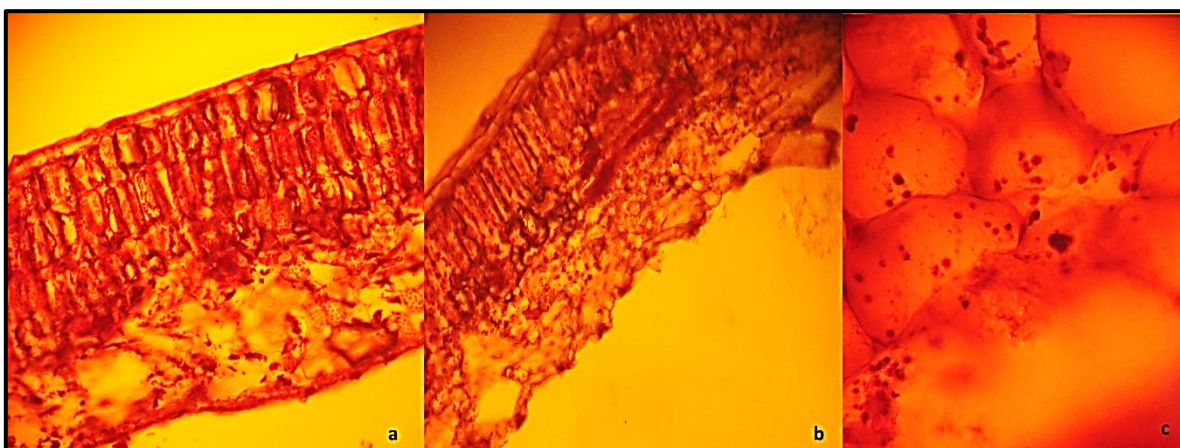
(a)*Silybum marianum* (b) *Cirsium mexicanum* (c) Tricoma de *Cirsium mexicanum* (d) Nervadura Central *Argemone Mexicana* (e) Gránulos de almidón Hoja *Argemone mexicana*



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 42 Sudan IV

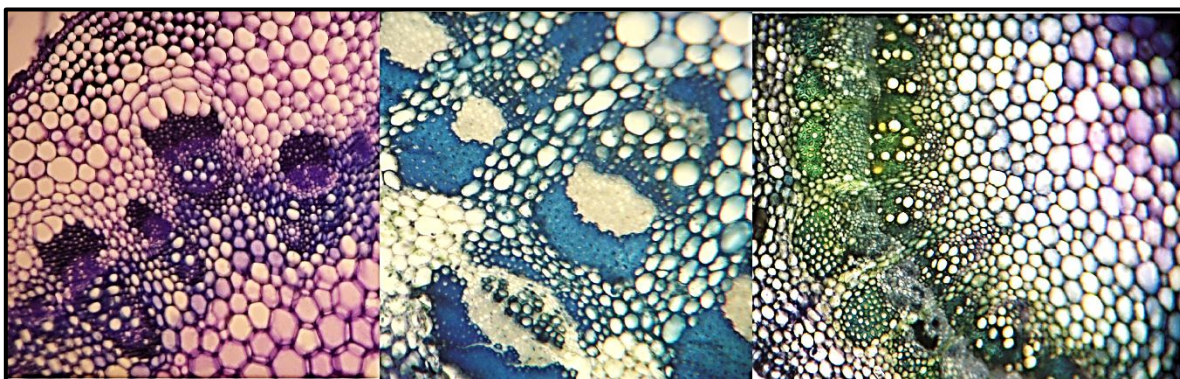
(a) *Silybum marianum* (b) *Cirsium mexicanum* (c) *Argemone mexicana*



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 43: Dragendorff

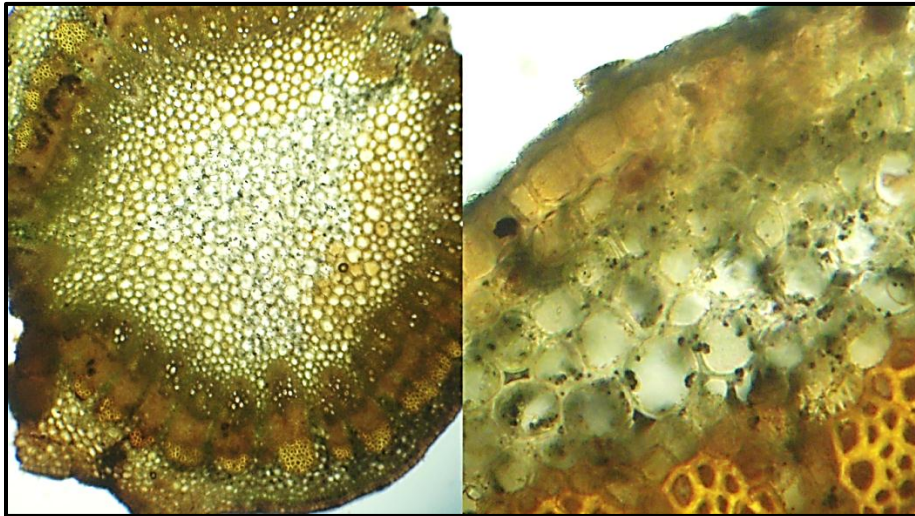
(a) *Silybum marianum* (b) *Cirsium mexicanum* (c) *Argemone mexicana*



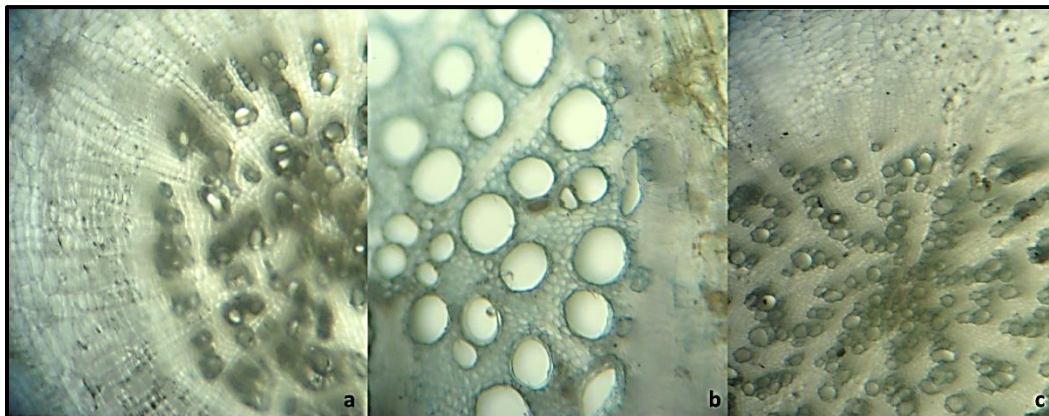
Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Figura 44: Azul de Cresil Positivo

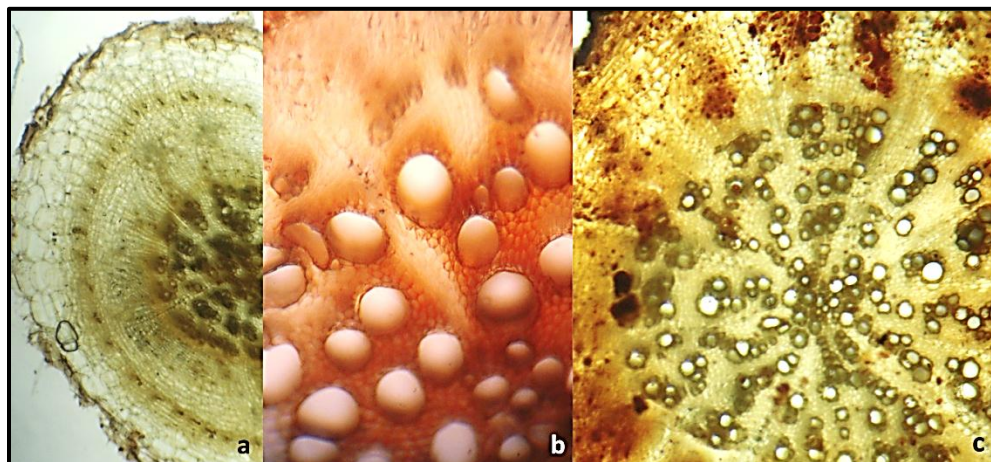
(a) *Silybum marianum* (b) *Cirsium mexicanum* (c) *Argemone mexicana*



Polanco, C & Pérez, V. (2011).
Figura 45: Lugol *Argemone mexicana*



Polanco, C & Pérez, V. (2011).
Figura 46: Azul de Cresil en Raiz Negativo
(a) *Silybum marianum* (b) *Cirsium mexicanum* (c) *Argemone mexicana*



Polanco, C & Pérez, V. (2011).
Figura 47: Almidon Raiz Negativo
(a) *Silybum marianum* (b) *Cirsium mexicanum* (c) *Argemone mexicana*

Tabla No. 1 Comparación de Características Histológicas de Materia Fresca y Semilla Recolectadas en Los Mercados

Características	<i>Silybum marianum</i> (Cardo Mariano)	Cardo Mariano Chimaltenango	Cardo Mariano San Juan Sacatepéquez	Cardo Mariano La Florida
Empalizada	Tres capas	Dos capas	Dos capas	Cuatro capas
Esponjoso	Presente	Presente	Presente	Ausente
Cámaras	Presente	Presente	Presente	Presenta
Subestomáticas				
Tricomas	Ausente	Presente	Presente	Ausente
Glándulas de Aceite	Ausente	Presente	Presente	Ausente
NERVADURA CENTRAL				
Epidermis	Una capa	Una capa	Una capa	Una capa
Parénquima cortical	Presente	Presente	Presente	Presente
Esclerenquima	Presente	Presente	Presente	Presente
TALLO				
Epidermis	Una capa	Una capa	Una capa	Una capas
Colénquima	Angular	Angular	Angular	Angular
Parénquima cortical	Presente	Presente	Presente	Presente
Fibras de	Presente	Presente Fibras	Presente Fibras	Presente
Esclerenquima	Extrafloemáticas	Perixilemática	Perixilemática	Extrafloemáticas
Xilema	Presente	Presente	Presente	Presente
Floema	Presente	Presente	Presente	Presente
RAIZ				
Distribución	Poliarca	Tetrarca	----	Tnarca
Epidermis	Una Capa	Una Capa	----	Una Capa
Filodermis	Disposición ordenada	Disposición ordenada	----	Disposición desordenada
Parénquima cortical	Células isodiamétricas	Células isodiamétricas	----	Células isodiamétricas
Esclerenquima	Presente	Presente	----	Presente
DIAFANIZADO DE HOJA				
Estomas	Tetracíticos	Anfiestomáticas	Anfiestomáticas	Anfiestomáticos
	Anomocíticos	Anomocíticos	Anomocíticos	Anomocíticos
Xilema	Helicoidal	Helicoidal	Helicoidal	Helicoidal y Anular
Epidermis Adaxial	Paredes Regulares	Paredes regulares	Paredes regulares	Paredes regulares
Epidermis Abaxial		Paredes irregulares	Paredes irregulares	
Cristales	Prismáticas Arena de cristal	Rafidios Arena de cristal	Rafidios Arena de cristal	Prismáticos solitarios
DISOCIADO DE SEMILLA				
Macroesclereidas	Presente	Ausentes	----	Presente
Fibroesclereidas	Presente	Ausente	----	Ausente
Esclerenquima	Ausente	Presente	----	Presente
Células del Exocarpo	Presente	Ausente	----	Ausente
Endosperma	Presente	Presente	----	Ausente
Cristales de Oxalato	Presente	Presente	----	Poca cantidad
SEMILLA				
Pericarpo	Presente	Presente	----	Presente
Mesocarpo	Presente	Presente	----	Presente
Endocarpo	Presente	Presente	----	Presente
Cristales de Oxalato	Presentes bajo el endocarpo	Presente dentro del endocarpo		Presente bajo Macroesclereidas
Macroesclereidas	Tres capas	Una capa	----	Una Capa
Esclerenquima	Presente	Presente	----	Presente
Endosperma	Una sola capa células romas y alargadas	Una sola capa De células cuadradas	----	Presente células pequeñas
Cotiledón	Células redondas con cuerpos proteicos	Células amorfa con cuerpos proteicos	----	Células redondas con un cuerpo proteico
POLEN				
Simetría	Isopolar	Isopolar	----	Isopolar
Forma	Esferoidal	Esferoidal	----	Esferoidal
Poros	Triporado	Triporado	----	Inaperturado
Ornamentación	Equina	Equina	----	Reticulada

Fuente de datos: Experimentales

Tabla No. 2 Comparación de Características Histológicas de Materia Seca del Disociado de los cinco mercados del Altiplano Central

Cardo mariano Características	<i>Silybum marianum</i>	Chimaltenango	San Juan Sacatepéquez	San Pedro Sacatepéquez	Mercado Central Capital	La Florida
Esclereídas	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presentes	Ausentes
Fibroesclereidas	Ausente	Ausente	Presente	Presente	Presentes	Presente
Cristales de Oxalato de Calcio	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Presentes	Ausente
Células Epiteliales	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Ausentes	Ausente
Xilema	Helicoidal	Helicoidal	Helicoidal	Helicoidal	Helicoidal	Helicoidal y Anular
Gránulos de Reserva	Presentes	Ausentes	Ausentes	Ausente	Ausente	Ausentes
Tricomas	Ausente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente
Estomas	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Presente

Fuente de datos: Experimentales

Tabla No. 3 Porcentaje de humedad de las muestras de droga seca obtenidas de siembra piloto y expendios naturistas de mercados del altiplano central.

Muestra	Proveniencia	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3	Lectura promedio	SD
<i>S. marianum</i>	Cultivo piloto	8.35%	7.31%	7.71%	7.79%	+/- 0.52
<i>C. mexicanum</i>	Merca do de Chimaltenango	9.01%	8.96%	8.47%	8.81%	+/-0.27
<i>C. mexicanum</i>	Merca do San Juan Sacatepéquez	8.53%	8.17%	8.90%	8.53%	+/- 0.36
<i>C. mexicanum</i>	Merca do San Pedro Sacatepéquez	7.13%	6.98%	7.14%	7.08%	+/-0.09
<i>C. mexicanum</i>	Merca do Central capitalino	6.47%	6.51%	6.71%	6.56%	+/- 0.13
<i>A. mexicana</i>	Merca do La Florida zona 19	4.43%	4.62%	4.07%	4.37%	+/- 0.28

SD desviaciones estándar.

Fuente de datos: Experimentales

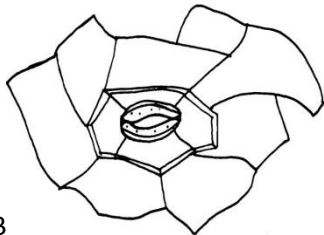
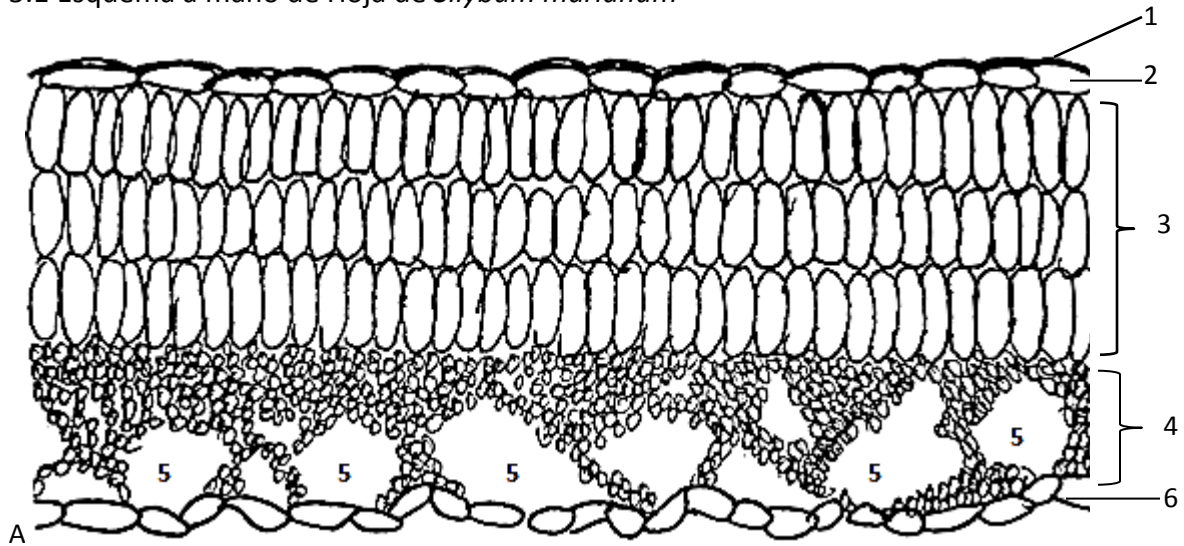
Tabla No. 4 Cenizas totales de las muestras de droga seca obtenidas de siembra piloto y expendios naturistas de mercados del altiplano central.

Muestra	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3	Lectura Promedio	SD							
Nombre	Proveniencia	PIM g	PFM g	Cz %	PIM g	PFM	Cz %	PIM g	PFM g	Cz %	%	
<i>S. marianum</i>	Cultivo Piloto	1.527	0.123	8.05	1.502	0.118	7.82	1.524	0.128	8.39	8.090	+/- 0.28
<i>C. mexicanum</i>	Merca do de Chimaltenango	1.567	0.095	6.03	1.521	0.100	6.56	1.579	0.99	6.27	6.292	+/-0.263
<i>C. mexicanum</i>	Merca do San Juan Sacatepéquez	1.47	0.091	5.92	1.48	0.093	6.31	1.53	0.095	6.50	6.248	+/- 0.29
<i>C. mexicanum</i>	Merca do San Pedro Sacatepéquez	1.575	0.147	9.33	1.563	0.152	9.72	1.567	0.149	9.51	9.522	+/-0.195
<i>C. mexicanum</i>	Merca do central capitalino	1.465	0.134	9.14	1.474	0.127	8.61	1.470	0.131	8.91	8.892	+/- 0.26
<i>A. mexicana</i>	Merca do La Florida	1.507	0.868	5.82	1.584	0.088	5.58	1.504	0.076	5.08	5.498	+/- 0.38

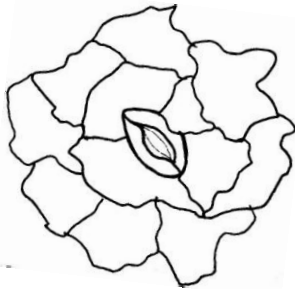
PIM g Peso Inicial de la Muestra en gramos, PFM g Peso Inicial de la Muestra en gramos, Cz % porcentaje de cenizas, Pr % promedio de porcentajes, SD desviaciones estándar.

5. Cartilla Micrográfica

5.1 Esquema a mano de Hoja de *Silybum marianum*



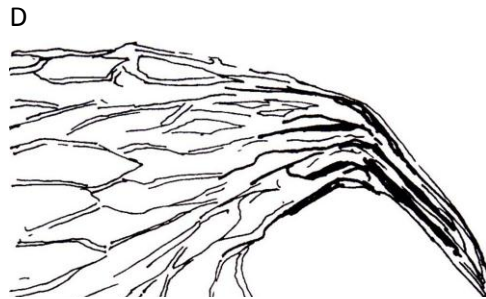
B



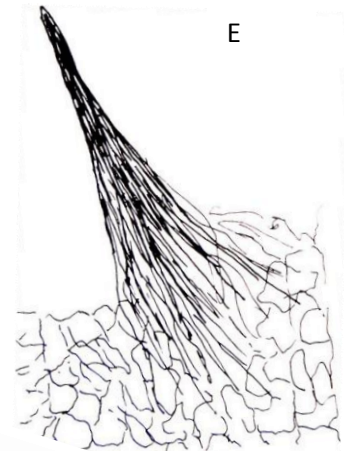
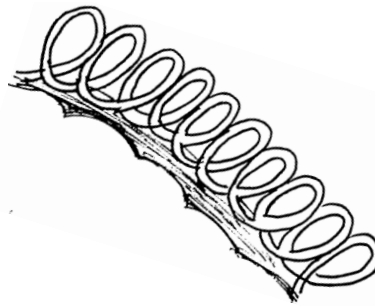
C



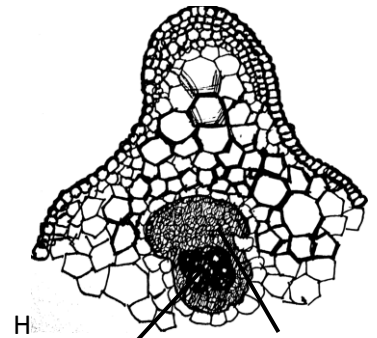
F



D



E

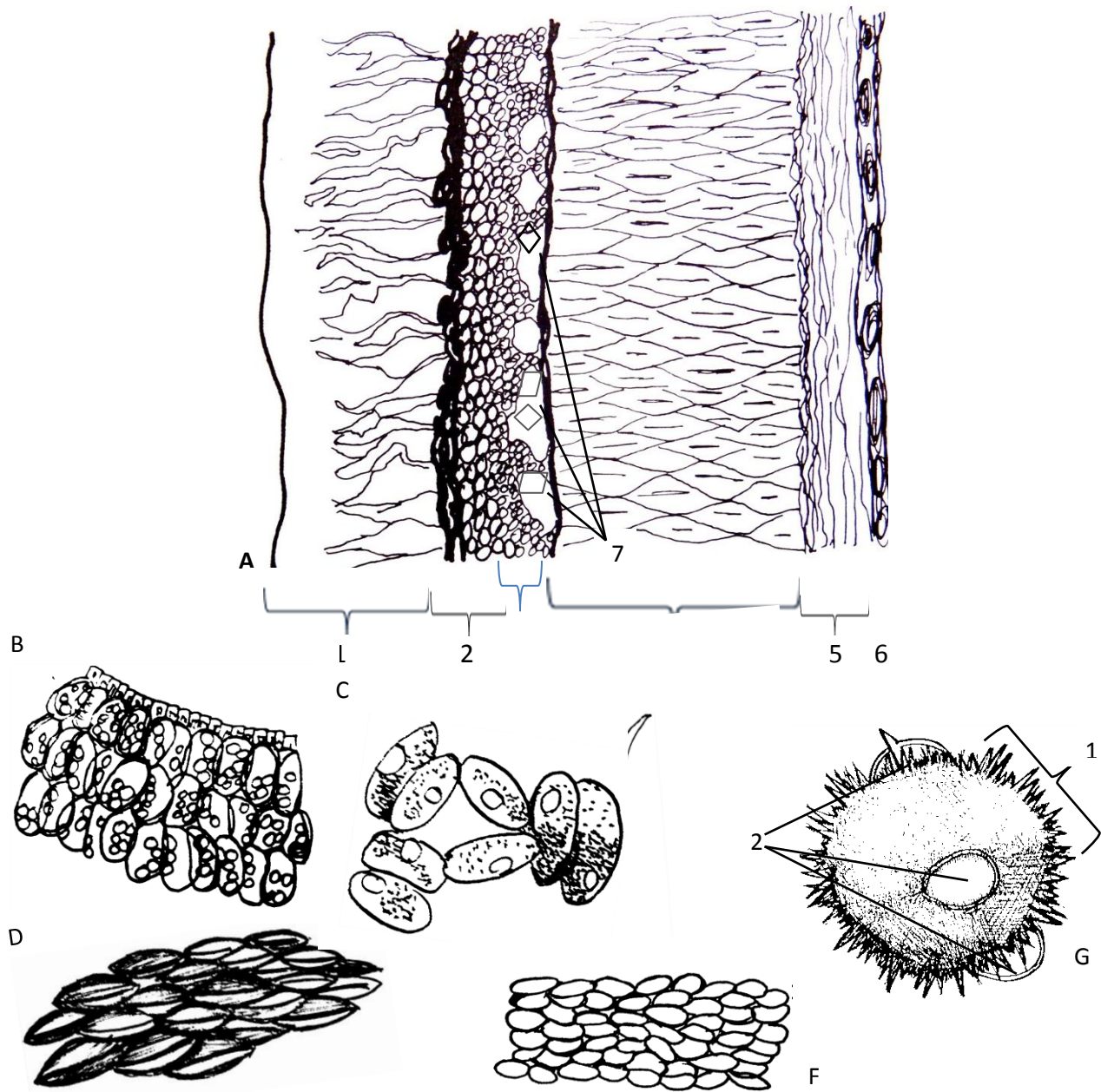


H

A. Tejido Hoja

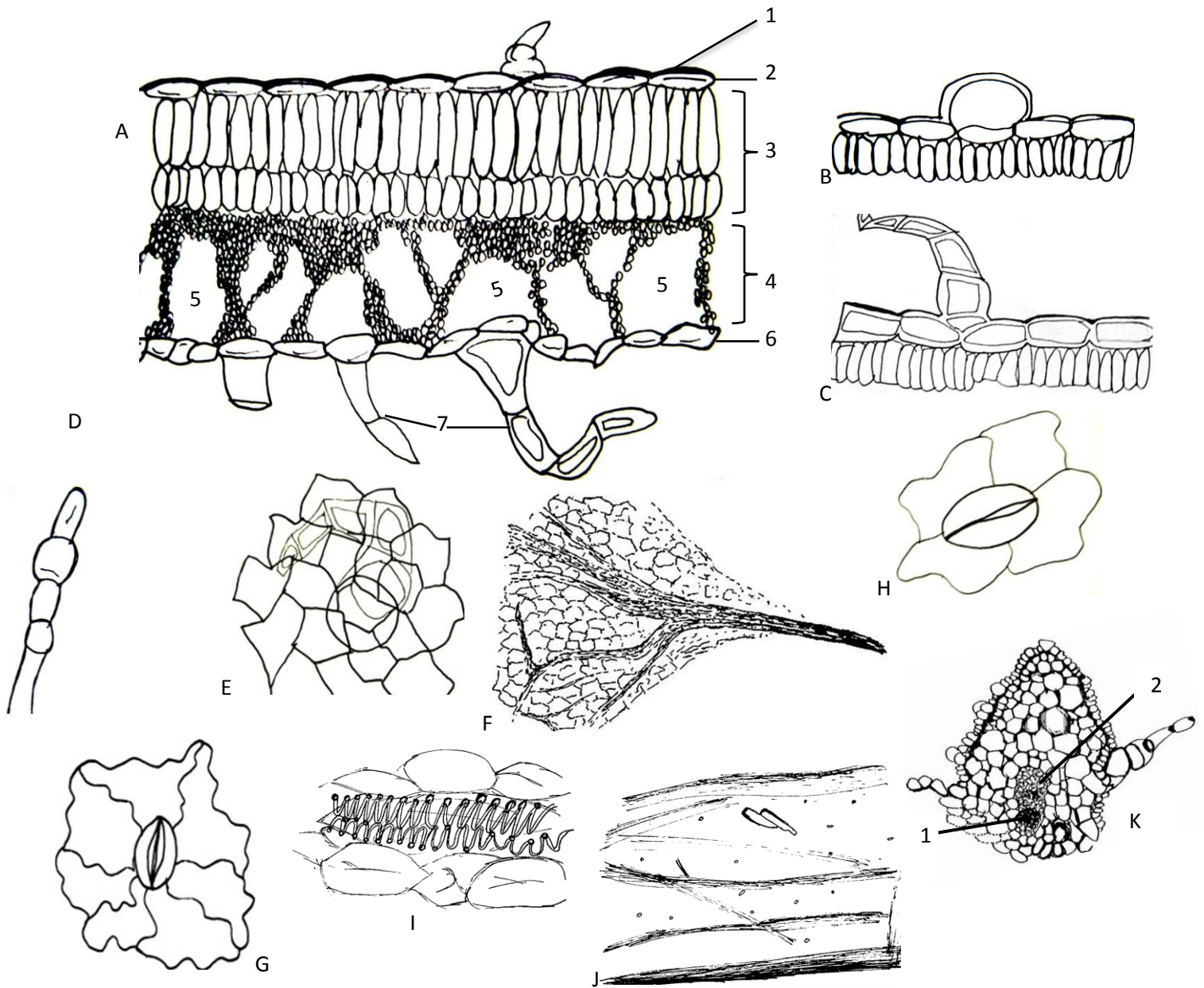
- 1. Cutícula
- 2. Epidermis adaxial
- 3. Parénquima de empalizada
- 4. Parénquima esponjoso
- 5. Cavidades subestomáticas
- 6. Epidermis abaxial

- B. Estoma tetracítico
- C. Estoma anomocítico
- D. Emergencias epidérmicas
- E. Espina terminal con nerviación
- F. Cristales de oxalato de calcio arenosos
- G. Xilema helicoidal con esclereidas
- H. Nervadura central
- 1. Sistema vascular 2. Esclerenquima

5.2 Esquema a mano de Semilla de *Silybum marianum*

- A. Estructura de la semilla
 1. Empalizada del exocarpo
 2. Mesocarpo
 3. Endocarpo
 4. Macroesclereidas
 5. Esclerénquima
 6. Endosperma
 7. Cristales de oxalato de calcio

- C. C
 D. Macroesclereidas
 E. Fibrosclereida
 F. Células del endosperma
 con inclusiones de aceite
 y cristales
 G. Estructura del polen
 Ornamentación equina
 Poros

5.3 Esquema a mano de *Cirsium mexicanum*

A. Tejido Hoja

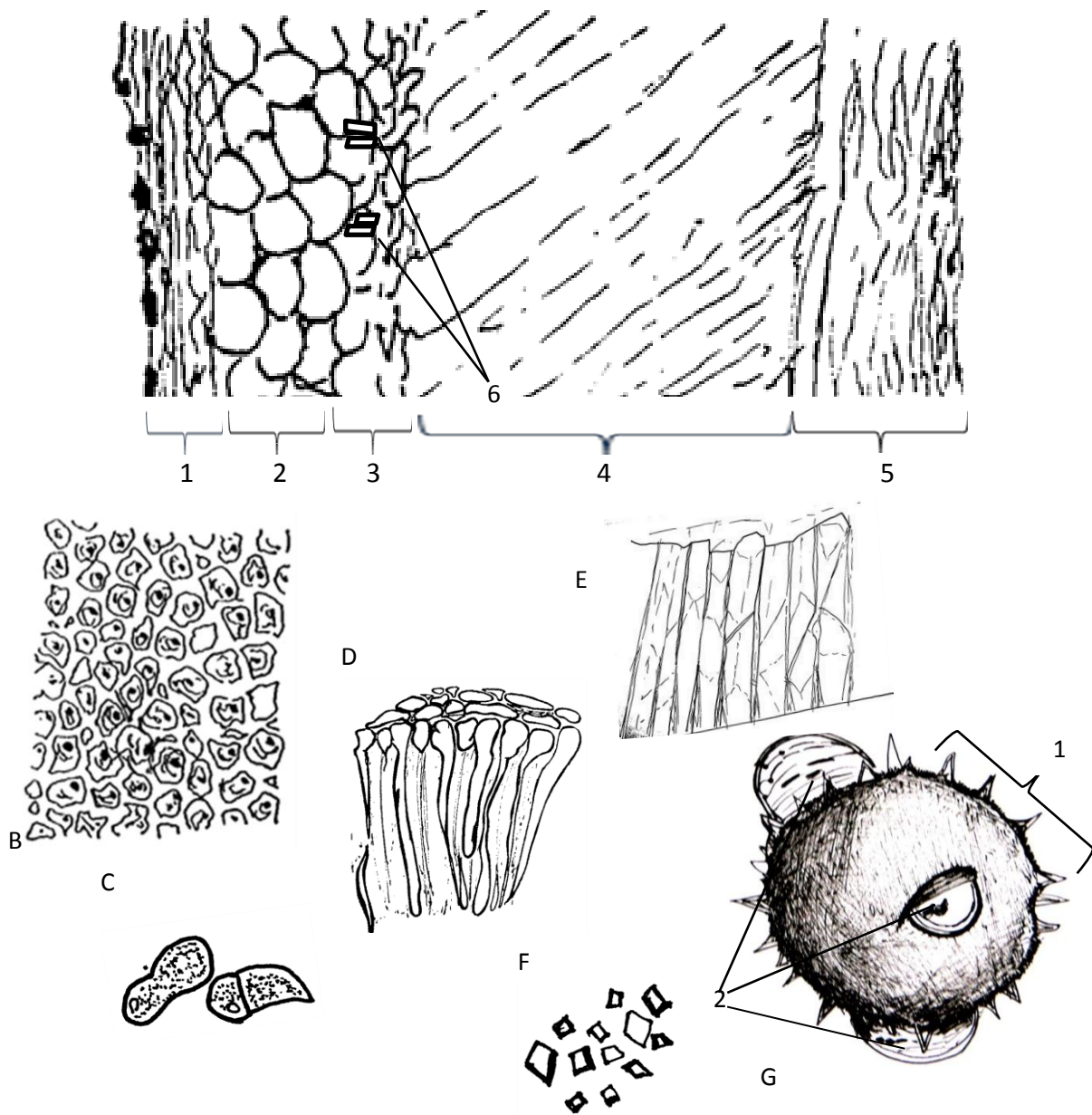
1. Cutícula
2. Epidermis adaxial
3. Parénquima de empalizada
4. Parénquima esponjoso
5. Cámaras subestomáticas
6. Epidermis abaxial
7. Tricoma glandular

B. Base de tricoma

- C. Tricoma pluricelular
- D. Tricoma glandular
- E. Base de tricoma
- F. Espina terminal nervada
- G. Estoma anomocíticos abaxial
- H. Estoma anomocíticos adaxial

I. Xilema helicoidal

- J. Cristales de oxalato de calcio Rafidios y arenosos
- K. Nervadura central
1. Sistema vascular
2. Esclerenquima

5.4 Esquema a mano de Semilla *Cirsium mexicanum*

A. Estructura de la Semilla

1. Empalizada del exocarpo
2. Mesocarpo
3. Endocarpo
4. Macroesclereidas
5. Esclerenquima
6. Cristales de oxalato de calcio

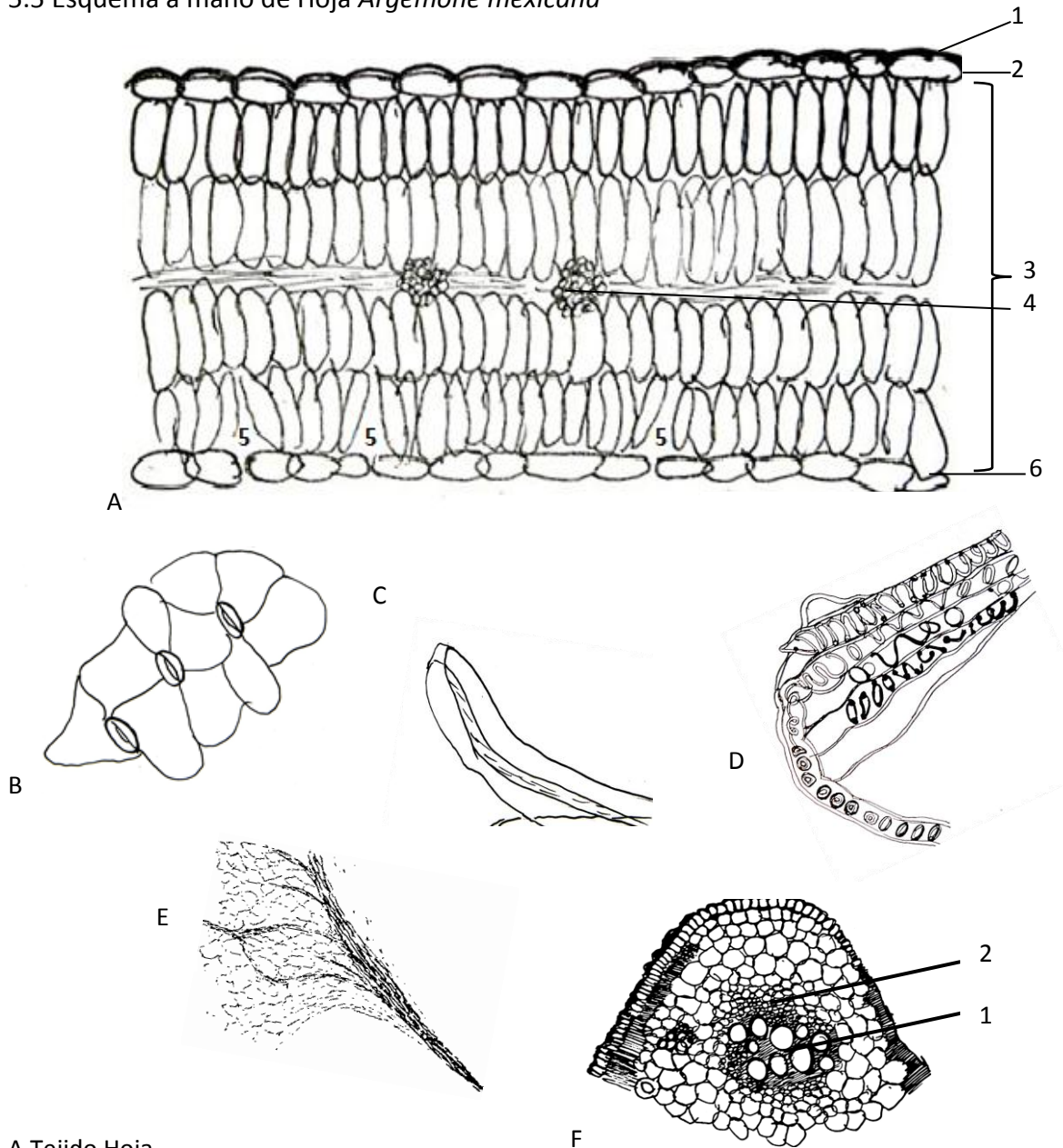
B. Cotiledón

- C. Células del cotiledon
- D. Macroesclereidas
- E. Celulas del Esclerenquima
- F. Cristales de oxalato de calcio

G. Estructura del polen

1. Ornamentación equina
2. Poros

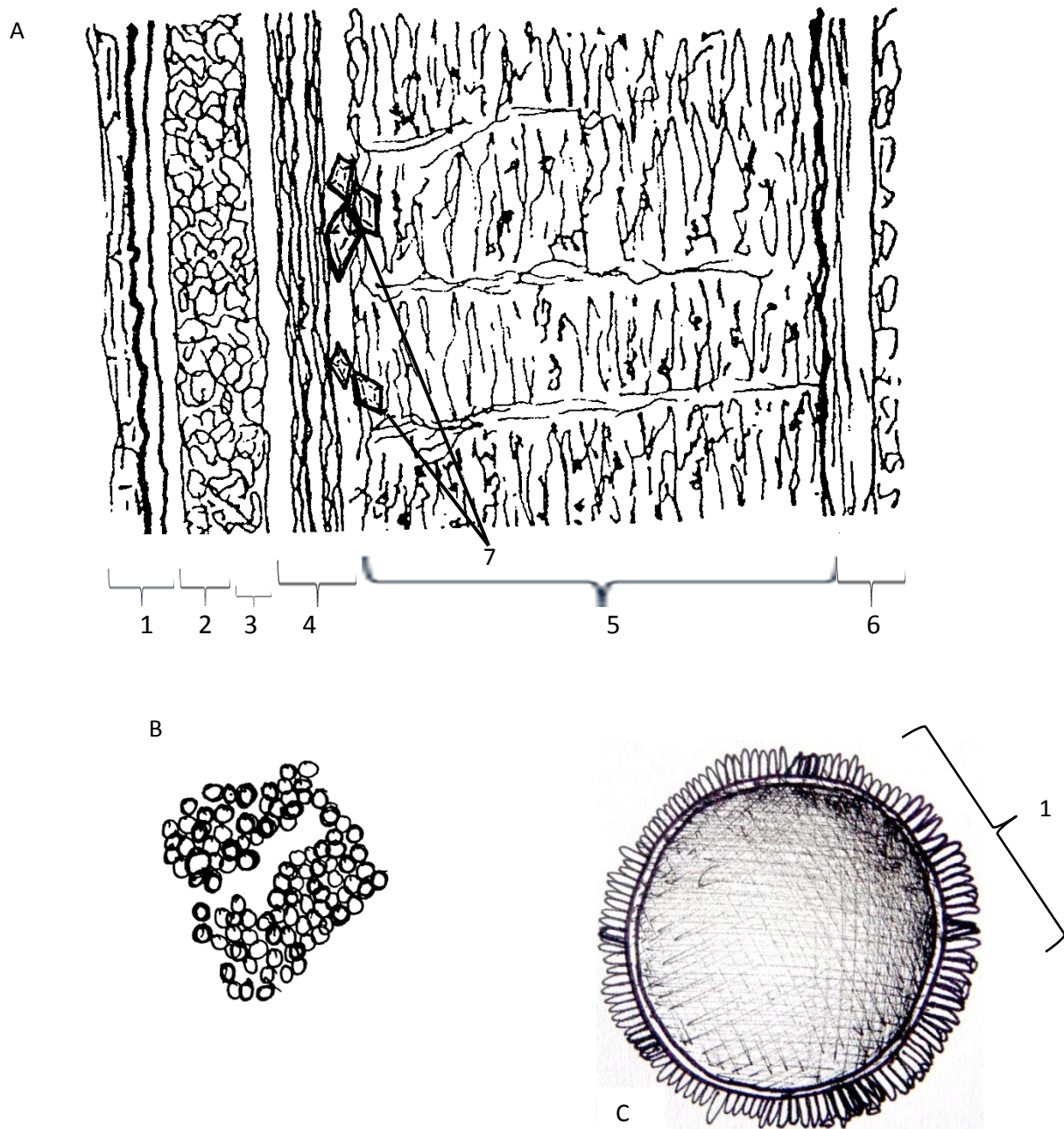
5.5 Esquema a mano de Hoja *Argemone mexicana*



A. Tejido Hoja

- 1. Cutícula
- 2. Epidermis adaxial
- 3. Parénquima de empalizada
- 4. Nervadura secundaria
- 5. Cavidades subestomáticas
- 6. Epidermis abaxial

- B. Estoma anomocitico
- C. Fibroesclereidas
- D. Xilema anulas y helicoidal
- E. Espina terminal
- F. Nervadura central
- 1. Sistema vascular
- 2. Esclerenquima

5.6 Esquema a mano de Semilla *Argemone mexicana*

A. Estructura de la Semilla

1. Empalizada del exocarpo
2. Mesocarpo
3. Endocarpo
4. Macroesclereidas
5. Esclerénquima
6. Endosperma
7. Cristales de oxalato de calcio

B. Cotiledón

C. Estructura del polen

1. Ornamentación reticulada

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Cardo es el nombre común para plantas que se caracterizan por poseer espinas en el margen de la hoja, generalmente este término hace referencia a la tribu *Cynarea*, especialmente los generos *Sylibum* y *Cirsium*, sin embargo existen plantas fuera de esta tribu que son llamadas de igual manera, por lo que la palabra cardo determina un grupo polifiletico y en consecuencia heterogéneo de plantas (Font-Quer, 1953).

La existencia de varias plantas con el nombre común de cardo, aunado a la falta de control de calidad en la comercialización de las plantas medicinales dentro de los mercados nacionales, permite la distribución errónea de materia vegetal de cardo mariano que al ser confundido con otros cardos, no cumple con el propósito esperado por el usuario (Kvist, Oré, Gonzalez & Llapapasca, 2001), por lo que este estudio se centró en la identificación botánica y establecimiento de parámetros útiles para la identificación de las especies comercializadas bajo el nombre cardo mariano en cinco mercados del altiplano central.

La materia vegetal de las diferentes localidades de los mercados donde se obtuvo fue *C. mexicanum*, no presentó diferencias de color, forma, textura y en su anatomorfología entre hojas, tallos y raíz tanto de la materia fresca como de la materia seca, por lo que para fines de la discusión se hablara únicamente de *C. mexicanum* y no de las muestras recolectadas en cuatro mercados.

Para su estudio las especies obtenidas en los mercados fueron comparadas con la materia del cultivo de *S. marianum* para encontrar diferencias tanto macroscópicas como en la morfoanatomía microscópica y presencia de metabolitos secundarios.

Las muestras de referencia de cardo mariano fueron obtenidas de un cultivo piloto donde se sembraron 32 semillas de *S. marianum* en sustrato peat moss, en condiciones ambientales, obteniéndose un 60 % de germinación, en un tiempo de 15 días aproximadamente.

Previo a iniciar los estudios las plantas del cultivo piloto fueron identificadas. A todas las muestras recolectadas y obtenidas del cultivo piloto se les realizó un estudio microscópico para establecer criterios de identificación, ya que las estructuras microscópicas han sido establecidas desde tiempo atrás como un criterio útil y fiable, al igual que proporcionan ventaja en requerir pequeñas cantidades de material para concluir la autenticidad de la materia (Jackson & Snowdon, 1990).

Los resultados del corte transversal de *S. marianum* coinciden con lo reportados en la literatura ya que se observaron tres estratos de células del parénquima en empalizada y un parénquima esponjoso bastante laxo (Cañigual, Vila, & Wichtl, 1998), lo cual mostró diferencias existentes entre las muestras recolectada ya que *C. mexicanum* únicamente mostró dos capas de parénquima en empalizada y *A. mexicana* cuatro estratos, lo que permite establecer dicha diferencia como criterio diagnóstico. Las tres drogas vegetales evidencian cámaras suestomáticas siendo de menor tamaño las correspondientes a *A. mexicana*. Entre las características únicas que mostraron las plantas en comparación con *S. marianum*, se menciona que *A. mexicana* mostró carencia de parénquima esponjoso y una epidermis más gruesa, tanto *A. mexicana* como *S. marianum* son glabras y solo presentan espinas a diferencia de *C. mexicanum* presentó tricomas en el envés de las hojas (Anexo 9).

En la nervadura central *C. mexicanum* fue el único que mostró tricomas pluricelulares en la epidermis. Una característica compartida entre *C. mexicanum*, *S. marianum* y *A. mexicana* es la presencia de esclerenquima alrededor del sistema vascular (Anexo 10).

En los hallazgos distintivos en el tallo de las muestras se observó que *S. marianum* y *C. mexicana* presenta colénquima angular por debajo de su epidermis más abundante que *A. mexicana*, la disposición de las células del esclerenquima por arriba del haz vascular toman una distribución de tres picos tomando una forma de corona en *S. marianum* a diferencia de *A. mexicana* y *C. mexicana* que toman una forma de arco por encima del floema.

La disposición de la raíz es una de las principales características distintiva entre las tres drogas, *S. marianum* presenta una disposición de seis haces vasculares clasificándose como

una raíz poliarca, *C. mexicanum* presentó un centro con cuatro haces vasculares catalogándose como una raíz tetraarca, mientras *A. mexicana* presenta una disposición de tres polos en sus haces vasculares definiéndose como una raíz triarca.

Macroscópicamente las semillas de *C. mexicanum* y *S. marianum* presentaron bastantes similitud. Este último se caracteriza por presentar un papus formado por un anillo único de pelos de una longitud aproximada de 1.1 a 2 cm, de color amarillo pálido a blanco, fusionado a la base del fruto (Applequist, W. 2006). Los cortes por micrótopo de la semilla de *S. marianum* mostró los diferentes tipo de tejidos y formas reportados por la literatura, presento una capa de pericarpo con células con engrosamiento en la paredes externas, capas de pigmento, macroesclereidas, el endosperma conformado por una capa de células redondas y presencia de cristales prismáticos de oxalato de calcio (Upton, Graff, Jolliffe, Länger, & Williamson, 2011; WHO 2011).

Las semillas de los géneros de *S. marianum* y *C. mexicanum* presentan bastantes similitud sin embargo en el fruto se pudo observar que hay diferencias en las distintas partes del tejido del pericarpio, el exocarpo de *S. marianum* es de mayor tamaño que el *C. mexicanum* y contrariamente con la tejido del mesocarpo y endocarpo ya que las células que componen el fruto de *S. marianum* son de menor tamaño que en *C. mexicanum* otra características importante a señalar son los cristales encontrados en *S. marianum* se sitúan fuera de las células del endocarpo y en *C. mexicanum* los cristales se encuentran dentro de las células del endocarpo.

La semilla está compuesta por una sola capa de macroesclereidas en *C. mexicanum* y en *S. marianum* está compuesta por tres capas, las células que componen el endosperma de *C. mexicanum* presentan una pared más gruesa y de mayor tamaño que en *S. marianum*. La semilla de *A. mexicana* mostro los mismos tejidos pero con la morfología de celular diferente, presentan un pericarpo y macroesclereidas de menor tamaño, ocupando mayor espacio el esclerénquima dentro de este se localizan cristales de oxalato de calcio, las células del endosperma poseen una morfología redonda (Anexo11).

El diafanizado de las hojas de las tres especies mostró que son hoja anfiestomática conformada por estomas anomocíticos, sin embargo *S. marianum* fue el único que presentó dos tipos de estomas del tipo anomocíticos y tetracíticos. Así mismo *S. marianum* posee células epiteliales con pared más gruesa que las de *C. mexicanum*. Las especies difieren en el tipo de xilema que presentan ya que *S. marianum* y *C. mexicanum* únicamente muestran un xilema tipo helicoidal y *A. mexicana* presenta dos, del tipo anular y helicoidal. Una característica distintiva de *S. marianum* de las otras dos plantas es la presencia de cristales prismáticos ya que *A. mexicana* y *C. mexicanum* presentan cristales rafidios y *C. mexicanum* mostró grades bases de tricomas y tricomas esporádicos.

El disociado de las tres especies mostró nuevamente la diferencia del tipo de xilema y cristales de oxalato de calcio que poseen. La presencia de tricomas en *C. mexicanum* es una característica distintiva de esta especie ya que *S. marianum* y *A. mexicana* carecen de los mismos. Se observaron la presencia de fibroesclereidas en *C. mexicanum* y *A. mexicana* y esclereidas en *S. marianum* y *C. mexicanum*. El disociado de las semillas de *S. marianum* y *C. mexicanum* presentaron células de cotiledones con cristales y aceites en su interior, *C. mexicanum* posee en gran cantidad cristales de oxalato de calcio prismático. *S. marianum* presentó fibroesclereidas, grupos de células del exocarpo y de macroesclereidas, *A. mexicana* mostró abundantes células del esclerénquima y algunas células de macroesclereidas.

En el polen de *S. marianum* muestran tener una ornamentación equino o aculeados como la literatura lo reporta (Cañigual, Vila, & Wichtl, 1998), tanto *S. marianum* y *C. mexicanum* presentaron igualdad en forma, simetría, número de aperturas y ornamentación, estas similitudes de número y tipo de posición de apertura están determinadas genéticamente y generalmente fijada dentro de una especie (Heesse et al., 2009). *A. mexicana* difirió de los otros pólenes en gran medida al ser inaperturado y presentar una ornamentación reticulada.

Se realizó el tamizaje fitoquímico para determinar diferencias notables entre cada una de las drogas vegetales que se obtuvo. Se utilizó la histoquímica con la finalidad de

estudiar, localizar e identificar metabolitos y sustancias que poseen cada una dentro de sus tejido (Ciulei, 1982; Chang, 1979), lo que reveló que los ejemplares poseían, mucílagos, aceites esenciales, alcaloides y almidones, dichos metabolitos le provee propiedades medicinales y características de identificación y diferenciación entre las especies en cuestión.

Tanto *A. mexicana*, *C. mexicanum* y *S. marianum*, tienen una reacción positiva para mucílagos en tallo y hoja, la presencia de este metabolito explica muchos uso tradicional de estas plantas tales como; tratamiento en quemadura, inflamaciones, inflamación de riñón dolores musculares, diarreas, disentería, ya que es conocido que los mucílagos tienen un efecto beneficioso sobre quemaduras, heridas, úlceras, inflamaciones externas e internas, irritaciones, diarrea y disentería (Morton, 1990), de igual manera las tres especies presentaron positividad para grasas y aceites en hoja, estos proporcionan propiedades emolientes y de laxante (Evans, 1991), las cuales son reportadas en usos tradicionales de las tres especies.

Alcaloides y almidones únicamente fueron encontrado en *A. mexicana*, lo cual es respaldado por la literatura ya que reporta que la planta contiene alrededor de 20 alcaloides (Nash, 1976; Alonso, 2004; Schmelzer & Fakim, 2008), y los almidones medicinalmente tienen una acción emoliente que aporta una acción suavizante y antiinflamatoria sobre la piel, lo cual permite tener una explicación presuntiva del uso *A. mexicana* para tratar úlceras, yagas e inflamaciones (Cañigüeral, 2002).

Se realizó una prueba de flavonoides que permitió denotar la presencia únicamente en la semilla y hoja de *S. marianum* al obtener un viraje de color en lo tubos, la presencia de flavonoides en esta especie son reportados en la literatura (Cañigüeral, et al., 1998; Alonzo, 2004).

Del cultivo piloto correspondiente a *S. marianum*, y las muestras obtenidas de los diferentes mercados que distribuyen las drogas en estado fresco, correspondientes a las especies de *A. mexicana* del mercado La Florida así como *C. mexicanum* del mercado de

Chimaltenango y del mercado San Juan Sacatepéquez, fueron sometidas a un secado a la sombra en papel periódico durante 32 días, seguido 48 horas de desecación en un horno, luego se hicieron las medidas del porcentaje de humedad, obteniendo un promedio de tres repeticiones de cada muestra.

Con la materia obtenida del cultivo piloto realizado de *S. marianum*, y con las colectas de muestras frescas de *A. mexicana* obtenidas en el mercado La Florida y de *C. mexicanum* del mercado de Chimaltenango y San Juan Sacatepéquez, se realizaron prensados. Luego, fueron deshidratadas y almacenadas utilizando papel periódico por un lapso de 32 días. Posteriormente se realizó otro proceso de deshidratación utilizando un horno desecador. Después de que las muestras obtenidas carecían de exceso de agua, se midió el porcentaje de humedad, utilizando una balanza de humedad marca Ohaus® (105 °C/15 min), la cual se realizaron tres repeticiones por cada muestra.

Del mercado Central Capitalino y del mercado de San Pedro Sacatepéquez se obtuvieron muestras secas, las cuales fueron pesadas y medidas en su porcentaje de humedad. Estos resultados fueron consistentes, y se mantuvieron por debajo del 10 %, siendo muy similares entre sí y manteniendo una desviación estándar (DS) entre ellas de 1.09, con excepción de *A. mexicana* que obtuvo una lectura por debajo del 4.37 %.

La determinación de cenizas de las diferentes drogas obtenidas en los cinco mercados en estado fresco y seco, se realizó en una mufla. Los porcentajes de cenizas se mantuvieron por debajo del 10 %. *S. marianum* tuvo un porcentaje de 8.39, siendo los valores más altos los correspondientes a *C. mexicanum* del mercado de San Pedro Sacatepéquez (9.50 %) y del mercado central capitalino (8.9 %), los cuales se obtuvieron como materia ya procesada. El valor más bajo entre esta especie (6.27 %) lo presentó la muestra que se obtuvo del mercado de Chimaltenango que correspondía a una muestra fresca. El porcentaje de cenizas totales más bajo se obtuvo de la materia proveniente del mercado La Florida, zona 19, la cual se identificó como *A. mexicana* con una medición de 5.498 %.

10. CONCLUSIONES

1. El nombre común cardo determina un grupo polifilético y heterogéneo de plantas, lo que causa confusión en la adquisición de la droga vegetal.
2. No se encontró la especie *Silybum marianum* en las muestras analizadas de materia vegetal procedentes de los mercados.
3. Las especies comercializadas como cardo mariano encontradas en los mercados que distribuyen medicina natural del altiplano central y del Mercado Central de Guatemala fueron identificadas como: *Cirsium mexicanum*.
4. El ejemplar colectado en el mercado La Florida zona 19 se identificó como *Argemone mexicana*.
5. *Silybum marianum*, *Cirsium mexicanum* y *Argemone mexicana* presentan estructuras micromorfológicas que hacen evidente las diferencias entre especies.
6. Macroscópicamente *Silybum marianum* posee estructuras similares entre dos especies comercializadas, con *Cirsium mexicanum*, presentando similitud en la flor y semillas; y con *Argemone mexicana*, en la coloración blanca de la venación de las hojas.
7. Una de las características de identificación micromorfológicas más relevantes es la presencia de estomas del tipo tetracítico encontrado únicamente en *Silybum marianum*.
8. En cortes histológicos de las hojas se pudo observar diferencias bien notorias que ayudan a la identificación, una de ellas es el número de estratos de parénquima en empalizada, *S. marianum* posee tres estratos a diferencia de *C. mexicanum* y *A. mexicana* que presenta dos y tres estratos en empalizada, respectivamente.
9. La parte de la planta utilizada como materia médica según la literatura son las hojas y los frutos. Sin embargo en los mercados del altiplano central se distribuye la planta completa, se puede obtener tanto como materia seca como fresca.

10. Para diferenciar *S. marianum* de *C. mexicanum* debe observarse la semilla en cortes transversales, la cual presenta tres capas de macroescleridas para la primera especie y una sola para la segunda.

11. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios similares en el resto del país por regiones y establecer las diferencias entre los nombres comunes y las especies que se distribuyen como cardo mariano en los distintos lugares.
2. Identificar adecuadamente a las plantas medicinales para obtener los resultados esperados, incentivando así el uso de medicina natural para el tratamiento de enfermedades en la población.
3. Proporcionar información para elaborar una guía completa de morfologías macroscópicas en los centros que distribuyen plantas medicinales reduciendo las confusiones que puedan darse al momento de comercializar una droga vegetal prescrita.
4. Realizar más estudios sobre los efectos medicinales de *Cirsium mexicanum* en el país, debido a que se comercializa en la mayoría de mercados del altiplano central. Pero no se cuenta con estudios que avalen sus beneficios.
5. Regular la venta de plantas medicinales bajo estrictos certificados de calidad que garanticen la inocuidad y originalidad del producto destinado al consumo.
6. Educar a la población que vende este tipo de materia con la distribución de semillas de *Silybum marianum* e instruyéndoles sobre las propiedades medicinales que posee.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abascal, K. (2003). The many faces of *Silybum marianum* (Milk thistle) part 1 treating cancer and hyperlipidemia and restoring kidney function. *Alternative & Complementary Therapies*, 9(4), 171-176.
- Aganga, A., Nsinamwa, M., Oteng, K. & Maule, B. (2011). Poisonous plants in gardens and grazing lands. *Journal of Animal and Feed Research*, 1(2), 52-59.
- Akerele, O., Heywood, V. & Synge, H. (1991). *Conservation of medicinal plants*. Chiang Mai, Tailandia: Cambridge University press.
- Alarcón, C., Martín, M., Motilva, V., Jiménez, M., Lacasa, C. & Lopez, A. (1994). Gastroprotection induced by silymarin, the hepato-protective principle of *Silybum marianum* in ischemia-reperfusion mucosal injury: Role of neutrophils. *Planta medica*, 61, 116-119.
- Alonso, J. (2004). *Tratado de fitofármacos y nutracéuticos*. Buenos Aires: Corpus.
- Álvarez, A. (1987). *Inhibición de Streptococcus pyogenes y Staphylococcus aureus por extractos vegetales usados en tratamientos de afecciones respiratorias*. Tesis de Licenciatura para optar al Título de Químico Biólogo, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Anarthe, S. & Chaudhari, S. (2011). Neuropharmacological study of *Argemone mexicana* Linn. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(4), 121-126.
- Andrade, A. (2009). Ethnobotanical study of the medicinal plant from Tlanchinol, Hidalgo México. *Journal of Ethnopharmacology*, 122, 163-171.
- Andrade, A. & Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 99, 325-34.
- Argueta, A., Cano, L. & Rodarte, M. (1994). Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana I. Mexico DF: Insitituto Nacional Indigena.
- Azevedo, A. (2003). *Plantas medicinales y atención primaria de la salud*. Buenos Aires: OMS/OPS.
- Barreno, F. (2010). *Recuperación y revalorización del conocimiento etnomedicinal en once municipios de la reserva de usos múltiples del lago de Atitlán* (Proyecto FODECYT 027/2008). Guatemala: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología [CONCYT].

- Bhattacharjee, I., Cjatterjee, S. & Chandra, G. (2006). Antibacterial potentiality of *Argemone mexicana* solvent extracts against some pathogenic bacteria. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101(6), 645-648.
- Blumenthal M., Busse, W., Goldberg, A., Gruenwald, J., Hall, T., Klein, S., et al. (1998). *The complete German commission E monographs : Therapeutic guide to herbal medicines*. Austin, TX: American Botanical Council.
- Cáceres, A. (1996). *Plantas de usos medicinal en Guatemala*. Guatemala: Editorial Universitaria.
- Cáceres, A. (2006). *Vademecum nacional de plantas medicinales*. Guatemala: Editorial Universitaria.
- Cáceres, A., Girón, L. & Freire, V. (1989). Plants used in Guatemala to treat gastrointestinal disorders. 1. Preliminary ethnobotanical studies. *Journal Ethnopharmacology*, Agosto, 1-18.
- Cáceres, A., Girón, L. & Freire, V. (1990). Plantas de uso medicinal en Guatemala: 1. detección etnobotánica y bibliográfica. *Revista de la Universidad de San Carlos de Guatemala*. Abril, 1-21.
- Cañigueral, S., Vila, R. & Wichtl, M. (1998). *Plantas medicinales y drogas vegetales para infusión y tisanas*. Barcelona: OEMF International.
- Chang, L. (1979). *A color atlas and manual for applied histochemistry*. Arkansas: Charles C Thomas publisher.
- Ciulei, I. (1982). *Practical Manuals on the Industrial Utilization of Medicinal and Aromatic Plants: Methodology for analysis of vegetable drugs, Volumen I*. Romania, Bucharest: Behalf of UNIDO Ed. Ministry of Chemical Industry.
- Cronquist, A. (1982). *Botánica básica*. México: Cia Editorial Continental S.A.
- Dash, G. & Murthy, P. (2011). Evaluation of *Argemone mexicana* Linn. leaves for wound healing activity. *Journal of Natural Product and Plant Resource*, 1(1), 46-56.
- De La Cruz, M. (1991). *Libellus de medicinalibus indorum herbis*. México DF: Fondo de cultura económica S. A. e Instituto Mexicano de seguro Social.
- Evans WC. *Farmacología*. 13va. ed. México: Editorial Interamericana McGraw Hill, 1991. 550 p.
- Evert, F. (2008). *ESAU Anatomía Vegetal*. Barcelona: Omega S.A.
- Evert, R. (2006). *Esau anatomía vegetal*. Barcelona: Ediciones Omega.

- Estrada, E. (1992). *Plantas medicinales de México: introducción a su estudio*. México DF: Universidad autónoma de Chapingo.
- Fahn, A. (1982). *Anatomía vegetal*. Barcelona: Piramides S.A.
- Fallah, H., Larijani, B., Heshmat, R., Fakhrzadeh, H., Radjabipour, B., Toliat, T., et al. (2003). The efficacy of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (silymarin) in the treatment of type II diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Phytoterapy Research*, 10, 100-104.
- Ferenci, P., Dragosics, B., Dittrich, H., Frank, H., Benda, L., Lochs, H., et al. (1989). Randomized controlled trial of silymarin treatment in patients with cirrhosis of the liver. *Journal of Hepatology*, 9, 105-113.
- Fiebrich, F. & Koch, H. (1979). Silymarin inhibitor of lipooxygenase. *Experientia*. 35, 1548-1550.
- Flora, K., Hahn, M., Rosen, H. & Denner, K. (1998). Milk thistle (*Silybum marianum*) for therapy for liver disease. *American Journal of Gastroenterology*, 93, 139-143.
- Flores, E. (1999). *La planta estructura y función*. Cartago: Libro Universitario Regional.
- Fonnegra, R. & Jimenez, S. (2007). *Plantas medicinales aprobadas en Colombia*. Medellín: Universidad de Antioquia.
- Font Quer, P. (1953). *Diccionario de botánica*. Barcelona, Labor.
- Fuentes, J. (2001). *Iniciación a la Botánica*. Barcelona: Mundiprensa.
- Gehlot, D. & Bohra, A. (2000). Toxic effect of various plant part extracts on the causal organism of typhoid fever. *Current Science*, 78(7), 780-785.
- González, M. & Casares, M. (1996). La anatomía vegetal como método de identificación y etnobotánica. *Monografía del Jardín Botánico de Córdoba*. 3, 33-37.
- González, M., Lopez, I., González, M. & Tena, J. (1997). *Plantas medicinales del estado de Durango y zonas aledañas*. México: CIIDIR.
- Graz, B., Willcox, M., Diakite, C., Falquet, J., Dackuo, F., Sidibe, O., et al. (2009). *Argemone mexicana* decoction versus artesunate-amodiaquine for the management of malaria in Mali: policy and public-health implications. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 104(1), 33-41.
- Gruenwald, J., Brendler, T. & Jaenicke, C. (2000). *Physicians' desk reference for herbal medicines*. Montvale, NJ: Medical Economics Company, Inc.

- Haraduga, D. & Haraduga, N. (2009). Antioxidant activity of hepatoprotective silymarin and *Silybum marianum* L. extract. *Chemical Bulletin of "Politehnica" University of Timisoara*, 54(68), 104-107.
- Hernández, E., Aguilar, A., Aguilar, L., Ramos, R., Chávez, A., García, L., et al. (2002). Studies on hypoglycemic activity of mexican medicinal plants. *Proceedings of the Western Pharmacology Society*, 45, 118-124.
- Herrera, C. (2009). *Cáracteres de identidad de las valerianas de Guatemala*. Tesis de Licenciatura para opatar al Título de Químico Biólogo, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Hesse, M., Halbritter, H., Zetter, R., Weber, M., Buchner, R., Radivom F. et al. (2009). *Pollen Terminology*. Australia: Springer Wien.
- Hikino, H., Kiso, Y., Wagner, H. & Fiebig, M. (1984). Anti-hepatotoxic action of flavonolignans from *Silybum marianum* fruits. *Medicinal Plant*, 50, 248-250.
- Hussain, H. & Deeni, Y. (1991). Plants in Kano ethnomedicine; screening for antimicrobial activity and alkaloids. *International Journal Pharmacognosy*, 29(1), 51-56.
- Instituto Indígena Nacional. (1978). *Aspectos de la medicina popular en el área rural de Guatemala*. Guatemala: Ministerio de Educación/ Sacerdotes maya.
- Jackson, B & Snowdon, D. (1990). *Atlas of microscopy of medicinal plants, culinary herbs and spices*. London: Belhaven Press.
- Judd, W., Campbell, C., Kellogs, E., Stevens, P. & Donoghue, M. (2002). *Plant systematics: A phylogenetic approach*. New York: Sinauer Associate.
- Kantamreddi, V., Lakshmi, N. & Kasapu, S. (2010). Preliminary phytochemical analysis of some important indian plant species. *International Journal of Pharmacology and Bio Sciences*, 1(4), 351-358.
- Katiyar, S. (2005). Silymarin and skin cancer prevention: anti-inflammatory, antioxidant and immunomodulatoru effects. *International Journal of Oncology*, 26(1), 169-176.
- Krapp, K. & Longe, J. (2006). *Enciclopedia de la medicina alternativa* (Vol 2). Barcelona: Oceano.
- Kumar, D. (2008). Medicinal properties of Milk thistle with special reference to *Silybum marianum*. *Natural Product Radiance*, 7(2), 182-195.

- Kumar, S., Pandey, V., Singh, A. & Singh, Ch. (2009). Antibacterial activity of seed extracts of *Argemone mexicana* L. on some pathogenic bacterial strains. *African Journal of Biotechnology*, 8(24), 7077-7081.
- Kvist, L., Oré, I., Gonzales, A & Llapasca, C. (2001). Estudio de plantas medicinales en la amazonía peruana: Una evaluación de ocho métodos etnobotánicos. *Folia amazónica*, 12 (1-2). 53-73.
- Madani, M., Talebolhosseini, H., Asgary, S. & Naderi, G. (2008). Hepatoprotective activity of *Silybum marianum* and *Cichorium intybus* against thioacetamide in Rat. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7(1), 172-176.
- Mellen, G. (1974). El uso de las plantas medicinales en Guatemala. *Guatemala Indígena*, 9, 102-148.
- Moreno, N. (1984). *Glosario botánico ilustrado*: Compañía Editorial Continental S. A
- Morton, J. (1990). Mucilaginous plants and their uses in medicine. *Journal of Ethnopharmacology* Volume 29, Issue 3, July 1990, Pages 245–266
- Mulrow, C. (2000). Milk thistle: Effects on liver disease and cirrhosis and clinical adverse effects. *Agency for Healthcare Reserch and Quality*, 21, 51-60.
- Murray, W. (2006). *Introducción a la botánica*. Madrid: Pearson Educación S.A.
- Nash, D. (1976). Flora of Guatemala. *Fieldiana: Botany*. 24(12), 422-428.
- Ninsontia, Ch. Pongjit, K. Chaotham, Ch. & Chanvorachote, P. (2011). Silymarin selectively protects human renal cells from cisplatin-induced cell death. *Pharmaceutical Biology*, 49(10), 1082–1090.
- Pahlow, M. (1985). *El gran libro de las plantas medicinales; La salud mediante las fuerzas curativas de la naturaleza*. Barcelona: Everest.
- Panda, P. & Ranjan, S. (2009). Hepatoprotective activity of plant *Argemone mexicana* (Linn). against carbón tetrachloride (CCl₄) induced hepatotoxicity in rats. *International Journal of Pharmaceutical Reserch and Development*, 8, 1-20.
- Pérez, R., Avila, A., Edgill R., Colon, Y., Quesada, W., Bello, J., et al. (2005). Actividad antitumoral de una mezcla de polisacáridos obtenida de la especie *Argemone mexicana* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 10, 3-4.
- Perumal, P., Sekar. V., Rajesh, V., Gandhimathi, S., Sampathkumar R. & Shuja Nazimudin, K. (2010). Invitro antioxidant activity of *Argemone mexicana* roots. *International Journal of Pharmacology and Technology*, 2(2), 1477-1482.

- Pope, J. (2007). Patents for the potential treatment of scleroderma. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 17(1), 1-7.
- Rahman, S., Salehin, F., Mostofa, A., Parvin, A. & Alam, K. (2011). Antibacterial activity of *Argemone mexicana* L. against water borne microbes. *Research Journal of Medicinal Plant*. 5(5), 621-626.
- Rajamanickam, S., Velmurugan, B., Kaur, M., Singh, R. & Agarwal, R. (2010). Chemoprevention of intestinal tumorigenesis in APCmin/+ mice by Silibinin. *Cancer Research*, 70, 2368-2378.
- Ramasamy, K., Dwyer-Nield, L., Serkova, N., Hasebroock, K., Tyagi, A., Raina, K., et al. (2011). Silibinin prevents lung tumorigenesis in wild-type but not in iNOS^{-/-} mice: Potential of real-time micro-CT in lung cancer chemoprevention studies. *Clinical Cancer Research*, 17, 753-764.
- Rzedowski, J. & Calderón, G. (1991). *La flora del Bajío y de regiones adyacentes*. Michuacan: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.
- Sabde, S., Bodiwala, H., Karmase, A., Deshpande, P., Kaur, A., Ahmed, N., et al. (2011). Anti-HIV activity if Indian medicinal plants. *Journal of Natural Medicines*. 65, 662-6693.
- Saleh, M., Rahman, F., Ibrahim, N. & Taha, N. (1987). Isolation and structure determination of new nematocidal triglyceride from *Argemone mexicana*. *Journal of Chemical Ecology*, 13(6), 1361-1370.
- Schmelzer, G. & Fakim, A. (2008). Plant resources of tropical Africa. Wageningen, Holanda: Backhuys Publishers.
- Schultz, J. (2002). *Biología*. Barcelona: The Gale Group Inc.
- Shahid, S., Siddiqui, I., Khan, G & Zaki, M. (2002). Nematicidal and allelopathic potential of *Argemone mexicana*, a tropical weed. *Plant and Soil*, 245(2), 239-247.
- Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. Bogota: CYTED.
- Sharma. B., Malhatra. S., Bhatia, V. & Rathe, M. (1999). Epidemic dropsy in India. *Post Grad Medical Journal*, 75, 657-661.
- Sharma, M. & Sharma, C. (2010). Pharmacological screening effect of ethanolic and methanolic extract of fruits and medicinally leaves. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 5(1), 229-232.

- Singh, R., Raina, K., Sharma, G. & Agarwal, R. (2008). Silibinin inhibits established prostate tumor growth, progression, invasion, metastasis and suppresses tumor angiogenesis and epithelial-mesenchymal transition in transgenic adenocarcinoma of the mouse prostate model mice. *Clinical Cancer Research*, 14, 7773-7786.
- Solanki, R. (2010). Some medicinal plant with antibacterial activity. *International Journal of Comprehensive Pharmacy*, 1(4), 1-4.
- Sonnenbichler, J., Scalera, F., Sonnenbichler, I. & Weyhenmeyer, R. (1999). Stimulatory effects of silibinin and silicristin from the Milk thistle *Silybum marianum* on kidney cells. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 290(3), 1375-1383.
- Sridar, C., Goosen, T., Kent, U., Williams, J. & Hollenberg, P. (2004). Silybin inactivates cytochromes p450 3a4 and 2c9 and inhibits major hepatic glucuronosyltransferases. *Drug Metabolism & Disposition*, 32(6), 587- 594.
- Stephen, J., Polyaka, B., Morishimaa, C., Lohmannd, V., Pala, S., David, Y., et al. (2010). Oberliesf Identification of hepatoprotective flavonolignans from silymarin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(13), 5995–5999.
- Thorne, R. (1999). *Silybum marianum*. *Alternative Medicine Review*, 4(4), 272-274.
- Tyler, V. (1993). *The honest herbal: A sensible guide to the use of herbs and related remedies*. Binghamton, NY: Pharmaceutical Products.
- Upton, R., Graff, A., Jolliffe, G., Länger, R. & Williamson, E. (2011). *American herbal pharmacopoeia: Botanical pharmacognosy-microscopic characterization of botanical medicines*. New York: CRC Press.
- Velásquez, K. (2009). *Característica farmacobotánica y de propagación de Ternstroemia tepezapote*. Tesis de Licenciatura para opatar al Título de Químico Biólogo, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Venkataramanan, R., Ramachandran, V., Komoroski, B., Zhang, S., Schiff, P. & Strom, S. (2000). Milk thistle, a herbal supplement decreases the activity of CYP3A4 and Uridine Diphosphoglucuronosyl Transferase in human hepatocyte cultures. *Drug metabolism & Disposition*, 28(11), 1270-1273.
- Volak, J. & Stodola, J. (1988). *Plantas medicinales*. Checoslovaquia: Susaeta S.A.
- Weniger, B. & Robineau, L. (1988). *Elementos para una farmacopea caribeña*. La Habana: Enda-caribe.

World Health Organización. (1998). *Quality control methods for medicinal plant materials*. Geneva: WHO.

World Health Organización. (2002). *WHO monographs on selected medicinal plants Vol.2*. Genovia: WHO.

World Health Organización. (2007). *WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues*. Barcelona: WHO.

13. ANEXOS

Anexo1: Cultivo Piloto de *Silybum marianum*



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Anexo1: Diferentes etapas de cultivo piloto *S. marianum* [fotografía].

Anexo 2: Carta de Herbario de la Escuela de Biología BIGU



HERBARIO BIGU

Escuela de Biología
Facultad de C.C.Q. y Farmacia

2 de marzo de 2012

A QUIEN CORRESPONDA:

Por este medio se hace contar que los estudiantes Claudia Polanco con carne 200311083 y Victor Pérez con carne 200410833, depositaron en este herbario para su determinación y registro, especímenes de:

1. *Silybum marianum* Gaerth (Asteraceae)

no. registro BIGU
58531

El cual ya forma parte de las colecciones del herbario y se encuentra disponible para su consulta.

A solicitud de la interesada se le extiende la presente en el mismo lugar y fecha arriba indicados.

Atentamente,

“D Y ENSEÑAD A TODOS”

Ing. Agr. Mario Véliz
Coordinador-curador
Académico de Número.



Anexo 3: Materia medica de Cultivo Piloto de *Silybum marianum*

Polanco, C & Pérez, V. (2011).
Anexo3: Materia medica de cultivo piloto [fotografía].

Anexo 4: Materia médica recolectada en mercado de Chimaltenango

Polanco, C & Pérez, V. (2011).
Anexo 4: Materia medica de mercado de Chimaltenango [fotografía].

Anexo 5: Materia Recolectada en Mercado de San Juan Sacatepéquez



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Anexo 5: Materia medica de mercado San Juan Sacatepéquez [fotografía].

Anexo 6: Materia Recolectada en Mercado de San Pedro Sacatepéquez



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Anexo 6: Materia Medica del Mercado de San Pedro Sacatepéquez [fotografía].

Anexo7: Materia Fresca Mercado Central Ciudad Capital



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Anexo 7: Materia medica de mercado de Mercado Central Ciudad [fotografía].

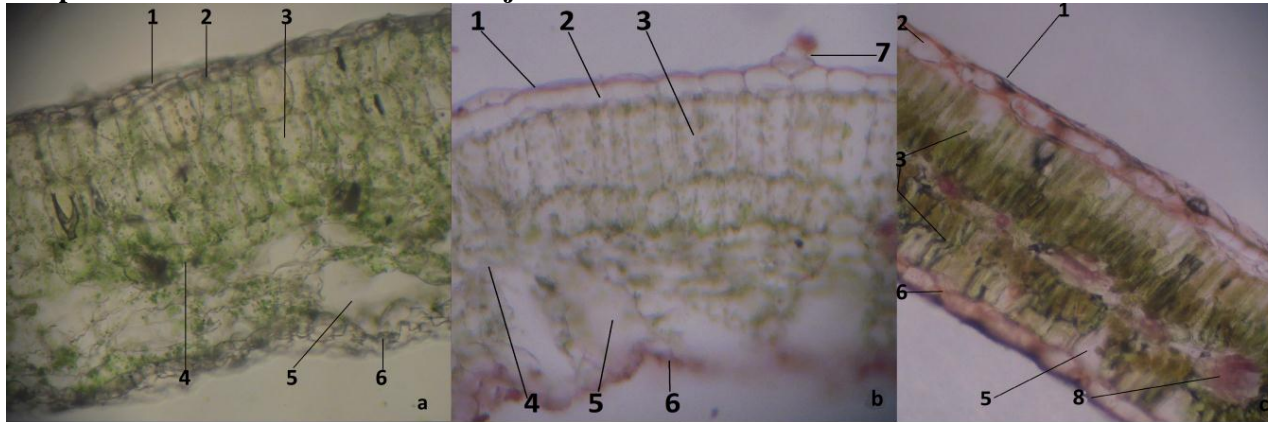
Anexo8: Materia Fresca del Mercado La Florida zona 19



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Anexo 8: Materia medica de mercado La Florida zona 19 [fotografía].

Anexo9: Imagen comparativas de corte transversal en hoja



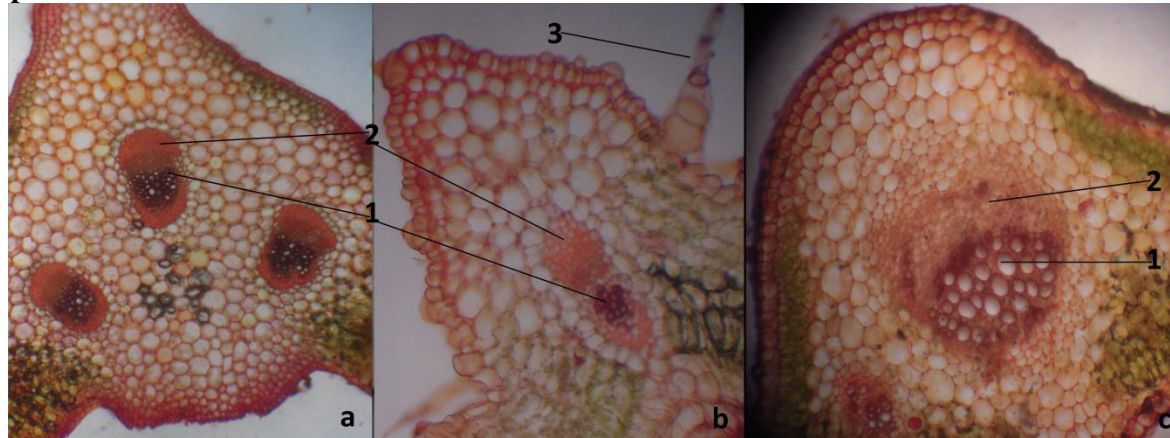
Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Anexo 9: Comparación corte transversal en hoja [fotografía].

(a) *Silybum marianum* (b) *Cirsium mexicanum* (c) *Argemone mexicana*

(1) Cutícula (2) Epidermis adaxial (3) Parénquima en empalizada (4) Parénquima esponjoso (5) Cámaras subestomáticas (6) Epidermis abaxial (7) Base de Tricoma (8) Nervadura secundaria

Anexo10: Imagen comparativas de corte transversal de nervadura central



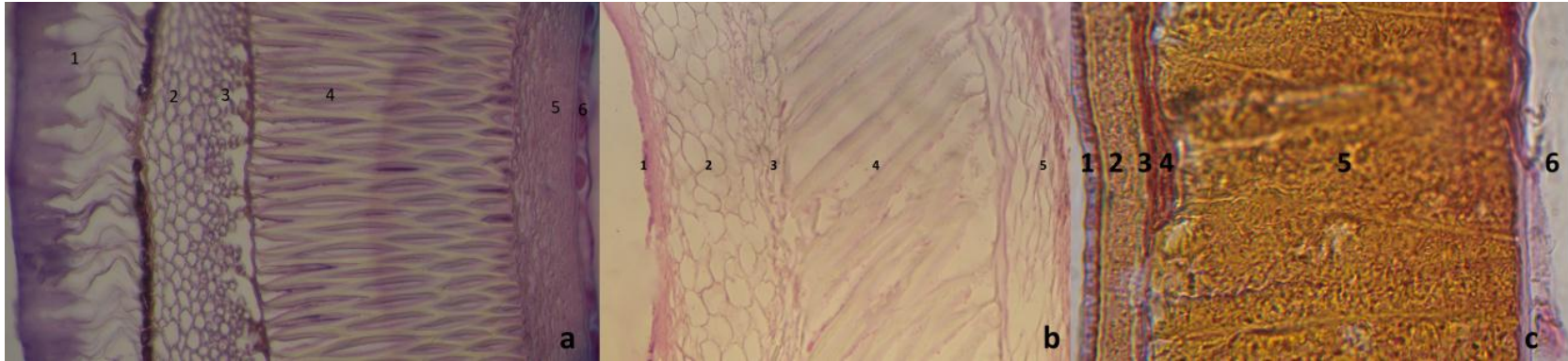
Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Anexo 10: Comparación corte transversal en hoja [fotografía].

(a) *Silybum marianum* (b) *Cirsium mexicanum* (c) *Argemone mexicana*

1. Sistema Vascular 2. Esclerenquima

Anexo 11: Imagen comparativas de Semilla



Polanco, C & Pérez, V. (2011).

Anexo 11: Comparación corte transversal en hoja [fotografía].

(a) *Silybum marianum* (b) *Cirsium mexicanum* (c) *Argemone mexicana*

(1) Exocarpo (2) Mesocarpo (3) Endocarpo (4) Macroesclereidas (5) Esclerenquima (6) Endosperma



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITOHISTOLOGÍA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
POE No. 1 Enero de 2011



CORTES A MANO ALZADA

Elaborado por: Br. Mirna Castillo García
 Br. Mercy Pérez Rodríguez

Fecha: Enero de 2011

Revisado por: M.A. Margarita Paz

Fecha: Enero de 2011

Autorizado por: Licda. María Eugenia Paredes

Fecha: Enero de 2011

I. DEFINICION

El estudio microscópico de una droga vegetal incluye observar la disposición de los tejidos que la conforman, revelando detalles significativos que ayuden a confirmar la identidad de la planta, permite además identificar y localizar los metabolitos presentes en la misma. Esta técnica puede utilizarse en el estudio de drogas constituidas por hojas, tallos herbáceos, raíces o rizomas, frutos y semillas. Se elaboran cortes del material en sección transversal, para luego procesarlos según la técnica elegida.

II. OBJETIVO

Preparar láminas de planta fresca en sección transversal para su análisis microscópico o para pruebas de histoquímica.

III. RESPONSABLE

Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este POE, este debe ser ejecutado de forma correcta para la realización de cortes a mano alzada.

IV. DISTRIBUCION

- Auxiliar de laboratorio
- Estudiantes



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITOHISTOLOGÍA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
POE No. 1 Enero de 2011



V. MATERIALES Y EQUIPO

- Duroport
- Hoja de afeitar
- Vidrio de reloj
- Aguja de disección
- Agua destilada

VI. PROCEDIMIENTO

- Colocar un trozo de hoja o tallo entre dos trozos de duroport.
- Sostener fuertemente con una mano el material a cortar, ya acondicionado y con la otra mano, deslizar de manera perpendicular una hoja de afeitar en buenas condiciones.-
- Recibir los cortes obtenidos en un vidrio de reloj con agua destilada.
- Seleccionar los cortes más delgados y parejos con la ayuda de una aguja de disección y colocarlos en láminas portaobjetos.
- Procesar según la técnica elegida.
- Observar al microscopio.

REFERENCIAS

- Solís PN. et al. Manual de Caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos. Proyecto desarrollo de tecnología de cultivo de plantas medicinales y producción de fitoterápicos. OEA/ AICD/ AE 089/03.
- Gattuso MA. Gattuso SJ. Manua*I de Procedimientos para el Análisis de Drogas de Polvo. Argentina: Editorial de la Universidad Nacional de Rosario. 1999. 50p
- Soria R. Farmacobotánica. Perú: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 1994. 48p.
- Cañigueral S. La Fitoterapia: ¿Una terapéutica para el tercer milenio? Revista de Fitoterapia. 2002; Volumen II: 101-120 p.

ANEXO 13



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITO HISTOLOGIA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
POE No. 1 Enero de 2011



TECNICA DE DIAFANIZADO

Elaborado por: Br. Mirna Castillo García
 Br. Mercy Pérez Rodríguez

Fecha: Enero de 2011

Revisado por: M.A. Margarita Paz

Fecha: Enero de 2011

Autorizado por: Licda. María Eugenia Paredes

Fecha: Enero de 2011

I. DEFINICION

El diafanizado es el resultado de la aclaración o eliminación completa de cualquier tipo de plastidio para poder observar de manera más clara las estructuras epidérmicas que presentan las hojas, tal como células normales, estomas, tricomas, entre otros elementos propios y característicos que permiten la identificación de las especies vegetales.

II. OBJETIVO

Preparar láminas de droga vegetal fresca o seca que posibiliten su estudio microscópico.

III. RESPONSABLE

Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este POE, este debe ser ejecutado de forma correcta para la realización de la técnica de diafanizado de hojas.

IV. DISTRIBUCION

- Auxiliar de laboratorio
- Estudiantes

V. MATERIALES Y EQUIPO

- Cristalizador
- Caja de petri de vidrio
- Portaobjetos



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITOHISTOLOGÍA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
POE No. 1 Enero de 2011



- Cubreobjetos
- Alcohol al 96 o 95°
- Hidróxido de sodio al 5%
- Hipoclorito de sodio al 50%
- Agua desionizada o destilada
- Safranina al 1%
- Gelatina-glicerina
- Esmalte para uñas

VI. PROCEDIMIENTO

- Colocar al menos cuatro hojas de la especie vegetal en un cristalizador con alcohol al 96°.
- Llevar a ebullición durante 30 minutos aproximadamente, hasta que ya no se observe coloración verde en las hojas.
- Pasar las hojas a una solución de partes iguales de alcohol al 96° e hidróxido de sodio al 5%.
- Llevar a ebullición por 10 minutos.
- Lavar el material con agua destilada tibia varias veces hasta que el agua quede totalmente limpia.
- Pasar a una caja de petri que contenga una solución de hipoclorito de sodio al 50% hasta que las hojas queden blanco-transparentes.
- Lavar el material tratado con agua destilada varias veces hasta eliminar el hipoclorito de sodio.
- Proceder a colorear según técnica de coloración con safranina.
- Trasladar cada hoja a un portaobjetos, cuidando que unas preparaciones sean de la cara abaxial y otras de la cara adaxial.
- Agregar de dos a tres gotas de gelatina-glicerina.
- Cubrir suavemente con un cubreobjetos procurando no originar burbujas.
- Sellar los extremos del cubreobjetos utilizando esmalte para uñas.



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITOHISTOLOGÍA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
POE No. 1 Enero de 2011



REFERENCIAS

- Solís PN. et al. Manual de Caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos. Proyecto desarrollo de tecnología de cultivo de plantas medicinales y producción de fitoterápicos. OEA/ AICD/ AE 089/03.
- Gattuso MA. Gattuso SJ. Manual de Procedimientos para el Análisis de Drogas de Polvo. Argentina: Editorial de la Universidad Nacional de Rosario. 1999. 50p.

ANEXO 14



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITO HISTOLOGÍA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
POE No. 1 Enero de 2011



COLORACIÓN CON SAFRANINA

Elaborado por: Br. Mirna Castillo García Br. Mercy Pérez Rodríguez	Fecha: Enero de 2011
Revisado por: M.A. Margarita Paz	Fecha: Enero de 2011
Autorizado por: Licda. María Eugenia Paredes	Fecha: Enero de 2011

I. DEFINICION

El estudio microscópico de una droga vegetal por medio de distintas coloraciones permite identificar las estructuras que la conforman. La safranina es un colorante que se usa en microscopia para colorear los tejidos vegetales y diferenciarlos, las partes lignificadas y la cutícula se tiñen de color rojo intenso y las paredes celulósicas toman color rosado.

II. OBJETIVO

Obtener preparaciones vegetales para el análisis microscópico de estructuras histológicas.

III. RESPONSABLE

Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este POE, este debe ser ejecutado de forma correcta para la realización de coloración con safranina.

IV. DISTRIBUCION

- Auxiliar de laboratorio
- Estudiantes

V. MATERIALES Y EQUIPO

- Vidrio de reloj
- Aguja de disección



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITO HISTOLOGÍA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
POE No. 1 Enero de 2011



- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Safranina al 1%
- Gelatina-glicerina
- Esmalte para uñas

VI. PROCEDIMIENTO

- Seleccionar el material vegetal a colorear.
- Sumergir el material en un vidrio de reloj conteniendo Safranina al 1% durante aproximadamente 3 minutos.
- Retirar con ayuda de una aguja de disección el material vegetal que fue coloreado.
- Trasladar a un portaobjetos.
- Agregar una a dos gotas de gelatina-glicerina.
- Cubrir suavemente con un cubreobjetos procurando no originar burbujas.
- Sellar los extremos del cubreobjetos utilizando esmalte para uñas.

REFERENCIAS

- Solís PN. et al. Manual de Caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos. Proyecto desarrollo de tecnología de cultivo de plantas medicinales y producción de fitoterápicos. OEA/ AICD/ AE 089/03.
- Soria R. Farmacobotánica. Perú: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 1994. 48p.

ANEXO 15



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITO HISTOLOGIA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
POE No. 1 Enero de 2011



DISOCIADO DEBIL

Elaborado por: Br. Mirna Castillo García
 Br. Mercy Pérez Rodríguez

Fecha: Enero de 2011

Revisado por: M.A. Margarita Paz

Fecha: Enero de 2011

Autorizado por: Licda. María Eugenia Paredes

Fecha: Enero de 2011

I. DEFINICION

El disociado débil es utilizado principalmente para hojas, tallos herbáceos y cortezas comerciales. La finalidad es disgregar o separar los tejidos de un órgano vegetal específico y así poder observar por separado las células y estructuras que lo conforman que junto con otras técnicas microscópicas especializadas brinda un medio valioso que asegura la calidad de la droga.

II. OBJETIVO

Elaborar preparaciones para la observación microscópica de estructuras características de drogas vegetales frescas o secas para el control de calidad.

III. RESPONSABLE

Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este POE, este debe ser ejecutado de forma correcta para la realización del disociado débil de hojas.

IV. DISTRIBUCION

- Auxiliar de laboratorio
- Estudiantes



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITO HISTOLOGÍA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
POE No. 1 Enero de 2011



V. MATERIALES Y EQUIPO

- Cristalizador
- Vidrio de reloj
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Hoja de afeitar
- Agua destilada
- Hidróxido de sodio al 5%
- Safranina al 1%
- Gelatina-glicerina
- Esmalte para uñas

VI. PROCEDIMIENTO

- Cortar finamente el material vegetal.
- Colocar el material cortado finamente en un cristalizador que contenga solución de hidróxido de sodio al 5%.
- Hervir durante 5 minutos.
- Lavar con agua destilada hasta que el líquido quede limpio.
- Proceder a colorear según técnica de coloración con safranina.
- Trasladar una pequeña cantidad del material a un portaobjetos.
- Agregar dos gotas gelatina glicerina.
- Cubrir suavemente con un cubreobjetos procurando no originar burbujas.
- Sellar los extremos del cubreobjetos utilizando esmalte para uñas.

REFERENCIAS

- Solís PN. et al. Manual de Caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos. Proyecto desarrollo de tecnología de cultivo de plantas medicinales y producción de fitoterápicos. OEA/ AICD/ AE 089/03.
- Gattuso MA. Gattuso SJ. Manual de Procedimientos para el Análisis de Drogas de Polvo. Argentina: Editorial de la Universidad Nacional de Rosario. 1999. 50p.

ANEXO 16



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITO HISTOLOGIA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
POE No. 1 Enero de 2011



DISOCIADO FUERTE

Elaborado por: Br. Mirna Castillo García Br. Mercy Pérez Rodríguez	Fecha: Enero de 2011
Revisado por: M.A. Margarita Paz	Fecha: Enero de 2011
Autorizado por: Licda. María Eugenia Paredes	Fecha: Enero de 2011

I. DEFINICION

El disociado fuerte es utilizado principalmente para tallos, raíces y tegumentos de semillas comerciales. La finalidad de esta técnica es disgregar o separar los tejidos de un órgano vegetal específico y así poder observar por separado las células y estructuras que lo conforman. Es de mucha utilidad en el control de calidad de la materia vegetal

II. OBJETIVO

Elaborar preparaciones para la observación microscópica de estructuras características de drogas vegetales frescas o secas para el control de calidad.

III. RESPONSABLE

Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este POE, este debe ser ejecutado de forma correcta para la realización del disociado fuerte en materia vegetal.

IV. DISTRIBUCION

- Auxiliar de laboratorio
- Estudiantes

V. MATERIALES Y EQUIPO

- Cristalizador
- Vidrio de reloj



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITO HISTOLOGÍA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
POE No. 1 Enero de 2011



- Aguja histológica
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Hoja de afeitar
- Agua destilada
- Hidróxido de potasio al 5-10%
- Ácido crómico al 25%
- Safranina al 1%
- Gelatina-glicerina
- Esmalte para uñas

VI. PROCEDIMIENTO

- Cortar finamente el material vegetal.
- Colocar el material cortado finamente en un cristizador que contenga solución de hidróxido de potasio al 10%.
- Hervir durante 5-10 minutos.
- Lavar con agua destilada hasta que el líquido quede limpio.
- Colocar el material así tratado en un tubo de ensayo con ácido crómico al 25% y dejar actuar durante 30 min o más.
- Retirar cuando al pinchar el material tenga consistencia de manteca.
- Lavar varias veces.
- En el último lavado agitar fuertemente el tubo de ensayo contra la palma de la mano, de manera que todo el material se disgrega contra las paredes del mismo.
- Trasladar una pequeña cantidad del material a un portaobjetos con ayuda de un pincel.
- Añadir una gota de safranina al 1% en agua.
- Agregar dos gotas gelatina glicerina.
- Cubrir suavemente con un cubreobjetos procurando no originar burbujas.
- Sellar los extremos del cubreobjetos utilizando esmalte para uñas.



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITOHISTOLOGÍA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
POE No. 1 Enero de 2011



REFERENCIAS

- Solís PN. et al. Manual de Caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos. Proyecto desarrollo de tecnología de cultivo de plantas medicinales y producción de fitoterápicos. OEA/ AICD/ AE 089/03.
- Gattuso MA. Gattuso SJ. Manual de Procedimientos para el Análisis de Drogas de Polvo. Argentina: Editorial de la Universidad Nacional de Rosario. 1999. 50p.

ANEXO 17



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITO HISTOLOGÍA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
POE No. 1 Enero de 2011



PRUEBAS HISTOQUIMICAS

Elaborado por: Br. Mirna Castillo García
 Br. Mercy Pérez Rodríguez

Fecha: Enero de 2011

Revisado por: M.A. Margarita Paz

Fecha: Enero de 2011

Autorizado por: Licda. María Eugenia Paredes

Fecha: Enero de 2011

I. DEFINICION

Los métodos histoquímicos determinan cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta, tal como algunos metabolitos secundarios, estos pueden evidenciarse en tejidos vegetales con la preparación de infusiones de la droga cruda o a través de cortes transversales del tejido a mano alzada aplicando algunas reacciones de coloración. Los métodos pueden aplicarse tanto a materia fresca como seca, siendo preferible en estado fresco.

II. OBJETIVO

Evidenciar la presencia de metabolitos secundarios en tejidos vegetales.

III. RESPONSABLE

Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este POE, este debe ser ejecutado de forma correcta para la realización de métodos histoquímicos.

IV. DISTRIBUCION

- Auxiliar de laboratorio
- Estudiantes

V. MATERIALES Y EQUIPO

- Portaobjetos
- Cubreobjetos



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITO HISTOLOGÍA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
POE No. 1 Enero de 2011



- Vidrio de reloj
- Agua destilada
- Reactivo de dragendorff
- Reactivo de naranja G
- Alcohol iodado
- Acido acético
- Acido clorhídrico diluido
- Lugol
- Clorioduro de cinc
- Solución de yodo al 0.1 mol/l
- Reactivo de sudan IV
- Alcohol al 70°
- Floroglucina
- Azul de cresil al 1%
- Rojo de rutenio al 0.1%
- Ácido sulfúrico concentrado
- Sulfato férrico

VI. PROCEDIMIENTO

- Realizar cortes transversales del tejido vegetal en estudio.
- Colocar el corte seleccionado sobre un extremo del portaobjetos.
- Proceder a investigar la presencia del compuesto químico de interés.

Alcaloides

- Agregar una gota del reactivo de dragendorff.
- Dejar actuar por unos minutos.
- Colocar un cubreobjetos.
- Observar al microscopio.
- La presencia de un precipitado rojo ladrillo se considera positiva.



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITO HISTOLOGÍA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
POE No. 1 Enero de 2011



Aleuronas

- Agregar una gota de naranja G.
- Colocar un cubreobjetos.
- Observar al microscopio.
- Los cristaloides de aleurona se tiñen de color rojo-anaranjado mientras el globoide desaparece poco a poco.
- Remover el cubreobjetos.
- Agregar una gota de alcohol iodado.
- Observar al microscopio.
- Los granos de aleuronas se colorean de amarillo-marrón a marrón.

Almidón

- Agregar una gota de lugol.
- Colocar un cubreobjetos.
- Observar al microscopio.
- La presencia de gránulos color azul o azul-violáceo en el citoplasma de las células se considera positivo.

Carbonato de calcio

- Agregar una gota de ácido acético o ácido clorhídrico diluido.
- Los cristales o depósitos de carbonato de calcio se disuelven lentamente observando la presencia de efervescencia.

Celulosa

- Agregar una gota de cloruro de cinc.
- Dejar actuar unos minutos.
- Agregar una gota de solución de yodo al 0.1 mol/l.
- Dejar actuar unos minutos.
- Remover el exceso de reactivo con papel filtro.
- Agregar una gota de ácido sulfúrico diluido.
- Colocar un cubreobjetos.
- Observar al microscopio.
- Las paredes celulósicas se tiñen de azul o azul violeta.



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITO HISTOLOGÍA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
POE No. 1 Enero de 2011



Grasas y aceites

- Agregar una gota de reactivo sudan IV.
- Dejar actuar por 10 minutos.
- Lavar, transfiriendo a un vidrio de reloj que contenga alcohol al 70°.
- Colocar el corte en un portaobjetos y cubrir con un cubreobjetos.
- Observar al microscopio.
- Una coloración roja o rosada se considera positivo.

Inulina

- Agregar una gota de 1-naftol y una gota de ácido sulfúrico.
- Colocar un cubreobjetos.
- Observar al microscopio.
- Los cristales de inulina se observan de color rojo-amarronado.

Lignina

- Agregar una gota de floroglucina.
- Flamear suavemente.
- Retirar de la llama y colocar por el borde del cubreobjetos una gota de ácido clorhídrico 25%.
- Las paredes lignificadas se tiñen de rojo.

Pectato y sustancias pécticas

- Agregar una gota de rojo de rutenio al 0.1%.
- Los pectatos y sustancias pécticas se tiñen de color rosado.

Mucílagos

- Agregar una gota de azul de cresil al 1%.
- Transferir el corte a otro portaobjetos con una gota de agua destilada.
- Observar al microscopio.
- Una coloración azul franca se considera positivo.



**LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITOHISTOLOGÍA**
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
POE No. 1 Enero de 2011



Saponinas

- Agregar una gota de ácido sulfúrico concentrado.
- Observar al microscopio.
- La aparición de una coloración amarilla inmediatamente, que a los 30 minutos cambia a rojo y finalmente a azul verdoso o lila se considera positivo.

Taninos

- Agregar una gota de sulfato férrico.
- Dejar actuar por 2-3 minutos.
- Una coloración azul-verdosa se considera positivo.

REFERENCIAS

- Rosales C. et al. Manual de Laboratorio Farmacobotánica I. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 2001. 88p.
- Gattuso MA. Gattuso SJ. Manual de Procedimientos para el Análisis de Drogas de Polvo. Argentina: Editorial de la Universidad Nacional de Rosario. 1999. 50p.
- Solís PN. et al. Manual de Caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos. Proyecto desarrollo de tecnología de cultivo de plantas medicinales y producción de fitoterápicos. OEA/ AICD/ AE 089/03.


LIPRONAT - Manual de Operaciones

Determinación de humedad 1/3

PEO No. 4 febrero 2005

**DETERMINACIÓN DE HUMEDAD
UTILIZANDO UNA BALANZA DE HUMEDAD SARTORIUS MA45**

 Elaborado por: Licda. Sully Cruz Fecha: febrero, 2005

 Revisado por: Lic. Armando Cáceres Fecha: febrero, 2005

 Autorizado por: Lic. Armando Cáceres Fecha: febrero, 2005
I. Definición:

La humedad de una muestra no es sólo el contenido de agua. Por humedad del material se entiende toda materia volátil, que se elimina por calentamiento, conduciendo a la pérdida de peso de la muestra. Entre dichas sustancias tenemos: agua, grasas, aceites, alcoholes, disolventes, materias aromáticas, componentes volátiles, productos de descomposición.

El exceso de agua en drogas vegetales es el responsable de la hidrólisis de sus constituyentes y del crecimiento de microorganismos. Con pocas excepciones, el contenido de agua en estas drogas debe variar entre 8 y 12%.

La termogravimetría es un procedimiento para determinar una pérdida de masa, que se produce al calentar una sustancia. Para esto, la sustancia se pesa antes y después del calentamiento, y a continuación se calcula la diferencia entre ambos pesos registrados.

II. Objetivos:

Proporcionar instrucciones para determinar el porcentaje de humedad de una droga vegetal utilizando un analizador de humedad.

III. Responsable:

Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este PEO, este debe ser ejecutado de forma correcta para determinar cuantitativamente la humedad de una droga vegetal.

IV. Distribución:

Auxiliar de laboratorio
Estudiantes

V. Materiales y equipo necesarios:

Analizador (Balanza) de Humedad
Platillos desechables
Agitados magnético
Fibra de vidrio (cuando aplique)

**LIPRONAT - Manual de Operaciones**

Determinación de humedad 2/3

PEO No. 4 febrero 2005

Cucharilla

Varilla de vidrio

VI. Procedimiento:

1. Preparación de muestras:
 - Seleccionar parte representativa de la cantidad total como muestra.
 - Asegurar la homogeneidad de la muestra mezclando o agitando, muestreos en varias partes o bien muestreos en intervalos definidos.
 - Evitar toda influencia de calor al moler la muestra: el calor produce pérdida de humedad.
 - Moler la muestra con mortero, en líquidos con componentes sólidos utilizar varilla de vidrio, cucharilla o agitador magnético.
 - Utilizar sólo platillos de muestra desechables (diámetro interno = 92).
 - Distribuir la muestra en el platillo fina y homogéneamente (altura: 2-5 milímetros, cantidad de 5-15 gramos).
 - Poner muestras líquidas, pastosas o volátiles en filtro de fibra de vidrio.

2. Determinación de humedad
 - Encender la balanza de humedad.
 - Seleccionar programa de secado.
 - Seleccionar función programa: tecla (↓) y tecla (enter).
 - Seleccionar programa P1, P2 o P3 con la tecla (↓) y tecla (enter).
 - En caso dado, cancelar requerimiento de entrada para clave de acceso: tecla (CF).
 - Abandonar selección de programa: 2 x tecla (CF).
 - Abrir cámara de muestras.
 - Colocar platillo de muestra.
 - Tapar platillo de muestra: función TARA y tecla (enter).
 - Pesada inicial, cerrar cámara de muestras.
 - Iniciar: función INICIO y tecla (enter) o bien, cerrar cámara de muestras directamente (se realiza proceso de secado, esperar y leer el resultado).

3. Recomendaciones:
 - No debe penetrar líquido ni polvo en el aparato.
 - No utilizar detergentes agresivos (disolventes o similares), utilizar sólo un paño suave humedecido en agua jabonosa.
 - Puede quitarse fácilmente protector contra corrientes de aire y soporte de platillo.
 - Quitar cuidadosamente restos de muestra/polvo con pincel o jeringa aspiradora.
 - Secar el aparato con un paño suave.
 - Limpiar al radiador cerámico con pincel o líquido limpiavidrios de uso común.

**LIPRONAT - Manual de Operaciones**

Determinación de humedad 3/3

PEO No. 4 febrero 2005**Referencias:**

Manual de Instrucciones de Sartorius Moisture Analyzer. Modelo MA45. 2002. Alemania. 51 p.

REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA (2002). 2ª Ed. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo. 2801p.

VILA, R & REING, M. (2003) Métodos de Control de Calidad. Madaus, UB Virtual, Imicromat. 39p.