



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL, UNIDAD OAXACA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y
APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES
(PROTECCIÓN Y PRODUCCIÓN VEGETAL)

**“Evaluación farmacológica de *Prosthechea
michuacana* (Orchidaceae), especie de
potencial agronómico”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:

M A E S T R O E N C I E N C I A S

P R E S E N T A

BIÓL. MIGUEL ANTONIO CERVANTES REYES

**DIRECTORA DE TESIS: M. EN C. GLADYS ISABEL
MANZANERO MEDINA**

ASESORES

Dra. Yolanda Donají Ortiz Hernández

Dr. Alejandro Flores Martínez

Dr. Celerino Robles Pérez

Dr. Rodolfo Solano Gómez



Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca. México. Diciembre de 2008.



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL SECRETARIA DE INVESTIGACION Y POSGRADO

ACTA DE REVISION DE TESIS

En la Ciudad de Oaxaca de Juárez siendo las 13:00 horas del día 26 del mes de noviembre del 2008 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación del **Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca (CIIDIR-OAXACA)** para examinar la tesis de grado titulada: "Evaluación farmacológica de *Prosthechea michuacana* (Orchidaceae), especie de potencial agronómico"

Presentada por el alumno:

Cervantes
Apellido paterno

Reyes
materno

Miguel Antonio
nombre(s)

Con registro:

B	0	6	1	4	1	7
---	---	---	---	---	---	---

aspirante al grado de: **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA
Director de tesis

M.C. Gladys Isabel Manzanero Medina

Dra. Yolanda Donají Ortiz Hernández
Dr. Aniceto Rodolfo Solano Gómez
Dr. Alejandro Flores Martínez
Dr. Celerino Robles Pérez

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO

Dr. Juan Rodríguez Ramírez





INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de Oaxaca de Juárez el día 26 del mes noviembre del año 2008, el (la) que suscribe Cervantes Reyes Miguel Antonio alumno (a) del Programa de **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES** con número de registro **B061417**, adscrito al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del las M. en C. Gladys Isabel Manzanero Medina y cede los derechos del trabajo titulado: “**Evaluación farmacológica de *Prosthechea michuacana* (Orchidaceae), especie de potencial agronómico**”, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección **Calle Hornos 1003, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca**, e-mail: posgradooax@ipn.mx ó mike_wasousky@prodigy.net.mx. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.



CERVANTES REYES MIGUEL ANTONIO

DEDICATORIA

A mi familia,

...Papa, por enseñarme el amor al estudio y la superación de cada día.

...Mama, por traerme a este mundo, apoyándome cada momento.

...Hermano, por darme inspiración y buenos consejos.

A mis tíos

...Tío Arturo, por su amistad y sabiduría.

...Tío Miguel, por su cariño.

...Tía Chagüita, por sus comidas deliciosas y su grata compañía.

...Tía Aidé, por sus buenas y ocurrentes historias.

A mis profesores

...Dr. Yolanda, por su total apoyo y consejos.

...Maestra Gladys, por soportarme dos años y medio.

...Maestra Elia, por su apoyo y amistad.

...Dr. Alejandro, por sus buenos comentarios y ayuda.

A mis amigos

...Aarón, Mayra y Fabiola, su amistad y apoyo en todo momento.

...Sadoth y Nallely, su amistad y buena compañía.

...Dan, Jazmín y Abigail, buenos compañeros y excelentes amigos

...Michelle, porque te quiero mucho.

...Trini y Mudu, las mejores amigas que tuve.

...El equipo "Los Tullidos", las mejores jugadas sin lugar a duda.

*Ana Laura, Diana T., Diana P., Gaby, Miguel Angel, Santos, Sergio, Reme,
Teresa, Yunué, Zanely.*

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento a todos aquellos que se involucraron a partir de este trabajo, principalmente al Centro de Investigación Interdisciplinaria para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca por su total apoyo a este proyecto; M. en C. Gladys Isabel Manzanero Medina (por dirigir la tesis y orientarme en la parte etnobotánica), Dra. Yolanda Donají Ortiz Hernández, Dr. Alejandro Flores Martínez (por apoyarme en la parte poblacional), Dr. Celerino Robles Pérez y Dr. Rodolfo Solano Gómez quienes me asesoraron y revisaron la presente tesis.

También deseo expresar mi agradecimiento al Instituto Politécnico Nacional por brindarme apoyo para realizar estancias en el laboratorio de Productos Naturales de la Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas y en el Laboratorio de Farmacología de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco; a la Dra. Rosa Martha Pérez Gutiérrez por iniciarme y apoyarme en la parte fitoquímica y a la M. en C. Rosario Vargas Solís por enseñarme técnicas farmacológicas.

a)	Animales para prueba antiinflamatoria.....	21
b)	Preparación de extractos	21
c)	Aplicación de extractos y medición de la actividad	22
d)	Análisis estadístico.....	23
4.2.1.3.2.	Actividad cicatrizante	24
a)	Animales para prueba cicatrizante	24
b)	Aplicación de extractos y medición de la actividad	25
c)	Análisis estadístico.....	25
4.2.1.3.3.	Actividad hipoglucemiante	25
a)	Animales para prueba hipoglucemiante	25
b)	Preparación del extractos	25
c)	Aplicación de extractos y medición de la actividad	26
d)	Análisis estadístico.....	28
4.2.2.	Estudio etnobotánico.....	28
4.2.2.1.	Entrevistas en el mercado.....	29
4.2.2.2.	Herborización y determinación taxonómica	29
4.2.3.	Estudio poblacional de <i>Prosthechea michuacana</i>	30
4.2.3.1.	Elección de las poblaciones a estudiar	30
4.2.3.2.	Muestreo poblacional	30
4.2.3.3.	Categorización	32
V.	Resultados.....	33
5.1.	Estudio farmacológico	33
5.1.1.	Actividad antiinflamatoria determinada en el modelo de edema inducido con TPA.....	33
5.1.2.	Actividad cicatrizante	34
5.1.3.	Actividad hipoglucemiante	36
5.2.	Estudio etnobotánico	39
5.3.	Estudio poblacional.....	40
VI.	Discusión.....	45
VII.	Conclusiones	50

Recomendaciones.....	51
Bibliografía	52

Índice de figuras	Pág.
Figura 1. Ubicación geográfica de San Pedro Tidaá, Nochixtlán.....	16
Figura 2. Ubicación geográfica de Santa Catarina Ixtepeji, Ixtlán de Juárez.....	17
Figura 3. UPEAL-Bioterio de la UAM-Xochimilco.....	18
Figura 4. a) y b). Cortado y secado de la planta.	19
Figura 5. Dispositivo instalado en el laboratorio para realizar las extracciones.....	20
Figura 6. a) Extracto de hojas. b) Extracto de rizoma. c) Extracto de pseudobulbo.....	20
Figura 7. Rotavapor utilizado para destilar al vacío a sequedad.....	21
Figura 8. a) Cámara de anestesia con éter etílico. b) Aplicación de la solución etanólica de TPA en la oreja derecha de cada ratón.....	23
Figura 9. a) Inflamación de la oreja derecha 4 horas después de la aplicación. b) Obtención de 1 mm ² de piel de ambas orejas.....	23
Figura 10. Ratas Wistar en condiciones ambientales controladas.....	24
Figura 11. a) Preparación de las suspensiones. b) Aplicación de PVP.....	26
Figura 12. Preparación de las jeringas con cánula para la administración de las soluciones a los ratones.....	27
Figura 13. Pequeño corte en la punta de la cola del ratón para la obtención de sangre.....	27

Figura 14. Determinación del nivel de glucosa sanguínea en ratones comparando la muestra con colores establecidos que indican el nivel de glucosa en mg/dl.....	28
Figura 15. Entrevistas a vendedores-colectores.....	29
Figura 16. a) y b) Transectos para establecer el rectángulo de muestreo en las localidades de estudio.....	31
Figura 17. a) Medición de la altura del pseudobulbo, diámetro del pseudobulbo, número por pseudobulbo, altura de la hoja mayor, número de hijuelos, presencia de inflorescencia y referencias del objeto más cercano. b) toma de datos en campo.....	31

Índice de tablas

Pág.

Tabla 1. Valores promedio y error estándar para la actividad antiinflamatoria de los extractos de <i>Prosthechea michuacana</i>	34
Tabla 2. Valores promedio y error estándar para la actividad cicatrizante de los extractos de <i>Prosthechea michuacana</i>	35
Tabla 3. Prueba de Tukey para comparar los valores medios de la actividad cicatrizante de los extractos de <i>Prosthechea michuacana</i> en heridas ocasionadas a ratas.....	35
Tabla 4. Niveles medios de glucosa sanguínea y error estándar obtenidos en los tratamientos para evaluar la actividad hipoglucemiante de los extractos de <i>Prosthechea michuacana</i>	37
Tabla 5. Prueba de Tukey para los valores de actividad hipoglucemiante a las dos horas de aplicados los extractos a los ratones.....	38

Tabla 6. Prueba de Tukey para los valores de actividad hipoglucemiante a las cuatro horas de aplicados los extractos a ratones.....	39
Tabla 7. Cuadro comparativo con información de los usos y nombres comunes reportados en la literatura para <i>Prosthechea michuacana</i>	40
Tabla 8. Categorías de edad para las poblaciones estudiadas de <i>Prosthechea michuacana</i>	41

Índice de gráficas	Pág.
Gráfica 1. Porcentaje de individuos por categoría de edad en la población de San Pedro Tidaá.....	42
Gráfica 2. Porcentaje de individuos por categoría de edad en la población de Santa Catarina Ixtepeji.....	42
Gráfica 3. Distribución de tamaño (en número de individuos) de las colonias en la población de San Pedro Tidaá.....	43
Gráfica 4. Distribución de tamaño (en número de individuos) de las colonias en la población de Santa Catarina Ixtepeji.....	43

Resumen

Prosthechea michuacana es una orquídea terrestre que crece en bosque de pino-encino, altamente cotizada en el mercado de la central de abasto de la ciudad de Oaxaca en los meses de noviembre y diciembre. Se utiliza de manera común para la decoración del “nacimiento” tradicional en esa época del año. Otros usos regionales incluyen su consumo para saciar la sed, aliviar la “cruda” (resaca post-ingesta alcohólica) al masticar los seudobulbos y uso en la medicina tradicional como antiinflamatorio de riñones y depurativo del sistema circulatorio. Esto último indica la presencia de compuestos con actividad fisiológica que presuponen un uso farmacológico importante. Este estudio se dilucidó la actividad antiinflamatoria, hipoglucemiante y cicatrizante de los extractos de hexano, cloroformo y metanol a partir de hojas, rizomas y seudobulbos de *P. michuacana*, empleando para ello el modelo de edema inducido con TPA, heridas quirúrgicas y ratones normoglucémicos, respectivamente. Los resultados mostraron propiedades antiinflamatorias de los extractos provenientes de hojas-cloroformo, rizoma-hexano, seudobulbo-hexano y seudobulbo-metanol; las propiedades cicatrizantes se encontraron de los extractos de rizoma y seudobulbos con cloroformo, hexano y metanol, así como propiedades hipoglucemiantes de los extractos de hojas-cloroformo, hojas-hexano, rizoma-cloroformo, rizoma-hexano, rizoma-metanol, seudobulbo-cloroformo y seudobulbo-agua. En las comunidades de San Pedro Tidaá (distrito de Nochixtlán) y Santa Catarina Ixtepeji (distrito de Ixtlán de Juárez), lugares donde la especie es cosechada para su venta, se realizó un análisis de la estructura poblacional y se definieron cuatro categorías (plántula, juvenil, adulto no reproductivo y adulto reproductivo). Los resultados indican menor edad de la población de *P. michuacana* en San Pedro Tidaá demostrada por la presencia de un porcentaje elevado (36) de la categoría plántulas y colonias predominantes de seis a 10 individuos. En cambio, la categoría de adulto reproductivo de Santa Catarina Ixtepeji tuvo el mayor porcentaje (31.1), mostrando que la extracción afecta la reproducción sexual de individuos, con colonias formadas por 16 a 20 individuos, indicando una mayor edad de estas.

Abstract

Prosthechea michuacana is a terrestrial orchid that grows in forest pine-encino, highly listed on the market of central supply in the city of Oaxaca in the months of November to December. It is used as a common for the decoration of the "birth" traditional at that time of year. Other uses include regional consumed to satiate the thirst, to alleviate the "raw" (hangover post-intake alcoholic) to the chewing pseudo-bulbs and use in traditional medicine like anti-inflammatory of kidneys and purifying the circulatory system. The latter indicates the presence of compounds with activity physiological that presuppose a medicinal use. This study determined the anti-inflammatory-, healing- and hypoglycemic- activities of the hexane-, chloroform- and methanol- extracts from leaves-, rhizomes- and pseudo-bulbs- of *P. michuacana*, using the model of edema induced with TPA, surgical wounds and normal diabetic mice, respectively. The results show anti-inflammatory proprieties in the extracts from leaves-chloroform, rhizome-hexane, pseudo-bulbs-hexane and pseudo-bulbs-methanol; healing proprieties in the extracts of rhizome and pseudo-bulbs chloroform, hexane y methanol extracts; and hypoglycemic proprieties in the extracts of leaves-chloroform, leaves-hexane, rhizome-chloroform, rhizome-hexane, rhizome- methanol, pseudo-bulbs- chloroform and pseudo-bulbs-water. In the communities of San Pedro Tidaá (district of Nochixtlán) and Santa Catarina Ixtepeji (district Ixtlán of Juárez) places where the species is collected for sale, was conducted an analysis of the population structure and identified four categories (seedling, juvenile, adult not reproductive and adult reproductive). The results indicate lower age of the population of *P. michuacana* in San Pedro Tidaá demonstrated by the presence of a high percentage (36) of the category seedlings and colonies predominant six to 10 individuals. The clones colonies showed predomination from 6 to 10 individuals for each one. In contrast, the category of adult reproductive of Santa Catarina Ixtepeji had the highest percentage (31.1), showing that the extraction affects sexual reproduction of individuals, with colonies formed by 16 to 20 individuals, indicating greater age of these.

I. Introducción

Oaxaca es conocido por su pluralidad cultural, sus recursos naturales y ser uno de los estados con mayor diversidad vegetal a nivel nacional (Torres, 2004) y se caracteriza por su gran riqueza cultural, donde se encuentran distribuidos 16 grupos étnicos que aún mantienen sus tradiciones (Álvarez, 1994).

Uno de los sitios donde se reúnen la diversidad biológica y cultural son los mercados antiguos y tradicionales, fundados por los pueblos prehispánicos en donde diariamente o semanalmente se reúnen productores o recolectores de sitios aledaños al lugar para vender, comprar e intercambiar sus productos (Rodríguez y Gómez, 1996). La principal importancia de estos mercados es que promueven el intercambio de conocimiento favoreciendo la difusión del uso de plantas y de rasgos culturales entre las diversas comunidades. Los estudios en los mercados nos permiten conocer la distribución, venta de plantas cultivadas y silvestres, variabilidad genética de las plantas así como, los diferentes usos que se dan a los recursos vegetales como lo mencionan Martínez-Alfaro (1984) y Manzanero (1995) y las relaciones entre gente y plantas (Bye y Linares, 1983).

Dentro de los múltiples usos se encuentra el aspecto medicinal, donde se produce un efecto farmacológico debido a la presencia de metabolitos, que son sustancias reactivas, aptas para ingresar en los sistemas vivos, interactuar y cambiar la estructura de un receptor o blanco molecular, de modo que al penetrar en las células pueden afectar varios procesos fisiológicos (Anaya y Espinosa, 2006), causando la prevención, atenuación o alivio de algún padecimiento. Las plantas producen decenas de miles de metabolitos secundarios, algunos se consideran drogas o fármacos, pero no todos pueden ser utilizados.

En los últimos años las plantas medicinales han tenido gran demanda en estudios fitoquímicos y farmacológicos con objeto de encontrar nuevos productos naturales para realizar terapias y tratamientos.

Desde épocas prehispánicas las orquídeas en México se les ha dado aplicación medicinal, artesanal, comestible, narcótico, saborizante, aromatizante, veneno, adhesivo, alimenticio, ceremonial, talismanes y afrodisíacos (Téllez-Velasco, 2001). Sin embargo, de acuerdo a la información bibliográfica en México son las menos conocidas en la medicina tradicional. En cambio, la mayor parte de las orquídeas en América y Europa son distinguidas principalmente por su valor ornamental, no así en Asia donde tienen una larga historia en la medicina. Esta familia es cosmopolita, con cerca de 30,000 especies de las cuales 20,000 son epifitas, distribuidas en las zonas tropicales (Madison, 1977; Atwood, 1986; Aguirre-León, 1990; y Romero, 1996). En México se conocen cerca de 1,300 especies de orquídeas distribuidas en 159 géneros, el 60% son epifitas (Soto-Arenas, 2007). Oaxaca alberga casi 700 especies en 144 géneros, números que son mayores cuando se comparan con países de Norteamérica, las Antillas y Centroamérica, a excepción de Costa Rica y Panamá (Soto-Arenas y Salazar, 2004). Las orquídeas en el estado de Oaxaca tienen una alta diversidad de especies y usos. En los mercados tradicionales de los valles centrales como lo reporta Rees (1976) sobresale el uso de muchas especies epifitas, entre ellas las orquídeas para adornar el conocido “nacimiento” en la época decembrina, sin embargo, muchas de estas pueden tener un uso comestible o medicinal.

Un gran número de plantas silvestres tienen importancia económica y cultural, debido a que proporcionan alimentos, medicamentos, combustibles, ropa y material de construcción a personas en todo el mundo. Sin embargo, en muchos casos la sobrecolecta y extracción intensa de sus poblaciones pone en peligro su conservación y entre otros, es la pérdida y transformación de su hábitat lo que amenaza a estas especies.

Por lo mencionado anteriormente, es importante llevar a cabo estudios para conocer el estado actual de las poblaciones de especies que se encuentran en tales situaciones, para así conocer parámetros de densidad, tasa de natalidad y mortalidad, edad, distribución, dispersión y forma de desarrollo. Con ello se podrá

saber si la población aumenta, disminuye o si permanece constante en una zona determinada (Odum, 2003).

Las orquídeas epífitas por tener requerimientos especializados de hábitat, pueden utilizarse como indicadores de la integridad o nivel de fragmentación ecológicos de las comunidades vegetales donde estas crecen (Espejo *et al.*, 2005). Otra estrategia para conservar especies de orquídeas la menciona Divakaran *et al.* (2006) con el cultivo *in vitro* de la vainilla, especie catalogada en peligro de extinción en el 2003, por el Congreso Internacional de la Vainilla, debido a que esta especie es económicamente importante y de gran demanda en todo el mundo.

II. Objetivos

2.1. Objetivo general

Evaluar los efectos farmacológicos (antiinflamatorios, cicatrizantes e hipoglucemiantes), obtener conocimientos etnobotánicos y determinar la estructura poblacional de la especie *Prosthechea michuacana*, orquídea con potencial agronómico en dos poblaciones de Oaxaca (San Pedro Tidaá, Nochixtlán y Santa Catarina Ixtepeji, Ixtlán de Juárez).

2.2. Objetivos específicos

- Determinar la actividad farmacológica antiinflamatoria, cicatrizante e hipoglucemiante de los extractos de hexano, cloroformo, metanol y agua obtenidos de la especie *Prosthechea michuacana*.
- Registrar el conocimiento etnobotánico de *Prosthechea michuacana* que se comercializa en el mercado de la central de abasto de la ciudad de Oaxaca.
- Determinar la estructura poblacional de *Prosthechea michuacana* en las localidades de San Pedro Tidaá (distrito de Nochixtlán) y Santa Catarina Ixtepeji (distrito de Ixtlán) del estado de Oaxaca.

III. Antecedentes

3.1. Especie de estudio

Prosthechea es un género esencialmente centroamericano formado por unas 90 especies (García-Cruz *et al.*, 2003); en el estado de Oaxaca se presentan 34 especies de este género (Soto-Arenas y Salazar, 2004).

Prosthechea michuacana (La Llave & Lex.) W. E. Higgins, *Phytologia* 82(5): 379. 1997.

Epidendrum michuacanum La Llave & Lex., *Nov. Veg. Descr.* 2: Orchid. Opusc. p. 26. 1825. *Encyclia michuacana* (Lex.) Schltr., *Beih. Bot. Centralbl.* 36: 472. 1918. *Encyclia virgata* (Lindl.) Schltr., *Orchideen* 212. 1914. *Epidendrum virgatum* Lindl., *J. Bot. (Hooker)* 3: 83. 1840, nomen illeg., non Vell., 1827.

Descripción (basada en García-Cruz *at al.*, 2003): Planta herbácea, terrestre, erecta, de 50 a 100 cm de largo. Seudobulbos agrupados, ovados o subglobosos a piriformes, de 5 a 8 cm de largo, de 1.6 a 2.7 cm de ancho, cada pseudobulbo maduro pesando de 70 a 100 gr, cubiertos en su tercio basal por 2 brácteas papiráceas de 4 a 6.5 cm de largo, pardas, agudas. Hojas 2 ó 3, elípticas a angostamente elípticas, de 10 a 35 cm de largo, de 2 a 5 cm de ancho, agudas, coriáceas. Inflorescencia erecta, de 45 a 90 cm de largo, paniculada; cubierta en la base por una bráctea espatacea papirácea, de 3 a 7 cm de largo, conduplicada, aguda; pedúnculo, de 30 a 40 cm de largo, rollizo, ligeramente rugoso, con 3 a 5 brácteas abrazadoras, ovadas, de 4 a 7 mm de largo, agudas, papiráceas, blanquecinas. Brácteas florales mucho más pequeñas que el ovario, abrazadoras, papiráceas, triangulares, de 2 a 4 mm de largo, de 0.8 a 1 mm de ancho, cortamente atenuadas, pardas. Ovario ligeramente rugoso, triquetro, de 10 a 14 cm de largo, de 5 a 6 mm de grosor, ligeramente ensanchado hacia el ápice. Flores numerosas, más de 30, simultáneas; sépalos y pétalos pardo-oscuros o pardo-rojizos, labelo blanco-crema a amarillento con escasos puntos rojos. Sépalos elípticos a oblanceolados, de 11 a 12 mm de largo, de 3 a 4 mm de ancho, agudos. Pétalos espatulados, de 10 a 11 mm de largo, de 2.5 a 3.5 mm de

ancho, obtusos. Labelo trilobado, de 10 a 11.5 mm de largo, de 7 a 8 mm de ancho, los lóbulos laterales angostamente oblongos, obtusos, el lóbulo medio unguiculado, con un seno amplio, transversalmente oblongo, ápice entero a ligeramente retuso; el callo suborbicular, carnoso, formanose por tres venas gruesas, las laterales muy cortas, la central llegando hasta la mitad del labelo. Columna corta, rolliza, de 5.5 a 6.5 mm de largo, con 3 dientes carnosos, subiguales; el diente medio sobrepasando los laterales, subcuadrado, truncado; dientes laterales redondeados. Cápsula trígona, rugosa, de 1.8 a 2.5 cm de largo, de 6.5 a 8.5 mm de ancho.

Tovar-Gijón *et al.*, (2006) reportaron para esta especie la presencia de C-glicosilflavona, la -C-(6-deoxy- β -D-glucopiranosil) apigenina, 1-(3'-hidroxi-5'-methoxyphenil)-2-(4"-hidroxi-5"-methoxyphenil) etano y 2-(4-hidroxibenzil) ácido málico.

3.2. Uso medicinal de orquídeas en México

Algunos ejemplos de la utilización de las orquídeas en el México precolombino son las laelias, prosthecheas o bletias con las que se preparaba un pegamento o engrudo llamado *tzauhtli*, por los aztecas o *tatzingui*, por los purépechas; éste se obtenía de los pseudobulbos deshidratados. Las raíces utilizadas de estas orquídeas se consideraban medicinales por curar a los disentéricos (Hágsater *et al.*, 2005). Hágsater *et al.* (2005) menciona la utilidad de algunas orquídeas mexicanas citando estudios realizados por Berlin *et al.* (1974) y Wright (1963) entre ellas *Prosthechea michuacana*, *P. varicosa* (denominados "camotes de agua") y *Rhynchostele bictoniense* (sets-sish) cuyos pseudobulbos eran consumidos para calmar la sed de los viajeros. Bye (1979) y, Schultes y Hoofman (1980) mencionan el uso de *Trichocentrum cebolleta* como sustituto del peyote. Urbina (1903) reporta que *Stanhopea tigrina* se usaba en la preparación del nixtamal. La vainilla es la orquídea más conocida y comercializada, Téllez-Velasco (2001) y Bythrow (2005) mencionan que sus frutos eran utilizados como alimento

por los mayas desde el año de 1300, y después por los aztecas como saborizante y aromatizante del “*chocolat*” (chocolate).

Del Amo (1979) y Mendieta y del Amo (1981) reportaron el uso medicinal de varias orquídeas mexicanas, entre ellas *Oncidium cavendishianum* como antihistamínico *Brassavola digbyana* contra el dolor de cabeza, *Catasetum maculatum* en abscesos e hinchazón, *Cyrtopodium punctatum*, al igual que la anterior para abscesos y usado como balsámico, *Epidendrum xipheres* contra inflamaciones, *Trichocentrum ascendens* contra la inflamación por cuerpos extraños y *Vanilla fragrans* como tónico con propiedades afrodisiacas. En una compilación de información etnobotánica realizada por Aguilar *et al.*, (1994) del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), se menciona el uso de *Catasetum* sp. como anticonceptivo y para curar la hinchazón, *Laelia anceps* para componer la cintura en el posparto, *Laelia speciosa* para eliminar la tos, *Oncidium* sp. para aliviar el dolor de pie, *Myrmecophila tibicinis* contra dolor del embarazo y *Vanilla planifolia* para el “mal de aire” y dolor de vientre.

Martínez-Alfaro *et al.* (1995) reportan un uso medicinal no específico para *Vanilla planifolia* en la Sierra Norte de Puebla. Hágasater *et al.*, (2005) mencionan otros usos medicinales de especies como *Isochilus* sp., *Arpophyllum spicatum*, *Epidendrum anisatum*, *Bletia campanulata*, *Bletia coccinea*, *Catasetum integerrimum*, *Cyrtopodium punctatum*, *Bletia purpurea* y *Prosthechea citrina* se usan en la preparación de cataplasmas. Hágasater *et al.*, (2005) señalan algunas preparaciones en el caso de *Catasetum integerrimum* los pseudobulbos son pelados, salados y asados para aplicarlos a forúnculos y heridas, y para preparar infusiones contra la tos, los pseudobulbos de *Catasetum integerrimum* son mezclados con las flores de *Laelia autumnalis*. También mencionan que *Malaxis* sp. es preparada por los tepehuanos en infusiones para aliviar el dolor de estómago, y *Calanthe calanthoides* y *Rhyncholaelia digbyana* son utilizadas para detener hemorragias preparando una molienda de sus flores.

3.3. Farmacología de especies de orquídeas nativas de México

Pocos son los estudios farmacológicos hasta ahora realizados en orquídeas mexicanas: *Epidendrum rigidum* tiene actividad fitotóxica producida por bibenziles derivados (Hernández-Romero *et al.*, 2005), *Habenaria repens* presenta actividad antioxidante causada por el habenariol (Johnson *et al.*, 1999); Los pseudobulbos de *Laelia autumnalis* mostraron actividad hemaglutinante causada por la lectina (Zenteno *et al.*, 1995); *Maxillaria densa* presentó actividad espasmolítica por su contenido en fenantrenos (Estrada *et al.*, 1999b y 2004), *Nidema boothii* también presenta actividad espasmolítica, pero esta es producida por estilbenoides (Hernández-Romero *et al.*, 2004), estos son compuestos fenólicos biológicamente activos que exhiben un amplio espectro de actividad antibiótica y farmacológica; también se han encontrado en *Scaphyglottis lívida* donde producen la inhibición de la relajación del endotelio-independiente de anillos en la aorta (Estrada-Soto *et al.*, 2006).

3.4. Otros estudios farmacológicos de orquídeas

En las últimas décadas se ha desarrollado un gran interés en el estudio farmacológico en orquídeas de Oriente. En *Cymbidium goeringii* se ha reportado actividad hipotensora y diurética o promotora de la eliminación de agua y sodio en el organismo a través de la orina (Watanabe *et al.*, 2007), *Dendrobium densiflorum* muestra actividad de agregación antiplaquetaria (Fan *et al.*, 2001; Chen, 1994). *D. monoliforme* presenta efectos antiinflamatorios debido a una fenantraquinona (FQ) llamada denbinobin (Lin *et al.*, 2001). *Gastrodia elata* posee una variedad de efectos farmacológicos incluyendo actividades neuromodulatorias GABAérgica (modifica la manera en que un nervio transmite), anticonvulsivante (antiepiléptico), ansiolítica (con acción depresora del sistema nervioso central, disminuye o elimina los síntomas de la ansiedad), antiagregante y antioxidante (Choi y Lee, 2006). *Pholidota chinensis* muestra actividad antiinflamatoria (Wang *et al.*, 2006).

3.5. Fisiología de la inflamación

Cuando se produce una herida en el tejido humano, si ésta es causada por bacterias, traumas, sustancias químicas, calor o cualquier otro fenómeno, son liberadas múltiples sustancias por el tejido herido y causan cambios secundarios dramáticos en la zona cercana al área dañada, estos cambios son comúnmente conocidos como inflamación, la cual es un proceso que tiene como objetivo obstruir la entrada de microorganismos, material extraño y tejido necrótico para destruirlos y regenerar nuevo tejido.

La inflamación es caracterizada por (1) la vasodilatación de los vasos sanguíneos locales, causando el exceso del flujo sanguíneo, (2) incremento en la permeabilidad de los capilares, permitiendo que la herida se llene de grandes cantidades de fluidos en los espacios intersticiales, (3) a menudo el fluido se coagula dentro de los espacios intersticiales debido al amontonamiento excesivo de fibrinógenos y otras proteínas desde los capilares; (4) existe una migración de un gran número de granulocitos y monocitos dentro del tejido; (5) la hinchazón de las células del tejido herido (Guyton y Hall, 2006).

En la experimentación farmacológica se induce o produce la inflamación, para esto se utilizan distintas sustancias. En experimentos *in vitro* generalmente es utilizada la histamina, una amina biológica producida naturalmente en el cuerpo humano que combinándose con receptores celulares específicos ejerce una variedad de acciones biológicas como neurotransmisor, vasodilatador, contracción de músculo liso, aumento de secreción gástrica, taquicardia, mediador de hipersensibilidad inmediata, inducción de mediadores tipo prostaglandinas, regulación del sueño, termorregulación, regulación neuroendocrina, catalepsia y comportamiento agresivo y es principalmente asociada a fenómenos alérgicos. En experimentos *in vivo* habitualmente es utilizada la 12-O-Tetradecanoylforbol-13-acetato (TPA), es también comúnmente conocido como lo forbol 12-myristato 13-acetato (PMA), es un tipo de éster de forbol y un potente promotor tumoral que generalmente es utilizado en investigaciones biomédicas.

3.6. Fisiología de la cicatrización

La cicatrización es un proceso de reparación o regeneración de un tejido alterado, ésta comienza en la herida donde se lleva a cabo una serie de complejos fenómenos bioquímicos que son producidos para reparar el daño. Para su estudio se divide en fases de inflamación, proliferación y remodelación. En el área afectada se produce la hemostasis o formación de un coágulo que cierra los vasos sanguíneos lesionados produciendo una respuesta inflamatoria local. (1) En la fase inflamatoria, se fagocitan y eliminan bacterias y suciedad, en esta primera fase también se liberan factores que producen la migración y división de las células que toman parte en la siguiente fase. (2) La fase proliferativa se caracteriza por la angiogénesis, la depositación de colágeno, la formación de tejido granular, la epitalización y la contracción de la herida (Midwood *et al.*, 2004). En la angiogénesis crecen nuevos vasos sanguíneos a partir de células endoteliales (Chang *et al.*, 2004). En la fibroplasia y formación de tejido granular, los fibroblastos crecen y forman una nueva matriz extracelular provisoria mediante la excreción de colágeno y fibronectina (Midwood *et al.*, 2004). En la epitelialización, las células epiteliales se desplazan sobre la herida cubriéndola (Garg, 2000). En la contracción los miofibroblastos ayudan a reducir el tamaño de la herida, ellos se toman de los bordes de la herida y se contraen utilizando un mecanismo similar al que poseen células de los músculos lisos. Cuando las células han cumplido con su cometido, las células no utilizadas son eliminadas mediante apoptosis (Midwood *et al.*, 2004). (3) En la fase de maduración y remodelado, el colágeno es remodelado y realineado a lo largo de las líneas de tensión y las células que ya no hacen falta son eliminadas. Sin embargo, este proceso no solo es complejo sino que es frágil, y es susceptible de ser interrumpido o de fallar, lo que conduce a la formación de heridas crónicas con problemas de cicatrización. Algunos factores que pueden contribuir a este problema son la diabetes, enfermedades de las venas o arterias, edad avanzada, e infecciones (Enoch y Price, 2004).

3.7. Fisiología de la hipoglucemia

Técnicamente, hipoglucemia significa que los niveles de glucosa se encuentran abajo de los niveles estándares. Esta propiedad es utilizada para tratar los síntomas de hiperglucemia en personas diabéticas que junto con la resistencia a la insulina y a la obesidad son los principales factores de una de las enfermedades más comunes en el mundo. Específicamente, la diabetes tipo II, también llamada diabetes mellitus no dependiente de insulina o NIDDM por sus siglas en inglés (non-insulin-dependent diabetes mellitus), la cual puede ser controlada en base a dietas, medicamentos o inyecciones de insulina. Es importante mencionar que la glucosa es el único nutriente que puede ser usado por el cerebro, la retina y el epitelio germinal de las gónadas en las cantidades suficientes para proporcionarles la energía óptima requerida habitualmente (Guyton y Hall, 2006).

En la experimentación se realizan pruebas hipoglucémicas o pruebas de reducción de glucosa sanguínea que son llevadas a cabo en ratones, ratas y conejos. Esta prueba puede ser realizada de dos maneras; en la primera se induce la diabetes a través de solución de aloxana o estrettozotocina y en la segunda son utilizados ratones con niveles normales de glucosa sanguínea o normoglucémicos.

3.8. Estudios poblaciones en orquídeas

La mayoría de los estudios de ecología de poblaciones en orquídeas han sido realizados en especies terrestres como *Cleistes bifaria*, *Cypripedium calceolus*, *C. reginae*, *Orchis militaris*, *O. morio*, *Pseudorchis albida*, *P. straminea*, *Herminium monorchis* por mencionar algunas. Los estudios en orquídeas son particularmente difíciles por su compleja y diversa biología (Brzosko, 2002). En estas especies terrestres se presentan fluctuaciones que no facilitan su estudio, debido a que existen numerosos factores que envuelven la biología de estas plantas, entre estas el clima, suelo, micorrizas, hongos, competencia, depredación y las estrategias de sobrevivencia (Gregg y Kéry, 2006). El factor de importancia para realizar un estudio poblacional es que las plantas sean visibles, generalmente en las orquídeas terrestres existe un estado de latencia en la que pseudobulbos son

subterráneos, los especialistas frecuentemente han encontrado conveniente caracterizar y estudiar esos estados de vida de estas especies (Kéry y Gregg, 2003; 2004; Gregg y Kéry, 2006).

IV. Materiales y métodos

4.1. Sitios de estudio

4.1.1. Distribución geográfica de *Prosthechea michuacana*

Prosthechea michuacana se establece en bosques de pino-encino y encinares húmedos a una elevación de 1900 a 2100 m s.n.m., con floración de abril a julio. Se distribuye en México, Guatemala y Honduras. En México se localiza en la vertiente pacífica de Jalisco, Michoacán, Morelos, Guerrero y Oaxaca (García-Cruz *et al.*, 2003).

4.1.2. Zonas de estudio

a) San Pedro Tidaá

El municipio de San Pedro Tidaá pertenece al Distrito de Asunción Nochixtlán, en la región de la Mixteca Alta de Oaxaca. Los pobladores mencionan que la palabra Tidaá proviene del mixteco, que significa “lugar donde cantan las aves”. La población de San Pedro Tidaá se localiza aproximadamente a 20 km al Noroeste de Nochixtlán. La cabecera municipal se encuentra en las coordenadas 17 ° 20' latitud N y 97 ° 22' longitud O, a una altitud de 2 300 m s.n.m. y tiene una superficie de 15.31 km². Colinda con las poblaciones de Magdalena Yodocono, San Francisco Nuxaño, San Juan Diuxi, Santiago Tilantongo y San Miguel Achiutla (Figura 1) (INEGI, 2005).

Las tierras de este municipio son regadas por los ríos Verde Atoyac. El clima es C(E)(w), semifrío subhúmedo con lluvias en el verano. La temperatura media anual es de 17.2 °C, la precipitación anual promedio es de 680 mm. Presenta vegetación de bosque de encino donde las principales especies son encino (*Quercus* sp.), ocote (*Pinus leiophylla*), enebro (*Juniperus flaccida*) y madroño (*Arbutus xalapensis*). El tipo de suelo es arcilloso arenoso. El grupo étnico predominante es el mixteco (INEGI, 2005).



Figura 1. Ubicación geográfica de San Pedro Tidaá, Nochixtlán

b) Santa Catarina Ixtepeji

El municipio de Santa Catarina Ixtepeji se localiza en la región de la Sierra Norte de Oaxaca, en el Distrito de Ixtlán de Juárez. Recibe el nombre de Santa Catarina en honor de una de las Vírgenes de la religión Católica. Ixtepeji tiene la derivación Itztepexic, que significa “en el peñasco de la obsidiana” (Itzti=obsidiana y tepexil=peñasco o peña). Se ubica en las coordenadas 17°16' latitud N y 96°34' longitud O, a una altitud de 1,800 m s.n.m., con una superficie de 196.48 Km² (Figura 2) (INEGI, 2005).

Los sitios más altos del municipio son la Cumbre, Corral de Piedra, Pelado Grande y Nevería de Paz. Los principales ríos son El Estudiante, Yoriyoco, Yobaneli y El Cebollal. Contiene veneros o manantiales que alimentan los arroyos El Oate y El Estudiante. Los tipos de climas presentes son C(w), templado-subhúmedo con lluvias en verano; C(E)(w), semifrío-subhúmedo en las partes altas y ACw, semicálido-subhúmedo hacia el sur. Presenta una vegetación predominante de pino-encino con especies como *Pinus patula*, *P. pseudostrobus*, *P. ayacahuite*, *Quercus sp.*, *Abies religiosa* (oyamel), *P. strobus* (pinabete). El tipo de suelo es el luvisol vértico (INEGI, 2005).

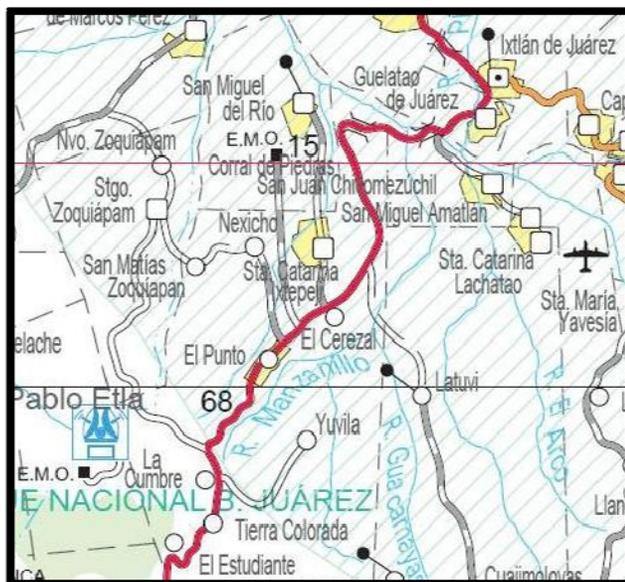


Figura 2. Ubicación geográfica de Santa Catarina Ixtepeji, Ixtlán de Juárez.

4.2. Método

4.2.1. Estudio farmacológico

La farmacología (del griego *pharmakon*=fármaco y *logos*=ciencia), es considerada como la ciencia que estudia el origen, las acciones y las propiedades de los fármacos como sustancias químicas que se producen en organismos vivos, generalmente son de origen vegetal con actividad biológica, como los metabolitos secundarios de los que se conocen aplicaciones clínicas en el diagnóstico, prevención, tratamiento y alivio de síntomas de alguna enfermedad. Estas aplicaciones son ensayadas en animales de laboratorio para probar el efecto o actividad biológica producida por los fármacos para luego aplicarlos en el ser humano. La gran mayoría de estos estudios tienen como base la información de la forma de empleo en la medicina tradicional por algún grupo étnico, la cual a su vez es obtenida de los mercados tradicionales.

Los animales de laboratorio fueron proporcionados y mantenidos antes de cada experimento en condiciones controladas en el Bioterio de la Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio (UPEAL) (Figura 4). Los experimentos se efectuaron en el Laboratorio de Fitofarmacología de la

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco (UAM-X); los procedimientos con los animales y sus cuidados fueron realizados de acuerdo a las normas y principios internacionales para animales de laboratorio.



Figura 3. UPEAL-Bioterio de la UAM-Xochimilco.

4.2.1.1. Material botánico para el estudio farmacológico

Se recolectaron aproximadamente 7 kg de material vegetal en el sitio El Punto, Santa Catarina Ixtepeji, en mayo de 2007. El material recolectado se separó en hojas, pseudobulbos y rizomas, luego fue cortado en trozos pequeños para un mejor manejo. Las muestras fueron secadas a la sombra (la luz ultravioleta puede producir reacciones con las sustancias químicas presentes en la planta) sobre papel periódico, el cual se cambió diariamente para evitar la acumulación de humedad y formación de hongos (Figuras 4a y 4b).

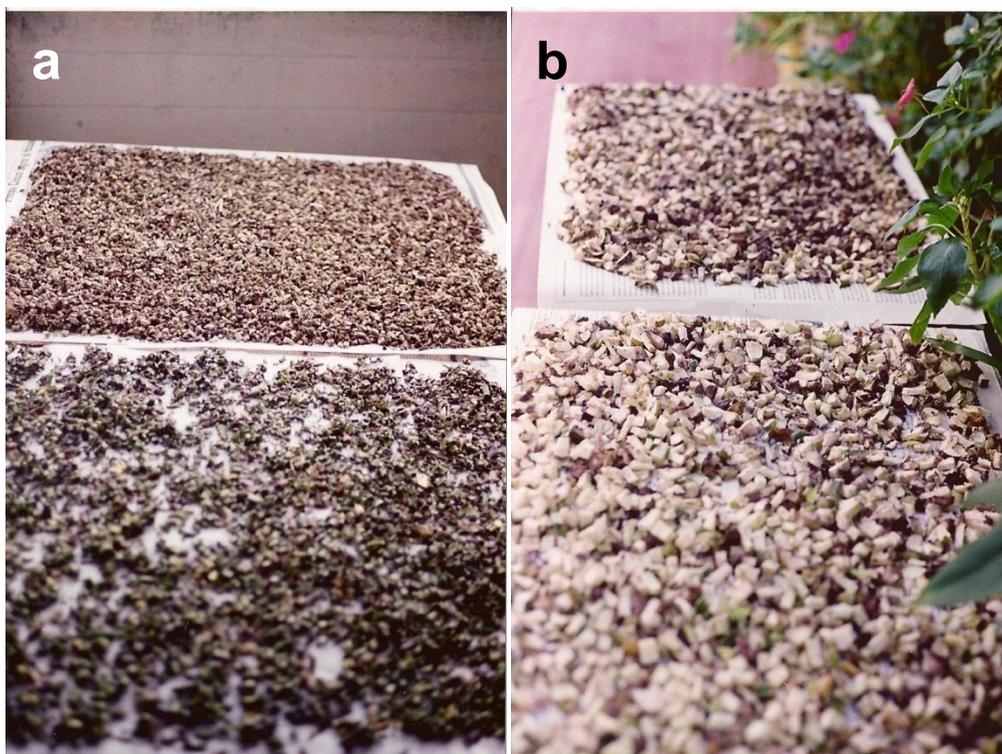


Figura 4. a) y b). Cortado y secado de la planta.

4.2.1.2. Obtención de los extractos para pruebas de efectividad farmacológica

Las pruebas de extracción se realizaron con muestras cortadas y deshidratadas de hojas, pseudobulbos y rizomas, 200 g de cada estructura. Cada una se colocó por separado en un matraz con capacidad de 4 L, al cual se le agregaron 3 L de hexano hasta cubrir el material seco. A cada matraz se le adaptó un refrigerante, se colocó sobre una parrilla y la muestra se sometió a reflujo durante tres horas (Figura 5); al finalizar el proceso se filtró con papel Whatman No. 5 para separar los residuos del material vegetal (Figuras 6a, 6b y 6c). La solución obtenida fue destilada en un rotavapor al vacío a sequedad (Figura 7). Este procedimiento se repitió con cloroformo, metanol y agua destilada. Los extractos acuosos se secaron en un horno de corriente de aire a temperatura constante de 40°C durante 24 hrs.

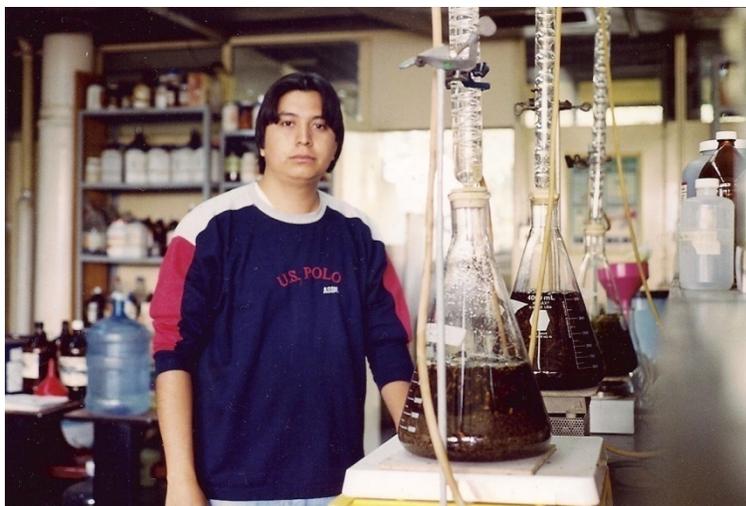


Figura 5. Dispositivo instalado en el laboratorio para realizar las extracciones.

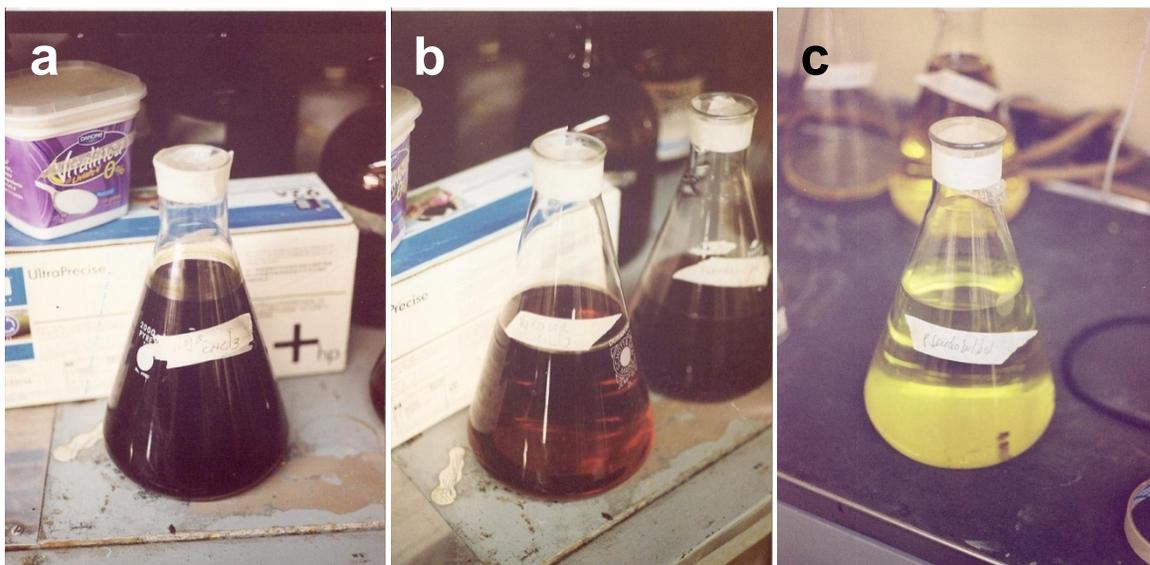


Figura 6. a) Extracto de hojas. b) Extracto de rizoma. c) Extracto de pseudobulbo.



Figura 7. Rotavapor utilizado para destilar al vacío a sequedad.

4.2.1.3. Pruebas farmacológicas

4.2.1.3.1. Actividad antiinflamatoria en el modelo de edema inducido con TPA

a) Animales para prueba antiinflamatoria

Se emplearon 95 ratones machos, cepa CD1, con peso promedio de 25 a 30 g. Los animales fueron colocados en jaulas de acrílico transparente bajo condiciones controladas de luz-temperatura, con un fotoperiodo de 12 hrs/12 hrs (7:00 a.m. a 7:00 p.m.), temperatura de $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ y porcentaje de humedad relativa de $60\pm 10\%$. Los animales tuvieron acceso libre al agua y alimento (*ad libitum*) con una dieta comercial ya preparada (Purina). Para cada prueba se utilizaron grupos de 5 ratones y como control positivo se utilizó el bálsamo blanco (medicamento comercial).

b) Preparación de extractos

Para preparar la solución etanólica se disolvió 0.25 mg de TPA en 1 mL de etanol, ésta se almacenó a -20°C . De cada uno de los extracto de cloroformo, hexano y metanol se tomó una muestra de 0.20 mg que se disolvió en 1 mL de metanol para obtener las diferentes soluciones metanólicas. Por otro lado, también se tomó 0.20 mg de cada extracto acuoso y se disolvió en 1 mL de agua destilada para obtener

las soluciones acuosas. Como control positivo se utilizó bálsamo blanco® con la siguiente fórmula:

Fórmula Bálsamo Blanco®	
Cada 100 g contiene:	
Alcanfor	30 mg
Mentol	20 mg
Salicilato de Metilo	20 mg
Aceite de Cedro	10 mg
Óxido de Zinc	100 mg
Eucalipto	30 mg
Lanolina anhidra	25 mg
Excipiente c.b.p.	1 g

c) Aplicación de extractos y medición de la actividad

Todos los ratones fueron anestesiados con éter etílico (Figura 8a); a los animales de todos los tratamientos se les aplicó 10 μL de solución etanólica de TPA (0.25 mg mL^{-1}) en la oreja derecha. Diez minutos después, se aplicó 20 μL de una de las soluciones metanólicas o acuosas preparadas (20 mg mL^{-1}) sobre la misma oreja de todos los ratones de los tratamientos, para el grupo control solo se aplicó la solución etanólica de TPA y en otro grupo se aplicó 2 mg del bálsamo blanco (Figura 8b). En la oreja izquierda de cada animal se aplicó solamente los disolventes de etanol (10 μL) y metanol (20 μL). Cuatro horas después (Figura 9a) se anestesiaron nuevamente los ratones con éter etílico, se sacrificaron por dislocación cervical, se tomó una muestra de 1 mm^2 de piel de ambas orejas y se pesó en una balanza analítica (Figura 9b). El edema fue considerado como la diferencia en peso entre la muestra de la oreja derecha y la izquierda, la cual representa la inflamación. El porcentaje de inhibición de la inflamación para los grupos tratados se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = [(C - E)/C] \times 100$$

donde:

C = edema promedio del grupo tratado con TPA (grupo control)

E = edema promedio del grupo tratado con TPA y extracto

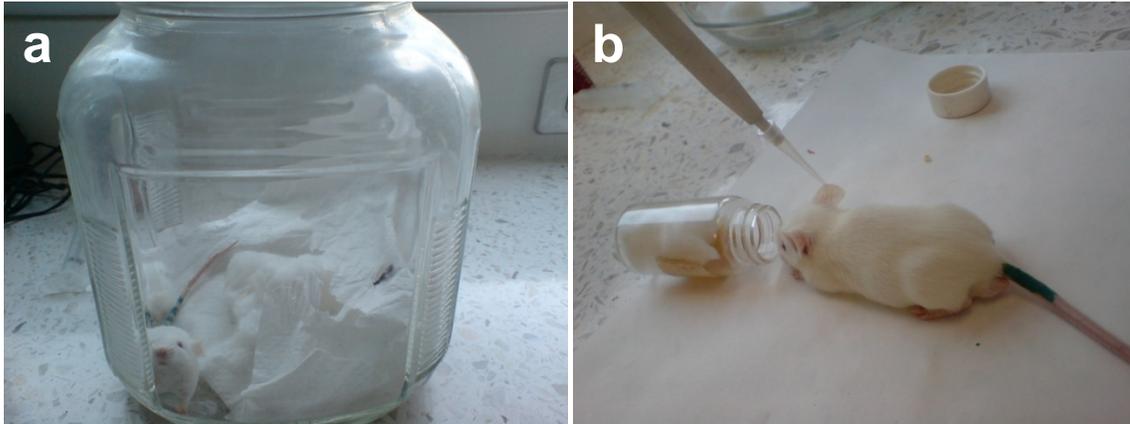


Figura 8. a) Cámara de anestesia con éter etílico. b) Aplicación de la solución etanólica de TPA en la oreja derecha de cada ratón.

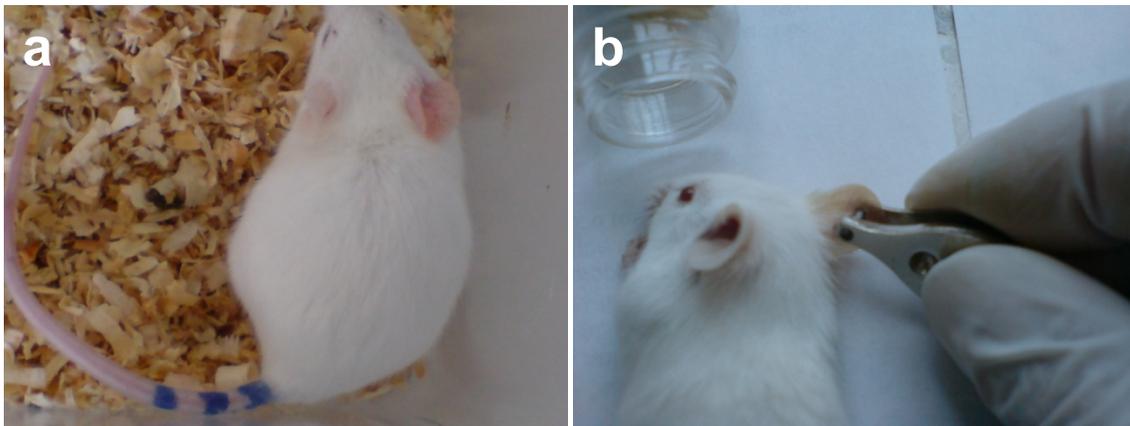


Figura 9. a) Inflamación de la oreja derecha 4 horas después de la aplicación. b) Obtención de 1 mm² de piel de ambas orejas.

d) Análisis estadístico

Las diferencias entre las muestras se expresaron gráficamente mediante la media y el error estándar de la media (ESM), para ello se efectuó un análisis de varianza

de una vía (ANOVA) para comparaciones múltiples usando el software SAS JMP 7. Los valores con una probabilidad menor a 0.05 se consideraron como significativos.

4.2.1.3.2. Actividad cicatrizante

a) Animales para prueba cicatrizante

Se emplearon 40 ratas Wistar machos, cepa CD1, con peso promedio de 220 a 250 g (Figura 10) que fueron anestesiadas con éter etílico. Todos los animales fueron depilados en el muslo de la extremidad inferior derecha, donde se efectuó un corte longitudinal de 15 mm con una hoja de bisturí. Se utilizaron grupos de 5 ratas por extracto y como control positivo se utilizó debrisan® con la siguiente fórmula:

Fórmula Debrisan®

Cada 100 g contiene:

Dextranómero	100 g
--------------	-------



Figura 10. Ratas Wistar en condiciones ambientales controladas.

b) Aplicación de extractos y medición de la actividad

Los extractos de cloroformo, hexano y metanol para pseudobulbos y rizomas se aplicaron directamente por vía tópica en la herida producida a los animales cada 24 hrs durante 7 días. Cada 48 hrs se midió la evolución del proceso de cicatrización sobre la epidermis herida en las ratas.

c) Análisis estadístico

Los resultados se expresaron gráficamente en diagrama de barras como la media y error estándar de la media (ESM), se efectuó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) y una prueba de Tukey para comparaciones estadísticas usando el software SAS JMP 7. Los valores de con una probabilidad menor a 0.05 se consideraron como significativos.

4.2.1.3.3. Actividad hipoglucemiante

a) Animales para prueba hipoglucemiante

Se emplearon 70 ratones machos, cepa CD1, con peso promedio de 25 a 30 g. Se utilizaron grupos de 5 ratones para los tratamientos con los diferentes extractos y del grupo control.

b) Preparación del extractos

Se preparó una suspensión acuosa con 50 mg de cada uno de los diferentes extractos de hojas, pseudobulbos y rizomas (cloroformo, hexano, metanol y agua) disueltos en 1.33 mL de agua destilada (Figura 11a), más 2 mL de metanol, 1 mL de cloroformo, 100 mg de polyvinyl-pyrrolidona (PVP) (Figura 11b). Esta suspensión fue luego expuesta al calor.

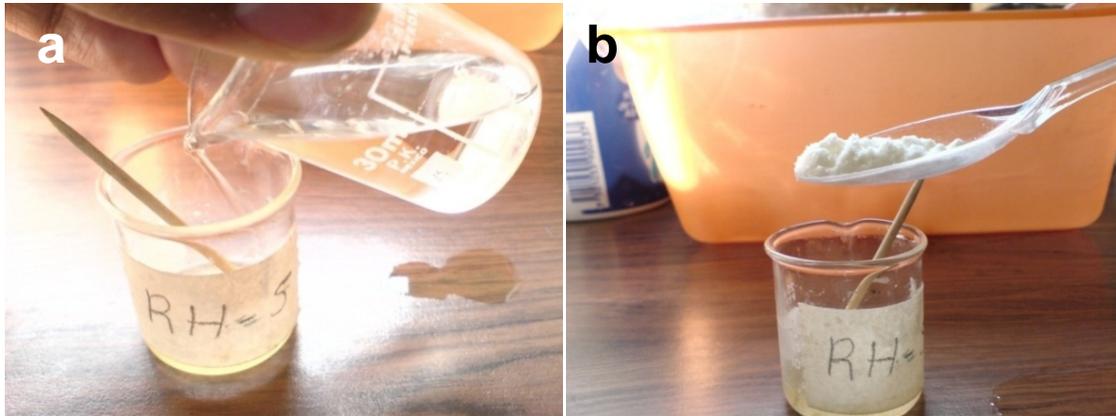


Figura 11. a) Preparación de las suspensiones. b) Aplicación de PVP.

c) Aplicación de extractos y medición de la actividad

A todos los ratones de los tratamientos con los extractos se les administró la suspensión por vía oral con la ayuda de una cánula (Figura 12). Al grupo control se les administró agua destilada. Las lecturas para cada ratón fueron tomadas a los 0 hrs (t_0), 2 hrs (t_1) y 4 hrs (t_2) después de que le fue administrada la suspensión. Para la obtención de la sangre de cada ratón se hizo un pequeño corte en la punta de su cola con la ayuda de unas tijeras (Figura 13); con una tira reactiva Dextroxtix® (método enzimático) se tomó una gota de sangre, se esperó un lapso de 30 segundos para que ésta secase, se limpió y 90 segundos después se comparó con una escala de colores definidos que indican el nivel de glucosa en mg dL^{-1} (Figura 14).



Figura 12. Preparación de las jeringas con cánula para la administración de las soluciones a los ratones.

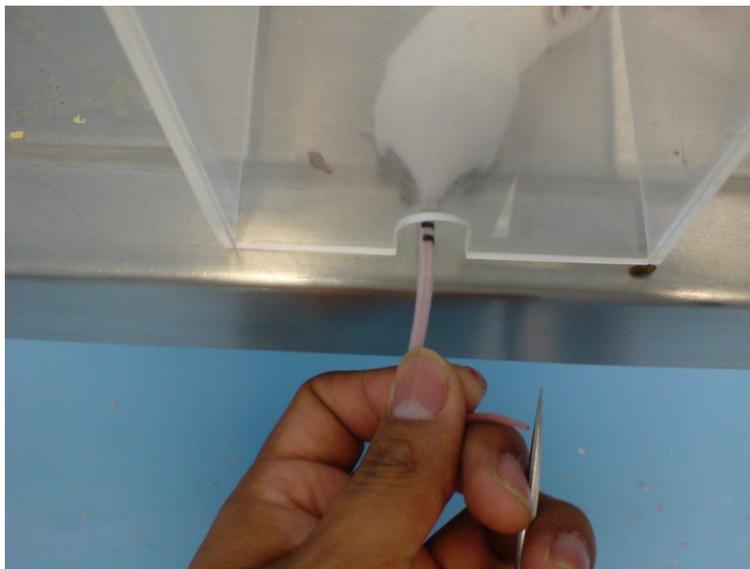


Figura 13. Pequeño corte en la punta de la cola del ratón para la obtención de sangre.

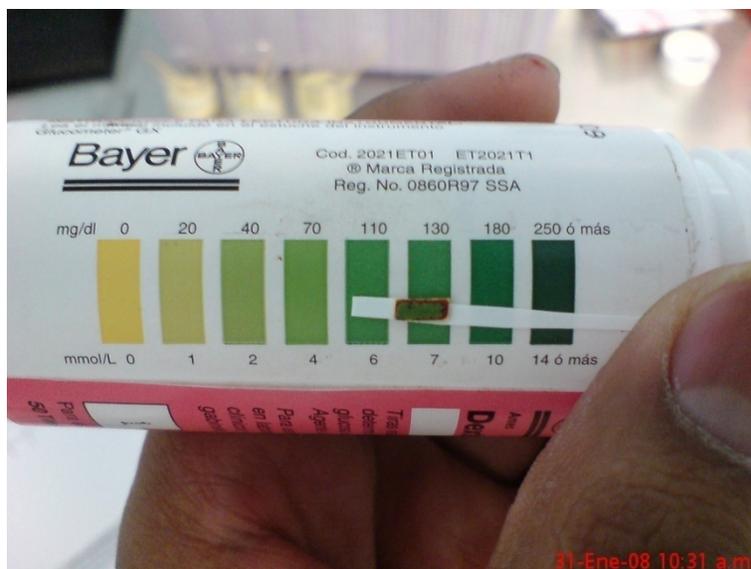


Figura 14. Determinación del nivel de glucosa sanguínea en ratones comparando la muestra con colores establecidos que indican el nivel de glucosa en mg/dl.

d) Análisis estadístico

Los resultados de los niveles de glucosa sanguínea obtenidos a las 2 y 4 horas después de la aplicación de la suspensión a los ratones se expresaron en tabla de valores como la media y error estándar de la media (ESM); se efectuó un análisis de varianza de una vía (ANOVA), así como una prueba de Tukey para comparaciones estadísticas usando el software SAS JMP 7. Los valores con una probabilidad menor de 0.05 se consideraron como significativos.

4.2.2. Estudio etnobotánico

La ciencia que estudia la relación hombre-planta, el manejo, uso y aprovechamiento con la transformación de los recursos vegetales por un grupo étnico es conocida como etnobotánica (etnos=grupo humano y βοτάνη=planta). Las plantas con uso en la medicina tradicional son estudiadas por la etnofarmacología, ésta se enfoca en la descripción de las propiedades medicinales de los remedios utilizados en un grupo étnico, dirigiendo su estudio a

la forma de selección, preparación y administración de las plantas o animales medicinales (Martin, 2001).

4.2.2.1. Entrevistas en el mercado

Se realizaron entrevistas con el método propuesto por Martin (2001) a vendedores-colectores del mercado de la central de abasto que venden *Prosthechea michuacana* (Figura 15). Con la información de las entrevistas y de la revisión bibliográfica se elaboró un cuadro comparativo de usos, partes utilizadas, formas de uso, lugares de extracción o recolecta, grupo étnico que realiza estas actividades y nombres comunes empleados para la especie.

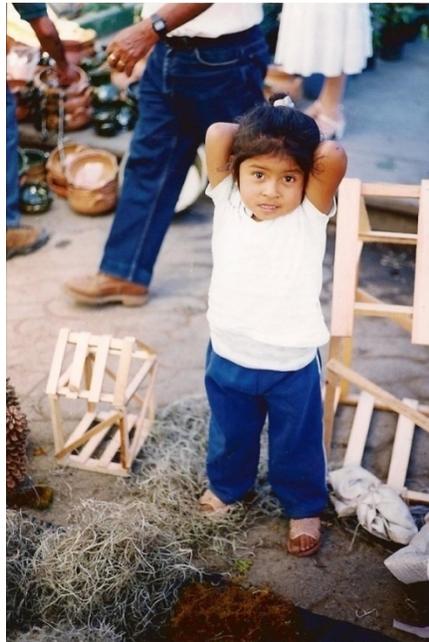


Figura 15. Entrevistas a vendedores-colectores.

4.2.2.2. Herborización y determinación taxonómica

Se colectaron ejemplares de *Prosthechea michuacana* en puestos temporales, en el mercado de la central de abasto en los meses de noviembre y diciembre, de acuerdo a las técnicas de Aguirre-León (1990). Para el reconocimiento y determinación de la especie se consultó a García-Cruz *et al.* (2003) y algunos ejemplares se mantuvieron en vivero. Los ejemplares fueron depositados en el

Herbario OAX del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional-Unidad Oaxaca, Instituto Politécnico Nacional.

4.2.3. Estudio poblacional de *Prosthechea michuacana*

A través de los estudios poblacionales es posible determinar el estatus de conservación de una especie, la definición de estrategias para su conservación, explotación racional, control de plagas e incluso para conocer la acción de selección natural (Odum, 2003).

4.2.3.1. Elección de las poblaciones a estudiar

Para este estudio se analizaron dos poblaciones se efectuó en dos poblaciones, una establecida en San Pedro Tidaá, Nochixtlán y la otra en Santa Catarina Ixtepeji, Ixtlán, localidades donde se sabe son extraídas las plantas de *Prosthechea michuacana* para su venta.

4.2.3.2. Muestreo poblacional

En cada población se estableció al azar una superficie de muestreo formada por un rectángulo de 50 x 10 m (Figuras 16a y 16b), el cual se subdividió en áreas de 2 x 10 m; en cada una de ellas se registró el número de individuos de la especie por transecto; cada individuo fue considerado independiente, sin considerar si se trataba de un individuo derivado de la reproducción sexual o asexual. Para cada individuo se registraron los parámetros de altura del pseudobulbo (de base a ápice), diámetro del pseudobulbo, número de hojas por pseudobulbo, altura de la hoja mayor, número de hijuelos (extensión o brote sin pseudobulbo y hojas desarrolladas), presencia de inflorescencia (residuos o escapo presente), así como referencias del árbol más cercano y si se encontraba en alguna planta o roca.



Figura 16. a) y b) Transectos para establecer el rectángulo de muestreo en las localidades de estudio.

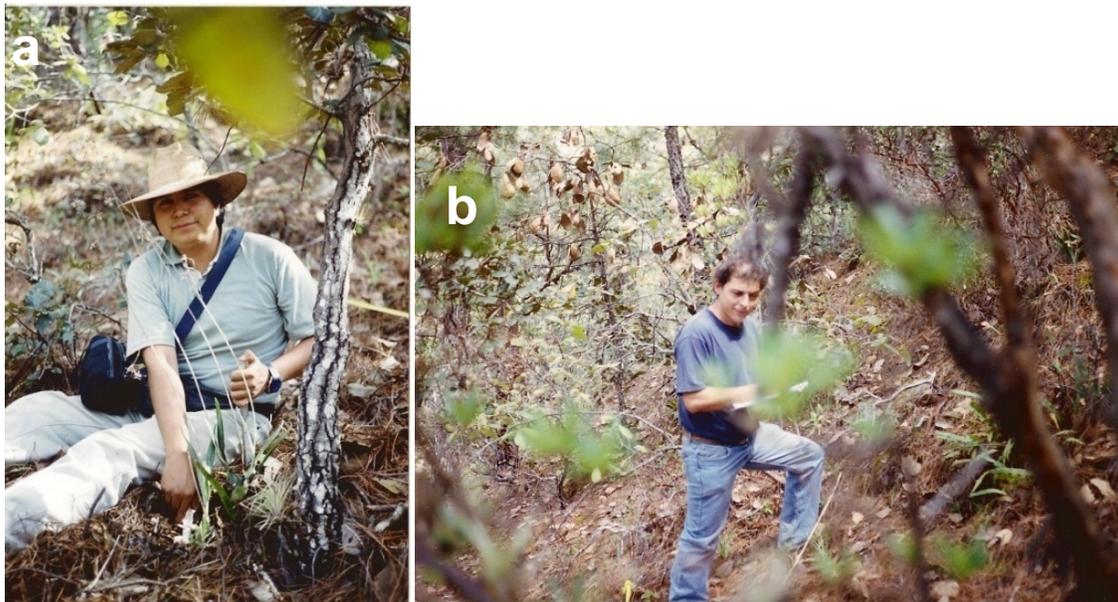


Figura 17. a) Medición de la altura del pseudobulbo, diámetro del pseudobulbo, número por pseudobulbo, altura de la hoja mayor, número de hijuelos, presencia de inflorescencia y referencias del objeto más cercano. b) toma de datos en campo.

4.2.3.3. Categorización

Se hizo una categorización de los individuos de *Prosthechea michuacana* en base en las estructuras morfológicas, que incluyó las siguientes categorías: plántula (sin pseudobulbo, si se presentaba con una altura entre 0 y 3.9 cm y diámetro de 0 y 1.9 cm, sin hojas bien desarrolladas); juvenil (presencia de pseudobulbo con una altura de 4 a 4.5 cm y diámetro de 2 a 2.9 cm, en ocasiones con una hoja bien desarrollada); adulto no reproductivo (presencia de pseudobulbo con altura de 4.6 a 5.5 cm y diámetro de 3 a 3.4 cm, en ocasiones con 2 ó 3 hojas bien desarrolladas); adulto reproductivo (presencia de pseudobulbo con una altura de 5.6 a 11 cm, diámetro de 3.5 a 5 cm, con 4 ó 5 hojas bien desarrolladas, escapo o inflorescencia desarrolladas). Con estos datos se determinó la estructura de cada población y número de individuos por colonia.

V. Resultados

5.1. Estudio farmacológico

5.1.1. Actividad antiinflamatoria determinada en el modelo de edema inducido con TPA

El valor del peso del edema, su error estándar y el porcentaje de inhibición de las pruebas de la actividad antiinflamatoria se presentan en la Tabla 1. Los porcentajes de inhibición fueron negativos en los extractos de hojas-agua (-48.83), hojas-hexano (-39.53), hojas-metanol (-30.23), rizoma-cloroformo (-20.93), rizoma-agua (-58.14), rizoma-metanol (-39.53), seudobulbo-cloroformo (-20.93) y seudobulbo-agua (-58.14), por lo que fueron tomados como s/a, es decir, sin actividad antiinflamatoria. Los extractos de hojas-cloroformo (34.88), rizoma-hexano (34.88), seudobulbo-hexano (25.58) y seudobulbo-metanol (16.27) mostraron valores de inhibición positivos, es decir, con actividad antiinflamatoria. El tratamiento con el bálsamo blanco presentó el porcentaje de inhibición más alto (72.09).

El promedio del peso del edema con bálsamo blanco fue menor cuando se compara con los demás extractos, presentándose una gran variación dentro de cada tratamiento y entre los tratamientos. Los extractos de hojas-cloroformo, hojas-agua, hojas-hexano, hojas-metanol, rizoma-cloroformo, rizoma-agua, rizoma-metanol, seudobulbo-cloroformo y seudobulbo-agua produjeron una mayor inflamación en lugar de desinflamar.

El análisis de varianza indicó que no existen diferencias significativas en el peso promedio de edemas entre los diferentes tratamientos probados para la actividad antiinflamatoria, valor de con una $F_{13, 71} = 1.67$. Así mismo, el análisis de varianza no mostró diferencias significativas entre los porcentajes de inhibición de los extractos con actividad antiinflamatoria, valor de $F_{4, 20} = 0.65$.

Tabla 1. Valores promedio y error estándar para la actividad antiinflamatoria de los extractos de *Prosthechea michuacana*.

Extractos	Edema (mg, M \pm ESM)	Inhibición (% \pm ESM)
Control	0.215 \pm 2.84e-5	
Bálsamo blanco	0.06 \pm 0.067	72.09 \pm 31.54
Hojas CHCl ₃	0.14 \pm 0.06	34.88 \pm 27.90
Hojas H ₂ O	0.32 \pm 0.058	s/a
Hojas Hexano	0.3 \pm 0.083	s/a
Hojas MeOH	0.28 \pm 0.091	s/a
Rizoma CHCl ₃	0.26 \pm 0.074	s/a
Rizoma H ₂ O	0.34 \pm 0.087	s/a
Rizoma Hexano	0.14 \pm 0.050	34.88 \pm 23.71
Rizoma MeOH	0.3 \pm 0.10	s/a
Seudobulbo CHCl ₃	0.26 \pm 0.067	s/a
Seudobulbo H ₂ O	0.34 \pm 0.04	s/a
Seudobulbo Hexano	0.16 \pm 0.050	25.58 \pm 23.71
Seudobulbo MeOH	0.18 \pm 0.048	16.27 \pm 22.78

M: media, ESM: error estándar de la media, %: porcentaje inhibición, s/a: sin actividad. n: 5

5.1.2. Actividad cicatrizante

En la prueba de cicatrización los efectos más notables se presentaron en los grupos de ratas tratados con extractos de seudobulbo-cloroformo, rizoma-cloroformo y seudobulbo-metanol, presentando una cicatriz con menor abertura de la herida respecto al grupo control (Tabla 2).

En la Tabla 2 se observa que hubo una mayor actividad de cicatrización sobre las heridas en ratas con los extractos de *P. michuacana* en comparación con los tratamientos control y debrisan.

El análisis de varianza mostró diferencias significativas en el valor medio de la longitud de la cicatriz entre los grupos tratados, valor de $F_{7, 32} = 4.77$.

Tabla 2. Valores promedio y error estándar para la actividad cicatrizante de los extractos de *Prosthechea michuacana*.

Extracto	Longitud de cicatriz (mm)
	(M ± SEM)
Control	3.8 ± 0.9695
Debrisan	6 ± 1.2247
Rizoma CHCl ₃	11.8 ± 1.1576
Rizoma Hexano	10.6 ± 0.9798
Rizoma MeOH	8 ± 2.1448
Seudobulbo CHCl ₃	11.6 ± 1.6000
Seudobulbo Hexano	6.2 ± 1.4629
Seudobulbo MeOH	10.6 ± 1.0296

M: media, SEM: error estándar de la media. n: 5

Tabla 3. Prueba de Tukey para comparar los valores medios de la actividad cicatrizante de los extractos de *Prosthechea michuacana* en heridas ocasionadas a ratas.

Extractos	q*		Alpha
	3.23930		0.05
Extractos	Nivel	Media	
Rizoma CHCl ₃	A	11.80	
Seudobulbo CHCl ₃	A	11.60	
Rizoma Hexano	A	10.60	
Seudobulbo MeOH	A	10.60	
Rizoma MeOH	A	B	8.00
Seudobulbo Hexano	A	B	6.20
Debrisan	A	B	6.00
Control		B	3.80

La prueba de Tukey (valor de 3.23 y nivel de significancia del 0.05) indicó tres grupos de datos: el primero con un efecto cicatrizante alto formado por los extractos de rizoma-cloroformo, pseudobulbo-cloroformo, rizoma-hexano y pseudobulbo-metanol; el segundo compuesto por los extractos de rizoma-metanol, pseudobulbo-hexano y debrisan, con un efecto cicatrizante medio; el tercero formado sólo por el grupo control que carece del efecto cicatrizante (Tabla 3).

5.1.3. Actividad hipoglucemiante

Los diferentes extractos de *P. michuacana* mostraron un efecto positivo en la disminución del nivel de glucosa sanguínea en ratones (Tabla 4). El efecto hipoglucemiante en las primeras dos horas después de la aplicación de los extractos lo presentaron los grupos de ratones tratados con hojas-cloroformo, hojas-hexano, rizoma-cloroformo, rizoma-hexano, rizoma-metanol y pseudobulbo-agua. A las cuatro horas después de la aplicación del tratamiento el efecto hipoglucemiante correspondió a los extractos hojas-cloroformo, rizoma-cloroformo, rizoma-hexano, rizoma-metanol, pseudobulbo-cloroformo y pseudobulbo-agua. Algunos extractos tuvieron efecto a las dos y cuatro horas después de la aplicación, aunque con pérdida de efecto en la última medición (hojas-cloroformo, rizoma-cloroformo, rizoma-hexano, rizoma-metanol y pseudobulbo-agua). Los extractos de rizoma, excepto rizoma-agua, mostraron un efecto constante en las dos mediciones.

El análisis de varianza para los valores de la prueba de actividad hipoglucemiante, a las dos horas de aplicado el tratamiento mostró diferencias significativas entre los valores de la media, valor de $F_{12, 52} = 16.88$.

Tabla 4. Niveles medios de glucosa sanguínea y error estándar obtenidos en los tratamientos para evaluar la actividad hipoglucemiante de los extractos de *Prosthechea michuacana*.

Extracto	Concentración media (mg dl ⁻¹) ± ESM		
	0 hrs	2 hrs	4 hrs
Control	110 ± 0	110 ± 0	110 ± 0
Hojas CHCl ₃	110 ± 0	94 ± 9.7980	106 ± 9.798
Hojas H ₂ O	110 ± 0	110 ± 0	110 ± 0
Hojas Hexano	110 ± 0	94 ± 9.7980	110 ± 0
Hojas MeOH	110 ± 0	110 ± 0	110 ± 0
Rizoma CHCl ₃	110 ± 0	56 ± 6	78 ± 4.899
Rizoma H ₂ O	110 ± 0	110 ± 0	110 ± 0
Rizoma Hexano	110 ± 0	70 ± 0	70 ± 0
Rizoma MeOH	110 ± 0	70 ± 0	78 ± 8
Seudobulbo CHCl ₃	110 ± 0	110 ± 0	106 ± 4
Seudobulbo H ₂ O	110 ± 0	86 ± 7.4833	90 ± 14.142
Seudobulbo Hexano	110 ± 0	110 ± 0	110 ± 0
Seudobulbo MeOH	110 ± 0	110 ± 0	110 ± 0

Los valores están dados en mg dl⁻¹, M: media, ESM: error estándar de la media. n: 5

El análisis de medias por la prueba de Tukey (valor de $q = 3.47$) para los valores de la actividad hipoglucemiante de los extractos, a las dos horas de aplicados los tratamientos mostró cuatro niveles, en los que se reconocieron cinco grupos de valores: un grupo con efecto hipoglucemiante alto formado por el extracto de rizoma-cloroformo; un segundo grupo integrado por los extractos de rizoma-metanol y rizoma-hexano; un tercer grupo con un efecto hipoglucemiante medio constituido por el extracto de pseudobulbo-agua; un cuarto grupo con menor efecto formado por los extractos de hojas-cloroformo y hojas-hexano; y un quinto grupo que incluyó los extractos que no mostraron efecto hipoglucemiante (Tabla 5).

El análisis de varianza de la prueba para la actividad hipoglucemiante a las cuatro horas de aplicado el tratamiento indicó que existen diferencias significativas en los

valores de las medias de los diferentes niveles de glucosa sanguínea, valor de $F_{12, 52} = 7.42$.

La prueba de Tukey ($q = 3.47$) para los valores de la actividad hipoglucemiante de los extractos a las cuatro horas de aplicados los tratamientos mostró dos niveles con tres agrupaciones, uno para los extractos de rizoma-hexano, rizoma-cloroformo y rizoma-metanol, otro para el extracto de seudobulbo-agua, y uno más integrado por el resto de los que no tuvieron efecto hipoglucemiante (Tabla 6).

Tabla 5. Prueba de Tukey para los valores de actividad hipoglucemiante a las dos horas de aplicados los extractos a los ratones.

q*		Alpha
3.47083		0.05
Extractos	Nivel	Media
Control	A	110.00
Hojas MeOH	A	110.00
Hojas H2O	A	110.00
Seudobulbo CHCl3	A	110.00
Seudobulbo Hexano	A	110.00
Rizoma H2O	A	110.00
Seudobulbo MeOH	A	110.00
Hojas CHCl3	A B	94.00
Hojas Hexano	A B	94.00
Seudobulbo H2O	B C	86.00
Rizoma MeOH	C D	70.00
Rizoma Hexano	C D	70.00
Rizoma CHCl3	D	56.00

Tabla 6. Prueba de Tukey para los valores de actividad hipoglucemiante a las cuatro horas de aplicados los extractos a ratones.

	q*	Alpha	
	3.47083	0.05	
Extractos	Nivel	Media	
Control	A	110.00	
Hojas MeOH	A	110.00	
Hojas H2O	A	110.00	
Hojas Hexano	A	110.00	
Seudobulbo Hexano	A	110.00	
Rizoma H2O	A	110.00	
Seudobulbo MeOH	A	110.00	
Hojas CHCl3	A	106.00	
Seudobulbo CHCl3	A	106.00	
Seudobulbo H2O	A	B	90.00
Rizoma MeOH		B	78.00
Rizoma CHCl3		B	78.00
Rizoma Hexano		B	70.00

5.2. Estudio etnobotánico

De la información obtenida en las entrevistas de mercado se señalan tres usos para *P. michuacana*, alimenticio, medicinal y ornamental. Se recomienda el uso del seudobulbo como alimento, masticándolo en crudo para saciar la sed, de igual manera el seudobulbo es recomendado para el uso medicinal de la especie, que consiste en sus propiedades antiinflamatorias para los riñones, como depurativo del sistema circulatorio (diurético), calmante y para aliviar los efectos provocados por una intoxicación alcohólica (cruda) con la preparación de un licuado hecho con los seudobulbos y un poco de agua. La planta completa como ornamental se usa para adornar el conocido “nacimiento” en la época decembrina. La parte de la planta de *P. michuacana* que más se utiliza es el seudobulbo, los nombres comunes que se aplican a esta especie es distinta en cada región y comunidad (Tabla 7).

Tabla 7. Cuadro comparativo con información de los usos y nombres comunes reportados en la literatura para *Prosthechea michuacana*.

Usos	Parte utilizada	Forma de uso	Zona geográfica y grupo étnico	Nombre común	Referencia bibliográfica
Alimento	Seudobulbo	Masticado o preparado en licuado	Oaxaca (mixtecos y zapotecos)	Aguanoso (zapotecos)	Hágsater <i>et al.</i> (2005); Salazar <i>et al.</i> (2006), Padilla (2007). Cervantes-Reyes M. A. 30.
Medicinal	Seudobulbo	Masticado o preparado en licuado	Oaxaca (mixtecos)	Tin-du-teé: lirio de agua (mixtecos)	Cervantes-Reyes M. A. 26 y 30.
Ornamental	Planta entera	Ornamental	Oaxaca (mixtecos y zapotecos)	Aguanoso (zapotecos) Shrischi (zapotecos) y Bolas de viejo (zapotecos)	Rees (1976); Caballero <i>et al.</i> (2004); Padilla (2007).

5.3. Estudio poblacional

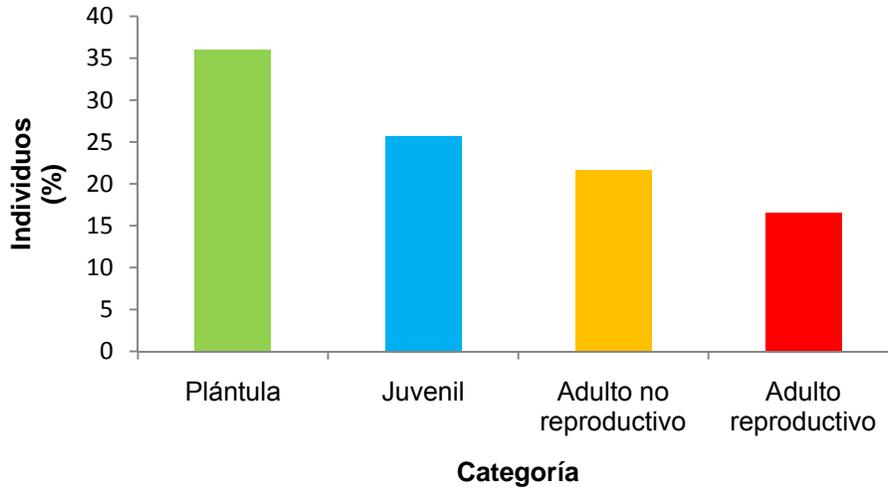
La muestra de la población de *P. michuacana* en San Pedro Tidaá, Nochixtlán está formada por 798 individuos de los cuales fueron contabilizados 287 en categoría plántulas (36%), 205 en la categoría juvenil (25.7%), 173 en adulto no reproductivo (21.7%) y 133 categoría adulto reproductivo (16.6%) (Tabla 8 y gráfica 1).

En Santa Catarina Ixtepeji, Ixtlán, la muestra poblacional está formada por 653 individuos, 164 en la categoría plántulas (25.1%), 144 en juveniles (22%), 142 en adulto no reproductivo (21.8) y 203 en categoría adulto reproductivo (31.1%) (Tabla 8 y gráfica 2).

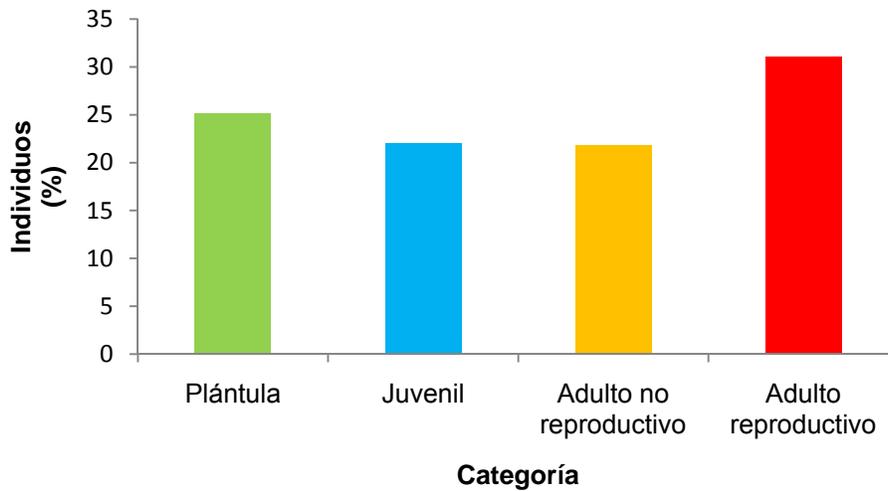
Tabla 8. Categorías de edad para las poblaciones estudiadas de *Prosthechea michuacana*.

Categoría	Características	Seudobulbo		Número de individuos	
		Rango de altura (cm)	Rango de diámetro (cm)	San Pedro Tidaá	Santa Catarina Ixtepeji
Plántula	Seudobulbo no desarrollado 0 hojas maduras	0-3.9	0-1.9	287	164
Juvenil	Seudobulbo desarrollado 1 hoja madura	4-4.5	2-2.9	205	144
Adulto no reproductivo	Seudobulbo desarrollado 2-3 hojas maduras	4.6-5.5	3-3.4	173	142
Adulto reproductivo	Seudobulbo desarrollado 4-5 hojas maduras Escapo Inflorescencia	5.6-11	3.5-5	133	203
				Total: 798	Total: 653

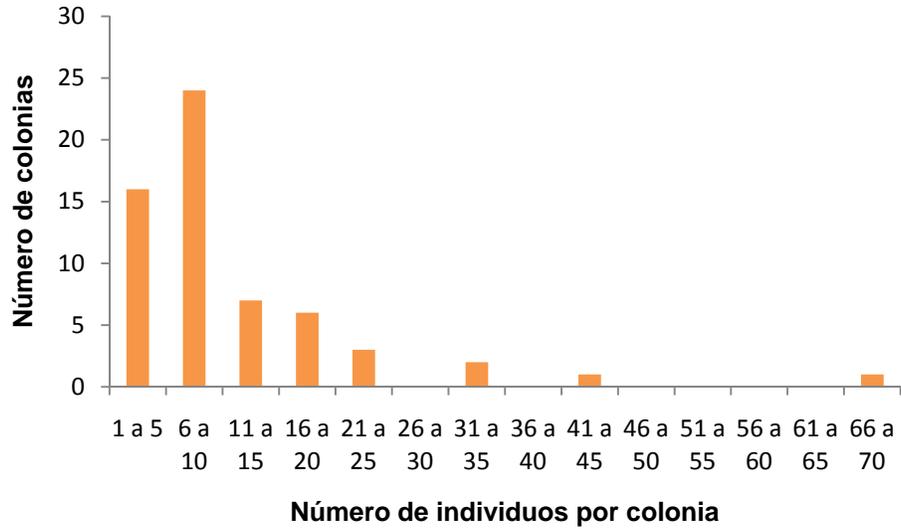
Las plántulas son las de mayor porcentaje en San Pedro Tidaá, por lo que existe reclutamiento de individuos. En Santa Catarina Ixtepeji también es elevado el porcentaje de plántulas, pero la categoría de adulto reproductivo tiene un porcentaje mayor (31.1).



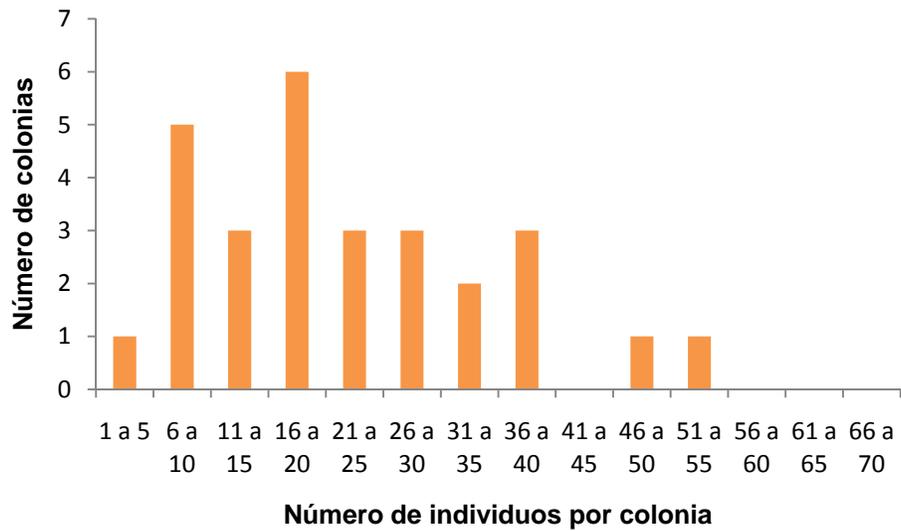
Gráfica 1. Porcentaje de individuos por categoría de edad en la población de San Pedro Tidaá.



Gráfica 2. Porcentaje de individuos por categoría de edad en la población de Santa Catarina Ixtepeji.



Gráfica 3. Distribución de tamaño (en número de individuos) de las colonias en la población de San Pedro Tidaá.



Gráfica 4. Distribución de tamaño (en número de individuos) de las colonias en la población de Santa Catarina Ixtepeji.

A nivel de agrupamientos (posibles colonias o clones de individuos) la muestra de la población de San Pedro Tidaá tiene 60 colonias y la de Santa Catarina Ixtepeji tiene 28. El número de individuos que se integraron los grupos o colonias es diferente en las dos poblaciones (Gráficas 3 y 4). En San Pedro Tidaá predominaron las colonias con un número de 6 a 10 individuos (24), seguido de colonias de 1 a 5 individuos (16) (Gráfica 3). En la muestra de la población de Santa Catarina Ixtepeji predominaron las colonias integradas por 16 a 20 individuos (6), seguidas de colonias de 6 a 10 individuos (5) (Gráfica 4).

VI. Discusión

La actividad antiinflamatoria en orquídeas ha sido poco estudiada. Entre los estudios se encuentra el realizado por Zhao *et al.* (2003) para la purificación de fenantraquinonas y un bibenzil glicosido de *Dendrobium moniliforme*; el elaborado por Lin *et al.* (2001), quienes aislaron Denbinodin (quinona) en la misma especie; este compuesto también se ha encontrado en otras orquídeas, como *D. nobile*, *Ephemerantha lonchophylla* y *E. fimbriata*, que son utilizadas en la medicina tradicional china; en tanto, Wang *et al.* (2006) aislaron estilbenos de *Pholidota chinensis*.

Los extractos de hojas-cloroformo, rizoma-hexano, pseudobulbo-hexano y pseudobulbo-metanol mostraron que *Prosthechea michuacana* tiene actividad antiinflamatoria, lo cual validan su uso en la medicina tradicional.

En este estudio el modelo de edema inducido por TPA fue aplicado por primera vez con extractos de *P. michuacana*, considerando que varios de ellos presentaron actividad antiinflamatoria, es conveniente que aislé e identifique a los compuestos activos responsables para aplicarlos en distintas concentraciones, pues en este trabajo los extractos probados no tuvieron ningún proceso de separación y aislamiento.

Las orquídeas que han sido estudiadas hasta ahora por su actividad cicatrizante son muy pocas. Solo se conoce el efectuado en una orquídea de México por Zenteno *et al.* (1995), quienes aislaron una lectina con actividad hemaglutinante (propiedad de aglomerar glóbulos rojos) de los pseudobulbos de *Laelia autumnalis*. No se obtuvo conocimiento etnobotánico del uso cicatrizante para esta especie.

En el presente estudio los extractos de rizoma y pseudobulbo de *P. michuacana* realizados con cloroformo, hexano y metanol, mostraron actividad cicatrizante en heridas de ratas mayor o igual a la del medicamento comercial debrisan, presentando una mejor recuperación del tejido epidérmico. Es factible que el principio activo que es responsable de la actividad cicatrizante se encuentre en los

órganos de almacenamiento de la planta, rizoma y pseudobulbo. Sin embargo, también es posible que los extractos no tengan un efecto directo en la generación de la cicatriz, sino que éstos solo ayuden a obtener las condiciones óptimas de limpieza del tejido y promover una buena cicatrización, debido a que el proceso de cicatrización, como lo menciona Guyton y Hall (2006), es un proceso frágil y susceptible de interrumpirse y fallar, pudiendo producirse heridas crónicas con problemas de cicatrización por factores que ya han sido mencionados por Enoch y Price (2004): diabetes, enfermedades de las venas o arterias, edad avanzada e infecciones. Cabe mencionar que en nuestros experimentos no se indujo ninguna de las condiciones antes mencionadas. Si bien los resultados validan la actividad cicatrizante de *Prosthechea michuacana*, aún es necesario que se realice la investigación para aislar los compuestos responsables de la actividad.

Solo se conoce de un estudio que reporta la actividad hipoglucemiante en la familia de las orquídeas, el de Watanabe *et al.* (2007), quienes aislaron y determinaron la estructura molecular de la cimbidina A y B, un peptidoglicano monomérico con actividad hipotensora y diurética que fue obtenida de *Cymbidium goeringii*. Este estudio evaluó la actividad hipotensora a través de la inducción de estados hipertensivos en ratas provocados al aplicarles desoxycorticosterona acetato (DCA).

Se ha demostrado en ensayos *in vitro* que las isoflavonas producen una disminución de los receptores hepáticos de insulina y una disminución en su afinidad por la insulina (Carretero, 2001). *P. michuacana* posiblemente no presente este efecto ya que los resultados de todos los tratamientos para la actividad hipoglucemiante mostraron que los niveles de glucosa serían mayores al control.

Los extractos de rizoma (cloroformo, hexano y metanol) de la prueba hipoglucemiante mostraron el mejor efecto a las 2 y 4 horas, indicando que los compuestos responsables de dicha actividad posiblemente se encuentran en este órgano vegetal. Si bien el extracto de pseudobulbo-agua mostró actividad

hipoglucemiante, mientras que para las hojas solo se presentó esta actividad en el extracto de cloroformo, ésta puede deberse a la movilidad de los compuestos producidos, incluyendo los metabolitos en las hojas, los cuales son transportados al pseudobulbo, órgano de almacenamiento, y rizomas, estructuras de reserva en orquídeas terrestres. Cabe destacar que la pruebas con los extractos de rizomas (excepto rizoma agua) mostraron actividad a los dos tiempos de lectura (2 y 4 hrs), mientras que las de hojas solo a las 2 horas. Esto puede implicar que la concentración del (los) compuesto (s) responsable (s) sea mayor en los rizomas y en las hojas a causa de la movilidad mencionada con anterioridad. Esa baja concentración ocasiona que los mecanismos de equilibrio del ratón restablezcan sus condiciones normales a las 4 horas. En el caso de pseudobulbos, al ser una estructura de almacenamiento, no fue suficiente el tiempo de 2 horas para restablecer el equilibrio.

Como en este estudio no se aislaron las sustancias activas responsables de la actividad hipoglucemiante de *Prosthechea michuacana*, se puede mencionar los posibles grupos de compuestos causantes de esta actividad farmacológica. Las C-glucosilflavonas han sido aisladas en miembros de la familia Orchidaceae y se menciona que tienen uso como marcadores taxonómicos (Williams, 1979 y Williams *et al.*, 1994). Las flavonas y compuestos relacionados muestran actividad frente a los microorganismos, probablemente forman complejos con las proteínas solubles y extracelulares y con las células de la pared bacteriana, de forma similar a las quinonas (Domingo y López-Brea, 2003), produciendo un acción antimicrobiana y antiviral. Las flavonas también pueden evitar la contaminación por hongos y por bacterias para evitar infecciones en la planta. Las C-glucosilflavonas y flavonas pertenecen al grupo de los flavonoides que están ampliamente distribuidos entre las plantas con flor, abundan en las partes aéreas jóvenes y más expuestas al sol, como hojas, frutos y flores, debido a que la luz favorece su síntesis (López, 2002); su acción farmacológica se lleva a cabo principalmente sobre el sistema vascular con acción vitamínica P (efecto protector de la pared vascular, debido a la disminución de permeabilidad y al aumento de la

resistencia de los capilares), tienen efecto antioxidante, puede inhibir la peroxidación lipídica, posee efectos antimutagénicos y capacidad para inhibir diversas enzimas, se han reportado otras propiedades farmacológicas para las flavonas como diurética, antiespasmódica, antiulcerosa gástrica y antiinflamatoria (López, 2002).

Prosthechea michuacana mostró actividad antiinflamatoria únicamente en el tratamiento de hojas-cloroformo, y en la actividad hipoglucemiante en los extractos de hojas-cloroformo y hexano a las 2 hrs después de la aplicación, mostrando que las actividades farmacológicas no se presentaron en todos los extractos probados de partes aéreas.

Los estilbenos son otro grupo de sustancias que se han identificado en *Maxillaria densa* y *Nidema boothii*, orquídeas mexicanas con actividad fitotóxica y espasmolítica (Estrada *et al.*, 1999a, 1999b, 2004 y Hernández *et al.* 2004); éstas sustancias tienen actividad antioxidante, antibacteriana y antifúngica. *P. michuacana* mostró actividad cicatrizante en todos los extractos de pseudobulbo y rizoma, por lo que puede ser probable que las sustancias responsables de esta actividad sean los estilbenos.

Los fenantrenos son otras sustancias cuya presencia se ha reportado en orquídeas, al igual que los estilbenos con actividad espasmolítica, son sustancias que pertenecen al grupo de los alcaloides conocidos como apíodes (Stermitz *et al.*, 1983), los cuales se consideran como agonistas del sistema nervioso central como la morfina, codeína y tubeína, que tienen un efecto analgésico esteroide. Los resultados de las actividades antiinflamatoria, cicatrizante e hipoglucemiante de *P. michuacana* no descartan que los fenantrenos sean los responsables de ellas, sin embargo, los resultados del estudio etnobotánico no menciona que esta especie sea utilizada como tranquilizante o agonista.

La información etnobotánica de *P. michuacana* se limita a los usos ornamental y comestible de la planta. El uso ornamental y los nombres comunes de la especie empleado por los zapotecos ya han sido reportados por Rees (1976) (“aguanoso”

comercializado para adornar los conocidos “nacimientos”), Caballero *et al.* (2004) (“aguanoso”, “shrischi”) y Padilla (2007) (“bolas de viejo”). El uso comestible de la planta ha sido señalado por Hágater *et al.* (2005), Salazar *et al.* (2006) y Padilla (2007). En las entrevistas de mercado, además de los usos ya reportados, se menciona el uso medicinal y nombre en mixteco “tin-du-teé” por los pobladores y mercaderes de San Pedro Tidaá por primera vez para la especie en estudio. Durante las entrevistas fue evidente que los zapotecos sólo utilizan esta especie con fines ornamentales y comestibles, mientras que los mixtecos la utilizan en la medicina tradicional. Si bien, el interés principal de las orquídeas como grupo es el ornamental debido a la belleza y color de sus flores, ya se ha reportado su uso en la medicina tradicional mexicana por del Amo (1979), Mendieta y del Amo (1981), Aguilar *et al.* (1994), Hágater *et al.* (2005) y Salazar *et al.* (2006).

Comparando las poblaciones de *Prosthechea michuacana* en San Pedro Tidaá y Santa Catarina Ixtepeji, en la primera se presentó un menor número de individuos adultos en estado reproductivo. Esto puede deberse a que esta población está sometida a una mayor extracción de especímenes que la de San Pedro Tidaá, donde son tomados los organismos de mayor tamaño sin importar flores, posiblemente porque son pequeñas, poco vistosas y la floración apenas está surgiendo cuando son extraídas las plantas. El aparente mayor recuperación de individuos en San Pedro Tidaá puede relacionarse con esta extracción de organismos de categoría adulta, lo que promueve la propagación sexual. En San Pedro Tidaá predominan colonias de pocos individuos (< 10), lo que indica una posible reproducción asexual a corto o mediano plazo, mientras que en Santa Catarina Ixtepeji predominan colonias de mayor número de individuos, lo que puede indicar que un hecho similar de recuperación de la población esté sucediendo en un periodo de tiempo más prolongado. A eso puede deberse el menor número de individuos actual por unidad de área, al estar en proceso de recuperación. El bajo número de individuos de la categoría de plántula en Santa Catarina Ixtepeji también puede deberse a la extracción de individuos (organismos con semilla y con hijuelos) para su venta.

VII. Conclusiones

Los extractos de *Prosthechea michuacana* de hojas-cloroformo, rizoma-hexano, seudobulbo-hexano y seudobulbo-metanol mostraron actividad antiinflamatoria, los extractos de rizoma-cloroformo, rizoma-hexano, rizoma-metanol, seudobulbo-cloroformo, seudobulbo-hexano, seudobulbo-metanol con actividad cicatrizante y los extractos de hojas-cloroformo, hojas-hexano, rizoma-cloroformo, rizoma-hexano, rizoma-metanol y seudobulbo-agua con actividad hipoglucemiante.

Se desconocen aún las sustancias responsables de la actividad antiinflamatoria, cicatrizante e hipoglucemiante que están presentes en *P. michuacana*, pero probablemente éstos sean flavonoides y estilbenos, los cuales están relacionados con esas mismas propiedades en otras especies de orquídeas.

P. michuacana es una orquídea que tiene usos ornamental (para decorar los “nacimientos” de navidad), comestible (para saciar la sed y quitar la “cruda”) y medicinal (antiinflamatorio de riñones, depurativo y calmante). En Oaxaca esta especie es extraída de su hábitat y expandida en los mercados tradicionales durante los meses de noviembre y diciembre. Es conocida comúnmente como aguanoso por poblaciones zapotecos, bolas de viejo por habitantes de San Pablo, Etna, shrischi (zapoteco) y tin-du-teé (mixteco).

La población de *P. michuacana* de San Pedro Tidaá presentó un mayor porcentaje de individuos en la categoría de plántula y el menor porcentaje en la de adulto reproductivo mientras que en la población de Santa Catarina, Ixtepeji el número de individuos en la categoría adulto reproductivo fue mayor a la de plántulas. La extracción de individuos con hijuelos origina que las poblaciones de Santa Catarina se reduzcan, debido a que no existe reclutamiento, ni colonias nuevas de orquídeas.

Recomendaciones

Debido a que *Prosthechea michuacana* tiene un gran potencial farmacológico, mostrado en las pruebas realizadas, esta especie solo se conoce como planta silvestre y sería recomendable realizar Es importante conocer más sobre su biología y estudios demográficos, tomando datos anuales y realizando matrices de proyección poblacional. Se sugiere estudiar y definir el modelo de crecimiento, forma de expansión vegetativa, cuando existe reproducción sexual y en que parte de la planta, así como reproducirla con técnicas *in vitro* y tradicionales, y realizar estudios de germinación, sobrevivencia, propagación y conservación con fines de aprovechamiento.

En San Pedro Tidaá y Santa Catarina Ixtepeji se recomienda cuidar la extracción de individuos de categoría adulto reproductivo e individuos con cápsulas.

Bibliografía

- Aguilar A., Camacho J. R., Chino S., Jácquez P. y M. E. López. 1994. Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. Información etnobotánica. Instituto Mexicano del Seguro Social (Edit). México, 253 p.
- Aguirre-León E. 1990. Epífitas. *In* [Manual de herbario]. Antonio Lot y Fernando Chiang (Compiladores). Consejo Nacional de la Flora de México A. C., México, 113-119 pp.
- Anaya L. A. L. y F. J. Espinosa. 2006. La química que entreteje a los seres vivos. CIENCIAS 83: 4-13.
- Álvarez L. R. 1994. Geografía General del Estado de Oaxaca. Carteles (Eds.), 2^a Edición. Oaxaca, México, 456 pp.
- Atwood, J. T. 1986. The size of the Orchidaceae and systematic distribution of epiphytic orchids. *Selbyana* 9: 171-186.
- Brzosko E. 2002. Dynamics of island populations of *Cypripedium calceolus* in the Biebrza river valley (north-east Poland). *Botanical Journal of the Linnean Society* 139: 67-77.
- Bye R. y E. Linares. 1983. The role of plants found in the mexican markets and their important in the ethnobotanical studies. *Journal of ethnobiology*. Vol. 3. (7): 1-13.
- Bythrow J. D. 2005. Vanilla as a medicinal plant. *Semin. Integr. Med.* 3: 129-131.
- Caballero J., Cortés L., Martínez-Alfaro M. A. y R. Lira. 2004. Uso y manejo tradicional de la diversidad vegetal. *In* A. J. García-Mendoza, M. J. Ordoñez y M. Briones-Salas (eds.): Biodiversidad de Oaxaca. Instituto de Biología, UNAM-Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza, México-World Wildlife Fund, México, pp. 541-564.
- Carretero A. M. E. 2001. Las isoflavonas: utilidades y necesidades de control farmacéutico. *Panorama Actual Med.* 25 (244): 564-567.

- Chang H. Y., Sneddon J. B., Alizadeh A. A., Sood R., West R. B., Montgomery K., Chi J. T., Van de Rijn M., Botstein D. y P. O. Brown. 2004. Gene Expression Signature of Fibroblast Serum Response Predicts Human Cancer Progression: Similarities between Tumors and Wounds. *Public Library of Science* 2 (2).
- Chen C-C. 1994. Antiplatelet aggregation principles of *Dendrobium loddigesii*. *Journal of Natural Products* 57(9): 1271-1274.
- Choi J-H. y D-U. Lee. 2006. A new citryl glycoside from *Gastrodia elata* and its inhibitory activity on GABA transaminase. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 54 (12): 1720-1721.
- del Amo R. S. 1979. Plantas medicinales del Estado de Veracruz. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. Xalapa, Veracruz. 279 p.
- Divakaran M., Babu K. N. y K. V. Peter. 2006. Conservation of *Vanilla* species, *in vitro*. *Scientia Horticulturae* 110: 175-180.
- Domingo D. y M. López-Brea. 2003. Plantas con acción microbiana. *Revista Española de Quimioterapia* 16(4): 385-393.
- Enoch S. y P. Price. 2004. Cellular, molecular and biochemical differences in the pathophysiology of healing between acute wounds, chronic wounds and wounds in the elderly. <http://www.worldwidewounds.com/2004/august/Enoch/Pathophysiology-Of-Healing.html>.
- Espejo-Soto A., López-Ferrari A. R., Machorro R. J. y L. Sánchez. 2005. Las orquídeas de los cafetales de México: una opción para el uso sostenible de ecosistemas tropicales. *Revista de Biología Tropical* 53(1-2): 73-84.
- Estrada-Soto A., Rojas A., Mathison Y., Israel A. y R. Mata. 1999a. Nitric oxide/cGMP mediates the spasmolytic action of 3,4'-dihydroxy-5,5'-dimethoxybibenzyl from *Scaphyglottis livida*. *Planta Medica*. 65: 109-114.
- Estrada-Soto A., Toscano R. A. y R. Mata. 1999b. New phenanthrene derivatives from *Maxillaria densa*. *Journal Natural Products*. 62: 1175-1178.

- Estrada-Soto A., López-Guerrero J. J., Villalobos-Molina R. y R. Mata. 2004. Spasmolytic stilbenoids from *Maxillaria densa*. *Fitoterapia* 75: 690-695.
- Estrada-Soto A., López-Guerrero J. J., Villalobos-Molina R. y R. Mata. 2006. Endothelium-independent relaxation of aorta rings by two stilbenoids from the orchids *Scaphyglottis lívida*. *Fitoterapia* Volume 77, Issue 3: 236-239.
- Fan C., Wang W., Wang Y., Qin G. y W. Zhao. 2001. Chemical constituents from *Dendrobium densiflorum*. *Phytochemistry* 57: 1255-1258.
- García-Cruz J., Sánchez L. M., Jiménez, R. y R. Solano. 2003. Tribu Epidendreae. In [Rzedowski J. y Calderon de Rzedowski G. (eds.)]: *Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes*. Fascículo 119. Instituto de Ecología A. C., Pátzcuaro, Michoacán. 173 pp.
- Garg, H. G. 2000. *Scarless Wound Healing*. New York Marcel Dekker, Inc. Electronic book.
- Gregg K. B. y M. Kéry. 2006. Comparison of size vs. Life-state classification in demographic models for the terrestrial orchid *Cleistes bifaria*. *Biological Conservation* 129: 50-58.
- Guyton A. C. y Hall J. E. 2006. *Textbook of Medicinal Physiology*. 11th Ed., Elsevier Saunders. Philadelphia, , Pennsylvania. 1116 pp.
- Hágsater E., Soto-Arenas M. A., Salazar-Chávez G. A., Jiménez-Machorro R., López-Rosas M. A. y R. L. Dressler. 2005. *Las Orquídeas de México*. Instituto Chinoín México, D.F. 304 pp.
- Hernández-Romero Y., Rojas J. I., Castillo R., Rojas A. y R. Mata. 2004. Spasmolytic effects, mode of action, and structure-activity relationships of stilbenoids from *Nidema boothi*. *Journal Natural Products*. 67: 160-167.
- Hernández-Romero Y., Acevedo L., Sánchez M. A., Shier W. T., Abbas H. K. y R. Mata. 2005. Phytotoxic activity of bibelzyl derivatives from the orchid *Epidendrum rigidum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 6276-6280.
- INEGI. 2005. *Anuario estadístico de Oaxaca, Tomo I, edición 2005*. México.

- Johnson M. K., Alexander K. E., Lindquist N. y G. Loo. 1999. A phenolic antioxidant from the freshwater orchid, *Habenaria repens*. Comparative biochemistry and physiology C-Pharmacology Toxicology & Endocrinology, 122: 211-214.
- Kéry M. y K. B. Gregg. 2004. Demographic analysis of dormancy and survival in the terrestrial orchid *Cypripedium reginae*. Journal of Ecology 92: 686-695.
- Kéry M. y K. B. Gregg. 2003. Effects of life-state on detectability in a demographic study of the terrestrial orchid *Cleistes bifaria*. Journal of Ecology 91: 265-273.
- Lin T-H., Chang S-J., Chen C-C., Wang J-P. y L-T. Tsao. 2001. Two phenanthraquinones from *Dendrobium moniliforme*. Journal Natural Products 64: 1084-1086.
- López L. T. 2002. Flavonoides. Fitoterapia 21(4): 108-114 pp.
- Madison, M. 1977. Vascular epiphytes: their systematic occurrence and salient features. Selbyana 2: 1-13.
- Manzanero G. I. 1995. Estudio de siete raíces medicinales frescas del mercado de Sonora. Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Distrito Federal, México. 173 pp.
- Martin G. J. 2001. Etnobotánica: manual de métodos. Editorial Nordan comunidad. WWF-UK, UNESCO, Royal Botanic Gardens, Kew, Reino Unido. 240 pp.
- Martínez-Alfaro M. A. 1984. Guía etnobotánica del mercado de Oaxaca. Guías de Excursiones Botánicas en México VII. IX Congreso Mexicano de Botánica. Sociedad Botánica de México. México. 41-49 pp.
- Martínez-Alfaro M. A., Evangelista O. V., Mendoza C. M., Morales G. G., Toledo O. G. and L. A. Wong. 1995. Catálogo de plantas útiles de la Sierra Norte de Puebla, México. Serie Cuadernos del Instituto de Biología, Cuadernos No. 27. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México D. F. 303 pp.
- Mendieta M. R. y S. del Amo. 1981. Plantas medicinales del Estado de Yucatán. Compañía Editorial Continental S. A. de C. V. México D. F. 428 pp.

- Midwood K. S., Williams L. V. y J. E. Schwarzbauer. 2004. Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. *Journal of Biochemistry & Cell Biology* 36(6): 1031-1037.
- Odum E. P. 2003. *Ecología*. Editorial McGraw-Hill-Interamericana. 3a. ed. México D. F. 639 pp.
- Padilla G. E. 2007. Estudio Ecológico y Etnobotánico de la Vegetación del Municipio de San Pablo Etla, Oaxaca. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario para la Investigación y Desarrollo Integral, Unidad Oaxaca (CIIDIR-Oaxaca), Instituto Politécnico Nacional (IPN), Oaxaca. 163 pp.
- Rees J. D. 1976. The Oaxaca christmas plant market. *Journal of Bromeliad Society*. 26(6): 223-232.
- Rodríguez J. M. y A. Gómez. 1996. La herbolaria en los mercados tradicionales. *México Desconocido*. 29: 8-17.
- Romero G. A. 1996. The Orchid Family (Orchidaceae). *In*: Hágsater, E. y V. Dumont (eds.): *Orchids Status Survey and Conservation Action Plan*. IUCN, Gland Switzerland and Cambridge, UK. 3-5 pp.
- Salazar G. A., Reyes J., Brachet C. y J. Pérez. 2006. Orquídeas y Otras Plantas Nativas de la Cañada Cuicatlán, Oaxaca, México. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Fundación para la Reserva de la Biosfera, Cuicatlán, A. C., Sociedad Mexicana de Cactología, A. C. y Comisión Federal de Electricidad. México D. F. 175 pp.
- Soto-Arenas M. A. y G. A. Salazar. 2004. Orquídeas. *In*: A. J. García-Mendoza, M. J. Ordóñez y M. Briones-Salas (eds.), *Biodiversidad de Oaxaca*. Instituto de Biología, UNAM-Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza-World Wildlife Fund., México, 271-295 pp.
- Soto-Arenas M. A., Hágsater E., Jiménez-Machorro R. y Solano-Gómez R. 2007. Orquídeas de México. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. P107. Herbario AMO-Instituto Chinoín A. C. y Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional-Unidad Oaxaca, Instituto Politécnico Nacional, México, D. F. 66 pp.

- Stermitz F. R., Suess, T. R., Schauer, K. y O. P. Anderson. 1983. New and old phenanthrene derivatives from *Oncidium cebolleta*, a peyote-replacement plant. *Journal Natural Products* 46 (3): 417-423.
- Téllez-Velasco, M. A. 2001. La etnobotánica de la familia Orchidaceae en México. Libro de resúmenes del IV Congreso Mexicano de Etnobiología. Huejutla, Hidalgo. 76 pp.
- Tovar-Gijón C. E., Hernández-Carlos B., Burgueño-Tapia E., Cedillo-Portugal E. y P. Joseph-Nathan. 2006. A new C-glucosylflavone from *Encyclia michuacana*. *Journal of Molecular Structure* 783: 96-100.
- Torres B. 1999. Plantas, curanderos y prospección biológica. *Ciencias* 55-56: 54-60.
- Torres R. 2004. Tipos de vegetación. In [A. J. García-Mendoza, M. J. Ordoñez y M. Briones-Salas (eds.)]: *Biodiversidad de Oaxaca*. Instituto de Biología, UNAM-Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza-World Wildlife Fund, México, D. F. 105-117 pp.
- Wang J., Matsuzaki K. y S. Kitanaka. 2006. Stilbene derivatives from *Pholidota chinensis* and their anti-inflammatory activity. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 54(8): 1216-1218.
- Watanabe K., Tanaka R., Sakurai H., Iguchi K., Yamada Y., Hsu C-S., Sakuma C., Kikuchi H., Shibayama H. y T. Kawai. 2007. Structure of cymbidine A, a monomeric peptidoglycan-related compound with hipotensive and diuretic activities, isolated from a higher plant, *Cymbidium goeringii* (Orchidaceae). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 55(5): 780-783.
- Williams C. A. 1979. The leaf flavonoides of Orchidaceae. *Phytochemistry* 18: 803.
- Williams C.A., Toscano de Brito A.L., Harborne J.B., Eagles J. y P. G. Waterman. 1994. Methylated C-glycosylflavones as taxonomic markers in orchids of the subtribe Ornithocephalinae. *Phytochemistry* 37: 1045-1053.

- Zhao C., Liu Q., Halaweish F., Shao B., Ye Y. y W. Zhao. 2003. Copacamphane, picrotoxane, and alloaromadendrane sesquiterpene glycosides and phenolic glycosides from *Dendrobium monoliforme*. Journal Natural Products 66: 1140-1143.
- Zenteno R., Chávez R., Portugal D., Páez A., Lascurain R. y E. Zenteno. 1995. Purification of a specific lectin from the orchid *Laelia autumnalis*. Phytochemistry 40(3): 651-655.