

Análisis fitoquímico y evaluación de la actividad antioxidante y antifúngica de *Asphodelus Fistulosus* L.

Pedro Israel Silva Martínez ¹, Gerardo Martínez Guajardo ²,
Mónica Imelda Martínez Acuña ³, Guillermo Quiñones Reyes ⁴

¹Universidad Autónoma de Zacatecas. Unidad Académica de Ciencia Químicas,
Maestría en Ciencia y Tecnología Química. Campus UAZ Siglo XXI
Carr. Zac. – Guad. Km. 6 Col. Ejido "La Escondida". Zacatecas, Zac., México C.P. 98160

²Universidad Autónoma de Zacatecas. Unidad Académica de Ciencia Químicas.
Campus UAZ Siglo XXI. Carr. Zac. – Guad. Km. 6, Col. Ejido "La Escondida",
Zacatecas, Zac., México C.P. 98160

³Universidad Autónoma de Zacatecas. Unidad Académica de Ciencia Químicas.
Laboratorio de Biomarcadores. Campus UAZ Siglo XXI.
Carr. Zac.- Guad. Km. 6 Col. Ejido "La Escondida". Zacatecas, Zac., México C.P. 98160

⁴Universidad Autónoma de Zacatecas. Unidad Académica de Ciencia Químicas,
Químico en alimentos. Campus UAZ Siglo XXI, Carr. Zac. – Guad. Km. 6,
Col. Ejido "La Escondida". Zacatecas, Zac. México C.P. 98160

pedrosilvamtz53@gmail.com

Resumen: Se presenta la investigación realizada hasta el momento con respecto al análisis fitoquímico de la planta *Asphodelus fistulosus*. En dicho trabajo se habla desde la cosecha de la planta, su procesamiento general para la obtención de los extractos, así como las diferentes pruebas fitoquímicas hechas para la comprobación preliminar de los extractos y poder compararla con los reportes en la literatura, tanto de la misma planta, como congéneres de esta, y la verificación de la presencia de compuestos fitoquímicos de interés, como flavonoides y antraquinonas. Los resultados expuestos en este trabajo están encaminados para obtener en análisis posteriores la caracterización química de cada uno de los compuestos analizados, comprobar su capacidad antioxidante y conocer su potencial como antifúngico.

Palabras clave: Extracts, plants, metabolites, phytochemicals

Abstract: The research carried out so far regarding phytochemical analysis of the *Asphodelus fistulosus* plant is presented. This work speaks from the harvest of the plant, its general processing for obtaining the extracts, as well as the different phytochemical tests made for the preliminary verification of the extracts and being able to compare it with the reports in the literature, both from the same plant, and congeners of it, and the verification of the presence of phytochemical compounds of interest, such as flavonoids and anthraquinones. The results exposed in this work are aimed at obtaining in subsequent analyses the chemical characterization of each of the compounds analyzed, check its antioxidant capacity and know its potential as an antifungal.

Keywords: Extractos, plantas, metabolitos, fitoquímicos

1. Introducción

La necesidad de encontrar agentes químicos para el control fitopatogénico de hongos que tengan un menor impacto en la salud humana, animal y, ha orillado al desarrollo de alternativas de origen natural, las cuales representan un menor impacto ambiental y económico, así como una menor exposición a productos nocivos [1].

Debido a esto, el aumento en el número de estudios etnobotánicos son de suma importancia, ya que, con estos, el conocimiento de uso tradicional de las plantas en conjunto con la modernidad de las técnicas químicas y biológicas, permiten un

crecimiento en el conocimiento sobre las plantas de estudio, permiten conocer en mayor medida su utilización, su actividad biológica, plantearse un mecanismo de acción y buscar nuevas virtudes y propósitos a la composición química de las plantas, en este caso la *Asphodelus Fistulosus*, de la que se conoce que tiene propiedades antifúngicas, atañidas a los metabolitos presentes en los extractos de esta planta, que principalmente son derivados de antraquinonas y flavonoides [2, 3].

Los estudios etnobotánicos están planteados en el seguimiento de varios pasos, que van desde la obtención de la planta basándose en cuestiones como el estado del terreno, el estado físico de la planta, temporalidad de cosecha, manejo de la planta, hasta su

almacenado para usos posteriores, como la obtención del extracto, siendo el método implementado la Sonicación, ya que esta por medio del efecto brindado por el sonido a altas frecuencias agita las moléculas del medio, generando un fenómeno físico que rompe las barreras celulares de la planta liberando el contenido de éstas [4].

El estudio fitoquímico es primordial para tener un indicio sobre la composición química del extracto de interés. Este se basa en el cambio de tonalidad del extracto por medio de añadir agentes químicos, los cuales provocan el cambio de color gracias a las reacciones químicas [5].

El objetivo principal de este estudio hasta el momento es conocer la composición química preliminar del extracto de *Asphodelus Fistulosus*.

2. Marco teórico

Los fungicidas utilizados para el control de hongos recomendados por la Organización Mundial de la Salud (WHO) son los carbamatos, nitrocompuestos aromáticos y extractos vegetales. Se tiene conocimiento que estas sustancias químicas son causantes de diversos daños al medio ambiente y a la salud de los organismos, en humanos pueden causar desde una leve reacción alérgica, daños mutagénicos, carcinogénicos y la muerte, según la concentración, tipo y tiempo de exposición y en el caso ambiental, pues la deposición en compartimientos ambientales [6].

Se tiene conocimiento que el extracto de aceite esencial de orégano cuenta con propiedades fungicida, por su correcta composición de metabolitos, al igual que su concentración, posee características de capacidad de erradicar especies indeseables para cultivos [7].

México cuenta con más de 23,000 especies de plantas nativas y el 49.8% son endémicas, 24 de ellas se han reportado con propiedades plaguicidas [8].

El estado de Zacatecas, localizado hacia la parte central de México, su territorio converge de manera no claramente definida las provincias florísticas Altiplanicie, Costa Pacífica, Sierra Madre Occidental y Sierra Madre Oriental. Zacatecas tiene una flora vascular que se estima en 136 familias, 708 géneros y 2251 especies [9].

Las familias botánicas más comunes en Zacatecas son *Asteraceae* (15%), *Fabaceae* y *Lamiaceae* (6.1%), además de estas, las principales familias de plantas con referencias medicinales en el estado son: *Asteraceae*, *Lauraceae*, *Fabaceae*, *Xanthorrhoeaceae*, *Amaranthaceae*, *Cactaceae*, *Apiaceae*, *Nyctaginaceae* y *Zygophyllaceae* [10].

El sitio de estudio se encuentra en el municipio de Zacatecas, el cual tiene como coordenadas geográficas extremas: Al norte 22°50", al sur 22°37" de latitud norte; al este 102°32" y al oeste 102°51" de longitud oeste. Su altura media es de 2496 msnm. Colinda al Norte con los municipios de Calera, Morelos y Vetagrande; al este con los municipios de Vetagrande y Guadalupe; al sur con los municipios de Guadalupe, Genaro Codina y Villanueva; al Oeste con el municipio de Jerez. La superficie total del municipio es de 442 km², representando el 0.59 % del total del estado. Tiene un clima preponderantemente del tipo

Semiseco Templado. El municipio, situado a 2 485 msnm, en el periodo de 1961-2000 la temperatura media anual promedio fue de 15.4 °C (14.1 °C del año más frío y 16.7 °C del más caluroso) [11].

2.1 *Asphodelus fistulosus* L.

Es una planta amacollada que a primera vista puede parecer un pasto. Es de origen Mediterráneo, y actualmente se está extendiendo en muchas partes de la República, sobre todo en el Centro, principalmente a lo largo de las carreteras y en regiones semisecas. También se llega a observar en vegetación de matorral natural, y, por lo tanto, es de relevancia como invasiva (arvense). Introducida del Viejo Mundo y distribución secundaria en E.U.A y México [12].

Es una especie de planta del género *Asphodelus* y de la familia *Xanthorrhoeaceae*. Reino: *Plantae*; Subreino: *Traqueobionta* (plantas vasculares); Superdivisión: *Spermatophyta* (plantas con semillas); División: *Magnoliophyta* (plantas con flor); Clase: *Liliopsida* (monocotiledóneas); Subclase: *Liliidae*; Orden: *Liliales*. Hábito y forma de vida: Hierba perenne de rizomas cortos, amacollada, como pasto o cebolla. Tamaño: Hasta de 65 cm de altura. Tallo: Subcilíndrico, de 8 a 25 cm de largo. Hojas: Lineares, hasta de 25 cm de longitud por 2 a 3 mm de diámetro, fistulosas (hueca en medio con los extremos cerrados, como popote), acuminadas, con rayas angostas longitudinales y algo áspera al tacto, verde-azulosas o ligeramente azul-grisáceas, vainas de 2 a 4.5 cm de largo, membranoso-escariosas. Inflorescencia: De 15 a 50 cm de longitud, con flores a lo largo de un eje, que a veces es ramificada (panícula), pedicelos de 4 a 8 mm de largo, bráctea floral de 2 a 3 mm de largo, acuminada o cuspidada, membranosa y seca. Florece y fructifica en diferentes épocas del año y es una planta perenne [13, 14]

2.2 Compuestos activos en las especies vegetales

El principio activo de una planta es una molécula, producto de su metabolismo. Tiene alguna actividad farmacológica y es apta para su utilización terapéutica o bien, para otro fin práctico, como plaguicida, dependiendo de las propiedades químicas de dicha molécula. En la planta, el principio activo está acompañado de otras moléculas que modelan su actividad. El principio activo aislado, tiene una acción mucho más potente, pero presenta una serie de riesgos y efectos que disminuye su acción terapéutica. El efecto de la planta no se puede explicar solo por uno de sus principios activos, su actividad completa se debe a los fitocomplejos, constituidos por los principios activos más otras moléculas aparentemente inactivas y otras sustancias coadyuvantes [15].

Los principios activos, que ejercen efecto fungicida son fenólicos, flavonoides, taninos, quinonas y alcaloides [16].

2.3 Técnicas de extracción

La extracción es el primer paso para separar el producto natural deseado del material que utiliza como fuente de estudio. La extracción con solvente es el método más utilizado, ya que la separación se basa en la transferencia selectiva del compuesto desde una mezcla sólida o líquida con otros compuestos hacia una fase líquida (normalmente un disolvente orgánico). El éxito de la técnica depende básicamente de la diferencia de solubilidad en el disolvente de extracción entre el compuesto deseado y los otros compuestos presentes en la mezcla inicial. La extracción de productos naturales se efectúa a través de las siguientes etapas:

1. El disolvente penetra en la matriz sólida.
2. El soluto se disuelve en los disolventes.
3. El soluto se difunde fuera de la matriz sólida.
4. Los solutos extraídos se separan. Cualquier factor que mejore la difusividad y la solubilidad en los pasos anteriores facilitará la extracción [17].

Las técnicas generales de extracción de principios activos de las plantas incluyen maceración, infusión, percolación, digestión, decocción, extracción continua (Soxhlet), extracción acuosa-alcohólica de fermentación, extracción a contracorriente, extracción asistida por microondas, extracción por ultrasonido (sonicación), extracción de fluido supercrítico y técnicas de destilación (destilación de agua, destilación de vapor, extracción fitónica (con solventes hidrofluorocarbonados). Estas técnicas van a depender de diversos factores para asegurarse de que la calidad del extracto buscado sea la mejor [17].

2.4 Elección de disolventes

La determinación exitosa de compuestos biológicamente activos del material vegetal depende en gran medida del tipo de solvente utilizado en el procedimiento de extracción [17].

La elección del solvente está influenciada por lo que se pretende extraer. De la polaridad o la constante dieléctrica. Dado que el producto final contendrá trazas de residuos del solvente, no debe ser tóxico y no debe interferir con futuros bioensayos [18].

La variación en los métodos de extracción generalmente depende de:

- Duración del período de extracción.
- Disolvente utilizado.
- pH del solvente.
- Temperatura.
- Tamaño de partícula de los tejidos vegetales.
- La relación solvente y muestra [18].

El principio básico es moler el material vegetal (seco o húmedo) más fino, que aumenta el área de superficie para la extracción, lo que también aumenta la tasa de extracción. La relación de solvente 10: 1 (v/w) a peso seco ha sido utilizado como ideal [18].

Los disolventes más utilizados para la extracción de componentes activos son: agua, etanol, metanol, cloroformo, éter y acetona o combinación de éstos [4].

Se basa en la ley de que “Lo similar disuelve lo similar” por lo cual, se utilizan solventes polares para moléculas polares. Los solventes que más han sido utilizados son el alcohol metílico y el etílico, por la gran cantidad de componentes que se pueden extraer con éstos, el bajo costo y el menor riesgo posible a la salud por el manejo de estos reactivos [17].

Maceración

En este proceso, la planta en crudo o en polvo grueso se coloca en un recipiente tapado con el solvente y se deja reposar a temperatura ambiente durante un período de al menos 3 días, con agitación frecuente, hasta que la materia soluble se ha disuelto. La mezcla luego se cuele, el orujo (el material sólido húmedo) se presiona y los líquidos combinados se clarifican por filtración o decantación. No dejar a la luz del sol. De existir la presencia de una capa de aire en la parte superior entre la boca del recipiente y la tapa de este, remover el oxígeno que puede existir en el recipiente con algún gas inerte (Helio, Nitrógeno, etc.) con ayuda de un evaporador [4].

La principal desventaja es que el proceso puede tomar desde unas horas hasta varias semanas. La maceración también puede consumir grandes volúmenes de solvente y puede conducir a la posible pérdida de metabolitos y/o material vegetal. Además, algunos compuestos pueden no extraerse de manera eficiente si son poco solubles a temperatura ambiente. Aunque, como la extracción se realiza a temperatura ambiente, es menos probable que la maceración conduzca a la degradación de los metabolitos termolábiles. La técnica de extracción se usa en frío, lo cual facilita que un solvente específico pueda permanecer sobre una muestra por un tiempo prolongado, teniendo como ventaja el uso de equipos sencillos sin gasto de energía y la capacidad de extraer la mayoría de las propiedades del material vegetal [4].

Extracción Asistida con Ultrasonido (UAE)

Implica el uso de ultrasonidos que van desde 20 kHz hasta 2000 kHz. El efecto mecánico de la cavitación acústica del ultrasonido aumenta el contacto superficial entre los disolventes y las muestras y permeabilidad de las paredes celulares. Las propiedades físicas y químicas de los materiales sometidos a ultrasonido se alteran y rompen la célula vegetal pared; facilitar la liberación de compuestos y mejorar el transporte masivo de los disolventes en las células vegetales. El procedimiento es sencillo y el de costo es relativamente bajo ya que se puede utilizar tanto en pequeñas como en grandes escalas de extracción fitoquímica [19].

Una de las ventajas de este método es la reducción en tiempos para la obtención de los extractos, y un menor consumo de disolventes. Una desventaja es la posibilidad de formar radicales libres al utilizar una energía de ultrasonido mayor a 20 kHz [20].

2.5 Tratamiento previo a la extracción

Antes de empezar el proceso de extracción, se recomiendan realizar una serie de acciones que ayudarán a un mejor

rendimiento de la extracción, basándose en las necesidades de cada espécimen. Las recomendaciones son:

Secado

El secado de una planta no es más que el proceso de extraer la humedad que contiene, para evitar que se pudra, enferme o pierda las sustancias activas, además de permitir su almacenamiento por un tiempo determinado antes de su utilización [17].

El calor natural es el sistema de secado más adecuado, y el que da siempre los mejores resultados. Obviamente, industrialmente con este sistema se obtiene un rendimiento inferior, ya que se está limitado a la época veraniega. En este caso se recurre a secaderos donde la ventilación, temperatura y humedad pueden ser regulados y mantenidos a un régimen constante [21].

Las partes a secar deben colocarse en capas finas, bandejas o cajas de madera que dispongan huecos por donde circule el aire; esto es especialmente importante si las cajas se van a apilar. Si el volumen de plantas a secar es muy alto, se aconseja disponer de estantes que permitan removerlas, al objeto de que las el secado sea proporcional en todo el conjunto [22].

Molienda

Este proceso consiste en la separación del material completo a secciones mucho más pequeñas, con la finalidad de aumentar el área de contacto del disolvente utilizado con respecto a la planta molida. Esto mejora el rendimiento del disolvente y genera un mayor recobro de obtención de los principios activos buscados. Este proceso se puede realizar de varias maneras, pero el uso de molinos especializados es el más útil y recomendable dado a los resultados y tamaño de partícula necesaria ya que estos tamaños son muy pequeños (nanómetros) y de igual forma, facilita el siguiente paso [23].

Tamizado

Es un proceso mecánico en el cual, al hacer pasar el resultado de la molienda a través de diversos filtros de diferentes tamaños, hace que el producto final sea prácticamente un polvo, de tamaño de partícula muy pequeño, en estos casos por una malla No. 30-40 (<0.5mm). Todo esto a conveniencia de que el disolvente penetre lo más posible a la planta procesada y esto aumente la cantidad de moléculas buscadas en dicho material vegetal [24].

2.6 Identificación preliminar de los metabolitos secundarios

La mayoría de las plantas tienen componentes químicos específicos definidos para a la que se atribuye su actividad biológica. La caracterización cualitativa y cuantitativa del principio activo se realiza haciendo reaccionar los diferentes resultados obtenidos de, por ejemplo, una cromatografía en capa fina del extracto obtenido o bien, directamente al extracto, dependiendo del caso, que será manifestado con la presencia de un cambio de tonalidad, el cual indicará si el ensayo es positivo o negativo, dando así la presencia o ausencia de los grupos funcionales o especies buscadas [4].

2.7 Hongos de estudio

Aunque en este avance del proyecto no se ven los resultados de las pruebas biológicas antifúngicas, es importante señalar los fitopatógenos con los que se trabajara, ya que estos tienen relación de susceptibilidad a determinados metabolitos, algunos de ellos de los que se encuentran presuntamente presentes en los diferentes extractos de la *Asphodelus fistulosus*.

***Aspergillus* spp.**

Género de alrededor de seiscientos hongos. Se pueden clasificar en dos formas morfológicas básicas: las levaduras y las hifas. *Aspergillus* es un hongo filamentoso (compuesto de cadenas de células, llamadas hifas). El hábitat natural de las especies de *Aspergillus* son el heno y el compostaje. Dentro del tipo de hifas se encuentran las no pigmentadas, que reciben el nombre de hialohifomicetos. A su vez tiene dos formas de presentación: una saprofítica, en que aparece como un hongo con hifas septadas del que surgen los conidióforos, los cuales a su vez tienen una ampliación: la cabeza aspergilar de la que surgen unas estructuras de forma ampular, que son las fiálides, de las que surgirán las estructuras reproductivas (también llamados sporángulos), y que reciben el nombre de fialoconidias [25].

Micotoxinas

Son sustancias químicas producidas por hongos, que pueden causar enfermedades y muerte, tanto a hombres como a animales. Las micotoxinas son metabolitos fúngicos secundarios, formados por una serie de reacciones consecutivas, catalizadas a partir de intermediarios bioquímicamente simples del metabolismo primario; por ejemplo: acetato, mebolato, malonato y ciertos aminoácidos. La producción de micotoxinas está asociada al proceso de esporulación del hongo, estrechamente relacionado con las condiciones ambientales y la concentración de nutrientes en el medio. Las enfermedades que causan las micotoxinas son conocidas con el nombre de micotoxicosis. En altas concentraciones, las micotoxinas pueden producir síndromes agudos de enfermedad, en tanto que a niveles bajos son carcinogénicos, mutagénicos, teratogénicos producen alteraciones mitóticas, interfieren con el desarrollo fetal y pueden reducir la tasa de crecimiento en animales jóvenes. Además, alteran la respuesta inmunológica, haciendo a los animales más susceptibles a infecciones. Afectan, entre otros órganos y sistemas blanco, al hígado, el riñón, el sistema nervioso, endocrino e inmune [26].

Aflatoxinas

Micotoxinas producidas por cepas toxigénicas de los hongos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. Estas sustancias son altamente cancerígenas, producen toxicidad y cáncer de hígado. Se han detectado en diferentes cultivos en el campo, cosecha, transporte y almacenamiento en el hogar. El maní y el maíz son productos que se contaminan con facilidad. Las aflatoxinas suelen designarse con letras, que se refieren a una característica física o de otro tipo del compuesto, por ejemplo, las

B1 y B2 presentan fluorescencia azul y las G1 y G2, fluorescencia verde cuando se exponen a radiación ultravioleta de onda larga. Las cepas toxicógenas de *Aspergillus flavus* generalmente producen solo aflatoxina B₁ y B₂, mientras que las cepas toxicógenas de *Aspergillus parasiticus*, producen aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ [26].

Las aflatoxinas ingeridas, que se absorben por el tracto gastrointestinal, son metabólicamente activadas o detoxificadas en las células de la mucosa intestinal y en el hígado, donde sufren una biotransformación por medio de procesos de epoxidación, hidroxilación, o desmetilación, conjugación y procesos espontáneos. La contaminación de alimentos con aflatoxinas es un problema de salud pública mundial [26].

3. Metodología

3.1 Material vegetal

Se colectaron un total de cinco plantas ubicadas en el estado de Zacatecas, municipio Zacatecas. Campus UAZ siglo XXI, límite norte, aproximadamente cinco metros al norte de la orilla de la carretera, 10 m al oeste del acceso principal. Con presencia de Vegetación secundaria en superficie ocupada anteriormente por matorral xerófilo. Hierba perenne, de aproximadamente 60 cm de altura, color verde brillante, en fructificación, flores escasas, color blanco con una línea café rojizo. Abundante. Correspondientes a las coordenadas 22° 46' 7.2" N 102° 38' 36.1" W Alt. 2329 msnm. Con fecha de colecta: 31/08/2020. En la Figura 1 se esquematiza el método que se siguió para la obtención de las ocho plantas requeridas de *Asphodelus fistulosus*. El cual fue desde la ubicación de la planta, identificación de la misma y selección de los mejores especímenes. La búsqueda, identificación, caracterización y selección de las plantas fue encabezada por el Dr. José de Jesús Balleza Cadengo y su equipo de trabajo [5].

3.2 Secado de la *Asphodelus fistulosus*.

En la Figura 2 se mencionan los pasos a seguir para lograr el secado correcto de la *Asphodelus fistulosus*, así como el procedimiento hecho para moler la planta y el método de almacenamiento utilizado para la preservación de las muestras [4].

3.3 Obtención de los extractos de plantas

En la Figura 3 se esquematiza el proceso para la obtención del extracto con metanol, agua y ácido fórmico (80:18:2) de la *Asphodelus fistulosus* [27].

3.4 Pruebas cualitativas de perfil químico

El perfil químico de los extractos se obtuvo de acuerdo con descrito por los Métodos de Investigación Fitoquímica tradicionales en tubos de ensayo 10 mL, siendo un total de 22 pruebas fitoquímicas, cada una repetida por quintuplicado [28].

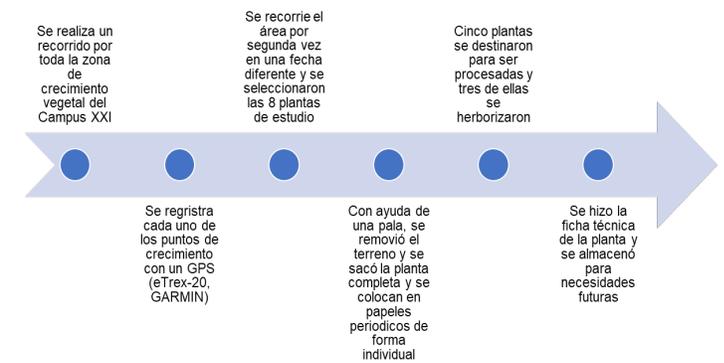


Fig. 1. Esquema del proceso de obtención de la planta *Asphodelus fistulosus*. Adaptada de: Guerra, Y. *et al.* 2019 [5].



Fig. 2. Proceso utilizado para la obtención de las muestras vegetales en forma de un polvo y la preservación de los restos de la *Asphodelus fistulosus*. Adaptada de: Amita, P. *et al.* 2014 [4].

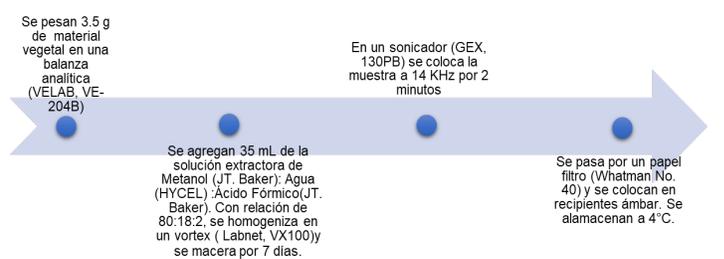


Fig. 3. Proceso para realizar la extracción por el método de sonicación de la *Asphodelus fistulosus*. Adaptada de: Tzanova, M. *et al.*, 2020 [27].

3.4 Pruebas cualitativas de perfil químico

El perfil químico de los extractos se obtuvo de acuerdo con lo descrito por los Métodos de Investigación Fitoquímica tradicionales en tubos de ensayo 10 mL, siendo un total de 22 pruebas fitoquímicas, cada una repetida por quintuplicado [28].

Prueba con KMnO₄ para detectar insaturaciones

Muestras de 1 a 2 mg se resuspenden en 1 mL de metanol y se añadió gota a gota KMnO₄ (SIGMA) al 2 % en agua. La prueba será positiva cuando hubo decoloración o formación de precipitado café (formación de dióxido de magnesio) [16, 28].

Prueba de Salkowski para detectar esteroides y triterpenos

En 1 ó 2 mg del extracto se añade 1 mL H₂SO₄ (JT. Baker). La prueba será positiva para esteroides o metilesteroides cuando se desarrollaron colores amarillo o rojo [16, 28].

Prueba detectar cumarinas

De 1 a 2 mg de muestra se disuelve en NaOH (JT. Baker) al 10 %. La prueba será positiva cuando se desarrolle coloración amarilla que se elimina al acidular la mezcla [16, 28].

Prueba con FeCl₃ para detectar oxidrilos fenólicos (taninos vegetales)

Las muestras de 1 a 2 mg se resuspenden en 1 mL de agua y se añaden unas gotas de FeCl₃ (SIGMA) al 12.5 % en agua. La prueba será positiva cuando se forma un precipitado rojo, azul-violeta o verde [16, 28].

Prueba para detectar floritaninos

Se ponen a hervir 0.1 ml de muestra del extracto en solución alcohólica más 2 ml de HCl (SIGMA) al 1%. La presencia de un precipitado rojo indicará que la prueba es positiva [16, 28].

Prueba para detectar lactonas

1-2 mg de la muestra en solución alcohólica se añaden 3 gotas de NaOH 10%. El color amarillo o anaranjado se pierde al agregar unas gotas de HCl lo que indicará la presencia de un anillo lactónico [16, 28].

Prueba de Shinoda para detectar flavonoides

En un tubo de ensayo se colocan 1 a 2 mg de muestra y 1 mL de etanol, se agrega limadura de magnesio (0.5 g) y tres gotas de HCl concentrado. La presencia de flavonoides será positiva al desarrollarse coloración anaranjada, roja, rosa, azul y violeta [16, 28].

Prueba con amoníaco para detectar flavonoides

Se agregan 0.25 mL de NH₃ (JT. Baker) a 0.25 mL de la muestra en solución alcohólica. Se añaden adicionalmente 0.1 ml de H₂SO₄ (JT. Baker). La aparición de un color amarillo indicará que la prueba es positiva [16, 28].

Prueba de Ácido sulfúrico para flavonoles, flavonas, chalconas, y quinonas

Se disuelve 1 ml de muestra en H₂SO₄, la prueba será positiva si hay algún cambio de coloración. Si es amarilla, será positivo para flavonoides, naranja-guinda para flavonas, rojo-azuloso será positivo a chalconas y rojo-púrpura positivo para quinona [16, 28].

Prueba de agitación para saponina

Una porción del residuo se disuelve con agua en un tubo de ensayo, se agita vigorosamente durante 3-5 minutos. La formación de espuma con apariencia de panal de abeja por 30 minutos, se considera una prueba positiva [16, 28].

Prueba para saponinas con Bicarbonato de Sodio

Se prepara una solución de bicarbonato de sodio al 10%. Se disuelve 1-2 mg de la muestra en solución alcohólica y se agregan de 2-3 gotas de H₂SO₄ concentrado. Agitar ligeramente. Se agregan 2-3 gotas de la solución de bicarbonato de sodio (SIGMA). La aparición de burbujas y la permanencia de estas por al menos 1 minuto, indicarán la presencia de saponinas [16, 28].

Prueba de Salkowski para saponinas

Se deben disolver 2-3 gotas de la muestra en 0.5 ml de cloroformo (JT. Baker). Se le añaden 0.5 ml de H₂SO₄. La aparición de un color rojo indica que la prueba es positiva [16, 28].

Prueba de Baljet para Sesquiterpelactonas

Se agregan 3-4 gotas del reactivo de Baljet, compuesto por la solución A (Ác. Pírico 1% etanol, SIGMA) y solución B (NaOH 10% en agua) a 2-3 gotas de la muestra en solución alcohólica. La aparición de una coloración naranja-rojo oscuro será una prueba positiva [16, 28].

Prueba de aromaticidad

Se prepara una mezcla de 1 ml de H₂SO₄ con una gota de formaldehído (SIGMA). Agregar 1-5 gotas de muestra en solución alcohólica y añadir una gota de la mezcla anterior. La prueba será positiva si existe la aparición de un color roja-violeta [16, 28].

Prueba de Liebermann-Burchard para esteroides y triterpenos

Agregar a 1 ml de muestra alcohólica agregar 3-4 gotas de reactivo de Liebermann-Burchard (10 gotas de Anhídrido acético, JT. Baker y 2 gotas de H₂SO₄). La formación de un color azul, verde, rojo, anaranjado, indicará una prueba positiva. Estas cambiarán con respecto al tiempo [16, 28].

Prueba para detectar antocianinas

A 0.1 ml de la muestra del extracto en solución alcohólica se agregan 0.5 de HCl al 10%. Poner a ebullición en baño maría. La aparición de un color rosa pálido indica que la prueba es positiva [16, 28].

Prueba para detectar alcaloides

Se agregan 0.4 mL de reactivo de Mayer (HgCl₂, JT. Baker y KI, JT. Baker) a 0.2 mL del extracto de estudio. La aparición de una coloración amarillenta con presencia de precipitados indica que la prueba es positiva [16, 28].

Prueba para detectar terpenoides

A 0.5 ml de la muestra del extracto en solución alcohólica se le agregan 0.4 ml de cloroformo, después se le añaden 0.4 ml de H₂SO₄. Se debe agregar lentamente y por las paredes del tubo de ensayo, ya que la reacción puede ser violenta. La aparición de un color marrón rojizo en la interfaz indica que la prueba es positiva [16, 28].

Prueba para detectar esteroides

Se agrega 1 ml de Ácido acético (SIMGA) concentrado a 0.25 ml de la muestra del extracto en solución alcohólica. Adicionalmente, agregan 1 ml de H₂SO₄. La aparición de un color azul-violeta a verde, indicará que la prueba es positiva [16, 28].

3.5 Mediciones de pH

El método para realizar las mediciones de pH a cada uno de las fracciones de la *Asphodelus fistulosus* se esquematiza en la Figura 4 [10].

4. Resultados

4.1 Ubicación, identificación y obtención de la planta *Asphodelus fistulosus*

Al revisar el área determinada correspondiente al Campus Siglo XXI de la Universidad Autónoma de Zacatecas, se consiguió obtener la ubicación de la planta de interés y con ayuda de un GPS (eTrex-20, GARMIN) se esquematizó un mapa de referencia de cada uno de los puntos de crecimiento de la *Asphodelus Fistulosus*.

En la Figura 5 se puede observar la señalización de los puntos de crecimiento de la *Asphodelus fistulosus* encontrados en el área correspondiente al Campus Siglo XXI.

Al realizar las observaciones del estado físico de la planta, así como de las condiciones del suelo de crecimiento, posicionamiento de las diferentes localizaciones de crecimiento por parte del equipo de trabajo de la Unidad Académica de Agronomía, perteneciente a la Universidad Autónoma de Zacatecas, encabezado por el Dr. José de Jesús Balleza Cadengo, se consigue acotar el número de muestras viables para su análisis un total de cinco plantas *Asphodelus fistulosus*, así como la obtención de otras tres plantas utilizadas para la realización de un catálogo institucional de material vegetal, así como de como de la ficha técnica correspondiente a la planta.

Las plantas obtenidas se extrajeron en su totalidad, incluyendo raíces y se acomodaron de forma individual en papel periódico y registrando los datos indispensables de la planta. En la Fig. 6 se puede observar la planta seleccionada ya extraída, su colocación en el papel periódico y el procesamiento tanto para ser procesada para la obtención del extracto, como para la realización del catálogo y ficha técnica de la planta.

Las etiquetas de registro de la *Asphodelus Fistulosus* realizadas por parte del Herbario de la Universidad Autónoma de Zacatecas, se pueden observar en la Figura 7, la cual contiene los

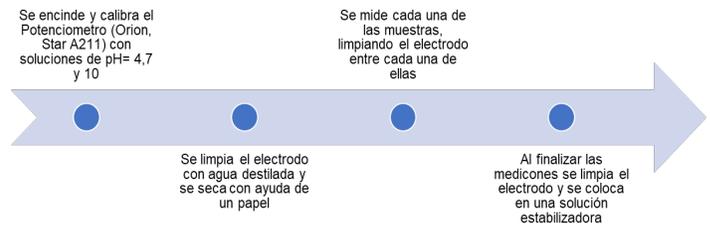


Fig. 4. Esquema del proceso para las mediciones del pH de cada una de las muestras de los extractos de la *Asphodelus fistulosus*. Adaptada de: Reimers, D. *et al* [10].



Fig. 5. Puntos de crecimiento de la *Asphodelus Fistulosus* encontrados en el Campus Siglo XXI de la Universidad Autónoma de Zacatecas. Obtenida del software: Google Earth Pro®

datos necesarios y características físicas de la planta para poder estar seguros de que se está trabajando con la planta indicada.

4.2 Obtención del extracto

Se procedió de acuerdo al protocolo de extracción de cada una de las partes de estudio: Raíz, tallo y frutos. Se lograron obtener un total de 15 extractos metanólicos al 80% de cada una de las fracciones, teniendo cada extracto una coloración característica, amarillo claro: Tallos, amarillo ámbar: Raíces y amarillo oscuro: frutos. Siendo almacenados a 4°C para su análisis posterior en recipientes ámbar. Algunos de los procesos realizados para la obtención de la planta como el pesado, homogenizado de la planta con el sistema de disolventes, el proceso de sonicación, la filtración de cada muestra y separadas en recipientes ámbar se observan en la Figura 8.

4.3 Pruebas fitoquímicas

Se realizaron un total de 22 pruebas, cada una de ellas repetidas por quintuplicado. Algunas de las pruebas se pueden observar en la Figura 9, solo como una ejemplificación de las pruebas que resultaron ser positivas.

El total de los resultados de las pruebas se encuentran expuestas en la Tabla 1, la cual está dividida en tres espacios por cada una de las cinco muestras, debido a que estas se fraccionaron en tallos, raíces y frutos. Las pruebas se realizaron por

quintuplicado, pero no hubo variaciones entre los resultados individuales de cada una de ellas, por lo que se muestran los resultados en un solo símbolo, ya sea positivo o negativo.

Los resultados de las pruebas fitoquímicas marcan lo siguiente: Los tallos está constituida principalmente de compuestos con insaturaciones, esteroides y triterpenos, ya que en la prueba de Salkowski, todas las muestras fueron positivas, sólo la muestra de la planta 1 fue positiva para ésteres, para lactonas, sólo la muestra 1 y 2 fueron positivas, sólo la muestra 5 fue positiva para flavonoides por la prueba de Shinoda, todas positivas para flavonoides en la prueba con amoniaco, las muestras 2 y 5 tienen la presencia de flavonas, las muestras 1,3 y 4, fueron positivas para flavonoides por el método del H₂SO₄, todas las muestras fueron

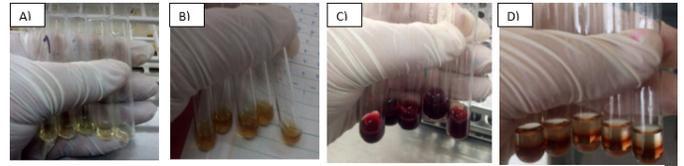


Fig. 9. A) Prueba positiva para Flavonoides. B) Prueba Shinoda positiva para Flavonoides. C) Prueba positiva para antraquinonas. D) Prueba positiva para terpenoides.

Tabla 1. Resultados de las pruebas fitoquímicas de los extractos de la *Asphodelus fistulosus*.

Pruebas cualitativas	Muestras														
	1			2			3			4			5		
	T	R	F	T	R	F	T	R	F	T	R	F	T	R	F
Insaturaciones (KMnO ₄)	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Esteroides y triterpenos (Salkowski)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ésteres (Cumarinas)	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+
Oxidrilos Fenólicos (Taninos Vegetales)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Florataninos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Carbohidratos (Lactonas)	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+
Flavonoides (Shinoda)	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+
Flavonoides (Amoniaco)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Flavonas (H ₂ SO ₄)	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
Flavonoides (H ₂ SO ₄)	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Quinonas (H ₂ SO ₄)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chalconas (H ₂ SO ₄)	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Saponinas (Agitación)	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Saponinas (NaHCO ₃)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saponinas (Salkowski)	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+
Sesquiterpelaconas (Baljet)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Aromaticidad	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+
Esteroides y triterpenos (Liebermann-Burchard)	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-
Antocianinas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcaloides	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+
Terpenoides	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Esteroides	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

T= Tallos, R=Raíz y F= Frutos.

positivas para saponinas por los métodos de agitación u de NaHCO₃, todas fueron positivas para la prueba de Baljet para Sesquiterpelaconas, sólo las muestras 2 y 4 fueron positivas para la prueba de aromaticidad, 3,4 y 5 positivos para esteroides y triterpenos por el método de Liebermann-Burchard, sólo la 3 no fue positivo para los alcaloides y sólo la cinco fue negativa para alcaloides. Con respecto a las raíces, todas presentan insaturaciones, todas positivas para esteroides y triterpenos por el método de Salkowski, todas positivas para cumarinas, todas positivas para lactonas, todas positivas para flavonoides por Shinoda y por amoniaco, 1,4 y 4 positivos para flavonas, 2 y 3 positivos para chalconas, todas positivas para saponinas por los tres métodos diferentes, todas positivas para la prueba de Baljet, todas positivas para la prueba de aromaticidad, sólo la muestra 1 positiva para esteroides y triterpenos por Liebermann-Burchard, todas positivas para alcaloides, a excepción de la muestra 4 y todos fueron positivos para la prueba de terpenoides. Frutos, 1,4 y 5 positivas para la prueba de insaturaciones, todas positivas para la prueba de esteroides y triterpenos por Salkowski, todas positivas para cumarinas, menos la muestra 1, todas positivas para lactonas, 1 y 5 positivas para flavonoides por Shinoda, todas positivas para

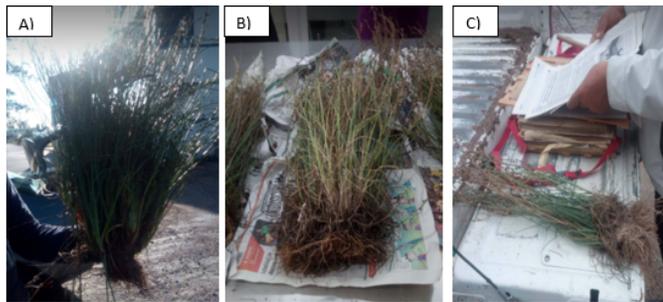


Fig. 6. A) Planta obtenida en su totalidad. B) Planta destinada para las extracciones. C) Herborización de las plantas.

<p>HERBARIO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ZACATECAS</p> <p><i>Asphodelus fistulosus</i> L.</p> <p>Edo. Zacatecas, mplo. Zacatecas. Campus UAZ siglo XXI, límite norte, aproximadamente cinco metros al norte de la orilla de la carretera, 10 m al oeste del acceso principal. Vegetación secundaria en superficie ocupada anteriormente por matorral xerófilo.</p> <p>Hierba perenne, de aproximadamente 60 cm de altura, color verde brillante, en fructificación, flores escasas, color blanco con una línea café rojizo. Abundante.</p> <p>22° 46' 7.2" N 102° 38' 36.1" W Alt. 2329 msnm Fecha de colecta. 31/08/2020.</p> <p>Col. P. I. Silva M. & M.J. Varela F. 1 Det. J.J. Balleza C. 2/09/2020</p>	<p>HERBARIO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ZACATECAS</p> <p><i>Asphodelus fistulosus</i> L.</p> <p>Edo. Zacatecas, mplo. Zacatecas. Campus UAZ siglo XXI, límite norte, aproximadamente cinco metros al norte de la orilla de la carretera, 10 m al oeste del acceso principal. Vegetación secundaria en superficie ocupada anteriormente por matorral xerófilo.</p> <p>Hierba perenne, de aproximadamente 60 cm de altura, color verde brillante, en fructificación, flores escasas, color blanco con una línea café rojizo. Abundante.</p> <p>22° 46' 7.2" N 102° 38' 36.1" W Alt. 2329 msnm Fecha de colecta. 31/08/2020.</p> <p>Col. P. I. Silva M. & M.J. Varela F. 1 Det. J.J. Balleza C. 2/09/2020</p>
<p>HERBARIO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ZACATECAS</p> <p><i>Asphodelus fistulosus</i> L.</p> <p>Edo. Zacatecas, mplo. Zacatecas. Campus UAZ siglo XXI, límite norte, aproximadamente cinco metros al norte de la orilla de la carretera, 10 m al oeste del acceso principal. Vegetación secundaria en superficie ocupada anteriormente por matorral xerófilo.</p> <p>Hierba perenne, de aproximadamente 60 cm de altura, color verde brillante, en fructificación, flores escasas, color blanco con una línea café rojizo. Abundante.</p> <p>22° 46' 7.2" N 102° 38' 36.1" W Alt. 2329 msnm Fecha de colecta. 31/08/2020.</p>	<p>HERBARIO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ZACATECAS</p> <p><i>Asphodelus fistulosus</i> L.</p> <p>Edo. Zacatecas, mplo. Zacatecas. Campus UAZ siglo XXI, límite norte, aproximadamente cinco metros al norte de la orilla de la carretera, 10 m al oeste del acceso principal. Vegetación secundaria en superficie ocupada anteriormente por matorral xerófilo.</p> <p>Hierba perenne, de aproximadamente 60 cm de altura, color verde brillante, en fructificación, flores escasas, color blanco con una línea café rojizo. Abundante.</p> <p>22° 46' 7.2" N 102° 38' 36.1" W Alt. 2329 msnm Fecha de colecta. 31/08/2020.</p>

Fig. 7. Etiquetas de registro de la *Asphodelus fistulosus* expedidas por el Herbario de la Universidad Autónoma de Zacatecas.

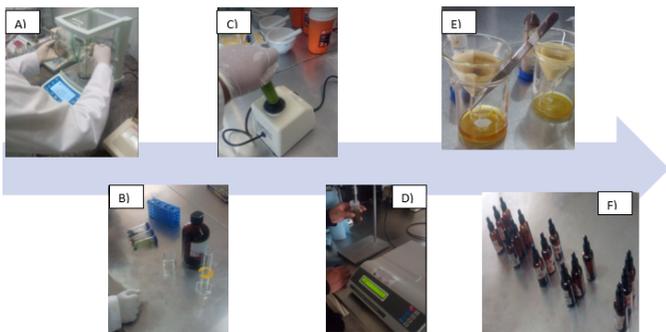


Fig. 8. A) Pesado de cada fracción de la planta. B) Adición del sistema de disolventes. C) Homogenización. D) Sonicación. E) Filtración. F) Muestras separadas.

flavonoides por amoniaco, la muestra 1 fue positiva para flavonas, 2, 3 y 5 positivas para flavonoides por H₂SO₄, la muestra 4 positiva para quinonas, sólo las muestras 4 y 5 fueron positivas para saponinas por agitación, todas positivas por NaHCO₃, 1, 4 y 5 positivas para saponinas por Salkowski, todas positivas para Sesquiterpelaconas, 1, 4 y 5 positivas para compuestos aromáticos y para esteroides y triterpenos por Liebermann-Burchard y todas fueron positivas para terpenoides, a excepción de la muestra 1.

Tabla 1. Resultado de las mediciones de pH de los extractos.

Muestra (T, R y F)	pH
1 (T)	4.21
1 (R)	4.00
1 (F)	4.20
2 (T)	4.15
2 (F)	3.96
2 (R)	4.24
3 (T)	4.25
3 (F)	3.98
3 (R)	4.11
4 (T)	4.23
4 (F)	4.10
4 (R)	3.98
5 (T)	3.78
5 (F)	4.19
5 (R)	3.99

T= Tallos, R=Raíz y F= Frutos.

4.4 pH

Las mediciones de pH se realizaron por triplicado y se tomó un promedio de dichos resultados, los cuales se pueden observar en la Tabla 2.

5. Discusión

Estudios previos como el de Malmir M. *et al* [29] señalan que las plantas del género *Asphodelus* se caracterizan por tener la presencia química de flavonoides, antraquinonas, terpenoides, saponinas y en general, derivados de ácidos fenólicos, esto concuerda hasta el momento, ya que los resultados de las pruebas fitoquímicas arrojan que efectivamente, en las diferentes muestras existe la presencia de flavonoides, terpenoides, saponinas y quinonas, aunque no se hizo una prueba específica para antraquinonas, como la prueba de Bornträger-Kraus lo cual sería recomendable para tener una mejor referencia. Así mismo, estudios más específicos como el de Hosny, E. *et al* [2] indican que al realizar un extracto por maceración caliente se obtienen seis tipos de antraquinonas y dos tipos de flavonoides y se reporta que se trabajó con la planta completa. Esto concuerda con los resultados obtenidos, ya que, aunque no se especifica en los ensayos fitoquímicos, existen compuestos de naturaleza flavonoide y quinona, además de que en el trabajo si se separaron las partes de la planta en tallos, frutos y raíces. Específicamente hablando de los tallos, estudios como el de Hammouda, F. *et al*

[30] resaltan que la composición química principal de los tallos son antraquinonas, como Aloe-emodina y crisofanol, por lo que se puede decir que tenemos diferencias, debido a que, de todas las pruebas realizadas para quinonas, sólo de la planta 4, el fruto tuvo presencia de quinonas y ninguno de los tallos fue reportado positivo para esta prueba, por lo que es necesario realizar las pruebas específicas para antraquinonas para tener una mejor noción de los resultados. Con respecto a los frutos, investigaciones como la de Fell, K. *et al* [31] y Khan, S. *et al* [32].

Coinciden en que tienen presencia de antraquinonas, lo cual coincide con otras investigaciones ya mencionadas, carbohidratos como la sacarosa y rafinosa, en lo cual coincide con los resultados, ya que, en todas las pruebas de frutos para carbohidratos, fueron positivas.

De igual manera, los artículos concuerdan en la presencia de triterpenoides como β -sitosterol; β -amirina, lo cual concuerda con los resultados de los análisis fitoquímicos ya que, para todas las muestras, la prueba de Salkowski para esteroides y triterpenos los resultados, fueron positivos, en el caso de la prueba de Liebermann-Burchard para esteroides y triterpenos, solo dos muestras fueron negativa y tres positivas, en contraste de que la prueba de terpenoides, sólo una muestra de las quince fue negativa, solo faltaría algún tipo de estudio más específico, como una GC-MS para saber a ciencia cierta de que estructuras químicas se tratan. Haría falta algún estudio adicional como la detección de ácidos grasos, ya que dichos artículos también reportan la presencia de estos. Concerniente a la parte de las raíces, en el estudio realizado por Hammouda, F. *et al* [30], sólo se conocen la presencia de antraquinonas, como el Crisofanol y la Asfodelina, lo cual no podemos discutir, ya que no se realizaron pruebas específicas para antraquinonas y sólo una de las muestras fue positiva para quinonas, por lo que es necesario complementar con estas pruebas específicas para antraquinonas.

De igual manera, los mismos resultados internos varían al comparar algunas de las pruebas destinadas para la detección de los mismos compuestos, por ejemplo, para flavonoides, la muestra de tallo de la planta 1 fue negativa para la prueba de Shinoda, pero positiva para las pruebas de amoniaco y ácido sulfúrico.

Otro ejemplo, para las raíces de la planta 2 las dos primeras pruebas para flavonoides fueron positivas, no así la de ácido sulfúrico.

En realidad, ninguna de las tres pruebas para flavonoides coincidió al 100% con todas las muestras. Es el mismo caso de las pruebas de esteroides y triterpenos, tanto por el método de Salkowski, como el método de Liebermann-Burchard, ya que en el caso de Salkowski, todas las muestras fueron positivas para y para Liebermann-Burchard, sólo 7 muestras fueron positivas.

En todos los estudios anteriormente mencionados, la naturaleza del extracto fue metanólica, pero con la aplicación de calor con una temperatura de 70-80°C por lo que se puede inferir que pudo existir la pérdida de compuestos termolábiles, como las saponinas y alcaloides, debido a que sus puntos de estabilidad térmica son muy bajos (45-65°C) por lo cual, en ninguno de los artículos revisados se menciona la presencia de estos dos metabolitos.

A diferencia de los resultados obtenidos, ya que, si se reportan la existencia de compuestos termolábiles, debido a que el método seleccionado de extracción fue la sonicación y esta no necesita de temperatura para extraer los compuestos de interés. De la misma manera, no se encontró registro acerca del pH de las muestras, a diferencia de los resultados obtenidos, ya que en general las muestras fueron en un rango de 3.78-4.25, esto podría ser debido tanto a la adición del ácido fórmico a la solución extractora o a la naturaleza ácida de los metabolitos presentes.

Faltan estudios de dilucidación de las estructuras químicas, como HPLC, RMN o GC-MS y la comprobación tanto de las propiedades antioxidantes y fungicidas.

6. Conclusiones

Con base a los resultados se puede mencionar que tanto el manejo de la planta, así como su procesamiento en general para la obtención de los extractos de las diferentes fracciones de la planta, fueron realizados adecuadamente, ya que se consiguió la obtención de dichos extractos y que, al analizarlos de manera preliminar para conocer su composición fitoquímica, se lograron obtener resultados que, a menor o mayor medida, coinciden con lo reportado en todos los estudios consultados, tanto hablando del género *Asphodelus*, así como de la planta *Asphodelus fistulosus*, específicamente. Sería necesario la implementación de pruebas fitoquímicas adicionales, un poco más específicas, como la prueba para la detección de antraquinonas. Se puede decir entonces que la investigación va por buen camino, ya que el indicio químico de todas las pruebas tanto positivas, como negativas coincide con las referencias, y la obtención de compuestos que no se encontraron reportados, como saponinas o alcaloides, lo cual hace viable la implementación del estudio con métodos más específicos, en este caso la GC-MS que sería el paso siguiente, así como la comprobación de su acción biológica antioxidante y fungicida.

7. Reconocimientos

El proyecto de investigación ha sido realizado gracias a la colaboración y apoyo del personal del Laboratorio de Biomarcadores de la Universidad Autónoma de Zacatecas, así como del Laboratorio de Biología de la misma Universidad quienes apoyaron con el equipo e instalaciones y del apoyo de la beca otorgada por el CONACYT y el respaldo de la Maestría en Ciencia y Tecnología Química de la UAZ. Al equipo de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, quienes donde se realizarán las pruebas químicas de los extractos y de la Universidad Interserrana del Estado de Puebla Ahuacatlán, quienes apoyarán con el desarrollo experimental fúngico.

Referencias

- [1] Hüter, O. F. *Phytochemistry reviews* 2011, 10, 185.
- [2] El-Fattah, H. *Pharmaceutical Biology* 2008, 35, 274.
- [3] Adeniyi, A.; Asase, A.; Ekpe, P. K.; Asitoakor, B. K.; Adu-Gyamfi, A.; Awekor, P. Y. *Journal of herbal medicine* 2018, 14, 76.
- [4] Pandey, A.; Tripathi, S. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2014, 2.
- [5] Guerra, Y. R.; Sáenz, M. A. V.; Ramos, H. H.; Re, S. S. *Revista Cubana de Ciencias Forestales: CFORES* 2019, 7, 98.
- [6] Yunta, C.; Hemmings, K.; Stevenson, B.; Koekemoer, L. L.; Matambo, T.; Pignatelli, P.; Voice, M.; Nász, S.; Paine, M. J. *Pesticide biochemistry and physiology* 2019, 161, 61.
- [7] Kulisic, T.; Radonic, A.; Katalinic, V.; Milos, M. *Food chemistry* 2004, 85, 633.
- [8] Hernández-Carlos, B.; Gamboa-Angulo, M. *Molecules* 2019, 24, 897.
- [9] Rzedowski, J. *Vegetation and Vegetational History of Northern Latin America Papers* 1973.
- [10] Reimers, E.; Cusimamani, E.; Rodríguez, E.; Zepeda del Valle, J.; Polesny, Z.; Pawera, L. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 2018, 87.
- [11] Geografía, I. N. d. E. y. *Anuario estadístico y geográfico de Zacatecas 2015*; Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2015.
- [12] Villaseñor Ríos, J. L.; Espinosa García, F. J. *Catálogo de malezas de México*, 1998.
- [13] Rzedowski Rotter, J.; Calderón de Rzedowski, G. *Flora fanerogámica del Valle de México*, Instituto de Ecología. México, 1985.
- [14] Rodríguez Torres, P. *REPOSITORIO NACIONAL CONACYT* 2013.
- [15] Guzmán-Pantoja, L. E.; Lina-García, L. P.; Bustos-Zagal, G.; Hernández-Velázquez, V. M. *Bioactive Compounds in Phytomedicine*; Rasooli, I., Ed.; Intech: Rijeka, Croatia 2012, 1, 39.
- [16] Bañuelos-Valenzuela, R.; Delgadillo-Ruiz, L.; Echavarría-Cháirez, F.; Delgadillo-Ruiz, O.; Meza-López, C. *Agrociencia* 2018, 52, 309.
- [17] Zhang, Q.-W.; Lin, L.-G.; Ye, W.-C. *Chin Med* 2018, 13, 20.
- [18] Lapornik, B.; Prošek, M.; Wondra, A. G. *Journal of food engineering* 2005, 71, 214.
- [19] Azwanida, N. *Med Aromat Plants* 2015, 4, 2167.
- [20] Azmir, J.; Zaidul, I.; Rahman, M.; Sharif, K.; Mohamed, A.; Sahena, F.; Jahurul, M.; Ghafoor, K.; Norulaini, N.; Omar, A. *Journal of food engineering* 2013, 117, 426.
- [21] Muñoz López de Bustamante, F. *Plantas medicinales y aromáticas: Estudio, cultivo y procesado*, Mundi-prensa, 2002.
- [22] Castro-Restrepo, D.; Díaz-García, J. J.; Serna-Betancur, R.; Martínez-Tobón, M. D.; Urrea, P. A.; Muñoz-Durango, K.; Osorio-Durango, E. J. 2013.
- [23] Murthy, C.; Bhattacharya, S. *Journal of Food Engineering* 2008, 85, 18.
- [24] Muñoz, O. *Plantas medicinales de uso en Chile: Química y Farmacología*; Editorial Universitaria, 2001.
- [25] Goldani, L. Z.; Zavascki, A. P.; Maia, A. L. *Mycopathologia* 2006, 161, 129.
- [26] Bogantes- Ledezma, P.; Bogantes-Ledezma, D.; Bogantes-Ledezma, S. *Acta Médica Costarricense* 2004, 46, 174.
- [27] Tzanova, M.; Atanasov, V.; Yaneva, Z.; Ivanova, D.; Dinev, T. *Processes* 2020, 8, 1222.
- [28] Domínguez, X. A. *Métodos de investigación fitoquímica*, 1973.
- [29] Malmir, M.; Serrano, R.; Caniça, M.; Silva-Lima, B.; Silva, O. *Plants* 2018, 7, 20.

- [30] Hammouda, F.; Rizk, A.; El-Nasr, M. S.; Asr, E.-N. *Zeitschrift für Naturforschung C* **1974**, *29*, 351.
- [31] Fell, K.; Hammouda, F.; Rizk, A. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **1968**, *20*, 646.
- [32] Khan, S. A.; Qureshi, M. I.; Bhatti, M. K. *Journal of the American Oil Chemists Society* **1961**, *38*, 452.