



ESTUDIO FITOQUÍMICO Y EVALUACIÓN INSECTICIDA DEL EXTRACTO ORGÁNICO DE LOS TALLOS DE *A. ochroleuca* S.

Xochitl Netzai Alba Mares,¹ David Cruz Cruz,^{1*} Clarisa Villegas Gómez^{1*}

¹Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato,
Noria Alta S/N Guanajuato Gto. 36050, México

xn.albamares@ugto.mx; david.cruz@ugto.mx; clarisa.villegas@ugto.mx

Resumen

Por muchos años y generaciones, dentro de la Medicina Tradicional Mexicana se han empleado a distintos géneros de plantas medicinales para la cura o el tratamiento de diversas enfermedades, como ejemplo a estas especies, encontramos a *Argemone ochroleuca* Sweet (Papaveraceae), comúnmente conocida como “chicalote” la cual se utiliza para el tratamiento en enfermedades respiratorias como la tos, bronquitis y asma, en problemas oculares, como la remoción de cataratas, infecciones o alergias (conjuntivitis), útil en afecciones de la piel como dermatitis y finalmente por sus efectos sedantes, se utiliza como anticonvulsivo y tranquilizante.

En particular, reportes en la literatura sobre otras especies de este género, en específico de *Argemone mexicana*, han revelado la presencia de alcaloides del tipo bencilisoquinolínicos tales como, sanguinarina, queleritrina, protopina, berberina, dihidrosanguinarina, alocriptopina, entre otros, así como actividades biológicas de interés, motivo por el cual, debido a una relación quimiotaxonómica, en el presente proyecto se realiza el estudio fitoquímico del extracto hexánico de las partes aéreas de *Argemone ochroleuca* Sweet.

Palabras clave: *Argemone ochroleuca* Sweet, chicalote, alcaloides bencilisoquinolínicos, medicina tradicional Mexicana, plantas medicinales.



PHYTOCHEMICAL STUDY AND INSECTICIDE EVALUATION OF THE ORGANIC EXTRACT FROM THE STEMS OF *A. ochroleuca* S.

Abstract

For many years and generations, within the Traditional Mexican Medicine, different genera of medicinal plants have been used for the cure or treatment of various diseases, as an example of these species, we find *Argemone ochroleuca* Sweet (Papaveraceae), commonly known as "chicalote" which is used for the treatment of respiratory diseases such as cough, bronchitis and asthma, also in eye problems, such as the removal of cataracts, infections or allergies (conjunctivitis), useful in skin conditions such as dermatitis and finally for its sedative effects, it is used as an anticonvulsant and tranquilizer.

In particular, reports in the literature on other species of this genus, specifically *Argemone Mexicana*, have revealed the presence of benzyloquinoline alkaloids such as sanguinarine, chelerythrine, protopine, berberine, dihydrosanguinarine, allocryptopine, among others, as well as activities biological species of interest, which is why, due to a chemotaxonomic relationship, in this project the phytochemical study of organic hexane extracts from the aerial parts of *Argemone ochroleuca* Sweet is carried out.

Keywords: *Argemone ochroleuca* Sweet, chicalote, benzyloquinoline alkaloids, Mexican traditional medicine, medicinal plants.



1. Introducción

La familia Papaveraceae se compone de diversos géneros con características muy particulares, entre ellos la síntesis de alcaloides de importancia biológica. Varias plantas que conforman a esta familia se han ganado un lugar en la Medicina Tradicional Mexicana, tal es el caso del género *Argemone*, el cual contiene aproximadamente 35 especies con una amplia difusión en el continente Americano. Este género comprende plantas herbáceas, anuales o bienales perennes, poco vivaces, erectas, ramosas y de hojas basales en forma de roseta, dentadas y sumamente espinosas, poseen un látex lechoso de color blanquecino a amarillento claro (Rzedowski., 1991). Poco más de 20 especies de este género se encuentran en regiones templadas, algunas de ellas son exclusivamente del continente americano, pero algunas especies se han distribuido en otras regiones debido a su interés medicinal, tal es el caso de *Argemone mexicana* L. (chicalote, amapolilla, amapola montés e incluso cardo santo) la cual ha sido introducida a otras partes del mundo como Asia, África y Oceanía. (Rzedowski., 1991)

Las plantas *Argemone spp.*, son plantas de ambientes abiertos y cálidos, se presentan como malezas, pues su hábitat preferencial es en parcelas, terrenos perturbados comúnmente conocidos como terrenos baldíos y pueden ser fácilmente identificados en los bordes de los caminos u orillas de carretera. Dentro de la Medicina Tradicional Mexicana, se le atribuyen propiedades curativas a cada una de las partes aéreas de la especie, por ejemplo; a) Hojas: la decocción de hojas se utiliza en el tratamiento de la fiebre palúdica y en dolores musculares y de estómago, del mismo modo hojas y semillas se utilizan para regular los niveles de colesterol en sangre. Cataplasmas de hojas es útil para la cura de heridas, úlceras, verrugas y otras afecciones cutáneas como sarna y dermatosis. b) Raíz: presenta propiedades antihelmínticas y es útil para el tratamiento de enfermedades cutáneas crónicas y también se usa como agente antibacterial, cicatrizante, antioxidante y antifúngico. Las raíces en forma de infusión se utilizan para el tratamiento de la tos, la maceración de estas se emplea para tratar infecciones vaginales y también en problemas hepato biliares. c) Semillas: el aceite de las semillas es purgante y laxante. d) Látex: se



utiliza para tratar problemas asmáticos, tos y bronquitis. Es importante mencionar el uso que se le da a esta sustancia lechosa en el tratamiento de problemas oculares, pues habitantes de ciertas comunidades aplican el látex directamente en el ojo, dando un pequeño masaje para aliviar infecciones en el ojo, alergias, y remoción de cataratas. e) Flores: son expectorantes y como auxiliar para disminuir la tos. (Hernández y col., 2020; Argueta y col., 1994)



Figura 1. *Argemone mexicana* L. (Foto de Naturalista.mx)

Reportes realizados por diversos grupos de investigación, han demostrado que especies de *Argemone* han sido estudiadas previamente, tal es el caso del estudio fitoquímico de las hojas y tallos de *Argemone mexicana* Linn (Figura 1) comúnmente conocida como “cardo santo” donde se señala la presencia de diversos metabolitos secundarios entre los que se encuentran, alcaloides del tipo bencilisoquinolínicos de la clase pavina

tales como, protopina, criptocavina, berberina y sanguinarina, del mismo modo de las flores y semillas se detectaron algunos flavonoides como quercetina, luteolina e isoramnetina (Figura 2). (Cahliková y col., 2012)

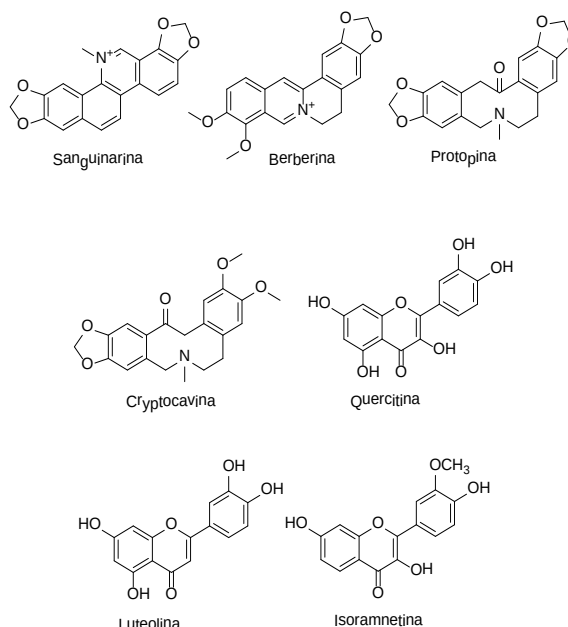


Figura 2. Metabolitos secundarios aislados de *A. mexicana* L.

Estudios de actividad biológica con respecto a los extractos etanólicos de esta especie demostraron que poseen una interesante actividad antibacteriana contra *S. aureus*, *B. subtilis*, *C. diptheriae*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa* y *S. paratyph* (More y col., 2017). Con respecto a otras especies de *Argemone*, una planta de interés debido a su química y farmacología es *Argemone platyceras*, conocida comúnmente como



“chicalote de montaña” donde infusiones de esta especie se utiliza para el tratamiento de afecciones respiratorias, estudios fitoquímicos demuestran la presencia de alcaloides como, norargemonina, argemonina, entre otros (figura 3). (Atta-ur-rahman y col., 1994).

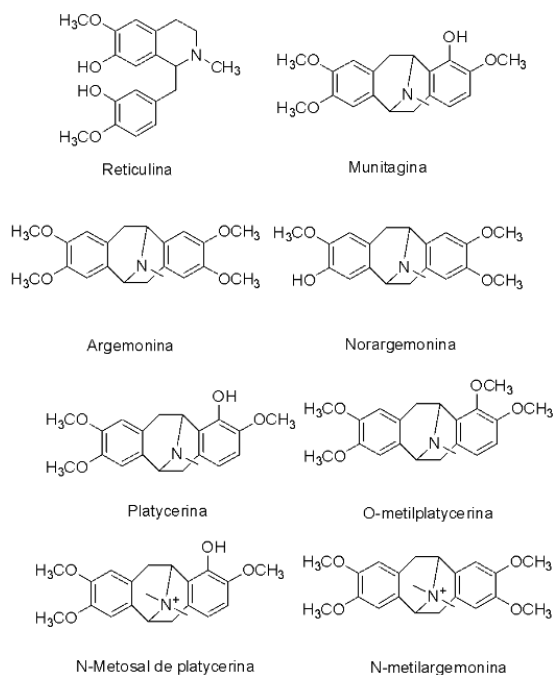


Figura 3. Metabolitos secundarios aislados de *A. platyceras*.

Del mismo modo, otra especie conocida como “cardo santo amarillo” (*Argemone subfusiformis*) sus hojas se utilizan como emplastos para tratar heridas cutáneas, siendo esto demostrado por estudios realizados por Afolayan y col., donde los extractos de las partes aéreas de esta especie

son activas contra *S. aureus*, *S. epidermis*, *M. kristinae* y *E. coli*. (Jimoh y col., 2010)

***Argemone ochroleuca* Sweet**

Argemone ochroleuca Sweet, popularmente conocida como “chicalote, cardo o espinocilla” es una planta perenne que mide hasta 1.2 m de altura, con tallos azulado-blanquecino y espinosos, los cuales al momento de cortarlos desprenden un látex lechoso, es originaria de México y Australia, su hábitat es de clima cálido a semicálido, semiseco y templado, principalmente crece en cultivos abandonados y/o terrenos perturbados (Figura 4) (CONABIO). Esta especie cuenta con una gran trayectoria dentro de la Medicina Tradicional Mexicana, pues en el Códice Florentino se menciona que es útil para aliviar el dolor de ojos al aplicar unas gotas del látex directamente. Por otro lado, el Instituto Médico Nacional señaló su importancia como antiescabiático, cicatrizante y contra la dermatosis. Posteriormente se reportaron sus usos como anticonvulsivo, antidiarréico, antitusígeno, hipnótico antiespasmódico y narcótico. (Sánchez y col., 2007) Los Otomíes lo utilizan para curar el “mal de ojo” y que la denominan como “yiato”, la cual es una



afección que se manifiesta por tener los ojos irritados.



Figura 4. *A. ochroleuca* Sweet. (Foto de Naturalista.mx)

Es importante señalar que los estudios tanto fitoquímicos como biológicos de esta especie han sido muy limitados, las únicas investigaciones que se han realizado han sido reportados por Alamri y colaboradores en 2010 donde investigaron la actividad antibacteriana in vitro del látex contra diversas bacterias patógenas humanas *B. subtilis*, *E. aerogenes*, *M. luteus*, *E. coli* y *S. Aureus*. (Hernández y col., 2020.; Alamri y col., 2010). Por otro lado, en 2011, se evaluó la actividad antibacteriana frente a trece cepas bacterianas y nueve cepas fúngicas de los extractos de hexano, acetato de etilo y metanol de las partes aéreas de *A. ochroleuca*, solo el extracto metanólico presentó actividad antibacteriana, la bacteria *S. aureus* (MIC= 125 µg/mL) y el hongo *C. neoformans* (MIC= 500 µg/mL) fueron las cepas que presentaron mayor sensibilidad, estos resultados los llevó a

purificar este extracto identificando al alcaloide isoquinolínico berberina (Figura 2) (Hernández y col., 2020). En 2013, Alrumman y su grupo de investigación estudiaron las actividades antifúngicas in vitro del látex crudo de *A. ochroleuca* contra *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* y *C. tropicalis* y otros hongos patógenos de plantas (*A. alternate*, *D. halodes*, *F. oxysporum*, *M. phaseolina*, *P. ultimum* y *R. solani*). Los hallazgos en estos estudios indicaron que esta especie es una buena fuente de antifúngicos principalmente contra *D. halodes* y *Candida spp.* (Hernández y col., 2020.; Reyes y col., 2011). En México, es importante destacar que solo existe el estudio realizado por Andrés Navarrete y colaboradores, donde, reportan el aislamiento de la berberina (Figura 2) a partir del extracto diclorometánico de las partes aéreas de *Argemone ochroleuca* Sweet (hojas, tallos y flores juntas a excepción de las semillas). El compuesto aislado fue evaluado en su actividad biológica encontrando un excelente efecto como relajante muscular con una $EC_{50} = 118.50 \pm 3.91 \mu M$ (Sánchez y col., 2020).

Finalmente, debido a los pocos estudios realizados en esta especie, a la gran importancia y a los usos dentro de la



Medicina Tradicional Mexicana, el presente grupo de investigación se enfoca en la búsqueda de alcaloides bencilisoquinolínicos a partir de los extractos de las partes aéreas de *Argemone ochroleuca* S, así como la elucidación y su actividad biológica. Del mismo modo, se encamina en la transformación semisintética de los compuestos sintetizados por dicha especie. Siendo este proyecto un referente para la comunidad científica.

Metodología

Argemone ochroleuca S. fue recolectado en el municipio del “Establo” Puentecillas en Guanajuato, Gto, el 1 de marzo de 2019. La planta fue identificada por la Bióloga y curadora del museo Alfredo Dugés. El procedimiento de extracción se llevó a cabo acorde a las técnicas utilizadas y ya reportadas por nuestro grupo de investigación. Derivado de este trabajo, se trabajaron las hojas, tallos y semillas por separado, dando como resultado la obtención de 7 extractos orgánicos a diferentes polaridades, de los cuales en el presente proyecto se trabajó el extracto hexánico de tallos.

a) Estudio Metabolómico-Fitoquímico

Previo a la separación de los metabolitos secundarios, todos los extractos fueron sometidos a un estudio metabolómico (GC-TQ-MS) mediante un equipo de cromatografía de gases Bruker 456-GC acoplado a un espectrómetro de masas SCIION TQ.

b) Separación de los MS

Se realizó mediante técnicas específicas en el laboratorio para el desarrollo de la Química de Productos Naturales: preparación del punto de aplicación, empaquetamiento de una columna para cromatografía, elección del adsorbente y de la fase móvil adecuada, y por último una metodología muy indispensable como la cromatografía en capa fina, la cual nos ayuda a conocer la cantidad de compuestos que presenta nuestra muestra y elegir el tamaño adecuado de nuestra columna. (Figura 5).

Resultados

a) Estudio Metabolómico-Fitoquímico del extracto orgánico de los tallos de *A. ochroleuca* S.

Los estudios metabolómicos mostraron la presencia de alcaloides del tipo



bencilisoquinolínicos así como algunos ácidos grasos (hidrocarburos lineales). (Tabla 1).

Tabla 1. Compuestos identificados en el extracto de tallos de *Argemone ochroleuca* S.

No.	Compuesto	RT (min)
1	2,6-Di-tert-butyl-p- quinomethane	8.60
2	2-tert-Butyl-4- isopropyl-5- methylphenol	8.80
3	Orcinaldehyde	9.08
4	10-Methyl-1- hexadecanol	9.27
5	L-Phenylalanine, propyl ester	10.01
6	Dodecanoic acid	10.07
7	Palmitic acid	13.75
8	Stearic acid	15.25
9	1,2,4-Bis(3,4-dimethoxyphenyl)- [1,3,5]triazine	15.28
10	2,3,7,8-Tetramethoxy-5H- (1)- benzopyrano[4,3- c]isoquinoline	19.30
11	Allocriptopine	20.76
12	Protopine	20.85

b) Separación de los MS

Primera columna

Se recolectaron 11 fracciones, una gran parte de estas, fueron eluidas de la columna con una mezcla de disolventes 8:2 hexano/acetato de etilo, por lo cual los componentes aislados en las primeras fracciones tenían características de menor polaridad. Posteriormente, se cambió la naturaleza de la fase móvil a una solución 7:3 hexano/acetato de etilo y se continuó recuperando otra gran cantidad de muestras, la composición de la fase móvil se modificó para arrastrar los compuestos más polares de la columna hasta llegar a una polaridad de eluyente 1:1 hexano/acetato de etilo y recuperar la mayor cantidad de compuestos de la muestra.

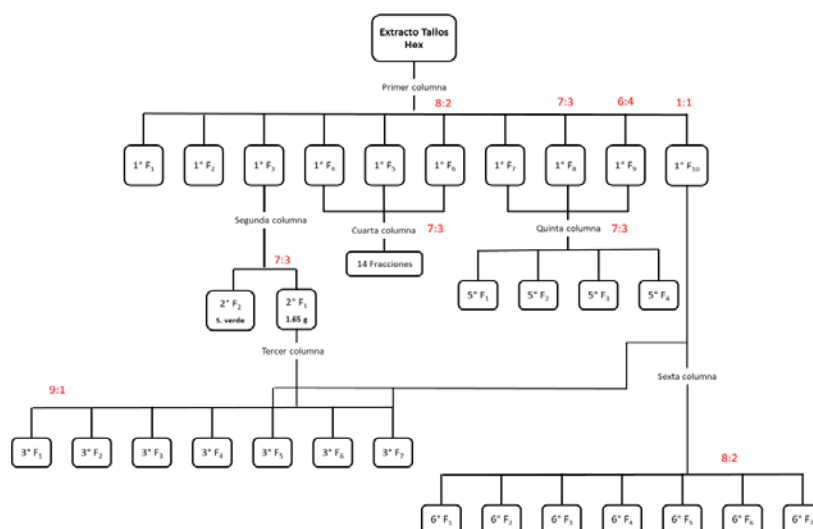


Figura 5. Esquema general de la metodología y el tratamiento realizado al extracto hexánico de *A. ochroleuca* Sweet.



Segunda columna

Al observar la fracción 3 de la primera columna se determinó mediante la placa que era posible realizar una segunda columna de la cual se, se obtuvieron 2 muestras. El sistema en qué se eluyó fue 7:3 hexano/acetato

Tercera columna

Se analizó la fracción 2 de la segunda columna, decidimos que era factible hacer una tercera columna, ya que se observan dos compuestos los cuales se podrían separar satisfactoriamente mediante cromatografía. De esta, se recolectaron 7 fracciones. El eluyente fue 9:1 hexano/acetato.

Cuarta columna

Se agruparon las fracciones 4, 5 y 6 de la primera columna, se obtuvieron 14 muestras y el sistema con el que trabajo fue 7:3 hexano/acetato

Quinta columna

Se agruparon las fracciones 7, 8 y 9 de la primera columna, se obtuvieron 4 muestras y el sistema con el que trabajo fue 7:3 hexano/acetato.

Sexta columna

Se agruparon las fracciones 10 de la primer columna, 5 y 7 de la tercera columna, se obtuvieron 7 muestras y el sistema con el que se trabajó fue 8:2 hexano/acetato con las primeras 5 fracciones y las últimas dos fueron eluidas con acetato de etilo.

De algunas fracciones se logró hacer una recrystalización y obtener sólidos, se determinó su peso (mg) y puntos de fusión. Los resultados se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. Puntos de fusión y peso de los sólidos obtenidos del extracto hexánico de tallos.

Fracción	Punto de fusión		Peso (mg)
	Inicio	Fin	
1°F ₁	80°C	82°C	178.4
1°F ₂	81°C	84°C	4.70
3°F ₁	86°C	88°C	157.5
3°F ₂	80°C	84°C	125.5
3°F ₃	88°C	90°C	8.70
3°F ₄	110°C	112°C	53.2
3°F ₆	82°C	84°C	205.9
4°F ₂	102°C	104°C	9.25

Con los sólidos limpios y secos, se realizó TLC y al observar la placa se determinó que el compuesto era puro, solo se apreciaba una mancha y además analizando los puntos de fusión se determinó que se podrían elucidar estructuralmente mediante resonancia magnética nuclear. Los resultados se resumen en la tabla 3



Tabla 3. Fracciones que se lograron elucidar por medio de resonancia magnética nuclear (RMN)

Fracción	Resonancia magnética nuclear		
	¹ H	¹³ C	DEPT
1°F ₁	SI	NO	NO
1°F ₂	NO	NO	NO
3°F ₁	SI	SI	SI
3°F ₂	SI	SI	SI
3°F ₃	NO	NO	NO
3°F ₄	SI	SI	SI
3°F ₆	SI	SI	SI
4°F ₂	NO	NO	NO

Los espectros de RMN obtenidos y que se mencionan en la tabla 3 hacen alusión al aislamiento de compuestos con características de hidrocarburos lineales del tipo de ácidos grasos, los cuales corresponden a los identificados en el estudio metabolómico indicados en la tabla

1. Como perspectiva a este punto, se considera realizar la evaluación de estos compuestos mediante espectrometría de masas y compararlos con las bases de datos reportados en la literatura para su completa elucidación.

En la figura 6, se muestra un diagrama completo y un resumen de los resultados obtenidos. Como conclusión preliminar a estos resultados, se presume la presencia de ciertos hidrocarburos, lo cual tiene mucha coherencia con respecto a la polaridad del extracto (hexánico).

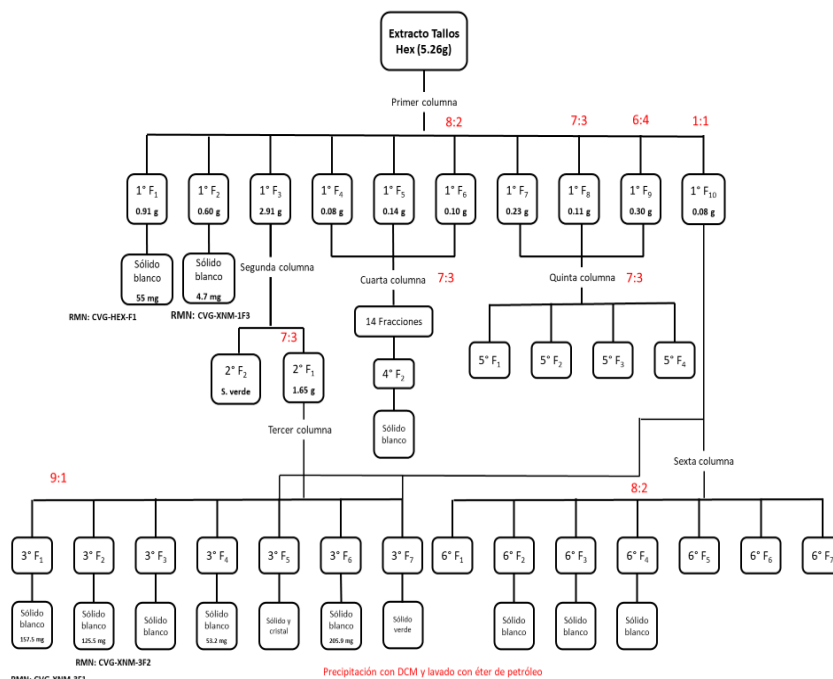


Figura 6. Esquema general de los resultados obtenidos del extracto hexánico de *Argemone ochroleuca Sweet*.



c) Pruebas de actividad insecticida

Los extractos obtenidos de las partes aéreas de *Argemone ochroleuca* Sweet se evaluaron para medir la actividad insecticida frente a insectos que son conocidos como plagas de importancia económica a nivel mundial, tales como:

G. mellonella L. (Lepidoptera:Pyralidae) conocida como “larva de la cera”, *S. zeamais* (Coleoptera:Curculionidae) conocida como “gorgojo del maíz” y *X. ferrugineus* (Coleoptera:Scolytidae) (Figura 7).



S. zeamais



G. mellonella L.



X. ferrugineus

Figura 7. Insectos plaga evaluados frente a los extractos de *A. ochroleuca* S.

Los bioensayos se llevaron a cabo en colaboración con el INECOL, evaluando el porcentaje de mortalidad a 3, 6 y 9 horas de contacto con el extracto a evaluar.

Los resultados mostraron una alta actividad insecticida contra las plagas previamente mencionadas. Es importante mencionar que los resultados y gráficas obtenidas no se colocan en el presente artículo de divulgación, debido a la protección de datos pues están en vías de publicación en una revista especializada del alto impacto

Conclusiones

Argemone ochroleuca Sweet (Chicalote) es una planta que ha sido utilizada por muchos años en la Medicina Tradicional Mexicana. Debido a sus propiedades, esta especie ha resultado ser de importancia para el área de Química de Productos Naturales, debido a la síntesis de compuestos del tipo alcaloideo.

El estudio metabólico mostró la presencia de alcaloides del tipo bencilisquinolínicos así como de hidrocarburos en forma de ácidos grasos.

La separación de los metabolitos y la elucidación por RMN, confirma la presencia de ácidos grasos, como perspectiva al mismo, se desea confirmar mediante EM.

Extractos de la especie mostraron una importante actividad insecticida frente a *G. mellonera*, *S. zeamais* y *X. ferrugineus*, los



resultados se encuentran en vías de publicación en una revista especializada de alto impacto.

Referencias bibliográficas

Alamri, s. A.; mahmoud, m. F. 2010. Antibacterial activity of the latex of *argemone ochroleuca* s. *Saudi medical journal*, 31, 11, 1207-1210.

Argueta Villamar, A.; Cano-Asselein, L.; Rodante, M.E. 1994. "Atlas de plantas de la Medicina Tradicional Mexicana". *Instituto Nacional Indigenista*. Vol. 3.

Atta-ur-Rahman. 1994. "Isoquinoline Alkaloids". *Handbook of Natural Products Data*, Vol. 3. Elsevier.

Cahliková, L.; Kučera, R.; Hošťalková, A.; Klimeš, J.; Opletal, L. 2012. Identificación of pavinane alkaloids in the genera *Argemone* and *eschscholzia* by GC-MS. *Natural Products Communications*, 7 10, 1781-1789.

CONABIO

<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/papaveraceae/argemone-ochroleuca/fichas/ficha.htm>

Hernández Martínez, A. L.; Cervantes Jauregi, J. A.; Cruz, D.; Villegas Gómez, C. 2020. "Chicalote" *Argemone ochroleuca* Sweet: La gran fábrica de alcaloides". *Naturaleza y Tecnología*, enero-junio 2020, 16-23.

Jimoh, F.; Addedapo, A.; Aliero, A.; Afolayan, A. 2010. Polyphenolic and biological activities of leaves extracts of *Argemone subfusiformis* (Papaveraceae) and *Urtica urens* (Urticaceae). *Revista biológica tropical*, 58, 4, 1517-1531.

More, N. V.; Kharat, K. R.; Kharat, A.S. 2017. "Berberine from *Argemone Mexicana* L. Exhibits a broadspectrum antibacterial activity. *Acta Biochimica Polonica*, 64, 4, 653-660.

Moustafa, M. F.; Alamri, S. A.; Taha, T. H.; Alrumman, S. A. 2013, In vitro antifungal activity of *Argemone ochroleuca* S. Latex against some pathogenic fungi. *African Journal of Biotechnology*, 12, 10, 1132-1137.

Reyes, F. D.; Canales, C. J.; Jiménez, M.; Meráz, M.; Hernández, T. 2011. Antimicrobial activity of *Argemone ochroleuca* S. (chicalote). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 10, 2, 139-146.



Rzedowski, G. C. 1991. Flora del Bajío y
Regiones Adyacentes. Fascículo 1.
Papaveraceae.

Sánchez Mendoza; E. 2007. Mecanismo de
acción relajante de la berberina aislada de
Argemone ochroleuca en tráquea de
cobayo. *Tesis Doctoral*. UNAM.

Sánchez Mendoza, M. E.; Castillo Henkel,
C.; Navarrete, A. 2008. Relaxant action
mechanism of berberine identified as the
active principle of *Argemone ochroleuca* S.
In guinea-pig-tracheal smooth muscle.
Journal of Pharmacy and Pharmacology.
60, 2, 229-236.