

METABOLITOS SECUNDARIOS DE *Mikania micrantha* COLECTADA EN EL DEPARTAMENTO DEL QUINDÍO Y EVALUACIÓN PRELIMINAR DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.

SECONDARY METABOLITES FROM *Mikania micrantha* COLLECTED IN THE DEPARTMENT OF QUINDIO AND PRELIMINARY EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY.

Nerith Rocio Elejalde Cadena^{*1}, Eunice Ríos V.^{1,3}, Jorge Iván Sierra A.¹, Jhon Carlos Castaño O.², Guillermo Delgado³.

¹ Grupo de Investigación Agroindustria de Frutas Tropicales. Programa de Química. Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías. Universidad del Quindío. Colombia.

² Grupo de investigación Gymol. Doctorado en Ciencias-Biomédicas. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad del Quindío. Colombia.

³ Instituto de Química. Universidad Nacional Autónoma de México (México D.F.).

Recibido: Octubre 10 de 2013

Aceptado: Noviembre 14 de 2013

*Correspondencia del autor. Grupo de Investigación Agroindustria de Frutas Tropicales. Programa de Química. Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías. Universidad del Quindío. Carrera 15 Calle 12 Norte. Armenia, Quindío, Colombia.

E-mail: nrecadena@gmail.com.

RESUMEN

De las partes aéreas de *Mikania micrantha* colectada en el Municipio de Montenegro-Quindío (Colombia), se aislaron los compuestos: Acetil- β -amirina (**1**), Lupeol (**2**), Stigmasterol (**3**), las lactonas sesquiterpénicas (LS's) Mikanólida (**4**), Dihidromikanólida (**5**), Desoximikanólida (**6**) y el β -D-glucopiranosido de estigmasterilo (**7**). Con el fin de comparar el contenido metabólico, nosotros estudiamos una población colectada en Paraíso-Guerrero (México), de la misma especie, obteniendo la LS Xerantólida (**8**). Sus estructuras fueron caracterizadas por métodos espectroscópicos y cromatográficos. Los extractos y las LS **4**, **5** y **8** fueron probadas frente a bacterias gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) y gram-negativas (*E. Coli*, *Pseudomona aeruginosa* y *Ralstonia solanacearum* (raza 2)). Los resultados obtenidos mostraron que la LS **8** tuvo mejor porcentaje de inhibición que las LS **4** y **5** frente a *S. aureus* y *E. coli*, mientras que **4** presentó un porcentaje de inhibición más alto que **5** y **8** frente a *Pseudomona aeruginosa*.

Palabras Clave: *Mikania micrantha*, lactonas sesquiterpénicas, actividad antimicrobiana.

ABSTRACT

From the aerial parts of *Mikania micrantha* collected in Montenegro, Quindío (Colombia), were isolated the compounds: Acetyl- β -amyrin (**1**), Lupeol (**2**), Stigmasterol (**3**), Sesquiterpene lactones (SL) Mikanolide (**4**), Dihydromikanolide (**5**) Deoxymikanolide (**6**) and β -D-glucopyranoside of stigmasteryle (**7**). In order to compare the metabolic content, we studied a population collected in Paraíso-Guerrero (México), of the same species, obtaining the SL Xerantholide (**8**). Their structures were characterized by spectroscopic and chromatographic methods. Extracts and SL **4**, **5** and **8** were tested against gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*) and gram-negative (*E. Coli*, *Pseudomona aeruginosa* and *Ralstonia solanacearum* (race 2)). The results showed that the SL **8** percent inhibition was better than SL **4** and **5** against *S. aureus* and *E. coli*, while **4** exhibited a percentage of inhibition higher than **5** and **8** against *Pseudomona aeruginosa*.

Key words: *Mikania micrantha*, Sesquiterpene lactones, Antimicrobial activity.

INTRODUCCIÓN

Mikania (Asteraceae) es originario de América, contiene más de 450 especies y aproximadamente 50 de ellas han sido estudiadas (1). De este género se reporta la obtención de esteroides, flavonoides, y principalmente LS y ácidos diterpénicos (2). La especie en estudio, es conocida como milla por minuto, debido a su hábito de crecimiento descontrolado, en Asia es catalogada como una de las peores malezas del mundo debido a que causa daño a los cultivos y a la vegetación nativa (3).

Estudios previos han reportado que los extractos de *M. micrantha* se utilizan para tratar la comezón en la piel y el pie de atleta como una medicina alternativa en Jamaica, y que algunas LS poseen actividades antibacterianas y antimicrobianas (4,5). También contiene otras LS que exhiben actividad antiviral, citotóxica, anticancerígena, antialérgica, antiprotozoario, insecticida y tripanocida entre otras (6). *M. micrantha* perturba el crecimiento y desarrollo de los árboles, cultivos y plantaciones ornamentales, y también reduce la densidad de especies herbáceas silvestres, además de la competencia por los nutrientes con otras plantas, se cree que tiene efectos alelopáticos sobre las plantas vecinas y fitotoxinas que contribuyen a la supresión del crecimiento de las plantas a su alrededor, reduciendo la nitrificación del suelo (7).

Diversidad de LS han sido aisladas desde la familia Asteraceae y se han estudiado frente a bacterias gramnegativas (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*) y grampositivas (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus beta hemolítico grupo A*, *Bacillus subtilis*) indicando que presentan una alta inhibición frente a ambos tipos de bacterias, siendo más efectivas en bacterias grampositivas (8).

Los primeros estudios en éste género fueron hechos por Herz y colaboradores, en los que reportan la obtención de LS's como son la miscandenina, mikanólida, dihidromikánolida, escandenólida y dihidroescandenólida, a partir de las partes aéreas de *M. scandens* (9).

De *M. micrantha* del Sureste de China se reportó el aislamiento e identificación de 4 LS's diferentes a las reportadas en América como son la mikamicranólida, 11 β ,13-dihidromikamicranólida, 3-hidroxi-11 β ,13-dihidroximikamicranólida y 2 β ,3 β -dihidroxi-11 β ,13-dihidroximikamicranólida (10).

De *M. micrantha* colectada en el Estado de Michoacán-México, se han aislado y caracterizado varias LS como mikanólida, dihidromikánolida, desomikánolida y mikanokriptina, y del Estado de Oaxaca-México la LS xerantólida, la cual ha sido reportada por primera vez en éste género (11^{a,b},12).

En Colombia, no existen reportes científicos o estudios sistemáticos en este género. Por consiguiente, la presente propuesta de investigación planteó el estudio de la composición química de las partes aéreas de *M. micrantha*, colectada en el Departamento del Quindío-Colombia, con el fin de contribuir al estudio de productos naturales de nuestra región y el País. Alternativamente, con el fin de comparar los contenidos metabólicos de la misma especie, pero colectada en un lugar diferente, se analizó una población de Paraíso-Guerrero (México).

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección del Material Vegetal

Se realizó el trabajo de campo correspondiente a la colecta del material vegetal en el municipio de Montenegro-Quindío (Colombia) en el mes de marzo del año 2012, de acuerdo a los procedimientos para la obtención de material de la flora para investigación química y se depositó en el Herbario de la Universidad del Quindío, con número de clasificación 034138.

Preparación de extractos y Separación cromatográfica

A partir del material vegetal seco y pulverizado, se procedió a la obtención de los extractos hexánico y diclorometano/metanol (CH₂Cl₂/MeOH) a partir de las partes aéreas. Para esta investigación se utilizó el extracto más polar. La cromatografía en capa delgada (CCD) se realizó utilizando placas de sílica gel F₂₅₄ (Merck). Se usó detector UV a 254 nm y sulfato cérico amoniacal como revelador. Para la cromatografía en columna (CC) se utilizó sílica gel (230-400 mesh, Merck).

Análisis espectroscópicos

Los espectros de IR fueron tomados en un espectrómetro Bruker IR-TF 27. Los experimentos de RMN fueron registrados en un espectrómetro Varian Inova para 1H (500 MHz) y para 13C (125 MHz) y en un JEOL 300 para 1H (300 MHz).

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

Las bacterias usadas fueron *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Ralstonia solanacearum* raza 2 (Smith), las cuales se obtuvieron de aislados clínicos provenientes de la Clínica Central del Quindío y fueron identificados en el Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad del Quindío.

Se utilizó el método de microtitulación en placa, usando como medio de cultivo Muller Hinton (MH). Se realizó una dilución de las bacterias hasta tener una concentración de $3-6 \times 10^8$, correspondiente a una absorbancia de 0.2 a 0.4 a 600 nm, esta dilución se llevó a $3-6 \times 10^5$ obteniendo así la solución a utilizar. Se preparó una solución stock del extracto y del compuesto puro con una concentración 10 veces mayor a la concentración a usar (100 $\mu\text{g/mL}$). Para disolver la muestra se utilizó la mínima cantidad de DMSO y se completó con Muller Hinton.

En una placa de 96 pozos se diluyeron 10 μL de la solución stock y se llevó a un volumen de 100 μL utilizando la solución de trabajo de bacterias $3-6 \times 10^5$. Se incubó a 37°C de 12-24 horas. La placa se leyó en un espectrofotómetro a 570/600 nm. Seguido se adicionó 10 μL a 44 μM de solución de resazurina para una concentración final de 4 μM . Se incubó durante 2 horas a 37°C y se leyó la placa nuevamente.

RESULTADOS

Compuestos obtenidos

Una vez procesado el extracto polar de *M. micrantha* colectada en el Departamento del Quindío se obtuvie-

ron los siguientes compuestos: un triterpeno conocido como acetil- β -amirina (**1**); dos esteroleos: lupeol (**2**) y estigmasterol (**3**); tres germacrólidas: mikanólida (**4**), dihidromikanólida (**5**) y desoximikanólida (**6**) (11^{a,b},12) y el β -D-glucopiranosido de estigmasterilo (**7**), como se muestra en la Figura 1. Todos los compuestos fueron comparados con muestras auténticas aisladas en investigaciones previas (11^a) y algunos datos reportados en la literatura (9,12).

La LS **4** se aisló en forma de pequeñas agujas con punto de fusión $225-227^\circ\text{C}$. (Reportado $226-228^\circ\text{C}$) (9,11a). El espectro IR, mostró bandas de grupo carbonilo correspondiente a la lactona β -insaturada (1770 cm^{-1}). El espectro de RMN ^1H exhibió dos protones olefinicos característicos de γ -lactona- α,β -insaturada, asignados a H-13a [δ 6.51 (1H, d, J = 3.6 Hz)] y H-13b [δ 6.03 (1H, d, J = 3.6 Hz)], respectivamente. En δ 5.30 (1H, da, H-6) una señal doble que integra para un hidrógeno; en δ 4.44 (1H, ddd, H-8) y δ 3.3 (1H, dd, H-7) señales correspondientes a los hidrógenos del cierre del anillo de lactona. El espectro de RMN ^{13}C mostró 15 señales, de las cuales, dos correspondieron a carbonos carbonílicos a δ 171.3 (C-15) y δ 168.5 (C-12), un carbono α,β -insaturado a δ 148.2 (C-5), dos a carbonos olefinicos cuaternarios a δ 138.0 (C-11) y δ 133.0 (C-4), un carbono olefinico a δ 126.0 (C-13), cinco carbonos de metino unidos a oxígeno a δ 84.1 (C-6), δ 84.1 (C-8), δ 59.2 (C-1), δ 55.1 (C-2) y δ 51.5 (C-3), un carbono cuaternario unido a oxígeno a δ 56.9 (C-10), un carbono de metilo a δ 22.8 (C-14), un metino a δ 51.8 (C-7) y un metileno a δ 45.0 (C-9) (ver Tabla 1). Este compuesto correspondió a la Mikanólida. Los espectros de ^1H y ^{13}C para **4** se muestran en la figura 2 y 3, respectivamente.

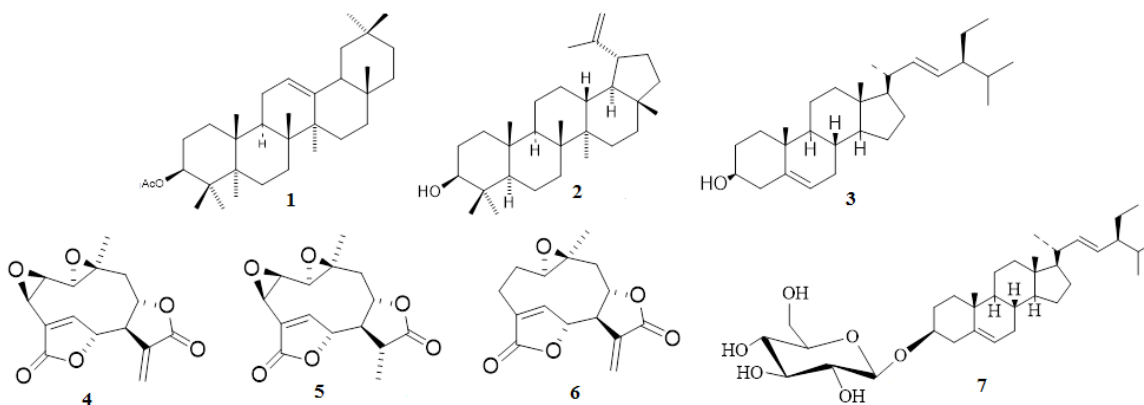


Figura 1. Compuestos aislados de *M. micrantha* colectada en Montenegro-Quindío.

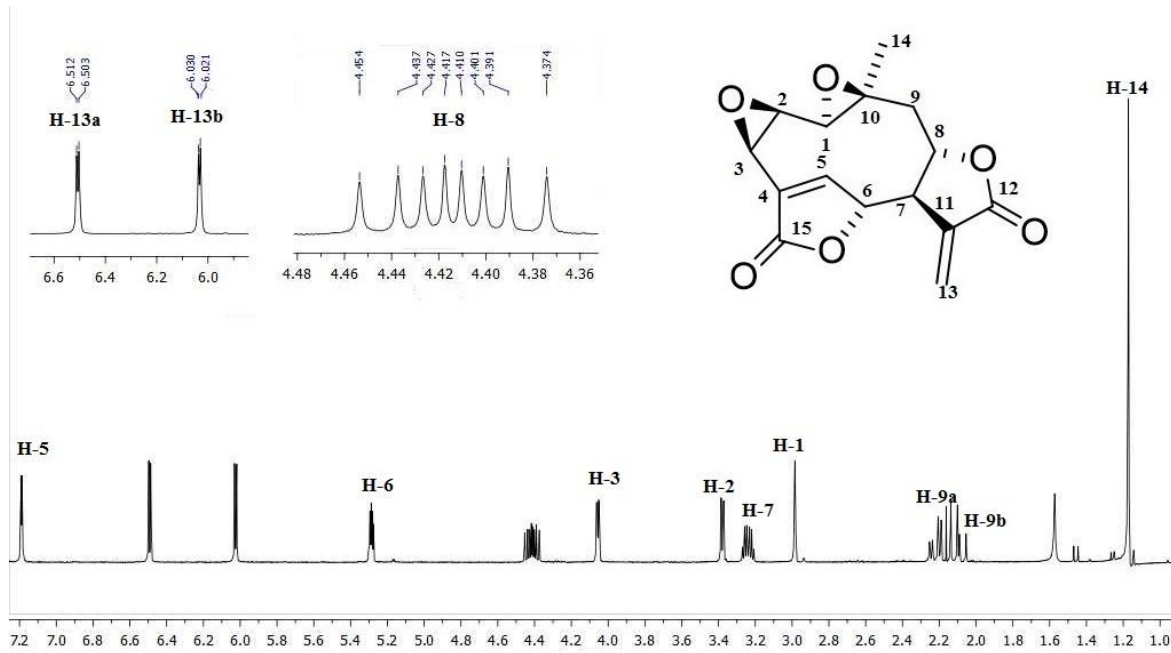


Figura 2. RMN- H^1 para la Mikanolida (4) (400 MHz CDCl_3)

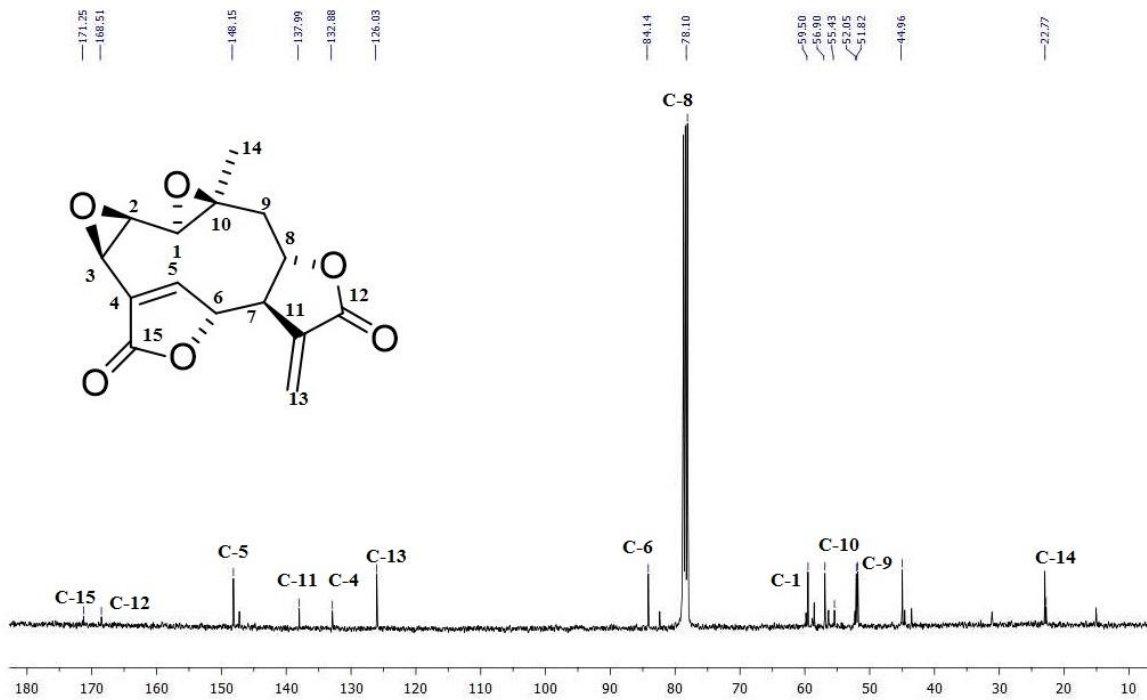


Figura 3. RMN- C^{13} para la Mikanolida (4) (100 MHz CDCl_3)

Como se había mencionado, paralelamente se realizó el estudio de *M. micrantha* colectada en Paraíso-Guerrero (México), con el fin de comparar los metabolitos aislados de la misma especie pero colectadas en diferentes poblaciones. De éste estudio se obtuvo una única LS conocida como Xerantólida (**8**) (11^b,12) (Ver Figura 4) y los compuestos **1**, **2**, **3** y **7**.

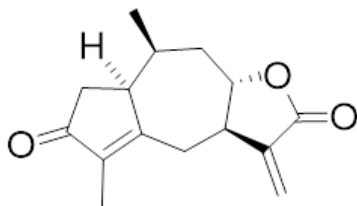


Figura 4. Estructura de la Xerantólida (**8**).

El compuesto **8** se obtuvo en forma de cristales muy finos con un punto de fusión 177-179°C (reportado 180-182°C) (11^b). El espectro IR, exhibió bandas de grupo carbonilo (1734 cm⁻¹) y de grupo carbonilo correspondiente a la lactona β-insaturada (1765 cm⁻¹). Los datos sugieren la presencia de una LS y su estructura fue con-

firmada por el espectro de RMN ¹³C en el cual se observan 15 señales de carbono. Estas señales fueron asignadas por el análisis de DEPT para dos metilos, cuatro metilenos (uno vinílico, correspondiente al grupo exometileno), cuatro metinos y cinco carbonos cuaternarios (dos carbonilos y tres carbonos vinílicos sustituidos). Esto indica la presencia de una LS tipo guayanólida. El espectro de RMN ¹H mostró las señales correspondientes al metileno exocíclico encontrándose dos dobletes a δH 6.30 (1H, d, J = 3.2 Hz) y a δH 5.60 (1H, d, J = 3.2 Hz), asignados a H-13a y H-13b, respectivamente; en el espectro COSY ¹H-¹H se observó acoplamiento entre H-7 (δH 3.1), H-6, H-9 y H-13a,b; y entre H-1 (δH 3.2) y H-2α. El análisis de HMBC mostró correlaciones entre H-15 (δH 1.75) y los C-3, C-4 y C-5, localizando la enona α,β-insaturada, y correlaciones entre H-8 (δH 4.14) y los C-6, C-7, C-9, C-11 y C-12, estableciendo así, el cierre de la lactona hacia el C-8 (ver Tabla 1). Este compuesto fue denominado Xerantólida. Los espectros de ¹H y ¹³C para **8** se muestran en la figura 5 y 6, respectivamente.

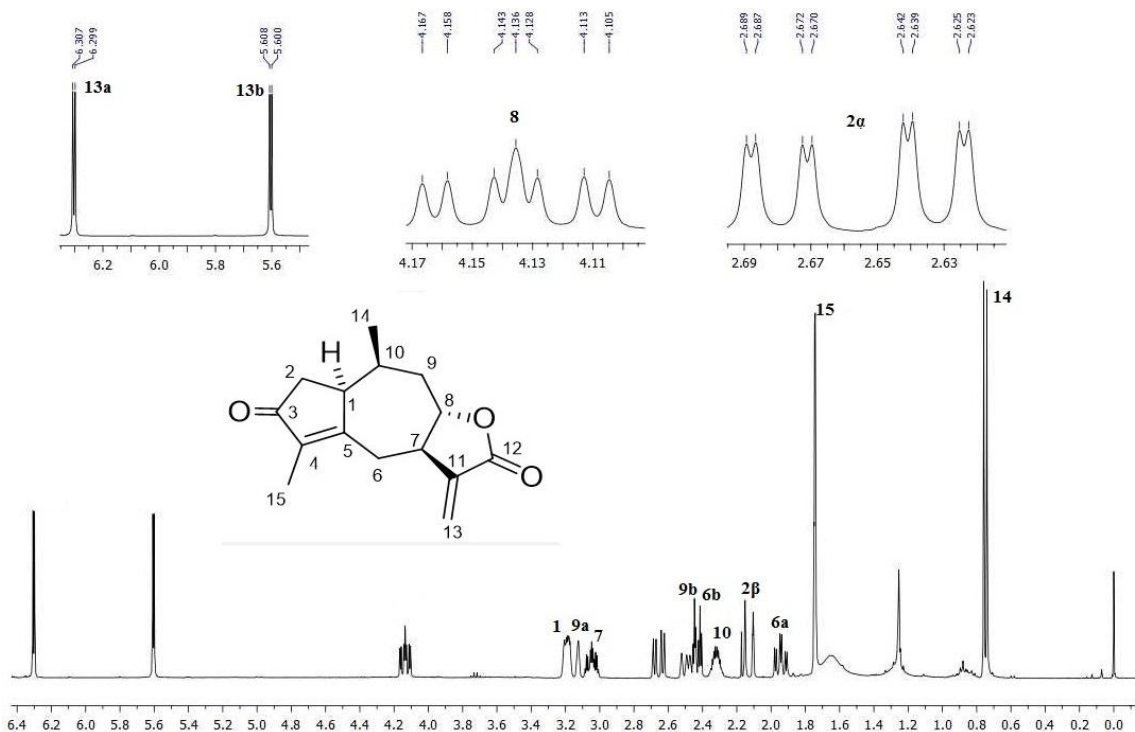


Figura 5. RMN-¹H para la Xerantólida (**8**) (400 MHz CDCl₃)

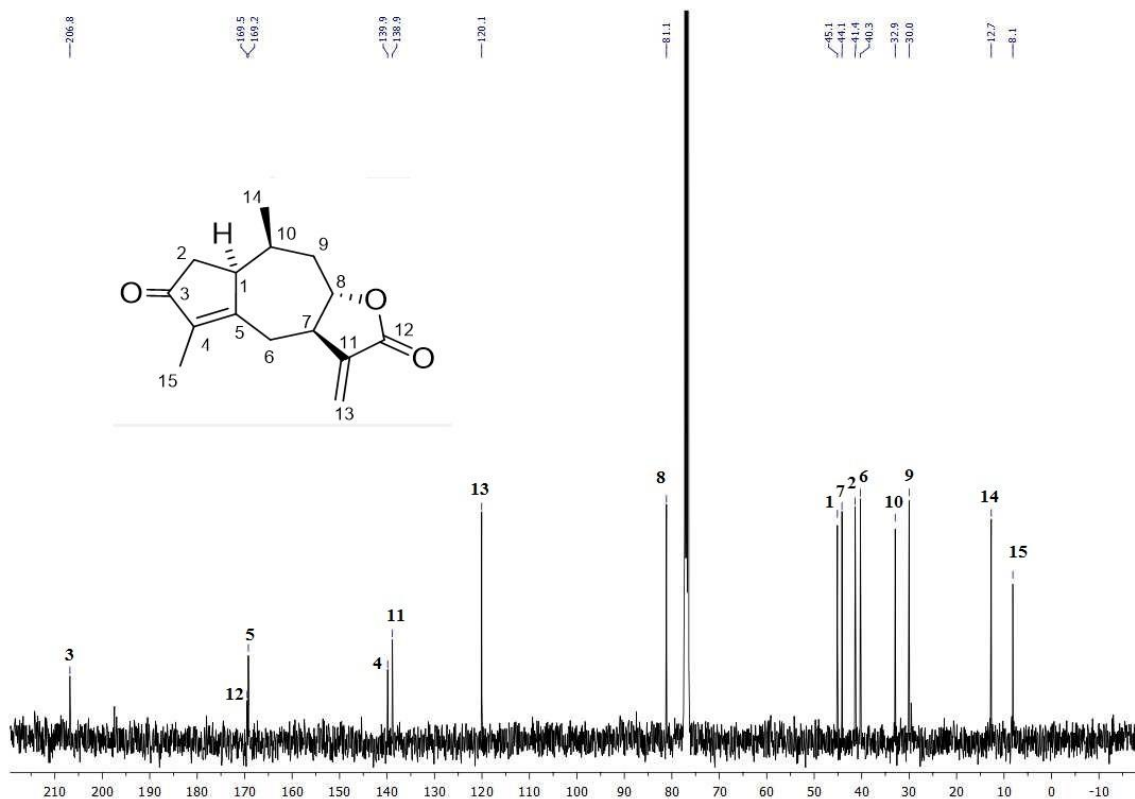


Figura 6. RMN- C^{13} para la Xerantólida (8) (100 MHz $CDCl_3$)

Tabla 1. Datos de RMN-1H (400 MHz) y ^{13}C (100 MHz) para los compuestos 4 y 8 en $CDCl_3$

Posición	4		8	
	δ_C	δ_H (mult., J en Hz)	δ_C	δ_H (mult., J en Hz)
1	59.2 (CH)	2.99, s	44.3 (CH)	3.20, m
2	55.1 (CH)	3.38, d	41.5 (CH_2)	2.68, dd 2.64, dd
3	51.5 (CH)	4.05, d	206.9 (C=O)	
4	133.0 (=C)		140.0 (=C)	
5	148.2 (=C)	7.19, dd	169.3 (=C)	
6	84.1 (CH)	5.29, ddd	40.4 (CH_2)	1.94, m 2.42, dd
7	51.8 (CH)	3.24, m	45.2 (CH)	3.10, dddd
8	84.1 (CH)	4.42, ddd	81.2 (CH)	4.14, ddd
9	45.0 (CH_2)	2.24, dd 2.20, dd	33.0 (CH_2)	2.40, m 3.13, dd 2.30, m
10	56.9 (C)		30.1 (CH)	
11	138.0 (=C)		139.0 (=C)	
12	168.5 (C=O)		169.6 (C=O)	
13a	126.0 (CH_2)	6.51, (d, J = 3.6)	120.2 (CH_2)	6.30, (d, J = 3.2)
13b		6.03, (d, J = 3.6)		5.60, (d, J = 3.2)
14	22.8 (CH_3)	1.17, s	12.8 (CH_3)	0.75, d
15	171.3 (C=O)		8.3 (CH_3)	1.75, dd

Actividad antimicrobiana**Actividad antimicrobiana frente a *Stapylococcus aureus*.**

De acuerdo a los resultados obtenidos el extracto hexánico presentó porcentajes de inhibición a 100 y 50 µg/mL, únicamente, mientras que el extracto polar no exhibió actividad en ninguna de las concentraciones probadas. De los compuestos evaluados la LS 8 presentó un efecto inhibitorio más alto en comparación con LS 4 y 5. (Ver Tabla 2).

En estudios llevados en diferentes especies de *Mikania*, reportan un aumento en la inhibición frente a *S. aureus*, a diferentes concentraciones, principalmente en el extracto hexánico (13).

Actividad antimicrobiana frente a *E. coli*.

Frente a *E. coli* el extracto CH₂Cl₂:MeOH no exhibió inhibición, mientras que en el extracto Hexánico, se presentó una leve inhibición a una concentración de 12.5 µg/mL. La LS 4 inhibió en muy bajos porcentajes en todas las concentraciones probadas, mientras que 5 tuvo mejores valores de inhibición en tres concentraciones

12.5 µg/mL (15.4%), 6.25 µg/mL (29.9%) y 3.16 µg/mL (27.8%), la LS 8 presentó el porcentaje de inhibición más alto a 43.9% a una concentración de 6.25 µg/mL y de 47.5% a una concentración de 3.16 µg/mL (Ver tabla 3).

La actividad antimicrobiana de las LS 4 y 5 y otros derivados, ha sido potencialmente alta, en patógenos gram-positivos, mientras que en gram-negativos como *E. coli* no presentan ninguna actividad a diferentes concentraciones (14).

Actividad antimicrobiana frente a *Pseudomona aeruginosa*.

De los extractos probados, el extracto Hexánico presentó leves inhibiciones en las primeras concentraciones (menos del 10% de inhibición). De los compuestos puros, se puede concluir que la LS 5 mostró muy bajos porcentajes de inhibición en la todas las concentraciones, la LS 4 mostró mejor porcentaje de inhibición (27.8%) a una concentración de 12.5 µg/mL (Ver tabla 4). La LS 8 no mostró valores de inhibición de interés.

Tabla 2. Porcentajes de inhibición frente a *S. aureus* por el método microtitulación en placa.

	100	50	25	12.5	6.25	3.16	1.6	0.8	0.4	0.2
DCM	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Hx	90.1%	94.1%	N	N	N	N	N	N	N	N
4	N	N	N	2.5%	11.2%	14.7%	12.5%	10.3%	3.0%	N
5	0.1%	3.8%	18.5%	15.7%	18.3%	13.5%	12.3%	10.3%	10%	6.9%
8	N	9.6%	20.4%	24.8%	25.2%	24.2%	27.1%	21.5%	17.3%	16%

- DCM: Extracto CH₂Cl₂:MeOH; HX: Extracto Hexánico; N: No hubo inhibición.
- Las unidades de las concentraciones están dadas en µg/mL.

Tabla 3. Porcentajes de inhibición frente a *E. coli* por el método microtitulación en placa.

	100	50	25	12.5	6.25	3.16	1.6	0.8	0.4	0.2
DCM	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
HX	N	N	N	12.9%	N	N	N	N	N	N
4	10.2%	4.6%	3.4%	2.6%	3.7%	3.2%	4.8%	5.7%	5.9%	5.3%
5	N	N	N	15.4%	29.9%	27.8%	N	N	N	N
8	10.1%	0.8%	N	N	43.9%	47.5%	N	N	28.5%	8.5%

- DCM: Extracto CH₂Cl₂:MeOH; HX: Extracto Hexánico; N: No hubo inhibición.
- Las unidades de las concentraciones están dadas en µg/mL.

Tabla 4. Porcentajes de inhibición frente a *Pseudomona aeruginosa* por el método microtitulación en placa.

	100	50	25	12.5	6.25	3.16	1.6	0.8	0.4	0.2
DCM	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
HX	8.9%	6.4%	1.7%	0.1%	N	N	1.1%	N	N	N
4	9.6%	4%	N	27.8%	N	N	N	N	N	N
5	12.1%	6.6%	2%	0.8%	1%	1.7%	1.9%	0.7%	0.8%	0.1%
8	7.2%	0.4%	N	N	N	N	N	N	N	N

- DCM: Extracto CH₂Cl₂:MeOH; HX: Extracto Hexánico; N: No hubo inhibición.
- Las unidades de las concentraciones están dadas en µg/mL.

Estas actividades, probablemente, se puedan explicar debido a los enlaces α,β-insaturados (vinílico ó exocíclico), presentes en esta clase de compuestos, sin embargo, pueden existir otras funciones en las estructuras de las LS como los epóxidos *cis* o *trans*, que también pueden aumentar o disminuir la actividad antibacteriana. Por lo anterior, puede explicarse que la presencia o ausencia de estas funciones, mejore notablemente las diferentes actividades. El mecanismo de acción de estos compuestos contra estas bacterias no está definido, pero se reporta, entre otros, que puede envolver al metileno exocíclico del anillo de la LS en adiciones nucleofílicas al ADN o algunas enzimas (13,14).

CONCLUSIONES

El análisis del extracto total de CH₂Cl₂:MeOH (1:1) de *M. micrantha* colectada en el Departamento del Quindío permitió el aislamiento y caracterización de un triterpeno acetil-β-amirina (1), un esteroil Lupeol (2), un fitoesteroil Estigmasterol (3), y las LS germacrólidas: Mikanólida (4), Dihidromikanólida (5), Desoximikanólida (6) y el β-D-glucopiranosido de estigmasterilo (7). De la población colectada en Paraíso, Guerrero (México), se obtuvo la LS guayanólida: Xerantólida (8) y las sustancias 1, 2, 3 y 7. Al comparar las colectas de ambos países, se puede concluir que existe variabilidad en el contenido metabólico, en Colombia *M. micrantha* sintetiza principalmente LS tipo germacrólidas mientras que de la población de México se obtuvo una LS tipo guayanólida.

De los extractos evaluados, el extracto Hexánico presentó una leve inhibición frente a todas las bacterias excepto la *Ralstonia solanacearum* raza 2 (Smith). La LS 8 presentó un efecto de inhibición mayor frente a *S. aureus* con 27.1% y *E. coli* con 47.5%, seguido por la LS 5, mientras que la LS 4 lo hizo en *Pseudomona*

aeruginosa, donde se observó un porcentaje del 27.8% a una concentración de 12.5 µg/mL. Los extractos y los compuestos puros, no presentaron efecto de inhibición frente a la *Ralstonia solanacearum* raza 2 (Smith). Se presenta una mayor inhibición en bacterias Gram-Positivas que en bacterias Gram-Negativas.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías y al Programa de Química de la Universidad del Quindío por el apoyo brindado en la pasantía realizada en el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) con el fin de realizar la parte experimental de esta investigación. Al Instituto de Química de la UNAM, especialmente al Grupo de investigación en Productos Naturales del laboratorio 1C y al Dr. Guillermo Delgado por su colaboración y apoyo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aguinaldo, A. M., Padolina, W. G., Abe, F., Yamauchi, T. Flavonoides from *Mikania cordata*. *Biochem. Syst. Ecol.* 2003; 31:665.
2. Huang, H., Ye, W., Wei, X., Zhang, C. Allelopathic potential of sesquiterpene lactones and phenolic constituents from *Mikania micrantha* H. B. K. *Journal Biochemical Systematics and Ecology.* 2009; 36:867-871.
3. Holmes, W. C. The Genus *Mikania* (Compositae-Eupatorieae) in México. *Bot. Misc.* 1990; 5:27.
4. But, P.P.H., He, Z.D., Ma, S.C., Chan, Y.M., Shaw, P.C., Ye, W.C., Jiang, R.W. Antiviral Constituents against Respiratory Viruses from *Mikania micrantha*. *J. Nat. Prod.* 2009; 72:925-928.
5. Bakir, M. Facey, P., Hassan, I., Mulder, W.H., Porter, R.B. "Mikanolide from Jamaican *Mikania micrantha*". *Crystal Structure Communications. Acta Cryst.* 0798-0800. 2004. Section C.

6. Picman, A.K. Biological activities of sesquiterpene lactones. *Biochem. Syst. Ecol.* 1986; 14:225-281.
7. Shao, H., Peng, S., Wei, X., Zhang, D., Zhang, C. Potential Allelochemicals from an Invasive Weed *Mikania micrantha* H.B.K. *J. Chem. Ecol.* 2005; 31:1657-1668.
8. Chaturvedi, D. Sesquiterpene lactones: Structural diversity and their biological activities. *Research signpost. Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry.* 2011; 313-334.
9. Herz, W., Subramaniam P.S., Santhanam, K., Aota, K., Allen, H. Structure Elucidation of Sesquiterpene Dilactones from *Mikania scandens* (L.) Willd. *J. Org. Chem.* 1970; 35:1453-1463.
10. Huang, H., Ye, W., Wu, P., Lin, L., & Wei, X. New Sesquiterpene dilactones from *Mikania micrantha*. *J. Nat. Prod.* 2004; 67:734-736.
11. a. Ríos V. E. Tesis doctoral: "Aislamiento, determinación de la estructura molecular y bioevaluación preliminar de los productos naturales de especies selectas de *Mikania* (fam. Compositae, sin: Astera-ceae). Universidad Nacional Autónoma de México, en desarrollo, 2013. b. Datos en proceso de publicación.
12. Ríos V.E., Chávez, M.I., León, A., Torres Y., Bravo A., Espinosa García, F., Delgado, G. Las Lactonas Sesquiterpénicas de *Mikania* y su Evaluación Biológica (Compositae). 30° Congreso Lationamericano de Química, CLAQ. México – Cancún. 2012.
13. Rufatto, L. C., Gower, A., Schwambach, J., Moura, S. Schwabach, J. Genus *Mikania*: Chemical composition and phytotherapeutical activity. *Rev. bras. farmacogn.* 2012; 22:384-1403.
14. Facey, P.C., Peart, P.C., Porter, R.B.R. The antibacterial activities of Mikanolide and its derivatives. *W. Indian Med. J.* 2010; 59:249-252.