

## Ensayos

# Distintivos del zoapatle mexicano y su metabolismo secundario

### Resumen

Una historia peculiar y un metabolismo inusual son características que distinguen al zoapatle mexicano. A lo largo de su historia el género *Montanoa* ha mostrado una interesante evolución que va desde su empleo empírico hasta estudios bioquímico-moleculares que lo postulan actualmente como un novedoso modelo vegetal para el estudio de rutas biosintéticas del metabolismo secundario. Esto es tan solo el comienzo para descubrir las fascinantes secuencias génicas que guardan estas especies y que podrían ser utilizadas en un futuro para aproximaciones de ingeniería metabólica con el objetivo de producir de manera controlada sus compuestos farmacológicamente activos.

### Abstract

An extraordinary history and a special secondary metabolism are some characteristics that highlight the Mexican zoapatle. In the course of its history, the *Montanoa* genus has shown an interesting evolution from its empirical use to its channelization for molecular approaches that currently allows its postulation as a novel model for the study of secondary metabolism. This is just the beginning for discovering novel genic sequences involved in the biosynthesis of their bioactive compounds, which could be further used by metabolic engineering in order to achieve their controlled production.

### Résumé

Une histoire particulière et un métabolisme inhabituel sont les caractéristiques qui distinguent la zoapatle mexicaine. Tout au long de son histoire, le genre *Montanoa* a montré une évolution intéressante de son travail empirique jusqu'à ce que des études biochimiques moléculaire ont suggéré comme une plante modèle bonne pour étudier les voies de biosynthèse du métabolisme secondaire. Ce n'est que le début pour découvrir les séquences de gènes fascinantes qui maintiennent ces espèces et pourrait être utilisée à l'avenir pour l'ingénierie métabolique approches dans le but de produire de manière contrôlée des composés pharmacologiquement actifs.

Nemesio Villa Ruano

**Palabras clave:** Etnobotánica, historia, metabolismo, peculiaridades, rutas-biosintéticas, zoapatle.

## Introducción

México cuenta con una herencia prehispánica profusa sobre el uso y propiedades medicinales de una enorme cantidad de plantas. De acuerdo con el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), al menos 50 ejemplares del legado etnobotánico son usados como remedio en comunidades rurales para tratar padecimientos clínicos comunes como es el caso de las parasitosis, diarreas, fiebres y dolores musculares (Lozoya, 1990; Lozoya-Legorreta *et al.*, 1988). Una considerable parte de estos ejemplares pertenecen a la familia de las compuestas (*Asteraceae*), hecho que coincide con la abundancia y el rango de acción que poseen en materia terapéutica. Dentro de algunas de las especies más usadas y estudiadas de esta familia botánica en México se podría considerar las agrupadas en los géneros *Artemisia*, *Arnica*, *Tanacetum*, *Senecio*, *Packera*, *Achillea*, *Heliopsis*, *Gymnosperma*, *Viguiera* y *Montanoa* (Heinrich *et al.*, 1998). Con más de medio centenar de artículos de investigación científica que

Instituto de Investigación sobre la Salud Pública. Universidad de la Sierra Sur

abarcan estudios de botánica elemental, fitoquímica, bioquímica y biotecnología, *Montanoa* spp prepondera del resto de plantas medicinales mexicanas, debido principalmente al metabolismo secundario dinámico que ha sido atrayente para científicos de todo el globo desde la década de los 70's. *Montanoa tomentosa*, la especie más representativa del género, es sin duda un llamativo ejemplo de cómo una planta medicinal del legado etnobotánico mexicano que fue inicialmente indagada con fines lucrativos de compañías farmacéuticas y estudiada de manera exhaustiva en el área fitoquímica, originó indirectamente una vasta información metabólica que motivó la exploración de otras plantas del mismo género. Con esto y a través de la historia, el género respectivo se convertiría en una fuente importante para la extracción, síntesis y biosíntesis de metabolitos secundarios de interés farmacológico. Una resaltante de *M. tomentosa* y de su género refiere a la ejecución de un mayor número de estudios bioquímico-moleculares con fines de producción controlada de sus compuestos bioactivos respecto a otros grupos de vegetales del legado etnobotánico mexicano. Debido a lo anterior, *M. tomentosa* es actualmente considerada un recurso fitogenético reconocido por la FAO (Molina y Córdoba, 2006). En la actualidad *M. tomentosa* y su género ocupan un lugar mundialmente reconocido en el área de los productos naturales debido a tres premisas básicas: su llamativa historia antigua, la persistencia de su uso en nuestros días y su metabolismo dinámico con potencial biotecnológico.

## Algunos aspectos botánicos del zoapatle

El género *Montanoa* consta de arbustos ramificados que pueden llegar a alcanzar los 3 m de altura aunque existen ejemplares como *M. gigas* que pueden sobrepasar esta medida (Fig. 1). Las estructuras florales se disponen en forma de cabezuelas constituidas por un número variable de unidades florales hermafroditas de color variable. El periodo de floración oscila entre los meses de junio-agosto, época caracterizada por abundantes lluvias. Las semillas están generalmente almacenadas en aquenios. En algunas especies, las raíces son de tipo fibroso con una delgada corteza aromática por la presencia de resina, y un xilema secundario delgado, esto último más notorio en *M. tomentosa*. Su presencia generalmente está asociada

al matorral xerófilo y selva baja caducifolia y con menos incidencia en bosque mesófilo de montaña (Funk, 1982). La distribución de estas plantas en México se reporta en el Distrito Federal, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas, Tlaxcala y Veracruz (Villaseñor y Espinosa, 1998; Villa-Ruano y Lozoya Gloria 2014).

## Peculiaridades del zoapatle

*M. tomentosa*, la especie más representativa del género, es comúnmente conocida como “zoapatle”, por las raíces náhuatl cihuatl= mujer y phatlí= medicina, que esbozan al término en castellano de “medicina para la mujer”. Su nombre científico fue designado en alusión a Luis Montaña, médico mexicano que dedicó y basó parte de su investigación en el estudio de los efectos clínicos de la planta relacionados con su propiedad para facilitar el parto (Gallegos, 1983). Con el tiempo y por las investigaciones efectuadas, el nombre de “zoapatle” fue derogado a otras especies y subespecies del mismo género *Montanoa*. El empleo de *M. tomentosa*, se encuentra plasmado en el código Cruz-Badiano y de acuerdo con la descripción del uso medicinal, los médicos prehispánicos de civilización azteca utilizaba las infusiones o decocciones para auxiliar partos difíciles, como regulador del ciclo menstrual, analgésico y anticonceptivo natural (Han *et al.*, 1981; Gallegos 1983; Lozoya, 1990;). Esta última propiedad



Figura 1. *Montanoa tomentosa* (zoapatle) en época de floración circundada por insectos polinizadores. Imagen capturada en el municipio de San Andrés Paxtlán, Oaxaca, México, en agosto del 2013.

fue el motivo que desató una inquietud mundial por la obtención y protección intelectual del principio anticonceptivo durante el periodo de 1975-1985. Siguiendo este propósito, se aislaron y caracterizaron al menos 30 productos naturales novedosos siendo algunos de ellos patentados de forma casi contigua (Bejar *et al.*, 2000). Contrastantemente y de acuerdo a la literatura registrada en ese periodo al parecer no se logró el hallazgo de un compuesto anticonceptivo único, cuestión que hasta hoy permanece controversial. Sin embargo y de acuerdo a algunas opiniones, la propiedad uterotónica-anticonceptiva de las especies de zoapatle podría deberse a la acción sinérgica de varios productos naturales biosintetizados por dichas especies que teóricamente estarían presentes en las infusiones tradicionales (Ríos *et al.*, 2012). Dentro de éstos se podría mencionar a algunos diterpenos oxepánicos como el zoapatanol (1) y diterpenos tetracíclicos que de manera individual o en mezcla mostraron un efecto sobre la musculatura uterina *in vitro* y/o *in vivo*, aunque estudios más detallados reportan que la última clase de diterpenos poseen una inusual estabilidad en infusiones acuosas al hervor (Enríquez *et al.*, 1996). Dentro los diterpenos tetracíclicos más abundantes en las especies de zoapatle se encuentran los derivados del *ent*-kaureno que curiosamente fueron identificados desde el primer trabajo fitoquímico llevado a cabo por Caballero y Walls (1979), pero sus propiedades uterotónicas no fueron confirmadas sino años más tarde. Como resultado de todas estas investigaciones y de manera totalmente colateral

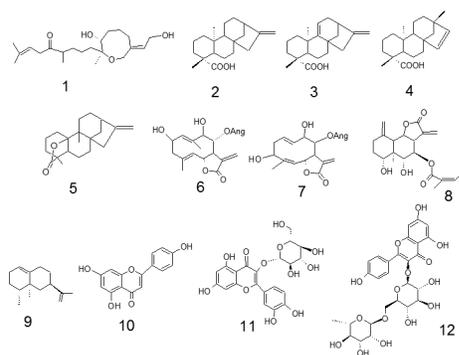


Figura 2. Algunos componentes bioactivos de las especies de zoapatle. 1: zoapatanol. 2: ácido *ent*-kaurenoico. 3: ácido grandiflorénico. 4: ácido monoginoico. 5: zoapatlina. 6: montafusina A. 7: zoapatanólido A. 8: montafusina C. 9: valenceno. 10: 5,7,4'-trihidroxi flavona. 11: isoquercitrina. 12: nicotiflorina. Las estructuras están basadas en las bases de datos del PubChem Compound o a partir de la fuente original.

se obtuvo una enorme información metabólica del género *Montanoa*, que sin concebirlo como objetivo principal contribuyó de manera importante a la química de productos naturales. No obstante y de una cifra superior a los 70 compuestos químicos descubiertos, actualmente sólo una fracción de estos metabolitos cuenta con un actividad biológica asignada como es el caso de algunas lactonas sesquiterpénicas y diterpenos (Villa-Ruano y Lozoya-Gloria, 2014).

## Integración metabólica del zoapatle

Las rutas metabólicas del shikimato, acetato-mevalonato y desoxi-D-xilulosa-5-fosfato convergen en las hojas de *Montanoa* spp (Fig. 2 y 3). Como producto se generan volátiles que incluyen mono- y sesquiterpenos los cuales son aparentemente almacenados en tricomas glandulares y en mesófilo (Robles-Zepeda *et al.*, 2009). También se incluyen lactonas sesqui-

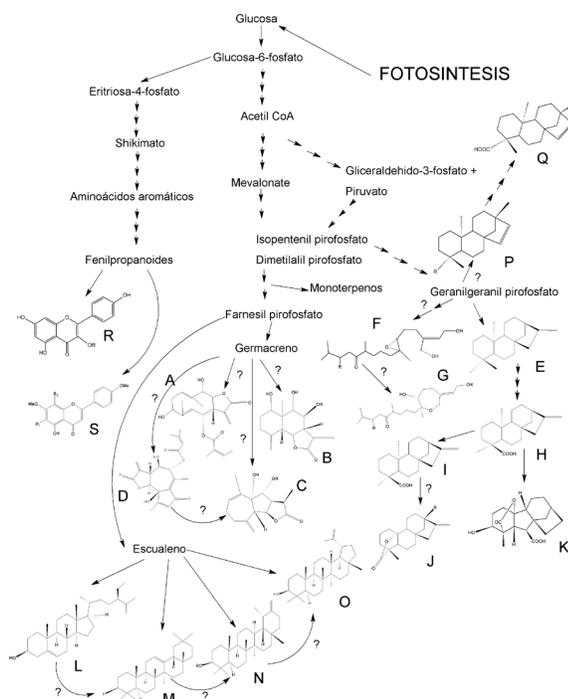


Figura 3. Metabolismo secundario de los principales compuestos del género *Montanoa*. Rutas plausibles de biosíntesis para A: germacradienólidos, B: eudesmanólidos, C: montahibisciólidos, D: heliangólidos, E: ent-kaureno, F: precursores acíclicos de oxepano diterpenos, G: oxepano diterpenos, H: ácido *ent*-kaurenoico, I: ácido grandiflorénico, J: zoapatlina, K: giberelinas, L: esteroides, M-N-O, triterpenos pentacíclicos, P: ent-beyereno, Q: ácido beyerenoico o monoginoico y R-S: Flavonoides glicosilados y sus agliconas. Los signos de interrogación denotan posibles rutas que requieren corroboración.

terpénicas (que superan el 50% del número total de compuestos), diterpenos tetracíclicos, diterpenos oxepánicos, triterpenos, tetraterpenos y flavonoides (Villa-Ruano y Lozoya Gloria, 2014). Si bien, se considera a los diterpenos tetracíclicos como moléculas distintivas de la familia de las asteráceas, los diterpenos oxepánicos podrían fungir más acertadamente como marcadores quimiotaxonómicos del género *Montanoa*, ya que parecen encontrarse de manera constante y más limitada en este grupo (Oshima *et al.*, 1986). Dada la estructura química de los diterpenos oxepánicos y los precursores putativos (Quijano *et al.*, 1985) su biogénesis podría inferir la existencia de una oxepano ciclasa aún no caracterizadas como responsable de la formación del anillo de 8 carbonos a partir de del geranilgeranil pirofosfato (Cossy *et al.*, 2008). Modificaciones sucesivas podrían efectuarse por la actividad de reductoisomerasas, metiltransferasas y citocromo P450 oxidasas que en conjunto generarían a la estructura final (Fig. 3). Para el caso de los diterpenos derivados del *ent*-kaureno, la ruta metabólica ha sido parcialmente caracterizada (Villa-Ruano *et al.*, 2009). Experimentos de rastreo metabólico usando el precursor geranilgeranil pirofosfato marcado con tritio demostraron la incorporación del mismo en los tres compuestos diterpénicos más abundantes del zoapatle: los ácidos grandiflorénico (2), kaurenoico (3) y monoginoico (4) o beyerenoico, este último muy abundante en raíces. La transformación del ácido kaurenoico en grandiflorénico por una enzima dependiente de NADPH (ácido kaurenoico 9-11 desaturasa microsomal) y la oxidación del *ent*-beyereno en ácido monoginoico por acción de una *ent*-beyereno oxidasa han sido propuestas (Villa-Ruano *et al.*, 2009). Resultados adicionales sobre la canalización del geranilgeranil pirofosfato en diterpenos tetracíclicos envueltos en el metabolismo primario como son las giberelinas y los carotenoides demuestra una compleja interacción del metabolismo terpénico en *M. tomentosa*. Estudios moleculares preliminares permitieron la generación de bibliotecas de ADN complementario (ADNc) que a su vez facilitan la identificación de secuencias codificantes para enzimas críticas en la biosíntesis general de los terpenos bioactivos del zoapatle (Medel-Mercado, 2004). Más recientemente, el aislamiento del ADN complementario de la *ent*-kaureno oxidasa encargada de la oxidación del *ent*-kaureno en

ácido *ent*-kaurenoico ha sido elucidada (Villa-Ruano *et al.*, 2010). Dado que este compuesto es uno de los principales componentes farmacológicos, algunas aproximaciones de ingeniería metabólica en levadura podrían determinar la funcionalidad preliminar de la enzima en un sistema heterólogo (Villa-Ruano *et al.*, 2011). Uno de los diterpenos más originales en cuanto a estructura química es la zoapatlina (5), una lactona diterpénica cuyo derivado anticancerígeno la ( $\pm$ )-13-Metoxi-15-oxozoapatlina se logró obtener mediante síntesis química (Britton *et al.*, 2004). Este compuesto junto con el zoapatanol son considerados modelos clásicos de síntesis orgánica (Cossy *et al.*, 2008). Se han reportado interesantes sugerencias sobre la síntesis de la zoapatlina a partir del ácido grandiflorénico (Nakano, 1997), sin embargo, a la fecha no hay evidencia experimental que corrobore la ocurrencia de esta vía de manera natural. Sesquiterpeno ciclasas relacionadas con la síntesis de algunas fitoalexinas han sido detectadas previamente en el zoapatle (Medel-Mercado, 2004). A pesar del avance en esta materia, aún es necesaria la identificación y corroboración de vías probablemente conservadas en asteráceas en las que se encuentran involucradas germacreno sintasas y germacreno hidroxilasas encargadas de originar esqueletos básicos de germacradienólidas como la montafusina A (6), guaianólidas como el zoapatanolido A (7) y eudesmanolidas como la montafusina C (8) (Fig. 3; Kraker *et al.*, 2001). Estos grupos de lactonas sesquiterpénicas son altamente abundantes en el género.

Tal y como se ha observado para otras plantas de importancia farmacológica, el descubrimiento de las secuencias génicas y enzimas involucradas en la biosíntesis de sus componentes bioactivos es el primer paso hacia la obtención de organismos modificados por ingeniería metabólica que permitan su producción controlada para fines farmacológicos. Con la generación de organismos biodirigidos capaces de generar compuestos a disposición, será posible escalar la producción de fitofármacos para la realización de mejores y mayores pruebas clínicas que contribuirán a reforzar tanto la calidad de los productos como las posibilidades de su liberación al mercado farmacéutico. Con la aplicación de la biología sintética se podrá contribuir incluso a la disminución de los costos de fitofármacos actuales en el mercado haciéndolos

gradualmente más accesible para el público en general. Un claro ejemplo de tales iniciativas está representado en el programa PhytoMetaSyn liderado por científicos canadienses quienes han apostado a la caracterización de secuencias génicas codificantes para productos naturales bioactivos y su re-insercción en microorganismos modelo o cultivos de tejidos vegetales con el objetivo de reconstruir las rutas biosintéticas que los generan (Facchini *et al.*, 2012). Dicho de otra manera se busca generar plataformas sustentables para la síntesis de moléculas con potencial terapéutico, que sean además amigables con el medio ambiente y que al mismo tiempo protejan la diversidad del legado etnobotánico. Un programa de esta naturaleza en México es altamente requerido tomando en cuenta el acervo de plantas medicinales que con el que se cuenta y las plantas de zoapatle podrían ser fuertes candidatos entre algunos otros géneros para este propósito.

## Potenciales aplicaciones del zoapatle

El género *Montanoa* es una fuente rica de compuestos de naturaleza diterpénica sobre todo derivados del *ent*-kaureno con propiedades farmacológicas probadas que van desde relajadoras del músculo liso, antimicrobianas-antivirales, alelopáticas hasta hipoglicemiantes y anticancerígenas (Anselmo *et al.*, 2007). Dada la naturaleza aromática de esta planta y su composición de volátiles como el alfa-pineno y el valenceno (9) que es el precursor de la notkatona, el aceite esencial de la planta podría ser utilizado en la industria cosmética (Robles-Zepeda *et al.*, 2005). La 5,7,4'-trihidroxi flavona (10), detectada en algunas especies de zoapatle (Villa-Ruano y Lozoya Gloria, 2014) es utilizada por algunos artesanos como pigmento natural en ropa de lana. En la industria farmacéutica, otros fenilpropanoides como la isoquercitrina (11) y la nicotiflorina (12) también son cuantiosos (Oshima *et al.*, 1986) y valuados por su potente efecto antioxidante y nootrópico, por lo que podrían ser adicionados como ingredientes en distintos alimentos. Las agliconas triterpénicas tipo lupeol también encontradas en el género han mostrado un posible empleo en el tratamiento de la obesidad, dado que algunos de estos componentes poseen efecto inhibitorio de enzimas lipolíticas (Tucci *et al.*, 2010).

## Conclusión

*Montanoa* spp. ha contribuido significativamente a la fitoquímica de plantas con una cifra superior a los 70 productos naturales, en su mayoría terpenos y algunos muy específicos como los oxepano diterpenos (Villa-Ruano y Lozoya-Gloria, 2014). Debido a esto, se podrían postular más coherentemente como marcadores quimiotaxonómicos del género. El metabolismo particular de las especies de *Montanoa* confirma una intrincada red de vías metabólicas poco común que tiene la potencialidad de revelar secuencias génicas de interés biotecnológico para fines de producción controlada de sus principios bioactivos. Los estudios bioquímico-moleculares realizados en el zoapatle mexicano podrían ser la base para aproximaciones de ingeniería metabólica con el objetivo de crear novedosas plataformas para la producción controlada de sus principios bioactivos en un futuro próximo.

*M. tomentosa*, la planta más célebre del género y una de las más importantes del legado etnobotánico mexicano, constituye un ejemplar medicinal antiguo que ha traspasado la barrera del tiempo dando un claro ejemplo de que los seres humanos dependemos inevitablemente del entorno natural para dar solución a problemas de salud, aún en tiempos modernos. De igual manera, exhibe el metabolismo de las plantas medicinales como cajas negras que guardan celosamente propiedades extraordinarias. ¿Qué podríamos esperar del metabolismo de plantas hoy extintas? **T**

**Agradecimiento:** Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través del financiamiento CB-2010-151144Z.

## Referencias

- Anselmo GA, de Oliveira AL, Batista R. (2007). Occurrence, biological activities and synthesis of kaurane diterpenes and their glycosides. *Molecules* Vol. 12. 455-483.
- Bejar E, Reyes Chilpa R, Jiménez-Estrada M. (2000). Bioactive compounds from selected plants used in the XVI century Mexican traditional medicine. En: *Studies in natural products chemistry*, Vol. 24. Atta-ur-Rahaman (ed), Elsevier. pp. 799-817.
- Britton RA, Piers E, Patrick BO. (2004). Total Synthesis of ( $\pm$ )-13-Methoxy-15-oxozoapatlin, a rearran-

- ged kaurane diterpenoid. *Journal of Organic Chemistry* Vol.69. 3068-3075.
- Caballero Y, Walls, F. (1970). Productos naturales del zoapatle (*Montanoa tomentosa* Cerv.) *Boletín del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México* Vol.22. 79
- Enríquez RG, Miranda E, Ortíz B, León I, Magos G, Peña A, Reynolds WF, Gnecco D. (1996). The unambiguous detection of kaurenoic derivatives in aqueous infusions of *Montanoa tomentosa* by GC-MS and 2D-NMR spectroscopy: an answer to contradictory reports. *Planta Medica* Vol. 62. 569-571.
- Facchini PJ, Bohlmann, Covello PS, De Luca V, Mahadevan R, Page JE, Ro D-K, Sensen CW, Storms R, Martin VJJ. Synthetic biosystems for the production of high-value plant metabolites. *Trends in Biotechnology* Vol. 30. 127-131.
- Funk VA. (1982). The systematics of *Montanoa* (Asteraceae, Heliantheae). *Memoirs of the New York Botanical Garden* Vol. 36. 1-133.
- Gallegos AJ. (1983). The zoapatle I- A traditional remedy from Mexico emerges to modern times. *Contraception* Vol. 27. 211-225.
- Hahn DW, Ericson EW, Lai MT, Probst A. (1981). Antifertility activity of *Montanoa tomentosa* (Zoapatle). *Contraception* Vol. 23. 133-140.111
- Heinrich M, Robles M, West JE, Oertiz de Montellano BR, Rodríguez E. (1998). Ethnopharmacology of Mexican asteraceae (Compositae) *Annual Review of Pharmacological Toxicology* Vol. 38. 539-565.
- Kraker J-W, Franssen MCR, Marcella CFD, de Groot A, Bouwmeester HJ. (2001). Biosynthesis of germacrene A carboxylic acid in chicory roots. Demonstration of a cytochrome P450 (+)- germacrene A hydroxylase and NADP<sup>+</sup>-dependent sesquiterpenoid dehydrogenase involved in sesquiterpene lactone biosynthesis. *Plant Physiology* Vol. 125. 1930-1940.
- Lozoya X. (1990). *Los Señores de las Plantas: Medicina y Herbolaria en Mesoamérica*, México: Pangea.
- Lozoya-Legorreta X, Velázquez-Díaz G, Flores-Alvarado A. (1988). La Medicina Tradicional en México: Experiencia del Programa IMSS-COPLAMAR 1982-1987. Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), México.
- Medel-Mercado LT (2004) Construcción de un banco de ADNc y aislamiento de fragmentos de genes estimuladas con daño mecánico. Tesis de Licenciatura Instituto Tecnológico de Celaya. Celaya Guanajuato México.
- Molina MJC, Córdova Téllez CT. (2004). Informe nacional sobre el estado de los recursos fitogenéticos para la agricultura y la alimentación, México. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación y Sociedad Mexicana de Fitogenética. Primera ed. México.
- Nakano T. (1997). Molecular rearrangements in the derivatives of grandiflorenic acid [(-)-kaura-9(11),16 diene-19-oic acid] and some related diterpenes. In: *Studies in Natural Products Chemistry*, Vol 19. Atta-ur-Rahman (ed). Elsevier.
- Oshima Y, Cordell GA, HHS Fong. (1986). Oxepane diterpenes from *Montanoa tomentosa*. *Phytochemistry* Vol. 25. 2567-2566.
- Quijano L, Calderón JS, Gómez-Garibay F, Rosario V, Ríos T. (1985). Acyclic precursor of the uterotonic oxepane diterpenoids of “zoapatle” (*Montanoa tomentosa*). *Phytochemistry* Vol. 24. 2741-2743.
- Ríos CT, Quijano L, Reyes CR (2012) Algunas reflexiones actuales sobre la herbolaria prehispánica desde el punto de vista químico. *Revista Latinoamericana de Química* Vol. 40. 41-64.
- Robles-Zepeda RE, Molina-Torres J, Lozoya Gloria E, López MG. (2005). Volatile organic compounds of leaves and flowers of *Montanoa tomentosa*. *Flavour and Fragrance Journal* Vol. 21. 225-227.
- Tucci SA, Boyland EJ Jason CHH. (2010). The role of lipid and carbohydrate digestive enzyme inhibitors in the management of obesity: a review of current and emerging therapeutic agents. *Diabetes Metabolic Syndrome and Obesity* Vol. 3. 125-143.
- Villa-Ruano N, Betancourt-Jiménez MG, Lozoya-Gloria E. (2009). Biosynthesis of uterotonic diterpenes from *Montanoa tomentosa* (zoapatle). *Journal of Plant Physiology* Vol. 166. 1961-1967.
- Villa-Ruano N, Betancourt-Jiménez MG, Lozoya-Gloria E. (2010). cDNA isolation and gene expression

- of kaurene oxidase from *Montanoa tomentosa* (zoapatle). *Revista Latinoamericana de Química* Vol. 38. 81-88.
- Villa-Ruano N, Lozoya-Gloria Edmundo, Betancourt-Jiménez MG, Pacheco-Hernández Y, Hernández-Silva N, Lara-Zaragoza EB, Franco-Monsreal J. (2011). Biotecnología molecular de los diterpenos provenientes de *Montanoa tomentosa*. *Revista Latinoamericana de Química* Vol. 38:17. Suplemento especial.
- Villa-Ruano N y Lozoya-Gloria E. (2014). Anti-fertility and other biological activities of zoapatle (*Montanoa* spp.) with biotechnological application. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. In press.
- Villaseñor JLR y Espinosa FJG. (1998). Catálogo de malezas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica. México, D.F