

00324  
94



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

“DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA  
DE EXTRACTOS Y COMPUESTOS PUROS DERIVADOS DE  
HONGOS Y ESPECIES VEGETALES DE AMPLIO USO EN  
LA MEDICINA TRADICIONAL DE MEXICO”.

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA  
PRESENTA

BERTHA ADRIANA LOPEZ MENDOZA



EXAMENES PROFESIONALES  
MEXICO. D. FACULTAD DE QUIMICA 2003



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

<b>PRESIDENTE</b>	<b>Dra. María Isabel Aguilar Laurents</b>
<b>VOCAL</b>	<b>Dra. Rachel Mata Essayag</b>
<b>SECRETARIO</b>	<b>Dr. Rogelio Gregorio Pereda Miranda</b>
<b>PRIMER SUPLENTE</b>	<b>Dr. Francisco Hernández Luis</b>
<b>SEGUNDO SUPLENTE</b>	<b>M. en C. Laura Alicia Acevedo Arteaga</b>

Sitio donde se desarrolló el tema

Laboratorio 124. Departamento de Farmacia, Edificio "E". Facultad de Química. UNAM.

Asesor del tema

Dra. Rachel Mata Essayag

Supervisor técnico

M. en C. Isabel Rivero Cruz

Sustentante

Bertha Adriana López Mendoza

Rachel Mata Essayag

Isabel Rivero Cruz

Bertha Adriana López Mendoza

Aviso a la Dirección General  
UNAM a difundir en formato electrónico  
el contenido de mi trabajo de  
NOMBRE: Bertha Adriana López Mendoza  
FECHA: 08-marzo-03  
FIRMA: Bertha Adriana López Mendoza

2

## **AGRADECIMIENTOS**

**El trabajo experimental de esta tesis se realizó mediante el apoyo económico otorgado a través del proyecto DGAPA (Dirección General de Asuntos de Personal Académico) IN200902.**

**Al Cepario de la Facultad de Química por proporcionar los microorganismos de prueba utilizados en el presente estudio.**

**A los Drs. Miguel Ulloa y María del Carmen González del Instituto de Biología, UNAM, por proporcionar las especies fúngicas objeto de estudio. Al Dr. Robert Bye del Jardín Botánico del Instituto de Biología, UNAM, por proporcionar algunas de las plantas evaluadas en la presente investigación.**

**A los miembros del jurado designado para la revisión del manuscrito de tesis.**

**A todos mis compañeros del Laboratorio 124 por el apoyo que me brindaron en todo momento, especialmente a Isa y a Blanca.**

**De manera muy especial, con profunda admiración y respeto, a la Dra. Rachel Mata por permitirme formar parte de su equipo de trabajo, por su invaluable guía para la realización del presente trabajo de tesis y por su apoyo y comprensión.**

## **DEDICATORIAS**

**A Iván, mi bebé: Por la felicidad que trajo a mi vida con su llegada, por todas las sonrisas que me regala día a día, por su inmensa ternura, porque este trabajo lo realizamos juntos y porque es mi razón más grande para desear superarme.**

**A mi mamá: por todo el amor, el apoyo, la comprensión y la paciencia que me ha brindado, porque siempre ha sido un ejemplo a seguir, por todas sus enseñanzas y por ser la persona que más admiro. Porque lo poco o mucho que he logrado ha sido gracias a ella.**

**A mi papá y a Mamá Firona porque aunque ya no estén físicamente con nosotros siempre permanecerán en mi mente y, sobre todo, en mi corazón.**

**A Alex, por ser todo lo que ha sido para mí, porque no hubiera podido seguir adelante sin su apoyo y sus consejos. Gracias por tu comprensión, por tus ocurrencias y por hacer especial cada momento.**

**A Marce, por todo lo que hemos compartido, por haberme regalado el tesoro mas valioso que pueda existir, porque en todos estos años siempre ha estado a mi lado apoyándome y alentándome en los momentos difíciles y, principalmente, por el amor, comprensión y respeto que siempre me ha mostrado.**

**A Ricardo y Sandra por esas tres chiquitas tan maravillosas que trajeron a nuestra familia.**

**A Mariana, Natalia y Sofia, por ser tan especiales, por sus travesuras, sus detalles, la ternura que poseen y por dar tanta alegría a mi vida**

**A Ale, Maye, Luis y Salomón por la amistad que me han brindado todos estos años.**

**A Isa, Blanca, Ili, Elena, Norma, Laura, Martha, Janet, Sergio y Toño por los momentos tan agradables que pasamos en el laboratorio.**

A

## INDICE

	Página
Lista de Cuadros	I
Lista de Figuras	III
Lista de Esquemas	III
Lista de Abreviaturas	IV
I. INTRODUCCIÓN	Página
	1
1.1 Búsqueda de agentes antimicrobianos de origen vegetal	1
1.2 Antecedentes de <i>Arracacia toluensis</i>	3
1.3 Antecedentes de <i>Brickellia veronicaefolia</i>	4
1.4 Antecedentes de <i>Geranium niveum</i>	6
1.5 Antecedentes de <i>Guanomyces polythrix</i>	8
1.6 Antecedentes sobre las orquídeas estudiadas en la presente investigación	12
1.7 Antecedentes de <i>Selaginella lepidophylla</i>	19
1.8 Antecedentes de <i>Prionosciadium watsoni</i>	21
1.9 Antecedentes de <i>Farrowia longicollea</i> , <i>Gymnascella dankaliensis</i> y <i>Malbranchea auriantaca</i>	24
II. OBJETIVOS	25
III. PARTE EXPERIMENTAL	26
3.1 Material vegetal y preparación de los extractos vegetales	26
3.2 Especies fúngicas y preparación de los extractos fúngicos	26
3.3 Determinación de la actividad antimicrobiana	27
3.3.1 Microorganismos de prueba	
a) Microorganismos de prueba y medios de cultivo	27
3.3.2 Determinación del número de células por medio del estándar turbidimétrico de Mc Farland	27

b) Determinación de la concentración crítica de antibióticos	28
b.1) Preparación de los inóculos	
b.2) Preparación de las concentraciones de antibióticos	29
b.3) Preparación de las placas de agar	30
b.4) Bioensayo	30
3.3.3 Determinación cualitativa de la actividad antimicrobiana por el método de difusión en agar utilizando discos de papel filtro como reservorio	31
3.3.4 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria	32
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>33</b>
<b>V. RESUMEN Y CONCLUSIONES</b>	<b>48</b>
<b>VI BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>50</b>

### Lista de Cuadros

		Página
Cuadro 1	Metabolitos aislados de <i>Brickellia veronicaefolia</i>	5
Cuadro 2	Proantocianidinas de <i>Geranium niveum</i>	7
Cuadro 3	Metabolitos secundarios descritos para <i>Guanomyces polythrix</i>	10
Cuadro 4	Metabolitos aislados de <i>Maxillaria densa</i>	14
Cuadro 5	Metabolitos aislados de <i>Scaphyglotis livida</i>	15
Cuadro 6	Metabolitos aislados de <i>Selaginella lepidophylla</i>	20
Cuadro 7	Metabolitos aislados de <i>Prionosciadium watsoni</i>	22
Cuadro 8	Especies vegetales objeto de evaluación	26
Cuadro 9	Especies fúngicas objeto de evaluación	27
Cuadro 10	Microorganismos de prueba y medios de cultivo	28
Cuadro 11	Estándar turbidimétrico de Mc Farland	28
Cuadro 12	Antibióticos a los cuales se determinó la concentración inhibitoria crítica	29
Cuadro 13	Disolventes empleados para la disolución de los antibióticos	30
Cuadro 14	Volumen de inóculo empleado para los ensayos	30
Cuadro 15	Concentración de cada uno de los antibióticos de prueba seleccionados como control positivo	31
Cuadro 16	Diámetros de la zona de inhibición (mm <sup>2</sup> ) desarrollados por los extractos activos sobre <i>Staphylococcus aureus</i>	36
Cuadro 17	Diámetros de la zona de inhibición (mm <sup>2</sup> ) desarrollados por los extractos activos sobre <i>Bacillus subtilis</i>	36
Cuadro 18	Diámetros de la zona de inhibición (mm <sup>2</sup> ) desarrollados por los extractos activos sobre <i>Escherichia coli</i>	37
Cuadro 19	Diámetros de la zona de inhibición (mm <sup>2</sup> ) desarrollados por los extractos activos sobre <i>Salmonella typhi</i>	37
Cuadro 20	Diámetros de la zona de inhibición (mm <sup>2</sup> ) desarrollados por los extractos activos sobre <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	38
Cuadro 21	Diámetros de la zona de inhibición (mm <sup>2</sup> ) desarrollados por los extractos activos sobre <i>Candida albicans</i>	39



<b>Cuadro 22</b>	<b>Estructuras de los compuestos evaluados</b>	<b>40</b>
<b>Cuadro 23</b>	<b>Diámetros de la zona de inhibición (mm<sup>2</sup>) desarrollados por los compuestos activos sobre <i>Staphylococcus aureus</i></b>	<b>43</b>
<b>Cuadro 24</b>	<b>Diámetros de la zona de inhibición (mm<sup>2</sup>) desarrollados por los compuestos activos sobre <i>Escherichia coli</i></b>	<b>44</b>
<b>Cuadro 25</b>	<b>Diámetros de la zona de inhibición (mm<sup>2</sup>) desarrollados por los compuestos activos sobre <i>Salmonella typhi</i></b>	<b>44</b>
<b>Cuadro 26</b>	<b>Diámetros de la zona de inhibición (mm<sup>2</sup>) desarrollados por los compuestos activos sobre <i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>	<b>45</b>
<b>Cuadro 27</b>	<b>Diámetros de la zona de inhibición (mm<sup>2</sup>) desarrollados por los compuestos activos sobre <i>Candida albicans</i></b>	<b>46</b>
<b>Cuadro 28</b>	<b>Microorganismos susceptibles a los extractos evaluados</b>	<b>48</b>

### Lista de Figuras

		Página
Figura 1	<i>Arracacia toluensis</i>	4
Figura 2	<i>Brickellia veronicaefolia</i>	4
Figura 3	<i>Geranium niveum</i>	6
Figura 4	Hongo coprófilo <i>Guanomyces polythrix</i> en un cultivo de agar papa-dextrosa	9
Figura 5	<i>Guanomyces polythrix</i>	9
Figura 6	<i>Maxillaria densa</i> Lindley	16
Figura 7	<i>Scaphyglotis livida</i> (Linley) Schelter	16
Figura 8	<i>Nidema boothii</i>	17
Figura 9	<i>Epidendrum cardiochilum</i>	18
Figura 10	<i>Epidendrum rigidum</i>	18
Figura 11	<i>Selaginella lepidophylla</i> Spring	19
Figura 12	<i>Prionosciadium watsoni</i> Coulter & Rose	21
Figura 13	Colocación de los discos y de las concentraciones a evaluar en el bioensayo	31

### Lista de Esquemas

		Página
Esquema 1	Estrategia metodológica empleada en el estudio de las especies vegetales	33
Esquema 2	Estrategia metodológica empleada en el estudio de las especies fúngicas	34

### **Lista de Abreviaturas**

<b>AcOEt</b>	<b>Acetato de etilo</b>
<b>ATCC</b>	<b>American Type Culture Collection</b>
<b>CIM</b>	<b>Concentración inhibitoria mínima</b>
<b>cm</b>	<b>centímetro</b>
<b>cm<sup>2</sup></b>	<b>centímetro cuadrado</b>
<b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b>	<b>diclorometano</b>
<b>DMSO</b>	<b>dimetilsulfóxido</b>
<b>°C</b>	<b>grados centígrados</b>
<b>Gram (+)</b>	<b>Gram positiva</b>
<b>Gram (-)</b>	<b>Gram negativa</b>
<b>g</b>	<b>gramos</b>
<b>lb</b>	<b>libras</b>
<b>L</b>	<b>litros</b>
<b>M</b>	<b>molar</b>
<b>MeOH</b>	<b>metanol</b>
<b>m</b>	<b>metros</b>
<b>µg</b>	<b>microgramos</b>
<b>mL</b>	<b>mililitros</b>
<b>mm</b>	<b>milímetros</b>
<b>mm<sup>2</sup></b>	<b>milímetros cuadrados</b>
<b>NA</b>	<b>no activo</b>
<b>No Cel</b>	<b>Número de células</b>
<b>%</b>	<b>por ciento</b>
<b>VIH</b>	<b>Virus de inmunodeficiencia humana</b>

**PAGINACIÓN**

**DISCONTINUA**

## I. ANTECEDENTES

### 1.1 Búsqueda de agentes antimicrobianos de origen vegetal

Desde épocas remotas el hombre ha usado extractos vegetales y productos derivados de los mismos para el tratamiento de numerosas enfermedades, incluyendo las infecciosas. Durante mucho tiempo el empleo de esos agentes terapéuticos, otrora efectivos, y la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos de origen vegetal, se han visto opacados debido a la gran revolución ocasionada por los antibióticos derivados de microorganismos o sus análogos sintéticos y que data desde los primeros ensayos clínicos de la penicilina en 1929 (Cutler y Cutler, 2000; Cowan, 1999; Davies, 1994; Newman *et al.*, 2000). Sin embargo, desde la década pasada, ha resurgido notablemente el interés por los agentes antimicrobianos derivados de plantas como lo demuestra la abundante literatura que se ha publicado en relación al tema durante ese periodo. Muchas razones han contribuido a este hecho, destacándose la aparición de un sin número de especies resistentes a los fármacos de uso actual y de enfermedades que como el SIDA están asociadas a micosis oportunistas. Así mismo, el interés por desarrollar fármacos antimicrobianos mas potentes y eficaces que los de uso actual, ha motivado la búsqueda de nuevos productos. El uso de técnicas microbiológicas modernas ha permitido demostrar que los extractos de plantas superiores de diversos géneros y familias poseen una actividad significativa en contra de numerosas bacterias y hongos patógenos (Chattopadhyay, *et al.*, 2001; Eloff, 1998; Cutler y Cutler, 2000; C. Penna *et al.*, 2001; Portillo *et al.*, 2001; Pundarikakshudu, *et al.*, 2001; Tegos *et al.*, 2002; )

En este creciente interés por los agentes antimicrobianos de origen vegetal, la medicina alternativa ha desempeñado un papel muy importante como criterio para la selección de plantas con principios antisépticos potenciales. La selección puede realizarse también de acuerdo a los criterios ecológico y quimiotaxonómico, estos dos criterios son de utilidad para la selección primaria de materias primas destinadas al descubrimiento de fármacos (Cutler y Cutler, 2000).

Las plantas producen una enorme cantidad de metabolitos secundarios y es comúnmente aceptado que una parte de éstos sirven para protegerlas contra patógenos microbianos. Estas sustancias son conocidas como fitoanticipinas, si son constituyentes de la planta, y fitoalexinas si sus niveles se incrementan como respuesta a una invasión microbiana. Los compuestos naturales se clasifican como antimicrobianos con base en pruebas de susceptibilidad que permiten establecer su concentración inhibitoria mínima (CIM), considerándose como activos aquellos con CIM's comprendidas en el intervalo entre 100 y 1000 µg/mL. Un compuesto que es sintetizado como respuesta a una invasión

patógena y que se requiere para proteger a la planta pero que muestra una pequeña actividad en pruebas de susceptibilidad *in vitro* no es necesariamente un antimicrobiano.

La mayoría de los metabolitos secundarios muestran una actividad considerable contra bacterias Gram (+) pero no contra Gram (-) y levaduras. Este comportamiento se debe a que las Gram (-) y las levaduras están cubiertas por una membrana que posee una estructura tal que impide el paso de los compuestos antimicrobianos; en cambio, las bacterias Gram (+) poseen una membrana que permite el paso de dichos compuestos. Aunado a esto, las bacterias Gram (-) poseen proteínas resistentes a los fármacos que se encargan de expulsar cualquier producto que pudiera penetrar a través de la membrana externa de la bacteria. Esta es la principal razón por lo que en la actualidad los antimicrobianos de origen vegetal no son utilizados de manera sistemática como antibióticos (Tegos *et al.*, 2002). Como solución a esta limitante, se realizó un estudio (Stermitz *et al.*, 2000; Tegos *et al.*, 2002) en el que se encontró que para que los compuestos producidos por las plantas sean efectivos contra todo tipo de bacterias y levaduras es necesario encontrar la manera de introducirlos en las células patógenas, siendo esto posible si se inhiben las proteínas resistentes a los fármacos.

En la medicina actual se ha incrementado el uso de antimicrobianos y otros fármacos derivados de plantas, ya que los antibióticos tradicionales se han vuelto poco efectivos para el tratamiento de enfermedades infecciosas y virales. El creciente interés por este tipo de compuestos se debe a varias razones, así, se estima que existen entre 250,000 y 500,000 especies de plantas en la Tierra; un pequeño porcentaje de estas (1 a 10%) son utilizadas por el hombre y algunas especies animales como alimento, y es posible que un porcentaje mayor sea empleado con fines medicinales. Así mismo, el aumento en el número de personas afectadas por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y otras enfermedades infecciosas ha intensificado las investigaciones sobre derivados de las plantas que puedan ser efectivos, especialmente para su uso en países poco desarrollados que no tienen acceso a medicamentos costosos.

México es un país con una vasta biodiversidad y una gran tradición en el uso de plantas con fines medicinales. Muchas son las especies que gozan de reputación folklórica como agentes antisépticos. En consecuencia, la biodiversidad de México ofrece buenas perspectivas para el descubrimiento de nuevos agentes medicinales con propiedades antimicrobianas.

En la actualidad las investigaciones conducentes a la obtención de principios activos vegetales se realizan mediante estrategias bioguiadas (Taylor *et al.*, 1995; Eloff, 1998; Cutler y Cutler, 2000) empleando un bioensayo conveniente para guiar el aislamiento de los constituyentes bioactivos, sin

importar sus propiedades químicas o sus concentraciones relativas en los extractos. Los estudios biodirigidos, garantizan la obtención de compuestos bioactivos, muchos de los cuales pueden ser estructuralmente novedosos contribuyendo no solamente al campo de la química farmacéutica, sino también a otras áreas más específicas del conocimiento de los productos naturales (Cutler y Cutler, 2000). Para la determinación de la actividad antimicrobiana se emplean métodos de dilución y métodos de difusión en agar. En general, los ensayos biológicos se realizan con una serie de microorganismos de prueba que incluyen bacterias Gram positivas (*Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*), Gram negativas (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi* y *Pseudomonas aeruginosa*), levaduras (*Candida albicans*) y hongos (*Aspergillus niger* y *Trichophyton mentagrophytes*) tanto resistentes como susceptibles. La susceptibilidad de tales microorganismos al agente potencial antimicrobiano se determina en dos fases: en la primera se realiza un ensayo cualitativo primario que permite detectar la presencia o ausencia de actividad. En la segunda, se cuantifica la potencia relativa (Romero, 1994; Koneman, 1989; Vanden Berghe *et al.*, 1991).

Para realizar el ensayo primario se utiliza generalmente, el método de difusión en placa de agar, en el cual las muestras a evaluar (extractos, fracciones o compuestos puros) contenidas en un reservorio se ponen en contacto con un medio apropiado previamente inoculado con el microorganismo de prueba. El ensayo se realiza en placas de Petri o en placas de 96 pozos y después de un periodo de incubación adecuado, se examina la placa en busca de zonas de inhibición del crecimiento microbiano alrededor del reservorio (Paxton, 1991; Vanden Berghe *et al.*, 1991; Stermitz *et al.*, 2000). Durante la incubación el antibiótico difunde desde su reservorio, mientras la población microbiana aumenta por división celular. El límite de la zona de inhibición se forma cuando se alcanza la concentración crítica del antibiótico, es decir, la mínima concentración que inhibe el crecimiento de la población microbiana presente. Las zonas de inhibición se comparan con las obtenidas con los antibióticos de referencia previamente establecidos por medio de pruebas de susceptibilidad.

### 1.2 Antecedentes de *Arracacia toluensis*

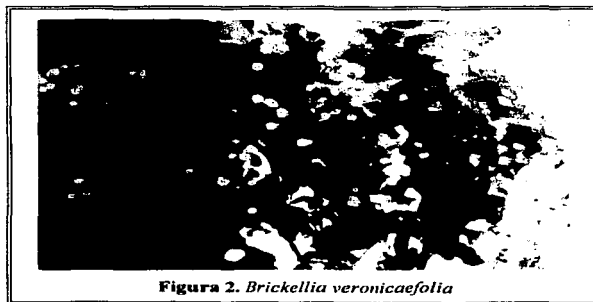
*Arracacia toluensis* (Umbelliferae) (Figura 1) se conoce popularmente con el nombre de perejil, neldo, hierba del venado y cominos rústicos. En México, la planta entera se utiliza como condimento y para el tratamiento de la tos y la bronquitis (Argueta, 1994). Es importante destacar que esta especie no ha sido objeto de estudios fitoquímicos previos, sin embargo el estudio químico de la

especie relacionada *Arracacia nelsonii* permitió el aislamiento y la caracterización de cumarinas, como los principales metabolitos secundarios (Delgado *et al.*, 1986).



### 1.3 Antecedentes de *Brickellia veronicaefolia*

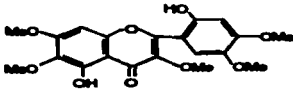
*Brickellia veronicaefolia* (Kunth) Gray (Asteraceae) (Figura 2) es un arbusto pequeño cuyas medidas oscilan entre 40 cm y 1m de altura. Presenta hojas opuestas, ovaladas de 4 a 15 cm de largo por 5 cm de ancho, borde crenado, peciolo de 3 a 6 cm de largo; las flores en cabezuelas miden de 12 a 17 mm y son rosadas. La especie tiene por hábitat el bosque mesófilo de montaña y el bosque de encino o de pino, a una altitud de 1750 a 2750 m sobre nivel del mar (Argueta, 1994).





En México se conoce popularmente con el nombre de peistón o pexto y se utiliza para tratar desórdenes gastrointestinales y biliares (Argueta *et al.*, 1994).

Desde el punto de vista fitoquímico, las especies del género *Brickellia* poseen una gran diversidad de metabolitos secundarios los cuales pertenecen a las categorías de los sesquiterpenoides (Zdero *et al.*, 1991; Bohlmann *et al.*, 1978; Bohlmann *et al.*, 1982), polienos, diterpenoides de tipo labdano (Bohlmann *et al.*, 1982; Calderón, *et al.*, 1983) y flavonoides, en su mayoría 6-metoxiflavonoides (Timmermann *et al.*, 1979; Mues *et al.*, 1979; Ulubelen *et al.*, 1980; Roberts *et al.*, 1980; Timmermann *et al.*, 1981; Rosler *et al.*, 1984; Goodwin *et al.*, 1984; Norris y Mabry, 1985). A manera de ejemplo en el Cuadro 1 se ilustran algunos metabolitos aislados de *B. veronicaefolia*.

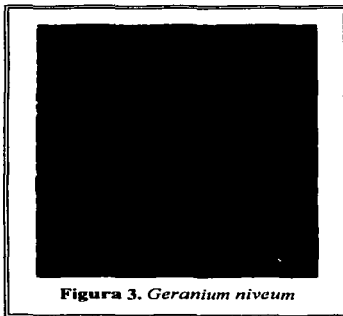
Cuadro 1. Metabolitos aislados de <i>Brickellia veronicaefolia</i>				
Metabolito y referencia	Estructura			
	R1	R2	R3	R4
7-metil éter de la 6-metoxiquercetina (Roberts <i>et al.</i> , 1980)	H	Me	H	H
3,6,7-trimetil éter de la quercetagenina (Roberts <i>et al.</i> , 1980)	Me	Me	H	H
7,4'-dimetil éter de la 6-metoxiquercetina (Roberts <i>et al.</i> , 1980)	H	Me	H	Me
Casticina (Roberts <i>et al.</i> , 1980)	Me	Me	H	Me
3,7,3',4'-tetrametil éter de la 6-metoxiquercetina (Roberts <i>et al.</i> , 1980)	Me	Me	Me	Me
Brikellina (Iinuma <i>et al.</i> , 1985)				

#### 1.4 Antecedentes de *Geranium niveum*

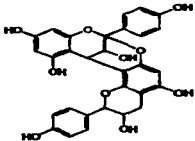
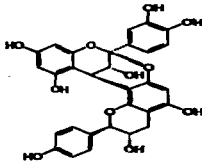
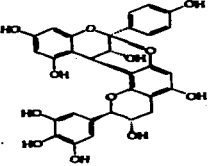
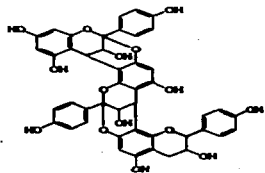
*Geranium niveum* es una hierba de la familia Geraniaceae que crece a lo largo de las orillas secas de los arroyos y en pastos de bosques de pinos y robles en las montañas de la parte occidental de Chihuahua, México. Los indígenas Tarahumaras reconocen a la planta con el nombre de "makiki" y emplean la decocción de la raíz para el tratamiento de fiebres, problemas gastrointestinales y dolor de riñones. Para ello se toma una taza de té por la mañana y otra en la tarde (Bye, 1985; Rascón-Torres *et al.*, 1994). De manera adicional, a esta especie se le atribuyen propiedades laxantes.

En lo que respecta a la actividad biológica del género *Geranium*, en la literatura se ha descrito que el extracto metanólico de la raíz del *G. niveum* (Figura 3) presenta actividad moderada contra el hongo *Trichophyton mentagrophytes*. En el mismo estudio se demostró que el extracto íntegro de la planta carece de actividad antibacteriana contra cuatro cepas de bacterias tipo (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*) (Gutiérrez *et al.*, 1995)

Estudios químicos recientes de la especie *G. niveum* permitieron el aislamiento y caracterización de varias proantocianidinas novedosas y otros compuestos aromáticos (Calzada *et al.*, 1999; Calzada *et al.*, 2001). En el Cuadro 2 se resumen los metabolitos aislados de esta especie.



**Cuadro 2. Proantocianidinas de *Geranium niveum***

Metabolito y referencia	Estructura
<p>Geranina A (Calzada <i>et al.</i>, 2001)</p>	
<p>Geranina B (Calzada <i>et al.</i>, 2001)</p>	
<p>Geranina C (Calzada <i>et al.</i>, 1999)</p>	
<p>Geranina D (Calzada <i>et al.</i>, 1999)</p>	

### 1.5 Antecedentes de *Guanomyces polythrix*

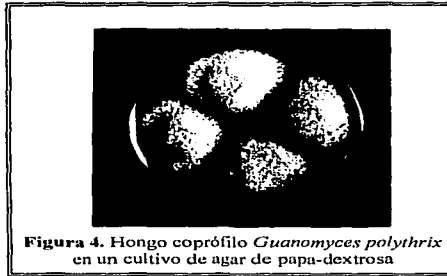
El hongo coprófilo *Guanomyces polythrix* González, Hanlin y Ulloa (Figura 4) pertenece a un género nuevo de ascomicetos recientemente descrito (González *et al.*, 2000).

El nuevo género *Guanomyces* se encuentra estrechamente relacionado a los géneros *Chaetomium* y *Farrowia*, pertenecientes también a la familia Chaetomiaceae (orden Sordariales). A diferencia de otros géneros de ésta familia, el nuevo taxón se caracteriza por la presencia de un peritecio con ascas delicuescentes, ascosporas hialinas unicelulares sin un poro geminal y un cuello ostiolar largo, provisto de pelos laterales glandulares (Figuras 5A, 5B y 5C). Con base a esta última característica se designó a la especie con el nombre de *Guanomyces polythrix*.

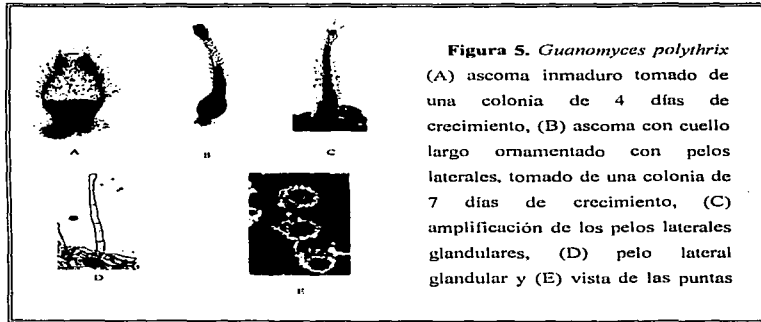
*G. polythrix* se aisló a partir de guano del murciélago *Leptonycteris hivalis* en la Zona III de la Cueva del Diablo, situada en Tepoztlán, estado de Morelos, México, durante una expedición realizada en febrero de 1978 para caracterizar la flora y la fauna de la cueva.

Una característica relevante del hongo coprófilo *G. polythrix* es su capacidad de acumular líquido en las puntas de los ápices de los pelos laterales, donde se forman pequeñas gotas (Figuras 5D y 5E). Aparentemente la acumulación de este líquido aparece durante el alargamiento de los pelos laterales. Cuando el ascoma alcanza el estado maduro, las gotas del líquido tienen una apariencia clara y brillante. El estudio microscópico de este líquido permitió observar que después de permanecer unos minutos entre el porta y el cubre-objetos, se transforma en una pequeña masa cristalina. Además, se observó que los cristales son solubles instantáneamente en agua, ácido acético y en etanol. Cabe mencionar que no se conoce claramente el papel biológico de estas secreciones, pero se presume que actúan como atrayentes de insectos, favoreciendo la diseminación del hongo (González *et al.*, 2000).

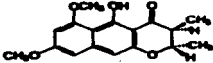
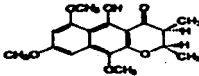
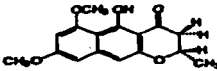
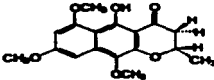
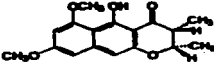
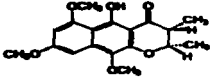
La investigación química del hongo (Macías *et al.*, 2000 y Macías *et al.*, 2001) permitió el aislamiento y purificación de catorce metabolitos secundarios, incluyendo siete derivados novedosos del tipo de las naftopironas, una xantona y seis compuestos conocidos: la rubrofusarina B, la emodina, el metilparabeno, el ácido-4-hidroxibenzoico, el ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-ona y la citridina. Sus estructuras se ilustran en el Cuadro 3.

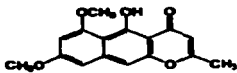
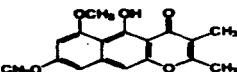
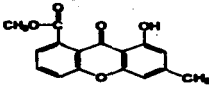
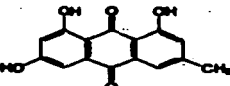




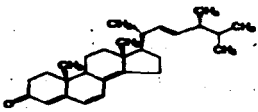
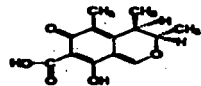
**Figura 4.** Hongo coprófilo *Guanomyces polythrix* en un cultivo de agar de papa-dextrosa



**Figura 5.** *Guanomyces polythrix* (A) ascoma inmaduro tomado de una colonia de 4 días de crecimiento, (B) ascoma con cuello largo ornamentado con pelos laterales, tomado de una colonia de 7 días de crecimiento, (C) amplificación de los pelos laterales glandulares, (D) pelo lateral glandular y (E) vista de las puntas

Cuadro 3. Metabolitos secundarios descritos para <i>Guanomyces polythrix</i> (Macías <i>et al.</i> , 2000 y Macías <i>et al.</i> , 2001)	
Metabolito	Estructura
(+)-(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> )-5-hidroxi-6,8-dimetoxi-2,3-dimetil-2,3-dihidronaftopirona	
(+)-(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> )-5-hidroxi-6,8,10-trimetoxi-2,3-dimetil-2,3-dihidronaftopirona	
(+)-(2 <i>S</i> )-5-hidroxi-6,8-dimetoxi-2-metil-2,3-dihidronaftopirona	
(+)-(2 <i>S</i> )-5-hidroxi-6,8,10-trimetoxi-2-metil-2,3-dihidronaftopirona	
(+)-(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )-5-hidroxi-6,8-dimetoxi-2,3-dimetil-2,3-dihidronaftopirona	
(+)-(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )-5-hidroxi-6,8,10-trimetoxi-2,3-dimetil-2,3-dihidronaftopirona	

Cuadro 3. Metabolitos secundarios descritos para <i>Guanyomyces polythrix</i> (Continuación)	
Metabolito	Estructura
Rubrofusarina B	
5-hidroxi-6,8-dimetoxi-2,3-dimetilnaftopirona	
8-hidroxi-1-metoxicarbonil-6-metilxantona	
Emodina	
Metilparabeno	
Acido-4-hidroxibenzoico	

Cuadro 3. Metabolitos secundarios descritos para <i>Guanomyces polythrix</i> (Continuación)	
Metabolito	Estructura
Ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-ona	
Citrinina	

#### 1.6 Antecedentes sobre las orquídeas estudiadas en la presente investigación.

Las orquídeas, con más de quince mil especies agrupadas en setecientos cincuenta géneros, constituyen la familia más numerosa de todo el reino vegetal. Las orquídeas originalmente se clasificaron en la familia Liliaceae, sin embargo, estudios posteriores permitieron su agrupación como una familia independiente. Las orquídeas se pueden clasificar en terrestres, epífitas, litofíticas, semiacuáticas o subterráneas, dependiendo del lugar donde se desarrollan.

Las epífitas son plantas que crecen sobre otras plantas hospederas, por lo general árboles, pero sin tener un contacto directo con los haces vasculares de las mismas. En consecuencia las epífitas, falsamente llamadas parásitas, no extraen agua ni nutrientes de sus hospederos.

Las especies de la familia de las orquídeas tienen por hábitat las regiones tropicales o sub tropicales del mundo; por lo que la mayor concentración de orquídeas se encuentra en las montañas, a 20 grados del Ecuador. La concentración de estas especies en los trópicos americanos varía con la altitud, encontrándose el mayor número de especies en México, Guatemala, Honduras, Colombia, Venezuela y Brasil.

En México las orquídeas se distribuyen principalmente en cuatro estados: Veracruz, Oaxaca, Chiapas y Guerrero. Otros estados con una cifra considerable de especies son: Morelos, México, Michoacán y las regiones más bajas de Puebla y San Luis Potosí (Wright, 1958). Muchas de



estas orquídeas gozan de reputación folklórica como agentes medicinales. Entre estas especies se encuentran *Maxillaria densa* Lindley (Orchidaceae) (Figura 6) y *Scaphyglottis livida* (Lindley) Schelker (Orchidaceae) (Figura 7). Ambas especies se utilizan para el tratamiento de dolores estomacales en la región de los Tuxtlas, Veracruz (Carmona, 1996).

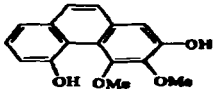
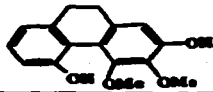
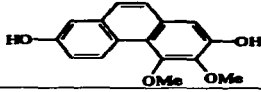
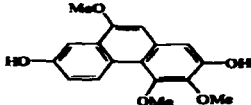
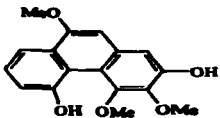
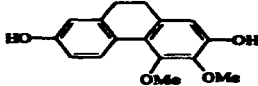
El género *Maxillaria* Ruiz & Pavón, incluye además otras 249 especies distribuidas principalmente en México, Guatemala, Colombia, Brasil, Venezuela y la India (Ames y Correll, 1952). La especie *M. densa* es una planta algo colgante, el rizoma y la base del pseudobulbo cubierto por vainas caféas; los pseudobulbos viejos están desafilados. Los pseudobulbos son elípticos u ovalados, comprimidos y carinados. Las hojas solitarias, lineares a lineares-oblongadas, delgadas y coriáceas miden de 10 a 30 cm de largo y de 1.5 a 4 cm de ancho; el ápice es obtuso algo retuso y la base conduplicada. La base posee muchos pedúnculos cortos con una flor, saliendo de la vaina que parcialmente cubre el pseudobulbo. La flor es amarillo-verdosa o rosa, y cerca de la vena central de los sépalos y pétalos es violeta clara; el labelo es morado, y los sépalos miden aproximadamente 1 cm de largo. Esta especie en particular tiene por hábitat la selva alta, y el bosque algo seco premontano a bosque mesófilo de montaña, a una altitud de 600 a 1450 m (Hietz y Hietz-Seifert, 1994).

*Maxillaria densa* (Sin: *Ornithidium densum* Lindley) es una epífita que se distribuye en Guatemala, Honduras y México (Ames y Correll, 1952). En nuestro país se encuentra principalmente en la zona de los Tuxtlas, Estado de Veracruz.

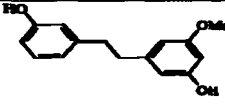
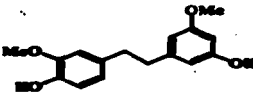
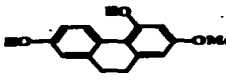
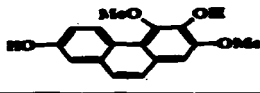
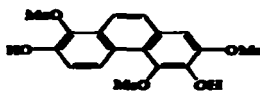
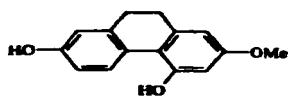
El género *Scaphyglottis* Poeppig & Endlicher incluye 20 especies distribuidas en los trópicos de América (Ames y Correll, 1952). *S. livida* es una epífita que se distribuye en Guatemala, Honduras y México.

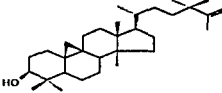
La especie *S. livida* es una planta erecta, con tallos 2 a 3 veces ramificados, y cada rama con un pseudobulbo fusiforme, delgado y costado; los pseudobulbos llegan a medir hasta 10 cm de largo por 8 mm de diámetro y con 2 hojas. Las hojas son angostas y lineares, y miden de 4 a 12 cm de largo y de 3 a 4 mm de ancho, con ápice retuso. Las flores son escasas en el pseudobulbo terminal y pequeñas con ovarios cortos de color verdoso-crema con líneas violetas. Los pétalos y sépalos miden aproximadamente 2 mm de largo. Tiene por hábitat principalmente la selva alta y el bosque seco premontano a bosque mesófilo de montaña, a una altitud de 600 a 1500 m (Hietz y Hietz-Seifert, 1994).

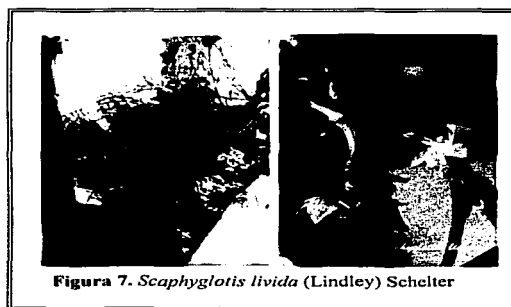
Desde el punto de vista fitoquímico, un fraccionamiento biodirigido de los extractos activos de *M. densa* y *S. livida* permitió el aislamiento de los estilbenoides espasmolíticos que se indican en los Cuadros 4 y 5 respectivamente.

Cuadro 4. Metabolitos aislados de <i>Maxillaria densa</i>	
Metabolito y referencia	Estructura
2,5-dihidroxi-3,4-dimetoxifenantreno (Estrada <i>et al.</i> , 1999)	
9,10-dihidro-2,5-dihidroxi-3,4-dimetoxifenantreno (Estrada <i>et al.</i> , 1999)	
Nudol (Estrada, 2000)	
Gimnopusina (Valencia <i>et al.</i> , 2002)	
Fimbról A (Estrada, 2000)	
Eriantridina (Valencia <i>et al.</i> , 2002)	

**Cuadro 5. Metabolitos aislados de *Scaphyglottis livida***

Metabolito y referencia	Estructura
<b>Batatasina III</b> (Estrada <i>et al.</i> , 1999)	
<b>3,4'-dihidroxi-5,5'-dimetoxibencilo</b> (Estrada <i>et al.</i> , 1999)	
<b>Coelonina</b> (Estrada <i>et al.</i> , 1999)	
<b>3,7-dihidroxi-2,4-dimetoxifenantreno</b> (Estrada <i>et al.</i> , 1999)	
<b>3,7-dihidroxi-2,4,8-trimetoxifenantreno</b> (Estrada <i>et al.</i> , 1999)	
<b>Lusiantridina</b> (Estrada, 2000)	

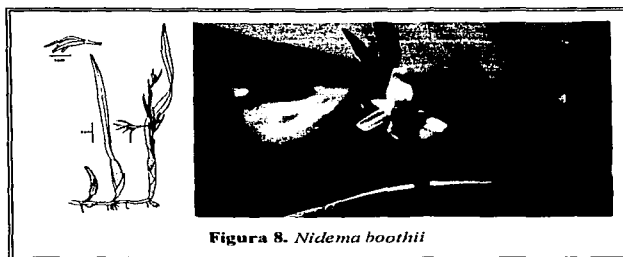
Cuadro 5. Metabolitos aislados de <i>Scaphyglotis livida</i> (Continuación)	
Metabolito y referencia	Estructura
24,24-dimetil-9,19-ciclolanosta-25-en-3 $\beta$ -ol (Estrada, 2000)	



**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

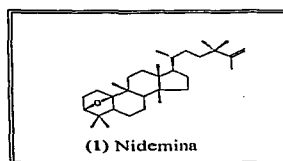
**Antecedentes de *Nidema boothii*, *Epidendrum cardiochilum* y *Epidendrum rigidum***

*Nidema boothii* (Figura 8) es una planta con rizoma rastrero y corto. Las plantas viejas forman agrupaciones grandes y densas con cientos de tallos, pseudo bulbos elipsoide-cilíndricos, algo comprimidos de 2 a 4 cm. de largo y 1.5 a 2.5 cm. de ancho presentando 1 o 2 hojas en el ápice. Las hojas son lineares (lanceoladas) de 10 a 20 cm. de largo y aproximadamente 1 cm de ancho de lámina delgada. La inflorescencia mide de 7 a 15 cm de largo, con pocas flores. Las flores son blanquecinas con sépalos y pétalos lanceolados y acuminados, los sépalos miden aproximadamente de 15 a 20 mm y los pétalos 13 mm de largo y 4 mm de ancho (Hietz, Hietz-Seifert, 1994).



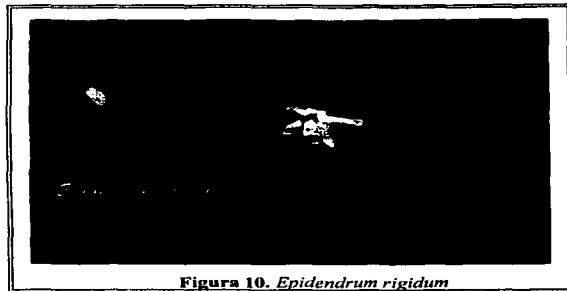
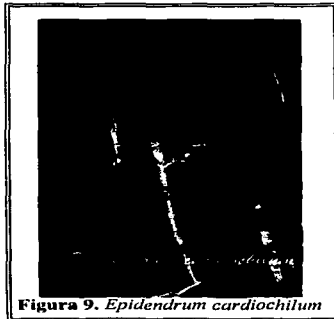
**Figura 8. *Nidema boothii***

Un estudio fitoquímico reciente sobre esta especie permitió el aislamiento y caracterización del metabolito secundario nidemina (1) (Estrada *et al.*, 2002).



*Epidendrum cardiochilum* (Figura 9) es una planta que presenta flores escasas, en forma de racimos. Algunos racimos florecen hasta formar nuevamente otro tallo. Crece en Chiapas, México.

*Epidendrum rigidum* (Figura 10) es una planta de tallos erectos, cubiertos por vainas anchas, carinadas. Sus hojas son oblongo-elípticas, de 4 a 10 cm de largo y de 0.6 a 2 cm de ancho con un ápice obtuso. Las flores son amarillo-verdosas con sépalos y pétalos sulcados de 5 a 7 mm de largo.



Las últimas tres orquídeas descritas se ubican principalmente en selva alta y mediana, y bosque húmedo premontano.

### 1.7 Antecedentes de *Selaginella lepidophylla*

El género *Selaginella* cuenta con varias especies utilizadas en la medicina tradicional China para el tratamiento de desórdenes cardiovasculares, malestares gastrointestinales, infecciones de la piel y del tracto urinario, diabetes, hepatitis y gonorrea (Silva *et al.*, 1995; Lie-Chwen *et al.*, 2000; Riu *et al.*, 1994).

*Selaginella lepidophylla* Spring, (Figura 11) se conoce popularmente con los nombres de doradilla, flor de piedra o siempre viva. Es una planta pequeña de raíz fibrosa y frondas muy divididas dispuestas en rosetas. En la época de sequía se encorva hacia el centro formando una bola dorada de hasta 10 cm. En la época de lluvias o cuando se moja dichas frondas se extienden y reverdecen. Generalmente, este vegetal se desarrolla en los lugares pedregosos de los bosques tropicales (caducifolio y subcaducifolio) así como en los bosques de encino o de pino, a una altitud de 2800 m sobre el nivel del mar (Argueta 1994). En México, la planta entera se utiliza para tratar desórdenes gastrointestinales, tales como el dolor de estómago, la úlcera y la dispepsia, también se utiliza contra la bilis y para tratar cálculos biliares (Argueta 1994).

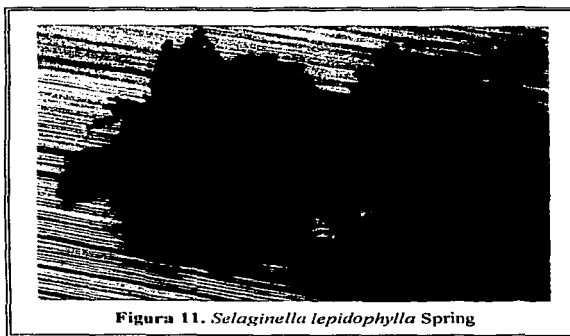
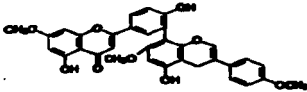
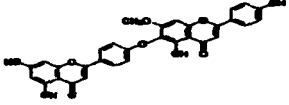
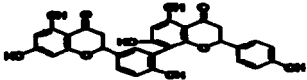
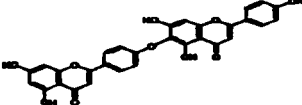
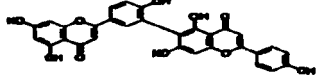


Figura 11. *Selaginella lepidophylla* Spring

Los estudios fitoquímicos de la especie *Selaginella lepidophylla* han permitido la detección cromatográfica de los metabolitos que se incluyen en el Cuadro 6.

**Cuadro 6. Metabolitos aislados de *Selaginella lepidophylla* (Qasim *et al.*, 1985)**

Metabolito y referencia	Estructura
Heveaflavona	
Isocriptomerina	
Amentoflavona	
Hinokiflavona	
Robustaflavona	



### 1.8 Antecedentes de *Prionosciadium watsoni*

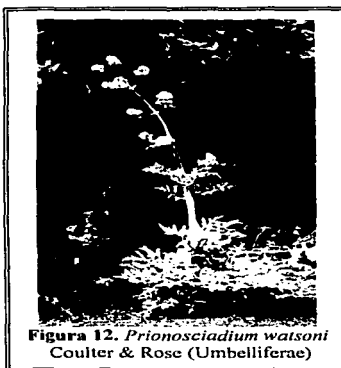
El género *Prionosciadium* (Umbelliferae) está compuesto por 25 especies de las cuales alrededor de 20 crecen en las montañas de México y Guatemala distribuyéndose principalmente en los bosques cuya vegetación se compone principalmente de árboles de pino, roble y matorral (Bye, 2000).

*Prionosciadium watsoni* Coulter & Rose ex S. Watson (Figura 12) es una especie medicinal conocida popularmente con el nombre de "flor de ocotillo", "hierba del oso", "ococote" o "njéo xempi" (en pame de la planta). Esta planta se emplea en las prácticas médicas populares para el tratamiento de diversos malestares intestinales, diabetes, fiebre y de la enfermedad cultural llamada "mal de ojo" (Aguilar *et al.*, 1994).

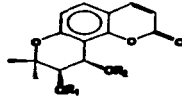
Los individuos pertenecientes a esta especie son arbustos erectos que pueden alcanzar mas de 2 m. de altura, sus tallos son huecos y sus hojas son grandes y lobuladas; las flores generalmente de color verde-amarillo se encuentran en umbelas, y los frutos oblongoelípticos, comprimidos y con 5 costillas, son de sabor acre y aromático.

Un estudio químico biodirigido de la especie *P. watsoni* permitió el aislamiento y caracterización de varias piranocumarinas y piranocromonas fitotóxicas (Valencia *et al.*, 2002).

En el Cuadro 7 se indican las estructuras de los metabolitos.

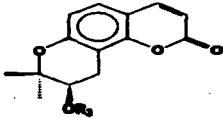


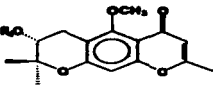




Cuadro 7. Metabolitos aislados de *Prinosciadium watsoni* (Valencia, et al., 2002)



Metabolito y referencia	Estructura	
	R1	R2
(9 <i>R</i> ,10 <i>R</i> )-9-acetiloxi-10-propioniloxi-8,8-dimetil-9,10-dihidro-2 <i>H</i> ,8 <i>H</i> -benzo[1,2- <i>b</i> :3,4- <i>b'</i> ]dipiran-2-ona		
Seravshanina		
Quianhucumarina D		
(9 <i>R</i> ,10 <i>R</i> )-9-hidroxi-10-isobutiroiloxi-8,8-dimetil-9,10-dihidro-2 <i>H</i> ,8 <i>H</i> -benzo[1,2- <i>b</i> :3,4- <i>b'</i> ]dipiran-2-ona	H	
(+)- <i>cis</i> -kellactona	H	H
(9 <i>R</i> ,10 <i>R</i> )-9-acetiloxi-10-propioniloxi-8,8-dimetil-9,10-dihidro-2 <i>H</i> ,8 <i>H</i> -benzo[1,2- <i>b</i> :3,4- <i>b'</i> ]dipiran-2-ona		

**Cuadro 7. Metabolitos aislados de *Prinosciadium watsoni* (Valencia, et al., 2002) (Continuación)**

	
Metabolito y referencia	Estructura
	<b>R3</b>
Jatamansina	
Quianhucumarina	
(9 <i>R</i> ,10 <i>R</i> )-10-hidroxi-9-(2-metil-but-(2 <i>E</i> )-enoiloxi-8,8-dimetil-9,10-dihidro-2 <i>H</i> ,8 <i>H</i> -benzo[1,2- <i>b</i> :3,4- <i>b'</i> ]dipiran-2-ona	<b>H</b>
	
Metabolito y referencia	Estructura
	<b>R4</b>
(3 <i>R</i> )-2-metil-but-(2 <i>Z</i> )-enoiloxi-5-metoxi-3,4-dihidro-2,2,8-trimetil-6-oxo-2 <i>H</i> ,6 <i>H</i> -benzo[1,2- <i>b</i> :5,4- <i>b'</i> ]dipirano	

Cuadro 7. Metabolitos aislados de <i>Prinosciadium watsoni</i> (Valencia, et al., 2002) (Continuación)	
Metabolito y referencia	Estructura
	R4
(3 <i>R</i> )-isobutiroiloxi-5-metoxi-3,4-dihidro-2,2,8-trimetil-6-oxo-2H,6H-benzo[1,2-b:5,4-b']dipirano	
(+)-5-metoxihamaudol	H

#### 1.9 Antecedentes de las especies fúngicas *Farrowia longicolleae*, *Gymnascella dankaliensis* y *Malbranchea aurantiaca*.

*Farrowia longicolleae* pertenece a la familia Chaetomiaceae, presenta como sustrato común el suelo. *Gymnascella dankaliensis* (Gymnoascaceae) se aisló de muestras de arena de la playa en la localidad de Mocambo, Veracruz y *Malbranchea aurantiaca* (Myxotrichaceae) se aisló de guano de murciélago en la zona de Ramal del Infierno, Guerrero.

Ninguno de estos hongos ha sido objeto de estudios químicos o biológicos previos y se aislaron en el marco de un proyecto conducido en el Instituto de Biología de la UNAM con el propósito de establecer un inventario de la diversidad fúngica de México.

## **II. OBJETIVOS**

En el marco de referencia señalado en la sección 1.1 el objetivo principal de este trabajo es realizar la evaluación del potencial antibacteriano y antifúngico de especies vegetales y fúngicas selectas, así como de productos naturales aislados de plantas medicinales y hongos con la finalidad de detectar nuevas fuentes naturales o compuestos útiles para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos de interés terapéutico.

Para el cumplimiento del objetivo general se contemplan los siguientes objetivos específicos:

1. Seleccionar algunas especies vegetales utilizadas en la medicina tradicional de México como agentes antisépticos.
2. Seleccionar algunas especies fúngicas con base en el criterio ecológico.
3. Recopilar la información botánica, etnobotánica y química de cada una de las especies vegetales seleccionadas para el desarrollo del presente estudio.
4. Recopilar la información biológica y química de cada una de las especies fúngicas seleccionadas para el desarrollo de la investigación.
5. Preparar los extractos crudos de las plantas y hongos seleccionados.
6. Determinar la actividad antimicrobiana preliminar de los extractos vegetales y fúngicos con la finalidad de detectar las especies idóneas para estudios futuros.
7. Evaluar algunos constituyentes químicos previamente obtenidos en otros estudios de las especies seleccionadas para determinar su potencial antimicrobiano.
8. Correlacionar en lo posible los resultados obtenidos con la información etnobotánica y/o química previamente descrita en la literatura.
9. Contribuir al conocimiento de los elementos constitutivos de la flora medicinal mexicana y, en general, de la biodiversidad de México.

### III. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 Material vegetal y preparación de los extractos vegetales.

Las especies objeto de estudio y su procedencia se indican en el Cuadro 8. Las plantas se secaron a temperatura ambiente y se pulverizaron en un molino de cuchillas modelo Willey N° 4. Para preparar el extracto, el material vegetal seco y molido (100 g) se extrajo con una mezcla de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> - MeOH (1:1) (2 L) en un proceso de maceración. Por último, todos los extractos se concentraron a sequedad mediante un rota evaporador.

CUADRO 8. Especies Vegetales objeto de evaluación				
Voucher	Especie Vegetal (Familia)	Procedencia	Parte utilizada	Peso (g)
Morales 27040	<i>Arracacia toluensis</i>	San Luis Potosí, México	Partes aéreas	16.3
Rivero 2000-1	<i>Brickellia veronicaefolia</i>	Querétaro	Partes aéreas	12.5
Carmona 96-2	<i>Nidema boothii</i>	Catemaco, Veracruz	Planta entera	5.9
Carmona 98-2	<i>Epidendrum cardiochilum</i>	Catemaco, Veracruz	Planta entera	5.6
Carmona 98-1	<i>Epidendrum rigidum</i>	Catemaco, Veracruz	Planta entera	5.8
Bye Linares 18054	<i>Geranium niveum</i>	Municipio Batopilas, Chihuahua	Raíz	3.3
G. Carmona - Díaz 116AMO	<i>Maxillaria densa</i>	Ejido Ruiz Cortines, Catemaco, Veracruz	Planta entera	7.3
Carmona 96-1 AMO	<i>Scaphyglotis livida</i>	Ejido Ruiz Cortines, Catemaco, Veracruz	Planta entera	9.4
Rivero 2001-1	<i>Selaginella lepidophylla</i>	Mercado de Sonora	Flor	9.0
Bye 27410	<i>Friemosciadium watsoni</i>	San Luis Potosí, México	Partes aéreas	19.2

#### 3.2 Especies fúngicas y preparación de los extractos fúngicos.

Las especies objeto de estudio fueron proporcionadas por los Drs. Miguel Ulloa y María del Carmen González del Instituto de Biología y se indican en el Cuadro 9.

Los extractos se prepararon a partir del micelio y los medios de fermentación de los hongos (10 L). La fermentación se realizó a una temperatura de 28° C y durante 15 días utilizando PDA (DIFCO) como medio de cultivo. Al cabo de la fermentación se separó el micelio del medio vía centrifugación. En cada caso el micelio se extrajo vía maceración con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y AcOEt. El medio de cultivo se extrajo consecutivamente con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y AcOEt mediante un proceso de partición.

En el caso de *Guanomyces polithrix* y *Malbranchea aurantiaca* se combinaron el extracto del micelio y el extracto del caldo.

<b>Cuadro 9. Especies Fúngicas objeto de evaluación</b>				
<b>Voucher</b>	<b>Especie Fúngica (Familia)</b>	<b>Rendimiento de cada extracto</b>		
		<b>Volumen de cultivo (L)</b>	<b>Extracto del caldo (g)</b>	<b>Extracto del micelio (g)</b>
U 2201-1	<i>Farrowia longicollae</i> (Chaetomiaceae)	10	3.0	0.2
2001-2	<i>Gymnascella dankalensis</i> (Gymnoascaceae)	20	22.4	6.8
<b>Voucher</b>	<b>Especie Fúngica (Familia)</b>	<b>Volumen de cultivo (L)</b>	<b>Extracto del caldo y del micelio (g)</b>	
24486	<i>Guanomyces polithrix</i> (Chaetomiaceae)	10	7.6	
2001-3	<i>Malbranchea aurantiaca</i> . (Myxotrichaceae)	22	11.4	

### 3.3 Determinación de la actividad antimicrobiana

#### 3.3.1 Microorganismos de prueba.

##### a) Microorganismos de prueba y medios de cultivo.

Para la realización de los bioensayos se emplearon cepas de microorganismos ATCC (American Type Culture Collection) que incluyen bacterias (Gram positivas y Gram negativas) y una levadura. Todos los microorganismos fueron proporcionados por el Cepario de la Facultad de Química. UNAM. En el Cuadro 10 se indican los microorganismos de prueba y se mencionan también las condiciones de incubación y los medios de conservación apropiados para cada uno de ellos.

Los medios de cultivo se rehidrataron de acuerdo con las indicaciones de la casa comercial. Los medios resultantes se esterilizaron en autoclave a 121° C y 15 lb/cm<sup>2</sup>, durante 30 minutos.

#### 3.3.2 Determinación del número de células por medio del estándar turbidimétrico de McFarland.

El número de bacterias en un medio líquido puede ser determinado por la comparación visual de su turbidez con la de un estándar turbidimétrico que representa un número conocido de bacterias en suspensión.

En el Cuadro 11 se enumeran los reactivos y las cantidades necesarias de las soluciones requeridas para la preparación del estándar turbidimétrico de McFarland. La turbidez generada por la mezcla de los reactivos a una determinada proporción corresponde aun número aproximado de células bacterianas presentes en el medio líquido.

CUADRO 10 Microorganismos de prueba y medios de cultivo				
Grupo de microorganismo		Microorganismo	Condiciones de incubación	Medio de conservación*
Bacterias	Gram Positivo	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	37° C, aerobias	Agar Nutritivo
		<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	37° C, aerobias	Agar Nutritivo
	Gram Negativo	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 10563)	37° C, aerobias	Agar Nutritivo
		<i>Salmonella typhi</i>	37° C, aerobias	Agar Nutritivo
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	37° C, aerobias	Agar Nutritivo
Hongos	Levaduriforme	<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	28° C, aerobias	Agar Sabouraud

\* Según recomendación de ATCC

Cuadro 11. Estándar turbidimétrico de Mc Farland											
	0.5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
mL BaCl <sub>2</sub> 1%	0.05	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80	0.90	1.00
mL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1%	9.95	9.90	9.80	9.70	9.60	9.50	9.40	9.30	9.20	9.10	9.00
Nº Cel X 10 <sup>8</sup>	1.5	3.0	6.0	9.0	12.0	15.0	18.0	21.0	24.0	27.0	30.0

b) Determinación de la concentración crítica de antibióticos

Antes de llevar a cabo la determinación de la actividad antimicrobiana de los extractos, se realizó la determinación de la concentración inhibitoria crítica de los antibióticos seleccionados de



acuerdo a las especificaciones de la literatura (Catálogo ATCC). Para ello se utilizó el método de difusión en agar utilizando discos de papel filtro como reservorio y diferentes concentraciones del antibiótico a ensayar. Estas pruebas permitieron determinar las concentraciones apropiadas de los antibióticos utilizados como controles positivos para los ensayos posteriores. Para *Staphylococcus aureus* se empleó ampicilina; para *Bacillus subtilis*, estreptomina; para *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* y *Pseudomonas aeruginosa*, gentamicina y para *Candida albicans*, anfotericina B.

**b.1) Preparación de los inóculos**

Las bacterias se sembraron en agar nutritivo y la levadura en agar sabouraud. En todos los casos se utilizó el medio de cultivo inclinado. Las condiciones de incubación se indican en el cuadro 10.

El cultivo anterior se cosechó con 5 mL de agua destilada estéril; ésta última suspensión se sembró en un matraz Erlenmeyer que contenía 50 mL del mismo medio sólido utilizado en el tubo inclinado y se incubó bajo las condiciones apropiadas. Posteriormente este último cultivo se cosechó con 10 mL de agua destilada estéril. Del concentrado anterior se realizó una dilución 1:19 y se ajustó visualmente el número de microorganismos a la turbidez correspondiente al estándar 0.5 de McFarland (Cuadro 11).

**b.2) Preparación de las concentraciones de antibióticos**

Los antibióticos y sus concentraciones empleadas para la determinación de la concentración inhibidora crítica se muestran en el Cuadro 12. En el Cuadro 13 se indican los disolventes adecuados para la realización de la solución stock y para la preparación de las soluciones de los antibióticos.

<b>CUADRO 12. Antibióticos a los cuales se determinó la concentración inhibidora crítica</b>		
<b>Microorganismo</b>	<b>Antibiótico</b>	<b>Concentraciones (µg/mL)</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ampicilina	1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0
<i>Bacillus subtilis</i>	Estreptomina	1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0
<i>Escherichia coli</i>	Gentamicina	1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0
<i>Salmonella typhi</i>	Gentamicina	1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gentamicina	1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0
<i>Candida albicans</i>	Anfotericina B	10, 15, 20, 25, 30

b.3) Preparación de las placas de agar.

Las placas de agar se prepararon colocando 10 mL de agar inoculado con el microorganismo de prueba en cada caja Petri. El volumen de inóculo empleado para cada microorganismo se indica en el Cuadro 14.

CUADRO 13. Disolventes empleados para la disolución de los antibióticos.		
Antibiótico	Disolvente para la solución stock (estéril)	Disolvente para diluciones (estéril)
Ampicilina	Buffer de pH 8 *	Agua destilada
Estreptomicina	Buffer de pH 8	Agua destilada
Gentamicina	Buffer de pH 8	Agua destilada
Anfotericina B	Dimetilsulfóxido**	Buffer de pH 8

\* Fosfato de Potasio 0.1 M

\*\* Disolvente que se emplea sin esterilizar.

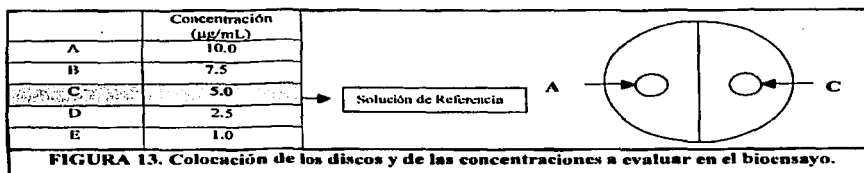
CUADRO 14. Volumen de inóculo empleado para los ensayos	
Microorganismo	Inóculo por cada 100 mL de agar
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.2 mL
<i>Bacillus subtilis</i>	0.2 mL
<i>Escherichia coli</i>	0.2 mL
<i>Salmonella typhi</i>	0.2 mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.2 mL
<i>Candida albicans</i>	2.0 mL

b.4) Bioensayo.

Una vez solidificadas las placas de agar se colocaron dos discos en forma equidistante en cada placa. Un disco contenía 5 µg del antibiótico (estándar) y el otro contenía 10, 7.5, 5, 2.5 o 1 µg/mL. de una concentración diferente (Figura 13). Las cajas se preincubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente y luego se incubaron en las condiciones apropiadas para el crecimiento de los microorganismos utilizados en el estudio (Cuadro 10) (Linton, 1983). El ensayo se realizó por triplicado para obtener un valor de la concentración mínima inhibitoria. Posteriormente, el ensayo se

realizó 4 veces más, para obtener un total de 5 valores de concentración crítica para cada microorganismo, esto con el fin de poder realizar un tratamiento estadístico y así determinar la concentración a utilizar en la evaluación de los extractos y sus compuestos.

La concentración de cada uno de los antibióticos de prueba seleccionados para su empleo como control positivo se presentan en el Cuadro 15.



**CUADRO 15. Concentración de cada uno de los antibióticos de prueba seleccionados como control positivo.**

Microorganismo	Antibiótico	Concentración (µg/mL)	Concentración utilizada en el ensayo (µg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ampicilina	0.20873	0.6
<i>Bacillus subtilis</i>	Estreptomicina	0.22970	0.6
<i>Escherichia coli</i>	Gentamicina	0.67684	2.0
<i>Salmonella typhi</i>	Gentamicina	0.72983	2.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gentamicina	1.00167	2.7
<i>Candida albicans</i>	Anfotericina B	0.77458	11.0

3.3.3 Determinación cualitativa de la actividad antimicrobiana por el método de difusión en agar utilizando discos de papel filtro como reservorio.

Para la determinación de la actividad potencial antimicrobiana de los extractos y compuestos se siguió el mismo procedimiento empleado para la determinación de la concentración inhibitoria crítica de los antibióticos con la variante de que los discos se impregnaron con 100 µL del extracto disuelto en DMSO conteniendo 1000, 500 y 100 µg/mL de extracto. Los compuestos, también disueltos en DMSO, se evaluaron a 100, 10 y 1 µg/mL. Además se utilizó el control positivo del antibiótico

adecuado, dependiendo del microorganismo de prueba, a una concentración mayor a la concentración inhibidora crítica determinada previamente.

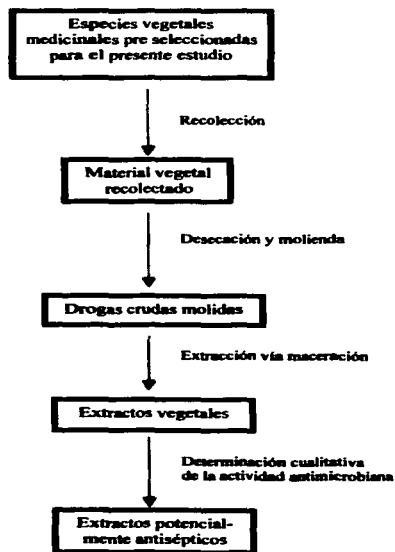
#### **3.3.4 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).**

Los valores de CMI que se presentan en este estudio se determinaron a partir de la concentración crítica inhibitoria de acuerdo al tratamiento de Linton (Linton, 1983).

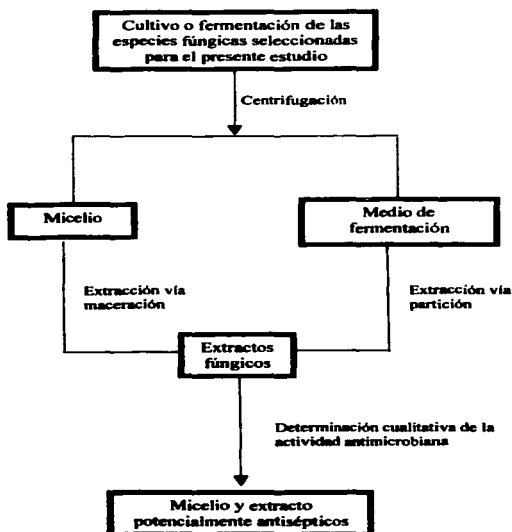
#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio se determinó la actividad antimicrobiana de 10 extractos derivados de especies vegetales y cuatro extractos derivados de especies fúngicas recolectadas en la República Mexicana. La estrategia metodológica empleada para la realización del presente trabajo se resume en los esquemas 1 y 2.

**Esquema 1. Estrategia metodológica empleada en el estudio de las especies vegetales.**



**Esquema 2. Estrategia metodológica empleada en el estudio de las especies fúngicas.**



La selección del material vegetal objeto de estudio se realizó principalmente con base en su uso en las prácticas medicinales alternativas de México. En el caso de las orquídeas *E. cardiochilum*, *E. boothii* y *E. rigidum* la selección se realizó con base en el criterio quimiotaxonómico, ya que se han reportado algunas orquídeas con propiedades antisépticas ( Tezuca *et al.*, 1990; Takagi *et al.*, 1983; Yamaki *et al.*, 1990)). Tres de las especies fúngicas se seleccionaron al azar, en tanto que *G. polithrix* se seleccionó con base en el criterio ecológico (Macías, 2001). Es importante hacer notar que estos criterios de selección están bien documentados en la literatura (Eloff, 1998; Cutler y Cutler, 2000; Newman *et al.*, 2000).

En todos los casos el material vegetal recolectado se desecó y se fragmentó para obtener las drogas crudas molidas. Posteriormente, las drogas crudas se extrajeron mediante un proceso de maceración empleando una mezcla de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  – MeOH (1:1) como disolvente.

En el caso de las especies fúngicas, los extractos se prepararon a partir del micelio y los medios de fermentación de los hongos utilizando como disolvente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y AcOEt. Los extractos orgánicos correspondientes ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y AcOEt) se combinaron.

Todos los extractos se evaluaron mediante el método de difusión en agar utilizando discos de papel como reservorio y los antibióticos apropiados como controles positivos.

Los microorganismos de prueba fueron seleccionados de acuerdo a su patogenicidad sobre el hombre y los animales: El género *Staphylococcus* es una de las causas más frecuentes de infecciones en la piel, ya que contiene patógenos comunes al hombre y los animales. *P. aeruginosa* es responsable de enfermedades como dermatitis y otitis externa. *S. typhi* y *E. coli* destacan entre los principales agentes causales de gastroenteritis y fiebres entéricas, además de ocasionar septicemia e infecciones urinarias. *C. albicans* es considerada un patógeno oportunista, pero puede alojarse en diferentes zonas del cuerpo humano y causar candidiasis y vaginitis en las mujeres.

Se midieron los halos de inhibición generados por el extracto sobre el crecimiento de cada uno de los microorganismos de prueba (*S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *S. typhi*, *P. aeruginosa* y *C. albicans*) comparando éstos con los halos de inhibición generados por el control positivo seleccionado a partir de la determinación de la concentración inhibidora crítica. La concentración del antibiótico empleada fue mayor a la concentración inhibitoria crítica con la finalidad de garantizar la difusión de la cantidad de antibiótico que cause un halo de inhibición significativo y que sea similar a la concentración inhibitoria mínima (CIM) (Linton, 1983)

Los extractos se evaluaron a las concentraciones de 100, 500 y 1000  $\mu\text{g/mL}$ , considerando que un extracto se considera activo a concentraciones menores de 1  $\text{mg/mL}$ . (Tegos *et al.*, 2002). Las respuestas generadas por el extracto se compararon con las generadas por el control positivo adecuado. Los resultados se presentan en los Cuadros 16 - 21.

**CUADRO 16. Diámetros de la zona de inhibición (mm<sup>2</sup>) desarrollados por los extractos activos sobre *Staphylococcus aureus***

Extracto	[Extracto] 1000 µg/mL	Control positivo	[Extracto] 500 µg/mL	Control positivo	[Extracto] 100 µg/mL	Control positivo
<i>Arracacia toluensis</i>	22.33 ± 0.47	29.00 ± 0.82	N. A.	—	N. A.	—
<i>Epidendrum cardiochilum</i>	22.67 ± 0.47	35.33 ± 0.47	22.67 ± 0.94	31.00 ± 0.82	N. A.	—
<i>Nidema boothii</i>	24.67 ± 0.471	35.33 ± 0.47	29.33 ± 0.94	32.00 ± 0.82	N. A.	—
<i>Gymnascella dankaliensis</i> (micelio)	33.67 ± 0.47	29.67 ± 1.247	31.67 ± 0.47	29.00 ± 0.82	25.67 ± 0.47	40.33 ± 1.25
<i>Malbranchea aurantiaca</i>	21.67 ± 0.94	29.33 ± 0.47	21.00 ± 0.82	29.67 ± 0.47	N. A.	—
<i>Maxillaria densa</i>	30.67 ± 0.94	31.67 ± 2.36	27.33 ± 1.89	30.67 ± 0.94	25.00 ± 0.82	30.67 ± 0.94
<i>Scaphyglotis livida</i>	33.00 ± 0.82	33.67 ± 2.63	26.67 ± 2.87	34.67 ± 2.63	N. A.	—

N. A.: No Activo

Control positivo: Ampicilina [0.6 µg/mL]

Diámetro del disco: 16 mm.

**CUADRO 17. Diámetros de la zona de inhibición (mm<sup>2</sup>) desarrollados por los extractos activos sobre *Bacillus subtilis***

Extracto	[Extracto] 1000 µg/mL	Control positivo	[Extracto] 500 µg/mL	Control positivo	[Extracto] 100 µg/mL	Control positivo
<i>Nidema boothii</i>	N. A.	—	22.00 ±1.63	29.33 ±0.47	N. A.	—
<i>Farrowia longicollea</i>	N. A.	—	24.00 ±1.41	35.00 ±0.82	N. A.	—
<i>Gymnascella dankaliensis</i> (extracto)	30.00 ±0.00	30.00 ±0.82	29.67 ±0.47	30.00 ±0.82	26.00 ±0.82	31.00 ±0.82
<i>Prionosciadium watsoni</i>	17.33 ±0.47	32.00 ±0.00	16.67 ±0.47	34.67 ±0.47	17.33 ±0.47	34.67 ±0.94

N. A.: No Activo

Control positivo: Estreptomina [0.6 µg/mL]

Diámetro del disco: 16 mm.



**CUADRO 18. Diámetros de la zona de inhibición (mm<sup>2</sup>) desarrollados por los extractos activos sobre *Escherichia coli***

Extracto	[Extracto] 1000 µg/mL	Control positivo	[Extracto] 500 µg/mL	Control positivo	[Extracto] 100 µg/mL	Control positivo
<i>Arracacia toluensis</i>	24.00 ±0.00	23.00 ±0.00	24.00 ± 0.82	23.00 ±0.00	N. A.	—
<i>Brickellia veronicaefolia</i>	26.00 ±1.63	18.00 ± 0.82	23.67 ±0.94	18.00 ± 0.82	21.00 ± 0.82	22.00
<i>Epidendrum cardiochilum</i>	21.67 ± 0.47	21.33 ± 0.47	21.67 ± 0.47	22.00 ± 0.82	N. A.	—
<i>Farrowia longicollea</i>	N. A.	—	22.67 ± 0.94	25.67 ± 1.25	N. A.	—
<i>Geranium niveum</i>	22.00 ±0.00	30.33 ± 1.25	20.67 ± 0.47	30.00 ± 0.82	N. A.	—
<i>Guanomyces polythrix</i>	23.33 ± 0.47	22.67 ± 0.47	22.33 ± 0.47	23.00 ±0.00	22.00 ± 0.82	22.33 ± 0.47
<i>Gymnascella dankaliensis</i> (caldo)	23.33 ± 0.47	23.00 ± 0.82	22.00 ±0.000	22.67 ± 0.47	21.67 ± 0.47	21.33 ± 0.47
<i>Gymnascella dankaliensis</i> (micelio)	21.67 ± 0.47	22.33 ± 0.47	21.33 ± 0.47	23.00 ± 0.82	N. A.	—
<i>Malbranchea aurantiaca</i>	N. A.	—	21.00 ±0.00	22.33 ± 0.47	N. A.	—
<i>Selaginella lepidophylla</i>	27.33 ± 0.47	17.33 ± 0.47	24.00 ± 0.82	17.67 ± 0.47	N. A.	—
<i>Prinosciadium watsoni</i>	22.33 ± 0.47	25.00 ±0.00	20.00 ± 0.82	23.00 ±0.00	19.00 ±0.00	21.67 ± 0.47

N. A.: No Activo

Control positivo: Gentamicina [2 µg/mL]

Diámetro del disco: 16 mm.

**CUADRO 19. Diámetros de la zona de inhibición (mm<sup>2</sup>) desarrollados por los extractos activos sobre *Salmonella typhi***

Extracto	[Extracto] 1000 µg/mL	Control positivo	[Extracto] 500 µg/mL	Control positivo	[Extracto] 100 µg/mL	Control positivo
<i>Arracacia toluensis</i>	24.00 ±1.41	21.67 ± 0.47	23.33 ± 1.25	20.67 ± 0.47	25.00 ±0.00	25.67 ± 0.47
<i>Epidendrum cardiochilum</i>	22.67 ± 0.94	20.00 ±0.00	N. A.	—	N. A.	—
<i>Nidema boothii</i>	23.33 ± 0.47	20.33 ± 0.47	22.67 ± 0.94	21.00 ±0.00	22.33 ± 0.47	26.33 ± 0.94
<i>Epidendrum rigidum</i>	21.00 ±0.00	20.00 ±0.00	N. A.	—	N. A.	—

**CUADRO 19. Diámetros de la zona de inhibición (mm<sup>2</sup>) desarrollados por los extractos activos sobre *Salmonella typhi* (Continuación)**

Extracto	[Extracto] 1000 µg/mL	Control positivo	[Extracto] 500 µg/mL	Control positivo	[Extracto] 100 µg/mL	Control positivo
<i>Farrowia longicollea</i>	21.00 ±0.00	24.67 ± 1.25	N. A.	—	N. A.	—
<i>Geranium niveum</i>	22.33 ± 0.47	22.33 ±1.70	N. A.	—	N. A.	—
<i>Guanomyces polythrix</i>	24.00 ± 0.82	21.33 ± 0.47	21.67 ± 0.47	20.67 ± 0.47	24.67 ± 0.94	25.00 ± 0.82
<i>Gymnascella dankaliensis</i> (caldo)	23.33 ± 1.25	20.33 ± 0.47	21.33 ± 0.47	20.00 ±0.00	23.33 ± 0.47	25.67 ± 0.47
<i>Gymnascella dankaliensis</i> (micelio)	22.00 ±0.00	20.00 ±0.00	N. A.	—	N. A.	—
<i>Malbranchea aurantiaca</i>	24.00 ± 0.82	20.00 ±0.00	23.33 ± 0.94	20.00 ±0.00	24.33 ± 0.47	24.67 ± 0.47
<i>Maxillaria densa</i>	21.67 ± 0.47	20.00 ±0.00	21.00 ±0.00	20.00 ±0.00	25.00 ± 0.82	25.67 ± 0.94
<i>Scaphyglotis livida</i>	23.67 ± 0.94	21.33 ± 0.47	22.33 ± 0.47	20.67 ± 0.47	23.00 ± 0.82	26.33 ± 0.47
<i>Selaginella lepidophylla</i>	22.00 ± 0.82	20.00 ±0.00	20.33 ± 0.47	19.67 ± 0.47	23.67 ± 1.25	26.00 ± 0.82
<i>Prionosciadium watsoni</i>	20.33 ± 0.94	25.00 ±1.41	20.67 ± 0.47	23.67 ± 0.47	20.67 ± 0.47	23.67 ± 0.47

N. A.: No Activo

Control positivo: Gentamicina [2 µg/mL]

Diámetro del disco: 16 mm.

**CUADRO 20 Diámetros de la zona de inhibición (mm<sup>2</sup>) desarrollados por los extractos activos sobre *Pseudomonas aeruginosa***

Extracto	[Extracto] 1000 µg/mL	Control positivo	[Extracto] 500 µg/mL	Control positivo	[Extracto] 100 µg/mL	Control positivo
<i>Epidendrum cardiochilum</i>	23.67 ± 0.47	21.67 ± 0.47	23.33 ± 0.94	22.33 ± 0.47	N. A.	—
<i>Epidendrum rigidum</i>	22.00 ±0.00	21.00 ±0.00	N. A.	—	N. A.	—
<i>Geranium niveum</i>	22.33 ± 0.47	24.00 ±1.41	N. A.	—	N. A.	—
<i>Malbranchea aurantiaca</i>	23.67 ± 0.47	21.33 ± 0.471	N. A.	—	N. A.	—
<i>Prionosciadium watsoni</i>	18.7 ± 0.47	23.67 ± 0.94	19.00 ±0.00	25.00 ±1.41	18.33 ± 0.47	26.00 ±0.00

N. A.: No Activo

Control positivo: Gentamicina [2.7 µg/mL]

Diámetro del disco: 16 mm.

CUADRO 21 Diámetros de la zona de inhibición (mm <sup>2</sup> ) desarrollados por los extractos activos sobre <i>Candida albicans</i>						
Extracto	[Extracto] 1000 µg/mL	Control positivo	[Extracto] 500 µg/mL	Control positivo	[Extracto] 100 µg/mL	Control positivo
<i>Arracacia tolocencis</i>	26.67 ± 1.2	30.00 ± 0.00	24.67 ± 1.25	28.33 ± 1.70	20.33 ± 0.47	30.00 ± 0.00
<i>Brickellia veronicaefolia</i>	23.00 ± 2.16	31.33 ± 0.47	22.33 ± 0.47	35.00 ± 0.00	20.67 ± 0.47	28.00 ± 0.82
<i>Epidendrum cardiochilum</i>	25.00 ± 2.45	34.67 ± 0.94	25.00 ± 0.82	35.67 ± 0.47	21.33 ± 0.47	35.00 ± 0.82
<i>Nidema boothii</i>	24.67 ± 0.47	35.67 ± 0.47	21.33 ± 0.47	34.67 ± 0.94	22.33 ± 0.47	28.00 ± 0.82
<i>Epidendrum rigidum</i>	26.33 ± 0.94	30.67 ± 0.47	23.67 ± 0.47	33.67 ± 1.89	20.00 ± 0.00	29.00 ± 0.00
<i>Farrowia longicollea</i>	22.67 ± 0.94	28.67 ± 1.25	21.67 ± 0.47	30.33 ± 0.47	21.33 ± 0.47	30.33 ± 0.47
<i>Geranium niveum</i>	23.00 ± 0.82	30.33 ± 0.47	21.33 ± 0.47	32.00 ± 1.41	20.67 ± 0.47	31.33 ± 1.25
<i>Guanomyces polythrix</i>	23.00 ± 1.41	30.33 ± 0.47	23.33 ± 0.47	31.33 ± 1.25	21.33 ± 0.47	29.67 ± 0.47
<i>Gymnascella dankaliensis</i> (caldo)	27.33 ± 0.94	30.00 ± 0.00	23.67 ± 1.24	30.00 ± 0.81	22.33 ± 0.47	30.33 ± 0.47
<i>Gymnascella dankaliensis</i> (micelio)	27.67 ± 1.25	30.00 ± 0.00	27.00 ± 0.82	29.67 ± 0.47	24.67 ± 0.47	30.33 ± 0.47
<i>Malbranchea aurantiaca</i>	28.33 ± 0.47	29.33 ± 0.94	27.00 ± 0.00	29.33 ± 0.47	25.33 ± 0.47	30.33 ± 0.47
<i>Maxillaria densa</i>	26.00 ± 0.82	30.00 ± 0.00	22.67 ± 1.25	30.00 ± 0.00	21.67 ± 1.70	32.33 ± 2.62
<i>Scaphyglotis livida</i>	24.33 ± 0.47	30.00 ± 0.00	23.00 ± 0.00	30.00 ± 0.00	22.33 ± 0.47	30.67 ± 0.47
<i>Prionosciadium watsoni</i>	19.67 ± 0.47	28.67 ± 0.94	19.00 ± 0.00	28.00 ± 1.63	18.67 ± 0.47	28.67 ± 0.47

N. A.: No Activo

Control positivo: Anfotericina B [11 µg/mL]

Diámetro del disco: 16 mm.

De acuerdo a estos resultados podemos observar que para *S. aureus* siete extractos presentaron actividad, los mas activos fueron los correspondientes a *M. densa*, *S. livida* y el micelio de *G. dankaliensis*.

Para *B. subtilis*, solo el extracto de *G. dankaliensis* presentó una buena actividad. En el caso de *E. coli*, cuatro extractos presentaron actividad. Estos son los de *B. veronicaefolia*, *G. niveum*, *G. polythrix* y *S. lepidophylla*. Como *B. veronicaefolia*, *G. niveum* y *S. lepidophylla* son utilizadas en la

medicina tradicional para el tratamiento de desórdenes gastrointestinales es altamente probable que este resultado esté relacionado con el uso popular de las plantas.

*S. typhi* fue susceptible a seis extractos, incluyendo a los de *A. tolucensis*, *N. boothii*, *G. polythrix*, *S. livida*, *M. aurantiaca* y el caldo de *G. dankaliensis*.

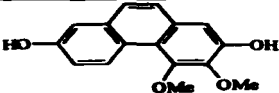
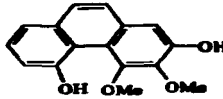
*P. aeruginosa* resultó sensible a los extractos de *E. cardiochilum* y *M. aurantiaca*. En el caso de *C. albicans* los extractos de *A. tolucensis*, *M. densa*, *E. rigidum*, y los provenientes del micelio y el caldo de *G. dankaliensis* y *M. aurantiaca*, fueron los que inhibieron en mayor grado el desarrollo de la levadura.

Con base en estos resultados podemos observar que *G. dankaliensis* presentó actividad contra tres bacterias (una Gram positiva y dos Gram negativas) y la levadura, por lo que esta especie fúngica constituye una fuente potencial de antibióticos de amplio espectro.

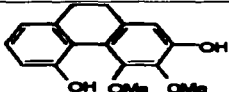
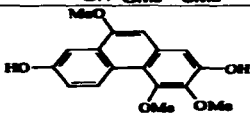
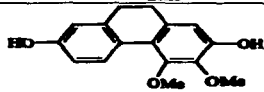
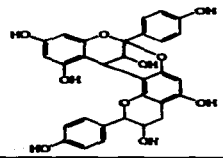
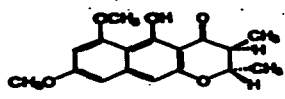
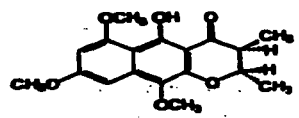
*M. aurantiaca* inhibió el crecimiento de dos enterobacterias y de *C. albicans*, de tal forma que es recomendable estudiar la especie con el fin de descubrir antibióticos útiles para el tratamiento de infecciones gastrointestinales.

De las cinco orquídeas evaluadas, *M. densa* y *S. livida* fueron activas contra *S. aureus*, por lo que podemos pensar que contienen sustancias útiles para combatir infecciones de la piel y otras producidas por microorganismos Gram (+).

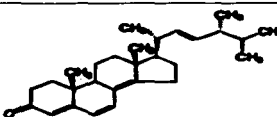
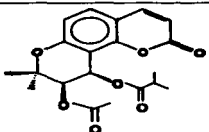
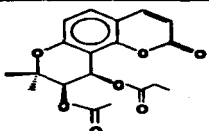
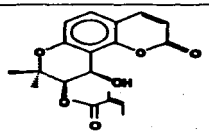
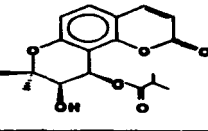
Los compuestos ensayados se evaluaron únicamente sobre los microorganismos susceptibles al extracto de origen. Los compuestos analizados se presentan en el Cuadro 22. Los resultados se presentan en los Cuadros 23 - 27.

Cuadro 22. Estructuras de los compuestos evaluados			
Nombre de Compuesto	Extracto de origen	Estructura	Clave
Nudol	<i>Maxillaria densa</i>		I
2,5-dihidroxi-3,4-dimetoxifenantreno	<i>Maxillaria densa</i>		II

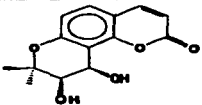
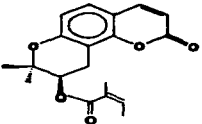
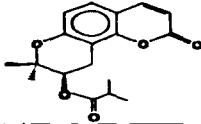
Cuadro 22. Estructuras de los compuestos evaluados (Continuación)

Nombre de Compuesto	Extracto de origen	Estructura	Clave
2,5-dihidroxi-3,4-dimetoxi-9,10-dihidrofenantreno	<i>Maxillaria densa</i>		III
Gimnopusina	<i>Maxillaria densa</i>		IV
Eriantridina	<i>Maxillaria densa</i>		V
Geranina A	<i>Geranium niveum</i>		VI
(+)-(2S,3S)-5-hidroxi-6,8-dimetoxi-2,3-dimetil-2,3-dihidronaftopirona	<i>Guanomyces polythrix</i>		VII
(+)-(2S,3S)-5-hidroxi-6,8,10-trimetoxi-2,3-dimetil-2,3-dihidronaftopirona	<i>Guanomyces polythrix</i>		VIII

Cuadro 22. Estructuras de los compuestos evaluados (Continuación)

Nombre de Compuesto	Extracto de origen	Estructura	Clave
Ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-ona	<i>Guanomyces polythrix</i>		IX
Seravshanina	<i>Prinosciadium watsoni</i>		X
(9 <i>R</i> ,10 <i>R</i> )-9-acetiloxi-10-propioniloxi-8,8-dimetil-9,10-dihidro-2 <i>H</i> ,8 <i>H</i> -benzo[1,2-b:3,4-b']dipiran-2-ona	<i>Prinosciadium watsoni</i>		XI
(9 <i>R</i> ,10 <i>R</i> )-10-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-dihidro-2 <i>H</i> ,8 <i>H</i> -benzo[1,2-b:3,4-b']dipiran-2-ona-9-éster	<i>Prinosciadium watsoni</i>		XII
(9 <i>R</i> ,10 <i>R</i> )-9-hidroxi-10-isobutiroiloxi-8,8-dimetil-9,10-dihidro-2 <i>H</i> ,8 <i>H</i> -benzo[1,2-b:3,4-b']dipiran-2-ona	<i>Prinosciadium watsoni</i>		XIII

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 22. Estructuras de los compuestos evaluados (Continuación)			
Nombre de Compuesto	Extracto de origen	Estructura	Clave
(+)- <i>cis</i> - kellactona	<i>Prinosciadium watsoni</i>		XIV
Jatamansina	<i>Prinosciadium watsoni</i>		XV
(9 <i>R</i> )- 9-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-dihidro-2 <i>H</i> ,8 <i>H</i> -benzo[1,2- <i>b</i> :3,4- <i>b'</i> ]dipiran-2-ona	<i>Prinosciadium watsoni</i>		XVI

CUADRO 23. Diámetros de la zona de inhibición (mm<sup>2</sup>) desarrolladas por los compuestos sobre *Staphylococcus aureus*

Compuesto	[Compuesto] 100 µg/mL	Control positivo	[Compuesto] 10 µg/mL	Control positivo	[Compuesto] 1 µg/mL	Control positivo
I	35.33 ± 0.47	29.33 ± 0.47	N. A.	---	N. A.	---
II	22.33 ± 0.47	31.00 ± 1.41	N. A.	---	N. A.	---
III	25.00 ± 0.82	29.33 ± 0.94	23.67 ± 1.25	30.00 ± 0.00	N. A.	---

N. A.: No Activo

Control positivo: Ampicilina [0.6 µg/mL]

Diámetro del disco: 16 mm.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**CUADRO 24. Diámetros de la zona de inhibición (mm<sup>2</sup>) desarrollados por los compuestos sobre *Escherichia coli***

Compuesto	[Compuesto] 100 µg/mL	Control positivo	[Compuesto] 10 µg/mL	Control positivo	[Compuesto] 1 µg/mL	Control positivo
VI	20.00 ± 0.82	21.67 ± 0.47	N. A.	-----	N. A.	-----
VIII	27.67 ± 0.94	24.00 ± 0.82	23.67 ± 0.47	24.00 ± 0.00	22.33 ± 0.47	24.33 ± 0.47
X	25.33 ± 0.47	23.67 ± 0.94	N. A.	-----	N. A.	-----
XI	25.33 ± 0.47	24.33 ± 0.47	23.33 ± 0.47	25.00 ± 0.00	25.67 ± 0.94	28.33 ± 0.47
XII	25.00 ± 0.00	23.67 ± 0.94	23.67 ± 0.94	24.67 ± 0.47	22.67 ± 0.94	22.67 ± 0.47
XIII	23.33 ± 0.47	26.67 ± 0.47	N. A.	-----	N. A.	-----
XIV	23.00 ± 0.82	23.67 ± 0.47	22.67 ± 0.47	22.33 ± 0.47	22.67 ± 0.94	22.67 ± 0.47
XV	24.67 ± 1.25	27.67 ± 0.47	23.67 ± 1.25	27.67 ± 0.94	22.00 ± 0.00	27.33 ± 0.47
XVI	24.33 ± 0.47	22.00 ± 0.00	N. A.	-----	N. A.	-----

N. A.: No Activo

Control positivo: Gentamicina [2 µg/mL]

Diámetro del disco: 16 mm.

**CUADRO 25. Diámetros de la zona de inhibición (mm<sup>2</sup>) desarrollados por los compuestos sobre *Salmonella typhi***

Compuesto	[Compuesto] 100 µg/mL	Control positivo	[Compuesto] 10 µg/mL	Control positivo	[Compuesto] 1 µg/mL	Control positivo
I	30.33 ± 0.47	26.33 ± 0.47	N. A.	-----	N. A.	-----
II	26.33 ± 1.25	26.67 ± 0.94	21.33 ± 0.94	27.67 ± 0.47	23.67 ± 1.70	26.00 ± 0.00
III	22.00 ± 0.41	25.33 ± 0.47	20.33 ± 0.47	25.67 ± 0.47	26.67 ± 0.94	25.33 ± 0.47
IV	24.67 ± 0.47	27.33 ± 0.47	24.67 ± 0.47	25.33 ± 0.47	22.67 ± 0.94	24.67 ± 0.47
V	26.667 ± 0.47	25.67 ± 0.94	24.67 ± 0.47	28.00 ± 0.00	23.67 ± 0.47	28.00 ± 0.82
VI	28.33 ± 2.36	28.00 ± 0.00	27.00 ± 1.41	27.00 ± 0.82	26.67 ± 0.94	26.00 ± 0.00
VII	24.33 ± 0.47	27.33 ± 0.47	22.67 ± 0.94	28.00 ± 0.00	23.00 ± 1.63	25.67 ± 0.94



**CUADRO 25. Diámetros de la zona de inhibición (mm<sup>2</sup>) desarrollados por los compuestos sobre *Salmonella typhi* (Continuación)**

Compuesto	[Compuesto] 100 µg/mL	Control positivo	[Compuesto] 10 µg/mL	Control positivo	[Compuesto] 1 µg/mL	Control positivo
IX	25.33 ± 0.47	28.00 ± 0.82	23.33 ± 1.25	27.67 ± 0.94	23.67 ± 1.25	26.33 ± 0.94
X	26.33 ± 0.94	25.00 ± 0.00	23.67 ± 0.94	24.00 ± 0.00	23.33 ± 0.47	27.33 ± 0.94
XI	26.67 ± 1.25	28.33 ± 1.25	25.33 ± 1.89	28.67 ± 0.94	25.67 ± 0.94	28.33 ± 0.47
XII	27.33 ± 0.47	25.67 ± 0.47	25.67 ± 0.94	25.33 ± 0.47	24.33 ± 0.47	25.33 ± 0.47
XIII	28.33 ± 1.25	25.67 ± 1.70	25.33 ± 0.47	24.33 ± 0.47	24.33 ± 0.47	24.67 ± 0.47
XIV	24.67 ± 0.94	26.67 ± 0.47	22.67 ± 0.94	26.33 ± 0.47	22.33 ± 0.47	26.00 ± 0.00
XV	27.33 ± 0.47	26.33 ± 0.47	25.00 ± 0.82	25.67 ± 0.47	25.33 ± 0.47	26.33 ± 0.47

N. A.: No Activo

Control positivo: Gentamicina [2 µg/mL]

Diámetro del disco: 16 mm.

**CUADRO 26. Diámetros de la zona de inhibición (mm<sup>2</sup>) desarrollados por los compuestos sobre *Pseudomonas aeruginosa***

Compuesto	[Compuesto] 100 µg/mL	Control positivo	[Compuesto] 10 µg/mL	Control positivo	[Compuesto] 1 µg/mL	Control positivo
VI	25.67 ± 0.47	27.00 ± 0.00	24.67 ± 0.94	23.67 ± 0.94	N. A.	-----
X	24.33 ± 1.25	23.33 ± 1.25	22.67 ± 0.94	24.33 ± 0.47	22.00 ± 0.82	22.67 ± 0.47
XI	27.33 ± 1.70	23.33 ± 0.94	25.33 ± 0.47	20.33 ± 0.47	24.33 ± 0.47	21.33 ± 0.47
XII	24.67 ± 0.47	22.00 ± 0.00	22.67 ± 0.94	22.33 ± 0.47	21.33 ± 0.47	21.33 ± 0.47
XIII	24.67 ± 0.47	22.00 ± 0.00	23.33 ± 0.47	22.00 ± 0.00	22.33 ± 0.47	21.33 ± 0.47
XIV	27.33 ± 0.47	22.67 ± 0.47	26.67 ± 0.94	22.67 ± 0.94	23.33 ± 0.47	22.33 ± 0.47
XV	24.33 ± 0.94	23.67 ± 0.94	23.33 ± 0.47	23.33 ± 0.47	21.67 ± 0.47	23.33 ± 0.94
XVI	25.67 ± 1.25	22.33 ± 0.47	24.67 ± 0.47	22.67 ± 0.47	23.33 ± 0.94	22.67 ± 0.47
XVI	26.00 ± 0.82	25.00 ± 0.00	24.33 ± 0.47	25.33 ± 0.47	24.00 ± 0.00	26.00 ± 0.82

**CUADRO 27. Diámetros de la zona de inhibición (mm<sup>2</sup>) desarrollados por los compuestos sobre *Candida albicans***

Compuesto	[Compuesto] 100 µg/mL	Control positivo	[Compuesto] 10 µg/mL	Control positivo	[Compuesto] 1 µg/mL	Control positivo
I	27.67 ±1.70	27.67 ±1.70	26.00 ±1.63	31.67 ± 1.25	21.00 ±0.00	30.33 ± 0.47
II	29.33 ± 0.47	27.33 ± 1.25	21.33 ±0.94	27.33 ±1.70	22.67 ± 0.47	28.67 ± 0.47
III	23.67 ± 1.25	26.00 ± 0.82	21.33 ±0.94	26.67 ± 1.25	20.33 ± 0.47	25.67 ± 0.47
IV	24.00 ± 0.82	24.67 ± 1.25	20.33 ±0.47	27.67 ± 0.47	20.67 ± 0.47	28.67 ±0.47
V	21.00 ±0.00	25.33 ± 1.25	21.00 ±0.00	24.67 ± 0.47	20.33 ± 0.47	26.67 ± 0.47
VI	22.33 ± 1.25	26.00 ± 0.82	21.33 ± 0.47	25.00 ± 0.82	18.67 ± 0.47	27.67 ± 0.47
VII	20.67 ± 0.47	24.67 ± 0.47	20.67 ± 0.47	27.00 ± 0.82	20.33 ± 0.47	28.00 ±0.00
VIII	27.33 ± 0.94	28.00 ± 0.82	26.33 ±1.89	27.33 ± 0.47	25.33 ± 0.47	27.67 ± 0.94
IX	23.67 ± 1.25	27.33 ± 0.47	21.33 ± 0.47	25.00 ±1.41	20.33 ± 0.47	28.33 ± 0.47
X	27.33 ±1.70	25.33 ± 0.47	27.00 ± 0.82	26.67 ± 0.47	24.67 ± 0.47	25.67 ± 0.47
XI	25.00 ±1.41	25.33 ± 0.47	24.33 ± 0.47	25.33 ±0.47	23.33 ± 0.47	25.33 ± 0.47
XII	24.00 ± 0.82	27.00 ±1.41	22.67 ± 0.94	27.67 ± 0.47	22.67 ± 0.94	28.33 ± 0.47
XIII	26.67 ± 0.94	25.00 ±0.00	25.33 ± 0.47	25.33 ± 0.47	22.67 ± 0.47	25.33 ± 0.47
XIV	22.67 ± 0.94	28.00 ±1.63	22.33 ± 0.47	29.67 ± 0.471	22.33 ± 0.47	30.33 ± 0.47
XV	24.33 ± 0.47	30.00 ±0.00	22.67 ± 0.94	28.67 ± 0.94	22.67 ± 0.94	28.67 ± 0.47
XVI	22.67 ± 0.94	28.67 ± 0.94	23.33 ± 0.94	29.33 ± 0.47	22.33 ± 0.47	28.33 ± 0.94

N. A.: No Activo

Control positivo: Anfotericina B [11µg/mL]

Diámetro del disco: 16 mm.

Con respecto a los compuestos evaluados, el compuesto I fue el único que presentó actividad sobre *S. aureus*, y solamente a la concentración de 100 µg/mL.

Todos los compuestos de *P. watsoni* presentaron actividad contra *P. aeruginosa*, siendo el compuesto XIV el mas activo aún a la concentración de 1 µg/mL. El efecto de este producto fue mayor

al del control positivo. Estos resultados indican que en la serie de las cumarinas, aquellos compuestos que presentan dos hidroxilos libres en el anillo pirano son los más activos; la esterificación de al menos uno de estos grupos disminuye la actividad antimicrobiana.

El crecimiento de *E. coli* fue inhibido por VIII, X, XI, XII y XVI (Cuadro 22). En este caso los productos derivados de la cis-kellactona fueron más activos. Los productos XII y XIV presentaron una actividad similar a la del control positivo.

Los compuestos I, V, VI, X, XII, XIII, XIV y XV (Cuadro 22) mostraron actividad contra *S. typhi* a una concentración de 100 µg/mL, de éstos, solo la geranina y las cumarinas XII y XIII fueron activos a concentraciones de 1 µg/mL.

Para la levadura, todos los compuestos evaluados presentaron actividad, sin embargo, únicamente el compuesto II mostró actividad significativa

## V. RESUMEN Y CONCLUSIONES

En el presente trabajo de tesis se realizó un estudio conducente a determinar la potencialidad de extractos naturales como agentes antimicrobianos. Se evaluaron diez extractos derivados de especies vegetales, cuatro extractos derivados de especies fúngicas y dieciséis compuestos puros. Cada uno de los extractos se evaluó sobre las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* y sobre la levadura *Candida albicans*. En cada caso se utilizó un antibiótico apropiado como control positivo y cada evaluación se realizó por triplicado.

Los resultados indican que las especies *A. toluensis*, *B. veronicaefolia*, *N. boothii*, *E. cardiochilum*, *E. rigidum*, *G. polithrix*, *M. densa*, *S. livida*, *S. lepidophyla*, *G. dankaliensis* y *M. aurantiaca* contienen principios antibacterianos. En el Cuadro 28 se resumen los organismos susceptibles a cada extracto.

Extracto	Microorganismo (s) susceptible (s)
<i>A. toluensis</i>	<i>S. typhi</i> , <i>C. albicans</i>
<i>B. veronicaefolia</i>	<i>E. coli</i>
<i>G. niveum</i>	<i>S. typhi</i>
<i>N. boothii</i>	<i>S. typhi</i>
<i>E. cardiochilum</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>E. rigidum</i>	<i>C. albicans</i>
<i>G. polithrix</i>	<i>E. coli</i> , <i>S. typhi</i>
<i>M. densa</i>	<i>C. albicans</i>
<i>S. livida</i>	<i>S. typhi</i>
<i>S. lepidophyla</i>	<i>E. coli</i>
<i>G. dankaliensis</i>	<i>B. subtilis</i> , <i>S. typhi</i>
<i>M. aurantiaca</i>	<i>S. typhi</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i>

Al realizar la determinación antimicrobiana por el método de difusión en agar fue posible detectar que todas las especies presentaron actividad contra algún microorganismo. Los resultados obtenidos parecen validar el uso popular de las especies *B. veronicaefolia*, *G. niveum* y *S. lepidophyla* para tratar padecimientos de origen bacteriano.

La especie fúngica *G. dankaliensis* constituye una fuente potencial de antibióticos de amplio espectro ya que mostró actividad contra tres bacterias (una Gram positiva y dos Gram negativas) y la levadura; en tanto que *M. aurantiaca* inhibió el crecimiento de dos enterobacterias y *C. albicans*, lo cual convierte a esta especie fúngica en un buen candidato para descubrir antibióticos de utilidad para el tratamiento de infecciones gastrointestinales. Cabe destacar que estos dos hongos y el extracto de *P.*

*watsoni* mostraron buena actividad contra bacterias Gram (-) lo cual parece indicar que contienen compuestos que bien inhiben las proteínas resistentes a los fármacos o que penetran con facilidad las membranas de estos organismos. Considerando que son pocos los productos naturales eficaces para el tratamiento de infecciones producidas por bacterias Gram (-) resulta de gran importancia el estudio futuro de estas especies.

De los compuestos ensayados los productos Geranina (VI), (9*R*,10*R*)-10-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-dihidro-2*H*,8*H*-benzo[1,2-*b*:3,4-*b'*]dipiran-2-ona-9-éster (XII) y (9*R*-10*R*)-9-hidroxi-10-isobutiroiloxi-8,8-dimetil-9,10-dihidro-2*H*,8*H*-benzo[1,2-*b*:3,4-*b'*]dipiran-2-ona (XIII) presentaron una actividad significativa contra las tres bacterias Gram (-) ensayadas. Estos resultados son bastante satisfactorios ya que la mayoría de los productos vegetales (Tegos, *et al.*, 2002) son inactivos contra este tipo de bacterias (Tegos, *et al.*, 2002). De los productos activos destacan la (9*R*,10*R*)-9-acetiloxi-10-propioniloxi-8,8-dimetil-9,10-dihidro-2*H*,8*H*-benzo[1,2-*b*:3,4-*b'*]dipiran-2-ona (XI), activa contra *P. aeruginosa*; y el 2,5-dihidroxi-3,4-dimetoxi-9,10-dihidrofenantreno (III), activo contra *S. typhi*: que presentaron una actividad mayor que el control positivo. Los restantes productos presentan una actividad igual a la del control positivo.

Las propiedades antibacterianas de los productos Nudol (I), 2,5-dihidroxi-3,4-dimetoxifenantreno (II), Eriantridina (V), Geranina A (VI), (+)-(2*S*,3*S*)-5-hidroxi-6,8,10-trimetoxi-2,3-dimetil-2,3-dihidronaftopirona (VIII), Seravshanina (X), (9*R*,10*R*)-9-acetiloxi-10-propioniloxi-8,8-dimetil-9,10-dihidro-2*H*,8*H*-benzo[1,2-*b*:3,4-*b'*]dipiran-2-ona (XI), (9*R*,10*R*)-10-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-dihidro-2*H*,8*H*-benzo[1,2-*b*:3,4-*b'*]dipiran-2-ona-9-éster (XII), (9*R*-10*R*)-9-hidroxi-10-isobutiroiloxi-8,8-dimetil-9,10-dihidro-2*H*,8*H*-benzo[1,2-*b*:3,4-*b'*]dipiran-2-ona (XIII), (+)-*cis*-kellactona (XIV), *Jatamansina* (XV) y (9*R*)-9-hidroxi-8,8-dimetil-9,10-dihidro-2*H*,8*H*-benzo[1,2-*b*:3,4-*b'*]dipiran-2-ona (XVI); constituyen una aportación original del presente trabajo y una contribución al conocimiento de los productos naturales medicinales de México.

#### IV. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, A. J., Camacho, S., Chino, P., Jázquez, P., López M. (1994) Herbario Medicinal del Instituto Mexicano de Seguro Social. Instituto Mexicano de Seguro Social. México, D. F. 253 p.
- Argueta, A. (1994). Atlas de Plantas Medicinales de la Medicina Tradicional Mexicana. Instituto Nacional Indigenista. México, D. F. 1786 p.
- Bohlman, F.; Bapuji, M.; Jakupovic, J.; King, R. M. and Robinson, H. (1982). Unusual diterpenes from *Brickellia eupatorioides*. *Phytochemistry*, **21**: 181-186.
- Bohlman, F.; Suwita, A. and Mabry, T. J. (1978). New labdane derivatives and further constituents of *Brickellia* species. *Phytochemistry*, **17**: 763-765.
- Bye, R. (2000) Ethnobotanical notes of Dr. Edward Palmer for Western USA and Mexico 1861-1910. Data base, first approximation. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bye, R. (1985). Medicinal plants of the Tarahumara Indian of Chihuahua, México. En: Two mummies from Chihuahua: A multidisciplinary study.. (R. A. Tyson, D. V. Elerick, eds) San Diego, California, pp. 77-104.
- Calderón, J. S., Quijano, L., Cristiá, M., Gómez, F. and Ríos, T. (1983) Labdane diterpenes from *Brickellia veronicaefolia*. *Phytochemistry*, **8**: 1783-1785.
- Calzada, F., Cedillo-Rivera, R., Bye, R. and Mata, R. (2001). Geranins C and D, Additional New Antiprotozoal A-Type Proanthocyanidins from *Geranium niveum*. *Planta Médica*, **67**: 677-680.
- Calzada, F., Cerda-García-Rojas, C., Meckes, M., Cedillo-Rivera, R., Bye, R. and Mata, R. (1999). Geranins A and B, New Antiprotozoal A-Type Proanthocyanidins from *Geranium niveum*. *Planta Médica*. **62**: 705-709.
- Chao Lin, R., Skaltsounis, A. L., Seguin, E., Tillequin, F. and Koch, M. (1994). Phenolic Constituents of *Selaginella doederleinii*. *Planta Médica*, **60**: 168-170.
- Chatopadhyay, D. Maiti, K., Kundu, A. P., Chakraborty, M. S., Bhadra, R., Mandal, S. C., Mandal, A. B. (2001). Antimicrobial activity of *Alistonia macrophylla*: a folklore of bay islands. *Journal of Ethnopharmacology*. **77**: 49-55.
- Clark, A. M., Walker, L. A. (2000) Discovery of Antifungal Agents from Natural Sources: Virulence Factor Targets. En Biologically Active Natural Products: Pharmaceuticals. (Cutler, S., Cutler, H., eds.), CRC Press, Boca Raton, Florida, pp.95-107.

- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, **12**: 564-582.
- Davies, J. (1994) Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science*. **264**: 375-382.
- Delgado, G. and Garduño, J. (1986). Pyranocoumarins from *Arracacia nelsonii*. *Phytochemistry*, **26**, 1139-1141.
- Eloff, J. N. (1998). Which extractans should be used from screening and isolation of antimicrobial components from plants? *Journal of Ethnopharmacology*. **60**: 1-8.
- Estrada, S. (2000) Estilbenoides de *Scaphyglottis livida* (Lindley) Schltr (Orchidaceae) y *Maxillaria densa* Lindley (Orchidaceae). Efecto del 3,4'-dihidroxi-3',5'-dimetoxibencilo sobre el sistema óxido nítrico/GMP cíclico. Tesis de Doctorado. México D. F.
- Estrada, S., Acevedo, L., Rodríguez, M., Toscano, R. A. and Mata, R. (2001) New Triterpenoids from the Orchids *Scaphyglottis livida* and *Nidema boothii*. *Natural Products Letters*, **16**, (2): 81-86.
- Estrada, S., Rojas, A., Mathison, Y., Israel, A. and Mata, R. (1999) Nitric Oxide/cGMP Mediates the Spasmolytic Action of 3,4'-Dihydroxy-5,5'-dimetoxibenzyl from *Scaphyglottis livida*. *Planta Médica*, **65**: 109-114.
- Estrada, S. Toscano, R. and Mata, R. (1999). New Phenanthrene Derivatives from *Maxillaria densa*. *Journal of Natural Products*, **62**: (8) 1175-1178.
- González, M. C., Hanlin, R. T., Ulloa, M. (2000). *Guanomyces*, a new genus of Ascomycetes from México. *Mycología*, **92**: 1138-1148.
- Goodwing, R. S.; Rosler, K. H. A.; Mabry, T. I. and Varma, S. D. (1984). Flavonoids from *Brickellia glutinosa*. *Journal of Natural Products*, **47**: 711-714.
- Hietz, P., Hietz-Seifert, V. (1994). Epífitas de Veracruz. Guía ilustrada para las regiones de Xalapa y Los Tuxtlas, Veracruz; Instituto de Ecología, A. C.: Xalapa, México, pp. 45, 48, 50, 57, 124, 125, 249.
- Inhuma, M., Roberts, M., Matlin, S. A., Stacey, V. E., Timmermann, B. N., Mabry, T. J. and Brown, R. (1985). Synthesis and revised structure of the flavone Brickellin. *Phytochemistry*, **6**: 1367-1368.
- Koneman, E. W. (1989). Pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos. En: Diagnóstico microbiológico. Texto y Atlas. Editorial Médica Panamericana, México. pp 380-401.

- Lie-Chwen, L., Kuo, Y., Chou, Ch. (2000). Cytotoxic Biflavonoids from *Selaginella delicatula*. *Journal of Natural Products*, **63**: 627-630.
- Linton, A. H. (1983). Theory of Antibiotics Inhibition Zone Formation Disc. Sensitivity Methods and MIC Determinations, en: *Assessment of Antimicrobial Activity and Resistance*. Academic Press, N. Y. pp 19-31.
- Macías, M., Gamboa, A., Ulloa, M., Toscano, R. A., Mata, R. (2001). Phytotoxic naphthopyranone derivatives from the coprophilous fungus *Guanomyces polythrix*. *Phytochemistry*, **58**: 751-758.
- Macías, A., Ulloa, M., Gamboa, Mata, R. (2000). Phytotoxic Compounds from the new Coprophilous Fungus *Guanomyces polythrix*. *Journal of Natural Products*, **63**: 757-761.
- Miller, J. S., Gereau, R. E. (2000),... Therapeutic Potential of Plant-Derived Compounds: Realizing the Potential. En. *Biologically Active Natural Products: Pharmaceuticals.*, (Cutler, S., Cutler, H eds). CRC Press, Boca Raton, Florida, pp 25-36.
- Mues, R; Timmermann, B. N.; Ohno, N. and Mabry, T. I. (1979). 6-Mefuoxyflavonoids from *Brickellia californica*. *Phytochemistry*, **18**: 1379-1383.
- Newman, D. J., Cragg, G. M. and Sander, K. M. (2000). The influence of natural products upon drug discovery. *Natural Products Report*, **17**: 215-234.
- Norris, I. A. and Mabry, T. I. (1985). 6-Mefuoxyflavonoids of *Brickellia monocephala*. *Journal of Natural Products*, **48**: 668.
- Okinawa, M., Wu Hwa, Ch. Kawano, N. (1971) Biflavones in *Selaginella* species. *Phytochemical Reports*, **10**: 3286-3287.
- Paxton J. D.(1991). Assays for antifungal activity. En: *Methods in plant biochemistry*. (Hasborne, eds.), Academic Press New York, pp.33-46.
- Penna, C., Marino, S., Vivot, E., Cruaños, M. C., Muñoz, J. De D., Cruaños, J., Ferraro, G., Gutkind, G. and Martino, V. (2001). Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. *Journal of Ethnopharmacology*, **77**: 37-40.
- Portillo, A., Vila, R., Freixa, B., Adzet, T. and Cañigueral, S. (2001). Antifungal activity of Paraguayan plants used in tradicional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, **76**: 93-98.
- Pundarikakshudu, K., Patel, J. K., Bodar, M. S., Deans, S. G. (2001) Anti-bacterial activity of *Galiga officinalis* L. (Goat's Rue). *Journal of Ethnopharmacology*, **77**: 111-112.



- Qasim, M. A., Roy, S. K., Ilyas, M. (1985) Phenolic constituents of *Selaginellaceae*. *Indian Journal of Chemistry*, **24B**: 220.
- Rascón Torres, R., Cornelio, S., Carabeo, I. (1994). En : Flora medicinal indígena de México. Eds. Aguilar, A., Argueta, A. Cano, L. Instituto Nacional Indigenista, México. pp 325-362.
- Roberts, M. F.; Timmermann, B. N. and Mabry, T. L. (1980). 6-Methoxyflavonoids from *Brickellia veronicaefolia* (Compositae). *Phytochemistry*, **19**: 127-129.
- Romero, C. R. (1994). Manejo de antimicrobianos. En: Microbiología y parasitología humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. (Romero C. R, eds.). Editorial Médica Panamericana, México. pp 50 y 51.
- Rosler, K. H. A.; Goodwin, R. S.; Mabry, T. L.; Varma, S. D. and Norris, I. (1984). Flavonoids with anticataract activity from *Brickellia arguta*. *Journal of Natural Products*, **47**: 316-319.
- Silva, G. L., Chai, H., Gupta, M. P., Farnsworth, N. R., Cordell, G. A., Pezzuto, J. M., Beecher, C. W. W. and Kinghorn, A. D. (1995) Cytotoxic biflavonoids from *Selaginella willdenowii*. *Phytochemistry*, **40**: 129-134.
- Stermitz, F. R., Lorenz, P., Tawara, J. N. Zenewicz, L. A., Lewis, K. (2000). Antimicrobial action of berberine potentiated by 5'-methoxyhydnocarpin, a multidrug pump inhibitor. *Proceedings of the National Academic of Sciences*, **97**: 1433-1437.
- Takagi, S., Yamaki, M., and Inoue, K. (1983). Antimicrobial Agents from *Bletilla striata*. *Phytochemistry*, **22**, (4): 1011-1015.
- Taylor, R. S. L. Manandhar, N. P. Towers G. H. N. (1995). Screening of selected medicinal plants of Nepal for antimicrobial activities. *Journal of Ethnopharmacology*, **54**: 153-159.
- Tegos, G. Stermitz, F. R., Lomovskaya, O., Lewis, K., (2002). Multidrug pump inhibitors uncover remarkable activity of plants antimicrobials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **46**: 3133-3141.
- Tezuca, Y., Ji, L., Hirano, H., Ueda, M., Nagashima, K. And Kikuchi, T. (1990). Studies on the constituents of Orchidaceus plants IX. Constituents of *Spiranthes sinensis* (PERS.) AMES var. *amoena* (M. BIEBERSON) HARA. (2). Structures of spiranthesol, spiranthoquinone, spiranthol-C and spiransineol-B, new isopentenylidihydrophenanthrenes. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **38**: 629-635.
- Timmermann, B. N.; Graham, S. A.; Mabry, T. L. (1981). Sulfated and 6-mefuoxyflavonoids from *Brickellia baccharidea* (Compositae). *Phytochemistry*, **20**, 1762.

- Timmermann, B. N.; Mues, R.; Mabry, T. I.; Powell, A. M. (1979). 6-Mefuoxylflavonoids from *Brickellia laciniata*. *Phytochemistry*, **18**, 1855-1888. .
- Ulubelen, A.; Timmermann, B. N.; Mabry, T. I. (1980). Flavonoids from *Brickellia chlorolepis*. *Phytochemistry*, **19**, 905-908.
- Valencia, N., Abbas, H., Bye, R., Toscano, R., Mata, R. (2002). Phytotoxic Compounds from *Prinosciadium watsoni*. *Journal of Natural Products*, **65**: 828-834.
- Valencia, N., Paul, R. N., Shier, W. T., Mata, R. and Abbas, H. K. (2002). Phytotoxic and ultrastructural effects of Gymnopusin from the orchid *Maxillaria densa* on duckweed (*Lemna paucicostata*) frond and root tissues. *Phytochemistry*, **61**: 141-148.
- Vanden Berghe, D. A., Vlietnick, A. J (1991). Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. En: *Methods in plant biochemistry*. (Hasborne, eds.), Academic Press New York, pp.47-67.
- Yamaki, M., Bai, L., Inoue, K and Takagi, S. (1990). Biphenanthrenes from *Bletilla striata*. *Phytochemistry*, **28**: 3503-3505.
- Wright, N. P. (ed). (1958) orquídeas de México. Fournier, México. pp 9-16.
- Zdero, C.; Bohlmann, F.; Kina, R. M. (1991). Guaianolides and labdanes from *Brickellia* species. *Phytochemistry*, **30**, 1591-1595.