



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"**

**REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS
ANTITUBERCULOSOS EXTRAÍDOS DE PRODUCTOS
NATURALES.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUIMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

IVÁN MARTÍNEZ RAMÍREZ

DIRECTORA DE TESIS: M. en C. Raquel Retana Ugalde

MÉXICO, D.F.

2005

m 342814



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo

Iván Martínez Ramírez

Número de Cuenta: 93091374

Termino de la Carrera: Octubre del 2001

Área: Farmacia

**REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS
ANTITUBERCULOSOS EXTRAIDOS DE PRODUCTOS
NATURALES.**

Director: M en C Raquel Retana Ugalde

DEDICATORIAS

A mamá por su apoyo incondicional y valentía.

A papá por sus consejos y sus enseñanzas acerca de la vida.

A Román, Omar e Irina por existir y caminar junto a mí.

A Valeria por su alegría.

A Alfonso por ser y estar.

A mis amigos por su amistad apoyo y paciencia.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres porque gracias a ellos conocí las ciencias químicas y desarrollaron en mi la pasión por la misma.

A Mariana Mekes y Adelina Jiménez por contribuyeron en mi desarrollo personal y profesional invitándome a investigar el maravilloso mundo de las plantas medicinales.

A la FES-Zaragoza/UNAM, y sus maestros por sus enseñanzas y porque durante mi formación me transmitieron sus conocimientos y su experiencia.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La tuberculosis es una enfermedad infectocontagiosa producida por especies del género *Mycobacterium*. Desde 1993, la OMS la ha considerado como una enfermedad emergente, de la cual se registran alrededor de 3 millones de casos en el mundo siendo la región sudeste de Asia la más afectada. Uno de los factores que ha contribuido de manera importante a la reaparición de la tuberculosis, es la resistencia microbiana a antibióticos fenómeno que se observa desde 1980. Debido a esto, la comunidad científica se ha dado a la tarea de buscar nuevas moléculas con actividad farmacológica que ayuden o permitan controlar la drogoresistencia.

OBJETIVO: Realizar una revisión sistemática de los productos naturales con actividad antituberculosa extraídos de plantas medicinales.

MATERIALES Y MÉTODOS: A partir de publicaciones científicas especializadas en química; de enero de 1995 a julio de 2002, se llevo a cabo una revisión sistemática para destacar la actividad de productos naturales y su relación estructura-actividad sobre las micobacterias causantes de tuberculosis.

RESULTADOS: Se incluyo un total de 27 artículos encontrando que las moléculas activas son generalmente de naturaleza triterpénica; por otro lado, se observó que la actividad de dichas moléculas es directamente proporcional al carácter lipofílico de está, también se observó que la presencia de funciones oxigenadas como sustituyentes de la molécula son importantes para dicha actividad. Destacando entre éstas moléculas el saringosterol por su CMI menor al de la rifampicina.

CONCLUSIONES: Los resultados permiten confirmar la actividad farmacológica que se le ha atribuido a la herbolaria de diversas regiones del mundo. Por otro lado la naturaleza química es diferente entre moléculas activas y fármacos de elección

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	3
I. ANTECEDENTES	4
A. Tuberculosis	4
1. Agente causal	4
2. Patología	4
3. Sintomatología	6
4. Diagnóstico	7
5. Epidemiología	9
6. Tratamiento	13
B. Medicina alternativa	14
1. Herbolaria	14
C. Ensayos biológicos para determinar la sensibilidad de cepas de <i>Mycobacterium</i> a diversos agentes	17
1. Método de proporciones	17
2. Método radiorespirométrico	17
3. Método colorimétrico MTT	18
4. Micrométodo colorimétrico de Alamar-Azul	18
5. Ensayo por bioluminiscencia	18
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
III. OBJETIVO	21
IV. METODOLOGÍA	21
V. RESULTADOS	23
1. Principios activos	23
2. Relación estructura actividad	25
VI. ANÁLISIS DE RESULTADOS	32
VII. CONCLUSIONES	39
VIII. PERSPECTIVAS	40
IX. REFERENCIAS	41

INTRODUCCIÓN

La alta incidencia a nivel mundial de la tuberculosis (enfermedad infecciosa causada por *Mycobacterium tuberculosis*) es un problema que ha llevado a replantear la necesidad de la aceptación del programa DOTS (Directly Observed Treatment, Short-course) y su correcta aplicación. En países donde no se lleva al 100% dicho programa, tiene implicaciones tanto médicas como económicas, es decir, se registra un alto índice de mono y multi-drogo-resistencia de *M. tuberculosis* a fármacos tanto de primera (con alta incidencia en nuestro país) como de segunda línea, lo que eleva en gran medida el costo de los tratamientos.

En México, en 1999 la tuberculosis se situó dentro de las primeras 20 causas de mortalidad con 3,229 muertes. En la séptima semana de 2002 se habían registrado 1,864 casos de tuberculosis, presentando su mayor incidencia en los estados de Veracruz, Chiapas y Baja California. Dicha situación se agrava por problemas de salud como el VIH, la diabetes, la desnutrición, las adicciones y la resistencia a fármacos, la cual va en aumento por la falta de seguimiento de los programas de control y adherencia al tratamiento.

En este contexto surge la necesidad de buscar nuevos fármacos, más potentes y con menos efectos adversos. Bajo esta premisa, se reconoció a la herbolaria como una fuente potencial de sustancias farmacológicamente activas contra *M. tuberculosis* misma que en nuestro país ha sido poco explotada. Por lo que los principios activos aislados de plantas pueden ser propuestos como tratamientos complementarios que coadyuven al control de la tuberculosis en nuestro país.

Sin embargo, la información científica existente de productos naturales con actividad antituberculosa, comprende a la herbolaria de diversas regiones del mundo, por lo que es necesario llevar a cabo una revisión sistemática para que dicha información al reunirse en un mismo documento impacte sobre un mejor aprovechamiento de la misma.

I. ANTECEDENTES

A. Tuberculosis

La tuberculosis, es una enfermedad infectocontagiosa producida por especies del género *Mycobacterium*, principalmente por *M. tuberculosis* y *M. avium*, generalmente se presenta en los pulmones aunque puede atacar otros órganos.

1. AGENTE CAUSAL

Una característica importante de las especies del género *Mycobacterium* es la poca afinidad por los colorantes empleados en la tinción de Gram; y presentan una respuesta positiva a la tinción de Ziehl-Neelsen, por lo que se les denomina bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR), pues una vez teñidos resisten la decoloración con alcohol-ácido (Mezcla de 3% de ácido clorhídrico en alcohol etílico al 95%), dicha propiedad se debe al alto contenido de lípidos en su pared celular (1).

El esqueleto de la pared celular de las micobacterias es una estructura covalente de dos polímeros, un peptidoglucano y un arabinogalactano unidos covalentemente por puentes fosfodiéster entre residuos de ácido murámico y una arabinosa del arabinogalactano; aproximadamente cada diez residuos de arabinosa el polímero está esterificado por una molécula de ácido micólico y posee un oligómero denominado cera D (2).

M. tuberculosis es un bacilo delgado de aproximadamente 3 µm de longitud, inmóvil, no formador de esporas. Es un microorganismo aerobio obligado, de crecimiento lento (3 a 4 semanas) a 37° C, el cual es resistente al secado y sensible tanto a la radiación ultravioleta como a la radiación solar (3).

2. PATOLOGÍA

M. tuberculosis no produce exotoxinas ni contiene endotoxinas en su pared celular; la patología causada por este depende de la presencia del microorganismo y la respuesta inmune del huésped (1). Entre las que destacan la inmunidad celular

adquirida, donde las células efectoras son el macrófago y las células T. Dicha respuesta es local e involucra macrófagos activados por los linfocitos y sus linfocinas en el sitio de infección, misma que es referida como reacción de hipersensibilidad (4). La hipersensibilidad es a las proteínas del bacilo y es responsable de la destrucción tisular característica de la enfermedad (2).

La infección con *M. tuberculosis* se da generalmente por la aspiración de pequeñas gotitas de secreciones de tos o estornudos de personas infectadas mismas que contienen al bacilo, las cuales alcanzan los espacios alveolares lo que desencadena una respuesta inflamatoria. Los leucocitos polimorfonucleares fagocitan al bacilo pero no lo matan, a los pocos días los leucocitos son remplazados por los macrófagos, unos se convierten en células epiteloideas y otros se transforman en células gigantes de Langhans, esta masa de macrófagos alterados es rodeada por linfocitos y fibroblastos. En el transcurso de 10 a 14 días se inicia en el centro de esta lesión una necrosis de tipo caseosa, dicha lesión es conocida como **lesión granulomatosa** misma que presenta un alto contenido de lípidos y una mínima tendencia a la autólisis. Estos granulomas se necrosan o evolucionan y cicatrizan por fibrosis y calcificación o se reblandecen y diseminan (1, 3, 4).

Otro tipo de lesión causada por *M. tuberculosis* es la **lesión exudativa**, caracterizada por la salida de un exudado inflamatorio con fibrina y una gran infiltración de linfocitos y polimorfonucleares. Estas lesiones son típicas en cavidades serosas (como peritonitis, sinovitis y meningitis), con frecuencia se presentan en el sitio inicial de infección y se debe a una respuesta inflamatoria aguda.

Generalmente el sitio primario de infección es el pulmón y su respectiva lesión es llamado **foco de Ghon** y la combinación del nódulo linfático regional involucrado con el sitio primario de infección se denomina **complejo de Ghon**.

La dispersión del bacilo dentro del organismo puede llevarse a cabo de dos maneras: 1) un tubérculo (granuloma), puede erosionar un bronquio y vaciar su contenido caseoso diseminándose a otras partes del pulmón, del sistema

respiratorio; a vía gastrointestinal si se deglute, u otras personas si se expectora) puede diseminarse por el torrente sanguíneo a otros órganos, ya sea por extensión de la infección linfática o por invasión directa de una vena (1, 3).

3. SINTOMATOLOGÍA

Los síntomas sistémicos son fiebre, fatiga, diaforesis nocturna, pérdida de peso y perdida del apetito. Por otro lado, dependiendo del órgano afectado son los síntomas que manifiesta el paciente (Cuadro 1):

CUADRO 1: Síntomas de tuberculosis de acuerdo al órgano afectado.

TIPO	SÍNTOMAS
Tuberculosis pulmonar	Tos productiva y prolongada, (duración de mas de 3 semanas), dolor de pecho y hemoptisis ¹ .
Tuberculosis extrapulmonar	Dichas manifestaciones pueden detectarse después de una infección entre el 10 y el 15 % de los casos no tratados; y puede tener manifestarse como tuberculosis: pleural, genitoutinaria, meninge, esquelética, pericardial o miliar.
Tuberculosis miliar	Se caracteriza por lesiones múltiples diseminadas que asemejan semillas de mijo.
Tuberculosis del SNC	Presencia de meningitis, tuberculomas ² y abscesos tuberculosos.
Tuberculosis genitourinaria	Estenosis de vías urinarias, cólico renal, calcificación en vías urinarias hematuria, polaquiuria ³ , disuria. En la mujer, anomalías en la menstruación, esterilidad, sangrado post-menopáusico, amenorrea. En el hombre, hemosperma ³ , epidimitis, prostatitis crónica. (1, 4, 5).

La tuberculosis puede presentarse en situaciones como el embarazo o en pacientes con VIH. En el caso de embarazo, la tuberculosis no modifica el curso de éste si es tratado adecuadamente. Por otro lado la coinfección con VIH, o algunos

¹ Presencia de tos con sangre.

² Lesiones granulomatosas de células epiteliales caracterizadas por necrosis caseosa y fribrrosis.

³ Aumento en el número de micciones.

estados de inmunodeficiencia frecuentemente favorecen la reactivación o bien aceleran el curso de la tuberculosis (5).

4. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la tuberculosis debe realizarse a través de los datos clínicos del paciente auxiliándose de los datos obtenidos de muestras clínicas. Los métodos de diagnóstico se clasifican en métodos convencionales (PPD, BAAR, y cultivo tradicional) y no convencionales (métodos radiométricos, serológicos, inmunoensayos, hibridación de ácidos nucleicos, entre otros, cuadro 2).

Los métodos de inmunoensayo, pretenden identificar los anticuerpos contra algún antígeno particular, si el segundo anticuerpo adicionado es una antiinmunoglobulina marcada con enzimas, hablamos del método de **ELISA**, si está marcado con material radiactivo se trata de un **radioinmunoensayo**. En estos, no se han realizado estudios para ver la correlación entre dichos métodos y baciloscopías positivas o negativas.

Se ha trabajado sobre otros métodos no inmunológicos: a) identificación del ácido tuberculoesteárico o los ácidos micólicos (componentes de la pared celular de *M. tuberculosis*) en muestras de pacientes con tuberculosis pulmonar ya sea por CG-EM⁵, b) o por un monitoreo selectivo de iones (sensibilidad del 83%) y c) métodos de **hibridación** del **DNA** y **RNA** usando sondas para el cromosoma completo del microorganismo, si se emplean sondas de DNA se pueden reconocer fragmentos de restricción polimórficos del genoma de *M. tuberculosis*, o pueden identificar RNA ribosomal, los cuales tienen una correlación variable hasta del 100% contra pruebas bioquímicas (6).

⁴ Presencia de hilos de sangre en el semen.

⁵ Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.

CUADRO 2: Métodos de diagnóstico de tuberculosis.

METODO	IMPORTANCIA
<i>Radiografía de Tórax</i>	Se buscan tuberculos; es útil pero no definitivo, ya que otras enfermedades de origen infeccioso presentan radiografías similares (1, 7).
<i>Tomografía Axial Computarizada de Tórax</i>	Proporciona información similar al anterior (1, 7).
<i>Baciloscopía</i>	Consiste en la demostración bacteriológica del agente causal al aplicar la tinción para bacilos ácido alcohol resistentes a muestras de esputo, es un método muy útil en el diagnóstico específico de tuberculosis pulmonar y extrapulmonar; de baja sensibilidad pues requiere muestras de esputo con por lo menos 10^4 bacilos/mL (1, 7).
<i>Cultivos de esputo</i>	En medio Löwenstein-Jensen ⁶ su sensibilidad es cercana al 100% en casos de tuberculosis pulmonar, no así en casos de tuberculosis extrapulmonar, pero es considerado como estándar de oro (1). El cultivo también puede realizarse en medio Middlebrook 7H11 mismo que está enriquecido con un sustrato marcado radioactivamente (ácido palmítico), donde el crecimiento se detecta cuantificando la producción de $^{14}\text{CO}_2$ marcado isotópicamente acortando el tiempo de obtención de resultados. También es posible identificar presuntamente cepas del complejo <i>M. tuberculosis</i> al incorporar al medio ácido p-nitrobenzoico (7).

⁶ Contiene nutrientes complejos como yema de huevo y el colorante verde de malaquita el cual inhibe el crecimiento de la flora normal presente en muestras de esputo.

CUADRO 2 (continuación)

METODO	IMPORTANCIA
<i>Intradermoreacción con PPD⁷ o prueba cutánea de tuberculina</i>	Esta prueba se fundamenta en una reacción de hipersensibilidad retardada. La prueba es positiva si de 48 a 72 horas después de la inyección intradérmica del antígeno PPD se forma una induración de 5 mm (si se trata de un recién nacido, paciente desnutrido, pacientes infectados con VIH y personas con inmunodepresión) y 10 mm o más del diámetro transversal dependiendo del estado del paciente (8).

5. EPIDEMIOLOGÍA

M. tuberculosis se transmite de persona a persona por aire a partir de las vías respiratorias y su sitio inicial de infección es el pulmón. En el cuerpo, el bacilo reside principalmente dentro de las células del sistema reticuloendotelial. Otro medio de transmisión es la ingesta de leche no pasteurizada, contaminada con *M. bovis*, que en el hombre causa tuberculosis gastrointestinal (1).

Muchos son los factores asociados al desarrollo de esta enfermedad, mismos que a continuación se mencionan. Se le ha considerado como una patología de la pobreza, razón por la cual algunos países tienen entre sus estrategias para erradicarla el combate a la pobreza. El incremento de casos nuevos de tuberculosis se asocia con la epidemia de SIDA debido a la inmunidad celular disminuida; se ha observado que dicha coinfección es más frecuente en varones (9, 13).

Un grupo muy importante de población vulnerable son los trabajadores de la salud, por la exposición a pacientes tuberculosos. El 3.2% de nuevos casos durante 1993 en los Estados Unidos correspondieron a este sector (10). Un estudio en México reveló que el personal de enfermería tiene un elevado nivel de conocimientos acerca de la enfermedad, así como de las medidas de prevención y

⁷ Las siglas significan Derivado Proteico Purificado y es la proteína tuberculina derivada de cultivos del microorganismo, siendo este el antígeno empleado en la prueba cutánea de tuberculina.

manejo del paciente, independientemente de la escolaridad de éstos, pero existe confusión al momento de aplicar tales medidas, por lo que es importante reforzar los programas de capacitación al personal de salud (11).

La desnutrición es otro factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad, un estudio reveló una alta correlación entre un estado nutricional adecuado y una mayor sobrevida alcanzando una curación en un tiempo más corto (12).

A partir de los años 80 hubo un repunte en la incidencia de la tuberculosis a nivel mundial, y actualmente es la causa número uno de mortalidad por agentes infecciosos, con 3 millones de decesos anuales en el mundo (13). En 1993 la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró a la tuberculosis como una enfermedad emergente, por lo que poco después se propuso su tratamiento acortado estrictamente supervisado, el cual en el ámbito internacional se denominó como DOTS (Directly Observed Treatment, Short-course), y en México se conoce como TAES (8).

Un factor importante que ha contribuido a la reaparición de la tuberculosis, es la resistencia microbiana a antibióticos, dicho fenómeno se ha venido observando desde 1980 (14).

En tanto, en 1996 se registraron 3.8 millones de nuevos casos según la OMS. Esta organización estima que cerca de 8 millones de casos pueden presentarse en el mundo, y más del 95% de los casos aparecerán en países en vías de desarrollo (13).

A nivel mundial, durante 1999 la OMS registró 3,689,822 casos de tuberculosis siendo la tasa de incidencia de 62 casos por cada 100,000 habitantes; de éstos 1,485,783 (40% de lo estimado) fueron detectados mediante baciloscofia. De todos los datos reportados 1,679,086 (40%) de los casos fueron detectados bajo el esquema DOTS. La región con mayor incidencia de tuberculosis fue la Región Sudeste de Asia (SEAR) 41%, siguiéndole la Región Oeste Pacífico (WPR) 22%, Región Africana (AFR) 17%, Región Europea (EUR) 10%, Región Americana (AMR) 6% y Región Este Mediterráneo (EMR) 4% (15).

En el año 2000 se registraron 3,671,973 (42% de lo estimado) casos, de los cuales en el 23% de ellos se aplicó el DOTS y 1,529,806 (40% de lo estimado) de casos se detectaron por baciloscopia. La región con mayor incidencia de tuberculosis fue SEAR 38%, siguiéndole la WPR 22%, AFR 20%, EUR 10%, AMR 6% y EMR 4% (16).

En México en 1997⁸ hubo 23,575 casos de TB oficialmente reportados, con un índice de 25/100,000 habitantes, por otro lado la OMS estimó que en ese año se presentaron entre 10 y 99 pacientes de tuberculosis co-infectados con VIH por cada 100,000 habitantes (17). Durante 1998, en nuestro país se registraron 17,170 casos con una tasa de incidencia de 18.5 casos por cada 100,000 habitantes (17). De acuerdo con el INEGI en 1999 la tuberculosis se encontraba dentro de las primeras 20 causas de defunción en nuestro país, ocupando el décimo noveno lugar con 3229 muertes y una tasa de mortalidad del 3.3, lo que representó el 0.7% de defunciones de ese año (18), de 16,688 casos registrados con una incidencia de 16 casos por cada 100,000 habitantes (15), 15,853 fueron los casos registrados en nuestro país durante el año 2000, con una incidencia de 16 casos por cada 100,000 habitantes (16).

En el año 2001 hasta la semana 43, se registraron 12,250 casos de tuberculosis, siendo los estados de Veracruz, Chiapas y Baja California los más afectados (19). Hasta la semana 7 del 2002, se reportaron 1864 casos de tuberculosis, conservándose el mayor índice en los estados antes mencionados (20).

Por otro lado, un factor importante en el control de la tuberculosis es el éxito del tratamiento antituberculoso, mismo que periódicamente debe ser evaluado clínica, radiológica y bacteriológicamente con la finalidad de llevar un control adecuado de éste.

Como se mencionó, la mono y/o multi drogo-resistencia a antibióticos es uno de los factores que han contribuido de manera importante tanto a la emergencia como a la alta incidencia de la tuberculosis en el mundo. La cual frecuentemente es

⁸ Año en el que la OMS reconoce que el programa DOTS fue implementado (WHO, 1998).

el resultado de la acumulación de mutaciones en genes blanco de fármacos, aunado a la disminución de la permeabilidad de la pared celular de la micobacteria (21). El paciente con multi droga-resistencia tiene la posibilidad de recuperar la salud bajo esquemas de tratamientos antituberculosos estandarizados, lo que disminuye la posibilidad de fracaso terapéutico. Por esta razón es necesario disminuir la incidencia y la posibilidad de que los pacientes desarrollen multi droga-resistencia, mediante la adopción de estrategias como DOTS (22). Por otro lado, se sabe que las terapias combinadas con fármacos que posean mecanismos de acción diferentes son de mayor eficacia, pues se disminuye la probabilidad de desarrollar resistencia a antibióticos (23).

Existen pocos estudios sobre la droga-resistencia en México. El Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) determinó la resistencia a fármacos en el estado de Jalisco en 232 pacientes en el periodo de 1990 a 1993 reportaron una resistencia adquirida a isoniacida del 62.5%, 60.3% para rifampicina, 37.1% para estreptomina y 25.1% para etambutol (24).

En un estudio de la SSA y el IMSS en el periodo de enero-abril de 1997, se reportó que la resistencia primaria a fármacos de primera línea⁹ fue del 12% y la resistencia adquirida fue del 50 %. El 26% de los casos reportados fue resistente a uno o mas de los cinco fármacos, 18% de los casos fueron resistentes a isoniacida y el 6% de los casos presentaron multi droga-resistencia; cabe aclarar que en este estudio solo participaron los estados de Baja California, Oaxaca y Sinaloa (25).

Se han señalado diversos factores de riesgo para la droga-resistencia entre los que destacan: el antecedente de tratamiento con fármacos antituberculosos, el abandono social, el alcoholismo y la coinfección con VIH. Esta es más frecuente en: hombres jóvenes, pacientes en condiciones de desempleo, adictos a drogas intravenosas, minorías étnicas y con antecedente de hospitalización previa contigua a enfermos de tuberculosis (26). Por otro lado, un estudio realizado en Chiapas, reveló que los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de

⁹ Isoniacida, rifampicina, pirrazinamida, etambutol y estreptomina.

resistencia a fármacos antifímicos en ese estado fueron los abandonos del tratamiento, la monoterapia, el tiempo prolongado de evolución de la enfermedad y los multitratamientos, todos ellos asociados a un inadecuado o mal funcionamiento del programa de prevención y control de la enfermedad (27).

6. TRATAMIENTO

Después de que la tuberculosis fue declarada como una enfermedad emergente por la OMS en 1993, se diseñaron programas estratégicos para el control y prevención de la enfermedad a nivel mundial (28). En México a través de la SSA como parte del Programa de Micobacteriosis en su componente tuberculosis se emitió la NOM-006-SSA2-1993 Para la Prevención y Control de la Tuberculosis en la Atención Primaria a la Salud, la cual tuvo como finalidad uniformar los criterios que permitirían establecer los procedimientos adecuados para la prevención y control de la enfermedad. Esta norma fue modificada el 31 de octubre del 2000, donde se contempla el tratamiento bajo la estrategia TAES (Tratamiento Acortado Estrictamente Supervisado), mismo que es administrado por personal de salud o personal comunitario debidamente capacitado, el cual verificará la ingesta y deglución del medicamento a fin de garantizar el cumplimiento del tratamiento. En el esquema de tratamiento primario, se debe administrar durante 25 semanas hasta completar 105 dosis dividido en 2 etapas: fase intensiva 60 dosis diarias de lunes a sábado con Isoniacida (H), Rifampicina (R), Pirazinamida (Z), y Etambutol (E); y fase de sostén que son 45 dosis intermitentes 3 veces a la semana con HR, con fármacos en combinación fija o separada si el paciente pesa menos de 50 Kg; si se trata de tuberculosis del SNC, miliar (diseminada) u ósea, el tratamiento dura un año, donde la fase intensiva dura 2 meses y la del sostén 10 meses bajo el esquema anterior; si se trata de enfermos multitratados, fracasos terapéuticos con TAES, con baciloscopía positiva al cuarto mes de tratamiento, con dos baciloscopías positivas consecutivas después de un periodo de negativización o recaídas, se deben realizar estudios de sensibilidad a fármacos y confirmar la presencia de *M. tuberculosis*,

dichos casos serán evaluados por el comité estatal correspondiente quien definirá el esquema de tratamiento (8).

B. Medicina alternativa.

Los términos medicina complementaria y medicina alternativa son intercambiables en algunos países. Se refiere a la medicina tradicional practicada en un país, misma que en varias naciones no es reconocida por el sistema de salud oficial. En la medicina tradicional existe una amplia variedad de prácticas médicas que incluye medicinas a base de plantas, animales, y/o minerales; así como terapias espirituales, técnicas manuales y ejercicios, los cuales son aplicados solos o combinados para mantener la salud (29).

La OMS estima que más del 80 % de la población mundial emplea la medicina tradicional para tratar sus problemas de salud (30). En países como el nuestro, la medicina tradicional no está plenamente reconocida por los sistemas oficiales de salud, por lo que la OMS y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) han intentado apoyar y promover políticas dirigidas a la articulación de esta medicina con los diversos sistemas de salud. En México se ha estado trabajando en este asunto con importantes avances: en 1976 se reconoció a las parteras; en 1998 se encontraba en elaboración un permiso oficial para ejercer la medicina tradicional y el INI, IMSS y SSA integran y reconocen a los médicos tradicionales dentro de sus proyectos de investigación; además existen propuestas legislativas en el estado de Morelos y Chiapas (31). Cabe aclarar que durante el primer semestre del año 2002, se presentó la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos donde se reconoce la existencia de los medicamentos herbolarios diferenciándolos de los remedios herbolarios.

1. HERBOLARIA.

La medicina tradicional constituye un conjunto de conocimientos y prácticas generadas dentro de la población, transmitidos de generación en generación para

proporcionar bienestar entre la comunidad. El empleo de plantas como medicamentos se remonta a civilizaciones ancestrales desde Mesopotamia hasta nuestro días (32).

En el caso de Mesoamérica, antes de la conquista ya existía una medicina tradicional a base plantas. Posteriormente, con el descubrimiento del Nuevo Mundo llegó una medicina tradicional propia, y después de la conquista ambas medicinas se fusionaron durante el proceso de transculturación. Gran parte de dicha medicina tradicional a base de plantas medicinales quedó registrada en un documento llamado "*Libellus de medicinalibus indorum herbis*" mejor conocido como Código de la Cruz Badiano el cual persiste hasta nuestro días, al igual que nuestra medicina tradicional (33).

Actualmente las plantas continúan siendo empleadas en el tratamiento de diversos padecimientos, por lo cual en varios países se están realizando estudios químicos biodirigidos de dichas plantas, con lo cual los principios activos identificados pueden llegar a ser empleados en la clínica como productos naturales, o ser moléculas prototipos para la síntesis o semisíntesis de nuevos fármacos más efectivos y con menos efectos adversos (34).

En 1980 los estadounidenses gastaron más de 8000 millones de dólares en prescripciones que contenían principios activos procedentes de plantas medicinales (30).

En este sentido, la herbolaria se define como el arte de utilizar la flora con propiedades medicinales en el tratamiento de diversas afecciones, como una alternativa a la medicina alópata. Deriva de las creencias y prácticas que constituyen este sistema de medicina popular, el cual está asociado de manera estrecha con la historia, las tradiciones y la vida de un grupo social.

Las plantas medicinales deben su acción terapéutica a su composición química. Los compuestos responsables de la actividad biológica son sólo unos cuantos.

Los compuestos activos son metabolitos derivados del metabolismo secundario de las especies vegetales, los cuales pueden derivar de la ruta acetato malonato, acetato mevalonato o ácido sikímico. De la primera provienen las antraquinonas y diversos compuestos aromáticos; de la segunda, los triterpenos y los esteroides; y de la tercera derivan los flavonoides algunos taninos así como de bloques aromáticos de la lignina, los aminoácidos y alcaloides (35).

Hasta ahora pocas especies vegetales empleadas han sido evaluadas científicamente con la finalidad de llegar a ser empleadas en la práctica médica. Así mismo de pocas plantas se conoce su seguridad y eficacia, sus principios activos y las preparaciones que los contienen. (36)

Las plantas medicinales pueden ser empleadas de diversas maneras, entre las que destacan (37):

- Cocimiento (hervir la planta 10 minutos, retirar del fuego y reposar otros 10).
- Infusión (calentar agua y cuando suelte el hervor agregarla a un recipiente que contenga la planta, reposar 5 minutos).
- Maceración
- Jarabe
- Tintura

C. Ensayos biológicos para determinar la sensibilidad de cepas de *Mycobacterium* a diversos agentes.

Existen diferentes métodos que permiten evaluar la actividad de sustancias bactericidas y/o bacteriostáticas sobre microorganismos del género *Mycobacteria*, entre los cuales destacan las siguientes:

1. MÉTODO DE PROPORCIONES

Se realizan diluciones sucesivas del inóculo a partir de un cultivo estándar, y el microorganismo es sembrado sobre un medio agar con o sin fármaco, los resultados se obtienen alrededor de tres semanas después de la inoculación, los cuales son expresados como sensible, parcialmente resistente y resistente, en función del número de colonias que crecieron en un cultivo control sin sustancia de prueba; si el número de colonias en el cultivo de prueba es menor al 1% que en el control se reporta como sensible, si está entre el 1 y 10 % con respecto al control el resultado es parcialmente resistente, y si es mayor al 10 % la cepa es resistente a la sustancia de prueba (38).

2. MÉTODO RADIORESPIROMÉTRICO

Este se realiza empleando el Sistema BACTEC 460 basándose en el método de proporciones donde se detecta el crecimiento de las micobacterias empleando un sustrato metabólico marcado isotópicamente con ^{14}C (ácido palmítico-1- ^{14}C); la presencia del metabolito $^{14}\text{CO}_2$ libre es indicativo de actividad celular y este es cuantificado por el sistema BACTEC por encima del medio de cultivo en un sistema cerrado; la ausencia de este metabolito indica la inhibición del crecimiento por diversos agentes. Es un método rápido y un estándar de oro para la evaluación de compuestos con actividad antimicobacteriana, presenta una correlación del 93 % con respecto al método de Alamar-azul (39).

3. MÉTODO COLORIMÉTRICO MTT.

Este ensayo emplea el colorante 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenilbromuro de tetrazolio (MTT), el cual actúa como indicador de viabilidad celular. Esta sal de tetrazolio vira de amarillo a azul, convirtiéndose en formazán cuya concentración es directamente proporcional al número de células vivas; esta transformación se debe a la actividad de la enzima deshidrogenasa. El periodo de incubación en este método es de 7 a 14 días, y presenta las ventajas de ser rápido, económico y cuantitativo, además de tener una correlación del 100 % con respecto al método de proporciones (40, 41).

4. MICROMÉTODO COLORIMÉTRICO DE ALAMAR-AZUL.

Tiene una correlación aceptable respecto al método de proporciones en agar. Se basa en la utilización de un colorante redox (rezarsurina), mismo que es utilizado para determinar la viabilidad y/o crecimiento celular, este vira a color rosa (estado reducido) como respuesta a la actividad metabólica de la enzima deshidrogenasa del microorganismo, y en ausencia de metabolismo celular permanece azul (estado oxidado). Este método tiene la ventaja de ser cuantitativo, no radiométrico, reproducible rápido y económico pues no requiere de equipo especial. Los resultados están disponibles entre 7 y 14 días de incubación. Presenta un correlación del 97 % con respecto al método de proporciones (38).

5. ENSAYO POR BIOLUMINISCENCIA.

Este es un ensayo exacto, cuantitativo y poco laborioso. Para ello se emplean cepas recombinantes de *M. bovis* BCG (Bacillus Calmette-Guérin) y *M. intracellulare* expresando firefly luciferasa. La luciferasa es una sustancia capaz de inhibir el crecimiento de las micobacterias el cual se detecta por un decremento en la luminiscencia (42).

Finalmente, dada la importancia que ha cobrado en los últimos años la tuberculosis como un problema de salud pública en el ámbito nacional e internacional; se hace necesaria la búsqueda de nuevos fármacos antituberculosos.

En este sentido, durante los últimos años, diversos grupos de investigación han trabajado con la herbolaria de diversas regiones del mundo en la búsqueda de nuevas moléculas con actividad antimicobacteriana.

Por lo que se plantea como necesario hacer una revisión sistemática sobre los productos naturales que hayan demostrado tener actividad sobre diferentes micobacterias causantes de tuberculosis, con la finalidad de que otros investigadores aprovechen de mejor manera la información en el diseño de nuevos medicamentos.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La tuberculosis está considerada actualmente como una enfermedad emergente en el mundo. En México, esta enfermedad se encuentra dentro de las primeras 20 causas de mortalidad y es uno de los países donde la tuberculosis ha presentado una mayor incidencia en los últimos años, por lo cual se ha convertido en un problema de salud pública, lo que hace necesario contar con programas efectivos de prevención, control y tratamiento; este último rubro se torna difícil por la presencia de cepas resistentes o multidrogoresistentes ya sea primaria o adquirida a fármacos, tanto de primera como de segunda línea, lo que eleva los costos del tratamiento tanto para el paciente como para la institución tratante (pues no siempre ésta cuenta con ellos), al tener que prescribir medicamentos más caros, más potentes y con mayores efectos adversos.

En este contexto, surge la necesidad de buscar nuevos fármacos más potentes y con menos efectos adversos. Bajo esta premisa se reconoció a la herbolaria como una fuente económica y al mismo tiempo potencial de sustancias farmacológicamente activas contra *M. tuberculosis*, misma que en nuestro país ha sido poco explotada, por lo cual los principios activos aislados de plantas pueden ser propuestos como tratamientos complementarios que coadyuven al control de la tuberculosis, para ello es necesario llevar a cabo una revisión sistemática de la información científica acerca de la actividad biológica de las moléculas que han resultado activas contra *M. tuberculosis*, aisladas de diferentes especies vegetales usadas en la medicina tradicional.

Así mismo, las especies vegetales que han sido estudiadas en la búsqueda de nuevas moléculas con actividad antituberculosa, son endémicas en diversas regiones del mundo, por lo anterior las preguntas a resolver serían ¿cómo organizar la información científica sobre los nuevos principios activos con

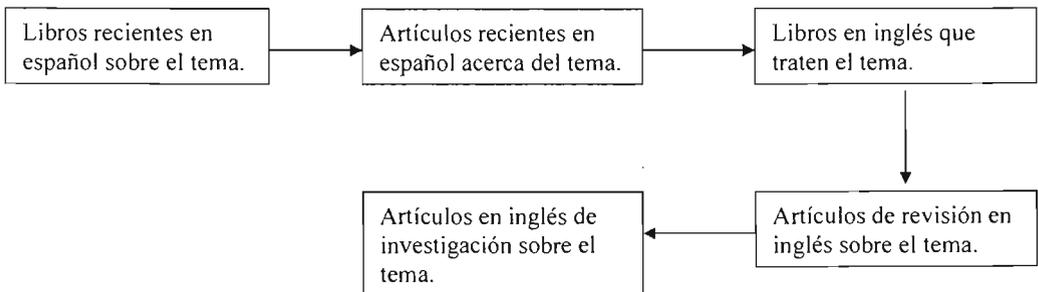
actividad antituberculosa? y conocer ¿cuáles son las moléculas con mayor actividad farmacológica?

III. OBJETIVO

- Realizar una revisión sistemática de los principios farmacológicamente activos aislados de plantas medicinales con actividad antimicrobacteriana, empleando textos científicos para reunir, confrontar y organizar la información relevante sobre el tema en un solo documento.

IV. METODOLOGÍA

La revisión sistemática se realizó empleando la ruta crítica de la búsqueda de información, misma que se llevó a cabo en:



El documento consultado en español fue:

- Boletín de la Dirección General de Epidemiología

Posterior se utilizó la base de datos Pubmed (med-line), encontrando artículos en las siguientes revistas:

- Respiration.
- Planta Medica.
- Journal of Natural Products.

- Antimicrobial Agents in Chemoteraphy.
- Phytochemistry.
- Phytotherapy Research.
- Journal of the American Medical Association.
- American Journal of Epidemiology.
- Phytomedicine.
- Journal of Clinical Microbiology.
- International Journal of Tubercle Lung Disease.
- American Review of Respiration Diseases.

Adicionalmente se encontró el boletín anual sobre tuberculosis que edita la OMS.

- Reporte Anual de Tuberculosis de la WHO

Los artículos incluidos en la presente revisión reportaron estudios realizados entre enero de 1995 hasta julio de 2002; los criterios de inclusión y exclusión de artículos fueron los siguientes: los documentos deben contener estudios de productos naturales o de sus derivados que hayan sido aislados, caracterizados y evaluados biológicamente *in vitro* contra alguna cepa del genero *Mycobacterium* causante de tuberculosis. Así mismo se descartaron artículos que documenten la evaluación biológica *in vitro* de extractos orgánicos crudos o de alguna fracción cromatográfica.

V. RESULTADOS

Se realizó una búsqueda documental de los últimos 7 años acerca de las plantas medicinales y los principios activos aislados a partir de éstas, mismos que fueron evaluados contra cepas de *M. tuberculosis*. En dicha revisión se encontraron algunos artículos que reportaron la evaluación de principios activos y otros donde se evaluó la relación estructura-actividad.

1. PRINCIPIOS ACTIVOS

En la tabla 1 se muestran los principios activos que han sido aislados a partir de plantas de diversas partes del mundo, así como su concentración mínima inhibitoria (CMI).

TABLA 1: Principios activos antituberculosos de origen natural.

ESPECIE	LUGAR DE COLECTA	PRINCIPIO ACTIVO	CMI $\mu\text{g/mL}$	CEPA DE PRUEBA	MEDIO Y MÉTODO EMPLEADO	REFERENCIA
<i>Combretum molle</i> Engl & Diels (Combretaceae)	Etiopía	Punicalagina, tanino				
		formado por dos triterpenos glicosilados	600 ¹⁰	<i>M. tuberculosis</i> (ATCC 27294)	Proporciones en medio LJ ¹¹	43
<i>Lessonia nigrescens</i> (Phaeophyta, Laminariales)	Chile	Saringosterol ¹² y por semi-síntesis se obtuvieron los isómeros 24S y 24R	1 y 0.125	<i>M. tuberculosis</i> H37Rv	Radiorespirométrico	44
<i>Buddleja cordata</i> subespecie cordata (Loganiaceae)	México	2(4'-hidroxifenil)-etil lignocerato	64	<i>M. tuberculosis</i> H37Rv	Radiorespirométrico	45
<i>Melia volkensii</i> ¹² (Meliaceae)	Kenia	12 β -hidroxikulactona, 6 β -hidroxikulactona y el kulonato ¹⁴	16, 4 y 16	<i>M. tuberculosis</i> H37Rv	Radiorespirométrico en medio Bactec 12B	46

¹⁰ Concentración a la que inhibió totalmente el crecimiento de *M. tuberculosis*.

¹¹ Medio cultivo Löwnstein-Jensen.

¹² Un fitoesterol que por la baja toxicidad que demostró, podría proponerse como molécula prototipo en la búsqueda de fármacos antituberculosos.

TABLA 1: (continuación).

ESPECIE	LUGAR DE COLECTA	PRINCIPIO ACTIVO	CMI µg/mL	CEPA DE PRUEBA	MEDIO Y MÉTODO EMPLEADO	REFERENCIA
<i>Colubrina retusa</i> Ditter (Rhamnaceae)	Venezuela	3-O-α-L-arabinofuranosil (1→2)-[2-O-(trans,cis)-p-cumaroil-β-D-glucopiranosil (1→3)]-α-L-arabinopiranosida	50 y 10	<i>M. intracellulare</i> (ATCC 23068)	Proporciones en medio LJ	47
		y 3-O-α-L-arabinofuranosil (1→2)-[3-O-(trans)-p-cumaroil-β-D-glucopiranosil (1→3)]-α-L-arabinopiranosida ¹³				
<i>Juniperus excelsa</i> (Cupressaceae)	Arabia	Ácido juniperexcelsico, ácido	14.4,	<i>M. tuberculosis</i> H37Rv	Difusión en disco en medio 7H9 middlebrook.	48
	Saudita	sandracopimarico y el esclareol ¹⁶	15.0 y 6.0			
<i>Solanum sodomaeum</i> L. (Solanaceae)	Libia	Solsodomino A ¹⁷	10	<i>M. intracellulare</i>		49
<i>Férula communis</i> Linn. (Umbelliferae)	Arabia	Ferulenol, fercromono	1.25	<i>M. intracellulare</i> , <i>M. xenopei</i> , <i>M. chelonae</i> y <i>M. smegmatis</i> . ¹⁸	Difusión en agar	50
	Saudita	y acetato de ferulenol	5.0.			
<i>Hydrastis canadensis</i> (Ranunculaceae)	USA	Berberina ¹⁹	25 200 200	<i>M. smegmatis</i> rBCG <i>rM. intracellulare</i>	Radiospirométrico Bioluminiscencia	51

¹³ Especie que en México se encuentra ampliamente distribuida.

¹⁴ Todos son triterpenos, pero los dos primeros compuestos son nuevas moléculas.

¹⁵ Saponinas del tipo jujubogenina

¹⁶ Tres diterpenos, de los cuales el primero es una molécula nueva; cuyo nombre IUPAC es ácido 3α-acetoxi-labda-8(17),13(16),14-trien-19-oico.

¹⁷ Dentro de esta especie nunca se habían encontrado alcaloides pirrólicos, los aislados son nuevas moléculas.

¹⁸ La CMI para estos diterpenos fue la misma para todos los microorganismos ensayados.

¹⁹ Es un alcaloide.

TABLA 1: (continuación).

ESPECIE	LUGAR DE COLECTA	PRINCIPIO ACTIVO	CMI $\mu\text{g/mL}$	CEPA DE PRUEBA	MEDIO Y MÉTODO EMPLEADO	REFERENCIA
<i>Azorella madreporica</i> Clos. (Apiaceae)	Chile	9,12-ciclomulin-13-ol mezcla ²⁰ idem mas mulin-9(10),12(13)- dieno	20 20	<i>M. tuberculosis</i> H37Rv	Radiorespirométrico	52
<i>Oplopanax horridus</i> Smith Miq. (Araliaceae)	Norte América	Falcarindiol, Oplopandiol, 9,17-Octadecadien- 12,14-dyne-1,11,16- triol, 1-acetato, Oplopandiol acetate ²¹ ,	10/ disco	<i>M. tuberculosis</i> <i>M. avium</i>	Difusión en disco	53
<i>Salvia multicaulis</i> Vahl. (Labiatae)	Turquía	12-Dimetilmulticaulin 2- Dimetilmultiortoquino na 12-Metil-5- dihidrohorminona 12-Metil-5- dihydroacetilhorminon a	0.46 1.2 1.2 0.89	<i>M. tuberculosis</i> H37Rv	Difusión en disco	54
<i>Juniperus procera</i> Hochst. Ex Endl (Cupressaceae)	Arabia Saudita	7 β -Hydroxiabieta-8,13- dien-11,12-diona (+)-ferunginol (+)-tatarol	1.25 5 2.5	<i>M. intracellulare</i> , <i>M. xenopei</i> , <i>M.</i> <i>chelonei</i> y <i>M.</i> <i>smegmatis</i>	Difusión en agar Muller-Hinton	55

2. RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD

Se ha observado de manera general que los productos naturales con actividad antituberculosa son de naturaleza triterpenoide, entre ellos destacan los monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, esteroides así como los derivados y análogos del fitol.

²⁰ Se encuentra en mayor proporción el segundo componente, el cual es producto de descomposición del primero por lo que los autores sugieren que la actividad se deba muy probablemente al producto de descomposición.

²¹ El compuesto Oplondiol y su acetato son compuestos nuevos.

Los monoterpenos, fueron activos con una CMI entre 64 y 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Los datos sugieren que aunque éstos poseen un doble enlace en el carbono 2; este influye poco sobre la actividad, siendo más importante el carácter lipofílico. Por otro lado en el caso del fitol y sus derivados y análogos, se vio que la estereoquímica juega un factor importante; además, se observó una correlación entre la alta actividad y un alto valor del log P.

En el caso de los sesquiterpenos activos, mismos que presentaron una CMI en un rango variable, el factor más importante para que dichas moléculas fueran activas fue el carácter lipofílico de las mismas, que va de moderado a alto. Aunque hubo una amplia diversidad de moléculas y núcleos sesquiterpénicos, el tipo de sustituyentes jugaron un papel no menos importante en la actividad observada de éstas.

Un número limitado de diterpenos han sido activos contra cepas de micobacterias, los cuales contienen un sustituyente metoxy o acetato en el carbono 2 ó doce, con lo que los autores relacionan la actividad.

Los triterpenos y esteroides activos contra *M. tuberculosis* han sido varios, en la mayoría de ellos se ha descrito una relación importante entre la presencia de un grupo hidroxilo en el carbono 3 u otros sustituyentes en éste, los cuales pueden ser de diversa naturaleza. Sin embargo, dada la variedad de dichos sustituyentes es difícil predecir los requerimientos estructurales para la actividad antimicobacteriana. En general, se vio que una serie de compuestos lipofílicos son significativamente más activos que sus análogos polares (56).

Del extracto $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ de *Juniella tridens* (especie colectada en Argentina), se aislaron tres nuevos compuestos con núcleo oleanano (evaluados por el método radiorespirométrico), que fueron activos contra una cepa de *M. tuberculosis* H37Rv además de otros cuatro compuestos activos también cuyos resultados se muestran en la siguiente tabla.

TABLA 2: Ensayo biológico de compuestos aislados de *J. tridens*.

COMPUESTO	CMI ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
Ácido oleanolico	50
Ácido oleanonico	16
Ácido 3-epioleanolico	16
Ácido 3,4-sec-olean-12-ene-3,28-dioico	128
3 α -hidroxiolean-11-en-28,13 β -olido	64
Ácido 3 α -hidroxioleana-11:13(18)-dien-28-oico	64
Ácido epibetulinico	50

Los más activos son el segundo y tercer compuesto, la actividad se debe a la baja polaridad de estos, característica que les permite atravesar rápidamente la pared de las micobacterias (57).

A partir de derivados semisintéticos de un esqueleto base de benzo(c)feantridina (compuestos frecuentemente encontrado en especies de las familias Papavaraceae y Rutaceae), se determinó la actividad contra una cepa de *M. tuberculosis* H37Rv por el método radiorespirométrico, la CMI para estos compuestos estuvo alrededor de 12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Por otro lado se observó que las funciones alcoxi en los anillos A y D del núcleo base juegan un importante papel en la actividad antituberculosa; cabe señalar que el núcleo base por si solo resultó totalmente inactivo (58).

De *Galipea officinalis* se aislaron diversas quinolinas de las cuales tres presentaron una mayor actividad contra cepas de *M. tuberculosis* de aislados clínicos. Dichas quinolinas fueron la cusparina, la galipina y el 4-metoxi-2n-pentilquinoleina las cuales, en la posición 4 presentaron un grupo metoxi y dicho anillo fue aromático, lo que sugiere que la aromaticidad y la presencia de este grupo en dicho anillo son importantes para mejorar la actividad antituberculosa, pues a diferencia de las otras quinolinas aisladas que no presentaron dichas características, su actividad se vio disminuida (59).

En el caso de *Ajuja remota* (colectada en Kenia), el compuesto ergosterol-5,8-endoperoxido (CMI=1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y su derivado 3-acetoxi (CMI=8 $\mu\text{g}/\text{mL}$), fueron de

los compuestos aislados los que presentaron mejor actividad. La presencia del grupo acetoxi en el carbono 3 en el derivado disminuyó la actividad, aunado a esto los otros ergosteroles aislados tenían poca actividad (o bien no eran activos) y carecían del grupo endoperóxido lo que indica que dichos grupos son necesarios para la actividad buscada (60).

De dos plantas empleadas por nativos de Norteamérica se aislaron diversos eudesmanólidos algunos activos contra *M. tuberculosis* los cuales fueron evaluados mediante el método radiorespirométrico (tabla 3).

TABLA 3: Evaluación biológica de plantas de origen norteamericano.

COMPUESTO	ORIGEN	CMI ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
a. Alantolactona	<i>Inula helenium</i>	32
b. Isoalantolactona	<i>Inula helenium</i>	32
3. Encelino	Ambas plantas	16
c. 1,2-dehidro-3-epiisotelequina	Ambas plantas	32
d. Aloalantolactona	<i>Rudbeckia subtomentosa</i>	32
4 α -15-epoxido	Derivado de b	32
5 α -epoxialantolactona	Derivado de a	8

En cuanto a la relación estructura-actividad es necesaria la presencia de un grupo carbonilo α,β -insaturado o una función epóxido en el segundo sitio alquilado, junto con un moderado a alto carácter lipofílico necesario para la actividad de las sesquiterpenlactonas. Por otro lado, se observó la influencia en la actividad, de la distancia entre sitios alquilados y la estereoquímica del metileno de la lactona y el epóxido (61).

Se evaluaron los 6-, 8-, y 10- gingerol (los cuales fueron aislados de *Zingiber officinale*) contra cepas de *M. tuberculosis* y *M. avium* por el método radiorespirométrico, los resultados obtenidos se presentan en la tabla 4:

TABLA 4: Concentración Mínima Inhibitoria para moléculas aisladas de *Z. officinale*.

COMPUESTO	CMI (µg/mL)	
	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. avium</i>
10-gingerol	50	25
8-gingerol	50	50
6-gingerol	>100	>100

En estos compuestos se vio una marcada relación entre el carácter lipofílico de las moléculas y la actividad contra *M. avium*, ya que el carácter lipofílico se incrementa del 6-gingerol al 10-gingerol (62).

De diversos germacranólidos aislados de *Borrhichia frutescens* así como de algunos de sus derivados se realizó la evaluación antimicobacteriana por el método radiorespirométrico. En este tipo de compuestos la relación estructura-actividad sugiere que el grupo α -metilen- γ -lactona (favorece el carácter lipofílico de la molécula) es necesario, pero no suficiente para una considerable actividad, y la presencia de un segundo sitio de alquilación dentro de la sesquiterpenlactona junto con una moderada lipoficidad es importante para aumentar la actividad antimicobacteriana *in vitro*. Los resultados de la evaluación se resumen a continuación (tabla 5).

TABLA 5: Actividad de germacranolidos aislados de *B. frutescens* (63).

COMPUESTO	CMI (µg/mL)	
	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. avium</i>
Constunólida	32	128
Partenólida	16	64
1,10-Epoxiconstunólidao	64	128
Santamarina	64	>128
Reinosina	64	>128

A partir de los triterpenos aislados de esta especie se buscaron diversos derivados con mejor actividad, encontrando una serie de diversos sesquiterpenlactonas de tipo guaianólidos, siendo el más activo el producto de

oxidación de la dehidroconstulactona del ácido *m*-cloroperoxibenzoico con una CMI de 2 µg/mL. Se encontró que la actividad esta más determinada por el carácter lipofílico, pues la presencia de un grupo hidroxilo en diferentes posiciones del núcleo base reduce significativamente la actividad antimicobacteriana al incrementar la polaridad de las moléculas (64). Se aislaron dos nuevos triterpenos el (24*R*)-24,25-Epoxicicloartan-3-ona y el (23*R*)-3-Oxolanosta-8,24-dien-23-ol; el (3β,24*R*)-24,25-Epoxicicloartan-3-ol, así como el ácido fusídico cuya CMI es 8, 64-128, 8, 4 µg/mL respectivamente. La actividad de estos compuestos correlaciona con la presencia del grupo carbonilo en el C-3 y/o grupo β-hidroxi en el anillo ciclopropano y el epóxido presente en el primer y tercer compuesto (65).

A partir de la triptantrina encontrada en *Strobilanthes cusia* (CMI para *M. tuberculosis* igual a 1 mg/L), se prepararon diversos derivados y al analizar la relación estructura-actividad se encontró que el grupo carbonilo en el C-6 es esencial para la actividad, diversos sustituyentes en el anillo D no afectaron la actividad antituberculosa; finalmente los derivados de la triptantrina fueron tan activos como esta en un rango de 0.008 hasta 8.0 mg/L (66). Otros derivados indicaron que tanto de la presencia del grupo carbonilo en el C-6, como el doble enlace en el C-5 son esenciales para la actividad antituberculosa; y la reducción de la molécula disminuye considerablemente la actividad (67).

Se aislaron diferentes ésteres y lactonas de matricaria de diferentes especies de la familia Asteraceae, siendo el compuesto más activo el 4*Z*,8*Z*-éster de matricaria, cuya CMI fue de 12.5 µg/mL contra *M. tuberculosis* H37Rv, empleando el método radiorespirométrico. No se conoce el mecanismo de acción de éste, sin embargo, la actividad de este tipo de compuestos correlaciona con su carácter lipofílico; que en este caso es moderada (68).

Por otro lado se encontró que han evaluado compuestos aislados de diversos organismos marinos, encontrando una moderada actividad antimicobacteriana en 9 de estos compuestos, además también se verificó la actividad citotóxica de los compuestos aislados (tabla 6).

TABLA 6: Actividad antimicobacteriana de moléculas asiladas de organismos marinos:

NOMBRE	ORIGEN	CMI ($\mu\text{g/mL}$)		CITOTOXICIDAD (CI_{50} $\mu\text{g/mL}$) v.s. CELULAS ASEASINAS B
		<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. avium</i>	
Elatol	<i>Laurencia rigida</i> (Rhodophycota,	32	No probado	No probado
Descloroelato	Rhodomelaceae)		8	
Alolaurinterol	<i>Laurencia obtusa</i> (Rhodophycota, Rhodomelaceae)	16	No probado	No probado
Muegelona	<i>Plocanium cartilagineum</i> (Cyanophycota, Nostocaceae)	8	No probado	No probado
Ambigol C	En 2 especies de (Porifera, Axinellidae)	8	No probado	>20
Diisocianoadocieno	<i>Cymbastela hooperi</i> (Porifera, Axinellidae)	4-8		14.5
Axisonitrilo-3	<i>Acanthela klethra</i> (Porifera, Axinellidae)	2	No probado	15.2
Ácido usnico	<i>Lecanora muralis</i>	16		13.0
Hopano-6a-22-diol- zeroína	(Lichen, Lecanoraceae)		No probado	
		8		>20

Se consideraron compuestos con significativa actividad citotóxica aquellos con una CI_{50} $\mu\text{g/mL}$, menor a 20. De los cuales, algunos tuvieron una CMI $\mu\text{g/mL}$ contra *M. tuberculosis* menor a 16, lo que sugiere que dicha actividad antimicobacteriana tiene origen en la actividad citotóxica de dichos compuestos. Por otro lado algunos compuestos con un grupo isonitrilo en su estructura y compuestos que presentan funciones oxigenadas -hidroxi, epoxi y ciclopropilo- en especial grupos hidroxi, tienen una importante actividad antimicobacteriana pero no presentan actividad citotóxica, lo que sugiere que estos grupos juegan un papel importante en la actividad antituberculosa observada (69).

VI. ANÁLISIS DE RESULTADOS

La alta incidencia a nivel mundial de la tuberculosis es sólo una parte de los problemas alrededor de dicha enfermedad, lo cual se debe en parte a que no todos los países aceptan el programa DOTS y en algunos de los países donde ya se ha implementado el DOTS no se está aplicando al 100%. Lo cual tiene implicaciones tanto médicas como económicas; la mono o la multi drogo-resistencia de *M. tuberculosis* a fármacos tanto de primera (con alta incidencia en nuestro país) como de segunda línea han elevado el costo de los tratamientos.

Los datos encontrados indican que en general el éxito del tratamiento en el ámbito mundial es alto; sin embargo, los fracasos terapéuticos probablemente se deban a la drogo-resistencia que presenta el microorganismo a los fármacos misma que existe a nivel nacional y mundial. Los estudios indican que la resistencia inicial es baja, pero existe un repunte en la resistencia adquirida. Esta última probablemente esté íntimamente relacionada con la falta de adherencia terapéutica o bien al abandono del tratamiento, debido a la largo y tediosos de éste ⁽²⁷⁾.

Por otro lado, son pocos los grupos de investigación que recientemente han abordado esta problemática desde la medicina tradicional. En la revisión realizada, se incluyó un total de 27 artículos conteniendo estudios de los principios activos aislados de plantas empleadas en la medicina tradicional en diversas regiones del mundo con actividad antituberculosa que han sido caracterizados o bien que tratan la relación estructura-actividad de estos.

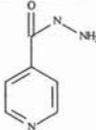
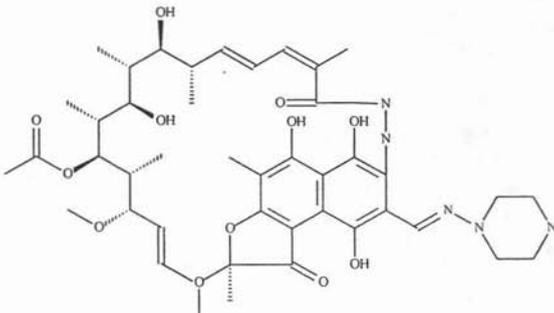
Dentro de los principios activos descritos en dichos artículos destacan las moléculas de naturaleza triterpénica ^(43, 44, 46, 48, 50, 53, 56, 57, 60, 61, 62, 64, 66, 67), mismas que en general son de baja o mediana polaridad, aunque también se han encontrado alcaloides pirrólicos que son activos ⁽⁴⁹⁾. Está documentado que los aceites esenciales, compuestos generalmente por mezclas de monoterpenos, -los cuales

están dentro de este grupo de compuestos-, poseen importante actividad antibacteriana.

La actividad biológica de los compuestos descritos varía desde 0.008 $\mu\text{g}/\text{mL}$ hasta 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$. La concentración en la que un autor deje de considerar como activo a un compuesto es variable, pero algunos señalan que hasta 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ el compuesto es activo y por arriba de esta se considera inactivo.

La actividad de los fármacos empleados en el tratamiento de la tuberculosis varía en un rango de entre 0.5 a 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (tabla 7).

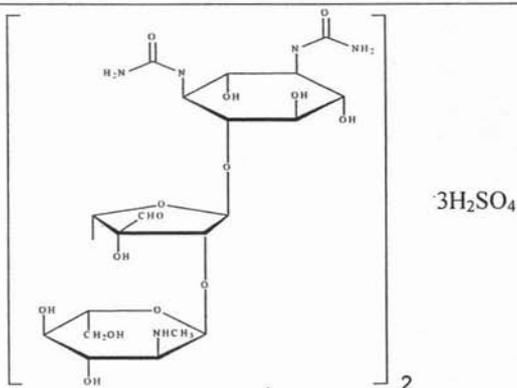
TABLA 7: Actividad biológica reportada para los fármacos de elección.

FÁRMACO	CMI ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	ESTRUCTURA
Agentes de primera línea		
Isoniacida	0.05	
Rifampicina	0.25	

FÁRMACO	CMI (µg/mL)	ESTRUCTURA
---------	-------------	------------

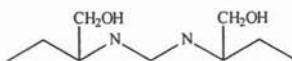
treptomina

2.0



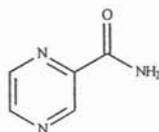
Etambutol

3.8



Pirazinamida

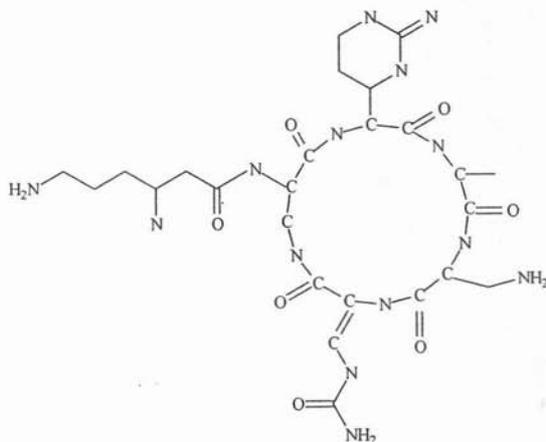
100

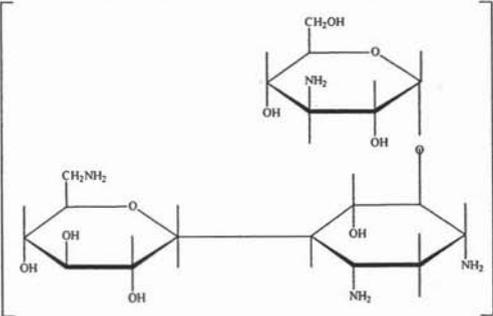
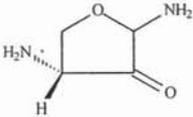
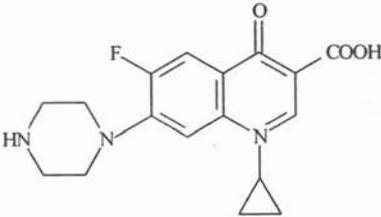
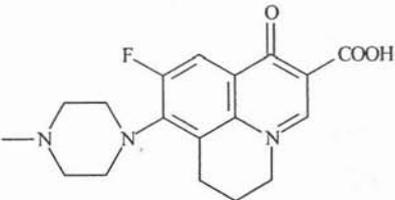


Agentes de segunda línea

Capreomicina

2.0

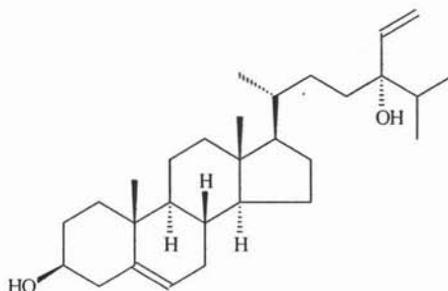


FÁRMACO	CMI (µg/mL)	ESTRUCTURA
Kanamicina	1.5	
Cicloserina	14	
Ciprofloxacina	0.15	
Ofloxacina	1.0	

En este sentido, la molécula de saringosterol (figura 1) se ha considerado como una estructura prototipo para desarrollar nuevos fármacos con actividad antituberculosa que sean más activos, específicos y poco tóxicos; ya que ésta es tan

activa como la rifampicina (0.25 mg/mL) y menos tóxica, pues su índice de citotoxicidad media (IC50), es > 128 mg/mL, lo que significa que la dosis terapéutica se puede mover en un rango más amplio de concentración sin alcanzar la dosis tóxica (44).

Figura 1: Estructura del saringosterol.



Al comparar dicha actividad contra los principios activos objeto de este estudio, se observa que los productos naturales pueden ser tan activos como los fármacos de elección; lo que alenta a seguir investigando sobre este campo. Sin embargo, es importante aclarar que de los fármacos de elección se conoce con exactitud el mecanismo de acción y el de los productos naturales aislados se desconoce.

Así mismo, se puede observar que entre las estructuras del saringosterol y los fármacos de elección y los de segunda línea no existe similitud alguna; por ende los mecanismos de acción podrían ser completamente diferentes, así como su relación estructura actividad.

En cuanto a la relación estructura-actividad, la mayoría de los autores destacan la importancia de que las moléculas posean un alto carácter lipofílico, pues a mayor carácter lipofílico mayor actividad (63, 64, 68); esta relación estructura-actividad se observa claramente en los compuestos aislados de *Z. Officinale* donde el carácter lipofílico se incrementa del 6-gingerol al 10-gingerol y la actividad antimicrobacteriana disminuye en sentido inverso -ver tabla 4-(62). Por otro lado, el logaritmo P -carácter lipofílico-, es directamente proporcional a la CMI de las moléculas, reforzando la necesidad de que las moléculas tengan un carácter

lipofílico de moderado a alto para que sean activas ⁽⁵⁶⁾. La razón por la que las moléculas deban ser lipofílicas, es que al ser poco polares son más liposolubles, lo que permite que las moléculas atraviesen rápidamente la pared celular de las micobacterias al ser ricas en lípidos ⁽⁵⁷⁾.

En este sentido, la teoría farmacocinética indica que para que un fármaco sea absorbido, debe encontrarse en su forma no ionizada (es la forma liposoluble de un fármaco; su concentración es función del pK_a y su liposolubilidad y por tanto también del pH del medio). Sin embargo, el coeficiente de partición de una sustancia, es más importante que su solubilidad, es decir, una liposolubilidad elevada no favorece la absorción de la misma, a menos que la solubilidad en agua sea lo suficientemente grande como para que una fracción de fármaco no ionizado permanezca en está; lo anterior se relaciona con el hecho de que el líquido tanto extracelular como intracelular sea de tipo acuoso. Esto, parece ser una de las limitantes más fuertes en cuanto al diseño de un medicamento a partir de un producto natural se refiere; por lo cual en ocasiones se hace necesario modificar la estructura de la molécula a fin de mejorar su absorción tomando como marco de referencia el pK_a y su liposolubilidad.

Por otro lado, hay una gran diversidad de núcleos triterpénicos y diversos sustituyentes, en muchos de los casos se habla de funciones oxigenadas que en posiciones determinadas en un triterpeno correlaciona con una importante actividad antimicobacteriana ⁽⁶⁵⁾, entre los que destacan los siguiente: la presencia del grupo carbonilo -aldehído-, en diferentes posiciones correlaciona con una buena actividad, pues se ha visto que la reducción de dichas moléculas disminuye considerablemente la actividad ^(49, 66, 67); el radical hidroxilo, así como, la presencia de un grupo éster o de dobles y triples enlaces carbono-carbono en diferentes posiciones favorece la actividad antimicobacteriana de las moléculas ^(53, 69); la presencia de un grupo acetoxi en determinadas posiciones favorece la actividad y la ausencia de éste disminuye la misma, así mismo, se destaca la importancia de la estereoquímica y la distancia entre los sustituyentes en la actividad, ^(56, 60, 61); entre

otros grupos se encuentran los radicales epoxi y alcoxi, su presencia en diversos anillos del núcleo triterpénico proporcionan una actividad importante, misma que contrasta con la inactividad del esqueleto por si solo ⁽⁵⁸⁾. Todo lo anterior sugiere que el oxígeno podría estar jugando un papel importante en la actividad de las moléculas. Por otro lado, la molécula de pantenólido que presenta 2 sitios de alquilación es más activa frente a micobacterias que aquellas que presentan 1 solo sitio de alquilación; lo cual significa que entre más sitios de alquilación tenga una molécula triterpénica, mayor actividad antimicobacteriana tendrá ^(61,63).

En el caso de la mayoría de los compuestos aislados de organismos marinos, la actividad depende de la citotoxicidad de las moléculas; sin embargo la presencia de grupos isonitrilo, hidroxilo, epoxi y ciclopropilo en moléculas muy activas y poco citotóxicas refuerza la idea de que el oxígeno presente en la estructura de una sustancia, sea necesario para que dicha molécula tenga actividad antimicobacteriana ⁽⁶⁹⁾.

Finalmente, los estudios hasta ahora realizados, se han situado en la fase preclínica inicial correspondiente a la investigación química, misma que aporta un número importante de estructuras candidatas a ser evaluadas para que en un futuro la molécula más adecuada sea diseñada en una forma farmacéutica.

Las investigaciones en un futuro deben ser encaminadas en principio a la síntesis de las moléculas que presentaron una mejor actividad, posteriormente se deben establecer las dosis efectivas, dosis tóxicas, realizar los estudios farmacocinéticos en animales de laboratorio y establecer los efectos adversos, teratogénicos y carcinogénicos. De los fármacos que se determine su conveniencia, deberán ser evaluados en la fase clínica, misma que se realiza en seres humanos, primero en un pequeño grupo de voluntarios, después en un pequeño grupo de enfermos y por último en un grupo más numeroso de enfermos, en esta fase se establece seguridad e inocuidad en humanos a partir de estudios farmacocinéticos bajo una estrecha vigilancia médica mediante estudios de gabinete y de laboratorio; además se establece la eficacia terapéutica y la posología.

VII. CONCLUSIONES

a. La información contenida en los artículos revisados sólo permitió conocer las características de los nuevos principios activos obtenidos de las especies estudiadas en la medicina tradicional de diversas regiones.

b. Entre los fármacos de primera y segunda línea y los principios activos objeto de ésta revisión, no existe similitud química por lo que se puede deducir que tanto la relación estructura actividad como el mecanismo de acción farmacológica son completamente diferentes entre si.

c. La molécula de saringosterol, es sugerida como una molécula prototipo para la síntesis de nuevas moléculas por el margen de seguridad que se puede obtener al administrarla en función de su CMI, menor al de la rifampicina.

d. Aunque los principios activos aislados de plantas medicinales tengan una actividad menor o igual a la de los fármacos de primera y segunda línea, éstos no son empleados en la clínica porque no existe una forma farmacéutica de dichas moléculas, debido a que estas moléculas no han sido probadas *in vivo*.

e. Dichas especies podrían ser candidatos a ser empleados como un tratamiento complementario en el control de la tuberculosis y de esta forma ayudar a disminuir el fracaso terapéutico en los casos de mono o multi drogo-resistencia.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

VIII. PERSPECTIVAS

a. Es necesario hacer estudios encaminados a garantizar la seguridad de los mismos al paciente como toxicidad y pruebas *in vivo* tanto en animales experimentales como en humanos empleando los principios activos aislados de plantas.

b. Finalmente, los principios biológicamente activos obtenidos a partir de plantas, pueden servir como moléculas prototipo para la síntesis de sustancias activas contra diversas cepas de micobacterias; o bien como materia prima para la obtención de fármacos semisintéticos con mayor actividad, más selectivos y con menores efectos adversos.

IX. REFERENCIAS

1. Warren L. Jawetz E. Micobacterias. En: Microbiología e Inmunología. 6ª Ed. México: Manual Moderno; 2000. p. 187-95.
2. Joklik W. Willett H. Amos B. Wilfert C. Mycobacterium. En: Microbiología. 20ª E. Argentina: Médica Panamericana; 1994. p. 684-721.
3. Walter P. Patología Humana. México: Manual Moderno; 1994. p. 187-95.
4. Price S. Wilson L. Pulmonary Tuberculosis. En: Pathophysiology Clinical Concepts of Disease Processes. 5ª Ed. USA: Mosby; 1997. p. 642-650.
5. Brändli O. The Clinical Presentation of Tuberculosis. Respiration 1998; 65: 97-105.
6. Sandoval H, Brownell G. Uso del a Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para el Diagnóstico de la Tuberculosis. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas 1996; 27: 27-37.
7. Woodford N. Johnson A. Molecular Approaches in Mycobacterium tuberculosis and Other Infections Caused by Mycobacterium Spieces, In Molecular Bacteriology Protocols and Clinical Applications. USA: Human Press; 1998, p 156-69.
8. NOM-006-SSA2-1993, modificada. Para la Prevención y Control de la Tuberculosis en la Atención Primaria a la Salud. Diario Oficial de la Federación. México: 31 de Octubre de 2000. p. 34-53.
9. Jiménez R, Natera C, Kindelán J. Sobre tuberculosis peritoneal. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica 2002; 20: 135-36.
10. Ostrosky L, Rangel M, García E, Vázquez A, Ibarra M, De León S. Tuberculosis en Trabajadores de la Salud: Importancia de los Programas de Vigilancia y Control. Salud Pública de México 2000; 42: 48-52.
11. Jiménez M, Rangel M, García E. Manejo de Pacientes con Tuberculosis Pulmonar en una Institución de Salud. Una Encuesta sobre conocimientos del Personal de Enfermería. Gaceta Médica de México 1997; 133: 371-75.

12. Núñez G, Salinas A, Villarreal E, Garza E, González F. Riesgo Nutricional en Pacientes con Tuberculosis Pulmonar: ¿Cuestión del Paciente o de los Servicios de Salud?. *Salud Pública de México* 2000; 42: 126-32.
13. Mancilla R. Tuberculosis: la peste blanca ataca de nuevo. *El Faro, Boletín Informativo de la Coordinación de la Investigación Científica* 2001; 1: 13-4.
14. La Salud en la Américas, Enfermedades Emergentes, *Directivo Médico* 2001; VIII:6-11.
15. Global Tuberculosis Control, WHO Report 2001. Switzerland: WHO; 2001.
16. Global Tuberculosis Control, WHO Report 2002. Switzerland: WHO; 2002.
17. Global Tuberculosis Control, WHO Report 2000. Switzerland: WHO; 2000.
18. INEGI. Principales resultados de la estadística de mortalidad en México, 1999. *Salud Pública de México* 2001; 43: 67-68.
19. Vigilancia Epidemiológica semana 43. DGE: 2001.
20. Vigilancia Epidemiológica semana 9. DGE: 2002.
21. Wallis R, Patil S, Cheon S, Edmonds. K, Phillips M, Perkins M, et al. Drug tolerance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1999; 43: 2600-06.
22. Heymann S, Brewer T, Wilson M, Fineberg H. The Need for Global Action Against Multidrug-Resistant Tuberculosis. *JAMA* 1999; 281: 2138-39.
23. Ruiz M, Alcalá L, Martínez L, Díaz M, Marín M, González J, et al. *In vitro* Activities of Six Fluoroquinolones against 250 Clinical Isolates of *Mycobacterium tuberculosis* Susceptible or Resistant to First-Line Antituberculosis Drugs. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2000; 44: 2567-68.
24. Amaya G, Martín L, Aguirre A, Portillo L, Covarrubias A, Aguilar S. Primary and Acquired Resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in Western Mexico. *Microbial Drug Resistance* 2000; 6: 143-45.

25. CDC. Population-Based Survey for Drug Resistance Tuberculosis-México, 1997. JAMA 1998; 280: 14-5.
26. Sifuentes J, Ponce L, Camacho F, Bobadilla J, Infante M, Ramírez N, et al. Resistencia de *Mycobacterium tuberculosis* en Pacientes Mexicanos: I. Características Clínicas y Factores de Riesgo. Revista de Investigación Clínica 1995; 47: 273-81.
27. Alvarez G, Halperin D, Blancarte L, Vázquez J. Factores de Riesgo para Resistencia a Drogas Antifímicas en Chiapas, México. Salud Pública de México 1995; 37: 408-16.
28. Pérez R. La tuberculosis en México, deuda añeja de salud pública, Gaceta Médica de México 2001; 137: 93-94.
29. Legal Status of Traditional Medicine and Complementary / Alternative medicine, A Worldwide Review. Switzerland: WHO; 2001. p. 1-2.
30. Farnsworth N, Akerele O, Bhigel A, Soejarto D, Guo Z. Las plantas medicinales en la terapéutica. Bol Of Saint Panam 1989; 107: 314-29.
31. Nigenda G, Mora G, Aldama S, Orozco E. La práctica de la medicina tradicional en América Latina y el Caribe: el dilema entre regulación y tolerancia. Salud Pública de México 2001; 43: 41-51.
32. Newman D, Cragg G, Sander K. The Influence of Natural Products Upon Drug Discovery. Natural Product Report 2000; 17: 215-34.
33. Michelli A. Médicos y Medicina en la Nueva España del Siglo XVI. Gaceta Médica de México 2001; 137: 257-63.
34. Phillipson J. Phytochemistry and medicinal plants. Phytochemistry 2001; 56: 237-43.
35. Evans W. Trease G. Farmacognosia. México: Interamericana 13a. Ed. 1991. p. 288-318.
36. Monographs on Selected Medicinal Plants. vol. 1. Switzerland: WHO; 1999. p. 1.
37. Ody P. Las plantas medicinales. Italia: Vergara; 1994. p. 120.

38. Yajko M, Madej J, Lancaster M, Sanders C, Cawthon V, Gee B, et al. Colorimetric method for determining MIC's of antimicrobial agents for *Mycobacterium tuberculosis*. J. Clin. Microbiol. 1995; 33: 2324-27.
39. Collins L, Franzblau S. Microplate Alamar Blue Assay versus BACTEC 460 System for High-Throughput Screening of Compounds against *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium*. Antimicrob. Agents Chemother. 1997; 41: 1004-09.
40. Lemus D, Montoro E, Johansson J, Echemendía M, Ridell J. Determinación rápida de resistencia en *Mycobacterium tuberculosis* utilizando el 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenilbromuro de tetrazolio (MTI). Revista Latinoamericana de Microbiología 2002; 44: supl. 1. 449.
41. Gómez R, Gupta S, Tamez R. Determination of MICs for *Mycobacterium avium-M. intracellulare* Complex in Liquid Medium by a Colorimetric Method. Antimicrob. Agents Chemother. 1995; 33: 1842-46.
42. Shawar R, Humble D, Van J, Kendall C, Hickey M, Steele S, et al. Rapid Screening of Natural Products for Antimycobacterial Activity by Using Luciferase-Expressing Strains of *Mycobacterium bovis* BCG and *Mycobacterium intracellulare*. Antimicrob. Agents Chemother. 1997; 41: 570-74.
43. Asres K, Bucar F, Edelsbrunner S, Kartnig T, Höger G, Thiel W. Investigations on Antimycobacterial Activity of Some Ethiopian Medicinal Plants. Phytother. Res. 2001; 15: 323-26.
44. Wächter G, Franzblau S, Montenegro G, Hoffmann J, Maiese M, Timmermann B. Inhibition of *Mycobacterium tuberculosis* Growth by Saringosterol from *Lessonia nigrescens*. J. Nat. Prod. 2001; 64: 1463-64.
45. Acevedo L, Martínez E, Castañeda P, Franzblau S, Timmermann B, Linares E, et al. New Phenylethanoids from *Buddleja cordata* subsp. *Cordata*. Planta Med. 2000; 66: 257-61.
46. Cantrell C, Rajab M, Franzblau S, Fischer N. Antimycobacterial Triterpenes from *Melia volkensii*. J. Nat. Prod. 1999; 62: 546-48.

47. ElSholy H, Danner S, Li X, Nimrod A, Clark A. New Antimycobacterial Saponin from *Colubrina retusa*. Journal of Natural Products 1999; 62: 1341-42.
48. Topçu G, Erenler R, Cacmak O, Johansson C, Celik C, Chai H, et al. Diterpenos from *Juniperus excelsa*. Phytochemistry 1999; 50: 1195-99.
49. El Sayed K, Hamann M, El-Rahman H, Zaghloul A. New Pyrrole Alkaloids from *Solanum sodomaeum*. J. Nat. Prod.1998; 61: 848-50.
50. Al-Yahya M, Muhammad I, Mirza H, El-Ferally F. Antibacterial Constituents from the Rhizomes of *Ferula communis*. Phytother. Res. 1998; 12: 335-39.
51. Gentry E, Jampani H, Kesharavaz-Shokri A, Morton M, Vander D, Teliikepalli H, et al. Antitubercular Natural Products: Berberine from the Roots of Commercial *Hydrastis canadensis* Powder. Isolation of Inactive 8-Oxotetrahydrothalifendine, Canadine, β -Hydrastine and Two New Quinic Acid Esters, Hycandinic Acid Esters-1 and 2. J. Nat. Prod.1998; 61: 1187-93.
52. Wächter G, Franzblau S, Montenegro G, Suarez E, Fortunato R, Saavedra E, et al. A New Antitubercular Mulinane Diterpenoid from *Azorella madreporica* Clos. J. Nat. Prod.1998; 61: 965-68.
53. Kobaisy M, Abramowsky Z, Lermer L, Saxena G, Hancock R, Towers G. Antimycobacterial Polyynes of Devil's Club (*Oplopanax horridus*), a Noth American Native Medicinal Plant. J. Nat. Prod.1997; 60: 1210-13.
54. Ulubelen A, Topcu G, Johansson C. Norditerpenoids and Diterpenoids from *Salvia multicaulis* with Antituberculous Activity, J. Nat. Prod.1997; 60: 1275-80.
55. Muhammad I, Mossa J, El-Ferally F. Additional Antibacterial diterpenes from the Bark of *Juniperus procera*. Phitotherapy research 1996; 10: 604-07.
56. Cantrell C, Franzblau S, Fischer N. Antimycobacterial Plant Terpenoids. Planta Med. 2001; 67: 685-94.
57. Caldwell C, Franzblau S, Suarez E, Timmermann B. Oleanane Triterpenes from *Junellia tridens*. J. Nat. Prod. 2000; 63: 1611-14.

58. Ishikawa T. Benzo(c)phenanthridine Bases and Their Antituberculosis Activity. *Medical Respiration Review* 2001; 21: 61-72.
59. Houghton P, Woldemariam T, Watanabe Y, Yates M. Activity Against *Mycobacterium tuberculosis* of Alkaloid Constituents of Angostura Bark *Galipea officinalis*. *Planta Med.* 1999; 65: 250-54.
60. Cantrell C, Rajab M, Franzblau S, Fronczek F, Fischer N. Antimycobacterial Ergosterol-5,8-endoperoxido from *Ajuja remota*. *Planta Med.* 1999; 65: 732-34.
61. Cantrell C, Abate L, Fronczek F, Franzblau S, Quijano L, Fischer N. Antimycobacterial Eusmanolides from *Inula helenium* and *Rubdckedia subtomentosa*. *Planta Med.* 1999; 65: 351-55.
62. Hiserodt R, Franzblau S, Rosen R. Isolation of 6-, 8- and 10-Gingerol from Ginger Rhizoma by HPLC and Preliminary Evaluation of Inhibition of *Mycobacterim avium* and *Mycobacterium tuberculosis*, *J. Agric. Food Chem.* 1998; 46: 2504-08.
63. Fischer N, Lu T, Cantrell C, Castañeda J, Quijano L, Franzblau S. Antimycobacterial Evaluation of Germacranolides in Honour of Professor G. H. Neil Towers 75TH Birthday. *Phytochemistry* 1998; 49: 559-64.
64. Cantrell C, Nuñez I, Castañeda J, Foroozesh M, Fronczek F, Fischer N, et al. Antimycobacterial Activities of Dehydrocostus Lactone and Its Oxidation Products. *J. Nat. Prod.* 1998; 61: 1181-86.
65. Cantrell C, Lu T, Fronczek F, Fischer N. Antimycobacterial Cycloartanes from *Borrchia frutescens*. *J. Nat. Prod.* 1996; 59: 1131-36.
66. Mitscher L, Baker W. A Search for Novel Chemotherapy Against Tuberculosis Amongst Natural Products. *Pure & Appl. Chemist* 1998; 70: 365-71.
67. Mitscher L, Baker W. Tuberculosis: A Search for Novel Therapy Starting with Natural Products. *Medical Respiration Review* 1998; 18: 363-74.
68. Lu T, Cantrell C, Robbs S. Antimycobacterial Matricaria Esters and Lactones from Astereae Species. *Planta Med.* 1998; 64: 665-67.

69. König G, Wright A, Franzblau S. Assessment of Antimycobacterial Activity of a Series of Mainly Marine Derived Natural Products. *Planta Med.* 2000; 66: 337-42.

70. Jiménez R, Natera C, Kindelán J. Sobre tuberculosis peritoneal. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 2002; 20: 135-36.