



30387  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

**POSGRADO EN CIENCIAS  
BIOLÓGICAS**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**BASE FITOQUÍMICA DEL USO  
TRADICIONAL DE PLANTAS PARA EL  
TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES  
DE POSIBLE ORIGEN BACTERIANO  
EN SAN RAFAEL COXCATLÁN,  
PUEBLA.**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:

**DOCTORA EN CIENCIAS**

**P R E S E N T A**

**MARIA MARGARITA CANALES**

**MARTINEZ**

DIRECTOR DE TESIS: **Dr. RAFAEL LIRA SAADE**



COORDINACIÓN

MÉXICO, D. F.

JUNIO 2005

m345056

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.



# POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS COORDINACIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.  
NOMBRE: María Margarita Canales Martínez  
FECHA: 7 - Junio - 2005  
FIRMA: [Firma]

Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez  
Director General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 28 de febrero del 2005, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de DOCTORA EN CIENCIAS de la alumna **CANALES MARTÍNEZ MARÍA MARGARITA** con número de cuenta 77084992 y número de expediente 300961001, con la tesis titulada: "Base fitoquímica del uso tradicional de plantas para el tratamiento de enfermedades de posible origen bacteriano en San Rafael Coxcatlán, Puebla", bajo la dirección del Dr. Rafael Lira Saade.

- Presidente: Dr. Javier Caballero Nieto
- Vocal: Dr. Manuel Jiménez Estrada
- Vocal: Dr. José Guillermo Ávila Acevedo
- Vocal: Dr. Francisco J. Espinosa García
- Secretario: Dr. Rafael Lira Saade
- Suplente: Dra. Patricia Dávila Aranda
- Suplente: Dr. Alfonso Romo de Vivar Romo

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cd. Universitaria, D.F., a 3 de junio del 2005.

Dr. Juan José Morrone Lupi  
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del interesado

## RECONOCIMIENTO

El presente trabajo fue realizado en el laboratorio de **Fitoquímica** de la **Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPO)** de la **Facultad de Estudios Superiores Iztacala**.

Este trabajo forma parte del proyecto **“Los Recursos Vegetales del Valle de Tehuacan-Cuicatlán desde una Perspectiva Etnobotánica”** proyecto financiado por el **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT-G35450-V)**.

Durante la realización de esta tesis Doctoral, la alumna fue becaria de: **CONACyT** con número de registro: 163285 y becaria *status* del **Programa de Apoyo para la Superación Académica de la UNAM (PASPA)**.

El **Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado (PAEP 2004)**, brindó apoyo económico para la adquisición de materiales útiles para la conclusión de este trabajo.

El **Comité Tutorial** de este trabajo estuvo integrado por:

**Dr. Rafael Lira Saade**

(Tutor Principal)

**Dr. Javier Caballero Nieto**

**Dr. Alfonso Romo de Vivar Romo**

## AGRADECIMIENTOS

A las autoridades de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala por todas las facilidades que me han brindado durante el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Rafael Lira Saade, tutor principal, gracias por la confianza y la oportunidad que me brindó para realizar este proyecto. En especial, mil gracias Rafael por la libertad que me permitiste ejercer durante todo el tiempo que duró esta investigación.

Al Dr. Alfonso Romo de Vivar Romo, por su grandeza como ser humano, por sus amplios conocimientos y siempre por sus muy acertados comentarios durante la realización de esta investigación. Dr. Romo, usted es un ejemplo a seguir.

Al Dr. Javier Caballero Nieto, por su gran paciencia y sus amplios conocimientos etnobotánicos. Dr. Caballero, muchísimas gracias por todo el tiempo que dedicó a este trabajo y sobre todo por compartir toda su gran experiencia etnobotánica.

A la Dra. Patricia Dávila Aranda, por su gran apoyo desde siempre, por todos sus comentarios sumamente valiosos que hicieron de este un mejor trabajo. Dra. Dávila usted es ejemplo de fortaleza, decisión y carácter.

Al Dr. José Guillermo Avila Acevedo, responsable del laboratorio de Fitoquímica, por sus acertados comentarios al escrito de este trabajo. Memo, muchas gracias por permitir la realización de esta investigación en el laboratorio que está bajo tu dirección, pero sobre todo por todos los comentarios y asesoría durante la parte microbiológica y fitoquímica.

Al Dr. Manuel Jiménez Estrada, por ser un excelente profesor, por su sencillez y amplios conocimientos, por sus acertados comentarios a este trabajo. Pero sobre todo Dr. Jiménez, mil gracias por su amistad y confianza.

Al Dr. Francisco Espinosa García, por sus acertados comentarios que enriquecieron este trabajo.

A la Dra. Valeria Souza Saldívar, por su asesoría y sus amplios conocimientos. Dra. Souza mil gracias por todo el apoyo que me brindó.

A la M. en C. Montserrat Guispert Cruells y al M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez, por sus amplios conocimientos etnobotánicos, por ser excelentes profesores. Maestros muchísimas gracias por toda esa energía y positivismo que me transmitieron durante su excelente curso.

Al M. en C. Angel Durán Díaz, por su asesoría en la parte estadística. Angel, mi amigo, mil gracias por todo el apoyo que me has brindado siempre, eres una gran persona.

A la comunidad de San Rafael Coxcatlán, Puebla, por compartir sus conocimientos, por permitirme entrar a sus hogares y convivir con su familia. De manera especial al Sr. Marcelino Herrera, Juez de Paz de San Rafael Coxcatlán, a las señoras Mica, Isabel y Lucy por recibirme siempre con una sonrisa y por su valiosa ayuda en el trabajo de campo.

A la M. en C. Rocío Rosas López, por haberme ayudado incondicionalmente en el trabajo de campo. Chío muchas gracias por ser una persona tan linda y sencilla, hiciste que las personas de San Rafael Coxcatlán me permitieran entrar en sus casas y platicar con ellas.

Al Dr. Marco Rodríguez Monroy, por su incondicional apoyo en el trabajo de campo, por los diseños de las presentaciones, por todo el material fotográfico que hizo de este un mejor trabajo.

A la M. en C. Ana María García Bores, por todo el apoyo que me ha brindado desde siempre. Anita, muchas gracias por tus comentarios tan acertados durante el trabajo en el laboratorio.

A los Biólogos Claudia Gijón, Roberto Gracilazo, Rocío Serrano, Isabel Andrade, los alumnos de la carrera de Biología Ariadna, Vanesa, Santiago, Bárbara, David, Ivette, Nakthaly y Diana, por ser tan trabajadores y hacer muy agradable el trabajo en el laboratorio.

## DEDICATORIA

A **MARCO** por su gran apoyo, por toda la vida que hemos compartido, por ser mi gran amor.

A mis hijos, **MARCO** y **MARIO**, porque son mi razón de ser, son mi gran orgullo y porque a cada momento son mi motivación para ser mejor en todos los aspectos de mi vida. Hijos, los amo.

A la memoria de mi **PADRE**, por su gran ejemplo de lucha hasta la muerte. Papá siempre estás conmigo.

A mi **MADRE**, por su gran apoyo incondicional por su profundo amor, por ser ejemplo de fortaleza y trabajo. Mamá, muchas gracias por ser una gran persona, te quiero muchísimo.

A mis hermanos **PEDRO, JOSÉ, RAÚL Y NATALIA** por todo su apoyo y porque los quiero muchísimo.

A mi amiga **TZASNA**, por todos los momentos que hemos compartido. Nani muchas gracias por todo el apoyo que siempre me has brindado.

## Índice general

	Página
Resumen	1
Capítulo I. Introducción	3
La zona de estudio	11
Clima, hidrología, edafología	13
Vegetación	14
La población	15
Capítulo II. Publicación: "Análisis cuantitativo del conocimiento tradicional de las plantas medicinales en San Rafael, Coxcatlán, Valle de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla, México"	18
Capítulo III. Publicación "Índice de consenso de informantes y actividad antibacteriana de las plantas medicinales usadas por la gente de San Rafael Coxcatlán, Puebla, México.	48
Capítulo IV. Fitoquímica y actividad antibacteriana de <i>Jatropha neopauciflora</i> Pax "sangre de grado"	60
Introducción	51
Objetivos	63
Metodología	64
Resultados	69
Discusión	86
Conclusiones	91
Capítulo V. Discusión general	92
Capítulo VI. Conclusión general y Perspectivas	98
Bibliografía	101
Apéndice 1. Aislamiento de los compuestos activos	116
Apéndice 2. Elucidación de estructuras	117
Apéndice 3. Espectros	118
Apéndice 4. Síntesis bibliográfica del género <i>Jatropha</i>	131
Apéndice 5. Resultados adicionales de la investigación etnobotánica	137
Apéndice 6. Resultados adicionales de la investigación	

sobre la actividad antibacteriana	138
Apéndice 7. Estructura química de los compuestos identificados por espectrometría de gases masas, de las fracciones (11, 12, 13 y 19) con actividad antibacteriana de <i>Jatropha neopauciflora</i>	143

## Índice de figuras

	Página
Figura 1.1 Localización geográfica de San Rafael Coxcatlán	11
Figura 1.2 Poblado de San Rafael Coxcatlán	12
Figura 4.1 <i>Jatropha neopauciflora</i>	68
Figura 4.2 Lupeol (triterpeno)	82
Figura 4.3 Lup-20(29)-en-3-ona (triterpeno)	85

## Índice de cuadros

	Páginas
Cuadro 4.1 Resultados del bioensayo realizado con el extracto de acetato de etilo de <i>Jatropha neopauciflora</i> (sangre de grado	69
Cuadro 4.2 Actividad antibacteriana de los extractos de <i>J. neopauciflora</i>	70
Cuadro 4.3 Actividad antibacteriana del látex de <i>J. neopauciflora</i>	70
Cuadro 4.4 Bioensayo de las fracciones obtenidas en la cromatografía en una columna de Sephadex G-75	72
Cuadro 4.5 Fracciones resultantes de la cromatografía en columna del extracto de acetato de etilo de <i>J. neopauciflora</i>	74
Cuadro 4.6 Cromatografía en columna de la fracción 4 del extracto de acetato de etilo	76
Cuadro 4.7 Concentración mínima inhibitoria (CMI) y bactericida mínima (CBM) de las fracciones 11, 12, 13 y 19	77
Cuadro 4.8 Composición química de las fracciones 11, 12, 13 y 19, determinada por espectrometría de gases-masas	79
Cuadro 4.9 Fracciones resultantes de la cromatografía en columna del extracto hexánico de <i>J. neopauciflora</i>	80
Cuadro 4.10 Características del compuesto obtenido del extracto hexánico (fracción 12) de <i>J. neopauciflora</i>	81
Cuadro 4.11 Características del compuesto obtenido del extracto hexánico (fracción 16) de <i>J. neopauciflora</i>	83
Cuadro 4.12 Separación cromatográfica de la fracción 9	84

## RESUMEN

En este trabajo se presentan los resultados del estudio sobre la flora medicinal de San Rafael en el estado de Puebla, México. Dos tipos de entrevistas (abierta y estructurada) se aplicaron a 60 informantes. La primera de ellas permitió recopilar 626 respuestas sobre el uso de 46 especies de plantas medicinales, mientras que la segunda se hizo seis meses después para corroborar dicha información. Se determinó que no existen diferencias estadísticas significativas en el conocimiento sobre las plantas medicinales entre género, grupos de edades, ocupación, lugar de origen y tiempo de residencia en el poblado, aunque pudo observarse una tendencia que señala que las personas de mayor edad conocen un mayor número de plantas. Un análisis de correspondencia, mostró que no hay ningún patrón de distribución del conocimiento entre los informantes sobre la flora medicinal y que la variación observada es al azar. El análisis de los datos obtenidos en la entrevista estructurada y ajustados a un modelo lineal frente a los datos de la primera entrevista, mostró la consistencia del conocimiento tradicional que poseen los habitantes de San Rafael sobre las plantas medicinales. Los informantes reconocieron y asignaron a cada especie el uso medicinal particular a más del 90% de las plantas que mencionaron en la entrevista abierta. El tamaño del poblado y la interacción sistemática entre sus habitantes, posiblemente explican la homogeneidad en el conocimiento tradicional de los pobladores de San Rafael acerca de las propiedades curativas de las plantas.

Se determinaron 13 categorías diferentes de uso medicinal. Se calculó el índice de consenso de los informantes y con base en estos resultados se seleccionaron 16 especies que son usadas para aliviar enfermedades de posible origen bacteriano. De estas 16 especies, se realizaron extracciones secuenciales con hexanos, acetato de etilo y metanol. Con el uso del método de difusión en agar de Kirby-Baüer, se determinó la actividad antibacteriana de cada extracto frente a 14 cepas de bacterias diferentes. Se demostró que el 75% de las plantas presentó actividad antibacteriana. Con la microtécnica de dilución en caldo se obtuvieron los valores de MIC (concentración mínima inhibitoria) y CBM (concentración bactericida mínima) de los extractos que presentaron la mayor actividad. Las dos especies que tuvieron el mayor número de eventos (número de veces que la especie ha sido mencionada por los informantes) y que se encontraron dentro de los grupos de mayor índice de consenso fueron *Jatropha neopauciflora* Pax (Euphorbiaceae) y *Juliania adstringens* (Schldl.) Schldl. (Julianiaceae), las cuales también fueron las especies que mostraron la mayor actividad antibacteriana.

Se determinó que *Jatropha neopauciflora*, contiene lupeol y un derivado cetónico de éste, los cuales son compuestos que actúan como antiinflamatorios. Los compuestos responsables de la actividad antibacteriana de esta especie son, principalmente una serie de sesquiterpenos.

Estos resultados sugieren que el uso de la flora medicinal de San Rafael, tiene una base fitoquímica.

## SUMMARY

This work presents the RESULTS of a study ABOUT the medicinal flora of San Rafael Coxcatlán, Puebla, Mexico. Two types of interviews (free listing and structured) were applied to 60 informants. The first type permitted the compilation of 626 answers about the use of 46 plant species, whereas the second type of interview was conducted six months after the first one in order to corroborate the consistency of this knowledge. Data analysis using statistics tests, revealed no significant differences in knowledge on medicinal plants between gender, age, occupation, provenance and residence time in the village. Nevertheless, it was observed that older people recognized a larger number of plants than the younger one. Correspondence analysis revealed a non-clear pattern in the distribution of the knowledge of medicinal flora. The analysis of the results obtained from structured interviews and adjusted to a linear model versus the results of the first interviews showed the strength and congruence of the traditional knowledge by the inhabitants of San Rafael about medicinal plants. The interviewed informants recognized more than 90% of the species they mentioned in the open interviews and also mentioned the same medicinal use. The size of the village and the systematic interactions between its inhabitants, might explain the homogeneity of the traditional knowledge of San Rafael's residents concerning the healing properties of the plants.

Further analysis showed 13 categories of different medicinal use. An informant consensus factor was calculated and 16 species were selected due to their utilization in the treatment of diseases of possible bacterial origin. Of these 16 plants, sequential extractions were made with hexane, ethyl acetate and methanol. The obtained extracts were used to assess their antibacterial activity against 14 bacterial strains; 75% of the plants presented antibacterial activity. Estimation of the minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (CBM) was carried out by means of the broth dilution method. The medicinal species *Jatropha neopauciflora* Pax (Euphorbiaceae) and *Juliania adstringens* (Schldl.) Schldl. (Julianiaceae) showed the biggest activity. Moreover, these species also had the highest informant consensus factor values.

*Jatropha neopauciflora* contains lupeol and its cetonic derivate. The antibacterial compounds of this species are a sesquiterpenes joint.

All obtained results show that the use of the San Rafael's medicinal flora has a phytochemical foundation

# **CAPÍTULO I**

## **INTRODUCCIÓN**

## INTRODUCCIÓN

El uso de productos naturales con propiedades terapéuticas es tan antiguo como la civilización humana misma. Por mucho tiempo, los productos minerales, las plantas y los animales fueron la fuente principal de drogas (De Pasquale, 1984). A través de la observación, ensayo y error, el hombre aprendió y transmitió durante generaciones el conocimiento del empleo de las plantas que lo rodean (William, 1980).

En la actualidad la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que alrededor del 80% de los habitantes del planeta recurren principalmente a remedios tradicionales. Esta afirmación se había hecho ya en los años sesenta (Fleurentin y Pelt, 1981). En aquella época, la OMS sugería que esta condición podría invertirse en el año 2000 a fin de que, para entonces, el 80% de la población pudiera tener acceso a las atenciones primarias de salud en los dispensarios y que sólo la quinta parte de la población fuera tratada con remedios tradicionales. Sin embargo, la OMS se percató de que esta predicción no era realista, por lo que su estrategia cambió y a partir de 1977, persuade a los sistemas de salud para que integren a las medicinas tradicionales en los programas de salud. La OMS recomienda a los países en vías de desarrollo que, por una parte, realicen proyectos centrados en la identificación, la preparación, el cultivo y la conservación de las plantas medicinales utilizadas por la medicina tradicional y por otra parte que, mediante transferencia de tecnología elaborada en los países desarrollados, evalúen la calidad y eficacia de estas medicinas (Fleurentin y Pelt, 1981).

En México, la medicina tradicional ocupa un lugar importante en la práctica médica, cerca de 25% de los habitantes recurren al uso de plantas medicinales.

Actualmente se realizan diversos estudios científicos que tienen la finalidad de comprobar las propiedades que se le atribuyen a la medicina tradicional mexicana (Canales et al., 2005; Hernández et al., 2003; Olivera et al., 1999; Heinrich et al., 1998a; Lara y Márquez, 1996; Romo de Vivar, 1985) esto puede ser un importante campo para implementar nuevos planes de salud, que combinen el conocimiento popular con el conocimiento científico (Tascon, 1997).

En la primera mitad del siglo XX, el modelo científico de investigación farmacéutica en la cultura occidental estuvo exclusivamente basado en los principios conceptuales que desarrollaron las poderosas industrias químico-farmacéuticas extranjeras (Losoya, 1990). Es decir, para este tipo de industrias, las plantas medicinales son recursos naturales de los que se obtiene la materia prima a partir de la cual se aísla un principio activo medicinal que, una vez sintetizado químicamente, permite el desarrollo de un nuevo medicamento (Losoya, 1990). Como una opción a la estrategia de prospección de buscar cualquier planta para aislar un compuesto químico y luego ver si resulta útil para algo, surgió en los años setenta una nueva metodología de prospección con base en la etnobotánica (que tiene como objeto de estudio la relación que tiene el hombre con las plantas a través del espacio y el tiempo, además que busca recuperar, utilizar y desarrollar el conocimiento de la gente que usa esas plantas) (Losoya, 1990). Este esquema de prospección de nuevos medicamentos parte de la propia información de la población usuaria como el punto de arranque para la investigación botánica, química y farmacológica de las propiedades atribuidas a un vegetal. Por lo tanto, y desde esta perspectiva, los medicamentos ya existen y han sido seleccionados durante siglos o milenios de uso por la población. Por tanto, el papel de la ciencia contemporánea es, entonces, sancionar su eficacia, explicar su acción, descubrir sus inconvenientes y crear las condiciones para la producción masiva de estos medicamentos. En otras palabras, bajo esta perspectiva se pretende desarrollar el conocimiento médico-tradicional, utilizando las herramientas del método científico (Losoya, 1990 y 1993).

Hay varias formas para seleccionar plantas medicinales para comprobar sus propiedades. La estrategia más común es haciendo observaciones de su uso en la medicina tradicional en diferentes culturas (Elizabetsky y Posey, 1986).

Las plantas medicinales son el principal recurso terapéutico de la medicina tradicional mexicana. La diversidad biológica y cultural que caracteriza a nuestro país, se funden en una variedad de conocimientos y prácticas populares que es necesario valorar, rescatar y desarrollar científicamente en beneficio de la salud (Borrego, citado en Aguilar et al., 1994).

Una de las regiones de México que merece una atención especial es el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, que está localizado al sureste del estado de Puebla y noreste de Oaxaca, entre los 17°39' y 18°53', y entre los 96°55' y 97°44'. Este Valle es una región semiárida que presenta uno de los más altos índices de diversidad vegetal de México, pues en un área relativamente pequeña (10,000 Km<sup>2</sup>) se encuentra entre el 10 y 11.4% de las especies de la flora Mexicana. El Valle posee 365 especies endémicas que representan el 13.9% de su flora y más del 25% de su flora vascular es usada por las diferentes comunidades que lo habitan. Aunado a lo anterior, en esta región coexisten seis (Nahuas, Popolocas, Mazatecos, Chinantecos-Cuicatecos, Ixcatecos, y Mixtecos) de los 52 grupos étnicos que aún existen en el país (Dávila et al., 2002). Adicionalmente, esta región ha tenido gran importancia para la reconstrucción de la prehistoria de la región cultural conocida como Mesoamérica, pues en algunas de sus cuevas se ha encontrado la evidencia más antigua de domesticación de plantas y origen de la agricultura en el Nuevo Mundo (Bye, 1998; Hernández-Xolocotzi, 1993; MacNeish, 1967, 1992;). Por todo lo antes mencionado, este Valle es considerado como un centro de megadiversidad y endemismo a nivel mundial por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) y recientemente ha sido decretado como una Reserva de la Biosfera.

La larga historia de ocupación humana de esta región, así como su alta diversidad cultural y biológica sugieren que sea una de las áreas de Mesoamérica con una gran tradición etnobotánica de manejo y utilización de los recursos vegetales por las poblaciones humanas locales, como forraje, medicinal; comestibles, leña, ornamental, etc. (Casas et al., 2001, 1997, 1994; Paredes, 2001; Ramírez, 1996; Casas y Valiente-Banuet, 1995). La información disponible, también sugiere que la riqueza de recursos vegetales aprovechados por los grupos humanos locales es muy elevada. En un estudio reciente a nivel de todo el Valle, Casas et al., (2001) identificaron que de alrededor de 2700 especies de plantas vasculares, 808 especies son útiles (243 son empleadas como remedios para la curación de diferentes afecciones), la mayor parte de las cuales (90%) son nativas y 44 son endémicas a la región.

No obstante la utilidad de esos estudios, aún se requiere información sobre las plantas utilizadas en esa región y especialmente en lo que se refiere a la importancia relativa (por ejemplo el lugar que cada especie ocupa en la preferencia sobre la curación de diversas enfermedades) de las especies en la zona, a la comprobación de su actividad curativa, a la identificación de sus principios activos, así como a la determinación de las posibles variaciones en dicha actividad, resultante de actividades de selección por el hombre. La recopilación, análisis y validación de esta información para la zona, tiene gran relevancia desde el punto de vista de la etnobotánica aplicada, pues seguramente contribuirá de manera significativa en la definición de estrategias para el aprovechamiento y manejo de sus recursos, tareas que son prioritarias en una reserva de la Biosfera como lo es el Valle de Tehuacán-Cuicatlán.

Parte de la información faltante fue recopilada por Blanckaert et al., (2004), quienes realizaron un estudio sobre los huertos del poblado de San Rafael y se reportan diversas especies de plantas medicinales presentes ahí. Rosas (2003)

también contribuyó de una manera importante, pues realizó una investigación etnobotánica sobre la flora útil de este mismo poblado y produjo el listado de diversas especies medicinales de la localidad.

Aunado a lo anterior, el hecho de que San Rafael, municipio de Coxcatlán, sea un poblado que se formó por la migración de personas de diferentes poblados (principalmente de Oaxaca y Puebla) que muy posiblemente conservaron el conocimiento tradicional que probablemente poseen algunos o varios de los migrantes sobre las plantas medicinales que usaban en su región de origen, hace que este pueblo sea atractivo para aplicar el enfoque de prospección de medicamentos basado en la etnobotánica. El estudio de este poblado forma parte de un proyecto de investigación etnobotánica regional, cuyo objeto es proveer herramientas de manejo para el uso y preservación de los recursos naturales dentro de la Reserva de la Biosfera (Lira, 2001).

Los estudios etnobotánicos permiten suponer que algunos de los metabolitos secundarios que producen las plantas, son responsables de la curación de enfermedades, a través del uso de plantas en la medicina tradicional.

Las plantas producen diversos compuestos (metabolitos secundarios) que, en su mayoría no participan directamente en su crecimiento y desarrollo (Croteau et al., 2002). Muchos de estos compuestos, se sabe que protegen a las plantas contra la herbivoría, infecciones microbianas, etc. así como algunos son atrayentes de polinizadores y agentes alelopáticos. Esta actividad biológica muchas veces coincide con actividad farmacológica en seres humanos (Croteau et al., 2000; Wink, 1999; Harborne y Tomas-Barberan, 1991; Harborne, 1989).

Para explicar la efectividad terapéutica de las plantas medicinales, existen tres posibles interpretaciones: 1) que los remedios medicinales actúen simplemente como placebos (Okpako, 1999); 2) que las plantas, a través de su metabolismo, sinteticen compuestos que representen el elemento curativo (Rojas

et al., 2003; Ankli et al., 2002; Heinrich et al., 1998; Mori et al., 1987) y, 3) que dichos compuestos, aunque no actúen directamente como agentes responsables de la curación de los padecimientos, posiblemente estimulen al sistema inmunológico y con ello se consiga el alivio (Sá-Nunes et al., 2003; Ankli et al., 2002; Mookerjee et al., 1986). Por otra parte, está ampliamente documentada la actividad antimicrobiana de los metabolitos secundarios (Murphy, 1999; Corthout et al., 1991; Janssen, 1986) que actúan a diferentes niveles, como membrana celular, DNA, precipitando proteínas, etc. (Sá-Nunes et al., 2003; Helander et al., 1998; Barre et al., 1997; Kubo et al., 1983) e incluso pudieran actuar sobre bacterias patógenas para el hombre. En este trabajo se tratará de probar la segunda de las opciones con la finalidad de evaluar si el uso tradicional de las plantas empleadas en el tratamiento de enfermedades de posible origen bacteriano en San Rafael, tiene una base fitoquímica.

Una investigación de esta naturaleza implica en primer lugar, hacer un inventario de las especies de plantas medicinales que son utilizadas por los habitantes de San Rafael, con el fin de reconocer aquellas que son empleadas para aliviar las enfermedades de origen bacteriano. En segundo término, implica el análisis de la congruencia y distribución entre los habitantes de San Rafael del conocimiento tradicional de la flora medicinal, para determinar si hay una concordancia con el uso medicinal que se atribuye a cada especie de planta. En tercer lugar se requiere seleccionar las plantas que son utilizadas para aliviar aquellas enfermedades de posible origen bacteriano, con base en la investigación etnobotánica, ya que el consenso entre los informantes será el fundamento principal para hacer dicha selección. Posteriormente, se debe comprobar la actividad antibacteriana de las plantas seleccionadas, para lo cual es necesario obtener los extractos de diferente polaridad y probar la actividad de cada uno de ellos frente a diferentes cepas de bacterias. Por último, tomando en cuenta las observaciones anteriores, se seleccionan a las especies que por consenso resultaron más importantes y que tengan una actividad antibacteriana

considerable para realizar el estudio fitoquímico que demuestre la presencia de el o los compuestos responsables de de dicha actividad biológica.

Este trabajo está estructurado en seis capítulos. En el primero de ellos se presenta una introducción general. El capítulo II se refiere estrictamente a la información etnobotánica. El capítulo III incluye los datos de la investigación antibacteriana de las plantas seleccionadas. El capítulo IV versa sobre la investigación fitoquímica y la actividad antibacteriana de *Jatropha neopauciflora* Pax (sangre de grado). En el capítulo V se presenta una discusión general del trabajo, además de hablar sobre algunos resultados adicionales obtenidos en el curso de esta investigación. Finalmente en el capítulo VI se expresan las conclusiones generales de este trabajo.

## LA ZONA DE ESTUDIO

San Rafael, municipio de Coxcatlán, donde la mayor parte de la población son mestizos descendientes de nahuas, se localiza al sureste de Tehuacán, Puebla, a 18°12' y 18°14' de latitud norte 97°07' y 97°09' de longitud oeste a 957 msnm (Figura 1.1 y 1.2)

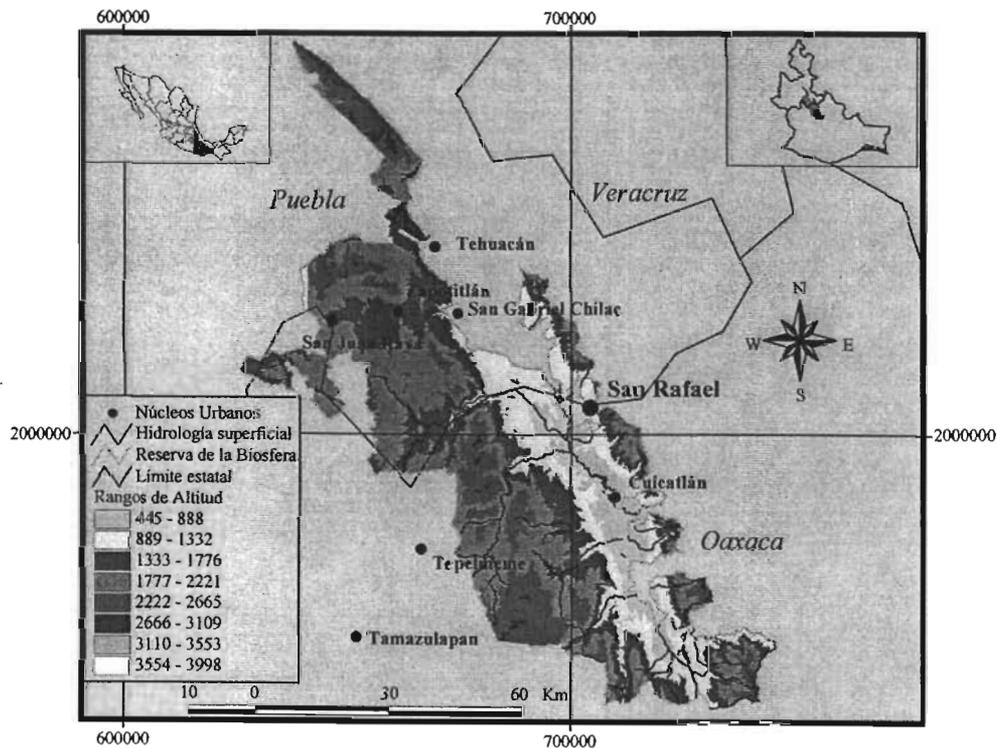


Figura 1.1 Localización geográfica de San Rafael.



## **Clima**

En San Rafael, municipio de Coxcatlán, el clima es Bs1(h') w" (w) eg (Fernández, 1999) y corresponde al seco o árido con lluvias en verano y temperatura media de 22°C variando entre 25°C en Abril y Mayo, y 18°C en Enero (Medina, 2000). Valiente (1991) calcula una precipitación anual de 394.6 mm para la zona; cerca de los 386.57 mm registrados de 1988 a 1998 en la estación climática Tilapa, situada a 3.25 Km al sur de la zona de estudio. En 1998 los 763.7 mm de precipitación casi duplicaron el promedio anual, concentrándose en los meses de junio a noviembre.

## **Hidrografía**

El sureste de Puebla se encuentra irrigado por el Río Salado. La parte sur del Valle de Tehuacán-Cuicatlán es drenado por el Río Grande o Tomellín, que fluye al norte desde Oaxaca; uniéndose cerca de Quitepec los dos forman el Río de Santo Domingo, el cual corta la Sierra Madre de Oaxaca en dirección este y eventualmente se vuelve el Río Papaloapan. El Río Tehuacán encuentra su camino al oeste del Cerro Colorado, para entrar en el Valle de México cerca de San Diego, Chalma. Este pequeño río el cual se convierte en el Río Salado, se une por un número de cortas ramificaciones alcanzando la Sierra Madre de Oaxaca en el noreste (Salcedo-Sánchez, 1997).

## **Edafología**

El origen del suelo data del período Cuaternario, era Cenozoica. Los suelos en las regiones están pobremente desarrollados y pueden ser divididos en 2 grandes tipos: regosoles predominantemente calcáreos y regosoles éutricos, y xerosoles, predominantemente xerosoles háplicos.

## Vegetación

La vegetación predominante es un bosque tropical caducifolio, donde *Escontria chiotilla* (F. A. C. Weber) Rose y *Pachycereus weberi* (J. Coulter) Backeb son particularmente abundantes (Valiente-Banuet et al., 2000).

Fernández (1999), reconoció por nivel topográfico los siguientes tipos de vegetación en San Rafael:

Cardonal de *Pachycereus weberi*, que se caracteriza por el predominio de cactáceas columnares (cardones).

Chiotillal de *Escontria chiotilla*, en el nivel próximo al cauce del río, sobre niveles de terreno de 0.7 a 1.5 m por encima del nivel basal de esta región, con una alta densidad arbustiva.

Cuajotal con especies dominantes como: *Bursera morelensis*, *Mimosa polyantha*, *Fouqueria formosa*, así como arbustos y hierbas como *Sanvitalia fruticosa*, localizada aproximadamente a 1.5 – 3.5 m por encima del nivel basal.

Fouqueria con especies dominantes como *Fouqueria formosa*, *Bursera aptera*, *Mimosa polyantha*, *Ceiba parvifolia*, *Manihotoides pauciflora*, *Senna wisliseni*, *Mimosa luisana* y *Sanvitalia fruticosa*. Localizada en el nivel más alto, de 3.5 a 5 m por encima del nivel basal. La densidad de plantas en los estratos arbustivos y herbáceos es muy baja, dominado en su totalidad por *Sanvitalia fruticosa*.

En un estudio etnobotánico realizado en San Rafael (Rosas, 2003), se determinó un total de 374 especies pertenecientes a 249 géneros y 87 familias botánicas, de las cuales 368 especies fueron registradas con uno o más usos

(18% son usadas como plantas medicinales). Las familias con un mayor número de especies fueron Asteraceae, Cactaceae, Solanaceae, Araceae y Euphorbiaceae, que corresponden a las familias más representativas del Valle de Tehuacán-Cuicatlán.

## **La población**

La comunidad de San Rafael, es relativamente joven. Se fundó a principios del siglo XX y cuenta con 298 habitantes (151 mujeres y 147 hombres). La población joven abarca actualmente el 22% y es en este grupo donde se presenta migración, ya que muchos jóvenes entre 15 y 22 años, abandonan la comunidad en busca de mejores oportunidades educativas, 12% se encuentra en Tehuacán o en la ciudad de Puebla estudiando la licenciatura, 23% trabajan en Estados Unidos, 35% laboran en las maquiladoras de Ajalpa, Tehuacán y Zinacantepec (Censo de Población 2001).

La mayor parte de la población actual es nativa de San Rafael, el 45% proviene de diferentes poblados como Ajalpa, Tecamachalco, San José Tilapa, San Gabriel Casablanca y Cuicatlán, lo que ha permitido, mediante la socialización del conocimiento, un mayor uso de recursos vegetales que no eran empleados en la comunidad (Rosas, 2003)

San Rafael fue fundado hace 85 años, como una hacienda azucarera. Después de la Revolución en 1917, los campesinos recibieron un terreno propio para habitar. Las primeras casas fueron construidas probablemente en la parte más baja del sur de este pueblo, entre la carretera Coxcatlán-Teotitlán y un pequeño río. Más tarde cuando el espacio habitacional se vio limitado, otras casas fueron construidas del otro lado de la carretera. En la actualidad, el poblado se extiende hacia ambos lados de la carretera.

El nivel de educación de la población de San Rafael es muy bajo. Durante las entrevistas, hombres y mujeres fueron cuestionados al respecto. Cerca del 28.9% de los habitantes encuestados (45 personas en total) dijeron no haber ido a la escuela y no saber leer ni escribir. La mayoría (55.6%) tienen estudios de primaria, pero sin terminarla. Un pequeño grupo (8.9%) tiene estudios de secundaria y sólo 6.6% tienen estudios posteriores a la secundaria. En la actualidad, en San Rafael, hay jardín de niños y primaria a la cual acuden todos los niños del poblado. Para asistir a la secundaria, los jóvenes tienen que desplazarse a la cabecera municipal (Coxcatlán) o al poblado más cercano del estado de Oaxaca (Teotitlán del Camino), lo cual les toma alrededor de 30 minutos en autobús (Rosas, 2003).

La red de electricidad se estableció hace 35 años y ahora todas las casas tienen este servicio. Recientemente se instaló el alumbrado público. El pueblo solventa sus necesidades de agua a través de un pequeño canal de irrigación (apancle) que corre por los lados y centro del pueblo. El agua proviene del "Río Salado" y la cantidad de agua depende de las temporadas de lluvia. El agua de este canal es usada principalmente en el riego de los sembradíos de caña de azúcar que están alrededor de la villa y de sus propios huertos. Cuentan con agua durante todo el año y la sequía puede ser ocasional durante los meses de Abril y Mayo. Algunas familias tienen en sus casas tanques para almacenar agua y solucionar su escasez durante los meses problemáticos. Las familias que no cuentan con estas reservas de agua, sí sufren la sequía y las plantas de sus huertos se secan.

Por 15 años, las familias han contado con agua limpia para beber que obtienen por medio de una manguera de hule que baja el agua de la sierra. El agua para beber no se surte todo el día, sólo a intervalos, pero las personas almacenan todo lo necesario para satisfacer sus necesidades. El agua que usan para lavarse o cocinar nunca se desperdicia, es reutilizada mediante la vía de un

sistema ingenioso de pequeños canales de irrigación y minidiques que pasan a los lados de las plantas del huerto. Cada familia paga una cuota fija por el uso de electricidad y agua limpia.

La actividad económica más importante es la agricultura, cuyo principal ingreso proviene del cultivo de la caña de azúcar. También se dedican a la cría de ganado caprino, la recolección de frutos, semillas, leña y madera para diversos fines (Rosas, 2003).

## **CAPÍTULO II**

**ANÁLISIS CUANTITATIVO DEL CONOCIMIENTO TRADICIONAL DE LAS PLANTAS MEDICINALES EN SAN RAFAEL, VALLE DE TEHUACÁN-CUICATLÁN, PUEBLA, MÉXICO.**

**ANÁLISIS CUANTITATIVO DEL CONOCIMIENTO TRADICIONAL DE LAS  
PLANTAS MEDICINALES EN SAN RAFAEL, COXCATLÁN, VALLE DE  
TEHUACÁN-CUICATLÁN, PUEBLA, MÉXICO**

MARGARITA CANALES MARTÍNEZ<sup>1</sup>

TZASNÁ HERNÁNDEZ DELGADO<sup>1</sup>

JAVIER CABALLERO NIETO<sup>2</sup>

ALFONSO ROMO DE VIVAR ROMO<sup>3</sup>

ÁNGEL DURÁN DÍAZ<sup>1</sup>

Y

RAFAEL LIRA SAADE<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Laboratorio de Fitoquímica, Unidad de Biotecnología y Prototipos, Facultad de Estudios Superiores-Iztacala Universidad Nacional Autónoma de México 54090 Tlalnepantla, Edo. Méx. México*

<sup>2</sup>*Jardín Botánico, instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Apartado Postal 70-614, 04510 México, D. F., México*

<sup>3</sup>*Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, 04510 México, D.F., México*

## RESUMEN

En este trabajo se presentan los resultados de un estudio sobre la consistencia y distribución del conocimiento tradicional de la flora medicinal de San Rafael, en el municipio de Coxcatlán. Se efectuaron dos tipos de entrevistas (abierta y estructurada) a 60 informantes. La aplicación de la prueba de ji cuadrada y el coeficiente de Spearman a los datos, revelaron que no existen diferencias significativas en el conocimiento sobre las plantas medicinales y las características personales de los informantes, aunque pudo observarse una tendencia que señala que las personas de mayor edad conocen un mayor número de plantas que los jóvenes. Un análisis de correspondencia mostró que no hay ningún patrón de distribución del conocimiento sobre la flora medicinal y que la variación observada es al azar. El análisis de los datos obtenidos en la entrevista estructurada y ajustados a un modelo lineal frente a los datos de la primera entrevista, mostró que más del 90% de los eventos registrados en la entrevista estructurada son determinados por lo registrado en las entrevistas abiertas. El reducido tamaño del poblado y la sistemática interacción entre sus habitantes, podrían explicar la homogeneidad en el conocimiento tradicional de los pobladores de San Rafael acerca de las propiedades curativas de las plantas.

Palabras clave: etnobotánica, plantas medicinales, conocimiento tradicional. San Rafael, Coxcatlán, Puebla.

## ABSTRACT

This study was directed to document the consistency and distribution of traditional knowledge concerning the medicinal flora at the village of San Rafael, municipality of Coxcatlán. Two types of interviews (free listing and structured) were applied to 60 informants. Data analysis using chi-square and the Spearman coefficient, revealed no significant differences in knowledge on medicinal plants between gender, age, occupation, provenance and residence time in the village.

Nevertheless, it was observed that older people recognized a larger number of plants than the younger one. Correspondence analysis revealed a non-clear pattern in the distribution of the knowledge of medicinal flora. The analysis of the results obtained from structured interviews and adjusted to a linear model versus the results of the first interviews showed the strength and congruence of the traditional knowledge by the inhabitants of San Rafael about medicinal plants. The interviewed informants recognized more than 90% of the species they mentioned in the open interviews and also mentioned the same medicinal use. The size of the village and the systematic interactions between its inhabitants, might explain the homogeneity of the traditional knowledge of San Rafael's residents concerning the healing properties of the plants.

Keywords: ethnobotany, medicinal plants, traditional knowledge, San Rafael, Coxcatlán, Puebla.

## INTRODUCCIÓN

Las comunidades indígenas poseen un profundo entendimiento de su medio ambiente y su ecología (Leonti et al., 2003; Caballero y Cortés, 2001; Cotton, 1997; Casas et al., 1994). Saben de numerosos usos que se les pueden dar a las plantas –por ejemplo como medicinas- (Ankli et al., 2002; Frei et al., 1998; Heinrich et al., 1998). Estos conocimientos constituyen una base importante para la conservación de la biodiversidad global y para su uso sustentable (Frei et al., 1998; Robineau et al., 1996).

Las plantas curativas son el recurso terapéutico por excelencia de la medicina tradicional mexicana, que en gran parte es aún rescatable y puede constituir un importante elemento para implementar nuevos planes de salud, que combinen el conocimiento popular con el científico (Argueta y Cano, 1994).

El Valle de Tehuacán-Cuicatlán merece especial atención, porque esta región es una de las reservas bióticas más relevantes de México. En 10 000 km<sup>2</sup> de superficie, probablemente posee la mayor diversidad biológica (2700 especies de plantas vasculares) de las zonas áridas de Norteamérica (Casas et al., 2001). En esta zona prospera entre el 10 y 11.4% de la flora mexicana, con 365 especies endémicas que representan 13.9% del total, mientras que más de 25% de las plantas vasculares del valle se usa por diferentes comunidades humanas que habitan la región. Por otro lado, el Valle de Tehuacán-Cuicatlán también posee una importante diversidad cultural (Dávila, 2002).

San Rafael, es un poblado que pertenece al municipio de Coxcatlán, que se localiza dentro del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, en el estado de Puebla. El sitio es objeto de una línea de investigación etnobotánica regional, que pretende conocer la condición actual de los recursos naturales, así como el proceso de cultivo, manipulación y domesticación de plantas, encaminado para proveer herramientas de manejo para el uso y preservación de los recursos naturales dentro de la Reserva de la Biosfera (Lira, 2001). En la comunidad de San Rafael se ha

realizado un trabajo sobre la flora útil (Rosas, 2003) y otro sobre la composición, manejo y uso de los vegetales de los huertos (Blanckaert et al., 2004). La presente contribución ha sido la base para realizar un estudio sobre la fitoquímica en relación con el uso tradicional de las plantas medicinales de esta región (Canales et al., 2005)

En el curso de la investigación etnobotánica surge la necesidad de verificar los datos recopilados durante las entrevistas con los informantes, para evitar confusiones al momento de coleccionar las plantas y documentar el uso preciso que se les da en la región, este es uno de los aspectos más difíciles para la recolección de datos. Se ha visto que las inconsistencias internas, pueden ser detectadas cuando a un individuo se le presentan las mismas especies en varias ocasiones (Cotton, 1997). En años recientes, se han publicado algunos estudios cuantitativos sobre la etnobotánica de las plantas medicinales (Alcorn, 1984; Friedman et al., 1986; Moerman, 1999; Frei et al., 1998) pero sólo algunos de ellos (Friedman et al., 1986; Frei et al., 1998) analizan sus datos con respecto a la importancia cultural de las plantas dentro de una cultura específica.

El objetivo de este trabajo fue obtener un inventario de las especies medicinales y documentar la forma de uso que les dan los habitantes de San Rafael. Adicionalmente, se analizó si existía alguna variación del conocimiento sobre las plantas (tanto interna de cada informante, como entre la población) que utilizan como medicinales, es decir se analizó la consistencia y distribución del conocimiento tradicional de la flora medicinal entre la población de San Rafael, con respecto a las características personales de los informantes.

## ÁREA DE ESTUDIO

San Rafael, municipio de Coxcatlán, Puebla, se localiza al sureste de Tehuacán, en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, entre 18°12' y 18°14' de latitud

norte, así como 97°07' y 97°09' de longitud oeste, con un rango de altitud de 957 a 1400 m.s.n.m. (Fig. 1). El clima es de tipo Bs1(h')w"(w)eg de acuerdo con la clasificación de Koeppen, modificado por García (1981), el cual corresponde a un tipo seco o árido con lluvias en verano y temperatura media anual de 22°C, variando entre 25°C en abril y mayo, y 18°C en enero (Medina, 2000). La vegetación predominante es un bosque tropical caducifolio, donde *Escontria chiotilla* (F. A. C. Weber) Rose y *Pachycereus weberi* (J. Coulter) Backeb son particularmente abundantes (Valiente-Banuet et al., 2000).

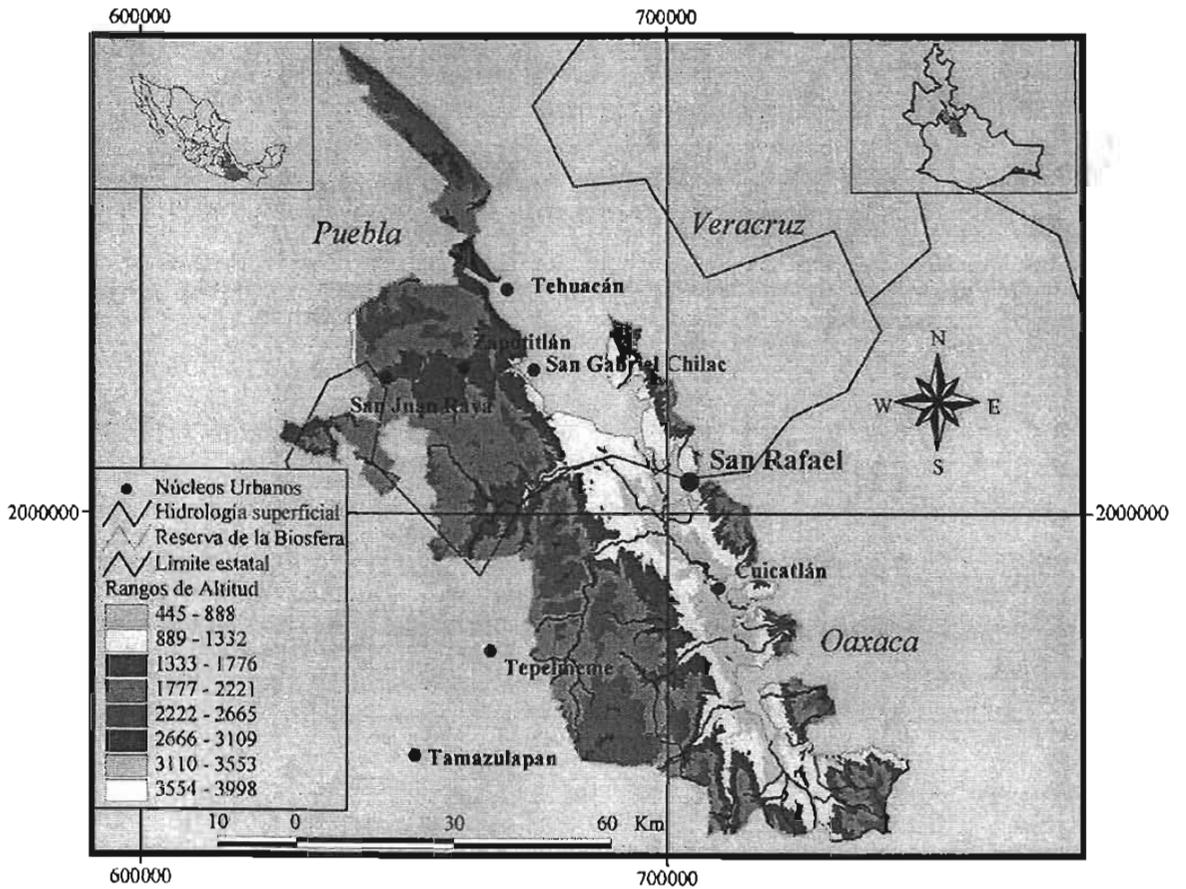


Fig. 1. Ubicación geográfica del poblado de San Rafael.

La comunidad de San Rafael, es relativamente de poca antigüedad. Se fundó a principios del siglo XX (Rosas, 2003) y cuenta con 298 habitantes (151 mujeres y 147 hombres) (Anónimo, 2001). La población joven abarca actualmente 22% del total, este grupo es el más afectado por la emigración, ya que muchos lugareños entre 15 y 22 años abandonan la comunidad en busca de mejores oportunidades educativas (12% se encuentra en Tehuacán o en la ciudad de Puebla estudiando la licenciatura) y de trabajo (23% trabajan en Estados Unidos, 35% laboran en las maquiladoras de Ajalpa, Tehuacán y Zinacantepec) (Anónimo, 2001). La actividad económica más importante es la agricultura, cuyo principal ingreso proviene del cultivo de la caña de azúcar. Los campesinos de la comunidad también se dedican a la cría de ganado caprino, la recolección de frutos, semillas, leña y madera para diversos fines (Rosas, 2003). Esta comunidad únicamente cuenta con una casa de salud, donde una enfermera ofrece servicios muy básicos y vigila el crecimiento de los niños menores de 3 años, además de coordinar las campañas de vacunación (Rosas, 2003).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Recopilación de la información etnobotánica

Los datos para este trabajo fueron recabados de mayo 2001 a abril de 2002 y se obtuvieron de un total de 60 personas (45 mujeres y 15 hombres).

Se realizaron dos entrevistas a cada informante, la primera de las cuales fue abierta y en ella se tomaron sus datos personales (ocupación, edad, ubicación de su domicilio, escolaridad, lugar de origen y tiempo viviendo en San Rafael), además de los relativos a las plantas medicinales que usan, a la forma de usarlas y a los padecimientos que tratan con ellas.

Para confirmar y ampliar la información obtenida de esta manera, seis meses después, los mismos informantes fueron sometidos a la segunda entrevista (entrevista estructurada), con la cual se buscaba determinar si reconocían y asignaban el mismo uso a las especies mencionadas por ellos con anterioridad. En este caso, se usó como ayuda visual un catálogo de ejemplares secos y prensados de cada una de las especies medicinales, así como imágenes de las plantas vivas que se les presentaron en una computadora portátil.

Los especímenes usados para la segunda entrevista fueron colectados en el pueblo de San Rafael y sus alrededores. Para ello, se hicieron caminatas con algunos de los informantes, con la finalidad de localizar de manera inequívoca las plantas en cuestión. Un juego completo de estos materiales se depositó en el herbario de la Facultad de Estudios Superiores de Iztacala (IZTA) y duplicados en el herbario Nacional del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México (MEXU).

Es importante señalar que las recolecciones se llevaron a cabo con el permiso del Instituto Nacional de Ecología de México y que no se conservó ningún material vivo. Cada visita al poblado se hizo con el consentimiento de las autoridades de San Rafael y los datos etnobotánicos recabados fueron proporcionados voluntariamente por los informantes entrevistados.

#### Análisis estadísticos

La prueba de ji cuadrada ( $X^2$ ) se usó para determinar si existía una relación significativa entre el número de plantas medicinales mencionadas por las personas en la entrevista abierta y las reconocidas (nombre y/o usos) en la entrevista estructurada. La prueba se hizo considerando el género, la edad, el lugar de origen, la ocupación y la ubicación de la vivienda en el poblado de los informantes. Adicionalmente, se calculó el coeficiente de correlación de Spearman para determinar si existía relación entre la edad y el tiempo de residencia de estas personas respecto a la cantidad de plantas medicinales de su cognición.

Se ajustó un modelo logarítmico para definir la relación entre el número de especies mencionadas por los informantes durante la entrevista abierta y el número de especies reconocidas (sólo el nombre) en la entrevista estructurada. Posteriormente, se usó un modelo lineal para determinar la relación entre el número de especies mencionadas en la entrevista abierta y el número de especies reconocidas como medicinales (nombre y forma de uso) en la entrevista estructurada.

Con los datos obtenidos de la entrevista estructurada, se construyó una matriz de caracteres binarios (1 el informante reconoce a la planta como medicinal; 0 no la reconoce como medicinal). Con base en esta matriz se hizo un análisis de ordenación por correspondencia, para determinar si existía algún patrón en la distribución del conocimiento sobre la flora medicinal. Es decir, si existía uno o más grupos de personas con determinadas características que conocieran más plantas medicinales. La matriz se formó de 60 columnas (representando a los 60 informantes) y 46 renglones (representando a las especies de plantas medicinales). El análisis se realizó utilizando la versión 2.0 del paquete estadístico NTSYS (Rohlf, 1997).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Informantes y flora medicinal

Las personas entrevistadas proporcionaron información de 46 especies medicinales usadas para el tratamiento de diferentes enfermedades (Cuadro 1), misma que pertenecen a 28 familias y 46 géneros de plantas vasculares (Cuadro 2). La familia Asteraceae es la que presentó el mayor número de registros, lo cual no es tan sorprendente, pues se trata del grupo mejor representado en la flora de la zona (Rosas, 2003) y, concuerda con lo encontrado al respecto por Moerman et

al. (1999). 47.8% de las especies son silvestres, 28.2% se cultivan en los huertos, mientras 23.9% son plantas medicinales que se adquieren en mercados. La alta proporción de plantas silvestres empleadas por la gente de San Rafael, es una muestra de la fuerte dependencia que se tiene en esa comunidad de su entorno vegetal natural para aliviar diversos malestares.

Cuadro 1. Datos personales de los informantes entrevistados y número de especies mencionadas y reconocidas.

Ubicación del domicilio	Género	Edad	Escolaridad	Ocupación	Lugar de Origen	Años de residencia en San Rafael	Número de plantas mencionadas <sup>a</sup>	Número de plantas reconocidas <sup>b</sup>	Número de plantas reconocidas <sup>c</sup>
1 N	M	36	Prim	H	SRC	36	3	27	19
2 N	H	45	Prim	C/J	Pue	6	11	27	16
3 N	M	39	Prim	H	Oax	21	13	30	18
4 V	H	30	Sin	A	Oax	0.5	0		
5 V	M	49	Prim	H/T	Pue	3	7	23	16
6 V	M	41	Sin	H	Oax	21	9	35	28
7 V	M	26	Prim	H	Oax	4	8	28	22
8 V	M	72	Sin	H	SRC	72	10	30	25
9 N	M	48	Prim	C	Pue	45	5	31	23
10 N	M	43	Prim	H	Pue	25	7	35	28
11 N	M	50	Prim	H	SRC	53	10	29	23
12 N	M	69	Sin	H	Pue	60	5	19	15
13 N	M	24	Sin	H	Pue	7	6	19	11
14 V	M	31	Bach	H	SRC	31	4	20	12
15 N	M	53	Prim	H	SRC	53	7	29	23

16 N	M	38	Sec	H/S	Oax	28	2	34	25
17 N	M	24	Sin	H	Pue	7	5	19	11
18 N	M	26	Sec	H	Pue	25	1	4	2
19 N	M	48	Sin	H	Pue	8	10	13	13
20 N	M	40	Prim	H	SRC	40	4	27	19
21 N	M	30	Prim	H	SRC	30	2	27	18
22 N	M	42	Prim	H	SRC	42	6	33	22
23 V	M	15	Prim	H	SRC	15	2	2	2
24 V	H	51	Prim	C	SRC	51	4	3	3
25 V	M	29	Prim	H	SRC	29	8	13	10
26 V	H	35	Sec	C	Pue	8	3	2	2
27 V	M	67	Sin	H	Oax	66	8	30	18
28 V	H	71	Sin	C	SRC	71	5	32	17
29 V	M	30	Bach	H	SRC	30	10	31	23
30 V	M	75	Sin	H	Oax	63	16	30	21
31 V	H	65	Sin	C	SRC	65	8	35	28
32 V	M	31	Prim	H	SRC	31	4	3	3
33 V	M	33	Sin	H	Oax	18	6	27	17
34 V	H	39	Prim	C	Oax	37	6	5	5
35 V	M	57	Prim	H	SRC	57	15	35	26
36 V	M	34	Prim	H	Pue	14	9	21	12
37 V	M	57	Prim	H	Pue	53	14	34	23
38 V	H	33	Prim	C	Pue	17	5	4	4
39 V	M	33	Sin	H	Pue	20	13	11	11
40 N	M	19	Sec	H	SRC	19	12	24	14
41 N	H	11	Prim	E	Pue	8	6	27	13
42 N	M	39	Prim	H	pue	8	18	36	27
43 N	H	48	Prim	C	Oax	20	9	14	7
44 N	M	32	Lic	H	SRC	32	13	27	16
45 V	M	12	Prim	E	Pue	3	4	11	6
46 V	M	53	Prim	H	SRC	53	11	25	19
47 V	M	56	Prim	H	Oax	40	26	35	28

48 V	M	63	Prim	H	SRC	63	11	23	15
49 N	M	18	Sec	H	SRC	18	13	25	14
50 V	H	34	Prim	C	Pue	18	6	4	4
51 N	H	49	Prim	C	Pue	46	5	31	25
52 V	M	32	Prim	H	SRC	32	4	20	12
53 N	H	13	Prim	E	SRC	13	9	27	10
54 V	M	54	Prim	H	Pue	53	16	33	22
55 N	M	40	Sin	H	Pue	8	11	14	14
56 N	M	39	Prim	H	Pue	25	7	35	28
57 V	M	49	Prim	H	Pue	3	7	23	16
58 V	H	60	Sin	C	SRC	60	7	35	28
59 N	M	36	Prim	H	SRC	36	4	27	19
60 V	M	59	Prim	H	Oax	40	26	35	27

Género: M: mujer; H: hombre. Escolaridad: Sin: sin escolaridad; Prim: primaria; Sec: secundaria; Bach: bachillerato; Lic: licenciatura. Ocupación: H: hogar; C:campesino; A: albañil; T: tienda; J: juez; S: casa de salud; E: estudiante. Lugar de origen: SR: San Rafael; Pue: Estado de Puebla; Oax:Estado de Oaxaca. Ubicación del domicilio: N parte nueva; V parte vieja del poblado. <sup>a</sup> Plantas mencionadas en la entrevista abierta. <sup>b</sup> Plantas reconocidas sólo por el nombre durante la entrevista estructurada. <sup>c</sup> Plantas reconocidas como medicinales (nombre y uso) durante la entrevista estructurada.

Cuadro 2. Especies usadas en la medicina tradicional de San Rafael Coxcatlán.

Familia	Enfermedad	Parte usada	Forma de uso
Especie			
Nombre común			
<b>Acanthaceae</b>			
<i>Gypsacanthus nelsonii</i> E.J. Lott, V. Jaram. & Rzed. Hierba de la tiricia <sup>a</sup>	Tiricia	PA	Se adorna la planta con papel y globos rojos, se lleva al niño con tiricia y se le hace bailar y abrazar a la planta.
<b>Agavaceae</b>			
<i>Agave stricta</i> Salm-Dyck Magueicillo <sup>a</sup>	Deje de sangrar la herida	PA	Se corta la penca y la pulpa se coloca sobre la herida.
<b>Amaryllidaceae</b>			
<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f. Sábila <sup>b</sup>	Irritación en los ojos, quemadas, torceduras, heridas, tos, anginas Diabetes	PA	Se abre y se asa la penca, se coloca sobre la parte afectada.  Con la pulpa se hace un licuado y se toma en ayunas.
<b>Anacardiaceae</b>			
<i>Schinus molle</i> L. Coabino o pirul <sup>b</sup>	Baño para las parturientas  "Aire"	PA	Se pone a hervir con el agua con que se va a bañar a la señora. Se pone una ramita bajo la ropa o atrás de la oreja.
<i>Cyrtocarpa procera</i> Kunth Chupandilla <sup>a</sup>	Dolor de niños	C	Se prepara un té con la corteza de la chupandilla combinada con la biznaga y el cuachalala, se toma como agua de tiempo.
<b>Asclepiadaceae</b>			
<i>Asclepias linaria</i> Cav. Romero de monte <sup>c</sup>	Baño de parturientas  Cólicos, espanto	PA	Se pone a hervir en el agua del baño de las señoras. Té, tomado.
<b>Asteraceae</b>			
<i>Artemisia absinthium</i> L. Hierba maestra <sup>c</sup>	Estómago, parturientas Cólicos, bilis	PA	Té, se toma una tacita en ayunas.

<i>Flaveria trinervia</i> (Spreng.) C. Mohr Hierba del sapo <sup>a</sup>	Disentería, gastritis Infección de una herida	PA	Té, se toma como agua de tiempo. Té, se lava la herida infectada.
<i>Gymnosperma glutinosum</i> (Spreng.) Less. Popote <sup>a</sup>	Diarrea	PA	Té, tomado.
<i>Matricaria recutita</i> L. Manzanilla <sup>c</sup>	Diarrea, alfericia, garganta, gripa Irritación en los ojos	PA	Té, como agua de tiempo.  Té, se lavan los ojos.
<i>Montanoa tomentosa</i> Cerv. Acahuite <sup>a</sup>	Bebés enfechados	PA	Los retoños de las hojas se ponen en un cascarón con leche materna, se acercan a las brazas hasta que hierva y se les da a los bebés. Para un niño se usa leche de la mamá de una niña y viceversa.
<i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. Santa María <sup>c</sup>	Parturientas	PA	Se pone a hervir en el agua de su baño.
<i>Verbesina crocata</i> (Cav.) Less. Árnica <sup>b</sup>	Diarrea, coraje Parturientas, para restaurar la cadera Infección de una heridas, ronchas, quemadas Garganta	PA	Té, se toma como agua de tiempo. Se pone a hervir con el agua de su baño.  Té, se lava la parte afectada.
<i>Viguiera dentata</i> (Cav.) Sprengel Chimalacate <sup>a</sup>	Parturientas, chincual  Piquetes de hormiga	PA	Té, se hacen gárgaras. Se pone a hervir con el agua de su baño.  Se restriega una hoja directamente en el piquete.
<b>Bombacaceae</b> <i>Ceiba parvifolia</i> Rose Pochote <sup>a</sup>	Diabetes, dolor de riñones, tumores, gastritis Infección de una herida	C	Té, se toma como agua de tiempo.  Té, se lavan las heridas infectadas; también se pulveriza la corteza seca y se coloca ese polvo directo sobre la herida.
<b>Boraginaceae</b> <i>Borago officinalis</i> L.	Tos, garganta, gripe	PA	Té con leche, se toma muy dulce de preferencia

Borraja <sup>c</sup>				por la noche
<b>Burseraceae</b>				
<i>Bursera arida</i> (Rose) Standley	Infección de una herida,	L		Se hace un corte al tronco de la planta y “el juguito” que escurre, se coloca directo sobre la
Aceitillo <sup>a</sup>	fuegos, algodoncillo, granos en la piel			parte afectada
<b>Cactaceae</b>				
<i>Hylocereus undatus</i> (Haw.) Britton & Rose	Gripe	PA		Se prepara un té y se toma como agua de tiempo
Pitahaya <sup>b</sup>				
<i>Ferocactus latispinus</i> (Haw.) Britton & Rose	Dolor de riñones	PA		Té, combinado con la corteza de chupandilla y cuachalala. Se toma como agua de tiempo.
Biznaga <sup>a</sup>				
<i>Opuntia</i> sp.	Diabetes	PA		Licuada en ayunas.
Nopal <sup>b</sup>				
<b>Chenopodiaceae</b>				
<i>Chenopodium murale</i> L.	Alforra	PA		Se pone a hervir la planta y se hace una bolita que se coloca en el ano del bebé
Chaguaquelite <sup>a</sup>				
<b>Cyperaceae</b>				
<i>Cyperus hermaphroditus</i> (Jacq.) Standl.	Cólicos	R		Té, como agua de tiempo
Piomía <sup>a</sup>	Alfericia			Se esculpe una cruz con la raíz y se cuelga al cuello del niño con alfericia.
<b>Equisetaceae</b>				
<i>Equisetum hyemale</i> L.	Dolor de riñones	PA		Té, se toma como agua de tiempo
Cola de iguana o Cola de caballo <sup>c</sup>				
<b>Euphorbiaceae</b>				
<i>Acalypha hederacea</i> Torr.	Parturientas	PA		Se usa en el baño de las señoras.
Hierba del pastor <sup>a</sup>	Granos, infección de una herida, inflamación.			Té, se lava y se ponen fomentos en la parte afectada.
<i>Cnidoscolus chayamansa</i> Mc Vaugh	Diabetes, inflamación	H		Té, tomado como agua de tiempo.
Chaya <sup>b</sup>				
<i>Jatropha neopauciflora</i> Pax	Fuegos, infección de una herida, dientes	L		Se hace una herida a la planta y el látex se pone directamente sobre la parte afectada.
Sangre de grado <sup>a</sup>				

<i>Ricinus communis</i> L. Higuerilla <sup>a</sup>	Pecho, empacho, calentura	H	Se unta la espalda y abdomen con manteca y luego se coloca una hoja que cubra toda la región.
<b>Julianiaceae</b>			
<i>Juliania adstringens</i> (Schldl.) Schldl. Cuachalala <sup>a</sup>	Diabetes, dolor de riñones, tumores, gastritis Infección de una herida	C	Té, se toma como agua de tiempo.  Té, se lavan las heridas infectadas; también se pulveriza la corteza seca y se coloca ese polvo directo sobre la herida.
<b>Lamiaceae</b>			
<i>Mentha x piperita</i> L. Hierbabuena <sup>b</sup>	Estómago, parásitos, gripe	PA	Té, como agua de tiempo
<i>Marrubium vulgare</i> L. Marrubio <sup>c</sup>	Diarrea, berrinche, dolor. Infección de una herida	PA	Té, en ayunas. La herida se lava con el té.
<i>Ocimum basilicum</i> L. Albahácar <sup>b</sup>	Garganta, parásitos, diarrea, dolor de estómago Aire	PA	Se prepara un té y se toma lo más seguido posible. Se pone una ramita bajo la ropa a la altura del pecho.
<b>Mimosaceae</b>			
<i>Mimosa luisana</i> Brandegee Uña de gato <sup>a</sup>	Diabetes.	PA	Té, como agua de tiempo.
<i>Prosopis laevigata</i> (Humb. & Bonpl. ex Willd.) M. C. Johnston Mezquite <sup>b</sup>	Parturientas Empacho Irritación de ojos	PA	Se pone a hervir con el agua de su baño Té con los retoños y se toma. Té, se toma y se lavan los ojos
<b>Myrtaceae</b>			
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill. Eucalipto <sup>c</sup>	Tos	PA	Té, se toma
<i>Psidium guajava</i> L. Guayabo <sup>b</sup>	Diarrea, disentería	H	Té, como agua de tiempo
<b>Nyctaginaceae</b>			
<i>Bougainvillea spectabilis</i> Willd. Bugambilia <sup>p</sup>	Tos y gripa  Tristeza de niños	F	Té, con la flor morada, se toma a cualquier hora del día Las flores rojas las avienta el niño al apancle y

					al irse con el agua las flores, también se va la tristeza.
<b>Papaveraceae</b>					
<i>Argemone mexicana</i> L.	Perrillas	L			Se corta una rama y se coloca el látex directamente en el ojo.
Chicalote <sup>a</sup>					
<b>Piperaceae</b>					
<i>Piper auritum</i> Kunth	Abortivo	H			Té, en ayunas
Hoja santa <sup>b</sup>					
<b>Rosaceae</b>					
<i>Rosa certifolia</i> L.	Irritación en los ojos, granos en la cara, cólico	F			Té, tomado y se lava la parte afectada.
Rosa de Castilla <sup>c</sup>					
<b>Rutaceae</b>					
<i>Ruta chalepensis</i> L.	Diarrea, garganta, cólicos, coraje	PA			Té, se puede tomar en ayunas.
Ruda <sup>b</sup>	Tiricia, aire, dolor de cabeza				Se pone una ramita tras la oreja.
<b>Selaginellaceae</b>					
<i>Selaginella lepidophylla</i> (Hook. & Grev.) Spring	Dolor de riñones	PA			Té, como agua de tiempo
Siempre viva o doradilla <sup>a</sup>					
<b>Simaroubaceae</b>					
<i>Castela tortuosa</i> Liebm.	Diabetes, berrinche, presión	PA			Té, como agua de tiempo.
Venenillo <sup>a</sup>					
<b>Solanaceae</b>					
<i>Margaranthus solanaceus</i> Schlttdl.	Diabetes, bilis.	H			Té, en ayunas.
Totomache <sup>a</sup>	Berrinche				A los niños berrinchudos se les da una hoja a masticar.
<i>Physalis</i> sp.	Garganta	FR			Se asan y se colocan calientes como cataplasma sobre la garganta.
Tomate verde <sup>c</sup>					
<b>Turneraceae</b>					
<i>Turnera diffusa</i> Willd.	Diarrea, cólicos	PA			Té, como agua de tiempo.
Itamo real <sup>c</sup>					

## Verbenaceae

*Lippia graveolens* Kunth Diarrea, pecho, abortivo, dolor PA  
Orégano<sup>a</sup> de estómago, cólicos.

Té, se toma en ayunas y durante el día.

---

<sup>a</sup>Plantas silvestres (47.8%); <sup>b</sup>Plantas cultivadas en los huertos (28.2%); <sup>c</sup>Plantas adquiridas en los mercados (23.9%). Parte usada: C: corteza; F: flor; FR: fruto; H: hojas; L: látex; PA: parte aérea; R: raíz.

## Relación entre el conocimiento y las características de los informantes

Las pruebas de ji cuadrada no arrojaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en ninguno de los casos en que se aplicaron. Esto significa que el número de plantas que conocen las personas de San Rafael, no está relacionado ni con la zona del pueblo donde viven, ni con su género, escolaridad, ocupación o lugar de origen. No obstante, se observan ciertas tendencias en algunos casos. Así, se tiene que las mujeres conocen un mayor número de plantas medicinales, lo cual, de acuerdo con Boster (1985), es posiblemente atribuible a la división que existe usualmente del trabajo intelectual y físico entre hombres y mujeres en comunidades rurales. Este mismo comportamiento fue registrado por Hernández et al. (2003), quienes realizaron un estudio sobre las plantas medicinales utilizadas en la cercana población de Zapotitlán de las Salinas, Puebla, para aliviar enfermedades gastrointestinales. Otra tendencia observada, a pesar de no ser estadísticamente significativa, consistió en que las personas sin escolaridad también conocieron más plantas medicinales, lo cual posiblemente se deba a que este grupo de habitantes es el que mantiene una mayor dependencia en el uso de las plantas para la curación de sus padecimientos más comunes.

La no significancia de la relación entre el conocimiento de los informantes y el sitio de ubicación de sus viviendas, es fácil de explicar, pues San Rafael es una población muy pequeña, con dos zonas de vivienda separadas únicamente por una franja de carretera y cuyos habitantes en muchos casos están emparentados entre sí. Adicionalmente, se observó que la gente de San Rafael realiza muchas actividades conjuntas de mejora para el poblado y esto les da oportunidad de intercambiar ideas y con ello, probablemente, de establecer un flujo de información. Tal hecho podría explicar también la nula significancia del lugar de origen en el conocimiento de los informantes.

Los coeficientes de correlación de Spearman revelaron una correlación baja, aunque estadísticamente significativa, entre el conocimiento de los informantes y su edad, así como el número de años de su residencia en el sitio. Se encontró que las personas de mayor edad ( $r = 0.55$ ;  $p = 8.0 \times 10^{-6}$ ) y con mayor

antigüedad en el poblado ( $r=0.45$ ;  $p=3.77 \times 10^{-4}$ ), son quienes conocen más plantas de uso medicinal (Fig. 2). En dicha figura, se observan que entre estas dos variables la tendencia de los puntos es directa. Lo anterior coincide con lo indicado por Garro (1986), quien sugiere que el conocimiento y la experiencia respecto a la enfermedad suelen aumentar con la edad.

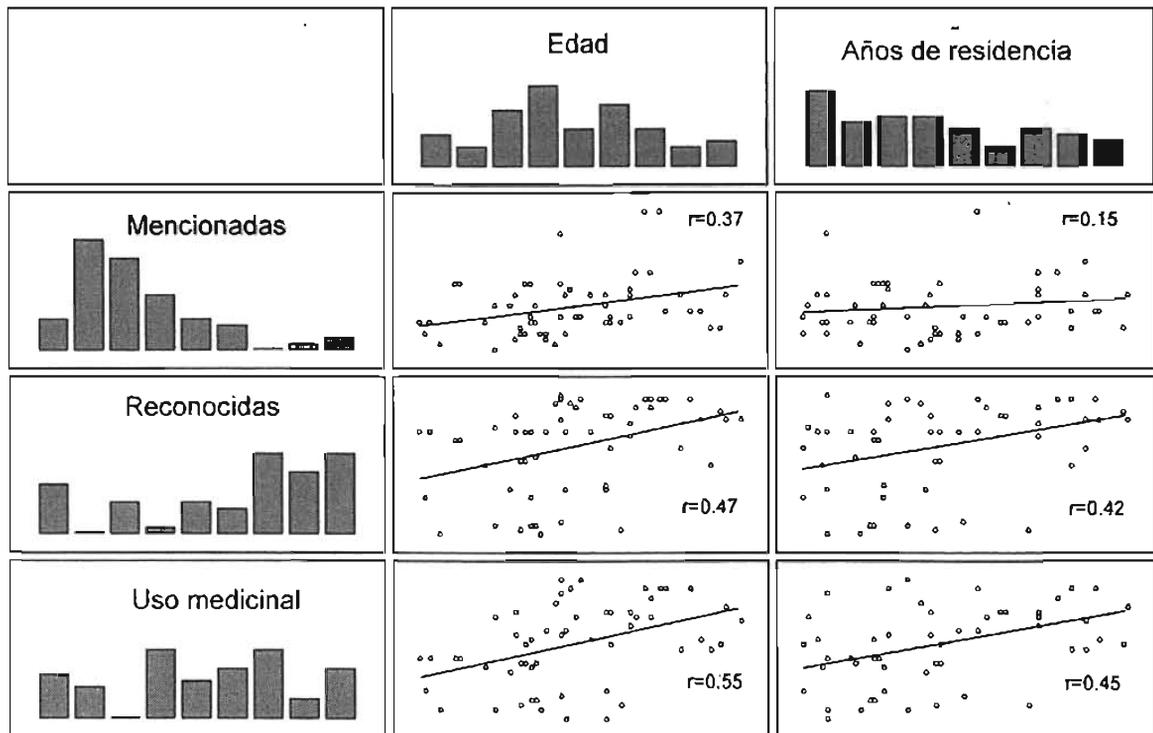


Fig. 2. Relación entre el número de plantas medicinales mencionadas en la entrevista abierta, el número de plantas reconocidas en la entrevista estructurada (sólo el nombre) y el número de plantas reconocidas como medicinales (nombre y uso) en la entrevista estructurada con la edad de los informantes y los años de residencia en San Rafael. Las barras representan los histogramas de cada uno de los grupos de datos manejados en cada recuadro.

El modelo que explicó la relación entre el número de plantas mencionadas en la entrevista abierta y las plantas que reconocían (sólo el nombre) en la entrevista estructurada, fue de tipo logarítmico ( $y=14.057\ln(x)-6.9898$ ) y presentó un coeficiente de determinación de  $r^2=0.6177$ . Este modelo indica que el número de especies mencionadas durante la entrevista estructurada, está determinada en 61.77 por el número de especies mencionadas en la entrevista abierta (Fig. 3).

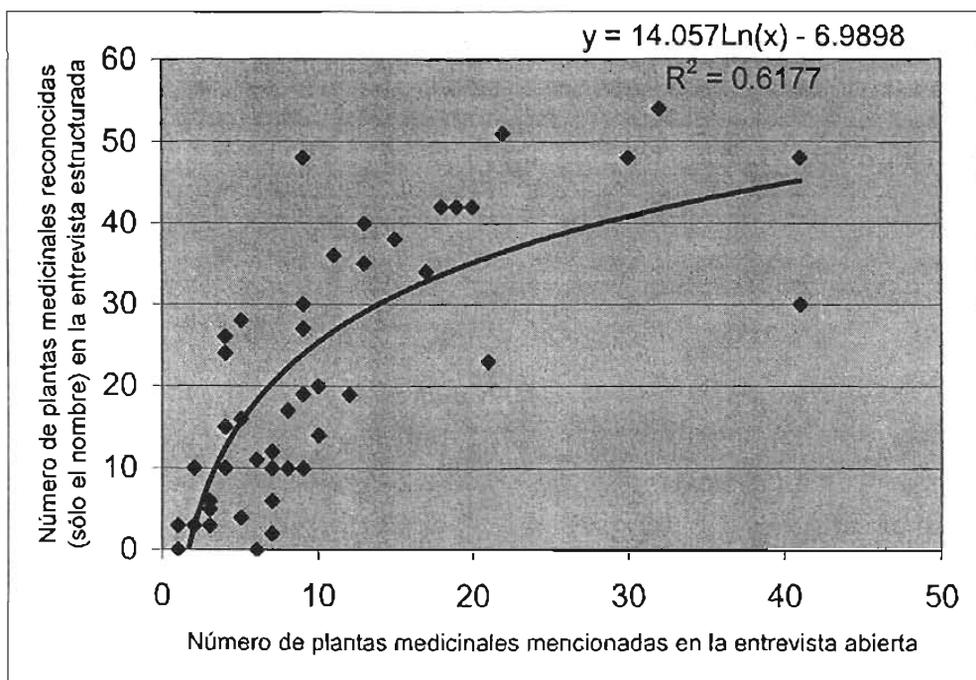


Fig. 3. Modelo determinado entre el número de especies mencionadas en la entrevista abierta y el número de especies reconocidas (sólo el nombre) en la entrevista estructurada por los informantes.

La relación entre el número de especies mencionadas en la entrevista abierta y el de las reconocidas como medicinales (nombre y uso) en la entrevista estructurada (Fig. 4), se ajustó a un modelo lineal ( $y=0.862x-0.8598$ ) con un coeficiente de determinación de  $r^2=0.9262$ , con lo cual se confirmó que 92.62% de los eventos registrados en la entrevista estructurada son determinados con lo registrado en las entrevistas abiertas. Lo anterior confirma la consistencia en el conocimiento que tienen los informantes sobre las plantas medicinales que mencionaron en la primera entrevista. El porcentaje ignorado se debió posiblemente a las características del estímulo, ya que en las primeras entrevistas estructuradas sólo se mostró un catálogo con ejemplares secos y montados. Puesto que se observó que los informantes tenían dificultad para reconocer las plantas preservadas de esta manera, se optó en las siguientes entrevistas por mostrar además su imagen, con lo que se observó que se distinguían fácilmente los ejemplares. Tal experiencia concuerda con lo citado por Boster (1985), quien señala que el estímulo debe ser adecuado y real. Con este modelo, entonces, se confirmó que las personas entrevistadas sí mencionaron en la entrevista abierta las plantas que realmente conocen.

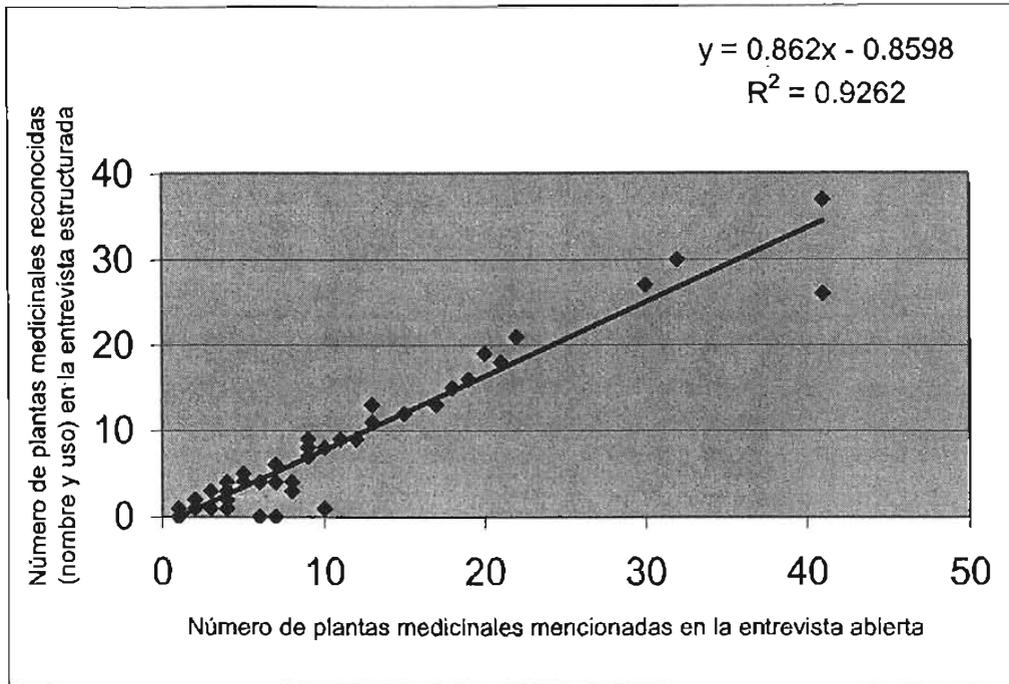


Fig. 4. Relación entre el número de especies mencionadas en la entrevista abierta y número de especies reconocidas con uso medicinal (nombre y uso) en la entrevista estructurada.

Con el análisis de ordenación por correspondencia (Fig. 5) se pudo confirmar que no hay ningún patrón de distribución en cuanto al conocimiento que tiene la gente de San Rafael sobre su flora medicinal. Es decir, que no existe ningún grupo de personas que conozca un mayor o menor número de plantas medicinales. En el centro de la gráfica se localizan los informantes que registraron el consenso más alto. En la parte superior se observa que se separan los informantes 31, 47, 58 y 60, pues fueron los únicos que reconocieron a la chupandilla (*Cyrtocarpa procera*) y a la biznaga (*Ferocactus latispinus*) como medicinales, además de referir que utilizan a ambas plantas a la vez en una infusión para aliviar males del riñón.

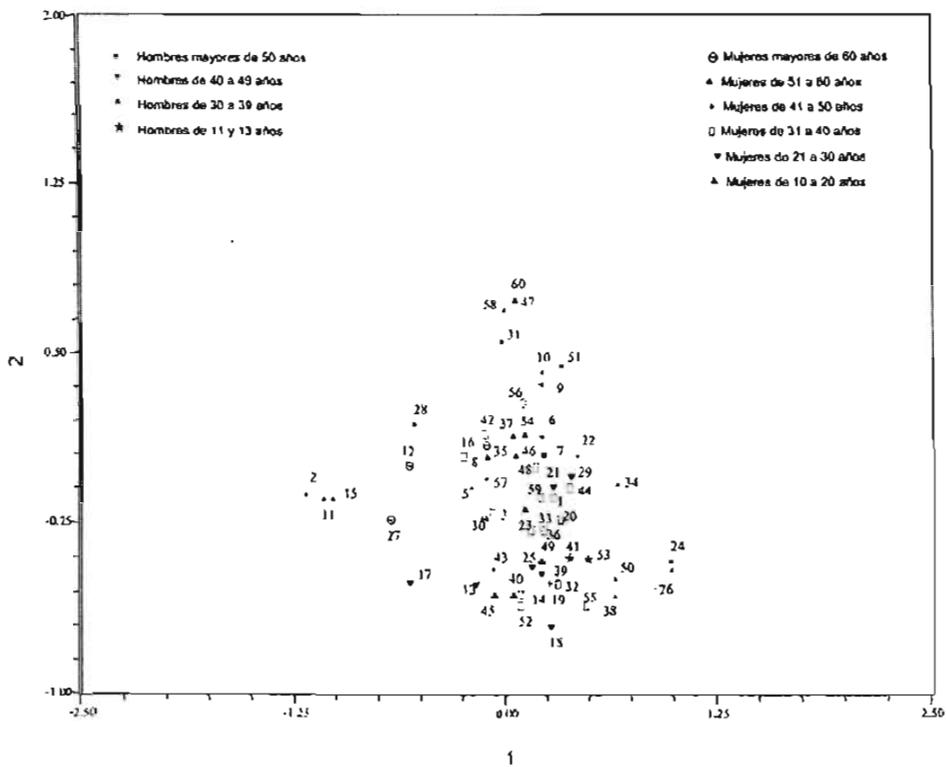


Fig. 5. Análisis de correspondencia de los informantes realizado con los datos de la entrevista estructurada. Los números corresponden a cada uno de los informantes.

El hecho de que no haya ningún patrón en cuanto a la distribución del conocimiento entre la población de San Rafael sobre las plantas medicinales, se debe probablemente a que en este poblado existe una institución comunitaria que crea un espacio en el cual el conocimiento se comparte, ya que periódicamente se realizan reuniones a las cuales es obligatorio que asista el representante de cada familia. En estas juntas se exponen y resuelven los problemas más importantes de la comunidad y dado que son puntos muy importantes los que se tratan, si alguna persona no asiste, se le aplica un castigo que consiste en pasar uno o varios días en la cárcel del pueblo. La junta es organizada y dirigida por el Juez de Paz, quien controla la asistencia de cada miembro representante de familia. Además de estas reuniones, se realizan otras a las que asiste la mayoría de las mujeres responsables de familia y en las que se decide la manera en que se distribuyen los apoyos que aportan diferentes instituciones, principalmente para resolver problemas de salud. Lo anterior, unido al hecho de que muchas personas están emparentadas entre sí, propicia que exista una intensa comunicación entre todas las familias de San Rafael.

Otra razón de este compartimiento cultura, consiste en que el pueblo está formado por una comunidad mestiza que ha incorporado dos elementos de conocimiento de medicina herbolaria, uno obtenido de la experimentación sobre elementos de la flora local y el otro relacionado con plantas traídas hace siglos para tal propósito de España, saber que sigue vigente en todo el país.

Las diferencias en el conocimiento que están relacionadas con el género y edad no son tan importantes, parece ser que sólo son diferencias debidas a la idiosincrasia. En esta comunidad se ha llevado a cabo una socialización de la información, porque aun cuando el lugar de origen de las personas es diferente y el pueblo está dividido en dos zonas bien marcadas por la franja de carretera, no hay discrepancias significativas en el conocimiento y uso de su flora medicinal.

## AGRADECIMIENTOS

Estamos muy agradecidos con la gente de San Rafael, por la información que nos ofrecieron sobre su flora medicinal, por su amistad y hospitalidad; al Dr. Marco Aurelio Rodríguez M. y a la M. en C. Rocío Rosas L. por su gran apoyo en el trabajo de campo; al Dr. Oswaldo Téllez V. por las observaciones realizadas al escrito original; a la Dra. Isabelle Blanckaert por la corrección del resumen en inglés; al Dr. Raymundo Montoya A. por el diseño de la figura del mapa. Esta investigación fue financiada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través del proyecto CONACYT 400389G35-450, bajo la responsabilidad del último autor durante los años 2001 al 2004.

## LITERATURA CITADA

- Alcorn, J. B. 1984. Huastec Mayan ethnobotany. University of Texas Press, Austin, TX. 982 pp.
- Ankli, A., M. Heinrich., P. Bork, L. Wolfram, P. Bauerfeind, R. Brun, C. Schmid, C. Weiss, R. Bruggisser, J. Gertsch, M. Wasescha y O. Sticher. 2002. Yucatec Mayan medicinal plants: evaluation based on indigenous uses. *J. Ethnopharmacol.* 79: 43-52.
- Anónimo. Censo de Población 2001. Secretaría de Salud. Casa de salud de la comunidad. Instituto Mexicano del Seguro Social. Ayuntamiento de Coxcatlán. Puebla. México. 10 pp.
- Argueta, V. A. y A. J. Cano. 1994. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Instituto Nacional Indigenista. México, D.F. 1785 pp.

- Blanckaert, I., R. L. Swennen, M. Paredes Flores, R. Rosas López y R. Lira Saade. 2004. Floristic composition, plant uses and management practices in homegardens of San Rafael Coxcatlán, Valle de Tehuacán-Cuicatlán, México. *Journal of Arid Environments* 57: 39-62.
- Boster, J. S. 1985. "Requiem for the omniscient informant": There is life in the old girl yet. In J.W.D. Dougherty (ed). *Directions in Cognitive Anthropology*. University of Illinois Press. Urbana and Chicago. 177-197 pp.
- Caballero, J. y L. Cortés. 2001. Percepción, uso y manejo tradicional de los recursos vegetales en México. In: Rendón, B., Rebollar, S., Caballero, J. y Martínez, M. A. (eds.). *Plantas cultura y sociedad*. Universidad Autónoma Metropolitana-Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México, p. 79-100.
- Canales M., T. Hernández, J. Caballero, A. Romo de Vivar, G. Avila, A. Durán y R. Lira. 2005. Informant consensus factor and antibacterial activity of the medicinal plants used by the people of San Rafael Coxcatlán, Puebla. México. *J. Ethnopharmacol.* 97:429-439.
- Casas, A., A. Valiente-Banuet, J. L. Viveros, P. Dávila, R. Lira, L. Cortés, R. Medina e I. Rodríguez Arévalo. 2001. Plant resources of the Tehuacán-Cuicatlán Valley, México. *Economic Botany* 55(1): 129-166.
- Casas, A. Viveros, J. L. y Caballero, J. 1994. *Etnobotánica mixteca. Sociedad, cultura y recursos naturales en la montaña de Guerrero*. Instituto Nacional Indigenista. México. 366 pp.
- Cotton, C. M. 1997. *Ethnobotany. Principles and applications*. John Wiley & Sons. Chichester. 424 pp.
- Dávila, P., M. C. Arizmendi, A. Valiente-Banuet, J. L. Villaseñor, A. Casas y R. Lira. 2002. Biological diversity in the Tehuacan-Cuicatlán Valley, México. *Biodiversity and Conservation* 11: 421-442.
- Fernández, B. M. N. 1999. Análisis de la dinámica de

comunidades vegetales con relación a la evolución del paisaje, en la zona semiárida de Coxcatlán, Puebla. Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 115 pp.

- Frei, B., M. Baltisberger, O. Sticher y M. Heinrich. 1998. Medical ethnobotany of the Zapotecs of the Isthmus-Sierra (Oaxaca, Mexico): Documentation and assessment of indigenous uses. *J. Ethnopharmacol.* 62: 149-165.
- Friedman, J., Z. Yaniv, A. Dafni y D. Palewitch. 1986. A preliminary classification of the healing potential of medicinal plants, based on a rational analysis of an ethnopharmacological field survey among beduins in the Negev Desert, Israel. *J. Ethnopharmacol.* 16: 275-287.
- García, M. E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 3ª. ed. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 252 pp.
- Garro, L. C. 1986. Intracultural variation in folk medical knowledge: A comparison between curers and noncurers. *American Anthropologist* 88: 351-370.
- Heinrich, M., Ankli, A., Frei, B. y Weimann, C. 1998. Medicinal plants in Mexico: healers consensus and cultural importance. *Social Science and Medicine* 47: 1859-1871.
- Hernández, T., M. Canales, J. G. Avila, A. Durán, J. Caballero, A. Romo de Vivar y R. Lira. 2003. Ethnobotany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla (México). *J. Ethnopharmacol.* 88: 181-188.
- Leonti, M., O. Sticher y M. Heinrich. 2003. Antiquity of medicinal plant usage in two Macro-Mayan ethnic groups (México). *J. Ethnopharmacol.* 88: 119-124.
- Medina, S. J. 2000. Determinación del vigor y estado reproductivo de *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) a lo largo de una cronosecuencia edáfica en un abanico aluvial en Coxcatlán, Valle de Tehuacán. Tesis de

- Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. México. 90 pp.
- Moerman, D. E., R. W. Pemberton, D. Kiefer, B. Berlin. 1999. A comparative analysis of five medicinal floras. *J. Ethnopharmacol.* 19: 49-67.
- Rohlf, F. J. 1997. Numerical taxonomy and multivariate analysis system (NTSYS) Version 2.0, Manual. Applied Biostatistics Inc., USA.
- Rosas, L. R. 2003. Estudio etnobotánico de San Rafael-Coxcatlán. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. México. 94 pp.
- Robineau, L. y Soejarto, D. D. 1996. Tramil: A research project on the medicinal plant resources of the Caribbean. In: Balick, M. J., Elisabetsky, E. y Laird, S. A. *Medicinal Resources of the Tropical Forests*. Columbia University Press. Nueva York. 317-325 pp.
- Rzedowski, J. 1978. *Vegetación de México*. Limusa. México, D.F. 432 pp.
- Valiente-Banuet, A., Casas, A., Alcantara, A., Dávila, P., Flores-Hernández, N., Arismendi, M. C., Ortega-Ramírez, J. y Soriano, J. A. 2000. La vegetación del Valle de Tehuacan-Cuicatlán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 67: 25-75.

## **CAPÍTULO III**

**Índice de consenso de informantes y actividad antibacteriana de las plantas medicinales usadas por la gente de San Rafael, Puebla, México.**



## Informant consensus factor and antibacterial activity of the medicinal plants used by the people of San Rafael Coxcatlán, Puebla, México

M. Canales<sup>a,\*</sup>, T. Hernández<sup>a</sup>, J. Caballero<sup>b</sup>, A. Romo de Vivar<sup>c</sup>, G. Avila<sup>a</sup>, A. Duran<sup>a</sup>, R. Lira<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio de Fitoquímica, UBIPRO Facultad de Estudios Superiores-Iztacala UNAM, Tlalnepantla 54090, Edo. Méx, México

<sup>b</sup> Jardín Botánico exterior, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Coyoacán 04510, D.F., México

<sup>c</sup> Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Coyoacán 04510, D.F., México

Received 5 March 2004; received in revised form 1 October 2004; accepted 8 November 2004

Available online 26 January 2005

### Abstract

Using ethnobotanical techniques, the medicinal flora used by the inhabitants of San Rafael Coxcatlán, Puebla was determined. During the field work, two types of interviews were applied (free listing and semi-structured) to 60 informants, who supplied consistent information concerning the use of 46 species of medicinal plants. Further analysis showed 13 categories of different medicinal use. An informant consensus factor was calculated and 16 species were selected due to their utilization in the treatment of diseases of possible bacterial origin. Of these 16 plants, sequential extractions were made with hexane, ethyl acetate and methanol. The obtained extracts were used to assess their antibacterial activity against 14 bacterial strains; 75% of the plants presented antibacterial activity. The medicinal species *Jatropha neopauciflora* Pax (Euphorbiaceae) and *Juliania adstringens* (Schldl.) Schldl. (Julianiaceae) were those that showed the biggest activity. Moreover, these species also had the highest informant consensus factor values.

© 2004 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

**Keywords:** Medicinal plants; Informant consensus factor; Antibacterial activity; Ethnobotany

### 1. Introduction

Mexico has a great wealth of medicinal plants and an ancestral tradition about their uses. Present estimations consider that nearly 3000 medicinal plants are used in Mexico (Linares et al., 1999), a country with a vast variety of traditions and popular practices that have great value and are necessary to rescue and study scientifically.

Different methods exist to study medicinal plants, and one of them is the so-called ethno-directed method. In this technique, plants are collected based on the knowledge and traditions of the people living in a specific area. According to Cox and Balick (1994) and Cordell (2000), this method plays a fundamental role in biodiversity prospecting. Since time does not allow us to evaluate all existing medicinal plants scientifically, the selection of the most important taxa is a prerequisite to begin ethnopharmacological, phyto-chemical and toxico-

logical studies. For this purpose, it is necessary to determine the species that are most used to treat a particular illness. A useful tool to find these species is the informant consensus factor (Frei et al., 1998; Heinrich et al., 1998a).

Considering the above-mentioned, this work used the ethno-directed method, with the objective to make an inventory of the medicinal species used by the inhabitants of San Rafael Coxcatlán, Puebla and to evaluate the activity of the species which by consensus are most used to cure illnesses of possible bacterial origin.

### 2. Study site

#### 2.1. Geographic overview and vegetation types

San Rafael Coxcatlán is a village in the municipality of Coxcatlán, and is located southeast in the Valley of Tehuacán-Cuicatlán, at coordinates 18°12' and 18°14' north and 97°07' and 97°09' west at 957 m above sea level (Fig. 1). The climate

\* Corresponding author. Tel.: +52 5 623 11 36; fax: +52 5 623 12 25.

E-mail address: [magacm@yahoo.com.mx](mailto:magacm@yahoo.com.mx) (M. Canales).

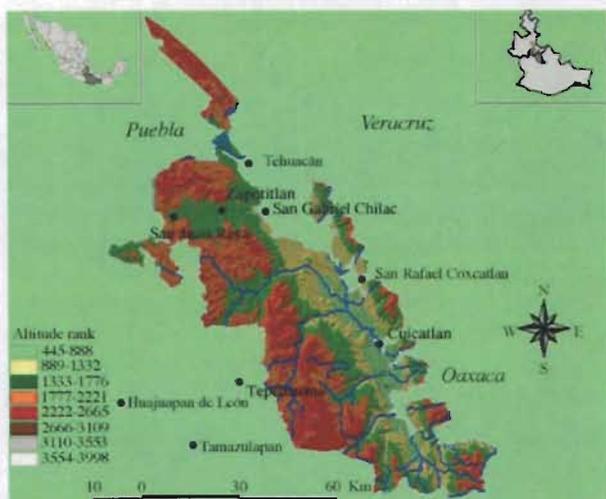


Fig. 1. Geographic position of San Rafael Coxcatlán, Puebla, México.

is Bs1(h')w''(w)eg (Fernández, 1999) and corresponds to dry or arid with summer rains and a mean temperature of 22°C.

The vegetation is a thorn scrub forest with species like *Bursera morelensis* Ramírez, *Bursera aptera* Ramírez, *Pachycereus weberi* (J. Coulter) Backeb, *Opuntia puberula* Pfeiffer, *Ceiba parvifolia* Rose, *Acacia cochliacantha* Humb. & Bonpl. ex Willd (Rzedowski, 1978; Fernández, 1999; Casas et al., 2001).

From a total of 374 species belonging to 249 genera and 87 botanical families found in San Rafael, Coxcatlán, of which 368 species were used in one or more ways by the local residents (Rosas, 2003). This number is larger than that reported in similar studies in the same Tehuacán-Cuicatlán Valley. As an example, Paredes (2001) reported 289 useful species for the "Zapotitlán de las Salinas" community. This larger number of useful plants in San Rafael is owed mainly to the great number of introduced plants in the homegardens of the community (Blanckaert et al., 2004), for ornamental use. Moreover, the families with most useful species were Asteraceae, Cactaceae, Solanaceae, Araceae and Euphorbiaceae, and these families correspond with the most representative families in the whole Tehuacán-Cuicatlán Valley (Rosas, 2003).

## 2.2. Demographic information of San Rafael, Coxcatlán

The San Rafael Coxcatlán community is relatively young. It was founded at the beginning of the twentieth century. Although the predominant ethnic group is the nahua, not all the present inhabitants are native. Some were born in small towns of Oaxaca and the south of Puebla.

A total of 298 inhabitants (151 women and 147 men) conform San Rafael's current population. The young population (22% of the total population) between 15 and 22 years old, abandon the community in search of better educational opportunities (12% in Tehuacán and/or Puebla) and better working conditions (23% found a job in the United States and 35%

in Ajalpa, Tehuacán and Zinacantepec) (Population Census 2001, SS).

The most important economic activity in the area is agriculture and the main incomes come from sugar cane cultivation; other important activities in San Rafael are goat husbandry and the gathering of nutritious, medicinal, fodder, construction and fuel plants (Rosas, 2003).

## 3. Methods

### 3.1. Plant collection and ethnobotanical interviews

The ethnobotanical survey was conducted from May 2001 to April 2002. It included plant collections, informal interviews with the inhabitants and the implementation of the ethnographic method of free listing and semi-structured interviews (Weller and Romney, 1998). Interviews were conducted with 60 informants of San Rafael, Coxcatlán, including housewives (45 women) and farmers (15 men).

Each informant was interviewed in two occasions and each interview had a different format. The first interview was a free listing interview during which the informants provided us information about common names, specific uses for each medicinal plant. The second interview was a semi-structured one and was carried out 6 months after the first interview. The objective of this interview was to confirm the information obtained in the first interview. In this case, a herborized catalog and photographic images of each plant mentioned in the first interview were used.

Samples of the species mentioned by the informants were submitted to antibacterial studies, after being deposited as herbarium specimens. Taxonomic identification was performed, both, by cross-checking our specimens in the collections of the National Herbarium of Mexico at the UNAM (MEXU), and the Iztacala Herbarium (IZTA) of the UNAM, and by using floristic and taxonomic references, especially for the flora of the Tehuacán-Cuicatlán Valley (i.e., Bravo, 1930; Dávila, 1983; Dávila et al., 1993; Arias-Montes et al., 1997; Rico-Arce and Rodríguez, 1998). A complete set of plant collections was deposited in the herbarium IZTA and duplicates in the National Herbarium of Mexico (MEXU). Collections of specimens in the field were carried out with permission from the "Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales" (SGPA/DGVS/1266). It is important to mention that only non-living material was collected in this work, and that access to the community was officially agreed with the local authorities of the Municipality of San Rafael Coxcatlán before any informant was interviewed.

### 3.2. Informant consensus factor

To estimate use variability of the medicinal plants and to determine which plants are particularly interesting in the search for bioactive compounds, the informant consensus factor ( $F_{ic}$ ) (Heinrich et al., 1998a) was calculated. This factor estimates the relationship between the "number of

use-reports in each category ( $n_{ur}$ ) minus the number of taxa used ( $n_t$ )” and the “number of use-reports in each category minus 1”.  $F_{ic}$  is thus calculated using the following formula:

$$F_{ic} = \frac{n_{ur} - n_t}{n_{ur} - 1}$$

The product of this factor ranges from 0 to 1. A high value (close to 1) indicates that relatively few taxa (usually species) are used by a large proportion of people, while a low value indicates that the informants disagree on the taxa to be used in the treatment within a category of illness.

### 3.3. Bioassays

Air-dried aerial parts (7 days at room temperature, 100 g) of the plants were successively extracted with solvents of different polarity: hexane, ethyl acetate and methanol. The extracts were filtered and concentrated.

The following strains of bacteria were used: *Vibrio cholerae* INDRE 206 (isolated from polluted water), *Vibrio cholerae* (a clinical isolate corresponding with group 01, producing enterotoxin, serotype “Inaba”, biotype “El Tor”), *Vibrio cholerae* CDC V 12, *Vibrio cholerae* No. 01, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter agglomerans* ATCC 27155, *Salmonella typhi* ATCC 19430, *Shigella boydii* ATCC 8700, *Staphylococcus aureus* ATCC 12398, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* and *Sarcina lutea* (donated by the laboratory of microbiology of FES-Cuatitlán UNAM), *Yersinia enterocolitica* (donated by the Clinical Analysis Laboratory of University Hospital Campus, Iztacala).

The antibacterial activity was measured by disc-diffusion and well-diffusion methods (Vanden Berghe and Vlietinck, 1991). The microorganisms were grown overnight at 37 °C in 10 ml of Müeller Hinton broth (Bioxon). The cultures were adjusted to a turbidity comparable to that of Mc Farland no. 0.05 standard with sterile saline solution. Petri dishes containing Müeller Hinton agar (Bioxon) were impregnated with these microbial suspensions. Concentrations of 200 mg/ml of each extract were prepared, discs (Whatman no. 5) of 5 mm diameter were impregnated with 10 µl of each one (final doses per disc: 2 mg of ethyl acetate and methanol extracts). The well diffusion method was carried out by making a well in the agar (5 mm diameter) and filling it with 50 µl of the hexane extract solution. Discs impregnated with ethyl acetate and methanol were used as negative controls. For de hexane extract, wells with sterile olive oil and discs of chloramphenicol (25 µg) were used as positive controls. The plates were incubated overnight at 37 °C and the diameter of any resulting inhibition zones (mm) was measured. Each experiment was repeated at least three times.

The estimate of the minimal inhibitory concentration (MIC) was carried out by the broth dilution method (Vanden Berghe and Vlietinck, 1991). Dilutions of plant extracts from 2.0 to 0.75 mg/ml were used. The tubes were inoculated with microorganism suspension of  $10^5$  CFU/ml. MIC values were

defined as the lowest concentration of extract that completely inhibited bacterial growth after 24 h of incubation at 37 °C. Chloramphenicol was used as a reference, and appropriate controls with no extract and solvent were used. Each experiment was repeated at least three times.

## 4. Results

### 4.1. Ethnobotanical survey and informant consensus factor

During the ethnobotanical investigation, a total of 626 answers were obtained concerning the use of 46 medicinal plants (Table 1), which were grouped in 13 categories of medicinal uses (Fig. 2). These categories could be considered as a reflect of the cure concept of San Rafael’s residents. Nine of these categories are more or less involved in the cure of illnesses of possible bacterial origin. Among them, those with the highest number of mentions were diarrhoea (24.4%), wounds and burns (17.09%) and tooth problems (17.09%). In the other illness groups, 1–17 mentioned species were registered (see Table 1).

The group of illnesses of possible bacterial origin that obtained the highest informant consensus factor value was that of odontological ailments ( $F_{ic}=0.98$ ). The species responsible for this high consensus was *Jatropha neopauciflora* (sangre de grado), with 43 of the 49 reported events. For the illness group of wounds and burns ( $F_{ic}=0.92$ ), the most important species were *Verbescina crocata* (árnica) with 36 events and *Juliania adstringens* (cuachalala) with 22 events. People in San Rafael often confuse its bark with that of *Ceiba parvifolia* (pochote), and they use them for the same purpose. For the group of urinary tract the highest

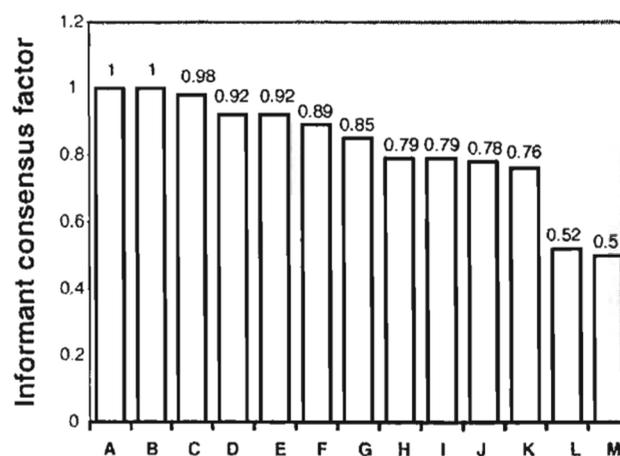


Fig. 2. Informant consensus factor for each use category. (A) Insect stings; (B) skeleton-muscular; (C) odontological; (D) wounds and burns; (E) urinary system; (F) diarrhoea; (G) respiratory system; (H) folk illnesses; (I) dermatological; (J) ophthalmological; (K) diabetes; (L) gynecological-androgynous; (M) gastritis.

Table 1  
Plants used in traditional medicine of San Rafael Coxcatlán

Family, species (voucher specimen), common name, (Illness-events)	Plant part used	Disease treated	Manner of used
<b>Acanthaceae</b>			
<i>Gypsacanthus nelsonii</i> E.J. Lott, V. Jaram et Rzed. (MCM40) Tiricia <sup>a</sup> herb (H-5)	PA	Tiricia	The plant is adorned with paper and red balloons. The ill child is taken to dance around and hug the plant (cultural illness)
<b>Agavaceae</b>			
<i>Agave stricta</i> Salm-Dyck (MCM13) Magueicillo <sup>a</sup> (D-11)	PA	Stops bleeding	The pulpy leaf is cut and placed on the wound (topical)
<b>Amaryllidaceae</b>			
<i>Aloe vera</i> (L.) Buró. f. (ISB16) Sábila <sup>b</sup> (B-9; D-14; G-5; H-1; J-1; K-3)	PA	Eyes, burns, sprain, wounds, cough, sore throat  Diabetes	The pulpy leaf is opened and roasted, then placed on the affected part (topical)  The pulpy leaf is blended and it is drunk on an empty stomach (oral)
<b>Anacardiaceae</b>			
<i>Schinus molle</i> L. (MCM34) Coabino or pirul <sup>b</sup> (H-8; L-4)	PA	Woman in labour  "aire" (evil eye)	It is cooked together with the bathing water (bath) A twig is put under clothes or behind the ear
<i>Cyrtocarpa procera</i> Kunth (MPF371) Chupandilla <sup>a</sup> (E-7)	C	Kidney ailments	A tea is prepared with chupandilla bark combined with biznaga and cuachalala. It is drunk cold, as if normal water (oral)
<b>Asclepiadaceae</b>			
<i>Asclepias linaria</i> Cav. (MCM31) Wild romero <sup>c</sup> (L-2; H-1)	PA	Woman in labour, fright  Colics	It is cooked together with the bathing water (bath) It is drunk as tea (oral)
<b>Asteraceae</b>			
<i>Artemisia absinthium</i> L. (MCM15) Hierba maestra <sup>c</sup> (F-5; H-5; L-4)	PA	Stomach-ache, woman in labour, colics, bile	Tea, one cup on an empty stomach (oral)
<i>Flaveria trinervia</i> (Spreng.) C. Mohr (MCM10) Hierba del sapo <sup>a</sup> (D-1; F-5; M-1)	PA	Dysentery, gastritis wounds	Tea, it is drunk cold (oral) Tea, a wound is washed with it (topical)
<i>Gymnosperma glutinosum</i> (Spreng.) Less (MCM30) Popote <sup>a</sup> (F-1)	PA	Diarrhoea	Tea (oral)
<i>Matricaria recutita</i> L. (IRA52) Manzanilla <sup>c</sup> (F-26; G-7; H-1; J-10)	PA	Diarrhoea, alfericia, sore throat, flu Eyes	Tea, drunk cold (oral)  Tea, the infected eyes are washed with it (topical)

Table 1 (Continued)

Family, species (voucher specimen), common name, (Illness-events)	Plant part used	Disease treated	Manner of used
<i>Montanoa tomentosa</i> Cerv. (MCM27) Acahuite <sup>a</sup> (F-11)	PA	Bebés enlechados	Leaf shoots are mixed with mother milk, warmed till boiling and fed to the baby (oral). A boy should get mother milk from a girl's mother and vice versa
<i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. (MCM17) Santa María <sup>c</sup> (F-7; H-1; L-1)	PA	Woman in labour Diarrhoea, anger	It is cooked together with the bathing water (bath) Tea, drunk cold (oral)
<i>Verbesina crocata</i> (Cav.) Less (ISB341) Árnica <sup>b</sup> (D-33; G-2;1-7; L-1)	PA	Woman in labour (hips) Wounds, sore throat, lumps, burns	It is cooked together with the bathing water (bath) Tea, the infected part is washed (topical)
<i>Viguiera dentata</i> (Cav.) Spreng (MCM2) Chimalacate <sup>a</sup> (A-10; I-2; L-1)	PA	Woman in labour, baby rash Ant stings	It is cooked together with the bathing water (bath) Ant stings are treated by rubbing them directly with a leaf (topical)
<b>Bombacaceae</b>			
<i>Ceiba parvifolia</i> Rose (RRL147) Pochote <sup>a</sup>	C	Diabetes, kidney, wounds, spots, tumors, gastritis	Prepared as a tea, the wounds are washed with it (topical) and it is drunk cold (oral). Dried bark is pulverized and placed directly on the wound (topical)
<b>Boraginaceae</b>			
<i>Borago officinalis</i> L. (MCM3) Borraja <sup>c</sup> (G-11)	PA	Cough, sore throat, flu	Tea, with milk, prepared very sweet and drunk at night (oral)
<b>Burseraceae</b>			
<i>Bursera arida</i> (Rose) Standley (MCM29) Aceitillo <sup>a</sup> (C-6; D-12 I-1)	L	Wounds, skin eruptions, white tongue, spots	The plant's latex is placed directly on the affected area (topical)
<b>Cactaceae</b>			
<i>Hylocereus undatus</i> (Haw.) Britton & Rose (ISB386) Pitahaya <sup>b</sup> (G-1)	PA	Flu	Tea, drunk cold (oral)
<i>Ferocactus latispinus</i> (Haw.) Britton & Rose (ISB384) Biznaga <sup>a</sup> (E-7)	PA	Kidneys	Tea, drunk cold (oral)
<i>Opuntia</i> sp. (MCM42) Nopal <sup>b</sup> (K-4)	PA	Diabetes	Blended and drunk on an empty stomach (oral)
<b>Chenopodiaceae</b>			
<i>Chenopodium murale</i> L. (MCM20) Chaguaquelite (I-9) <sup>a</sup>	PA	Alforra	The cooked plant is wrapped into a little ball and placed on the anus of the baby (topical)

Table 1 (Continued)

Family, species (voucher specimen), common name, (Illness-events)	Plant part used	Disease treated	Manner of used
<b>Cyperaceae</b>			
<i>Cyperus hermaphroditus</i> (Jacq.) Standl. (MCM18) Piomía <sup>a</sup> (F-1; H-1)	R	Colics Alfericia	Tea, drunk cold (oral) A cross is made from the plant's roots and hung around the neck of the ill child (folk illnesses)
<b>Equisetaceae</b>			
<i>Equisetum hyemale</i> L. (MCM16) Cola de iguana or Cola de caballo <sup>c</sup> (E-15)	PA	Kidneys	Tea, drunk cold (oral)
<b>Euphorbiaceae</b>			
<i>Acalypha hederacea</i> Torr. (MCM7) Hierba del pastor <sup>a</sup> (D-8; F-2; I-5; L-2)	PA	Woman in labour  Spots, wounds, inflammation	It is cooked together with the bathing water (bath) Tea, the affected part is washed with it and then covered with a hot poultice (topical)
<i>Cnidocolus chayamansa</i> McVaugh (MCM11) Chaya <sup>b</sup> (G-3; K-5)	H	Diabetes, inflammation	Tea, drunk cold (oral)
<i>Jatropha neopauciflora</i> Pax. (MCM6) Sangre de grado <sup>a</sup> (C-43; D-5)	L	Skin eruptions, wounds, tooth ache	Latex, directly on the affected area (topical)
<i>Ricinus communis</i> L. (MCM36) Higuerilla <sup>a</sup> (F-14)	H	Chest, indigestion, fever	Back and chest are smeared with fat and then covered with leaves (topical)
<b>Julianiaceae</b>			
<i>Juliania adstringens</i> (Schldl.) Schldl. (MCM14) Cuachalala <sup>a</sup> (D-22; E-17; I-5; K-3; M-3)	C	Diabetes, kidneys, wounds, spots, tumors, gastritis	Tea, wounds are washed (topical) and it is drunk cold (oral). Dried bark is pulverized and placed directly on the wound (topical)
<b>Lamiaceae</b>			
<i>Mentha x piperita</i> L. (ISB431) Hierbabuena <sup>b</sup> (F-23; G-4)	PA	Stomach, parasites, flu	Tea, drunk cold (oral)
<i>Marrubium vulgare</i> L. (MCM33) Marrubio <sup>c</sup> (D1; F-2; H-4)	PA	Diarrhoea, wounds, rage, pain	Tea, on an empty stomach (oral). A wound is washed with the tea (topical)
<i>Ocimum basilicum</i> L. (MCM22) Albahacar <sup>b</sup> (F-9; G-4; H-8)	PA	Sore throat, parasites, diarrhoea, stomach ache "Aire" or evil eye	Tea, as often as possible (oral) A twig is carried on the chest under cloths (cultural disease)
<b>Mimosaceae</b>			
<i>Mimosa luisana</i> Brandege (MCM26) Uña de gato <sup>a</sup> (K-1)	PA	Diabetes	Tea, drunk cold (oral)

Table 1 (Continued)

Family, species (voucher specimen), common name, (Illness-events)	Plant part used	Disease treated	Manner of used
<i>Prosopis laevigata</i> (Humb. & Bonpl. ex Willd.) M.C. Johnston (RRL207) Mezquite <sup>b</sup> (F-6; J-1)	PA	Woman in labour Indigestion Eyes	It is cooked together with the bathing water (bath) Tea from leaf shoots (oral) Tea from leaf shoots, the eyes are washed with it (topical)
<b>Myrtaceae</b>			
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.(MCM41) Eucalipto <sup>c</sup> (G-12)	PA	Cough	Tea (oral)
<i>Psidium guajava</i> L. (ISB188) Guayabo <sup>b</sup> (F-7)	H	Diarrhoea, dysentery	Tea, drunk cold (oral)
<b>Nyctaginaceae</b>			
<i>Bougainvillea spectabilis</i> Willd. (ISB156) Bugambilia <sup>b</sup> (G-21; H-1)	F	Cough, flu Child sadness	Tea from purple bractea, drunk at any hour of the day (oral) The sad child must throw the red bractea in the water and as the flowers float away, so does the sadness (folk illnesses)
<b>Papaveraceae</b>			
<i>Argemone mexicana</i> L. (MCM37) Chicalote <sup>a</sup> (J-2)	L	Perrillas (eye infection)	The latex is placed directly in the eye (topical)
<b>Piperaceae</b>			
<i>Piper auritum</i> Kunth (MCM38) Hoja santa <sup>b</sup> (L-1)	H	Abortive	Tea, on an empty stomach (oral)
<b>Rosaceae</b>			
<i>Rosa centifolia</i> L. (MCM39) Rosa de Castilla <sup>c</sup> (I-1; J-5; L-1)	F	Eyes, spots, colics	Tea (oral) and used to wash the affected part (topical)
<b>Rutaceae</b>			
<i>Ruta chalapensis</i> L. (MPF149) Ruda <sup>b</sup> (F-2; G-1; H-11; L-4)	PA	Diarrhoea, sore throat, colics Tiricia, "aire" or evil eye, head ache, anger	Tea, can be drunk on an empty stomach (oral) To avoid aire or the evil eye and to cure head ache, a small twig is placed behind the ear. (folk illnesses)
<b>Selaginellaceae</b>			
<i>Selaginella lepidophylla</i> (Hook & Grev.) Spring (MCM35) Siempre viva o doradilla <sup>a</sup> (E-5)	PA	Kidneys	Tea, drunk cold (oral)
<b>Simaroubaceae</b>			
<i>Castela tortuosa</i> Liebm. (MCM9) Venenillo <sup>a</sup> (H-1; K-7)	PA	Diabetes, anger, pressure	Tea, drunk cold (oral)
<b>Solanaceae</b>			
<i>Margaranthus solanaceus</i> Schltdl. (RRL298) Totomache <sup>a</sup> (H-14; K-3)	H	Diabetes, bile Anger	Tea, on an empty stomach (oral) Angry kids are given a leaf to chew on (oral)

Table 1 (Continued)

Family, species (voucher specimen), common name, (Illness-events)	Plant part used	Disease treated	Manner of used
<i>Physalis</i> sp. (ISB336) Tomate verde <sup>c</sup> (G-8)	FR	Sore throat	Leaves are fried and placed hot over the throat (topical)
<b>Turneraceae</b>			
<i>Turnera diffusa</i> Willd. (MCM32) Ítamo real <sup>c</sup> (F-7; I-1)	PA	Diarrhoea, colics	Tea, drunk cold (oral)
<b>Verbenaceae</b>			
<i>Lippia graveolens</i> Kunth (MCM8) Orégano <sup>a</sup> (F-26; G-3; L-2)	PA	Diarrhoea, chest pain, abortive, stomach ache, colics	Tea, drunk on an empty stomach and during the day (oral)

<sup>a</sup> Wild plants (47.8%).

<sup>b</sup> Homegarden plants (28.2%).

<sup>c</sup> Foreign plants (23.9%); C, bark; F, flower; FR, fruit; H, leaves; L, latex; PA, Aerial part; R, root. A, Insect stings; B, skeleton-muscular; C, odontological; D, wounds and burns; E, urinary system; F, diarrhoea; G, respiratory system; H, cultural affiliation; I, dermatological; J, ophthalmological; K, diabetes; L, gynecological-androgynous; M, gastritis.

value of  $F_{ic}$  was 0.92, and the plant with the most number of events (17) was, again, *Juliania adstringens*. In the group of diarrhoea ( $F_{ic} = 0.89$ ), the most important species were *Lippia graveolens* (orégano), *Matricaria recutita* (camomile) and *Mentha piperita* (hierbabuena), with 27, 26 and 23 events respectively. For the group of breathing illnesses ( $F_{ic} = 0.85$ ), *Bougainvillea spectabilis* (bugambilia) was the one that had the biggest record (21 events). Finally, for the group of dermatologic illnesses ( $F_{ic} = 0.79$ ), *Chenopodium murale* (chaguaquelite) contributed with the highest number of mentions (nine events) (Fig. 2 and Table 1).

#### 4.2. Antibacterial activity evaluation

Based on the above mentioned results, the antibacterial activity evaluation was done for a total of 16 species (Table 2). Also shown in Table 2 are the inhibition halos of different extracts over the 14 used bacterial strains. Twelve species of medicinal plants (75%) were active against at least one or more bacterial strains. In general, the activity of all plant extracts was more evident against the gram positive bacteria. As it was mentioned previously, San Rafael's people give the same use to the bark of *Juliania adstringens* and *Ceiba parvifolia* and in the antibacterial tests we find that the methanolic extract of both species showed antibacterial activity. However, the *Juliania adstringens* extract acted against more bacterial strains and had lower MIC values than the *Ceiba parvifolia* extract.

In most of the species that showed antibacterial activity, the MICs were higher than 1.0 mg/ml. The extracts with the least MIC values were from *Juliania adstringens* (0.125 mg/ml), *Jatropha neopauciflora* (0.5 mg/ml) and *Viguiera dentata* (0.375 mg/ml).

#### 5. Discussion

An interesting characteristic of San Rafael's population is that several inhabitants are originally from other towns (Puebla and Oaxaca states). As a consequence, there has been a confluence of knowledge about medicinal plants, almost half of them (47.8%) being wild, demonstrating the close relationship among the locals and their natural environment.

San Rafael's medicinal flora (Table 1) groups in 28 plants families, with Asteraceae presenting the highest proportion of medicinal species (eight species). This agrees with Moerman et al. (1999), who claimed that the best represented floristic family of a region most often also is the most used. Different secondary metabolites presenting antibacterial activity (Murphy, 1999) have been found in Asteraceae (Heinrich et al., 1998b), justifying the medicinal use of this family.

The calculation of the informant consensus factor allowed a more objective selection of the species for the microbiological study in order to validate traditional knowledge. It was found that 75% (12 species) of the selected species presented antibacterial activity. This result is an accurate reflection of the effectiveness of the ethno-directed method in biodiversity prospecting studies. King et al., (1996) mention that it is possible to obtain at least 50% of success with the medicinal plants collected by this method.

Although they were frequently mentioned, the species *Mentha recutita*, *Mentha piperita*, *Ocimum basilicum* were not considered for the microbiological tests in this work, as they were already thoroughly studied (Frei et al., 1998; Heinrich et al., 1998b; Lentz et al., 1998). The specie *Lippia graveolens* (orégano) also presented a high number of events, but its antibacterial activity has equally been confirmed previously (Hernández et al., 2003). Regarding *Equisetum hyemale*, *Artemisia absinthium* and *Tanacetum parthenium*, they

Table 2  
Antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of San Rafael, Coxcatlán

Species	Ex	Sa	Se	SI	Bs	V ch No-01	V ch cc	V ch agua	V ch Tor	Ec	Sb	Ye	Eae	Eag
<i>Chloramphenicol</i>	H	18.7 ± 0.6	19.7 ± 2.1	22.7 ± 0.6	25.0 ± 1.0	24.3 ± 0.6	19.3 ± 0.6	24.3 ± 0.6	22.7 ± 1.5	18.3 ± 1.1	25.0 ± 1.0	15.7 ± 0.6	24.0 ± 1.0	25.3 ± 0.6
<i>Acalypha hederacea</i>	MIC	10.0 ± 0.5	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
<i>Artemisia absinthium</i>	H	na	na	na	na	7.0 ± 0.5	na	na	na	na	na	na	na	na
	M	na	na	11.7 ± 2.1	na	7.0 ± 0.5	na	na	na	na	na	na	na	na
	MIC	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0
<i>Bursera arida</i>	H	9.3 ± 0.8	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
	MIC	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0
<i>Ceiba parvifolia</i>	M	12.0 ± 0.5	10.3 ± 0.6	na	8.7 ± 0.6	7.3 ± 0.6	na	na	na	na	na	na	na	na
	MIC	0.25	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0
<i>Cyrtocarpa procerca</i>	M	11.7 ± 0.6	13.0 ± 0.5	na	11.7 ± 0.6	9.7 ± 0.6	na	7.0 ± 0.5	na	na	12.3 ± 0.6	na	na	na
	MIC	1.5	1.0	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	0.125	0.125	0.125	0.125
<i>Equisetum hyemale</i>	H	10.0 ± 0.6	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
	MIC	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0
<i>Gimnosperma glutinosum</i>	H	19.0 ± 0.5 <sup>a</sup>	11.3 ± 0.6	na	na	na	12.3 ± 1.2	12.3 ± 0.6	10.0 ± 0.5	na	12.3 ± 0.6 <sup>a</sup>	na	na	na
	E	11.7 ± 1.5	na	na	na	na	na	na	na	na	9.3 ± 0.6	na	na	na
	MIC	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125	1.5	1.5	>2.0	>2.0	0.25	0.25	0.25	0.25
<i>Jatropha neopauciflora</i>	E	7.0 ± 0.5	10.3 ± 0.6	11.3 ± 0.6	7.0 ± 0.5	16.3 ± 0.6	na	na	12.3 ± 0.6	na	na	9.0 ± 0.5	na	na
	L	13.7 ± 0.6 <sup>a</sup>	12.3 ± 0.6 <sup>a</sup>	17.3 ± 1.2 <sup>a</sup>	12.3 ± 0.6 <sup>a</sup>	12.7 ± 0.6 <sup>a</sup>	na	na	na	na	12.7 ± 0.6	na	na	na
	MIC	2.0	2.0	0.5	1.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0
<i>Juliania adstringens</i>	E	7.3 ± 0.6	na	na	na	na	na	na	9.7 ± 0.6	na	na	na	na	na
	M	11.7 ± 0.6 <sup>a</sup>	10.7 ± 0.6	20.3 ± 0.6	10.0 ± 1.0	9.7 ± 0.6	na	na	9.3 ± 0.6 <sup>a</sup>	10.3 ± 0.6	na	10.7 ± 1.2	12.3 ± 0.6	10.0 ± 0.5
	MIC	0.25	>2.0	0.125	1.5	>2.0	>2.0	>2.0	1.5	>2.0	>2.0	>2.0	2.0	>2.0
<i>Rosa centifolia</i>	M	10.3 ± 0.6	13.3 ± 0.6	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
	MIC	>2.0	2.0	0.375	0.375	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
<i>Tanacetum parthenium</i>	H	15.0 ± 0.5 <sup>a</sup>	15.0 ± 0.5 <sup>a</sup>	na	na	15.0 ± 1.0 <sup>a</sup>	9.0 ± 0.5 <sup>a</sup>	11.0 ± 0.5 <sup>a</sup>	na	na	na	na	na	na
	E	13.3 ± 1.5	13.7 ± 0.6	12.3 ± 0.6 <sup>a</sup>	13.7 ± 0.6	13.0 ± 1.0	8.7 ± 0.6	10.0 ± 0.5	14.7 ± 2.5	na	13.7 ± 0.6 <sup>a</sup>	10.7 ± 0.6	na	na
	M	na	na	8.0 ± 0.5	na	8.0 ± 0.5	na	na	na	na	7.3 ± 0.6	na	na	na
	MIC	2.0	2.0	2.0	2.0	>2.0	>2.0	>2.0	2.00	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0	>2.0
<i>Viguiera dentata</i>	H	9.3 ± 0.6	8.3 ± 1.2	13.7 ± 0.6	9.0 ± 0.5	8.3 ± 0.3	7.0 ± 0.5	7.7 ± 0.6	na	na	na	na	na	na
	MIC	2.0	2.0	0.375	0.375	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5

Ex extract; H, hexane; E, ethyl acetate; M, methanol; MIC (mg ml<sup>-1</sup>); Sa, *Staphylococcus aureus*; Se, *Staphylococcus epidermidis*; SI, *Sarcina lutea*; Bs, *Bacillus subtilis*; V ch No.-01, *Vibrio cholerae*; V ch cc, *Vibrio cholerae* (clinical isolate); V ch agua, *Vibrio cholerae* (isolated from water); V ch Tor, *Vibrio cholerae* CDC V 12; Ec, *Escherichia coli*; Sb, *Shigella boydii*; Ye, *Yersinia enterocolitica*; Eae, *Enterobacter aerogenes*; Eag, *Enterobacter agglomerans*; Flaveria *trinervia*, *Selaginella lepidophylla*, *Piper aurantium* and *Chenopodium murale* did not show antibacterial activity.  
<sup>a</sup> Extracts where MIC and CBM were determined, in case more than one active extract was obtained.

have also been previously studied (Janssen, 1986; Argueta and Cano, 1994; Linares et al., 1999), and the results agree with the obtained in our work.

With respect to the two most important species (*Juliania adstringens*, and *Jatropha neopauciflora*, it is important to highlight that *Juliania adstringens* has been thoroughly studied phytochemically and its anti-inflammatory activity has also been evaluated (Olivera et al., 1999). In this work, its antibacterial activity was demonstrated. It is not surprising the activity shown by this plant, since other species of the same family have shown to have anti-fungal, anti-inflammatory, anti-viral and antibacterial activity (Cojocarú et al., 1986; Cáceres et al., 1987; Corthout et al., 1991; Argueta and Cano, 1994).

Several species of the genus *Jatropha* has been studied and it has been demonstrated that they present anti-inflammatory, immunomodulatory, anti-malaria, larvicidal, molluscicidal and antibacterial activity (Argueta and Cano, 1994; Van der Berg et al., 1995; Karmegam et al., 1997; Auvin-Guette et al., 1999; Chariandy et al., 1999; Staubmann et al., 1999; Al-Zanbagi et al., 2000, 2001; Ciccía et al., 2000; Srinivasan et al., 2001), but the particular species *Jatropha neopauciflora* has never been studied before and in this work, its antibacterial activity was demonstrated

## 6. Conclusion

The use of the ethno-directed method was very efficient to compile the information about San Rafael's medicinal flora. Using the informant consensus factor, it was possible to select the plants that are mainly used to alleviate illnesses of bacterial origin. The antibacterial activity of 75% of the medicinal species used in San Rafael was demonstrated.

The plants with major consent values showed the biggest antibacterial activity, reaffirming that interdisciplinary studies including ethnobotanical, botanical, phyto-chemical, pharmacological, ecological and medical data are required to redound the benefits for the traditional and western medicine.

At present, our laboratory is carrying out the purification and elucidation of the chemical compounds responsible for the antibacterial activity of the plants not studied before in order to offer a phyto-chemical support to the traditional use of the medicinal plants used to alleviate illnesses of bacterial origin.

## Acknowledgments

We are very grateful to the people of San Rafael Coxcatlán for the information they offered us about their medicinal flora, for their friendship and hospitality. We especially thank Marco A. Rodríguez Monroy and Rocío Rosas López for their support on the field. We are also extremely grateful to Marco A. Rodríguez Monroy and Isabelle Blanckaert for their revision and translation of the manuscript. This investigation was supported by the Consejo Nacional de Ciencia y

Tecnología through the project CONACYT 400389G35-450, lead by the last author from 2001 to 2004.

## References

- Al-Zanbagi, N.A., Banaja, A.A., Barrett, J., 2000. Molluscicidal activity of some Saudi Arabian Euphorbiales against the snail *Biomphalaria pfeifferi*. *Journal of Ethnopharmacology* 70, 119–125.
- Al-Zanbagi, N.A., Barrett, J., Banaja, A.A., 2001. Laboratory evaluation of the molluscicidal properties of some Saudi Arabian Euphorbiales against *Biomphalaria pfeifferi*. *Journal of Ethnopharmacology* 78, 23–29.
- Arias-Montes, S., Gama-López, S., Guzmán-Cruz, U. 1997. Cactaceae A. L. Juss. Floradel Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Fascículo 14. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Argueta, V. A., Cano A. J. 1994. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Instituto Nacional Indigenista. México. p.1785.
- Auvin-Guette, C., Baraguey, C., Blond, A., Xavier, H., Pousset, J., Bodo, B., 1999. Pohlmanins A, B and C cyclic peptides from the latex of *Jatropha pohliana* ssp. *molissima*. *Tetrahedron Letters* 55, 11495–11510.
- Blanckaert, I., Swennen, R.L., Paredes Flores, M., Rosas López, R., Lira Saade, R., 2004. Floristic composition, plant uses and management practices in homegardens of San Rafael Coxcatlán, Valle de Tehuacán-Cuicatlán, México. *Journal of Arid Environments* 57, 39–62.
- Bravo, H., 1930. Las Cactáceas de Tehuacán. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Serie Botánica* 1, pp. 87–124.
- Casas, A., Valiente-Banuet, A., Viveros, J.L., Caballero, J., CorTeas, L., Dávila, P., Lira, R., Rodríguez, I., 2001. Plant resources of the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Economic Botany* 55, 129–166.
- Cáceres, A., Girón, L.M., Alvarado, S.R., Torres, M.F., 1987. Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases. *Journal of Ethnopharmacology* 20, 223–237.
- Chariandy, C.M., Seaforth, C.E., Phelps, R.H., Pollard, G.V., Khambay, B.P.S., 1999. Screening of medicinal plants from Trinidad and Tobago for antimicrobial and insecticidal properties. *Journal of Ethnopharmacology* 64, 265–270.
- Ciccía, G., Coussio, J., Mongelli, E., 2000. Insecticidal activity against *Aedes aegypti* larvae of some medicinal South American plants. *Journal of Ethnopharmacology* 72, 180–185.
- Cojocarú, M., Droby, S., Glotter, E., Goldman, A., Gottlieb, H.E., Jacoby, B., Prusky, D., 1986. 5-(12-Heptadecenyl)-resorcinol, the major component of the antifungal activity in peel of mango fruit. *Phytochemistry* 25, 1093–1095.
- Cordell, G.A., 2000. Biodiversity and drugs discovery—a symbiotic relationship. *Phytochemistry* 55, 463–468.
- Corthout, J., Pieters, L.A., Claeys, M., Vanden Berghe, D.A., Vlietinck, A.J., 1991. Antiviral ellagitannins from *Spondias mombi*. *Phytochemistry* 30, 1129–1130.
- Cox, P.A., Balick, M.J., 1994. The ethnobotanical approach to drug discovery. *Scientific American* 270, 60–65.
- Dávila, P., 1983. Flora Genérica del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. M. Sc. Tesis, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Dávila, P., Villaseñor, J. L., Medina, R., Ramírez, A., Salinas, A., Sánchez-Kén, J., Tenorio, P., 1993. Listados florísticos de México. X. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Instituto de Biología, UNAM. México.
- Fernández, B. Ma.N., 1999. Análisis de la dinámica de comunidades vegetales con relación a la evolución del paisaje, en la zona semiárida de Coxcatlán, Puebla. Tesis de maestría. UNAM.
- Frei, B., Baltisberger, M., Sticher, O., Heinrich, M., 1998. Medical ethnobotany of the Zapotecs of the Isthmus-Sierra (Oaxaca, Mexico): documentation and assessment of indigenous uses. *Journal of the Ethnopharmacology* 62, 149–165.

- Heinrich, M., Ankli, A., Frei, B., Weimann, C., 1998a. Medicinal plants in Mexico: healers consensus and cultural importance. *Social Science and Medicine* 47, 1859–1871.
- Heinrich, M., Robles, M., West, J.E., Ortiz de Montellano, B., Rodríguez, E., 1998b. Ethnopharmacology of Mexican Asteraceae (Compositae). *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 38, 539–550.
- Hernández, T., Canales, M., Avila, J.G., Durán, A., Caballero, J., Romo de Vivar, A., Lira, R., 2003. Ethnobotany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla (México). *Journal of the Ethnopharmacology* 88, 181–188.
- Janssen, A.M., 1986. Screening for antimicrobial activity of some essential oils by the agar overlay technique. *Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition* 8, 289–292.
- Karmegam, N., Sakthivadivel, M., Anuradha, V., Daniel, T., 1997. Indigenous-plant extracts as larvicidal agents against *Culex quinquefasciatus* Say. *Bioresource technology* 59, 137–140.
- Lentz, D.L., Clark, A.M., Hufford, C.D., Meurer-Grimes, B., Passreiter, C.L., Cordero, J., Ibrahim, O., Okunade, A.L., 1998. Antimicrobial properties of Honduras medicinal plants. *Journal of the Ethnopharmacology* 63, 253–263.
- Linares, D., Bye, R., Flores, B., 1999. *Plantas Medicinales de México usos remedios y tradiciones*. Instituto de Biología, UNAM. pp. 155.
- King, S.R., Carlson, T.J., Moran, K., 1996. Biological diversity, indigenous knowledge, drug discovery and intellectual property rights: creating relationships. *Journal of Ethnopharmacology* 51, 45–57.
- Moerman, D.E., Pemberton, R.W., Kiefer, D., Berlin, B., 1999. A comparative analysis of five medicinal floras. *Journal of Ethnopharmacology* 19, 49–67.
- Murphy, C.M., 1999. Plants products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12, 564–582.
- Olivera, O.A.G., Soto, H., Martínez, V.M., Terrazas, S.T., Solares, A.F., 1999. Phytochemical study of cuachalalate (*Amphipherygium adstringens*, Schiede ex Schlecht). *Journal of Ethnopharmacology* 68, 109–113.
- Paredes F, M., 2001. Contribución al Estudio Etnobotánico de la Flora Útil de Zapotitlán de las Salinas, Puebla, Tesis Profesional. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, México, p. 109.
- Rico-Arce, L., Rodríguez, A., 1998. Mimosaceae R. Br. Tribu Acaciae Benth. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Fascículo 20. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Rosas, L. R., (2003). Estudio etnobotánico de San Rafael-Coxcatlán, Tesis Profesional. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, México, pp. 95.
- Rzedowski, J., 1978. *Vegetación de México*. Ed. Limusa. México.
- Srinivasan, D., Sangeetha, N., Suresh, T., Lakshmana, P.P., 2001. Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 74, 217–220.
- Staubmann, R., Ncube, I., Gubitzi, G.M., Steiner, W., Read, J.S., 1999. Esterase and lipase activity in *Jatropha curcas* L. Seeds. *Journal of Biotechnology* 75, 117–126.
- Vanden Berghe, D.A., Vlietinck, A.J., 1991. Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. In: Dey, P.M., Harborne, J.B., Hostettmann, K. (Eds.), *Methods in plant Biochemistry Assay for Bioactivity*, 6. Academic Press, London, pp. 47–69.
- Van der Berg, A.J.J., Horsten, S.F.A.J., Kettenes-van, den Bosch, Kroes, B.H., Beukelman, C.J., Leefflag, B.R., Labadie, R.P., 1995. Curcacycline A – a novel cyclic octapeptide isolated from the latex of *Jatropha curcas* L. *FEBS Letters* 358, 215–218.
- Weller, S.C., Romney, A.K., 1998. *Systematic Data Collection. Qualitative Research Methods Series*, 10. SAGE. Publications, Newbury Park, USA.

**CAPÍTULO IV**

**FITOQUÍMICA Y ACTIVIDAD**

**ANTIBACTERIANA DE**

***Jatropha neopauciflora* Pax**

**“SANGRE DE GRADO”**

## INTRODUCCIÓN

Tomando como base los resultados del estudio etnobotánico (Canales et al., en prensa) y el correspondiente a la determinación de la actividad antibacteriana de las plantas usadas en San Rafael para aliviar enfermedades de posible origen bacteriano (Canales et al., 2005), la planta seleccionada para trabajar el aspecto fitoquímico fue *Jatropha neopauciflora* (sangre de grado). Los criterios para esta decisión fueron, que esta especie fue la que tuvo el mayor número de eventos (planta medicinal con el mayor número de menciones por los informantes) en el grupo de plantas que se usan para aliviar enfermedades de posible origen bacteriano con el mayor valor de índice de consenso de informantes. Por otra parte, En los ensayos microbiológicos resultó ser una de las dos especies con mayor actividad antibacteriana. A esto debe agregarse que es una especie endémica del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, para la cual hasta el momento no se cuenta con ningún trabajo que se refiera a estos aspectos.

Standley y Steyermark (1949), menciona que *Jatropha neopauciflora*, pertenece a la familia de las Euphorbiaceae, que es una de las más grandes con más de 200 géneros y 7000 especies. Estos mismos autores citan que, la mayoría de las plantas de la familia se distinguen por la combinación de savia lechosa (látex) y el fruto seco de 3-celdas. En muchas especies el látex es venenoso o al menos altamente irritante y las semillas también poseen propiedades purgativas, o en gran cantidad son venenosas (Standley y Steyermark, 1949). Trease y Evans (1993), citan que dentro de esta familia algunos miembros contienen antraquinonas, triterpenoides, epoxiácidos grasos y ácidos grasos insaturados. Los alcaloides cuando están presentes suelen ser del tipo aporfina, piridina, indol, quinoleína o tropano (Trease y Evans, 1993).

El género *Jatropha* está formado por hierbas, arbustos y árboles, cuenta con alrededor de 115 especies distribuidas en las regiones tropicales de ambos hemisferios (Standley y Steyermark, 1949). *J. neopauciflora* es utilizada en San Rafael para aliviar los “granitos que salen dentro de la boca a los niños, las postemillas, una muela que duele a causa de estar con caries, se usa también en casos de tener fuegos en los labios y también se aplica sobre las heridas”. Lo que utiliza la gente de San Rafael para aliviar todas las enfermedades antes mencionadas es el látex, que obtienen haciendo una herida al tallo de la planta de donde inmediatamente empieza a salir un “juguito rojo” que toman con un dedo y lo untan en la región afectada. Es importante mencionar que en todo el poblado sólo se localizó una planta en un huerto y que se observaron sólo dos lugares en el campo donde crece la especie, por lo que podemos decir que no es abundante en la región. No obstante, es una de las plantas que fue más ampliamente reconocida y usada por los habitantes de este lugar quienes conocen a esta especie como “sangre de grado”. Esta especie es utilizada y nombrada de la misma forma que en San Rafael en otras regiones del Valle, por ejemplo en Zapotitlán Salinas (Hernández, 2004, Paredes, 2001).

En particular sobre *J. neopauciflora* no se ha realizado ningún estudio fitoquímico, pero hay otras especies de esta familia que están ampliamente estudiadas y que incluso son comercializadas para aliviar diferentes padecimientos (Apéndice 4). Entre los compuestos aislados de diferentes especies de *Jatropha*, se pueden mencionar algunos péptidos cíclicos que actúan sobre la proliferación de células-T y tienen actividad antimalaria (Apéndice 4).

Tomando en cuenta la información del Apéndice 4, se tiene que hay diferentes especies del género *Jatropha* que han sido estudiadas fitoquímicamente y en algunos casos se ha determinado la actividad biológica de los compuestos aislados. Tomando en cuenta lo anterior y la información del estudio etnobotánico,

es de esperar entonces que *Jatropha neopauciflora* sintetice uno o varios compuestos con actividad antibacteriana.

## OBJETIVOS

1. Aislar y purificar el (los) compuesto (s) con actividad antibacteriana, usando como estrategia de separación un estudio biodirigido.
2. Elucidar la estructura del (los) compuesto (s) biológicamente activo (s) mediante estudios espectroscópicos y espectrométricos.

### 3. METODOLOGÍA

**1) RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.** Se realizaron dos colectas de la parte aérea de *Jatropha neopauciflora*. En mayo de 2001 se colectaron 100 g de planta para los bioensayos preliminares. En enero de 2002, se colectaron 3 Kg para el estudio fitoquímico. Las dos colectas se hicieron del mismo organismo. La planta se dejó secar a temperatura ambiente en un lugar sombreado y ventilado. Se depositó un ejemplar en el herbario de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala (IZTA), que quedó registrado bajo el número 29284 y su duplicado en el herbario Nacional del Instituto de Biología, UNAM (MEXU).

Adicionalmente en febrero de 2002, se colectaron 100 ml del látex de *J. neopauciflora*, mediante una herida en diferentes tallos de la planta, inmediatamente después del corte emanó el látex, que se colocó en frascos de vidrio de 20 ml de capacidad. Una vez que se obtuvieron 10 ml, se le agregaron alrededor de 3 ml de hexanos para evitar que el látex se oxidara y se transportó al laboratorio en frío.

**2) PREPARACIÓN DE EXTRACTOS.** La planta seca y triturada se maceró consecutivamente en un recipiente de vidrio con hexanos, acetato de etilo y metanol, para posteriormente eliminar el disolvente bajo presión reducida y concentrar cada extracto a sequedad.

**3) LIOFILIZACIÓN DEL LÁTEX.** Para retirar los pedazos de tallo y brácteas, el látex se filtró utilizando una gasa, posteriormente se congeló a  $-40^{\circ}\text{C}$  y se liofilizó (Labconco Freeze Dry Siytem/Freezone 4.5) hasta sequedad.

**4) CUANTIFICACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES.** Se realizó por peso directo en una balanza semianalítica.

**5) MICROORGANISMOS UTILIZADOS.** Se trabajó con 10 cepas de bacterias Gram negativas: *Vibrio cholerae* No-01, *Vibrio cholerae* INDRE 206 aislada de agua contaminada, *Vibrio cholerae* aislada de un caso clínico (estas cepas corresponden al grupo 01, productor de enterotoxina, serotipo Inaba), *Vibrio cholerae* CDC V12, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter agglomerans* ATCC 27155, *Salmonella typhi* ATCC 19430, *Shigella boydii* ATCC 8700, *Enterobacter aerogenes*, (donada por el laboratorio de microbiología de la FES Cuautitlán) y *Pseudomonas aeruginosa* (donada por el laboratorio de análisis clínicos de la CUSI del Campus Iztacala); y con 4 cepas de bacterias Gram positivas: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* y *Sarcina lutea* (donadas por el laboratorio de microbiología de la FES Cuautitlán).

**6) EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA.** El método que se utilizó para evaluar la actividad antibacteriana fue el de difusión en agar de Kirby-Bauer (Van den Berghe y Vlietnick, 1991). Cada bioensayo se realizó por triplicado. Los sensidiscos fueron impregnados con 2 mg de cada extracto a probar, así como del látex. Como controles negativos se usaron sensidiscos impregnados con 10 µl del solvente correspondiente. Como controles positivos se usaron sensidiscos impregnados con 25 µg de cloramfenicol.

Para determinar las concentraciones mínima inhibitoria (CMI) y bactericida mínima (CBM), se utilizó el método de microdilución en caldo (Koneman, 1985). Las concentraciones que se ensayaron fueron: 2.0, 1.5, 1.0, 0.75, 0.5, 0.25 y 0.125 mg/ml.

**7) AISLAMIENTO Y ELUCIDACIÓN DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS.**

**Aislamiento.** Para separar los compuestos activos, se usaron técnicas cromatográficas de columna y de placa fina, cuyas características se describen en el apéndice 1.

Para separar los componentes del látex se emplearon 500 mg de látex liofilizado, que se disolvieron en 3 ml de agua destilada. Posteriormente la solución se centrifugó durante 15 minutos a 14,000 rpm y el sobrenadante se eluyó en columnas de 1 cm de diámetro, preparadas con Sephadex (Amersham Pharmacia Biotech AB). La separación se efectuó en orden creciente de tamaño de partícula, primero con Sephadex LH20 (fase móvil metanol-agua 1:1), Sephadex G-25 (fase móvil agua) y Sephadex G-75 (fase móvil agua). La detección de las fracciones similares se realizó mediante HPLC (HP Series 1100; columna Supelcosil LC-18 25cm X 4.6mm X 5.0 $\mu$ , fase móvil metanol-acetonitrilo-agua 25:25:50 con un flujo de 1 ml/min).

Para el fraccionamiento del extracto hexánico (13.31 g), se utilizó una cromatografía en columna abierta de sílica gel (malla 70-230 Sigma 5-2509). Se inició la elución con hexanos, se aumentó la polaridad con cloroformo y por último metanol.

Para el fraccionamiento de la fracción 9 (1.9189 mg) de la cromatografía en columna del extracto hexánico, la cromatografía se inició con la fase móvil de hexanos y se aumentó la polaridad con acetato de etilo, hasta acetato de etilo 100%.

El extracto de acetato de etilo (81.29 g) se fraccionó mediante cromatografía en columna abierta usando como fase estacionaria sílica gel (malla

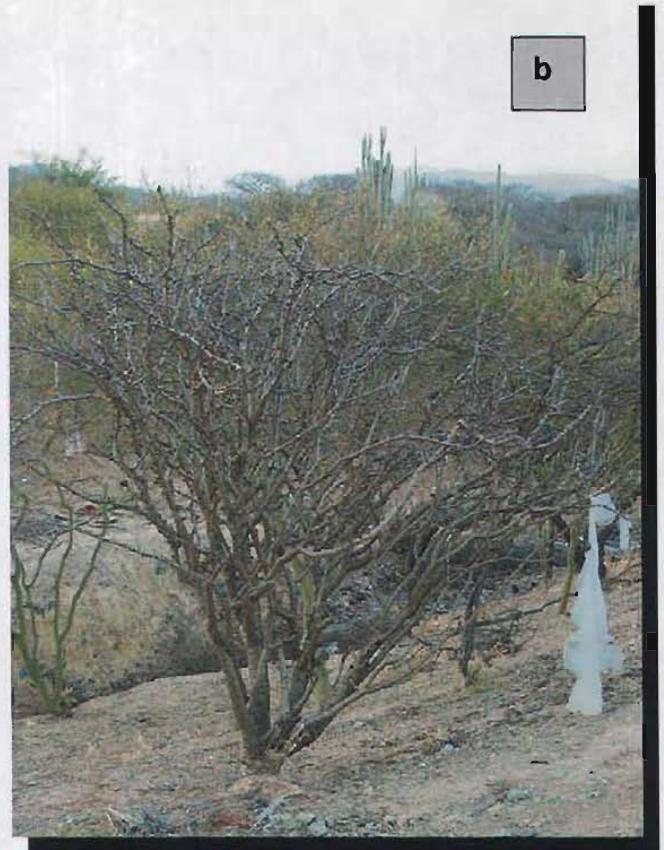
70-230 Sigma 5-2509) y de fase móvil hexano, aumentando la polaridad gradualmente con cloroformo y metanol.

La fracción 4 (6 g) del extracto de acetato de etilo, se fraccionó en cromatografía en columna abierta, usando como soporte sílica gel (70-230 Sigma 5-2509), y como fase móvil hexanos, aumentando de polaridad con hexanos-cloroformo, cloroformo y finalmente metanol.

**Elucidación de las estructuras.** La determinación de las estructuras se llevó a cabo mediante espectroscopía de Ultravioleta, Infrarrojo, RMN<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C, DEPT, COSY y espectrometría de masas; el equipo y las condiciones de análisis se explican en el Apéndice 2.



(1cm:1cm)



(1 cm: 1 m)



(1 mm : 2.5 mm)

**Figura 4.1.** Detalle de las flores (a), aspecto general de la planta (b) y acercamiento de las hojas (c) de *Jatropha neopauciflora* de varias localidades del Valle de Tehuacán-Cuicatlán.

## RESULTADOS

### Actividad antibacteriana.

Los resultados preliminares (Cuadro 4.1), mostraron que sólo el extracto de acetato de etilo mostró actividad antibacteriana.

En los bioensayos realizados con la planta colectada en enero de 2002, se observó que la actividad disminuyó (Cuadro 4.2).

En el caso del látex (Cuadro 4.3), los resultados fueron más contundentes, pues comparando con los halos de inhibición registrados para el extracto de acetato de etilo (Cuadros 4.1 y 4.2), los halos mostrados por el látex se incrementaron, además la liofilización del látex no afectó a la actividad antibacteriana.

**Cuadro 4.1.** Resultados del bioensayo realizado con el extracto de acetato de etilo de *Jatropha neopauciflora* (sangre de grado).

Bacteria	Halo de inhibición (mm)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10.3 ± 0.47
<i>Staphylococcus aureus</i>	7.0 ± 0.5
<i>Sarcina lutea</i>	11.3 ± 0.58
<i>Basillus subtilis</i>	7.0 ± 0.5
<i>Yersinia enterocolitica</i>	9.0 ± 0.5
<i>Vibrio cholerae</i> No-O1	16.3 ± 0.58
<i>Vibrio cholerae</i> El Tor	12.3 ± 0.58

Los halos de inhibición son el promedio de tres repeticiones, en los otros 7 tipos bacterianos no hubo actividad. El extracto se obtuvo de planta colectada en mayo del 2001.

**Cuadro 4.2.** Actividad antibacteriana de los extractos de *J. neopauciflora*.

<b>Extracto</b>	<b>Bacteria</b>	<b>Halo de inhibición (mm)</b>
Hexanos	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	11.0 ± 0.5
Acetato de etilo	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	7.3 ± 0.58
Acetato de etilo	<i>Vibrio cholerae</i> cc	7.0 ± 0.5
Metanol	<i>Vibrio cholerae</i> cc	7.0 ± 0.5

La planta se colectó en enero 2002. Los halos de inhibición son el promedio de tres repeticiones.

En las otras 10 cepas de bacterias no hubo actividad

**Cuadro 4.3.** Actividad antibacteriana del látex de *J. neopauciflora*

<b>Bacterias</b>	<b>Látex fresco (halos en mm)</b>	<b>Látex liofilizado (halos en mm)</b>
<i>Sarcina lutea</i>	17.3 ±1.2	17.3 ±1.2
<i>Staphylococcus aureus</i>	13.7 ±0.6	13.7 ±0.6
<i>S. epidermidis</i>	12.3 ±0.6	12.3 ±0.6
<i>Basillus subtilis</i>	12.3 ±0.6	12.3 ±0.6
<i>Vibrio cholerae</i> No-O1	12.7 ±0.6	12.7 ±0.6
<i>Shigella boydii</i>	12.7 ±0.6	12.7 ±0.6

El látex fue colectado en febrero del 2002. En las otras ocho cepas ensayadas no hubo actividad.

## **Aislamiento y purificación de los principios activos**

### **1) Fraccionamiento del látex.**

Una vez confirmada la actividad antibacteriana del látex, se procedió a realizar la recolección de 100 ml de éste, que se liofilizaron y dieron un rendimiento de 36.56g, con lo que se inició el aislamiento y purificación del compuesto activo.

Al hacer algunas cromatografías del látex en capa fina, se observó que la muestra no se movía del punto de aplicación o que se dispersaba sin separarse, por lo que se decidió hacer una cromatografía de filtración en gel. De las cromatografías con Sephadex LH-20 y G-25, no se obtuvo una separación adecuada.

La cromatografía con Sephadex G-75, dio la mejor resolución. De esta cromatografía se obtuvieron 13 alícuotas (5 ml cada una). Las fracciones semejantes se juntaron de acuerdo a su patrón de elusión en cromatografía de líquidos de alta resolución (fase móvil Metanol-Acetonitrilo-Agua 25-25-50, en una columna Supelcosil LC-18 25 cm X 4.6 mm X 5.0  $\mu$  con un flujo de 1 ml/min), con lo cual las alícuotas se agruparon en 3 fracciones, que se liofilizaron y se sometieron a evaluación de la actividad antibacteriana (Cuadro 4.4).

**Cuadro 4.4.** Bioensayo de las fracciones obtenidas de la cromatografía con Sephadex G-75 sobre *Sarcina lutea*.

Fracción	Halo de inhibición (mm)
1 (1)	Negativo
2 (2-5)	Negativo
3 (6-13)	21.0 ± 0.5

Fase móvil: agua.

La fracción 3 fue activa y presentó una sola mancha en ccf, absorbe a 280 nm en UV, tiene un punto de descomposición de 190-200°C y se obtuvo un rendimiento de 7.3 mg (1.46%). Al compuesto se le determinaron sus espectros de Infrarrojo, Masas, RMN<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C, además fue sometido a los experimentos DEPT (*Distortion-less Enhancement by Polarization Transfer*), COSY (espectroscopía de correlación <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H,) para elucidar su estructura química.

Desafortunadamente, en los espectros de Masas, RMN<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C, se observó que el compuesto aislado no estaba puro, sin embargo se puede considerar que presenta en su estructura química el grupo funcional OH, lo cual es evidente por la señal de banda ancha a 3409.39cm<sup>-1</sup>. En 1608.08cm<sup>-1</sup> se observa la señal de alargamiento entre C-C de un anillo (Apéndice 3 Fig. 1), además la señal a 1521 cm<sup>-1</sup> confirma la presencia de grupos C=C correspondientes a anillos aromáticos.

En el espectro de RMN<sup>1</sup>H, se pueden observar las señales de los protones aromáticos a 6.948(s), 6.843(s), 6.015(s) y 6.000(s)ppm. En 4.891(s)ppm se localiza la señal de un protón vinílico. De 4.061 a 4.027ppm se localiza un cuarteto acoplado con un multiplete cuyo centro se encuentra en 3.904ppm que probablemente represente a protones base de OH (Apéndice 3 Fig. 2).

Con los resultados de los espectros anteriores, al principio se consideró que el compuesto aislado podría ser pinorresinol, ya que en el espectro de RMN<sup>13</sup>C (Apéndice 3 Fig. 3), se observan 9 señales y teniendo en cuenta los datos del espectro de masas (Apéndice 3 Fig. 6), se supuso que se trataba de una molécula simétrica de un total de 18 carbonos, pero comparando el espectro de RMN<sup>1</sup>H y RMN<sup>13</sup>C, así como el espectro de masas con la bibliografía (Miyazawa et al., 1992), se determinó que no se trataba de pinorresinol, ya que las señales no coincidían.

Posteriormente se sugirió que se podría tratar de la mutifidina, compuesto aislado del látex de *Jatropha multifida* (Van den Berg, 1995), pero el patrón de fragmentación observado en el espectro de masas (Apéndice 3 Fig. 6) no coincide con el reportado en la bibliografía para la multifidina, además las señales de los espectros de RMN<sup>1</sup>H y RMN<sup>13</sup>C tampoco eran similares.

Tomando en cuenta lo anterior sólo se puede decir que el compuesto aislado probablemente sea una molécula simétrica, ya que sólo se observan 9 señales de carbonos en el espectro de RMN<sup>13</sup>C, que el peso molecular detectado es de 307, que presenta metinos, metilenos y muy probablemente sea un compuesto aromático, además presenta el grupo funcional OH, ya que en el espectro IR se muestra una señal amplia a 3409.39 cm<sup>-1</sup>. Para determinar con precisión la estructura química del metabolito de interés, se sugiere obtener más látex fresco, seguir la misma metodología de aislamiento y obtener un mayor rendimiento; tomando en cuenta la alta polaridad de este compuesto, realizar un HPLC de fase inversa y posteriormente realizar estudios de espectroscopía.

Posteriormente, se llevó a cabo la acetilación del compuesto descrito anteriormente, y se determinó su actividad antibacteriana frente a *Sarcina lutea*, se determinó que una vez que los grupos OH fueron acetilados, la actividad antibacteriana fue nula.

## 2) Fraccionamiento de los extractos hexánico y de acetato de etilo de *Jatropha neopauciflora*.

Tomando en cuenta que *Jatropha neopauciflora*, no ha sido estudiada fitoquímicamente, se decidió realizar la cromatografía de los siguientes extractos.

**Extracto de acetato de etilo.** Del fraccionamiento del extracto de acetato de etilo, se obtuvieron un total de 236 alícuotas de 250 ml cada una, y mediante cromatografía en placa fina se combinaron en 54 fracciones. Para determinar la actividad antibacteriana a cada una de estas fracciones se utilizó la cepa de *S. lutea* (Cuadro 4.5).

**Cuadro 4.5.** Fracciones resultantes de la cromatografía en columna del extracto de acetato de etilo de *J. neopauciflora*. La actividad antibacteriana sólo se probó frente a *S. lutea*.

Alícuota	Fracción	Fase móvil	Halo de inhibición (mm)
1-3	1	Hexanos	8.0 ± 0.5
4	2		7.0 ± 0.5
5	3		7.0 ± 0.5
6-8	4		19.0 ± 0.5
9	5		20.0 ± 0.5
10-12	6		16.0 ± 0.5
13-16	7		16.0 ± 0.5
17-18	8		14.0 ± 0.5
19-25	9	Hexanos-Cloroformo 9-1	11.0 ± 0.5
26-28	10	Hexanos-Cloroformo 8-2	10.0 ± 0.5
29-37	11	Hexanos-Cloroformo 7-3	9.0 ± 0.5
38-45	12	Hexanos-Cloroformo 6-4	10.0 ± 0.5
46-53	13	Hexanos-Cloroformo 1-1	12.0 ± 0.5
54-58	14		11.0 ± 0.5
59-63	15	Hexanos-Cloroformo 4-6	10.0 ± 0.5
64-70	16		9.0 ± 0.5
71-76	17	Hexanos-Cloroformo 3-7	8.0 ± 0.5
77-81	18	Hexanos-Cloroformo 2-8	7.0 ± 0.5
82-84	19		7.0 ± 0.5
85-94	20	Hexanos-Cloroformo 1-9	7.0 ± 0.5
95-97	21	Cloroformo 100%	7.0 ± 0.5

**Cuadro 4.5. Continuación...**

Alicuota	Fracción	Fase móvil	Halo de inhibición (mm)
98	22		7.0 ± 0.5
99	23		7.0 ± 0.5
100	24		7.0 ± 0.5
101	25		8.0 ± 0.5
102	26		8.0 ± 0.5
103-104	27		No activa
105-106	28		No activa
107	29		No activa
108-115	30	Cloroformo-metanol 9-1	No activa
116-118	31		No activa
119	32		No activa
120-123	33		No activa
124	34		No activa
125-133	35		No activa
134-136	36		No activa
137	37		No activa
138-145	38		No activa
146-149	39		No activa
150-153	40		No activa
154-155	41		No activa
156-167	42	Cloroformo-metanol 8-2	No activa
168	43		No activa
169-188	44	Cloroformo-metanol 7-3	No activa
189-174	45		No activa
175-177	46		No activa
178	47		No activa
179-207	48	Cloroformo-metanol 6-4	No activa
208-218	49	Cloroformo-metanol 1-1	No activa
219	50		No activa
220-227	51	Metanol 100%	No activa
228-229	52		No activa
230-231	53		No activa
232	54		No activa

Como se puede observar en el cuadro anterior, la mayor actividad se localizó en las fracciones 4 a 8. El patrón de elusión en ccf mostró que sólo las fracciones 4, 5 y 6 eran las más parecidas, por lo que se combinaron (asignándole la clave de fracción 4). De la cromatografía de esta fracción, se obtuvieron 190 alícuotas de 20 ml cada una; utilizando cromatografías de placa fina se reunieron en 20 fracciones, a las que se les determinó su actividad antibacteriana (sólo se usó la cepa de *Sarcina lutea*) (Cuadro 4.6).

**Cuadro 4.6** Cromatografía en columna de la fracción 4 del extracto de acetato de etilo. La actividad se evaluó sólo en *Sarcina lutea*.

Alícuota	Fracción	Fase móvil	Halo de inhibición (mm)
1-3	1	Hexanos	No activa
4-7	2		No activa
8-14	3		No activa
15-16	4		No activa
17-19	5		No activa
20-30	6		No activa
31-36	7		No activa
37-48	8		No activa
49-59	9		No activa
60-79	10	Hexanos-cloroformo 95-5	11.0 ± 0.5
80-87	11		13.0 ± 0.5
88-93	12	Hexanos-cloroformo 90-10	20.0 ± 0.5
94-108	13	Hexanos-cloroformo 80-20	15.0 ± 0.5
109-119	14		No activa
120-124	15	Hexanos-cloroformo 70-30	No activa
125-157	16	Hexanos-cloroformo 60-40	9.0 ± 0.5
158-179	17	Hexanos-cloroformo 1-1	9.0 ± 0.5
180-187	18	Cloroformo 100%	No activa
188	19	Metanol 100%	13.0 ± 0.5
189-190	20		No activa

Como se puede observar en el cuadro anterior, la actividad antibacteriana se localizó en las fracciones 10 a 13, siendo la fracción 12 la que presentó el halo

de inhibición más grande ( $20.0 \pm 0.5$ ).

La CMI y la CBM de las fracciones 11 (100.60mg), 12 (435.2 mg), 13 (2135 mg) y 19 (2077 mg) que presentaron los mayores halos de inhibición, se obtuvieron en las cepas *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Basillus subtilis*, *Sarcina lutea*, *Vibrio cholerae* No-01 y *V. cholerae* el Tor, especies de bacterias que fueron sensibles al extracto crudo de acetato de etilo. (Cuadro 4.7).

**Cuadro 4.7.** Concentración mínima inhibitoria (CMI) y bactericida mínima (CBM) de las fracciones 11, 12, 13 y 19.

Bacteria	Fracción	CMI (mg/ml)	CBM (mg/ml)
<i>Staphylococcus. aureus</i>	11	> 2.0	>>2.0
	12	> 2.0	>>2.0
	13	1.0	> 2.0
	19	> 2.0	>>2.0
<i>S. epidermidis</i>	11	> 2.0	>>2.0
	12	> 2.0	>>2.0
	13	1.5	> 2.0
	19	2.0	> 2.0
<i>Basillus subtilis</i>	11	1.5	> 2.0
	12	> 2.0	>>2.0
	13	1.5	2.0
	19	2.0	>2.0
<i>Sarcina lutea</i>	11	0.5	0.75
	12	1.0	>>2.0
	13	0.125	<0.125
	19	1.0	1.5

**Cuadro 4.7.** Continuación...

Bacteria	Fracción	CMI (mg/ml)	CBM (mg/ml)
<i>Vibrio cholerae</i> No-01	11	0.5	>2.0
	12	1.0	>2.0
	13	> 2.0	>>2.0
	19	0.5	0.75
<i>V. cholerae</i> Tor	11	0.25	>2.0
	12	0.5	>2.0
	13	0.5	>2.0
	19	0.25	0.5

*Yersinia enterocolitica* en el ensayo con las 4 fracciones tuvo los valores de CMI >2.0 y CBM >>2.0. Los valores observados son el resultado de tres repeticiones.

Las cepas más sensibles a las fracciones activas fueron *S. lutea* y *V. cholerae* el Tor, ya que los valores de MIC para la primera estuvieron entre 0.125 y 1.0 mg y para la segunda entre 0.25 y 0.5 mg/ml.

Las fracciones 11, 12 y 13 presentaron un olor muy agradable que al contacto con la piel este perdura. Cabe hacer notar que el aroma de la fracción 19 era menos intenso que las fracciones anteriores; sin embargo, las 4 fracciones eran solubles en hexanos y tenían una consistencia aceitosa. Las 4 fracciones activas se sometieron a cromatografía en placa fina, utilizando como fase móvil la mezcla cloroformo-hexanos 7-3. Se observó que las 4 fracciones presentan algunas manchas con R<sub>f</sub> similares. Cada una de las fracciones fue sometida a un análisis de gases-masas (Cuadro 4.8) para obtener una identificación tentativa de los compuestos presentes. De acuerdo al patrón de fragmentación de la biblioteca NIST, las cuatro fracciones están compuestas principalmente por sesquiterpenos. El espatulenol está presente en las cuatro fracciones.

**Cuadro 4.8** Composición química de las fracciones 11, 12, 13 y 19, determinada por espectrometría de gases-masas.

Fracción	Compuesto	% Área	PM	Fórmula condensada
11	(-)-Espatuleno	32.02	220	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O
	1-Naftalenol, decahidro-4a-metil-8-metileno-2-(1-metiletil)	15.86	222	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O
	Platambina	47.86	220	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>
	Azuleno, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8-octahidro-1, 4-dimetil 1-7-(1-metiletilideno)	4.27	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
	Irisona	2.32	192	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O
12	(-)-Espatuleno	18.93	220	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O
	1-Naftalenol, 1, 2, 3, 4, 4a, 7, 8, 8a-octahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)	20.71	222	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O
	Platambina	7.11	220	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>
	Cedreno	45.34	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
	Cis-alfa-copaeno-8-ol	2.88	220	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O
	Ciclohexanol,1,3,3-trimetil-2-(3-metil-2-metileno-3butenilideno	2.60	220	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>
13	(-)-Espatuleno	14.75	220	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O
	Ciclohexanol, 3-etenil-3-metil-2-(1-metiletenil)-6-(1-metiletil)	1.85	222	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O
	1H-Cicloprop e azuleno, 1a, 2, 3, 5, 6, 7, 7a, 7b-octahidro-1, 1, 4, 7-tetrametil	17.34	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
	Cedreno	32.57	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
	1-Naftalenol, 1, 2, 3, 4, 4a, 7, 8, 8a-octahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)	12.05	222	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O
	1-Naftalenol, 1, 2, 3, 4, 4a, 5, 6, 8a-octahidro-4a,8-dimetil-2-(2-propenilo)	10.24	220	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O
	Isocariofileno	0.96	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
	Cis-alfa-copaeno-8-ol	5.83	220	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O
	6,9-ácido octadecadinoico, metil éster	1.80	290	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>
	Ciclohexano-cis-1,2-dietenil1-4-(1-metiletilideno)	38.02	176	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub>
(1,1-5,6 tetrametil)2H-ciclopropanaftaleno-2-ona, 1, 1a,4,5,6,7,7a,7b-octahidro	38.66	218	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O	
Platambina	13.80	220	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	
Irisona	5.82	192	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O	
(-)-Espatuleno	1.89	220	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	

Los nombres de los compuestos se obtuvieron bajo la probabilidad del 95% al comparar su espectro de masas con el de la base NIST

**Extracto hexánico.** De la cromatografía en columna abierta del extracto hexánico, se obtuvieron un total de 110 alícuotas de 30 ml cada una, por medio de cromatografía en placa fina se agruparon en 32 fracciones (Cuadro 4.9).

**Cuadro 4.9.** Fracciones resultantes de la cromatografía en columna del extracto hexánico de *J. neopauciflora*.

Alícuota	Fracción	Fase móvil
1	1	Hexanos 100%
2	2	
3	3	
4-5	4	
6	5	
7-10	6	
11-15	7	
16-21	8	
22-24	9	Hexanos-AcOEt 95-5
25-29	10	
30-31	11	Hexanos-AcOEt 90-10
32	12	
33-35	13	
36-38	14	
39-41	15	Hexanos-AcOEt 75-25
42-43	16	
44	17	
45	18	
46-50	19	

**Cuadro 4.9.** Continuación...

Alicuota	Fracción	Fase móvil
51	20	Hexanos-AcOEt 70-30
52	21	
53-56	22	
57	23	
58-60	24	
61	25	Hexanos-AcOEt 65-35
62-64	26	
65-70	27	
71-74	28	
75-78	29	
79-99	30	Hexanos-AcOEt 60-40
100-104	31	Hexanos-AcOEt 50-50
105-110	32	AcOEt 100%

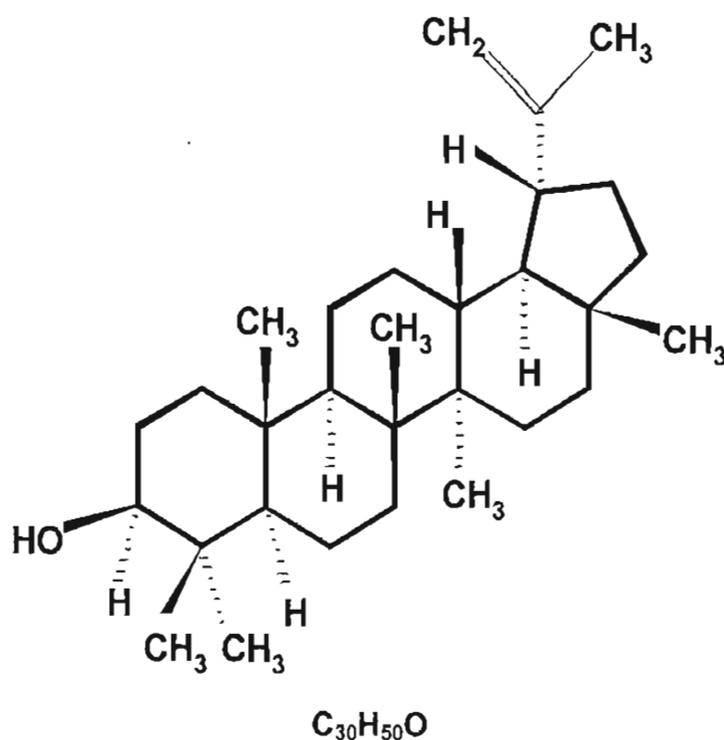
Las alícuotas similares se determinaron por ccf.

La fracción 12 que se obtuvo con la fase móvil Hexanos-AcOEt 90-10 presentó una sola mancha en ccf, además cristalizó de la mezcla de elusión, por lo que se consideró que se trataba de un compuesto puro. Algunas características de este compuesto se muestran en el Cuadro 4.10.

**Cuadro 4.10.** Características del compuesto obtenido del extracto hexánico (fracción 12) de *J. neopauciflora*

Rendimiento	11.9 mg
Color	Blanco opaco
Soluble	Cloroformo
Punto de fusión	175-178°C

A este compuesto se le determinaron sus espectros de RMN<sup>1</sup>H y de masas (Apéndice 3 Fig. 7 y 8). En el espectro de RMN<sup>1</sup>H se pueden observar las señales de grupos metilo, metileno y metino en campos altos. Se tienen las señales de protones vinílicos (4.55-4.576 ppm y 4.682-4.694ppm) en campos bajos. Finalmente de 3.150-3.229ppm y 3.610-3.675 se tienen las señales de protones base de alcohol. Comparando este espectro con Burns et al., 2000 se tiene que el compuesto aislado corresponde al lupeol (triterpeno). Lo anterior se pudo corroborar con el espectro de masas, donde se determinó el peso molecular de 426, comparando este dato con la biblioteca NIST, se tiene la confirmación de que el compuesto aislado realmente se trata del lupeol (Figura 4.2). Este compuesto no presentó actividad antibacteriana.



**Figura 4.2.** Lupeol compuesto aislado del extracto hexánico de *J. neopauciflora*.

La fracción 16 obtenida con la fase móvil hexanos-acetato de etilo 75-25, también cristalizó y presentó una mancha en ccf, en el Cuadro 4.11 se muestran las características de este compuesto.

**Cuadro 4.11.** Características del compuesto obtenido del extracto hexánico (fracción 16) de *J. neopauciflora*

Rendimiento	58.9 mg
Color	Agujas, transparente, hialinas
Soluble	Cloroformo
Punto de fusión	135-136°C

De este compuesto se obtuvo su espectro de RMN<sup>1</sup>H y comparando las señales con la bibliografía (Pouchert, 1993) resultó ser  $\beta$ -sitosterol, el cual no presentó actividad antibacteriana

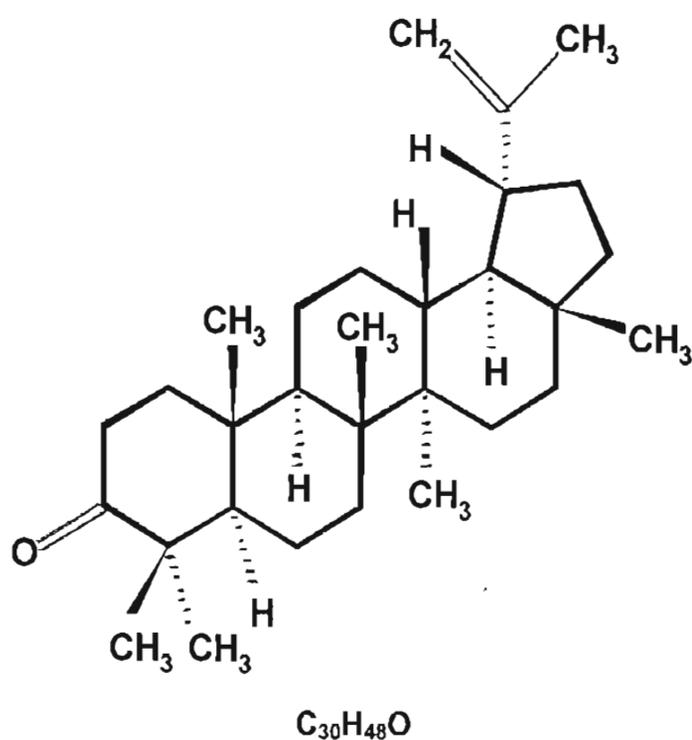
De la cromatografía en columna de la fracción 9, se obtuvieron 68 alícuotas de 10 ml cada una, que se agruparon en 23 fracciones, por medio de cromatografías en placa fina, (Cuadro 4.12).

**Cuadro 4.12.** Separación cromatográfica de la fracción 9.

Alicuota	Fracción	Fase móvil
1-2	1	Hexanos
3-5	2	
6-14	3	Hexanos-AcOEt 98-2
15	4	
16	5	
17-23	6	
24-28	7	
29	8	
30	9	
31	10	
32	11	
33-35	12	
36-37	13	
38-39	14	
40	15	
41	16	
42-47	17	
48-49	18	Hexanos-AcOEt 97-3
50-56	19	
57-60	20	
61-64	21	Hexanos-AcOEt 90-10
65-66	22	AcOEt 100%
67-68	23	

De la cromatografía anterior, la fracción 14 cristalizó, los cristales se recrystalizaron de metanol, finalmente se tuvo un rendimiento de 36.8 mg, el punto de fusión se localizó entre 166-168°C y el compuesto fue soluble en cloroformo. De este compuesto se obtuvieron sus espectros de RMN<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C, y masas,

además se le realizó un experimento DEPT (Apéndice 3 Fig. 10, 11, 12 y 13). Los desplazamientos que se observan en el espectro de RMN<sup>1</sup>H, indican que se trata de un derivado del lupeol; los espectros de RMN<sup>13</sup>C y DEPT confirmaron que muy probablemente el compuesto es un triterpeno, finalmente con el espectro de masas se calculó un peso molecular de 424. Cabe hacer notar que el patrón de fragmentación coincidió con el reportado en la biblioteca NIST para el Lup-20(29)-en-3-ona (Fig. 4.3). Este compuesto tampoco presentó actividad antibacteriana.



**Figura 4.3** Lup-20(29)-en-3-ona compuesto aislado del extracto hexánico de *J. neopauciflora*.

## DISCUSIÓN

### Actividad antibacteriana.

La planta medicinal *J. neopauciflora* (sangre de grado) resultó la especie que tuvo el mayor número de eventos y se incluye en el grupo de enfermedades de posible origen bacteriano que tuvo el valor más alto en cuanto al índice de consenso de informantes (Canales et al., en prensa). Por otra parte no existen reportes de su composición química, es por ello que el análisis fitoquímico de esta especie es importante.

En cuanto a la actividad antibacteriana que mostró esta especie, se observó que las 4 cepas Gram positivas fueron sensibles al extracto de acetato de etilo y en solo tres Gram negativas se observaron halos de inhibición, de estas últimas *Vibrio cholerae* No-01 mostró los mayores halos de inhibición (Cuadro 4.1). Estos resultados podrían tener correlación con el uso que se le da a la planta en San Rafael, ya que principalmente son las bacterias Gram positivas quienes infectan la cavidad bucal y las heridas en la piel (Jawetz et al., 1995; Burrows, 1974).

La variación observada en la actividad antibacteriana no sabemos exactamente a que se debió, ya que se ha observado que la variación de los metabolitos secundarios se debe a las diferentes condiciones ambientales pues estos compuestos son sintetizados en respuesta a la intensidad de la luz, estrés hídrico, suministro de nutrientes, altas temperaturas, entre otros factores (Lambers et al., 1998; Harborne, 1989).

### Fraccionamiento del látex.

Es evidente que la información etnobotánica para este trabajo fue

fundamental, ya que el látex que es usado por los informantes de San Rafael como medicinal, mostró la mayor actividad antibacteriana.

Al tratar de aislar el compuesto responsable de la actividad antibacteriana del látex, resultó sumamente complicado y se tuvieron que ensayar cromatografías en columna con diferentes fases estacionarias, resultando el Sephadex G-75, la que dio mayor resolución. Con el Sephadex G-75 se realiza una cromatografía en gel, este método de separación se basa en la diferencia de los tamaños moleculares, donde las moléculas más grandes se filtran primero de la fase estacionaria (Fischer, 1975). Finalmente con esta cromatografía se obtuvo uno de los compuestos responsables de la actividad biológica. En este compuesto fue evidente la presencia del grupo funcional OH, anillos aromáticos, dobles ligaduras, metinos y metilenos (Apéndice 3 Fig. 1). Además los datos observados en el espectro de masas (PM= 307) (Apéndice 3 Fig. 6) y el espectro de RMN<sup>13</sup>C (9 señales de carbonos) (Apéndice 3 Fig. 3), sugieren que la molécula tenga una estructura química muy simétrica (Silverstein et al., 1981).

Con respecto a la actividad antibacteriana observada del compuesto antes mencionado, se determinó que los grupos OH presentes juegan un papel fundamental, ya que al acetilar el compuesto y posteriormente probar su actividad antibacteriana, esta resultó nula. El sitio y el número de grupos hidroxilo en el grupo fenol son necesarios y parecen ser fundamentales para el efecto antibacteriano, con la evidencia de que cuando se incrementa la hidroxilación el resultado es un incremento en la toxicidad (Sato et al., 1996; Scalbert, 1991; Mori, 1987; Urs y Dunleavy, 1975).

### **Fraccionamiento del extracto de acetato de etilo.**

Durante la purificación de los compuestos responsables de la actividad antibacteriana del extracto de acetato de etilo, se observó que la actividad

aumentaba conforme se purificaban los compuestos, ya que en el extracto crudo se encontraron halos de inhibición de 7 a 16.3 mm, mientras que en la primera cromatografía fueron de 14 a 20 mm (Cuadro 4.5) y los halos de la última cromatografía fueron de 11 a 20 mm de diámetro (Cuadro 4.6). Esto demuestra que conforme los compuestos activos se fueron purificando, la actividad antibacteriana se incrementó, probablemente estos compuestos no actúan de manera sinérgica. Datos que confirman lo anterior fueron los valores de CMI y CBM, ya que se observó una disminución de estos los valores del extracto crudo de acetato de etilo (MIC= 0.5 a 2.0 mg/ml Canales et al., 2005) con respecto a las fracciones activas de la última cromatografía (MIC= 0.125 a 1.0 mg/ml) (Cuadro 4.7).

Las fracciones activas del extracto de acetato de etilo (Cuadro 4.8) estuvieron compuestas por una mezcla de sesquiterpenos. Los sesquiterpenos que presentan actividad antibacteriana tienen en su estructura química grupos OH, dobles ligaduras, pueden tener un grupo ácido y son cíclicos, estas características se presentan en los sesquiterpenos que se determinaron en las fracciones activas. La actividad antibacteriana de los terpenos se atribuye a su acción como disolventes de las membranas celulares, produciendo un efecto de lisis bacteriana (Helander et al., 1998; Barre et al., 1997; Ahmed et al., 1993;).

Dentro de los sesquiterpenos presentes en las fracciones activas, el espatulenol fue el que se detectó en todas ellas, siendo la fracción 11 la que tuvo la mayor concentración (32.02%) de esta sustancia. Este compuesto se ha aislado de *Eucalyptus teriticomis* (Alitonou et al., 2004), donde se determinó su presencia en el aceite esencial, el cual presentó actividad sobre una especie de bacteria gram positiva (*Corynebacterium* spp) y sobre una levadura (*Saccharomyces* spp.). También se detectó en el aceite esencial de *Chenopodium botrys* (Chenopodiaceae), el aceite presentó actividad sobre *Pseudomonas aeruginosa* (bacteria gram negativa) y *Bacillus cereus* (bacteria gram positiva) y una levadura

*Candida albicans* (Duru et al., 2002). Estos resultados concuerdan con lo que se obtuvo en este trabajo, ya que las fracciones donde estuvo presente el espatulenol fueron activas sobre bacterias gram positivas y negativas.

La irisona estuvo presente en la fracción 12 y 19, este compuesto es un intermediario en la síntesis de vitamina A. Se ha aislado de *Boronia megastigma* (Rutaceae), es un líquido que tiene olor a madera de cedro cuando está muy concentrado y huele a violetas cuando está diluido, por ello se usa en perfumería (O'Neil et al., 2001). Esto explica el olor tan agradable de estas fracciones con actividad antibacteriana.

La platambina, sesquiterpeno presente en las fracciones 11, 12 y 19, se ha encontrado en el escarabajo acuático (*Platambus maculatus*) (Schildknecht et al., 1975). Este sesquiterpeno en conjunto con otros esteroides son sintetizados en las glándulas protorácicas de coleópteros de la familia Dytiscidae. Las glándulas protorácicas descargan un fluido cuando los escarabajos son molestados mecánicamente o por un depredador. Se ha determinado que la secreción juega un papel defensivo protegiendo a los escarabajos de sus depredadores, Schildknecht, 1971 observó que escarabajos tragados por sapos fueron regurgitados después de 15 a 20 minutos. Probablemente este sesquiterpeno esté jugando un papel defensivo en *J. neopauciflora*, lo que es un hecho es que en la fracción 11 es el compuesto mayoritario (47.86%) y que esta fracción tuvo actividad antibacteriana.

Un aspecto importante que se debe mencionar, es la probabilidad (95%) bajo la cual se obtuvieron los nombres de los compuestos antes mencionados al comparar su espectro de masas con el de la base NIST. Lo antes mencionado es relevante, ya que se reporta la presencia de platambina, lo que se debe confirmar en estudios posteriores aislando y purificando el compuesto para

realizar los estudios de espectrometría que sustenten esta estructura química.

### **Fraccionamiento del extracto hexánico.**

En cuanto a los compuestos aislados del extracto hexánico: lupeol y lup-20(29)-en-3-ona (Fig. 4.2 y 4.3 respectivamente), ninguno mostró actividad antibacteriana, sin embargo Ajaiyeoba et al., 2003 en un estudio sobre la actividad antimicrobiana de la corteza de *Buchholzia coriacea* (Capparidaceae) determinaron que una fracción soluble en hexanos del extracto metanólico, cuyos constituyentes principales fueron lupeol y  $\beta$ -sitosterol, presentó actividad sobre *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhii* y *P. aeruginosa*. Entonces probablemente estos compuestos deben actuar sinérgicamente, aunque no se sabe si los compuestos minoritarios fueron los causantes de la actividad antibacteriana.

El lupeol y sus derivados cetónicos han sido aislados de diferentes especies como *Parahancornia amapa* (Apocynaceae) (Carvalho et al., 2001), *Acacia mellifera* (Leguminosae) (Mutai et al., 2004), *Phyllanthus emblica* (Euphorbiaceae) (Harborne, J. B y Baxter, H. 1993), *Parthenium tomentosum* (Asteraceae) (Romo de Vivar, 1985), *Gardenia saxatilis* (Rubiaceae) (Suksamrarn et al., 2003). Estos compuestos también han sido reportados como antiinflamatorios (Huguet et al., 2000; Recio, et al., 1995).

Tomando en cuenta los datos de campo y laboratorio, se puede considerar que *J. neopauciflora*, es una especie que pudiera servir como materia prima para la elaboración de un fármaco útil para aliviar infecciones de origen bacteriano, por lo que no se debe perder de vista y es conveniente seguir haciendo pruebas con otros microorganismos como hongos y virus. Además, hacer pruebas de toxicidad y modo de acción, todo con el fin de poder proponer, en un futuro, un medicamento de patente.

Finalmente se puede afirmar que *J. neopauciflora* presenta diversos compuestos que tienen actividad antibacteriana, además de tener compuestos con actividad antiinflamatoria y que su uso tradicional en San Rafael, queda justificado científicamente.

## CONCLUSIONES

*Jatropha neopauciflora* siendo una de las dos plantas más usadas y conocidas en San Rafael, presenta actividad antibacteriana.

De los extractos obtenidos, el de acetato de etilo es el que tuvo la mayor actividad antibacteriana.

Los compuestos activos de este extracto son una serie de sesquiterpenos.

En el látex de esta planta hay un compuesto que presenta actividad antibacteriana, que es muy polar, es un compuesto aromático, presentan grupos OH, que son muy importantes en la actividad sobre las bacterias.

# **CAPÍTULO V**

## **DISCUSIÓN GENERAL**

## **Etnobotánica.**

El total de especies medicinales indicadas por los informantes fue de 46, las cuales pertenecen a 28 familias y 46 géneros.

En cuanto a la distribución del conocimiento entre los habitantes de San Rafael respecto a las plantas medicinales registradas, los resultados sugieren que no existe un patrón que relacione al conocimiento con las características personales de los informantes (origen, género, ocupación, lugar donde está localizada su casa, etc.). En realidad, se observa que el conocimiento de las plantas medicinales en la población, está distribuido de una forma homogénea entre los habitantes del poblado. Este resultado es totalmente opuesto al supuesto inicial del estudio, en el cual se incluyó la hipótesis basada en Garro (1986), en el sentido de que posiblemente fueran las personas de mayor edad en las que se concentraría un mayor conocimiento tradicional. Una explicación a la distribución relativamente homogénea del conocimiento tradicional pudiera ser el hecho de que la gente de San Rafael se reúne periódicamente para resolver los problemas que se presentan en la comunidad, lo que facilita la comunicación entre al menos un representante de cada familia. Lo antes mencionado, debe ser corroborado con otro tipo de estudios que documenten lo que se hace en las juntas.

Sin bien no existieron diferencias significativas en el conocimiento que poseen los habitantes de San Rafael sobre las plantas medicinales, sí se pudo observar una tendencia que señaló que las personas de mayor edad conocen un mayor número de plantas.

## **Actividad Antibacteriana.**

El alto porcentaje (75%) encontrado de especies que mostraron actividad sobre las diferentes cepas de bacterias, demuestra la efectividad del uso del

método etnodirigido en estudios de bioprospección. Este aspecto ha sido señalado por King et al., (1996), quienes mencionan que es posible obtener al menos 50% de resultados positivos con las plantas que son colectadas con este método. Adicionalmente, el uso de este método le otorga un respaldo importante al conocimiento que poseen los habitantes de San Rafael sobre su flora medicinal.

La selección de las 16 especies empleadas en los estudios de actividad antibacteriana, fue realizada con base al índice de consenso de informantes, pero además incluyó el criterio de ausencia de datos bibliográficos acerca de su efectividad antibacteriana. Por este motivo, están incluidas entre ellas algunas especies que tuvieron pocos eventos y que por tanto pudieran parecer de menor importancia: (*Cyrtocarpa procera*: chupandilla, *Flaveria trinervia*: hierba del sapo y *Viguiera dentata*: chimalacate). Las restantes 13 especies, presentaron un número mayor de eventos y por su uso fue posible agruparlas respecto a los conjuntos de enfermedades más importantes, tales como, enfermedades odontológicas (2 especies), heridas y quemadas (9 especies), padecimientos del sistema urinario (6 especies), diarrea (17 especies) y enfermedades del sistema respiratorio (12 especies).

La relación antes mencionada entre las especies y las enfermedades para cuya curación se utilizan, pone de relieve el hecho de que las plantas de San Rafael contrarrestan enfermedades provocadas, tanto por bacterias Gram positivas, como Gram negativas. Así mismo, en algunos casos se detectaron especies que pueden actuar de manera efectiva contra ambos tipos de bacterias. Ejemplos de estas especies que actúan contra ambos tipos de bacterias son: *Viguiera dentata* (chimalacate), *Gymnosperma glutinosum* (popote), *Cyrtocarpa procera* (chupandilla), *Juliania adstringens* (cuachalala), *Ceiba parvifolia* (pochote) y *Jatropha neopauciflora* (sangre de grado).

No obstante el relativamente amplio espectro de acción antibacteriana de estas especies, entre ellas se encontraron diferencias significativas con respecto a su efectividad para combatir a uno u otro tipo bacteriano (Gram positivas o negativas). Esto apoya las preferencias que los pobladores tienen en relación al uso de algunas especies sobre otras, para la curación de ciertos padecimientos.

## **Estudio Fitoquímico**

La especie que se seleccionó para el estudio fitoquímico fue *Jatropha neopauciflora* (sangre de grado). Esta decisión se basó en el hecho de que es la especie que tuvo el mayor número de eventos, quedó agrupada dentro del conjunto de plantas que se usan para aliviar enfermedades odontológicas y se situó en el grupo que obtuvo el mayor valor en el índice de consenso de los informantes ( $F_{ic} = 0.98$ ).

Para el desarrollo del estudio fitoquímico, la información etnobotánica fue fundamental, ya que el látex que refirieron los informantes que utilizan para aliviar diferentes afecciones de la cavidad bucal y heridas infectadas, fue también el que mostró la mayor actividad antibacteriana. Esto está de acuerdo con lo señalado por diversos autores (Cordell, 2000; Balick y Cox, 1997; Cotton, 1996; Martin, 1995), quienes coinciden en señalar que la información que brindan los informantes es básica para determinar qué parte de la planta se va a coleccionar e inclusive brinda las pautas para determinar las estrategias que deberán seguirse durante el trabajo de laboratorio. Desafortunadamente, durante el desarrollo de este trabajo no fue posible purificar el compuesto del látex responsable de la actividad antibacteriana, lo cual probablemente se deba a su alta polaridad y posible complejidad estructural.

Por otra parte, los componentes principales del extracto de acetato de etilo derivado de las partes aéreas de *Jatropha neopauciflora*, que presentaron

actividad antibacteriana, representan una serie de sesquiterpenos. En este sentido, existen varios estudios que han demostrado que estos compuestos presentan actividad antibiótica sobre bacterias Gram positivas, levaduras, hongos filamentosos, antimalaria (Kubo y Taniguchi, 1988; Taniguchi et al., 1978; Smalley y Strong, 1974 citados en Dey y Harborne, 1991). En particular, los sesquiterpenos que presentan actividad antimicrobiana tienen en su estructura química grupos OH y dobles ligaduras, también pueden tener un grupo ácido y son cíclicos. Interesantemente todas estas características se presentan en los sesquiterpenos que se determinaron en las fracciones activas de este trabajo. Además de la actividad antibacteriana de los sesquiterpenos, reconocida en este trabajo, a estos se les ha atribuido otro tipo de actividad biológica. En particular, la actividad antibacteriana de los terpenos se atribuye a su acción como disolventes de las membranas celulares, produciendo un efecto de lisis bacteriana (Helander et al., 1998; Barre et al., 1997; Ahmed et al., 1993;). Se sabe que también pueden actuar contra la herbivoría de insectos, mejillones y peces (Kubo et al., 1983, 1977, 1976 citados en Dey y Harborne, 1991). Algunas de estas sustancias también son fitoalexinas, es decir se producen cuando la planta es atacada por bacterias, hongos o virus. También pueden ser producidas cuando las plantas están sujetas a otros agentes como la luz ultravioleta, shock térmico (Harborne, 1989), todos ellos factores a los que la sangre de grado está muy expuesta.

Adicionalmente a la efectividad antibacteriana de *Jatropha neopauciflora*, se han encontrado compuestos (lupeol y su derivado cetónico) que tienen actividad antiinflamatoria (Canales-Martínez, datos no publicados). Este dato, junto con la práctica muy común en la medicina alópata de tratar las infecciones utilizando un antibiótico y un antiinflamatorio, sugieren que *J. neopauciflora* es una especie de enorme efectividad medicinal y que tal vez por ello haya obtenido los valores de preferencia más altos entre la población de San Rafael.

En síntesis, los resultados obtenidos, permiten suponer que el conocimiento

tradicional, no sólo es el resultado de la acumulación de información que pasa de generación en generación, sino que representa una importante base empírica del uso dirigido de los recursos que, en estudios como este, puede confirmarse a través de la aplicación del método científico.

**CAPÍTULO V**  
**CONCLUSIÓN GENERAL**  
**Y PERSPECTIVAS**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## CONCLUSIONES

México es un país que cuenta con una gran diversidad natural y cultural, el conocimiento tradicional que se tiene sobre la flora medicinal es de gran importancia, es por ello que la documentación sobre la flora medicinal de San Rafael, que se presenta en este trabajo, es una contribución para rescatar ese conocimiento tradicional.

Las 46 especies de plantas medicinales que son usadas en San Rafael pertenecen tanto a la flora medicinal Hispano-Americana como a la flora natural de la región.

El uso del método etnodirigido y la aplicación del índice de consenso de informantes, permitió la selección objetiva de las plantas que son principalmente utilizadas para el tratamiento de enfermedades de origen bacteriano.

Las plantas con el valor más alto en cuanto al índice de consenso mostraron la mayor actividad antibacteriana, reafirmando con esto que los estudios interdisciplinarios que incluyan aspectos etnobotánicos, botánicos, fitoquímicos, farmacológicos, ecológicos y médicos son requeridos para enfatizar los beneficios de la medicina tradicional.

Los resultados obtenidos a lo largo de esta investigación, sugieren que el uso tradicional de las plantas medicinales de San Rafael, que son empleadas para aliviar enfermedades de posible origen bacteriano, tiene un sustento fitoquímico.

## PERSPECTIVAS

Los resultados que se presentaron en este trabajo son solamente el principio de una investigación más amplia.

En cuanto a la distribución de cada especie que mostró actividad antibacteriana, se podría realizar un estudio en donde se documentara su distribución y abundancia, así como la incidencia de uso por parte de los habitantes de San Rafael. Con ello se tendrían los datos necesario, en caso de que se llevara a cabo una explotación de los recursos que tuviera beneficios económicos.

Se podría determinar el efecto del medio ambiente sobre la concentración y presencia de los diferentes metabolitos secundarios con actividad antibacteriana, con la finalidad de determinar el lugar y la época donde se produce en mayor concentración el compuesto de interés.

A cada especie que presentó actividad antibacteriana, se le podría evaluar su actividad sobre otros microorganismos, como por ejemplo hongos, virus, protozoarios, determinar la estructura química de los compuestos responsables de la actividad antimicrobiana, determinar la toxicidad de los compuestos y de los extractos con actividad, determinar el modo de acción de los compuestos activos, etc.

Estas son sólo algunas sugerencias de lo que se podría hacer, de hecho se ha iniciado la determinación de la actividad antifúngica de diferentes especies, entre ellas *Gymnosperma glutinosum* y *Jatropha neopauciflora*, las que han mostrado ser activas sobre hongos fitopatógenos y dermatofitos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilar, A., Camacho, J. R., Chino, S. Jacquez, P. Y López, M. E. 1994. Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. Información Etnobotánica. IMSS. México.
2. Ahmed, A., Mahmoud, H., Williams, H., Scott, A., Reibenspies J., Mabry, T. 1993. New sesquiterpene  $\alpha$ -methylene lactones Egyptian plant *Jansonia candicans*. J. Nat. Prod. 56: 1276-1280.
3. Ajaiyeoba, E., Onocha, P., Nwozo, S., Sama, W. 2003. Antimicrobial and cytotoxicity evaluation of *Buchholzia coriacea* stem bark. Fitoterapia. 74: 706-709.
4. Alcorn, J. B. 1984. Huastec mayan ethnobotany. University Texas Press, Austin, TX. 982 pp.
5. Alitonou, G., Avlessi, F., Wotto, V., Ahoussi, E., Dangou, J., Sohounhloue, D. 2004. Composition chimique, propriétés antimicrobiennes et activités sur les tiques de l'huile essentielle d'*Eucalyptus tereticornis* Sm. C. R. Chimie 7 : 1051-1055.
6. Al-Zanbagui, N.A., Banaja, A.A., Barrett, J. 2000. Molluscicidal activity of some Saudi Arabian Euphorbiales against the snail *Biomphalaria pfeifferi*. Journal of Ethnopharmacology. 70, 119-125.
7. Al-Zanbagui, N.A., Barrett, J., Banaja, A.A. 2001. Laboratory evaluation of the molluscicidal properties of some Saudi Arabian euphorbiales against *Biomphalaria pfeifferi*. Journal of Ethnopharmacology. 78, 23-29.
8. Ankli, M. Heinrich., P. Bork, L. Wolfram, P. Bauerfeind, R. Brun, C. Schmid, C. Weiss, R. Bruggisser, J. Gertsch, M. Wasescha, O. Sticher. 2002. Yucatec Mayan medicinal plants: evaluation based on indigenous uses. Journal of Ethnopharmacology. 79: 43-52
9. Argueta, V. A. y Cano A. J. 1994. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Instituto Nacional Indigenista. México. 1785 pp.

10. Auvin, C., Baraguey, C. Blond, A., Lezenven, F., Pousset, J. and Bodo, B. 1997. Curcaycline B, a cyclic nonapeptide from *Jatropha curcas* enhancing rotamase activity of cyclophilin. *Tetrahedron Letters*: 38: 2845-2848.
11. Auvin-Guette, C., Baraguey, C., Blond, A., Xavier, H., Pousset, J. and Bodo, B. 1999. Pohlianins A, B and C, Cyclic Peptides from the Latex of *Jatropha pohliana* ssp. *molissima*. *Tetrahedron Letters*. 55, 11495-11510.
12. Balick, M. J., Cox, P. A. 1997. Plants, people, and culture. The Science of Ethnobotany. Ed. Scientific American Library. New York. 228 pp.
13. Baraguey, C., Blond, A., Correia, I., Pousset, J., Bodo, B. and Auvin-Guette, C. 2000. Mahafacyclin A, a cyclic heptapeptide from *Jatropha mahafalensis* exhibiting  $\beta$ -bulge conformation. *Tetrahedron Letters*. 41: 325-329.
14. Barre, J., Bowden, B., Coll, J., Jesus, J., Fuente, V., Janairo, G., Ragasa, C. 1997. A bioactive triterpene from *Lantana camara*. *Phytochemistry*. 45: 321-324.
15. Blanckaert, I., Swennen R. L, Paredes F. M., Rosas, L. R. y Lira, S. R. 2004. Floristic composition, plant uses and management practices in homegardens of San Rafael, Valle de Tehuacán-Cuicatlán, México. *Journal of Arid Environments* 57: 39-62.
16. Boster, J.S. 1985. "Requiem for the omniscient informant": There is life in the old girl yet. *Directions in Cognitive Anthropology*. Dougherty (ed). *Directions in Cognitive Anthropology*. University of Illinois Press. Urbana and Chicago. 177-197 pp.
17. Brum, R., Honda, N., Mazarin, S., Hess, S., Cavalheiro, A and Monache, F. 1998. Jatrowedione, a lathyran diterpene from *Jatropha weddelliana*. *Phytochemistry*. 48: 1225-1227.
18. Bruneton, J. 1991. *Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia*. Ed. Acribia. España.
19. Burns, D., Reynolds, W. F., Buchanan, G., Reese, P. B., Enriquez, R. G. 2000. Assignment of  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  spectra and investigation of hindered side-chain rotation in lupeol derivatives. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 38: 488-493.

20. Burrows, W. 1974. Tratado de microbiología. 20ª. ed. Ed. Interamericana. México, D.F. 901 pp.
21. Bye, R. La intervención del hombre en la diversificación de las plantas en México. En Diversidad Biológica de México. Orígenes y distribución. 1998 Ramamoorthy, T. P., Bye, R., Lot, A., Fa, J. (compiladores). Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México. 689-713 pp.
22. Caballero, J. y Cortés L. 2001. Percepción, uso y manejo tradicional de los recursos vegetales en México. En: Rendón, B., Rebollar, S., Caballero, J. y Martínez, M. A. (eds.) Plantas Cultura y Sociedad. UAM-SEMARNAP. México, p. 79-100.
23. Canales, M., Hernández, T., Caballero, J., Romo de Vivar, A., Avila, G., Durán, A., Lira, R. 2005. Informant consensus factor and antibacterial activity of the medicinal plants used by the people of San Rafael, Puebla, México. Journal of Ethnopharmacology. 97: 429-439.
24. Canales, M., Hernández, T., Caballero, J., Romo de Vivar, A., Avila, G., Durán, A., Lira, R. Análisis cuantitativo del conocimiento tradicional de las plantas medicinales en San Rafael, Valle de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla, México. Acta Botánica Mexicana. En prensa.
25. Carvalho, M., Velloso, C., Braz-Filho, R., Costa W. 2001. Acyl-lupeol esters from *Parahancornia amapa* (Apocynaceae). J. Braz. Chem. Soc. 12: 556-559.
26. Casa, A. Viveros J. L. y Caballero, J. 1994. Etnobotánica Mixteca. INI. México. 366 p.
27. Casas, A. & Valiente-Banuet, A. 1995. Etnias, recursos genéticos y desarrollo sustentable en zonas áridas de México. En: Anaya, M. y F. Díaz-Calero (eds.). IV curso sobre desertificación y desarrollo sustentable en América Latina y el Caribe. Red de Información Ambiental para América Latina y el Caribe (PNUMA) / Red de Cooperación Técnica en Zonas Áridas y Semiáridas de América Latina y el Caribe (FAO) / Colegio de Postgraduados (CP). México.

28. Casas, A., Caballero, J., Pickersgill, B., & Valiente-Banuet, A. 1997. Ethnobotany of the xoconochtli *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) in the Tehuacán Valley and La Mixteca Baja, Mexico. *Economic Botany*. 51: 279-292.
29. Casas, A., Valiente-Banuet, A., Viveros, J. L., Dávila, P., Lira, R., Cortés, L., Medina, R & Rodríguez, A. I. 2001. Plant Resources of the Tehuacán-Cuicatlán Valley, México. *Economic Botany*. 55: 129-166.
30. Censo de Población 2001. Secretaría de Salud. Casa de salud de la comunidad. Instituto Mexicano del Seguro Social. Ayuntamiento de Coxcatlán. Puebla. México. 10 pp.
31. Chariandy, C.M. Seaforth, C.E. Phelps, R.H. Pollard, G. V. Khambay, B.P.S. 1999. Screening of medicinal plants from Trinidad and Tobago for antimicrobial and insecticidal properties. *Journal of Ethnopharmacology*. 64: 265-270.
32. Chhabra, S., Mahunnah, R., & Mshiu, E. 1990. *J. of Ethnopharmacology*. 28: 255.
33. Ciccía, G., Coussio, J., Mongelli, E. 2000. Insecticidal activity against *Aedes aegypti* larvae of some medicinal South American plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 72, 185-180.
34. Cojocarú, M, Droby, S., Glotter, E., Goldman, A., Gottlieb, H. E., Jacoby, B. and Prusky, D. 1986. 5-(12-heptadecenyl)-resorcinol, the major component of the antifungal activity in peel of mango fruit. *Phytochemistry*. 25, 1093-1095.
35. Cordell, G. A. 2000. Biodiversity and drug discovery – a symbiotic relationship. *Phytochemistry*. 55, 463-480.
36. Corthout, J. Pieters, L. A., Claeys, M., Vanden Berghe, D. A and Vlietinck, A. J. 1991. Antiviral ellagitannins from *Spondias mombi*. *Phytochemistry*. 30, 1129-1130.
37. Cotton, C. M. 1997. *Ethnobotany Principles and applications*. Ed. John Wiley & Sons. Chichester. 424 pp.
38. Cox, P. A. Balick, M. J. 1994. The ethnobotanical approach to drug discovery. *Scientific American* 270 (6): 60-65.

39. Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12: 564-582.
40. Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G. Natural Products (Secondary Metabolites). In: Buchanan, B., Griseb, W., Jones, R. Eds. 2002. *Biochemistry & Molecular Biology of plants*. American Society of Plant Physiology. USA. 1250-1318 pp.
41. Das, B. and Banerji, J. 1988. Arylnaphthalene lignan from *Jatropha gossypifolia*. *Phytochemistry*. 27: 3684-3686.
42. Das, B., Anjani, G. 1999. Gossypidien, a lignan from stems of *Jatropha gossypifolia*. *Phytochemistry*. 51: 115-117.
43. Das, B., Venkataiah, B. 1999. A rare diterpene from *Jatropha gossypifolia*. *Biochemical systematics and ecology*. 27: 759-760.
44. Das, B., Venkataiah, B. 2001. A minor coumarino-lignoid from *J. gossypifolia*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 29: 213-214.
45. Dávila, P. 1983. Flora Genérica del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. M. Sc. Tesis, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
46. Dávila, P., J. L. Villaseñor; R. Medina, A. Ramírez, A. Salinas, J. Sánchez-Kén & P. Tenorio. 1993. Listados florísticos de México. X. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Instituto de Biología, UNAM. México.
47. Dávila, P., Arizmendi, Ma. del C., Valiente-Banuet, A., Villaseñor, J. L., Casas, A., Lira, R. 2002. Biological diversity in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Biodiversity and Conservation* 11: 421-442.
48. Davis, B. D. & Dulbecco, R. 1984. *Tratado de Microbiología*. 3º ed. Ed. Salvat Editores. España.
49. De Pasquale, A., 1984. Pharmacognosy: the oldest modern science. *Journal of Ethnopharmacology*. 11: 1-16.
50. Dey, P. M. and Harborne, J. B. 1991. *Methods in Plant Biochemistry*. Terpenoids. Volume 7. Academic. Press. London. 565pp.

51. Duru, M.E., Ozturk, M., Bilsel, M., Karsl, D., Sarikurkcu, C. 2002. The volatile oil constituents and biological activity of aerial part of *Chenopodium botrys* L. Proceedings of ICNP. 293-297.
52. Elisabetsky, E., 1987. Pesquisas en Plantas medicinais. Ciencia e Cultura. 39 (8): 697-702.
53. Elisabetsky, E., Posey, D.A. 1986. Ethnopharmacological research and natural resources of humid tropics: the case of Kayapó Indians and its implications for medicinal science. Anais do 10 Simposio do Trópico Úmido 2, 85-93.
54. Engler, A. Das Pflanzenreich. 1959. Euphorbiaceae-Jatropheae.
55. Fernández, B. Ma.N. 1999. Análisis de la dinámica de comunidades vegetales con relación a la evolución del paisaje, en la zona semiárida de Coxcatlán, Puebla. Tesis de maestría. UNAM.
56. Fernández, M. A., García, M. D. & Sáenz, M. T. 1996. Antibacterial Activity of the Phenolic Acids Fractions of *Scrophularia frutescens* and *Crophularia sambucifolia*. Journal of Ethnopharmacology. 53: 11-14.
57. Fischer, L. 1975. Introducción a la cromatografía en gel. Ed. El Manual Moderno. México, D. F. 210 pp.
58. Fischer, N. H. 1991. Sesquiterpenoid lactones. In: Methods in Plant Biochemistry. Vol. 7 "Terpenoids". Edited by Charlwood, B. V. and Banthorpe, D. V. Series Editor Dey, P. M. Academic Press. San Diego, Cal. USA. 187-210pp.
59. Fleurentin, J. & Pelt, J. 1981. Las Plantas Medicinales. *Mundo Científico*. 10: 926-934.
60. Frei, B., Baltisberger, M., Sticher, O., Heinrich, M. 1998. Medical ethnobotany of the Zapotecs of the Isthmus-Sierra (Oaxaca, Mexico): Documentation and assessment of indigenous uses. Journal of Ethnopharmacology 62: 149-165.
61. Friedman, J., Yaniv, Z., Dafni, A., Palewitch, D. 1986. A preliminary classification of the healing potential of medicinal plants, based on a rational analysis of an ethnopharmacological field survey among beduins in the Negev Desert, Israel. Journal of Ethnopharmacology. 16: 275-287.

62. Franke, K., Nasher, A., Schmidt, J. 2004. Constituents of *Jatropha unicostata*. *Biochemical Systematics and Ecology* 32, 219-220.
63. García, M. E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 3ª. ed. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 252 pp.
64. Garro, L. C. 1986. Intracultural variation in Fol. Medicinal knowledge: A comparison between curers and noncurers. *American Anthropologist* ((: 351-370.
65. Gros, E.G., Pomilio, A. B., Seldes, A.M. y Burton, G. 1985. Introducción al estudio de los productos naturales. OEA. Argentina. 145p.
66. Gubitz, G.M., Mittelbach, M., Trabi, M. 1999. Exploitation of the tropical oil seed plant *Jatropha curcas* L. *Bioresource Technology*. 67: 73-82.
67. Hamburger, M., Hostettmann, K., 1991. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry*. 30 (12): 3864-3874.
68. Harborne, J. B. 1973. *Phytochemical Methods*. Ed. Chapman and Hall. USA.
69. Harborne, J. B. & Dey, P. M. 1989. *Methods in Plant Biochemistry*. Vol. I Plant Phenolics. Academic Press. USA.
70. Harborne, J. B. 1989. *Introduction to ecological biochemistry*. 3a. ed. Ed. Academic Press. Great Britain at the University Press, Cambridge. 356 pp.
71. Harborne, J. B. 1990. Role of secondary metabolites in Chemical Defence Mechanisms in Plants. *Bioactive Compounds from Plants*. Ciba Foundation Symposium 154. Wiley, Chichester, 126-139 pp.
72. Harborne, J.B. and Tomas-Barberan, F. A. 1991. *Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids*. Oxford University Press. Nueva York. USA. 439 pp.
73. Heinrich, M., Ankli, A. Frei, B. Weimann, C. 1998. Medicinal plants in Mexico: healers consensus and cultural importance. *Soc. Sci. Med.* 47 (11): 1859-1871.
74. Heinrich, M., Robles, M., West, J. E., Ortiz de Montellano, B. R., Rodriguez, E. 1998a. Ethnopharmacology of Mexican Asteraceae (Compositae). *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*; Palo Alto. 38: 539-550.

75. Helander, I. M., Alakomi, H. L., Latava-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E. J., Gorris, L. G. M. & Von Wright, A. 1998. Characterization of the action of selected essential oil components on gram-negative bacteria. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 46: 3590-3505.
76. Hernández, T., Canales, M., Avila, J. G., Durán J., Caballero, A. Romo de Vivar, R. Lira. 2003. Ethnobotany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla (México). *Journal of Ethnopharmacology* 88: 181-188.
77. Hernández-Xolocotzi, E. 1982. *Memorias del Simposio de Etnobotánica*. INAH. México.
78. Hernández-Xolocotzi, E. 1993. Utilización de los recursos vegetales en México. Logros y perspectivas del conocimiento de los recursos vegetales de México en vísperas del siglo XXI. *Memorias de la Jornada conmemorativa del Bicentenario Profesional del Botánico José Mariano Mocino*. Instituto de Ecología A. C., Xalapa, Ver. pp. 58-62.
79. Huguet, A., Recio, M., Máñez, S., Giner, R., Ríos, J. 2000. Effect of triterpenoids on the inflammation induced by protein kinase C activators, neuronally acting irritants and other agents. *European Journal of Pharmacology*. 410: 69-81.
80. INEGI. 1999. Cuadernos de Información Estadística del Sector Salud y Seguridad Social. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México.
81. Janssen, A. M. 1986. Screening for antimicrobial activity of some essential oils by the agar overlay technique. *Pharm Weekbl, Sci. Ed.* 8, 289-292.
82. Jawetz, E., Melnick, J., Adelberg, E. 1995. *Microbiología médica*. Ed. El Manual Moderno, S. A. de C. V. México, D.F. 807 pp.
83. Karmegan, N., Sakthivadivel, M., Anuradha, V., Daniel, T. 1997. Indigenous-plant extracts as larvicidal agents against *Culex quinquefasciatus* Say. *Bioresource technology*. 59, 137-140.

84. King, S. R., Carlson, T. J. & Moran, K. 1996. Biological Diversity, Indigenous Knowledge, Drug Discovery and Intellectual Property Rights: Creating Reciprocity and Maintaining Relationships. *Journal of Ethnopharmacology*. 51: 45-57.
85. Koneman, W. E. 1985. *Diagnóstico Microbiológico*. Ed. Medica Panamericana, México.
86. Lambers, H., Chapin, F. S., Pons, T. L. 1998. *Plant physiological ecology*. SpringerUSA: 427 pp.
87. Lara, O. F. y Márquez, A. C. 1996. *Plantas Medicinales de México. Composición uso y actividad Biológica*. UNAM. México. 137 pp.
88. Lentz, D.L. Clrk, A.M. Hufford, Ch.D. Meurer-Grimes, B. Passreiter, C.M. Cordero, J. Ibrahimi, O, Okunade, A.L. 1998. Antimicrobial properties of Honduran medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 63: 253-263.
89. Leonti, M., Sticher, O., Heinrich, M. 2003. Antiquity of medicinal plant usage in two Macro-Mayan ethnic groups (México). *Journal of Ethnopharmacology*. 88: 119-124.
90. Linares, D., Bye, R., Flores, B. 1999. *Plantas Medicinales de México usos remedios y tradiciones*. Instituto de Biología, UNAM. pp155.
91. Lira, R. 2001. *Los recursos vegetales del Valle de Tehuacán-Cuicatlán desde una perspectiva etnobotánica, informe técnico*. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 9 pp.
92. Losoya, L. X., Velazquez, D. G. 1988. *La Medicina Tradicional en México*. Ed. Instituto Mexicano del Seguro Social. México.
93. Losoya, X. 1990. *Medicina tradicional y crisis, salud y crisis en México*. Siglo XXI Editores. México. 376 p.
94. Losoya, X. 1993. *Función de las plantas medicinales en la medicina del siglo XXI*. En la investigación científica de la herbolaria medicinal mexicana. Secretaría de Salud. México. 255 p.

95. MacNeish, R.S. 1967. A summary of the subsistence. In: Byers, D.S. (ed.). The prehistory of the Tehuacan Valley. Volume one: Environment and subsistence. University of Texas Press. Austin, Texas. pp: 290-231.
96. MacNeish, R.S. 1992. The origins of agriculture and settled life. University of Oklahoma Press. Norman and London.
97. Martin, G. J. 1995. Ethnobotany. A methods manual. Chapman & Hall. 5a. ed. Ed. World Wide Fund for Natura (International). Cambridge. 268.
98. Medina, S. J. 2000. Determinación del vigor y estado reproductivo de *Stenocereus stellatus* (Cactáceas) a lo largo de una cronosecuencia edáfica. Tesis Lic. Biología. UNAM. Fac. Ciencias. Pp. 1-6, 35.
99. Moerman, D. E. 1996. An analysis of the food plants and drugs plants of native North America. Journal of Ethnopharmacology. 52: 1-22.
100. Moerman, D. E., Pemberton, R.W., Kiefer, D., Berlin, B. 1999. A comparative analysis of five medicinal floras. Journal of Ethnopharmacology. 19: 49-67.
101. Mookerjee, B. K., Lee, T. P., Logue, G.P., Lippes, H. A., Middlenton, E. 1986. The effects of flavonoids on human lymphocyte proliferative response. Progress in Clinical and Biological Research. 213: 511-520.
102. Mori, A., Nishino, C., Enoki, M. & Tawata, S. 1987. Antibacterial Activity and Mode of Action of Plant Flavonoids Against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. Phytochemistry. 26 (8): 2231-2234.
103. Mujumdar, A.M., Upadhye, A.S, Misar, A. V. 2000. Studies on antidiarrhoeal activity of *Jatropha curcus* root extract in albino mice. Journal of Ethnopharmacology. 70: 183-187.
104. Murphy, C. M. 1999. Plants products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews 12: 564-582
105. Murray, R.D. 1978. Naturally occurring plant coumarins. Fortschritte der Chemie Organischer Natursstoffe. 35: 199-300.
106. Okpako, D.T. 1999. Traditional African medicine: theory and pharmacology explored. TiPS. 20: 482-485.

107. Olivera, O. A., Soto, H. M., Martínez, V. M., Terrazas, S. T. y Solares, A. F. 1999. Phytochemical study of cuachalalate (*Amphiptherygium adstringens*, Schiede ex Schlecht). *Journal of Ethnopharmacology*. 68: 109-113.
108. OMS Organización Mundial de la Salud. Pautas para la evaluación de medicamentos herbarios. Ginebra, 1991.
109. O'Neil, M., Smith, A., Heckelman, P., Obenchain, J., Gallipeau, J., D'Arecca, M. 2001. *The Merck Index*. Ed. Merck & Co., INC. USA. 10248 pp.
110. Paredes F, M. 2001 *Contribución al Estudio Etnobotánico de la Flora útil de Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México*.
111. Pouchert, C. J. & Behnke, J. 1993. *The Aldrich Library of <sup>13</sup>C and H FT NMR Spectra*. Vol. 2. Aldrich Chemical Co. USA.
112. Ramírez, H. A. 1996. *Contribución al conocimiento de la Flora Medicinal de Zapotitlán de las Salinas Puebla. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias. UNAM. México*.
113. Rates, S.M.K. 2001 *Plants as source of drugs*. *Toxicon* 39: 603-613.
114. Ravindranath, N., Ramesh, C., Das, B. 2003. A rare dinoditerpene from *Jatropha curcas*. *Biochemical Systematics and Ecology* XX. 1-2.
115. Recio, M., Giner, M., Máñez, S. and Ríos, J. 1995. Structural requirements for the anti-inflammatory activity of natural triterpenoids. *Planta Med*. 61: 182-185.
116. Rico-Arce, L., Rodríguez, A., 1998. *Mimosaceae R. Br. Tribu Acaciae Benth. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Fascículo 20. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México*.
117. Robineau, L., Soejarto, D. D. 1996. *Tramil : A research Project on the medicinal plant resource of the Caribbean*. In: Balick, M. J., Elisabetsky, E., Laird, S. *Medicinal Resources of the Tropical Forest*. Columbia University Press. New York. 317-325 pp.
118. Rohlf, F. J. 1997. *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System (NTSYS) Version 2.0, Manual*. Applied Biostatistics Inc., USA.

119. Rojas, R., Bustamante, B., Bauer, J., Fernández, I., Albán, J., Lock, O. 2003. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 88: 199-204.
120. Romo de Vivar, A. 1985. *Productos Naturales de la Flora Mexicana*. Ed. Limusa. México.
121. Romo de Vivar, A. y Delgado, G. 1985. Los metabolitos secundarios de *Viguiera* (Compositae, Heliantheae) química e implicaciones quimiotaxonómicas. *Bol. Soc. Chil. Quím.* 30: 79-100.
122. Rosas, L. R. 2003. Estudio etnobotánico de San Rafael-Coxcatlán. Tesis Profesional Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
123. Rouhi, A. M. 1997. Seeking drugs in natural products. *C. and EN.* 7: 14-29.
124. Rzedowski, J. 1978. *Vegetación de México*. Limusa. México. 432 pp.
125. Salcedo-Sánchez, B. 1997. Insectos precortesianos de la cueva de Coxcatlán, del Valle de Tehuacán, Puebla. Tesis de Licenciatura. Biología. UNAM Facultad de Ciencias pp 6-10.
126. Sá-Nunes, a., Faccioli, L. H., Sforcin, J. M. 2003. Propolis: lymphocyte proliferation and IFN- $\gamma$  production. *Journal of Ethnopharmacology*. 87: 93-97.
127. Standley, P.C y Steyermark, J.A. 1949. *Flora of Guatemala*. Vol. 24. Part. VI. USA: 25-130 pp.
128. Sato, M. S., Fujiwara, H., Tsuchiya, T., Fujii, M., Inuma, H., Tosa, and Ohkawa, Y. 1996. Flavones with antibacterial activity against cariogenic bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*. 54: 171-176.
129. Scalbert, A. 1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*. 30: 3875-3883.
130. Schildkencht, H., and Tachechi, H. 1971. Protective substances of arthropods and plants. *Pont. Acad. Sci. Scripta Varia* 41: 59-107.
131. Schildkencht, H., Holtkotte, D., Krauss, D., and Tachechi, H. 1975. Über Arthropodenabwehrstoffe, LIX-Platambin, ein Wehrstoff des Schwimmkäfers

- Platambus maculatus* (Coleoptera: Dytiscidae). Liebigs Ann Chem. 1975: 1850-1862.
132. Schmeda-Hirschmann, G., Tschritzis, F. and Jakupovic, J. 1992. Diterpenes and lignan from *Jatropha gossidentata*. Photochemistry. 31: 1731-1735.
133. Serrano, P. R. 2004. Estudio comparativo de la actividad antibacteriana de *Gymnosperma glutinosum* (Spreng.) Less. de dos localidades: San Rafael, Puebla y Tepeji del Río, Hidalgo. Tesis Profesional Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
134. Silverstein, R. M., Bassler, G. C., Morrill, T. C. 1981. Identificación espectrométrica de los compuestos orgánicos. Ed. Diana. México. 353 pp.
135. Soejarto, D.D. 1996. Biodiversity Prospecting and benefit-sharing: perspectives from the field. Journal of Ethnopharmacology. 51: 1-16.
136. Srinivasan, D., Sangeetha, N., Suresh, T., Lakshmana, P. P. 2001. Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. Journal of Ethnopharmacology 74, 217-220.
137. Standey, P. 1923. Trees and shrubs of Mexico (Oxalidaceae-Turneraceae). Contributions from the United States National Herbarium. Vol. 23, Part 3. USA. 638 pp.
138. Standley, P.C. and Steyermark, J. A. 1949. Flora of Guatemala. Vol. 24, Part. VI. USA. 25-130 pp.
139. Staubmann, R., Ncube, I., Gubitz, G.M., Steiner, W., Read, J.S. 1999. Esterase and lipase activity in *Jatropha curcas* L. Seeds. Journal of Biotechnology. 75, 117-126.
140. Staubmann, R., Schubert-Zsilavec, M., Hiermann, A., Karttnig, T. 1999. A complex of 5-hydroxypyrrolidin-2-one and pyrimidine-2,4-dione isolated from *Jatropha curcas*. Phytochemistry. 50: 337-338.
141. Suksamrarn, A., Tanachatchairatana, T., Kanokmedhakul, S. 2003. Antiplasmodial triterpens from twigs of *Gardenia saxatilis*. Journal of Ethnopharmacology. 88: 275-277.

142. Tascon, R. 1997. Contribución al Estudio de la Flora en San Nicolas Totoloapan. UNAM. México.
143. Toledo, M. V. M. 1986. La etnobotánica en Latinoamérica. Vicisitudes, contextos, desafíos. En Memorias del IV Congreso Latinoamericano de Botánica. Simposio de Etnobotánica. Ed. Del Instituto Colombiano para el Fomento de la Educación Superior. Serie: Memorias de Eventos Científicos. 13 - 35 pp.
144. Toledo, M. V. M. 1988. La diversidad biológica en México. Ciencia y Desarrollo. Núm. 8. Vol. XIV. 17 - 30 p.
145. Trease, G. E. y Evans, W. C. 1993. Tratado de Farmacognosia. 15º ed. Ed. Interamericana. México.
146. Trotter, R. T. & Logan, M. H. 1986. Informant consensus : A new approach for identifying potentially effective medicinal plants. In N. L. Etkin, ed., Plants in indigenous medicine and diet. Redgrave, Bedford Hills, New York. 91-112pp.
147. Urs, N. V. R. R. and Dunleavy, J. M. 1975. Enhancement of the bactericidal activity of a peroxidase system by phenolic compounds (*Xanthomonas phaseoli* var. *sojensis*, soybeans). *Phytopathology*. 65: 686-690.
148. Valiente, B. L. 1991. Patrones de precipitación en el valle semiárido de Tehuacán, Puebla, México. Tesis. UNAM: México. 65 p.
149. Valiente-Banuet, A., Alcantara, A., Dávila, P., Flores-Hernández, N., Arismendi, M. C., Ortega-Ramírez, J., Soriano, J. A. 2000. La vegetación del Valle de Tehuacan-Cuicatlán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 67: 25-75.
150. Vanden Berghe, D. A. & Vlietnick A.J. 1991. Screening methods for antibacterial agents from higher plants. In: Hostettmann, K. (Ed). *Methods in plant Biochemistry*, Vol 6: Assay for Bioactivity. 47-69 pp.
151. Van den Berg, A.J.J., Horsten, S.F.A.J., Kettenes-van den Bosch., Kroes, B.H., Beukelman, C.J., Leeflag, B.R., Labadie, R.P. 1995. Curcacycline A – a novel cyclic octapeptide isolated from the latex of *Jatropha curcas* L. *FEBS Letters*. 358, 215-218

152. Van den Berg, A.J.J., Horsten, S. F. A. J., Kettenes-Van den Bosch, J. J. Kroes, B. H. Labadie, R. 1995a. Multifidin-a cyanoglucoside in the latex of *Jatropha multifida*. *Phytochemistry*. 40: 597-598.
153. Villegas, L. F., Fernández, I. D., Maldonado, H., Torres, R., Zavaleta, A., Vaisberg, A. J. Hammond, G. B. 1997. Evaluation of the wound-healing activity of selected traditional medicinal plants from Perú. *J. of Ethnopharmacology*. 55: 193-200.
154. Weller, S.C. & A. K. Romney. 1988. Systematic data collection. *Qualitative Research Methods Series 10*. SAGE Publications, Newbury Park..
155. William, A. R. Thomson, D. M. 1980. *Guía Práctica Ilustrada de las Plantas Medicinales*. Ed. Blume. España.
156. Wink, M. 1999. *Functions of plant secondary metabolites and their exploitation in biotechnology*. Sheffield Academic Press. Sheffield England. 362 pp.

## **Apéndice 1**

### **AISLAMIENTO DE LOS COMPUESTOS ACTIVOS**

Para separar los compuestos activos, se procede a determinar la mezcla de solventes (fase móvil) y el soporte (fase estacionaria) para obtener la mejor separación en cromatografía de placa fina y así poder extrapolar estos resultados en el montaje de la cromatografía de columna. Una vez determinado el sistema cromatográfico se procede a la separación de fracciones. Para la separación por placa fina se utilizan cromatofolios de gel sílice Merck (Kieselgel 60-5553); para las cromatografías en columna se utiliza sílica gel de malla 70-230, tamaño de partícula 0.063-0.200 mm (Sigma 5-2509).

## Apéndice 2

### ELUCIDACIÓN DE ESTRUCTURAS

La elucidación de estructuras del compuesto puro se lleva a cabo mediante determinación del punto de fusión, para lo cual se utilizó un aparato Fisher-Johns, espectrometría en el ultravioleta, infrarrojo, espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear de protones y  $^{13}\text{C}$ . El espectro ultravioleta se realizó en un espectrofotómetro Perkin Elmer UV/VIS Lambda II; el solvente que se usa es metanol grado HPLC (Aldrich 27, 047-4). El espectro de Infrarrojo se obtuvo en un aparato de rejilla Perkin-Elmer modelo 599B. Los espectros de  $\text{RMN}^1\text{H}$  y  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  se obtienen en un Varían Gemini 200 MHz.

El espectro de masas se determina en un espectrómetro de masas Finningan Mat GCQ con trampa de iones y un Controlador GCQ DPC. La muestra se analiza por introducción directa y con ionización de impacto electrónico. Corriente inicial cero durante 30 segundos, después una rampa de corriente de 100 A/seg durante 30 segundos.

La cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas (GC-MS) se realizó en un cromatógrafo Hewlett Packard modelo 5890 serie II conectado a un espectrómetro AX505H. Espectro de masas de barrido. Se utilizó una columna ultra 2 de 25m x 0.2mm, con un diámetro interno de 0.33 $\mu\text{m}$ . Las condiciones de la temperatura de la columna fueron 4 min-reloj-10°C-1min-8°C/min 305°C/10 min. Energía de ionización 100  $\mu\text{A}$ ; voltaje de ionización 70ev. Resolución de 500. Rango de escaneo de 11 a 610.

# Apéndice 3

## Espectros

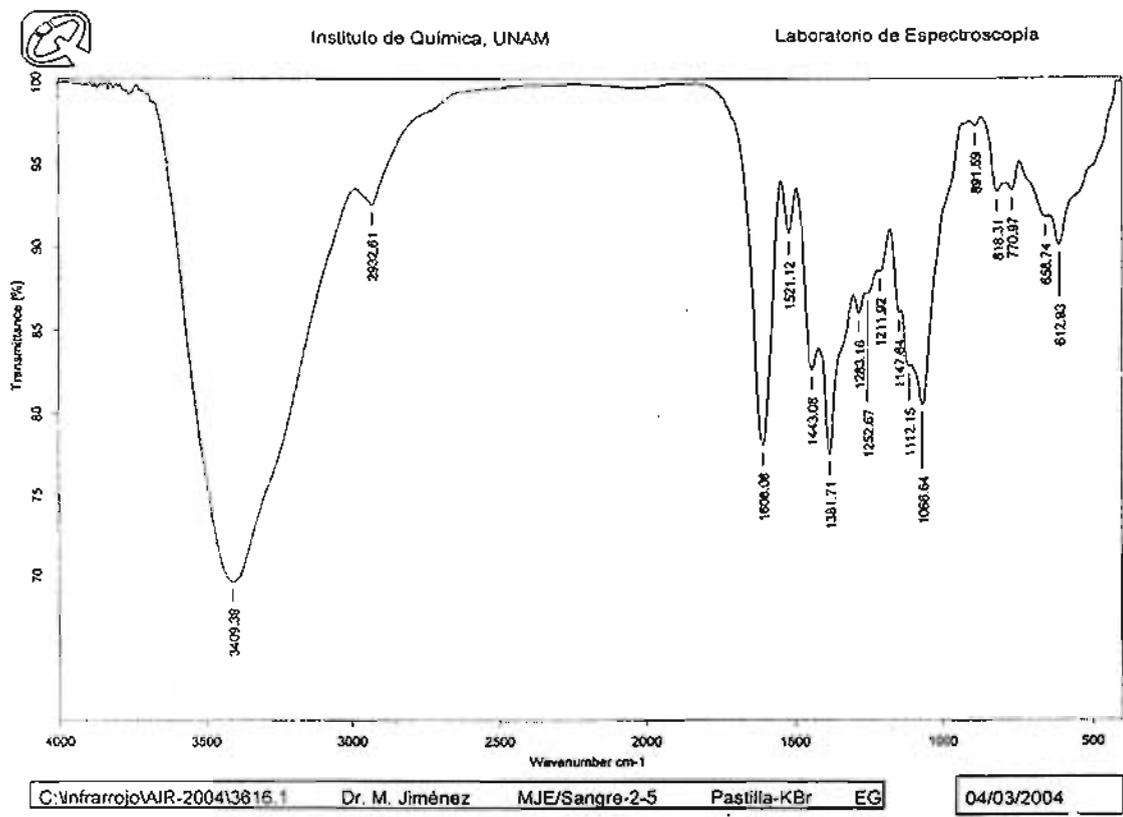


Figura 1. Espectro Infrarrojo del compuesto responsable de la actividad antibacteriana de *Jatropha neopauciflora*.

Instituto de Química, UNAM (IQM)  
Dr. M. Jimenez/Maryarita  
Clave: MJI/Sangre-2 CON FREMAT DE H2O  
No-registro 608  
Experimento: Hidrogeno  
Disolvente: H2O  
Variaa Unity-300-MHz (v)  
Mar-8-2004

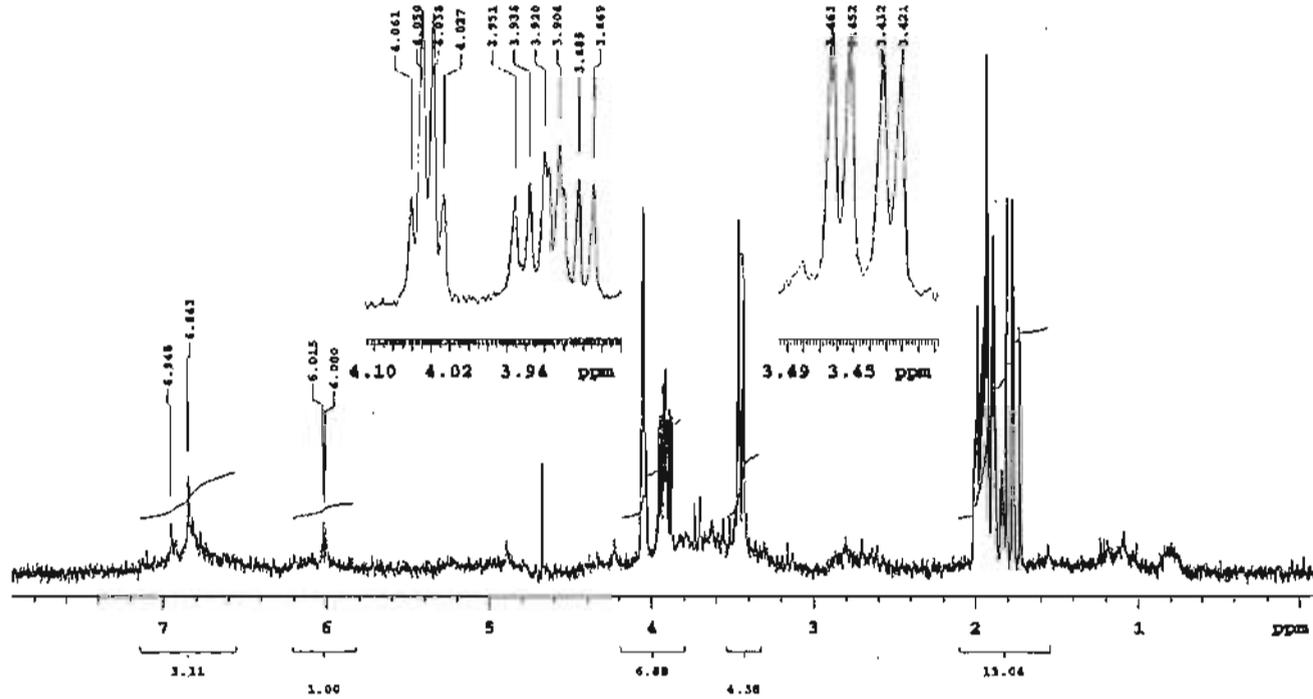


Figura 2. Espectro de resonancia magnética nuclear de protones (RMN<sup>1</sup>H) del compuesto responsable de la actividad antibacteriana de *Jatropha neopauciflora*.

Instituto de Química, UNAM (20)  
Dr. S. Jimenez/Mexicana  
C.I.V. 578/0498-2  
Mo-Nuclero 401  
Experimento: C-33  
Muestra: D30  
VILLAN-DEYI 73 NDA (C)  
Mar-1-2004

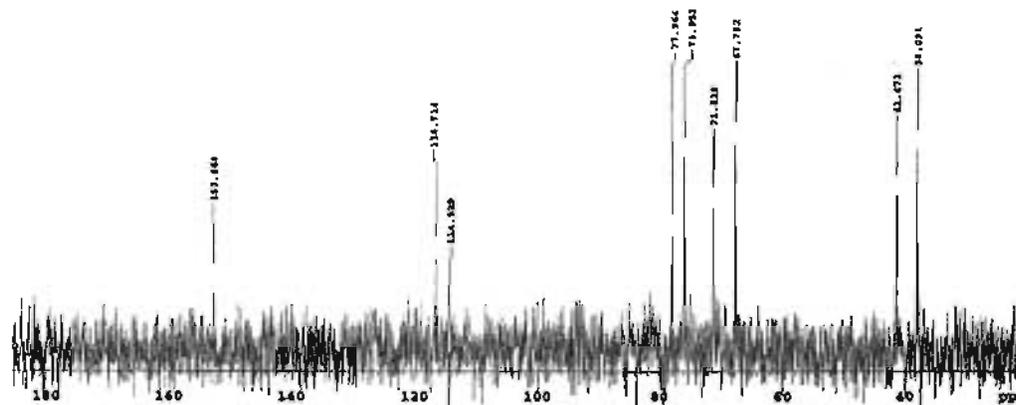


Figura 3. Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono trece (RMN<sup>13</sup>C) del compuesto responsable de la actividad antibacteriana de *Jatropha neopauciflora*.

Instituto de Químico. UNAM (MX)  
Dr-M Jimenez/Margarita  
Clave: N7E/Sangre3-2  
No-registro: 608  
Experimento: Hidrogeno  
Disolvente: D2O  
Varia Valtz-300-MK2 (D)  
Mar-8-2004

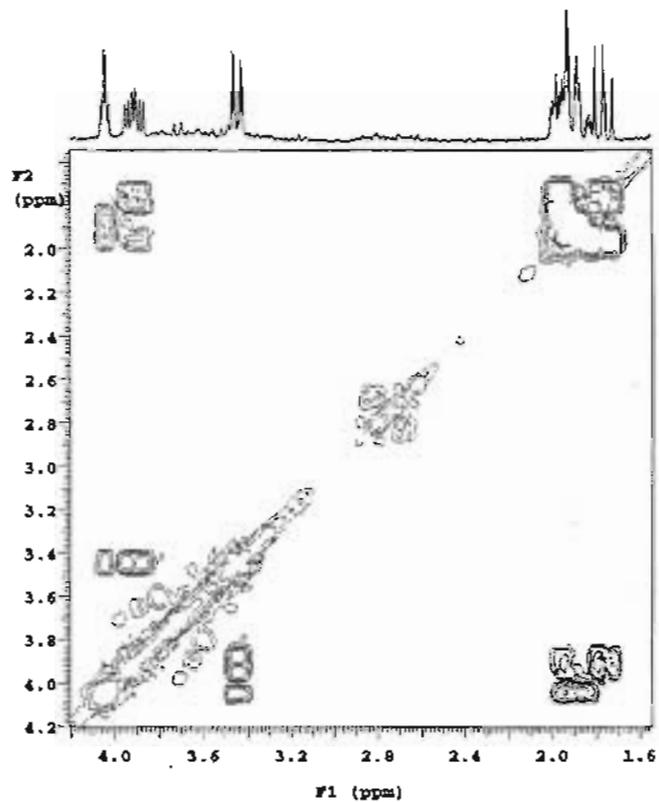


Figura 4. Espectro COSY del compuesto responsable de la actividad antibacteriana de *Jatropha neopauciflora*.

Instituto de Químico. UNAM RR  
Dr. M. Jimenez/Margarita  
Clave: MEX/Mangrove-2  
No. Orden 408  
experimento: DEPT  
Varian Unity 73.4 MHz (D)  
Mar-8-2004

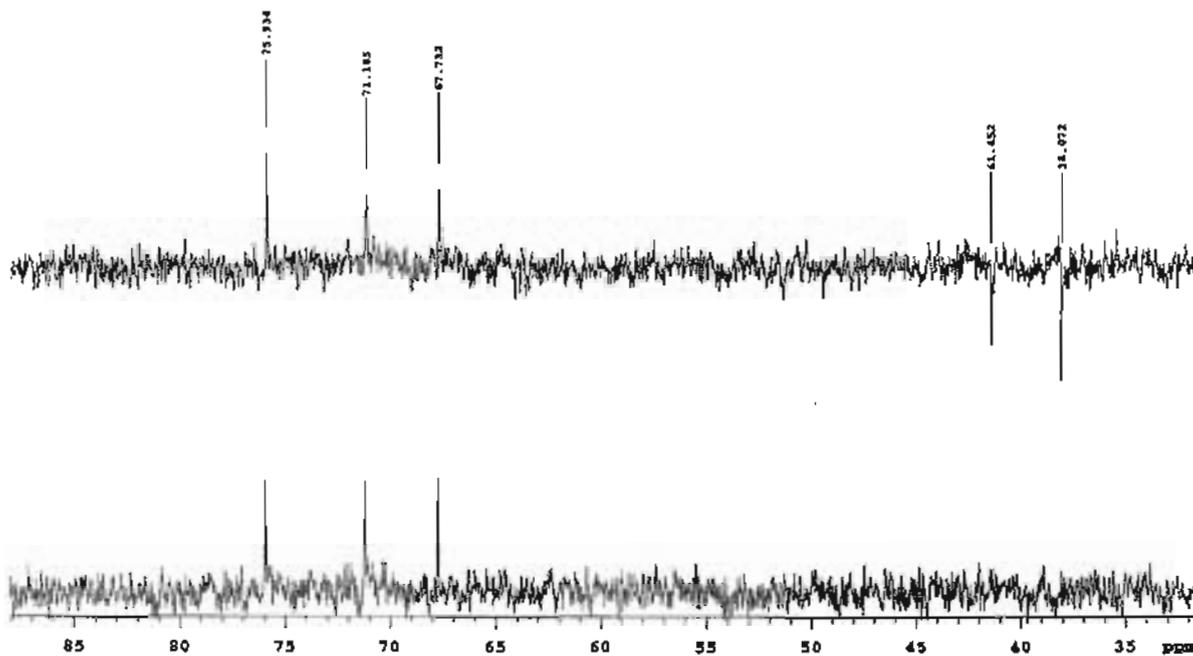


Figura 5. Espectro DEPT del compuesto responsable de la actividad antibacteriana de *Jatropa neopauciflora*.

Mass Spectrum 1  
Date : 21-Nov-2009 11:04  
Sample: 158104-15 MFC-119R-samgr-5-2  
Note : Luis-Velazco-1  
Inlet : Direct Ion Mode : FBE+  
Spectrum Type : Normal Ion (M<sup>+</sup> Linear)  
RT : 8.61 min Scan# : 61.57  
BP : m/z 104.0000 Int. : 101.15  
Output m/z range : 2.0000 to 646.4264 Cut Level : 0.00 %

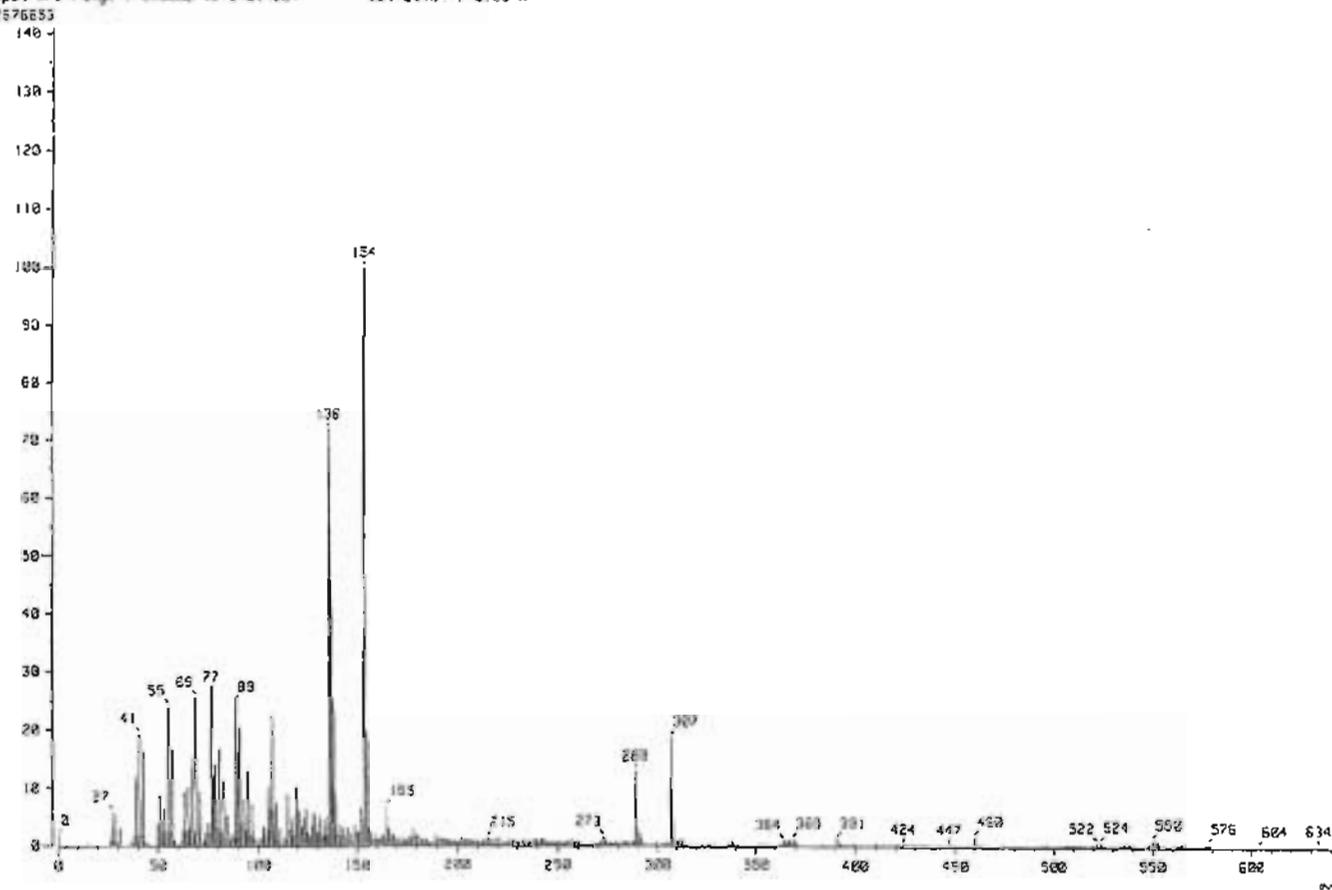


Figura 6. Espectro de masas del compuesto responsable de la actividad antibacteriana de *Jatropha neopauciflora*.

INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM/ ICS  
Dr. C. Caspezo, C. Marín  
Clavel J. Neopáuno  
Disolvente: CDCl<sub>3</sub>  
Nitrogeno-1  
Gemini 200 MHz (B)  
3-11-04  
No. registro: 482

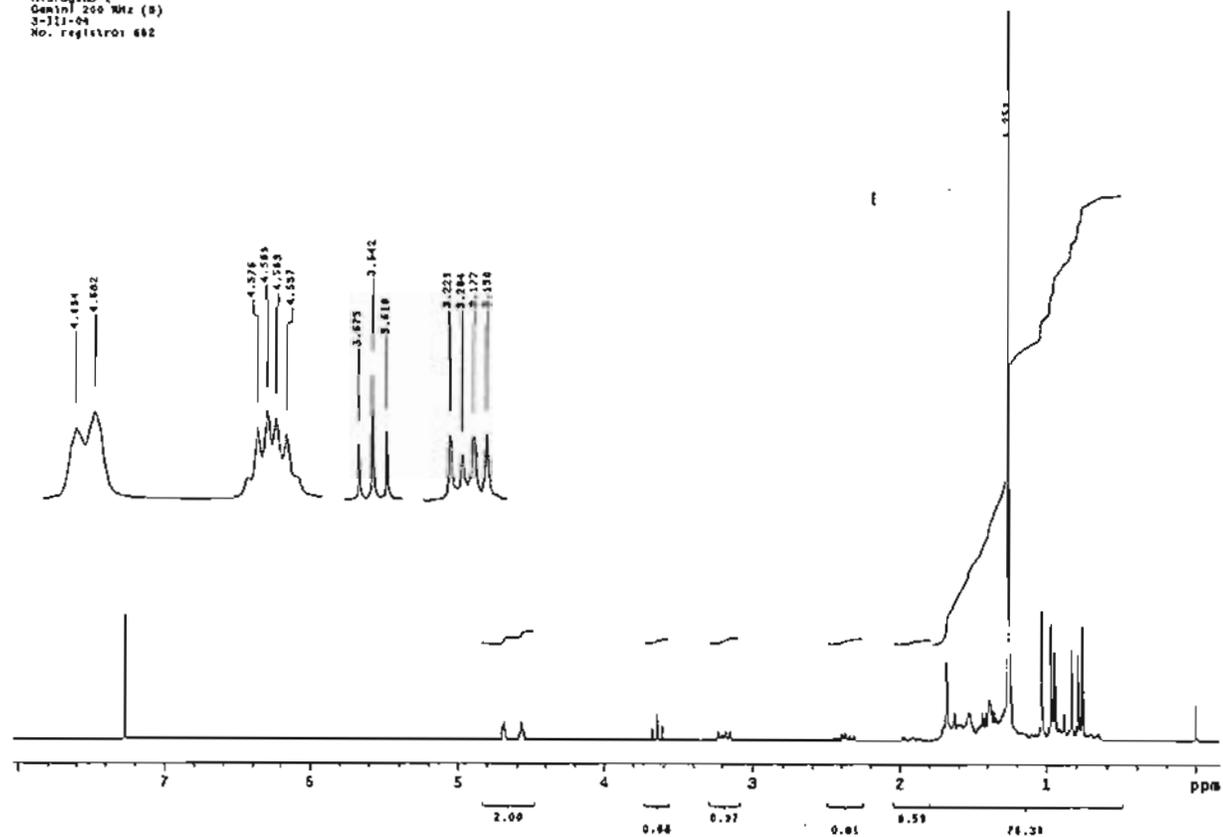


Figura 7. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de Protones del compuesto obtenido (fracción 12) de la cromatografía del extracto hexánico de *J. neopauciflora*.

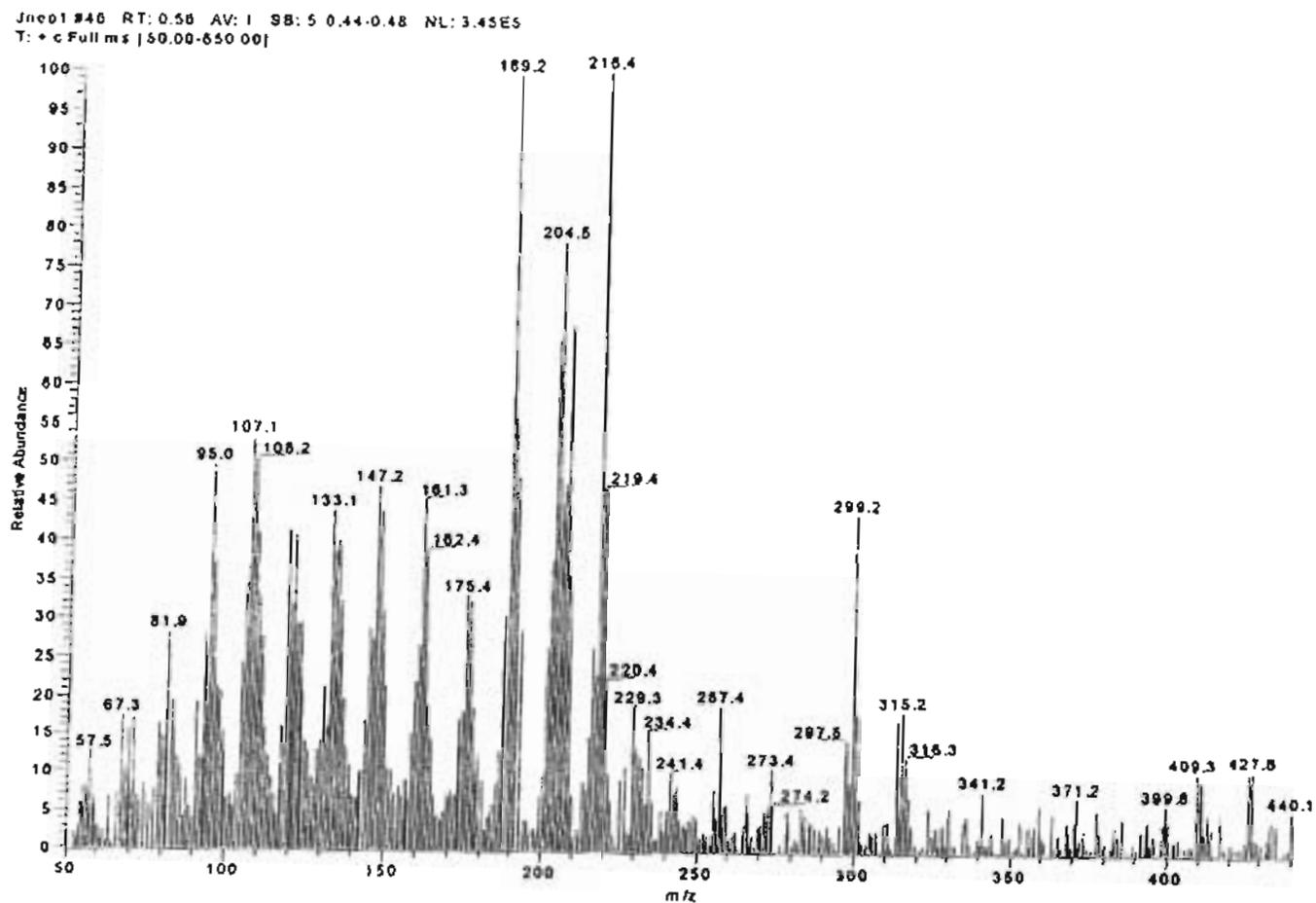


Figura 8. Espectro de Masas del compuesto obtenido (fracción 12) de la cromatografía del extracto hexánico de *J. neopauciflora*.

INSTITUTO DE QUIMICA, UNAM/ IHS  
Dr. C. Cespedes/C. Marin  
Claves: Jmospstres  
Disolvente: CDCl3  
Hidrogeno-1  
Gamma 200 MHz (5)  
4-III-04  
No. Registro: 684

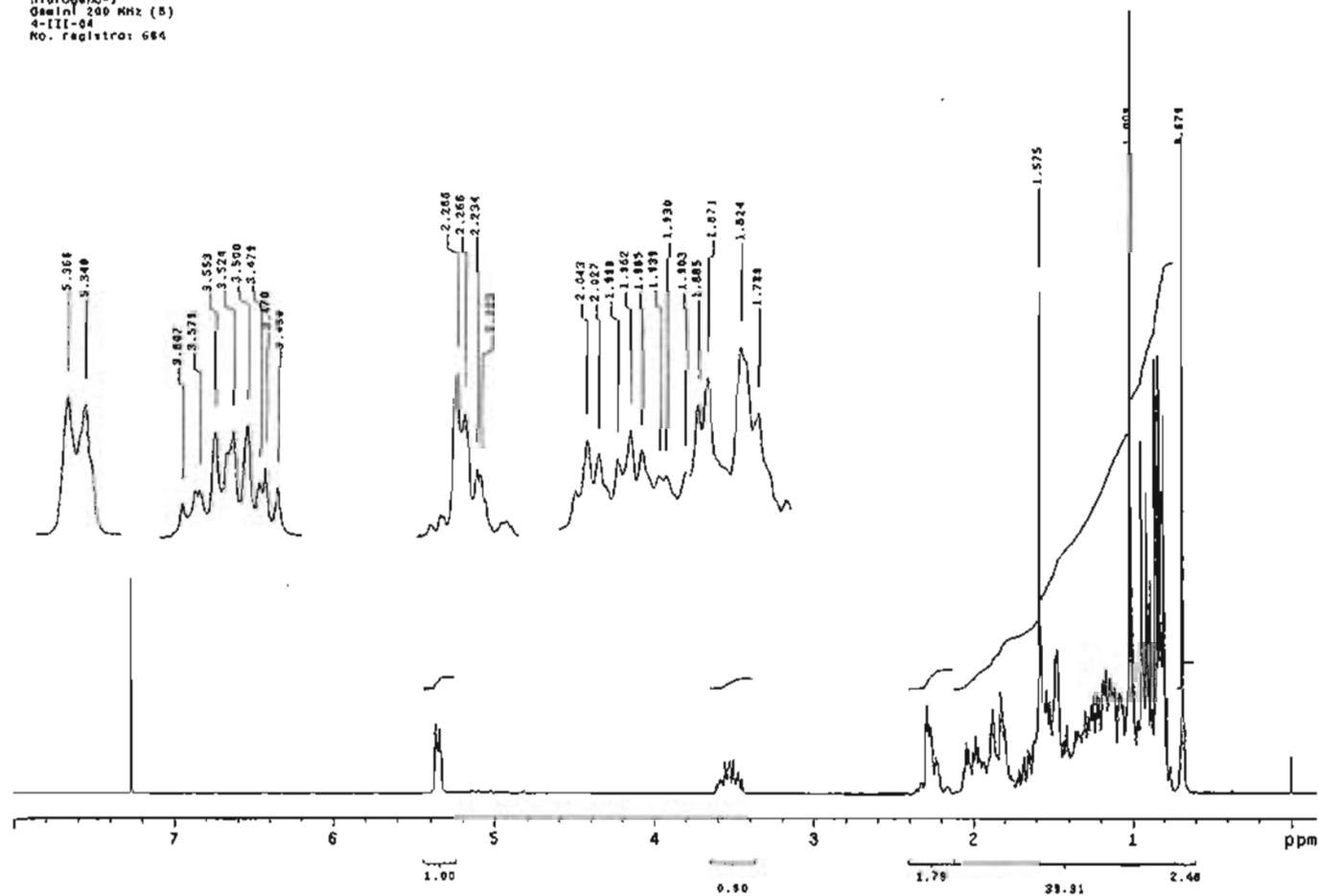


Figura 9. Espectro de Resonancia magnética nuclear de protones de los cristales obtenidos en la fracción 16.

Instituto de Química, UNAM, RPH  
Dr. C. Céspedes / Mariana  
Clavel CP-2  
CDCl<sub>3</sub>  
Varian-Gemini 200 MHz-A  
1H  
No. Orden: 2930  
11-88-04

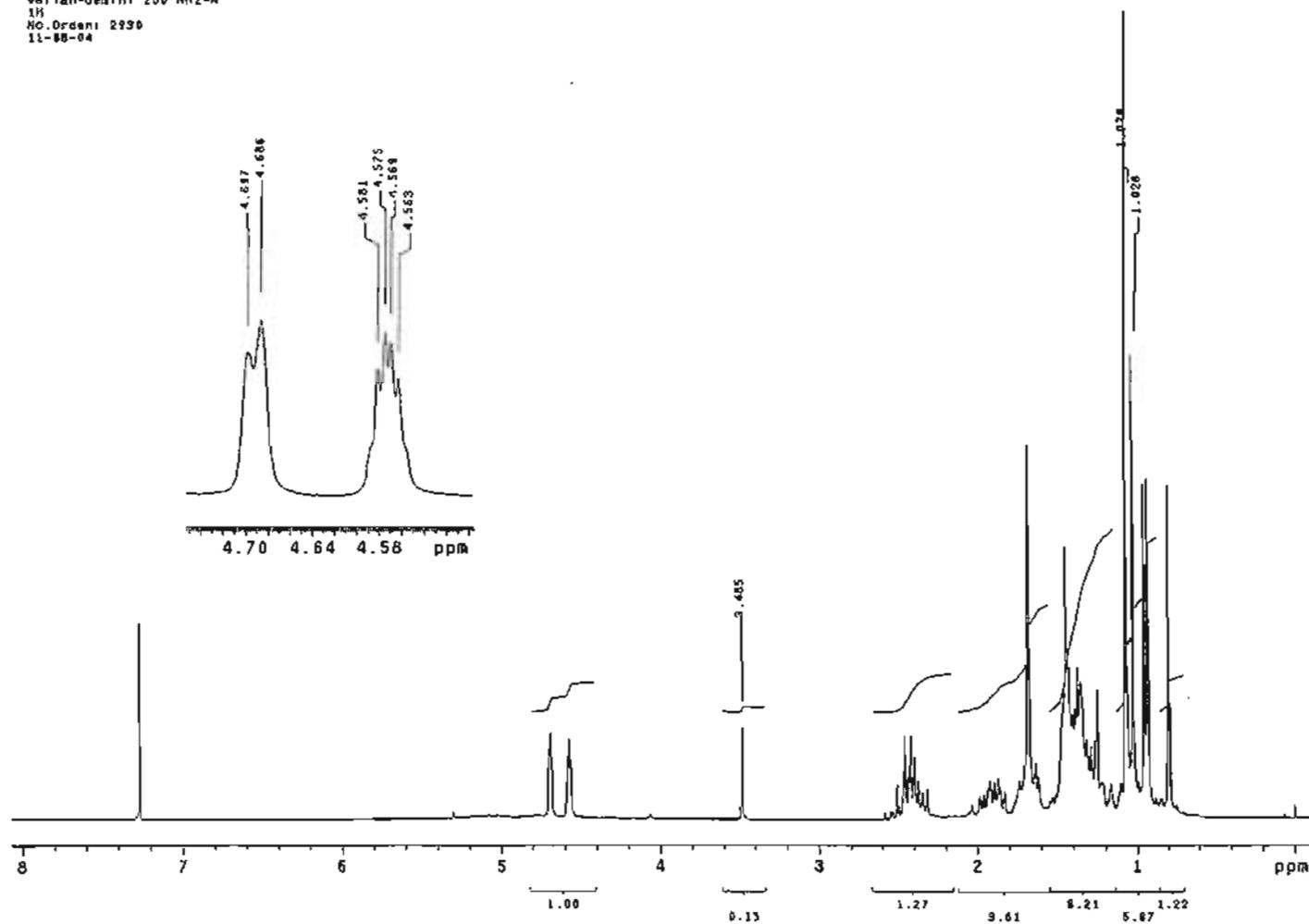


Figura 10. Espectro de Resonancia magnética nuclear de protones de los cristales obtenidos en la fracción 14.

Instituto de Química, UNAM, RPM  
Dr. C. Céspedes, Mariana  
Clave: CP-2  
CDC13  
Varian-Gemini 200 MHz-A  
13C  
No. Orden: 2930  
11-06-04

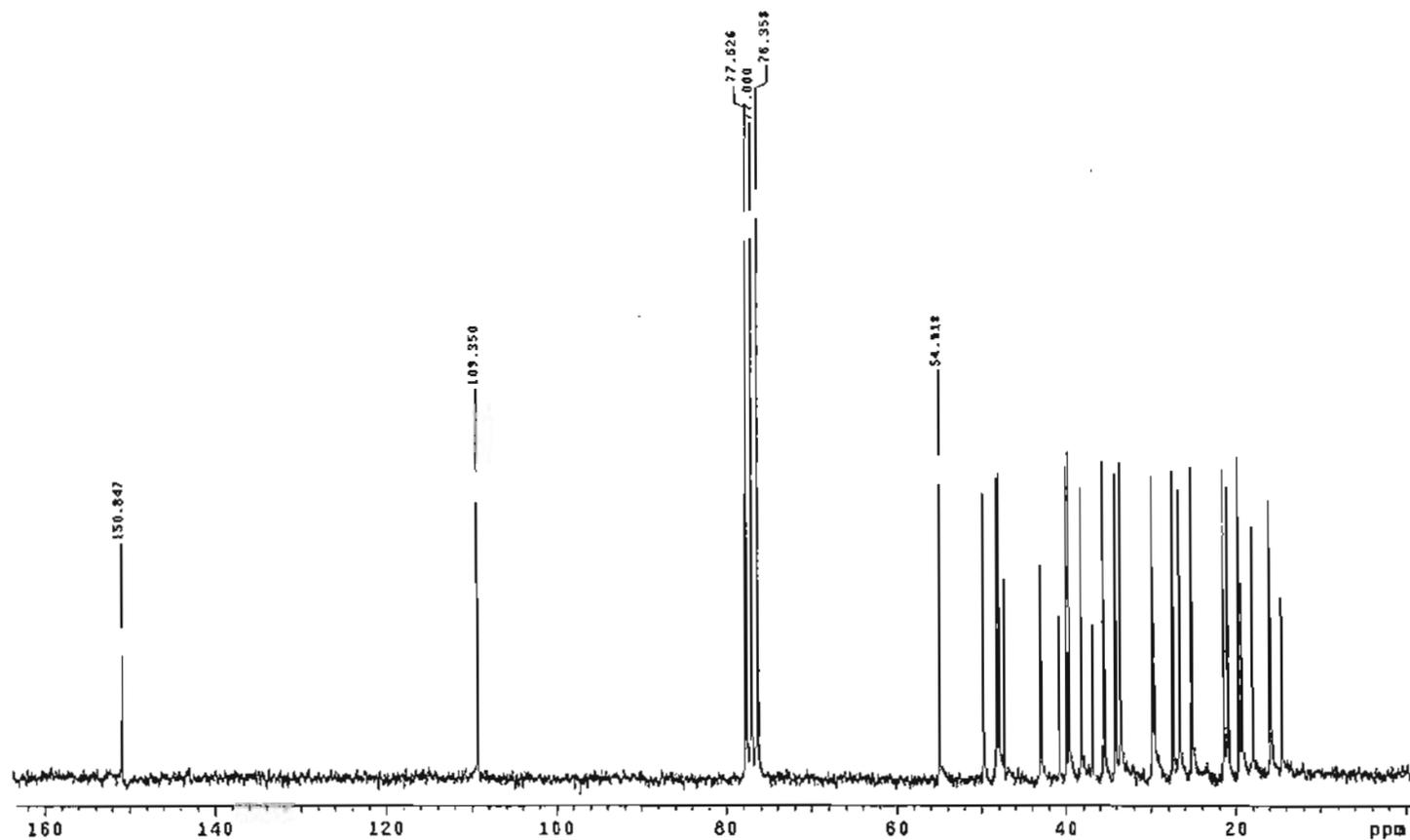


Figura 11. Espectro de Resonancia magnética nuclear de carbono trece de los cristales obtenidos en la fracción 14.

Instituto de Química, UMAN, RPM  
Dr. C. Cespedes / Marianys  
Clave: CP-2  
CDC19  
Varian-Gemini 200 MHz-A  
DEPT  
No. Orden: 2730  
11-08-04

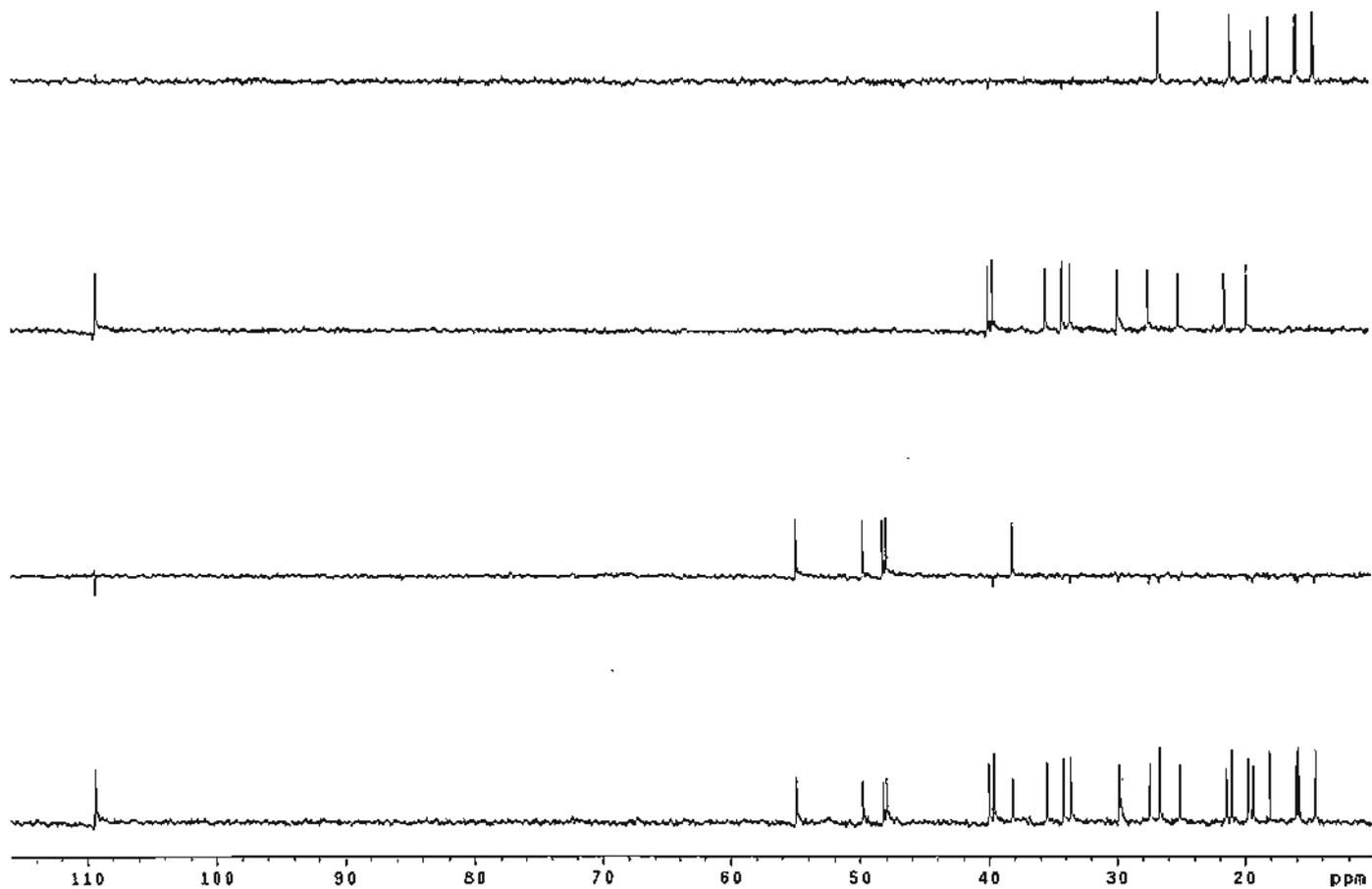
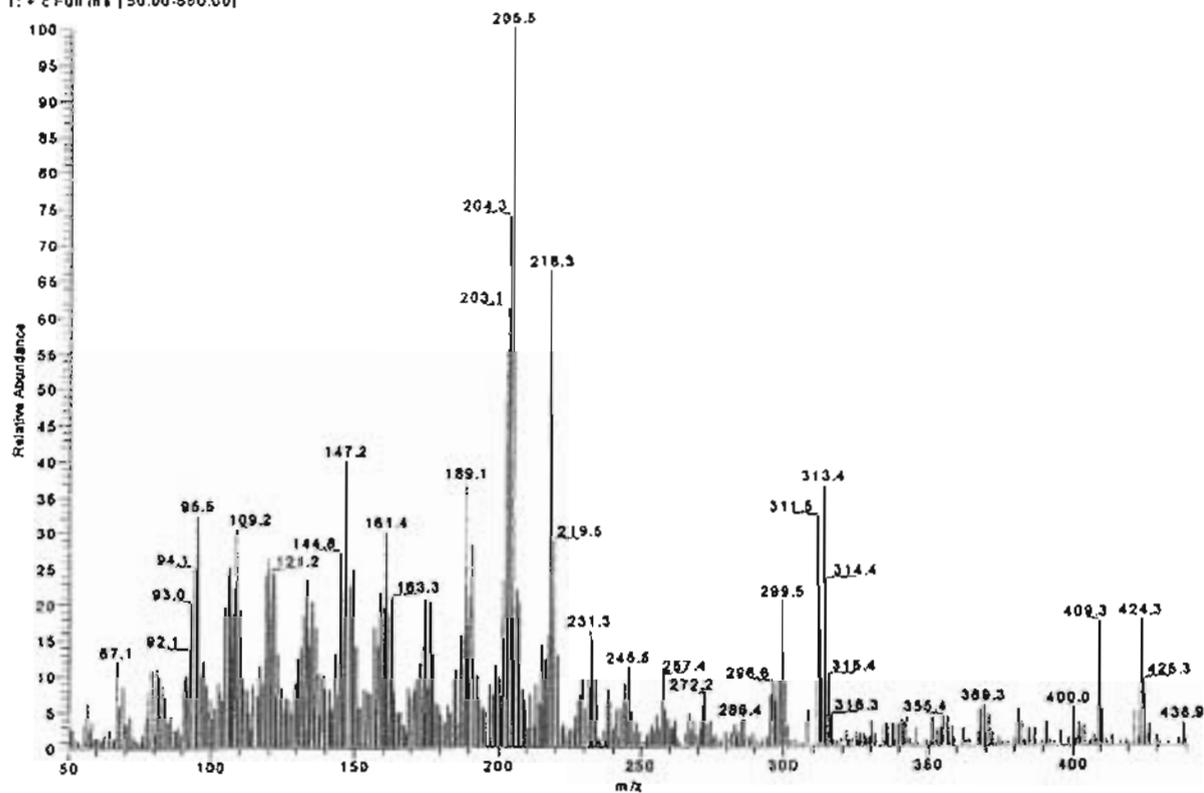


Figura 12. Espectro DEPT de los cristales obtenidos en la fracción 14.

Jne02 #46 RT: 0.56 AV: 1 NL: 4.64E5  
T: + c Full ms [50.00-560.00]



Espectro de masas

Figura 13. Espectro de masas de los cristales obtenidos en la fracción 14.

## Apéndice 4

### Síntesis bibliográfica del género *Jatropha*.

#### Compuestos aislados de diferentes especies de *Jatropha*.

Especie	Compuesto	Parte usada	Actividad	Lugar de colecta	Autor
<i>J. curcas</i>	5-hidroxipirrolidin-2-ona pirimidina-2,4 diona	Extracto de hojas AcOEt	Anti-inflamatorio (edema en rata)	Managua, Nicaragua	Staubmann, et al., 1999a.
<i>J. curcas</i>	Flavonoide: apigenina y su glicósido vitexina e Isovitexina. Los esteroides: estigmasterol, $\beta$ -D-sitosterol y su $\beta$ -D-glucósido	hojas	No reportada	No reportado	Chhabra, 1990.
<i>J. curcas</i>	Curcaciolina (octapéptido cíclico)	A látex	Inhibición moderada de la proliferación de células-T	Jepara, Indonesia	Van den Berg et al., 1995
<i>J. curcas</i>	Curcaciolina (nonapéptido cíclico)	B látex	Actividad rotamasa de la ciclofilina.	No reportado	Auvin et al., 1997.
<i>J. curcas</i>	Heudolotina (dinoditerpeno)	Extracto de la parte aérea con $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH (1:1)	No reportada	Dhanasri, Andhra Pradesh, India	Ravindranath et al., 2003
<i>J. curcas</i>	Esterasas JEA y JEB Lipasa JL	Semillas	Hidroliza triglicéridos de cadena corta y larga	Managua, Nicaragua	Staubmann et al., 1999
<i>J. curcas</i>		Látex	Cicatrizante	Lima, Perú	Villegas et al., 1997.
<i>J. curcas</i> y <i>J. gossypifolia</i>		Extracto de hoja con acetato de etilo	Antibacteriano sobre <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>E. faecalis</i> y <i>S. typhimurium</i>	Trinidad y Tobago	Chariandy et al., 1999.



## Compuestos aislados de diferentes especies de *Jatropha*.

Especie	Compuesto	Parte usada	Actividad	Lugar de colecta	Autor
<i>J. curcas</i>	$\beta$ -sitosterol y su $\beta$ -D-glucósido, mamesina, propacina, los curculatranos A y B y los curcusones A-D; además los diterpenoides jatrolol y jatrololone A y B, la cumarina tomentina, el cumarín-Ilgano Jatrolin y taraxerol.	Raíz		India	Gubitz et al., 1999.
	Curcaciclina A (octapéptido cíclico)		Moderada inhibición de la actividad de la ruta clásica del complemento humano y proliferación de las células T		
	Curcaciclina B (nonapéptido cíclico)		Se une a la actividad rotamasa de la ciclofilina B humana.		
	Curcalina (enzima)		Enzima proteolítica		

## Compuestos aislados de diferentes especies de *Jatropha*.

Especie	Compuesto	Parte usada	Actividad	Lugar de colecta	Autor
<i>J. curcus</i>		Extracto metanólico de raíz	Inhibe la diarrea inducida con aceite de castor	India	Mujumdar et al., 2000
<i>J. curcus</i>		Extracto de hojas con éter de petróleo	Larvicida sobre el mosquito <i>Culex quinquefasciatus</i>	India	Karmegam et al., 1997.
<i>J. dioica</i> Cerv. <i>J. spathulata</i> (Ortega) Muell. Arg	Extracto acuoso	raíz	Antibiótico sobre <i>S. aureus</i>	No reportado	Garcla, 1984; Reiche, 1912; Domínguez, 1980 citados en Argueta, 1994
<i>J. dioica</i>	Diterpenos: cillalitriona, jatrofona, ricolosatriona. Esterol: $\beta$ -sitosterol	raíz	No reportada	No reportado	Domínguez, 1980; Martínez, 1946; Villarreal, 1988 citados en Argueta, 1994.
<i>J. dioica</i>	taninos	látex	No reportada	No reportado	Domínguez, 1980; Martínez, 1946; Villarreal, 1988 citados en Argueta, 1994.
<i>J. glandulifera</i>		Extracto acuoso de la parte aérea	Antibacteriano contra <i>E. coli</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>S. partyphi</i> , <i>S. typhi</i> y <i>B. subtilis</i> .	Maruthamal Hills of Western Ghats.	Srinivasan et al., 2001.
<i>J. glauca</i>		Extracto clorofórmico de la parte aérea	Moluscicida contra el caracol <i>Biomphalaria pfeifferi</i> (huésped intermediario de la esquistosomiasis)	Arabia Saudita	Al-Zanbagi et al., 2000.

## Compuestos aislados de diferentes especies de *Jatropha*.

Especie	Compuesto	Parte usada	Actividad	Lugar de colecta	Autor
<i>J. glauca</i>		Extracto metanólico	Moluscicida contra el caracol <i>Blomphalaria pfaifferi</i> (huésped intermediario de la esquistosomiasis)	Arabia Saudita	Al-Zanbagi et al., 2001.
<i>J. gossypifolia</i>	Propacina (cumarin-lignolde)	Extracto de la parte aérea con CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH (1:1)	No reportada	India	Das y Venkatalah, 2001.
<i>J. gossypifolia</i>	Citraltrione (diterpeno)	Extracto de toda la planta con CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH (1:1)	No reportada	India	Das y Anjan, 1999.
<i>J. gossypifolia</i>	Gossípidieno (lignano)	Extracto hexánico de tallo	No reportada	Oeste de Bengala, India	Das y Venkatalah, 1999.
<i>J. gossypifolia</i>	Ariinaftaleno (lignano)	Raíz, tallo y semillas		Oeste de bengala, India	Das y Banerji, 1988.
<i>J. grossidentata</i>	Diterpenos, lignano, cumarino-lignano	Raíz		Paraguay	Schmeda-Hirschmann et al., 1992.
<i>J. isabelli</i>		Extracto de la parte aérea con diclorometano	Larvicida contra larvas del mosquito <i>Aedes aegypti</i>	Argentina, Brasil y Perú	Ciccia et al., 2000
<i>J. mahafalensis</i>	Mahafaciclina (heptapéptido cíclico)	A látex	Moderada actividad antimalaria	Madagascar	Baraguey et al., 2000.
<i>J. multifida</i>	Multifidin (cianoglucósido)	látex		Indonesia	Van Den Berg et al., 1995a
<i>J. poliana</i> ssp. <i>molissima</i>	Polianina A, B y C	látex	Moderada actividad antimalaria	Recife, Brasil	Auvín-Guette et al., 1999

## Compuestos aislados de diferentes especies de *Jatropha*.

Especie	Compuesto	Parte usada	Actividad	Lugar de colecta	Autor
<i>J. unicostata</i>	Fitosteroles: esteroles no Identificado, campesterol, estigmasterol, sitosterol, estigmasterol. 3-oxo-esteroides: campest-4-en-3-ona, estigmasterol-4,22- dieno-3-ona. Dioxoesteroides: campest-4-22-dieno- 3,6-diona, estigmasterol- 4-en-3,6-diona. Fraxetol (cumarina), luteolol.	Parte aérea	No reportada	Dixam, Socorra Island, Yemen	Franke et al., 2004
<i>J. weddelliana</i>	Ácido 3-acetilaleurítico, sitosterol jatrowedlone (diterpeno)	Extracto hexánico de raíz y	No reportada	Corumbá, Brasil	Brum et al., 1998

## Apéndice 5

### Resultados adicionales de la investigación etnobotánica.

#### Cuadro 1

Número y porcentaje de especies para cada familia de plantas medicinales.

Familia	No. de especies	% de especies
Acanthaceae	1	2.17
Agavaceae	1	2.17
Amaryllidaceae	1	2.17
Anacardiaceae	2	4.35
Asclepiadaceae	1	2.17
Asteraceae	8	17.39
Bombacaceae	1	2.17
Boraginaceae	1	2.17
Burseraceae	1	2.17
Cactaceae	3	6.52
Cyperaceae	1	2.17
Equisetaceae	1	2.17
Euphorbiaceae	4	8.7
Julianaceae	1	2.17
Lamiaceae	3	6.52
Mimosaceae	2	4.35
Myrtaceae	2	4.35
Nyctaginaceae	1	2.17
Papaveraceae	1	2.17
Piperaceae	1	2.17
Chenopodiaceae	1	2.17
Rosaceae	1	2.17
Rutaceae	1	2.17
Selaginellaceae	1	2.17
Solanaceae	2	4.35
Simaroubaceae	1	2.17
Turneraceae	1	2.17
Verbenaceae	1	2.17

## Apéndice 6

### Resultados adicionales de la investigación sobre la actividad antibacteriana.

De las plantas medicinales que se seleccionaron, se obtuvo el extracto acuoso, lo más apegado posible a la información etnobotánica. El extracto de cada planta se retó frente a las 14 cepas bacterianas antes mencionadas, los resultados se muestran en el Cuadro 1. Como se puede observar sólo ocho especies mostraron actividad. Es importante mencionar que de *Jatropha neopauciflora* no se realizó extracto acuoso, ya que los informantes en ninguna ocasión mencionaron que prepararan algún té con esta planta. En las especies donde el extracto con mayor actividad era el metanólico, el extracto acuoso mostró la misma o mayor actividad, tal es el caso por ejemplo de *Ceiba parvifolia*, *Cyrtocarpa procera*, *Juliania adstringens* y *Rosa centifolia*.

### Cuadro 1

Actividad antibacteriana de los extractos acuosos de algunas plantas usadas en la medicina tradicional de San Rafael.

Especies	Ex	Sa	Se	Sl	Bs	V ch No-01	V ch cc	V ch agua	V ch Tor	Ec	Sb	Ye	Eae	Eag
Chloramphenicol		18.7± 0.6	19.7± 2.1	22.7± 0.6	25.0± 1.0	24.3± 0.6	19.3± 0.6	24.3± 0.6	22.7± 1.5	18.3± 1.1	25.0± 1.0	15.7± 0.6	24.0± 1.0	25.3± 0.6
<i>Acalypha hederaceae</i>	A	11.0± 1.7	11.3± 1.2	7.7±1.2	na	20.3± 1.5	na	na	9.0±2.0	13.0± 1.7	11.3± 0.6	12.7± 0.6	10.3± 0.6	12.0± 0.5
<i>Artemisia absinthium</i>	A	na	na	10.0± 0.5	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
<i>Celba parvifolia</i>	A	10.3± 0.6	9.3±0.6	na	7.0±0.5	na	na	na	na	na	na	11.3± 1.2	na	na
<i>Cyrtocarpa procera</i>	A	9.0±1.0	9.0±1.0	15.0± 1.0	7.7±1.2	12.0± 0.5	na	na	na	9.7±0.6	10.7±0. 6	na	10.7± 0.6	11.3± 0.6
<i>Gymnosperma glutinosum</i>	A	8.7±0.6	9.7±0.6	19.3± 2.3	na	na	na	na	10.7± 1.5	na	10.3± 1.2	na	na	na
<i>Juliana adstringens</i>	A	10.3± 0.6	9.0±0.5	12.0± 0.5	na	na	na	na	10.7± 2.9	na	12.7± 0.6	12.0± 0.5	na	na
<i>Rosa centifolia</i>	A	12.7± 0.6	13.0± 1.0	15.0± 0.5	7.7±0.6	18.0± 1.0	9.7±1.5	na	10.0± 1.0	17.7± 0.6	12.3± 0.6	17.7± 1.2	11.0± 1.0	15.3± 0.6
<i>Tanacetum parthenium</i>	A	na	na	8.0±0.5	na	8.0±0.5	na	na	na	na	7.0±0.5	na	na	na
<i>Vigulera dentata</i>	A	na	7.0±0.5	8.0±0.5	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na

Ex extracto; A acuoso; Sa *Staphylococcus aureus*; Se *S. epidermidis*; Sl *Sarcina lutea*; Bs *Bacillus subtilis*; V ch No-01 *Vibrio cholerae* No-01;

V ch cc *Vibrio cholerae* (aislada de un caso clínico); V ch agua *Vibrio cholerae* (aislada de agua); V ch Tor *Vibrio cholerae* CDCV 12;

Ec *Escherichia coli*; Sb *Shigella boydii*; Ye *Yersinia enterocolitica*; Eae *Enterobacter aerogenes*; Eag *E. agglomerans*; na no activo.

*Fleaveria trinervia*, *Setaginella lepidophylla*, *Piper aurantium* y *Chenopodium murale* no mostraron actividad antibacteriana.

Para determinar si existían diferencias significativas entre las cepas bacterianas ensayadas, los extractos activos y si había interacción entre ambos, se realizó un análisis de varianza factorial con los datos del halo de inhibición que se muestran en el Cuadro 2. Como se puede observar se agruparon en dos grandes conjuntos (Gram positivas y Gram negativas), de los cuales se obtuvo una  $F=25.99$  ( $p=0.00001$ ), es decir, existieron diferencias significativas entre las bacterias Gram positivas y negativas. En cuanto a los tipos de extractos activos (hexanos, acetato de etilo y metanol) se encontró que no hubo diferencias significativas ( $F=1.12$ ;  $p=0.3274$ ). Sin embargo, cuando se evaluó la interacción entre tipo bacteriano-extracto se obtuvo una  $F=8.61$  ( $p=0.000242$ ), lo que determinó que los halos de inhibición dependen tanto del extracto que se emplee como del tipo bacteriano con el que se ensayen esos compuestos.

## Cuadro 2

Actividad antibacteriana de las plantas medicinales sobre bacterias Gram positivas y Gram negativas.

Planta	Bacterias Gram Positivas			Bacterias Gram Negativas		
	Hexanos	AcOEt	Metanol	Hexanos	AcOEt	Metanol
<i>V. dentata</i> (Chimalacate)	14,13,14 9,9,9 7,9,9 10,9,9	17,15,15		8,8,9 7,8,8 7,7,7		
<i>J. adstringens</i> (Cuachalala)		8,7,7	12,12,11 20,20,21 11,10,11			9,10,9 9,10,10 10,10,10 12,10,10 10,10,11 12,12,13 8,9,8
<i>C. parvifolia</i> (Pochote)			12,12,12 10,10,11 9,8,9		9,8,8	7,7,8
<i>J. neopauciflora</i> (Sangre de grado)		10,11,10 7,7,7 12,11,11 7,7,7 16,18,18* 14,14,13* 12,12,13* 12,12,13*			9,9,9 13,12,12 16,17,16 113,13,12* 13,13,12*	
<i>B. arida</i> (Acetillo)	10,8,10	11,11,11**	22,23,22**		11,11,11**	
<i>C. procera</i> (Chupandilla)			13,13,13 11,12,12 12,12,11			7,7,7 12,12,13 10,10,9
<i>T. partenium</i> (Santa María)	15,15,15 15,15,15	15,13,12 13,14,14 12,12,13 14,14,13	8,8,8	9,9,9 14,16,15 11,11,11	14,12,13 17,15,12 10,10,10 9,9,8 11,11,10 14,13,14	8,8,8 8,7,7

\* Actividad del látex. \*\*sólo hubo una disminución del crecimiento bacteriano.

## Cuadro 2 continuación...

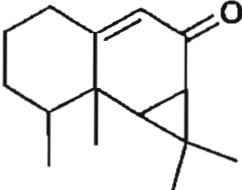
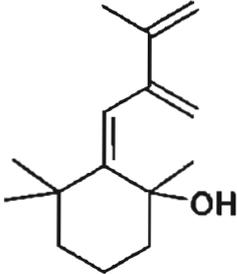
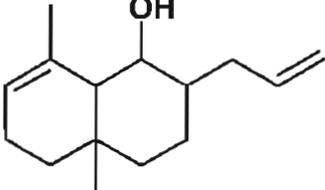
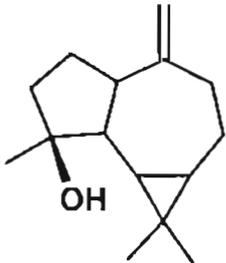
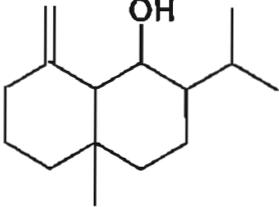
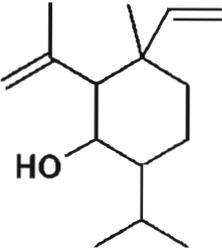
Planta	Bacterias Gram Positivas			Bacterias Gram Negativas		
	Hexanos	AcOEt	Metanol	Hexanos	AcOEt	Metanol
<i>T. partenium</i>	15,15,15	15,13,12	8,8,8	9,9,9	14,12,13	8,8,8
(Santa María)	15,15,15	13,14,14		14,16,15	17,15,12	8,7,7
		12,12,13		11,11,11	10,10,10	
		14,14,13			9,9,8	
					11,11,10	
					14,13,14	
<i>A. ludoviciana</i>			14,10,11	7,7,7		7,7,7
(Hierba maestra)						
<i>A. hederacea</i>	10,10,10		12,13,13			11,12,12
(Hierba del pastor)			19,19,19			
			19,18,17			
<i>E. hyemale</i>	11,10,10					
(Cola de Iguana)						
<i>Rosa sp.</i>			10,11,10			10,11,10
(Rosa de Castilla)			13,14,13			
			13,14,14			
<i>G. glutinosum</i>	19,19,19	10,13,12		13,12,12	10,9,9	
(Popote)	12,11,11			10,10,10		
				12,13,12		
				11,13,13		

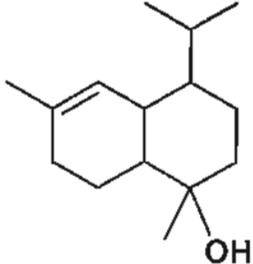
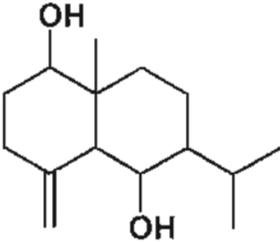
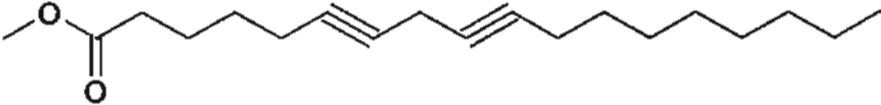
\* Actividad del látex. \*\* sólo hubo una disminución del crecimiento bacteriano.

## Apéndice 7

Estructura química de los compuestos identificados, por espectrometría de gases masas, de las fracciones (11, 12, 13 y 19) con actividad antibacteriana de *Jatropha neopauciflora*.

Nombre	Estructura química	Fórmula	Peso molecular
Ciclohexano-cis-1,2-dietenil-4-(1-metiletilideno)-,cis-		C <sub>13</sub> H <sub>20</sub>	220
irisona		C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O	192
1H-ciclopro e azuleno, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b,octahidro-1,1,4,7-tetrametil		C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204
azuleno,1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro-1,4-dimetil-1-7-(1-metiletilideno)		C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204
cedreno		C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204

Nombre	Estructura química	Fórmula	Peso molecular
(1,1-5,6 tetrametil)2H-ciclopropanaftalen-2-ona, 1,1a,4,5,6,7,7a,7b-octahidro		C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O	218
ciclohexanol, 1,3,3-trimetil-2-(3-metil-2-metileno-3-butenilideno)		C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220
1-naftalenol, 1,2,3,4,4a,5,6,8a,octahidro-4a,8-dimetil-2-(2-propenilo)		C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220
(-)-espatulenol		C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220
1-naftalenol, decahidro-4a-metil-8 metileno-2 (1-metiletil)		C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222
ciclohexanol, 3-etenil-3-metil-2-(1-metiletetil)-6-(1-metiletetil)		C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222

Compuesto	Estructura química	Fórmula	Peso molecular
1-naftalenol,1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahidro-1,6-dimetil1-4-(1-metiletil) Pilgerol		C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222
platambina		C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	220
ácido 6,9-octadecadienoico,metil éster		C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	290
cis-alfa-copaeno-8-ol			220