



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

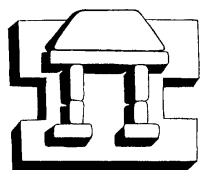
**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA**

**Composición y actividad antimicrobiana del aceite esencial de  
*Cordia curassavica* (Jacq) Roemer & Schultes: Boraginaceae  
(Barredor)**

**T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
B I Ó L O G A  
P R E S E N T A:**

**Olivia Avila**

Bajo la Asesoría y Dirección de:  
**Dra. Claudia Tzasna Hernández Delgado**



**IZTACALA**

**Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla Edo. México. Enero 2006.**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

*El que presume de no haber tropezado jamás, es que no ha intentado caminar.*

*No se trata de llegar a la meta se trata de disfrutar el camino.*

*Rehústate a formar parte de la cautelosa multitud que juega para no perder, juega para ganar.*

*Los obstáculos se ven sólo cuando dejas de observar tus metas.*

## AGRADECIMIENTOS

Abuelita, lo prometido es deuda, gracias por tus sabios consejos.

Mamá gracias por esa libertad que me diste, que sin ella no lo hubiera logrado, a mi Tía por sus consejos y preocupaciones.

A ti Alek's, por ser mi soporte, mil gracias hermano hoy por mi mañana por ti.

A mis hermanos Ana, Efraín, Paty, Juan, Arturo, Fer, Tere y Aby, quienes cada uno de ellos de alguna manera me ayudaron.

A ti Salvador, por compartir conmigo grandes momentos, por tu confianza y paciencia.

A mis amigas Lizbeth, Rosalba, Lucero, Claudia, por sus aciertos y desaciertos durante la carrera, pero sobre todo por su amistad.

A mi directora de tesis Tzasna, por la paciencia, dedicación y esfuerzos realizados durante este trabajo.

A mis sinodales por su esmerada dedicación y consejos al revisar la tesis.

A todas aquellas personas quienes de alguna manera dificultaron este proceso, ya que sin ellos hubiera sido más fácil el camino sin aprendizajes que dejar.

Nombre de archivo: A1  
Directorio: C:\Mis documentos\TESIS\OLYBIA\DOC  
Plantilla: C:\WINDOWS\Application Data\Microsoft\Plantillas\Normal.dot  
Título: UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
Asunto:  
Autor: BASE  
Palabras clave:  
Comentarios:  
Fecha de creación: 11/01/06 02:56 P.M.  
Cambio número: 3  
Guardado el: 11/01/06 06:08 P.M.  
Guardado por: BASE  
Tiempo de edición: 2 minutos  
Impreso el: 11/01/06 06:18 P.M.  
Última impresión completa  
Número de páginas: 3  
Número de palabras: 304 (aprox.)  
Número de caracteres:1,734 (aprox.)

## ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
Metabolitos secundarios y sus funciones	4
Investigaciones farmacológicas	5
Antimicrobianos de origen vegetal	6
Aceites esenciales y terpenos	7
Propiedades farmacológicas de los aceites esenciales	9
ANTECEDENTES	10
JUSTIFICACIÓN	12
OBJETIVOS	13
DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA	14
ZONA DE COLECTA	17
METODOLOGÍA	19
Extracción del aceite esencial	19
Identificación de los compuestos del aceite esencial	19
Evaluación cualitativa de la actividad antibacteriana	20
Evaluación cuantitativa de la actividad antibacteriana	20
Evaluación cualitativa de la actividad antifúngica	20
Evaluación cuantitativa de la actividad antifúngica	20
RESULTADOS Y ANÁLISIS	21
DISCUSIÓN	34
CONCLUSIONES	38
PERSPECTIVAS	39
APÉNDICE I	
Extracción por arrastre de vapor	39
APÉNDICE II	
Método de difusión en agar de Kirby-Baier	40
APÉNDICE III	
Determinación de la concentración mínima inhibitoria y bactericida mínima	42
APÉNDICE IV	
Método cualitativo del crecimiento radial	43
APÉNDICE V	
Método cuantitativo de inhibición del crecimiento radial	44
APÉNDICE VI	
Espectros de masas de los compuestos identificados	45
BIBLIOGRAFÍA	57

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b>	Antecedentes	10
<b>Cuadro 2.</b>	Datos etnobotánicos de la especie.	21
<b>Cuadro 3.</b>	Composición porcentual de los aceites esenciales de <i>Cordia curassavica</i> .	23
<b>Cuadro 4.</b>	Actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>C. curassavica</i> .	25
<b>Cuadro 5.</b>	Concentración mínima inhibitoria y concentración bactericida mínima del aceite esencial de <i>C. curassavica</i> .	28
<b>Cuadro 6.</b>	Porcentaje de inhibición del crecimiento radial del aceite esencial de <i>C. curassavica</i> .	29
<b>Cuadro 7.</b>	Porcentaje de inhibición del crecimiento radial del Ketoconazol en cuatro cepas de hongos (Control positivo).	31
<b>Cuadro 8.</b>	Porcentaje de inhibición del crecimiento radial del Ketoconazol (Control positivo) en <i>Aspergillus niger</i> .	32
<b>Cuadro 9.</b>	CF <sub>50</sub> , y MFC del aceite esencial de <i>C. curassavica</i> .	33

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	<i>Cordia curassavica</i> (Jacq) Roemer & Schultes.	15
<b>Figura 2.</b>	Zonas en donde es utilizada <i>C. curassavica</i> .	16
<b>Figura 3.</b>	Ubicación geográfica de Zapotitlán Salinas, Puebla.	17
<b>Figura 4.</b>	Espectro de cromatografía de gases del aceite esencial de <i>C. curassavica</i> .	22
<b>Figura 5.</b>	Actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>C. curassavica</i> .	26
<b>Figura 6.</b>	Actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>C. curassavica</i> sobre bacterias Gram positivas y Gram negativas.	27
<b>Figura 7.</b>	Inhibición del crecimiento radial del aceite esencial de <i>C. curassavica</i> .	30
<b>Figura 8.</b>	Efecto del Ketoconazol sobre la inhibición del crecimiento radial en cuatro cepas de hongos.	31
<b>Figura 9.</b>	Efecto del Ketoconazol sobre la inhibición del crecimiento radial de <i>Aspergillus niger</i> .	32

Nombre de archivo: A2  
Directorio: C:\Mis documentos\TESIS\OLYBIA\DOC  
Plantilla: C:\WINDOWS\Application  
Data\Microsoft\Plantillas\Normal.dot  
Título: ÍNDICE GENERAL  
Asunto:  
Autor: BASE  
Palabras clave:  
Comentarios:  
Fecha de creación: 11/01/06 02:56 P.M.  
Cambio número: 1  
Guardado el: 11/01/06 02:57 P.M.  
Guardado por: BASE  
Tiempo de edición: 1 minuto  
Impreso el: 11/01/06 06:18 P.M.  
Última impresión completa  
Número de páginas: 2  
Número de palabras: 402 (aprox.)  
Número de caracteres: 2,295 (aprox.)



## **Composición y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Cordia curassavica* (Jacq) Roemer & Schultes: Boraginaceae (Barredor).**

### **RESUMEN**

Desde tiempos antiguos la medicina tradicional mexicana utiliza una gran variedad de plantas para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales. Esta práctica es particularmente importante en las zonas rurales del país. En un estudio etnobotánico previo (Hernández et al., 2003) se mostró que *Cordia curassavica* es reconocida entre las ocho especies de mayor importancia relativa para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales en Zapotitlán Salinas, Puebla. El objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *C. curassavica*, para validar su uso en la medicina tradicional. La obtención del aceite esencial se realizó a partir de 400 g. de planta fresca, mediante la técnica de arrastre de vapor. Se identificaron sus componentes mediante el análisis de Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Se identificaron doce compuestos de los cuales el 83.33% son sesquiterpenos. Los componentes mayoritarios son el 4-metil, 4-etenil-3-(1-metil etenil)1-(1-metil metanol) ciclohexano (37.34%), seguido del  $\beta$ -eudesmol (19.21 %) y del espatulenol (11.25 %). La actividad antibacteriana del aceite esencial se evaluó frente a trece cepas bacterianas (cuatro Gram positivas: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea* y nueve Gram negativas: *Vibrio cholerae* No 01, *Vibrio cholerae* (aislada de un caso clínico), *Vibrio cholerae* aislada de agua, *Vibrio cholerae* CDC V12, *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter aerogenes*, *Yersinia enterocolitica* y *Salmonella typhi* mediante la técnica de difusión en agar de Kirby Bäuier. El aceite esencial mostró actividad frente a nueve cepas bacterianas. Tanto bacterias Gram-positivas como Gram-negativas fueron sensibles al efecto del aceite esencial. Al determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Bactericida Mínima (CBM), se observó que *S. lutea* y *V. cholerae* aislada de un caso clínico, fueron las cepas bacterianas más sensibles. La actividad antifúngica se evaluó mediante el método de inhibición del crecimiento radial frente a cinco cepas de hongos (*Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Fusarium sporotrichum*, *Fusarium moniliforme*, *Rhizoctonia solani*). El aceite mostró actividad antifúngica en las cinco cepas. Los hongos *R. solani* y *F. sporotrichum* resultaron ser las

cepas más sensibles ya que a concentraciones de 0.75 y 1.00 mg/ml respectivamente, se logró el 100 % de inhibición del crecimiento radial. De acuerdo a los resultados obtenidos se puede concluir que el aceite esencial de *C. curassavica* presenta actividad antimicrobiana validando su uso en la medicina tradicional.

## INTRODUCCIÓN

Las plantas han sido utilizadas por el ser humano para satisfacer necesidades como la alimentación y en especial para aliviar algunas enfermedades; así nuestros antepasados aprendieron a través del saber popular de generaciones anteriores a curar con éxito una gran cantidad de enfermedades (Nice, 1993).

Las civilizaciones primitivas de Babilonia, Egipto, India, China, Grecia, Roma, plasmaron sus conocimientos acerca de plantas curativas en documentos como el papiro de Ebers (1700 a. C). Cabe destacar que en Grecia se dio una aportación descriptiva al conocimiento de la medicina botánica, gracias a que Hipócrates, mencionó de 300 a 400 plantas con fines medicinales. Dioscórides escribió un catálogo de plantas medicinales “De materia médica”. Aristóteles asignó a cada planta las propiedades curativas en aquel entonces conocidas. Además, la Biblia ofrece descripciones de 200 plantas curativas con sus aplicaciones (Domínguez, 1973; Murphy, 1999).

En América, la información sobre plantas medicinales fue adquirida por misioneros y viajeros españoles, esta información fue plasmada en obras como las de Gonzalo Fernández de Oviedo “De la natural historia de las Indias e Islas y tierra firme”, publicada en 1535 (Hamburguer y Hostettman, 1991).

En México las plantas medicinales han representado una alternativa para la salud en poblaciones de bajos recursos, aplicándolas a enfermedades gastrointestinales, del aparato urinario, aparato reproductor, sistema nervioso, o para tratar un traumatismo, etc. Por tal motivo se promovió a la realización de colecciones de plantas a principios de los años sesenta, partiendo de investigaciones etnobotánicas. Para 1975 la OMS promovió internacionalmente, el estudio de la medicina tradicional popular de los países en desarrollo. Apareciendo en ese mismo año el Instituto Mexicano para el estudio de las plantas medicinales (Imeplam), de donde se obtiene un trabajo etnobotánico que respalda las investigaciones experimentales, ya sean farmacológicas o fitoquímicas. Recientemente, el Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social, con catorce años de

existencia tiene una colección aproximada de 11056 ejemplares que apoyan la metodología para el estudio de plantas medicinales de México (Aguilar et al., 1994).

Actualmente la importancia del estudio de las plantas medicinales radica en que estas presentan ventajas indiscutibles con relación a medicamentos alópatas, ya que una gran parte de ellas son asimiladas por el organismo humano sin causar efectos colaterales serios, siempre y cuando sean consumidas adecuadamente (no ingiriéndolas a dosis elevadas, ya que de lo contrario pueden desencadenar factores de toxicidad) pues cada vez son más las personas preocupadas por los efectos secundarios de medicamentos modernos, que buscan alternativas naturales en especial para enfermedades comunes (Nice, 1993).

Las plantas medicinales se han sometido a diversos estudios fitoquímicos y farmacológicos para verificar su efectividad, han mostrado tener propiedades terapéuticas gracias a ciertos compuestos llamados metabolitos secundarios o productos naturales (Murphy, 1999).

### **Metabolitos secundarios y sus funciones.**

Los metabolitos secundarios son compuestos que no son necesarios en el metabolismo básico, sin embargo, son sustancias ecológicamente eficaces, ya que tienen diversas funciones entre la planta y su medio ambiente, cabe mencionar que juegan un papel importante en la selección natural ya que al contener las plantas estos compuestos las puede hacer más competentes ante otras plantas y poder sobrevivir mejor (Croteau et al., 2000 y Strasburger et al., 2002).

Un gran número de metabolitos secundarios han sido identificados y exceden a más de 100,000 desde compuestos libres de nitrógeno (terpenos, saponinas, poliacetilinas) y productos con nitrógeno: alcaloides, aminas, glicosidos cianogénicos, aminoácidos no proteínicos glucosilados o no glucosilados (Verpoorte, 1998).

Los metabolitos secundarios actúan como defensa ante depredadores (moluscos, artrópodos y vertebrados) y patógenos (hongos, bacterias y virus); por ejemplo los polímeros de celulosa actúan como una armadura en presencia de hongos, bacterias o virus inhibiendo de esta manera su crecimiento. Estos compuestos de defensa incluyen alcaloides, y proteínas, conteniendo glucoproteínas en la pared celular que causan repelencia y toxicidad (Wink, 1999). Así mismo, tienen acción alelopática, que se da cuando una planta compite con otra por nutrientes del suelo, dióxido de carbono o luz solar. Los compuestos alelopáticos son cadenas cortas de ácido fático, aceites esenciales y derivados de cumarinas. Compuestos como monoterpenos con fragancia, antocianinas y carotenoides atraen insectos polinizadores. Los productos naturales además sirven como atraentes de simbiontes, porque no todas las plantas son capaces de obtener por sí solas sus nutrientes, por lo tanto necesitan de bacterias y hongos algunas veces para poder absorberlos, aquí los compuestos responsables son los flavonoides (Kaufman et al., 1999).

### **Investigaciones farmacológicas**

Las plantas medicinales es una fuente importante para la salud humana, han sido empleadas en diferentes formas como: infusiones, aceites esenciales, extractos, y/o como compuestos químicos definidos como principios activos, estas preparaciones fitofarmacéuticas son muy populares en países con fuertes tradiciones en el uso de plantas medicinales (Hamburger y Hostettmann, 1991).

Se han hecho investigaciones de varias plantas que tienen propiedades hipolipídicas, anticoagulantes, antitumorales o para estimular el sistema inmune, estas propiedades se atribuyen a la presencia de compuestos como: flavonoides, terpenoides, ligninas, polifenoles, carotenoides, cumarinas, saponinas, curcuminas (Winston, 1999).

Aproximadamente un 60% de la población mundial ha usado plantas con fines medicinales, lo que indica que los productos naturales son reconocidos como un recurso de importancia terapéutica. Cabe mencionar que entre 1983 y 1994 de 520 nuevos compuestos químicos, el

39% son productos naturales y de estos últimos el 60-80% son antibacterianos y drogas anticancerígenas (Harvey, 2000).

### **Antimicrobianos de origen vegetal**

Los antimicrobianos de origen vegetal, son divididos en diferentes categorías: compuestos fenólicos (fenoles simples, fenoles ácidos, quinonas, flavonoides, flavonas, taninos, cumarinas), terpenoides, aceites esenciales, alcaloides, lectinas, polipéptidos y poliacetatos (Murphy, 1999).

Las quinonas son anillos aromáticos conocidos por formar complejos irreversibles con proteínas, inhibiendo sus funciones, por esta razón el efecto antimicrobiano es debido a que actúan a nivel de superficie de la célula microbiana, en donde se exponen adhesinas y enzimas unidas a la membrana, alterando así su función (Murphy, 1999).

Las flavonas son conocidas principalmente por ser sintetizadas en respuesta a infecciones microbianas, su actividad se debe a la habilidad de formar complejos extracelulares y los flavonoides lipofílicos rompen las membranas microbianas e inactivan enzimas (Murphy, 1999).

Los taninos son un grupo de sustancias fenólicas poliméricas, capaces de precipitar gelatina en solución. Son conocidos por su propiedad astringente, tienen actividades fisiológicas como la estimulación de células fagocíticas, actividades antitumorales, acciones antibacterianas. Su modo de acción antimicrobiana se debe a que probablemente actúen contra adhesinas, enzimas y proteínas de transporte en la envoltura celular de la bacteria (Murphy, 1999).

Las cumarinas son sustancias fenólicas hechas por la fusión de benceno y anillos alfa pirona; su efecto antimicrobiano se debe a que interactúan con el DNA eucariótico (Murphy, 1999).

Los alcaloides son compuestos heterocíclicos nitrogenados, su efectividad contra microorganismos se debe a su habilidad de intercalamiento con el DNA del microorganismo (Murphy, 1999).

El mecanismo de acción de las lectinas y péptidos, radica en la formación de canales iónicos en la membrana microbiana o por la inhibición competitiva de adhesión de proteína microbiana a los receptores polisacáridos del huésped (Murphy, 1999).

Los terpenos son compuestos basados en la estructura del isopreno, el mecanismo de acción se debe a que las bacterias son lisadas por los compuestos lipofílicos, aumentando así la hidrofiliidad de diterpenoides por la adición de un grupo metil; dejando salir los constituyentes intracelulares vitales o deteriorando los sistemas enzimáticos (Kabara, 1981; Murphy, 1999).

### **Aceites esenciales y terpenos.**

Los aceites esenciales son mezclas de hidrocarburos alicíclicos y aromáticos; alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, sustancias azufradas y nitrogenadas; son líquidos a temperatura ambiente, incoloros y generalmente su densidad es inferior al agua, son liposolubles. Se pueden encontrar en todos los órganos vegetales como en flores, hojas, raíces, rizomas, leños, cortezas, frutos o semillas. Los aceites son extraídos por calentamiento o arrastre con vapor. La composición de una esencia puede variar en cuanto a la época de recolección, zona geográfica o pequeños cambios genéticos. Su función es la de atraer insectos polenóforos. Además, sirven como medio de defensa ante microorganismos y herbívoros y para regular la transpiración. Generalmente son empleados como fragancias en perfumería y en aromaterapia (Bruneton, 1991; Domínguez, 1973). Así mismo, los aceites derivados de plantas se usan como saborizantes en comidas y en bebidas alcohólicas (Helander et al., 1998). El interés por estos compuestos ha crecido por su utilidad comercial en la

fabricación de perfumes y saborizantes. Pueden ser también antibacterianos, antifúngicos y anticancerígenos (Dey y Harborne, 1991; Croteau et al., 2000).

Los terpenos son los compuestos más frecuentes en los aceites esenciales, derivan biogenéticamente del ácido mevalónico y se clasifican en monoterpenos, (que consisten en dos unidades de isopreno  $C_{10}$ ), en sesquiterpenos ( $C_{15}$ ), diterpenos ( $C_{20}$ ), triterpenos ( $C_{30}$ ) (Dey y Harborne, 1991).

Los monoterpenos son la clase más simple de isoprenoides, estos compuestos tienen 38 o más tipos de esqueleto, pueden subdividirse en tres clases, según posean o no anillos: acíclicos, monocíclicos y bicíclicos (Croteau et al., 2000).

Los sesquiterpenos son producidos en los compartimentos del retículo endoplasmático o en el citosol de la célula. Tienen propiedades que evitan que las plantas sean comidas por algunos organismos, actúan como fitoalexinas, también son sustancias antimicrobianas producidas en respuesta a ataques de hongos, bacterias o virus. Por ejemplo el cadineno, es un compuesto con actividad antibacteriana en especial contra bacterias Gram-positivas. Se conocen más de 100 esqueletos, las estructuras derivan de la unión de tres unidades de isopreno y se forman por la condensación de isopentenil pirofosfato con 3, 3-dimetil pirofosfato de geranilo, una cuarta adición de una molécula de isopentenil pirofosfato forma 2E, 6E- farnesil pirofosfato que tienen 15 átomos de carbono que son la característica de sesquiterpenos (Dey y Harborne, 1991; Croteau et al., 2000).

Los Diterpenos cuentan con 20 carbonos (4 unidades de 5 carbonos), son una familia de isoprenoides derivados de 2E, 6E, 10E- pirofosfato de geranilo, tienen una vasta actividad biológica. Por ejemplo inhiben el crecimiento de otras plantas, también actúan como insecticidas, inhiben tumores y funcionan como antibióticos (Dey y Harborne, 1991; Croteau et al., 2000).

Los Triterpenos contienen 30 átomos de carbono, son un grupo diverso de productos derivados del escualeno, se han aislado cerca de 4 000 triterpenoides y se conocen más de



40 esqueletos (Dey y Harborne, 1991; Croteau et al., 2000). Las bacterias Gram-negativas muestran más resistencia que las Gram-positivas ante estos compuestos, uno de los efectos antagonistas de ácidos grasos y aceites esenciales se debe a que su pared celular tiene polisacáridos (Kabara, 1981).

### **Propiedades farmacológicas de los aceites esenciales.**

Entre las propiedades farmacológicas de los aceites esenciales, está el de ser antisépticos contra bacterias patógenas, además de que algunos aceites muestran actividad frente a hongos inferiores como *Candida* y los compuestos más activos contra ellos son citral, geraniol, linalol o timol (Bruneton, 1991).

Los aceites tienen propiedad anestésica para problemas musculares, por ejemplo la esencia de trementina aumenta la microcirculación, calor, ligera acción anestésica local, que son destinados para aliviar esguinces y otros problemas de articulaciones o musculares, a través de pomadas, cremas o geles a base de aceites esenciales. Los aceites por vía interna, pueden producir vasodilatación a nivel renal dando un efecto diurético como ejemplo el enebro. Los aceites esenciales con anetol disminuyen o eliminan los espasmos gastrointestinales (Bruneton, 1991).

Tanto las bacterias Gram-positivas como las Gram-negativas son susceptibles a los aceites esenciales, su actividad antibacteriana se atribuye a la presencia de algunos constituyentes volátiles. Se sabe que los extremos lipofílicos de los ácidos lipoteicoicos de la membrana celular de las bacterias, facilitan la penetración por compuestos hidrofóbicos facilitando la salida de constituyentes intracelulares vitales, también pueden deteriorar sistemas enzimáticos bacterianos que se encargan de la producción de energía celular y síntesis de componentes estructurales o la destrucción o inactividad de material genético (Frag et al., 1989).

Nombre de archivo: A3  
Directorio: C:\Mis documentos\TESIS\OLYBIA\DOC  
Plantilla: C:\WINDOWS\Application  
Data\Microsoft\Plantillas\Normal.dot  
Título: Composición y actividad antimicrobiana del aceite esencial  
de Cordia curassavica (Jacq) Roemer & Schultes: Boraginaceae (Barre  
Asunto:  
Autor: BASE  
Palabras clave:  
Comentarios:  
Fecha de creación: 11/01/06 02:59 P.M.  
Cambio número: 1  
Guardado el: 11/01/06 02:59 P.M.  
Guardado por: BASE  
Tiempo de edición: 0 minutos  
Impreso el: 11/01/06 06:19 P.M.  
Última impresión completa  
Número de páginas: 9  
Número de palabras: 2,390 (aprox.)  
Número de caracteres: 13,626 (aprox.)

## ANTECEDENTES

Al género *Cordia* se le han realizado diversos estudios, en el siguiente cuadro se muestran algunos ejemplos recientes.

**Cuadro 1. Estudios realizados para el género de *Cordia*.**

Autores	País	Especie	Parte utilizada	Estudios
Aguilar et al., 1994	México	<i>C. curassavica</i>	Flores, hojas	En un estudio etnobotánico reportan que es utilizada para padecimientos como el tabardillo o Tifus exantemática producida por la bacteria <i>Rickettsia prowaseki</i> transmitida por los piojos del cuerpo, se caracteriza por fiebre y manchas de color rojizo, se recomienda que la vía de administración sea externa.
Nakamura et al., 1997	Panamá	<i>C. spinescens</i> L.	Hojas	Aislaron dos nuevos triterpenos 3 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,25-trihidroxi20(S), 24(S)-epoxidamarano y 3 $\alpha$ -acetoxi-6 $\beta$ ,25 dihidroxi-20(S),24(S)-epoxidamarano.
Ioset et al., 1998	Panamá,	<i>C. linnaei</i> Stearn	Raíz	Aislaron tres nuevos meroterpenoides Cordiaquinona b y un nuevo naftoxireno fueron aislados, El extracto diclorometano fue activo contra <i>Cladosporium cucumerinum</i> , <i>Candida albicans</i> , y la larva de <i>Aedes aegypti</i>
Chariandy et al., 1999	Trinidad y Tobago	<i>C. curassavica</i>	Flores	El extracto de acetato de etilo presentó actividad contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> .

Lans et al., 2000	Trinidad y Tobago	<i>C. curassavica</i>	Hojas	Reportan que es utilizada como tratamiento para problemas de pelaje en perros y problemas de la piel debido a que contiene finos aceites; las hojas son pulverizadas y mezcladas con agua y esta solución es utilizada para bañar al animal, los residuos de las hojas se usan para restregar al animal dejándoles un brillante pelaje.
Ioset et al., 2000	Panamá	<i>C. curassavica</i>	Raíz	Aislaron dos meroterpenoides naftoquinonas (J y K) que demostraron actividad antifúngica contra <i>Cladosporium cucumerium</i> , <i>Candida albicans</i> y contra las larvas de <i>Aedes aegypti</i> .
Bayeux et al., 2002	Brasil	<i>C. curassavica</i>	Tallos y hojas	Aislaron el flavonoide artemetina por medio de maceración con éter de petróleo, diclorometano, y etanol, el extracto de diclorometano mostró significativa actividad antiedematogénica, reduciendo el edema de un 42, 57 a 45%.
Hernández et al., 2003	México	<i>C. curassavica</i>	Partes aéreas	Es utilizada en la medicina tradicional de Zapotitlán Salinas para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales, el extracto hexánico presentó actividad antibacteriana frente a trece cepas bacterianas.
Carvalho et al. 2004	Brasil	<i>C. verbenaceae</i> D.C	Partes aéreas	Los componentes mayoritarios del aceite esencial, son $\alpha$ -pineno y transcariofileno, el aceite fue activo principalmente contra bacterias Gram positivas y levaduras.

## **JUSTIFICACIÓN**

Sin duda alguna, las especies de plantas medicinales han sido una alternativa para la salud del ser humano, para aliviar diversas enfermedades, desde gastrointestinales hasta cancer. Sin embargo, la efectividad de muchas de estas plantas no han sido comprobadas, debido a lo anterior surge la necesidad de conocer alguno de los componentes responsables de la actividad antimicrobiana que se encuentran presentes en el aceite esencial de *C. curassavica* ya que en México sólo se cuenta con el antecedente de Hernández y colaboradores (2003). De esta manera el presente estudio tiene como fin contribuir al conocimiento de las propiedades medicinales del aceite esencial de *C. curassavica*.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general:**

- ζ Determinar la composición y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *C. curassavica* (Jacq) Roemer & Schultes: Boraginaceae (Barredor).

### **Objetivos particulares:**

- ζ Identificar los componentes principales del aceite esencial de *C. curassavica*.
- ζ Evaluar la actividad antimicrobiana (antibacteriana y antifúngica) del aceite esencial.
- ζ Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), Concentración Bactericida Mínima (CBM), Concentración Fungicida Mínima (CFM) y Concentración Fungicida Media (CF50).

## DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA

- Reino** Plantae  
**Phyllum** Magnoliophyta  
**Clase** Magnoliopsida  
**Orden** Labiales  
**Familia** Boraginaceae  
**Género** *Cordia*  
**Especie** *Cordia curassavica* (Jacq) R. et Schult.

**Nombre común:** En Chiapas, Guerrero y Oaxaca: barredor, varita prieta, chibaroba, chova roba, xobaroba (Argueta, 1994), en Panamá sabio negro, en Puebla barredor (Hernández et al., 2003)

**Hábito:** arbusto

### **Género *Cordia***

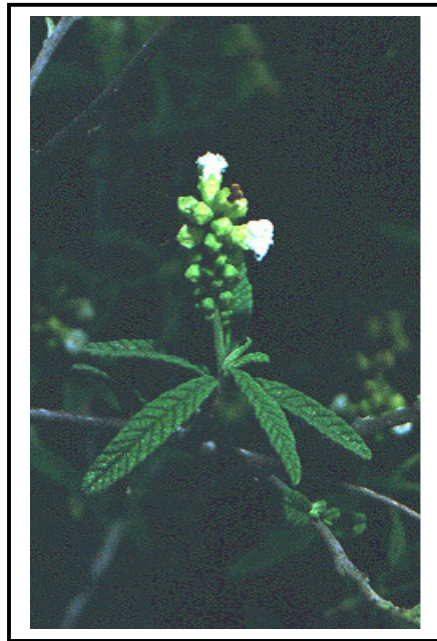
Está constituido por árboles y arbustos, monoicos; a veces dioicos, con pubescencia áspera, pelos simples, estrellados o ramificados. Las hojas son alternas, pecioladas, lámina con margen entero o dentado. Las inflorescencias son cimosas, paniculadas, espigadas o capitadas. Las flores son pequeñas o grandes, sésiles o pediceladas; el cáliz es tubular a campanulado, surcado estriado o liso, de 2-5 lóbulos. La corola generalmente es blanca, algunas veces anaranjada o amarilla, infundibuliforme, salveforme o campanulada. Los lóbulos generalmente son cinco; con estambres del mismo número que los lóbulos de la corola, filamentos insertos en tubo de la corola, anteras ovadas, oblongas o lineares; ovarios cuatro locular, óvulos erectos. Con frutos drupáceos, con cuatro o menos lóbulos; con una semilla, sin endospermo (Argueta, 1994).

### ***Cordia curassavica* (Jacq) Roemer & Schultes.**

Es conocida como orégano cimarrón, xopche o barredor en Puebla, catish, varita prieta en Oaxaca. Es de hábito arbustivo erecto que crece hasta tres metros de altura. Las ramas jóvenes son resinoso-glandulares o esparcidas o densamente hispíduladas, cortamente hirsutas o estrigosas. Con hojas subsésiles o cortamente pecioladas. La lámina es gruesa o delgada,

lanceolada a oblongo-ovada o angostamente elíptica y oblanceolada, de 3-12 cm de largo, generalmente de 1-3 cm. de ancho. El haz piloso o hirsuto, a menudo escabroso, algunas veces papiloso y sin pelos, el envés es pálido, puberulento algunas veces glanduloso, con nervios conspicuos y márgenes aserrados o dentados, algunas veces enteros, ápice agudo acuminado, con base cuneada o atenuada en el pecíolo; los pecíolos miden hasta de 8 mm de largo. Con Inflorescencia terminal, espigada de 3 – 10 cm. de largo; las flores son densas o discontinuas. El cáliz es campanulado de 2 – 3.5 cm. de largo, granuloso y estriguloso con pelos extendidos; la corola es blanca o blanco verdusco, de 3.5 – 6 cm. de largo, los lóbulos de 1 – 1.5 mm de largo, ampliamente redondeados y reflejos, o situados de forma irregular; estambres aproximadamente igualando o sobrepasando las hendiduras de la corola, con filamentos cortos, glabros, insertos por arriba del anillo de pelos en la garganta de la corola. Los frutos son rojos, ampliamente ovoides, de 4 – 5 mm de largo, parcialmente envueltos en el cáliz acrecente (Argueta, 1994) (Figura 1).

*C. curassavica* se distribuye desde el Sur de México hasta Panamá, América del Sur, y las Antillas. Es originario de América austral y está presente en clima cálido a los 297 msnm. Crece asociado a vegetación perturbada de bosque tropical subperenifolio.



**Figura 1. *Cordia curassavica* (Jacq) Roemer & Schultes.**

[www.heart.org/.../Cordia\\_curassavica.htm](http://www.heart.org/.../Cordia_curassavica.htm)



En los estados de Puebla, Oaxaca y Tlaxcala, la parte más utilizada de *C. curassavica* son las hojas, que se preparan en formas diferentes desde machacadas y diluidas en agua para dar baños para bajar la temperatura, en caso de hemorragias y tratamiento del sarampión; preparadas en cocimiento y administrado por vía oral en casos de inflamación del intestino, también es utilizada para reestablecer la regla atrasada (Argueta, 1994)( Figura 2).

En un estudio previo de Hernández et al., 2003, reportan que *C. curassavica* es una de las ocho especies con mayor importancia relativa y con actividad antibacteriana, la planta es utilizada para tratar enfermedades gastrointestinales en Zapotitlán Salinas Puebla.



**Figura 2.** Estados en donde *Cordia curassavica* es utilizada para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales y de la piel (Oaxaca, Puebla, Tlaxcala).

## ZONA DE COLECTA

La planta fue colectada en Zapotitlán Salinas, Puebla en Septiembre de 2004. Las coordenadas geográficas de Zapotitlán son los paralelos  $18^{\circ} 07' 18''$  y  $18^{\circ} 26' 00''$  de latitud norte, los meridianos  $97^{\circ} 19' 24''$  y  $97^{\circ} 39' 06''$  de longitud occidental y tiene una superficie de  $484.77 \text{ Km}^2$  (Figura 3). Forma parte del Valle de Tehuacán, este último localizado en la región sureste del Estado de Puebla y colindando al sur con el Estado de Oaxaca. El Valle limita con la Sierra Madre Oriental, Sierra Zonogónica (Estado de Veracruz) y Tecamachalco, al noroeste con el cerro de Tlacotepec y al suroeste con la Sierra de Zapotitlán y la Sierra Mixteca (Dávila et al., 2002).

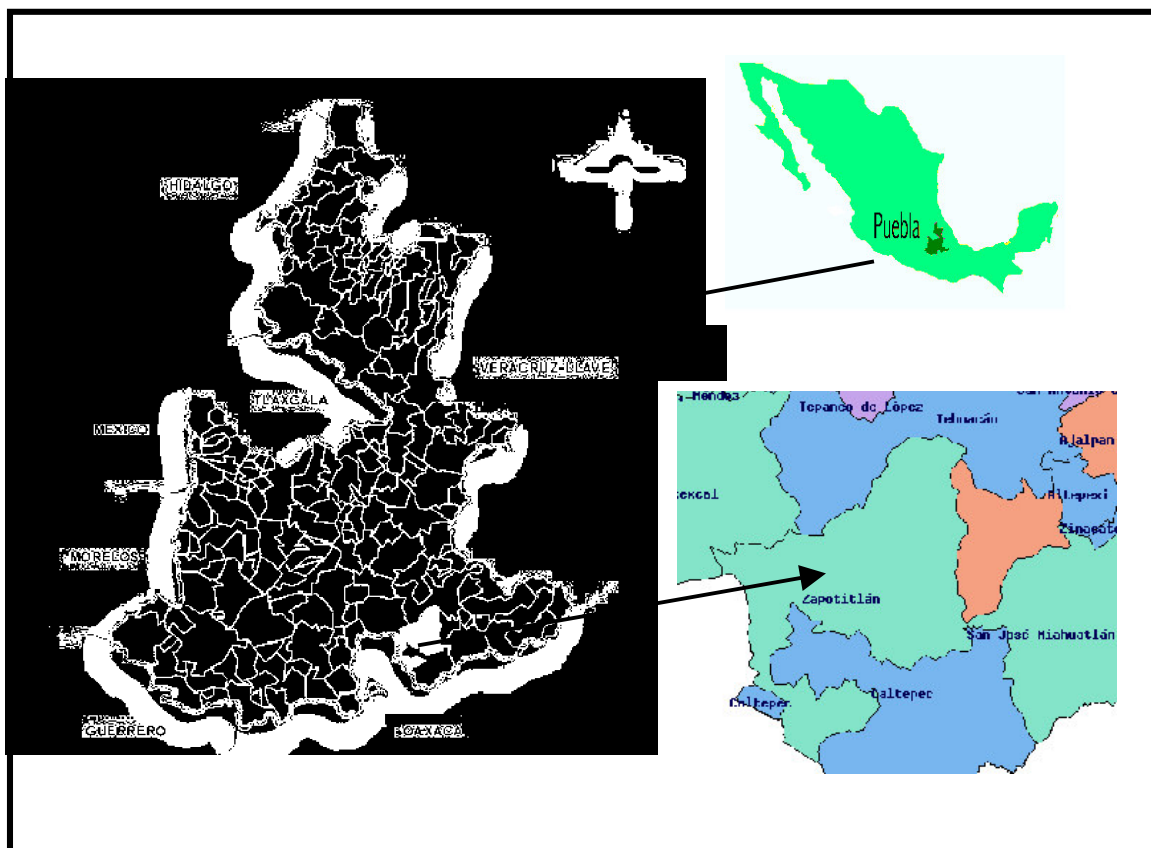


Figura 3. Ubicación geográfica de Zapotitlán Salinas, Puebla.

## **Vegetación**

Se encuentran algunas comunidades propias de climas áridos y semiáridos de Norteamérica, además de presentar una gran influencia de flora tropical del sur (Dávila et al., 1990), por esta combinación se encuentra un total de 2621 especies de plantas vasculares, presentándose un gran valor de endemismo (Dávila et al., 2002). En la zona de estudio se encuentran principalmente tres tipos de vegetación de acuerdo a Rzedowski (1978): Matorral xerófilo, bosque espinoso y bosque tropical caducifolio.

El bosque espinoso en Zapotitlán presenta asociaciones típicas de arbustos espinosos de la familia Leguminosae; en la que destaca la presencia de *Prosopis laevigata* (Willd.) M. C. Johnst (mezquite), *Eysenhardtia polystachya* (Ortega) Sarg. (palo dulce), *Mimosa luisiana* Pegoraro (Ita) Michela, entre otras. Esta comunidad predomina principalmente en terrenos planos poco pedregosos (Zavala, 1982).

El matorral xerófilo, es la comunidad más extendida en la región y constituye varias asociaciones de porte arbustivo característico de zonas áridas y semiáridas. En esta comunidad se encuentran principalmente tetecheras y cardonales (Miranda, 1948; Zavala, 1982; Osorio-Beristain et al., 1996).

## **Datos Socioeconómicos**

La población de Zapotitlán Salinas se estimó en 8900 habitantes en el 2000, siendo 4145 hombres y 4755 mujeres (INEGI, 2000). La ocupación de la gente está dividida en varias actividades como la agricultura, recolección de leña, artesanos en talleres de ónix, extracción de sal, trabajos de albañilería y en los últimos años, la industria textil se ha desarrollado en la comunidad, existen alrededor de 5 fábricas en el pueblo.

## **Datos Etnográficos**

El grupo humano predominante en Zapotitlán Salinas son mestizos descendientes de Popolocas (INEGI, 2000).



Nombre de archivo: A4  
Directorio: C:\Mis documentos\TESIS\OLYBIA\DOC  
Plantilla: C:\WINDOWS\Application  
Data\Microsoft\Plantillas\Normal.dot  
Título: ANTECEDENTES  
Asunto:  
Autor: BASE  
Palabras clave:  
Comentarios:  
Fecha de creación: 11/01/06 03:09 P.M.  
Cambio número: 1  
Guardado el: 11/01/06 03:09 P.M.  
Guardado por: BASE  
Tiempo de edición: 0 minutos  
Impreso el: 11/01/06 06:19 P.M.  
Última impresión completa  
Número de páginas: 10  
Número de palabras: 1,546 (aprox.)  
Número de caracteres: 8,816 (aprox.)

## RESULTADOS Y ANÁLISIS.

### Colecta de la planta.

La planta *C. curassavica* (Barredor), fue colectada durante el mes de Septiembre del 2004, en la localidad de Zapotitlán Salinas Puebla. Los datos generales se muestran en el siguiente cuadro.

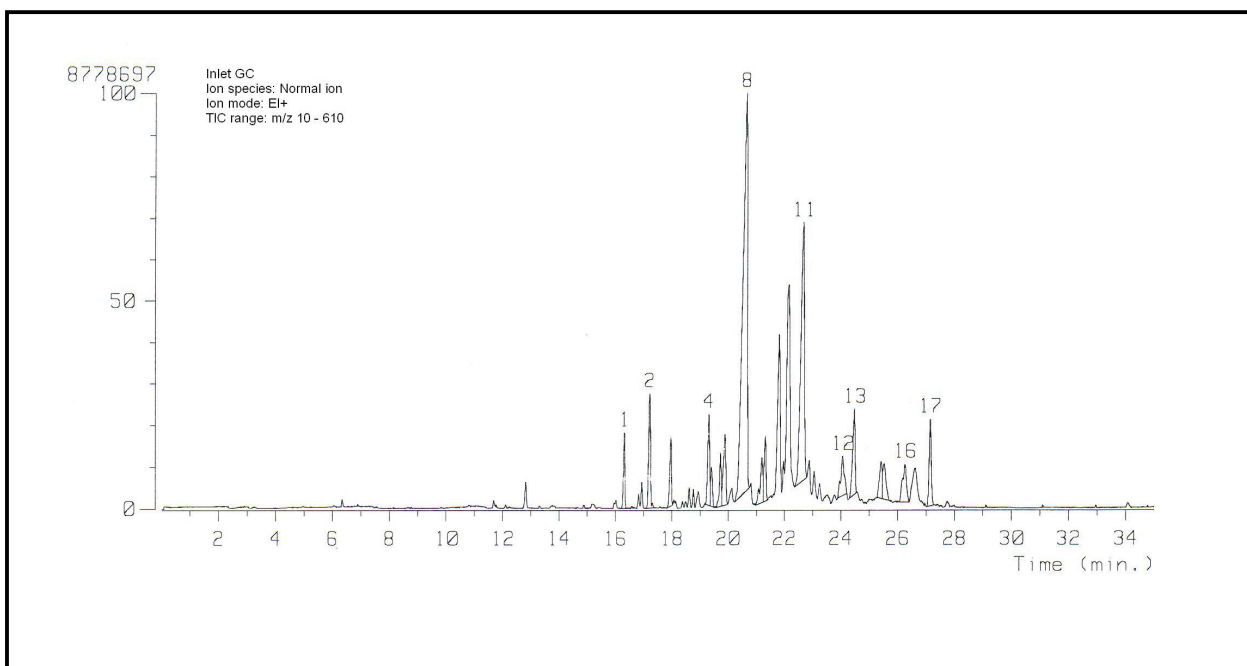
### Cuadro2. Datos etnobotánicos de la especie

Nombre científico:	<i>Cordia curassavica</i>
Nombre común	Barredor
Número de colecta	15862
Parte utilizada	Parte aérea
Forma de uso	Infusión
Colector	O. Téllez et al.

### Extracción y composición del aceite esencial.

El rendimiento obtenido a partir de la extracción del aceite esencial de *C. curassavica* fue del 0.4091%. El aceite mostró una densidad de 0.98gr/ml.

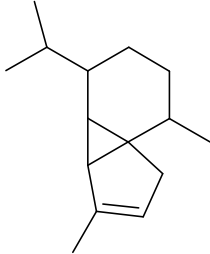
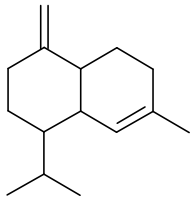
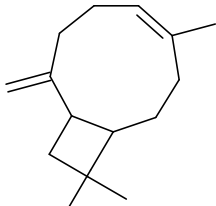
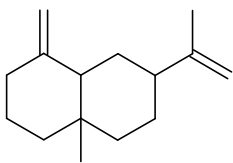
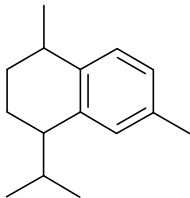
Mediante cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas (Figura 4 y Cuadro 3) se observan 17 picos, de los cuales por el tiempo de retención y por sus patrones de fragmentación se identificaron 12 compuestos; el 83.33% de los compuestos son sesquiterpenos, constituyendo así los compuestos principales del aceite esencial de *C. curassavica*.



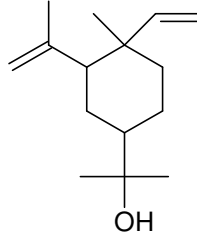
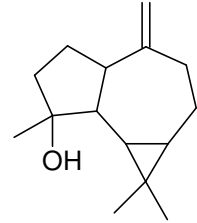
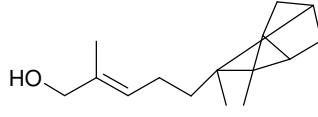
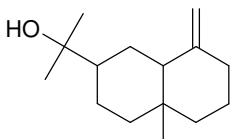
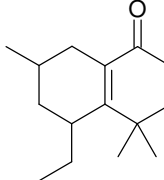
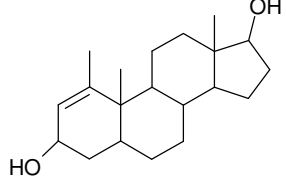
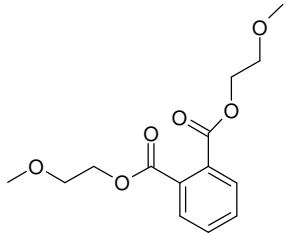
**Figura 4. Cromatograma del aceite esencial de *C. curassavica*.**

De los compuestos sesquiterpénicos, el compuesto principal es 4-metil, 4-etenil-3-(1-metil etenil)1-(1-metil metanol) ciclohexano con un 37.34%, seguido de  $\beta$ -eudesmol (19.21 %), espatulenol (11.25 %) y candina 4 (5)10 (4) dieno (7.93%) (Apéndice VI).

**Cuadro 3. Composición porcentual del aceite esencial de *C. curassavica*.**

Compuesto	TR	%	Fórmula	Estructura	PM
4-isopropil-3,7-dimetil-3 <sup>a</sup> ,3 <sup>b</sup> ,4,5,6,7-hexahidro-1-H-ciclopenten [1,3] ciclopropa [1,2] benceno	16.32	2.22	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>		204
Candina 4(5) 10(14) dieno	17.22	7.93	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>		204
Isocariofileno	17.97	2.39	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>		204
Selineno	19.32	3.79	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>		204
Calameneno	19.88	3.72	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>		202



4-metil,4-etenil-3-(1-metil etenil)1-(1-metil metanol) ciclohexano	20.66	37.34	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O		222
Espatulenol	21.19	11.25	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O		220
5-(2,3-dimetiltriciclo 2.2.1.02, 6 hept-3-y1)-2-metil-2-penten-1-ol.	21.32	2.48	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O		220
β-eudesmol	22.67	19.21	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O		222
Hexahidro-2,5,5-trimetil-2H-2,4a-etanonaftalen-8(5H)-ona	24.05	2.90	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O		220
1-metil-, (3.βeta., 5.alfa.,17.βeta.)-androst-1-ene-3,17-diol	26.25	3.05	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>		304
Bis(2-metoxietil) ftalato	27.14	3.72	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>		282

**TR:** Tiempo de retención. **PM:** Peso molecular (Apéndice VI).  
Con un 95% de probabilidad.

## Evaluación de la actividad antibacteriana

### Evaluación cualitativa.

Los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *C. curassavica* se muestran en el cuadro 4.

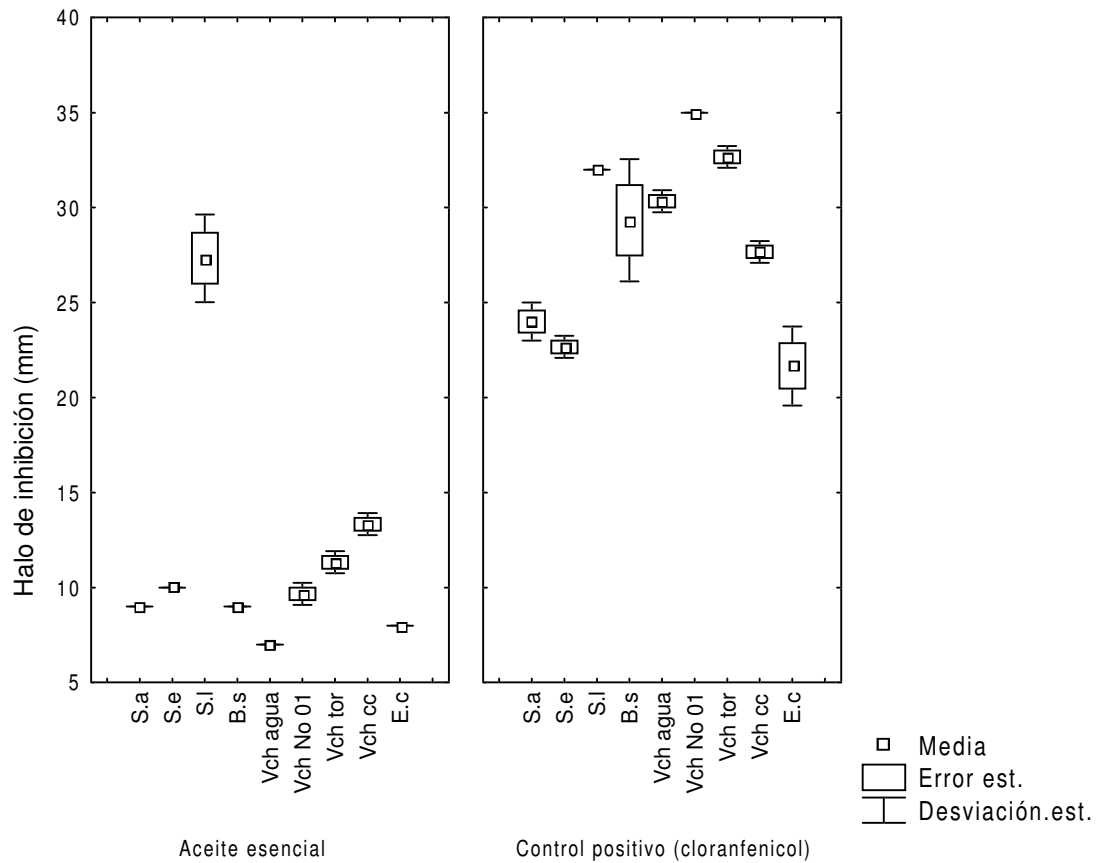
**Cuadro 4. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *C. curassavica*.**

Bacteria	Halos de inhibición (mm)	
	Cloramfenicol	Aceite esencial
S. a.	24.00 ± 0.82	9.00 ± 0.50
S. e.	22.67 ± 0.47	10.00 ± 0.50
S. l.	32.00 ± 0.50	27.33 ± 1.89
B. s.	29.33 ± 2.62	9.00 ± 0.50
S. t.	28.00 ± 1.63	Na
Y. e.	25.67 ± 0.47	Na
Vch agua	30.33 ± 0.47	7.00 ± 0.50
Vch No 01	35.00 ± 0.50	9.67 ± 0.47
Vch. Tor	32.67 ± 0.47	11.33 ± 0.47
Vch. cc	27.67 ± 0.47	13.33 ± 0.47
E. ag.	19.67 ± 0.47	Na
E. ae.	19.33 ± 0.47	Na
E. c.	21.67 ± 1.70	8.00 ± 0.50

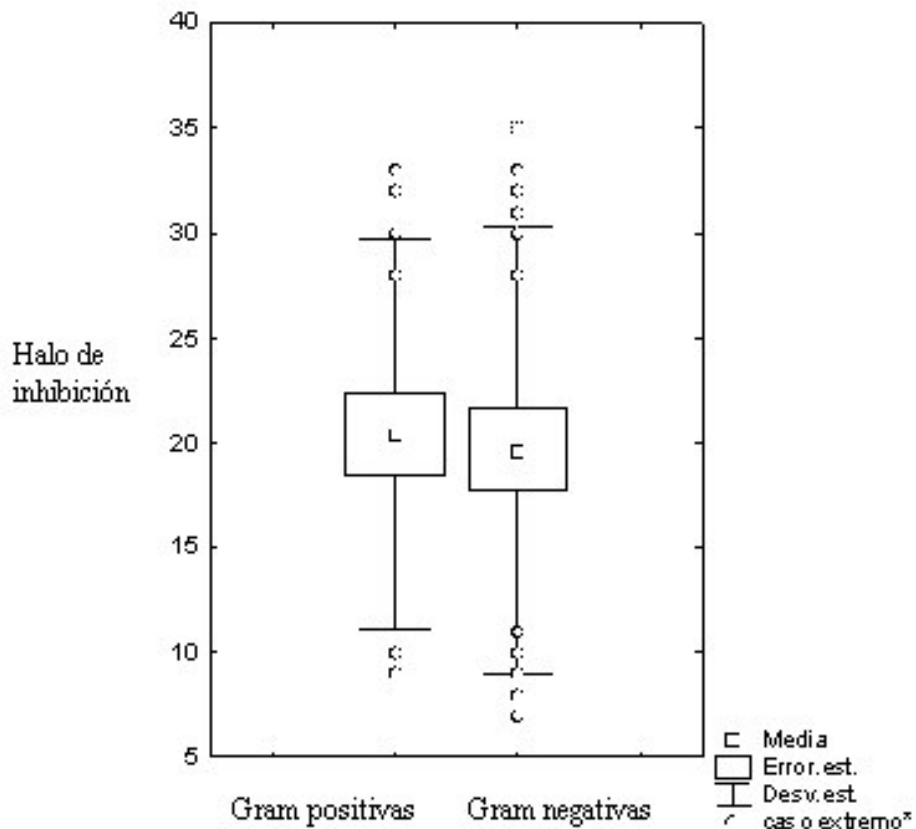
Halos de inhibición en mm. Cada bioensayo se realizó por triplicado. (Para el aceite esencial se utilizaron 5 µl por disco. El control positivo consistió en

sensidiscos de cloramfenicol 25 µg). Simbología: S.a. *Staphylococcus aureus*; S.e. *Staphylococcus epidermidis*; B.s. *Bacillus subtilis*; S.l. *Sarcina lutea*; V.ch. No-01. *Vibrio cholerae*; V.ch.cc *Vibrio cholerae* aislada de un caso clínico; V.ch.agua. *Vibrio cholerae* aislada de agua y V.ch.Tor. *Vibrio cholerae* CDC V12. E.c. *Escherichia coli*, E.ag. *Enterobacter agglomerans*, E.ae. *Enterobacter aerogenes* Y.e. *Yersinia enterocolitica* y S.t. *Salmonella typhi*. Na. no presentó actividad.

El aceite esencial presentó actividad en nueve de las trece cepas experimentadas, la cepa más sensible al aceite esencial fue *Sarcina lutea* (Gram-positiva), seguida de *Vibrio cholerae* (Gram-negativa) aislada de un caso clínico (Figura 5). Se encontraron diferencias significativas entre el efecto del aceite y las cepas bacterianas ( $F= 2918.63$ ,  $P< 0.001$ ), esto quiere decir que la actividad del aceite depende de la especie de bacteria en particular.



**Figura 5. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *C. curassavica*.**



**Figura 6. Actividad antibacteriana (media) del aceite esencial de *C. curassavica* sobre bacterias Gram positivas y Gram negativas.**

En la figura 6 se puede observar que tanto bacterias Gram-positivas como Gram-negativas son sensibles al efecto antibacteriano del aceite esencial de *C. curassavica*. Se observa que no existen diferencias significativas entre estas ( $F= 0.0740$ ,  $P < 0.786642$ ).

#### **Evaluación cuantitativa.**

Los resultados de la determinación de la CMI y CMB se muestran en el cuadro 5. Las cepas *S. lutea* y *V. cholerae* (caso clínico) son las bacterias más sensibles es decir; se requieren concentraciones de 0.062 mg/ml de aceite esencial para inhibir su crecimiento. Las cepas

más resistentes al efecto del aceite fueron *V. cholerae* agua y *E. coli*, ya que se requieren concentraciones mayores de 2.0 mg/ml para inhibir su crecimiento.

**Cuadro 5. Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Bactericida Mínima del aceite esencial de *C. curassavica*.**

Bacteria	Cloramfenicol (mg/ml)		Aceite esencial (mg/ml)	
	CMI	CBM	CMI	CBM
S. a.	0.001	0.002	0.25	0.50
S. e.	0.002	0.004	0.25	0.50
S. l.	0.001	0.002	0.062	0.125
B. s.	0.002	0.004	0.25	0.50
Vch agua	0.001	0.002	2.00	>2.00
Vch No 01	0.001	0.002	0.75	1.00
Vch. Tor	0.001	0.002	1.50	2.00
Vch. cc	0.001	0.002	0.062	0.125
E. c.	0.004	0.006	2.00	>2.00

Cada bioensayo se realizó por triplicado. **Simbología:** S.a. *Staphylococcus aureus*; S.e. *Staphylococcus epidermidis*; B.s. *Bacillus subtilis*; S.l. *Sarcina lutea*; V.ch. No-01. *Vibrio cholerae*; V.ch.cc *Vibrio cholerae* aislada de un caso clínico; V.ch.a. *Vibrio cholerae* aislada de agua y V.ch.Tor. *Vibrio cholerae* CDC V12. E. c. *Escherichia coli*, E. ag. *Enterobacter agglomerans*; E. ae. *Enterobacter aerogenes*; Y. e. *Yersinia enterocolitica* y S. t. *Salmonella. Typhi*.

Para las bacterias *S. typhi*, *Y. enterocolitica*, *E. agglomerans* y *E. aerogenes*, no fue determinada su CMI y CBM, debido a que en la determinación cualitativa, el aceite esencial no mostró actividad contra estas cepas.

### Evaluación de la actividad antifúngica.

El aceite esencial presentó actividad antifúngica en las cinco cepas, los porcentajes de inhibición del crecimiento radial se muestran en el siguiente cuadro:

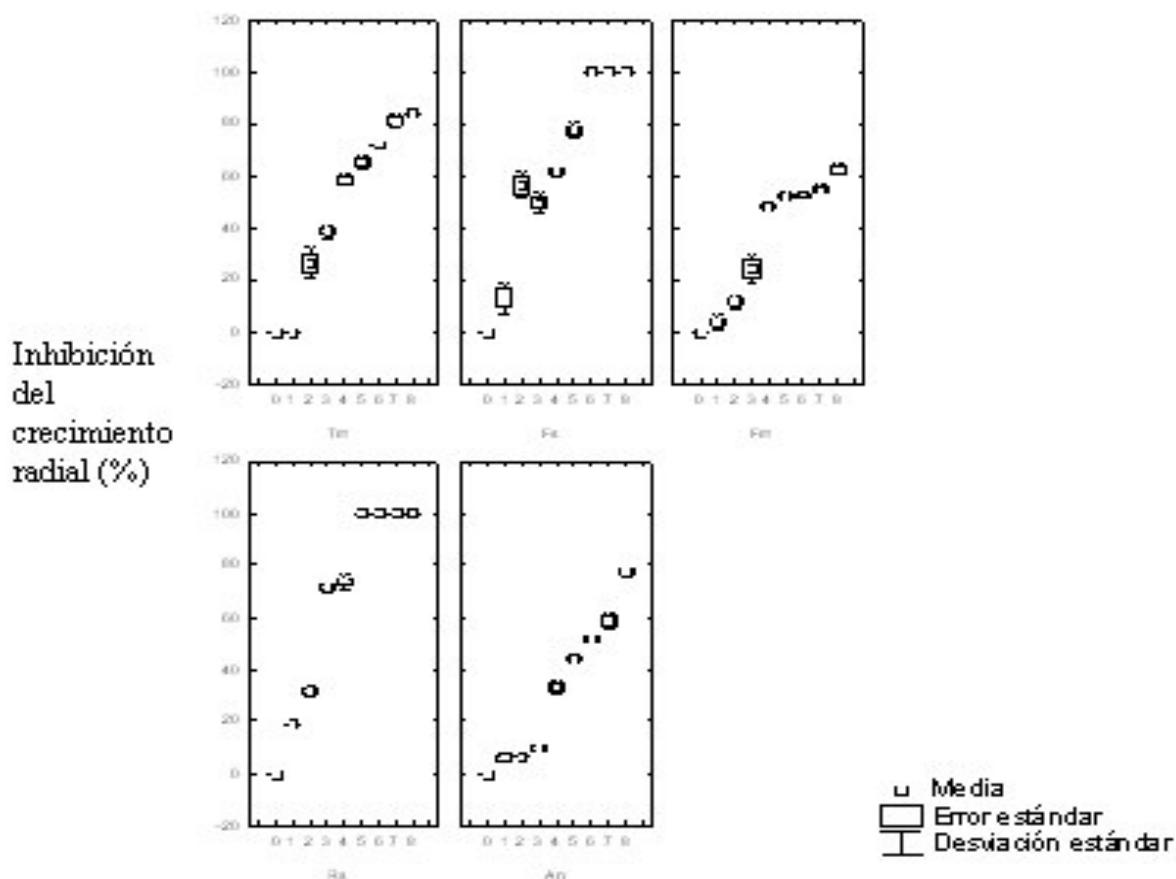
**Cuadro 6. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial del aceite esencial de *C. curassavica*.**

Concentración (mg/ml)	Hongo (%)				
	An	Tm	Fs	Fm	Rs
<b>0.0625</b>	6.2 ± 1.33	0 ± 0.00	13.18 ± 5.85	3.88 ± 2.68	18.61 ± 0.00
<b>0.125</b>	6.27 ± 0.00	26.67 ± 5.85	56.59 ± 5.37	11.63 ± 2.32	31.78 ± 1.33
<b>0.25</b>	10.08 ± 1.33	38.66 ± 2.30	49.61 ± 3.54	24.03 ± 5.85	71.32 ± 1.34
<b>0.50</b>	33.33 ± 2.68	58.67 ± 2.30	62.02 ± 1.34	48.06 ± 1.33	73.65 ± 2.68
<b>0.75</b>	44.96 ± 0.19	65.33 ± 2.30	77.52 ± 2.68	51.94 ± 1.33	100 ± 0.00
<b>1.00</b>	51.94 ± 1.33	72.00 ± 0.00	100 ± 0.00	52.71 ± 1.33	100 ± 0.00
<b>1.50</b>	58.91 ± 2.68	81.33 ± 2.30	100 ± 0.00	55.04 ± 1.34	100 ± 0.00
<b>2.00</b>	77.52 ± 1.33	84.0 ± 0.00	100 ± 0.00	62.79 ± 2.32	100 ± 0.00

Cada bioensayo se realizó por triplicado. **Simbología:** An, *Aspergillus niger*; Tm, *Trichophyton mentagrophytes*; Fs, *Fusarium sporotrichum*; Fm, *Fusarium moniliforme*; Rs, *Rhizoctonia solani*.

Como se puede observar las cepas que presentan un mayor porcentaje de inhibición del crecimiento radial son *R. solani* y *F. sporotrichum* ya que se requieren concentraciones de 0.75 y 1.0mg/ml respectivamente para alcanzar el 100% de inhibición. Para el resto de las cepas, es necesario aplicar una concentración mayor de 2.0 mg/ml de aceite esencial, para

obtener el 100% de inhibición. La cepa más resistente al efecto del aceite fue *F. moniliforme* en donde solo se alcanzó un 62.79% de inhibición (Figura 7).



**Figura 7. Inhibición del crecimiento radial del aceite esencial de *C. curassavica*.**

Cada bioensayo se realizó por triplicado. **Simbología:** An, *Aspergillus niger*; Tm, *Tricophyton mentagrophytes*; Fs, *Fusarium sporotrichum*; Fm, *Fusarium moniliforme*; Rs, *Rhizoctonia solani*. Concentraciones (1=0.0625, 2=0.125, 3=0.25, 4=0.50, 5=0.75, 6=1.00, 7=1.50, 8=2.00mg/ml.)

A los resultados de los porcentajes de inhibición se les aplicó un análisis de varianza de dos factores (concentración de aceite y hongo), para comprobar la presencia de diferencias significativas entre ellos, de acuerdo al análisis si se encontraron diferencias significativas

entre la actividad del aceite y los distintos hongos ( $F= 1114.49$ ,  $P < 0.001$ ), esto quiere decir que el efecto del aceite depende de la especie de hongo.

**Cuadro 7. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial del Ketoconazol (Control positivo)**

Concentración ( $\mu\text{g/ml}$ )	Hongo (% de inhibición)			
	Tm	Fs	Fm	Rs
0	$0 \pm 0.00$	$0 \pm 0.00$	$0 \pm 0.00$	$0 \pm 0.00$
0.05	$34.57 \pm 6.11$	$47.62 \pm 1.65$	$37.21 \pm 2.68$	$29.45 \pm 3.54$
0.10	$51.85 \pm 0.00$	$51.43 \pm 0.00$	$45.74 \pm 2.68$	$41.08 \pm 1.34$
0.20	$59.26 \pm 6.92$	$58.10 \pm 3.29$	$51.16 \pm 0.00$	$45.74 \pm 1.34$
0.40	$81.48 \pm 7.69$	$67.62 \pm 1.65$	$53.49 \pm 0.00$	$55.04 \pm 2.68$
0.80	$100 \pm 0.00$	$70.48 \pm 1.64$	$60.47 \pm 0.00$	$65.12 \pm 0.00$
1.70	$100 \pm 0.00$	$80.00 \pm 0.00$	$65.12 \pm 0.00$	$75.97 \pm 1.34$
3.50	$100 \pm 0.00$	$100 \pm 0.00$	$72.09 \pm 0.00$	$87.60 \pm 1.34$
7.00	$100 \pm 0.00$	$100 \pm 0.00$	$76.74 \pm 2.32$	$100 \pm 0.00$
14.00	$100 \pm 0.00$	$100 \pm 0.00$	$93.02 \pm 12.0$	$100 \pm 0.00$
28.00	$100 \pm 0.00$	$100 \pm 0.00$	$100 \pm 0.00$	$100 \pm 0.00$

**Simbología:** Tm, *Trichophyton mentagrophytes*; Fs, *Fusarium sporotrichum* Fm, *Fusarium moniliforme*; Rs, *Rhizoctonia solani*.



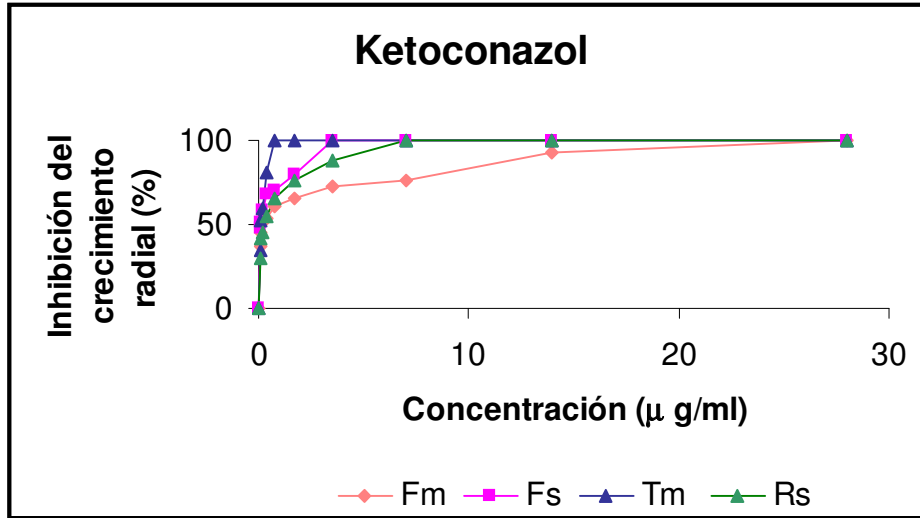
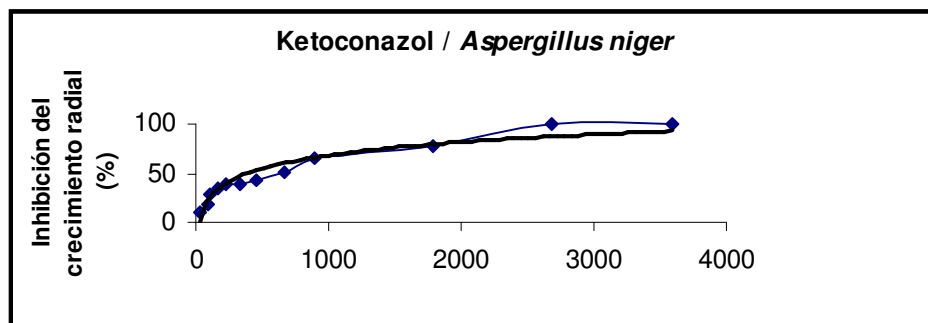


Figura 8. Efecto del ketoconazol sobre la inhibición del crecimiento radial en cuatro cepas de hongos. Simbología: Tm, *Trichophyton mentagrophytes*; Fs, *Fusarium sporotrichum* Fm, *Fusarium moniliforme*; Rs, *Rhizoctonia solani*.

Cuadro 8. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial del Ketoconazol (Control positivo) en *Aspergillus niger*.

Concentración (µg/ml)	<i>Aspergillus niger</i> (% de inhibición)
0	0 ± 0.00
28	10.00 ± 0.00
84	18.60 ± 0.00
112	28.68 ± 2.68
168	34.88 ± 0.00
224	39.53 ± 0.00
336	39.53 ± 0.00
448	41.86 ± 0.00
672	51.16 ± 0.00
896	65.11 ± 0.00
1792	76.74 ± 0.00
2688	100 ± 0.00
3584	100 ± 0.00



## Concentración

**Figura 9. Efecto del ketoconazol sobre la inhibición del crecimiento radial de *A. niger***

Como se puede observar en el cuadro 7 y figura 8, *T. mentanrophytes*, *F. sporotrichum* y *R. solani* son las cepas más sensibles al ketoconazol (control positivo) ya que se necesitan concentraciones de 0.80, 3.50 y 7.00  $\mu\text{g}$  respectivamente, para alcanzar el 100% de inhibición del crecimiento radial. Mientras que *Aspergillus niger* resultó ser la cepa más resistente requiriendo concentraciones de 2.6 mg/ml para alcanzar el 100% de inhibición (Cuadro 8 y Figura. 9).

**Cuadro 9. CF<sub>50</sub>, y CFM del aceite esencial de *Cordia curassavica*.**

Hongos	Ketoconazol		Aceite esencial	
	CF <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )	CFM ( $\mu\text{g/ml}$ )	CF <sub>50</sub> (mg/ml)	CFM (mg/ml)
<b>A. n.</b>	415.1	2688	0.90	> 2.00
<b>T. m.</b>	0.109	0.88	0.41	> 2.00
<b>F. s.</b>	0.094	3.50	0.20	1.00
<b>F. m.</b>	0.240	28.00	0.87	> 2.00
<b>R. s.</b>	0.255	7.00	0.18	0.75

Cada bioensayo se realizó por triplicado. **Simbología:** An, *Aspergillus niger*; Tm, *Trichophyton mentagrophytes*; Fs *Fusarium sporotrichum*; Fm, *Fusarium moniliforme*; Rs, *Rhizoctonia solani*.

Los resultados obtenidos en la determinación de la CF<sub>50</sub> y CFM se muestran en el cuadro 9 y como se puede observar *R. solani* y *F. sporotrichum* son las cepas más sensibles al efecto del aceite esencial, ya que alcanzaron el 50% de inhibición a concentraciones de 0.18 y

0.20 mg/ml respectivamente. *A. niger* fue la cepa más resistente ya que se requieren concentraciones de 0.90 mg/ml para alcanzar el 50% de inhibición.

## **DISCUSIÓN**

### **Actividad antibacteriana.**

La especie *C. curassavica* es utilizada en Zapotitlán Salinas, Puebla para tratar enfermedades gastrointestinales por medio de infusiones. De acuerdo al presente estudio, los resultados muestran que se puede validar el uso de esta planta en la medicina tradicional ya que el aceite esencial presenta actividad antibacteriana en nueve cepas.

El aceite de *C. curassavica*, está compuesto principalmente por sesquiterpenos entre ellos los de mayor proporción son 4-metil, 4-etenil-3-(1-metil etenil)1-(1-metil metanol) ciclohexano,  $\beta$ -eudesmol, espatulenol y candina 4 (5)10 (4) dieno (Cuadro 3), probablemente estos compuestos sean los responsables de la actividad antibacteriana por estar en mayor proporción sin embargo también se consideran aquellos compuestos presentes en menor cantidad.

El patrón de composición de los compuestos presentes en el aceite de *C. curassavica* es diferente a los reportados para *C. linnaei* y *C. spinescens*. Esto puede deberse a que se trabajaron especies diferentes y partes de la planta distintas para la obtención de aceites esenciales. De igual forma en un estudio realizado por Ioset et al., 2000 se extrajeron de la raíz de *C. curassavica* terpenos distintos a los identificados en este estudio, esto quiere decir que los terpenos varían de acuerdo a la parte de la planta utilizada a las distintas regiones geográficas (países) donde fueron colectadas, la temporada del año, la edad de la planta incluso hasta el método o solvente utilizado para la extracción del aceite.

La especie *C. curassavica* comparte dos sesquiterpenos (isocariofileno y espatulenol) con la especie *C. verbenaceae* (Carvalho et al., 2004), el aceite de este último es más activo contra bacterias Gram-positivas y en cuanto a levaduras inhibió un 93%. Por otro lado en este trabajo se determinó que el aceite de *C. curassavica* inhibió el crecimiento radial de hongos con más del 60%.

El presente estudio coincide con lo reportado con Hernández et al., 2003 donde el extracto hexánico de *C. curassavica* fue el que presentó mayor actividad antibacteriana comparado con el extracto de acetato de etilo y metanol. El extracto hexánico extrae terpenos de los cuales, algunos de ellos pueden estar presentes en el aceite esencial.

La actividad antibacteriana observada en el aceite esencial de *C. curassavica* probablemente se deba a la presencia de sesquiterpenos, ya que se han realizado estudios donde se reportan compuestos semejantes a los del aceite de *C. curassavica* con actividad antibacteriana. Estos estudios fueron realizados por Medeiros (2003), Carvalho (2004) y Nurettin (2005) quienes reportan la actividad antibacteriana de varios aceites esenciales, en los cuales se encuentran presentes sesquiterpenos como: espatulenol, isocariofileno (*trans*-cariofileno), calameneno,  $\beta$ -selineno y  $\beta$ - $\bullet$  eudesmol.

El aceite esencial de *C. curassavica* tiene actividad antibacteriana sobre bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, esto concuerda con los estudios anteriores que indican que los aceites tienen actividad sobre Gram-positivas. Estadísticamente no hay diferencias

significativas en la actividad entre estos dos grupos de bacterias, sin embargo al determinar CMI y CBM se observa que las Gram-positivas son más sensibles, lo cual quiere decir que los componentes del aceite pueden actuar en distintas formas, probablemente interviniendo a nivel de la membrana sensibilizando la bicapa de fosfolípidos de la membrana celular, causando un incremento de permeabilidad ocasionando la salida de constituyentes vitales celulares; también pueden deteriorar sistemas enzimáticos bacterianos que se encargan de la producción de energía celular y síntesis de componentes estructurales o la destrucción o inactividad de material genético (Frag et al.,1989; Kim et al.,1995).

Se realizó un análisis estadístico para verificar si existen diferencias significativas entre el control positivo (cloramfenicol) y el aceite esencial. Se determinó que si hay diferencias significativas, lo cual quiere decir que el cloramfenicol es más eficaz, sin embargo se sabe que puede tener efectos colaterales si es administrado durante periodos largos, y una ventaja de *C. curassavica* es que puede consumirse en infusiones como se usa en Zapotitlán Salinas, sin tener graves efectos secundarios, o también la infusión puede usarse para tratar una enfermedad gastrointestinal como alivio momentáneo hasta ponerse bajo cuidado médico (Nice, 1993).

### **Actividad antifúngica.**

El aceite esencial de *C. curassavica* inhibió el crecimiento radial fúngico con más del 62.79% demostrando así su actividad antifúngica (cuadro 6). A los resultados de los porcentajes de inhibición se les aplicó un análisis de varianza de dos factores (concentración de aceite y hongo), en efecto se encontraron diferencias significativas, lo cual quiere decir que el aceite actúa de manera diferente en cada hongo dependiendo de la especie fúngica.

Cabe resaltar que el efecto del aceite esencial de *C. curassavica* en la cepa de *A. niger* fue parecido al observado con el Ketoconazol, ya que a concentraciones de 1.80 a 2.00 mg/ml se logró un 77 % de inhibición del crecimiento radial (Cuadro 8, Fig 9), con esto se podría

sugerir que el aceite podría ser utilizado como control biológico sobre hongos fitopatógenos, quizás plantando *C. curassavica* como barrera ante un cultivo, ya que se sabe que también la raíz de esta planta tiene actividad antifúngica (Ioset et al., 2000). Para el resto de las cepas no hubo semejanza con el control positivo ya que en el caso del aceite se requieren concentraciones más grandes para inhibir el crecimiento, sin embargo se determinó que el aceite esencial logró inhibir al 100% del crecimiento radial a *F. sporotrychum* y *R. solani* a concentraciones de 1.00 y 0.75 mg/ml respectivamente.

La actividad antifúngica del aceite esencial de *C. curassavica* probablemente se debe a la presencia de espatulenol, selineno e isocariofileno, nuestros resultados concuerdan con los reportados por Ricci et al., 2003, en donde se demostró que el aceite que contiene estos compuestos presenta actividad antifúngica en *Rhizoctonia solani* y en el presente estudio esta cepa fue una de las más sensibles al efecto del aceite. Probablemente los aceites esenciales actúan inhibiendo la síntesis de ergosterol que es un triterpeno presente en la membrana fúngica, interrumpiendo de esta manera la formación de membrana.

El principal aporte del presente trabajo ha sido dar a conocer los terpenos presentes en el aceite esencial de *C. curassavica*; además de comprobar su actividad antimicrobiana, ya que esta planta es utilizada en la medicina tradicional, y al observar su actividad antimicrobiana, esto sirve como soporte para justificar su utilización para aliviar algunas enfermedades gastrointestinales, y no solo del hombre sino que además inhibe hongos fitopatógenos.



Nombre de archivo: A5  
Directorio: C:\Mis documentos\TESIS\OLYBIA\DOC  
Plantilla: C:\WINDOWS\Application  
Data\Microsoft\Plantillas\Normal.dot  
Título: RESULTADOS Y ANÁLISIS  
Asunto:  
Autor: BASE  
Palabras clave:  
Comentarios:  
Fecha de creación: 11/01/06 03:16 P.M.  
Cambio número: 1  
Guardado el: 11/01/06 03:16 P.M.  
Guardado por: BASE  
Tiempo de edición: 0 minutos  
Impreso el: 11/01/06 06:19 P.M.  
Última impresión completa  
Número de páginas: 18  
Número de palabras: 2,791 (aprox.)  
Número de caracteres: 15,910 (aprox.)



## CONCLUSIONES

- ζ El 83.33% del aceite esencial de *C. curassavica* está compuesto principalmente por sesquiterpenos.
- ζ Los compuestos 4-metil, 4-etenil-3-(1-metil etenil)1-(1-metil metanol) ciclohexano,  $\beta$ -eudesmol, espatulenol y candina 4 (5)10 (4) dieno son los componentes mayoritarios presentes en el aceite esencial de *C. curassavica*
- ζ El aceite esencial de *C. curassavica* mostró actividad antibacteriana, tanto en bacterias Gram-positivas como en Gram-negativas.
- ζ El aceite mostró actividad antifúngica al inhibir el crecimiento radial con más del 60%.
- ζ El principal aporte del presente trabajo ha sido dar a conocer la composición del aceite esencial de *C. curassavica*, y validar su uso en la medicina tradicional en el tratamiento de enfermedades gastrointestinales, respiratorias y de piel.

## PERSPECTIVAS

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *C. curassavica*, pero, aún quedan estudios que realizar para demostrar más a fondo su actividad antimicrobiana, y por lo tanto validar más ampliamente el uso de esta planta. Entre estos estudios están la:

- ζ Comparación de los componentes del aceite esencial de *C. curassavica* en distintas áreas geográficas para observar si hay variación en sus compuestos, para verificar si algunos compuestos existen en mayor cantidad o si ya no están presentes.
- ζ Hacer una comparación de los compuestos en las diferentes partes de la planta (raíz, tallo, hojas, flores), para ver si hay variación, también si alguno de ellos esta en mayor proporción, y si hay compuestos diferentes comprobar su actividad antimicrobiana.
- ζ Demostrar si existen o no repercusiones fisiológicas en el humano al usar esta planta, es decir; evaluar su toxicidad para confirmar el uso de esta planta.
- ζ Investigar la posibilidad de emplear el aceite como control biológico ante hongos fitopatógenos.

Nombre de archivo: A6  
Directorio: C:\Mis documentos\TESIS\OLYBIA\DOC  
Plantilla: C:\WINDOWS\Application  
Data\Microsoft\Plantillas\Normal.dot  
Título: CONCLUSIONES  
Asunto:  
Autor: BASE  
Palabras clave:  
Comentarios:  
Fecha de creación: 11/01/06 03:18 P.M.  
Cambio número: 1  
Guardado el: 11/01/06 03:18 P.M.  
Guardado por: BASE  
Tiempo de edición: 0 minutos  
Impreso el: 11/01/06 06:20 P.M.  
Última impresión completa  
Número de páginas: 2  
Número de palabras: 274 (aprox.)  
Número de caracteres: 1,566 (aprox.)

## LITERATURA CITADA

- 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 pp: 1-20.
- Argueta, V. A. 1994. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Vol. I, II y III. Instituto Nacional Indigenista. México.
- Avila, J. G. 1996. Actividad anti-Vibrio cholerae de dos plantas utilizadas en la medicina tradicional purépecha. Tesis Maestría en Microbiología. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM. México.
- Bayeux, M.C., Fernández A.T., Foglio M.A. & Carvalho J.E. 2002. Evaluation of the antiedematogenic activity of artemin isolated from *Cordia curassavica*. Brazilian Journal of Medicine Biologist Review , 35 (10) 1229-1232. Brasil.
- Bruneton, J. 1991. Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia. Ed. Acribia. España. 594 pp.
- Carvalho, P. M., Rodrigues, R. F. O., Sawaya, A. C. H. F., Marques, M.O.M., Shimizu, M. T. 2004. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cordia verbenaceae* D.C. Journal of Ethnopharmacology. 95: 297-301.
- 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.
- Croteau, R., Kutchan, T. M., Lewis, N. G. 2000. Natural Products (Secondary Metabolites). American Society of Plant Physiologists. pp 1250-1268.
- Dávila, P., Villaseñor, J. L., & Chiang, F. 1990. Fitogeografía del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Boletín de la Sociedad Botánico de México. 50: 135-149.
- Dávila, P., Arizmendi, M. del C., Valiente-Banuet, A., Villaseñor, J. L., Casas, A., & Lira, R. 2002. Biological diversity in the Tehuacan-Cuicatlán Valley, México. Biodiversity and Conservation. 11: 421-442.
- Dey, P.M., and Harborne, J.B. 1991. Methods in Plant Biochemistry. Terpenoids. Volume 7. Academic Press. Department of Chemistry, University College London, UK. 565pp.

- Domínguez, A.X. 1973. Métodos de investigación fitoquímica. Primera edición. Editorial Limusa. México pp. 3-17.
- Farag, R. S., Daw, Z. Y., Hewedi, F. M., El-Baroty, G. S. A 1989. Antimicrobial activity of some egyptian spice essential oils. *Journal Food Protect.* 52, 665-667.
- García, E. 1981. Modificaciones al Sistema de clasificación climática de Koppen. CENTENAL. México 16-25.
- Hamburger, M. and Hostettmann, K. 1991. Bioactivity in plants: The link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry.* 30(12): 3864-3874.
- Harborne, J. B and Baxter, H. 1993. *Phytochemical Dictionary. A handbook of bioactive compounds from plants.* London pp: 550-669.
- Harvey, A. 2000. Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products. Elsevier Science. College Building. pp 294-300.
- Helander, I.M., Alakomi, H. L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E. J., Gorris, L. G. M., Wright, A.V. 1998 Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 46: 3590-3995.
- Hernández, T., Canales, M., Avila, J. G., Duran, A., Caballero, J., Romo de Vivar, A and Lira, R. 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.
- INEGI. 2000. Puebla, resultados definitivos, tabulados básicos. Censo General de Población y Vivienda.
- Ioset, Jean-Robert., Marston, A., Gupta, M., Hostettmann, K. 2000. Antifungal and larvicidal cordiaquinonas from the roots of *Cordia curassavica*. *Phytochemistry.* 53: 613-617.
- Ioset, Jean-Robert., Marston, A., Gupta, M., Hostettmann, K. 1998. Antifungal and larvicidal meroterpenid naphthoxirene from the roots of *Cordia linnaei* *Phytochemistry.* 47(5): 613-617.
- Kabara, J. J. 1981. Food-grade chemicals for use in designing food preservative systems. *Journal Food Protect.* 44: 633-647.
- Kaufman, P.B., Ledand, J.C., Warber, S., James, A. D., Harry, B.L. 1999. *Natural Products from Plants.* CRC Press USA. 343pp.

- Kim, J., Marshall, M. R. & Wei, C. 1995. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43: 2839-2845.
- Koneman, W.E. 1985. Diagnóstico microbiológico. Editorial Médica Panamericana, México. pp:565-615.
- Lans, C., Harper, T., Georges, K., Bridgewater, E. 2000. Medicinal plants used for dogs in Trinidad y Tobago. *Preventive veterinary medicine*. 45: 201-220.
- Medeiros, J.R., Campos, L. B., Mendonça, S. C., Davin, L. B., Lewis, N. G. 2003. Composition and antimicrobial activity of the essential oils from invasive species of the Azores, *Hedychium gardnerianum* and *Pittosporum undulatum*. *Phytochemistry*. pp: 561-565. Issue 2.
- Miranda, F. 1948. Datos sobre la vegetación en la cuenca alta del Papaloapan. *Anales del Instituto de Biología, UNAM, México* pp: 333-364.
- Murphy, M. 1999. Plants products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Review*. American Society for microbiology. 12 (4):564-582.
- Nakamura, N., Kojima, S., Yasmina, A., Meselhy, R., Masao, H., Mahabir, P. & Minega C. 1997. Dammarane-type triterpene from *Cordia spinesnces*. *Phytochemistry*. 46, (6): 1139-1141.
- Nice, J. 1993. Hierbas medicinales y recetas caseras, primera edición. Editorial Paidós. México. pp:11-13.
- Nurettin, Y., Ya ar, A., Güleç., Usta, A., Kolayl, S., Kunçelebi, K., Karao, Engül, K 2005. Composition and antimicrobial activity of essential oils from *Centaurea sessilis* and *Centaurea armena*. *Phytochemistry*. pp. 1741-1745 Vol. 66. Issue 14.
- Osorio-Beristain, O. A., Valiente-Banuet, Dávila, P., & Medina, R. 1996. Tipos de vegetación y diversidad • en el Valle de Zapotitlán de las Sainas, Puebla México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 59: 35-58.
- Ricci, D., Fraternali, D., Giamperi, L., Bucchini, A., Epifano, F., Burini, G y Curini, M. 2005. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of *Teucrium marum* (Lamiaceae). *Phytochemistry*. pp. 195-200. Vol 98.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Limusa. México 432 p.

- Van der Berghe, D.A, Vlietink, A.J. 1991. Screening methods for bacterial agents from higher plants. In: Hostettmann, K. (Ed) Methods in plant biochemistry.Vol.6 Assay for bioactivity. pp: 47-69.
- Strasburger, E., Noll, F., Sdeneck, H., Schimper, A. F. W. 2002. Tratado de botánica Octava edición. Ediciones Omega. Barcelona pp: 381-385.
- Verpoorte, R. 1998. Exploration of nature's chemodiversity: the role of secondary metabolites as leads in drug development. Reviews perspective. Elsevier Science pp: 232-238.
- Wang, H., Bun, T. N. 2002. Isolation of an antifungal thaumatin-like protein from kiwi fruits. Phytochemistry. 61: 1-6.
- Wink, M. 1999. Functions of Plant secondary metabolites and their exploitation in biotechnology. Annual Plant Reviews. 3: 1-14.
- Winston, C. J. 1999. Health-promoting properties of common herbs. American Society for Clinical Nutrition. USA. pp 409S-9S.
- Zavala, H. A. 1982. Estudios ecológicos en el Valle semiárido de Zapotitlán, Puebla. *Biótica*. 7(1): 88-117.







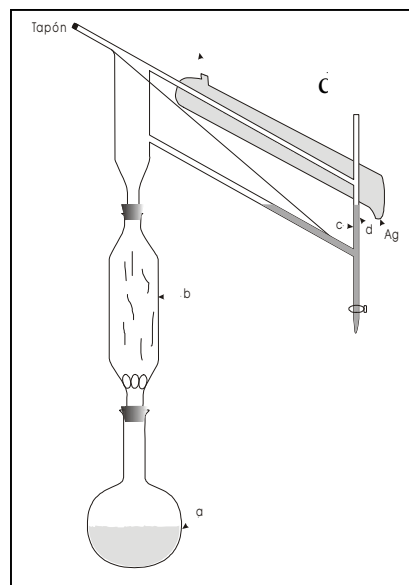
Nombre de archivo: A8  
Directorio: C:\Mis documentos\TESIS\OLYBIA\DOC  
Plantilla: C:\WINDOWS\Application  
Data\Microsoft\Plantillas\Normal.dot  
Título: LITERATURA CITADA  
Asunto:  
Autor: BASE  
Palabras clave:  
Comentarios:  
Fecha de creación: 11/01/06 03:28 P.M.  
Cambio número: 1  
Guardado el: 11/01/06 03:28 P.M.  
Guardado por: BASE  
Tiempo de edición: 0 minutos  
Impreso el: 11/01/06 06:24 P.M.  
Última impresión completa  
Número de páginas: 5  
Número de palabras: 1,036 (aprox.)  
Número de caracteres: 5,909 (aprox.)

## Apéndice I

### Extracción por arrastre de vapor de aceites esenciales.

(Domínguez, 1973)

Los aceites esenciales se obtienen por la técnica de destilación por arrastre de vapor a partir de material lo más fresco posible, en este método se utiliza la característica que poseen las esencias de presentar bajas presiones de vapor y por tanto pueden ser arrastradas por sustancias que poseen presiones de vapor más altas. El aparato que se utiliza se muestra en la siguiente figura.



#### *Destilador por arrastre de vapor*

- a) matraz balón
- b) alargadera o columna de vidrio
- c) colector,
- d) refrigerante
- e) solvente

Empleando este aparato se pueden destilar por arrastre de vapor continuo de 100 a 500g de planta fresca, con un buen rendimiento. En los casos que el rendimiento sea bajo se puede colocar en “d” un poco de éter etílico para obtener los aceites y el destilado. Se colectan los aceites, se refrigera a 0 °C por 24 hrs. para separar el éter de la mezcla.

## Apéndice II

### Método de difusión en agar o de Kirby-Baüer (Van der Berghe and Vlietnick, 1991).

El método a seguir es:

**Medio.** Se utilizó como medio de cultivo estándar el agar Müeller-Hinton (Bioxon 110-1), debido a que promueve el desarrollo de la mayoría de aislamientos bacterianos clínicamente significativos. Es recomendable que el agar tenga un espesor uniforme en la placa de 4mm, ya que si este es más fino, el antibiótico tiende a difundir más en dirección lateral aumentando el tamaño de las zonas de inhibición; y por lo contrario si un agar de más de 4mm de espesor produce una mayor difusión del antibiótico hacia abajo, con tendencia a estrechar artificialmente las zonas de inhibición.

**Inóculo.** Con un asa de siembra estéril se tocan las superficies conexas de 4 ó 5 colonias de apariencia semejante al de los microorganismos a ensayar (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, etc.). Se sumerge el asa en 10ml de caldo Müeller-Hinton (Bioxon 260), se enjuaga bien el líquido para descargar todo el material y luego se retira el asa de siembra. Incubar el tubo de cultivo a 37 °C durante aproximadamente 24 horas, o hasta que la turbidez del medio sea equivalente al estándar N° 0.5 de MacFarland. Esto equivale a una concentración de aproximadamente  $1.5 \times 10^8$  bacterias /ml.

El estándar 0.5 de MacFarland se prepara añadiendo 0.5 ml de cloruro de bario a 99.5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.36 N. La comparación de turbidez entre el estándar y el caldo con los organismos en estudio se puede efectuar observándolos contra una cartulina blanca, o por medio de un espectrofotómetro (Spectronic 21 Milton Roy) a 600 nm.

Si la suspensión de organismos se ve más turbia que el estándar, se le agrega solución salina al 0.9% hasta igualarlas. Posteriormente se sumerge un segundo hisopo estéril y seco en suspensión bacteriana, antes de retirarlos se elimina el exceso de humedad de la

superficie del agar. Finalmente, se siembra por estrías en por lo menos tres direcciones, dando vueltas a la placa en ángulos de aproximadamente 60° luego de cada estría.

Para realizar la prueba de susceptibilidad, los sensidiscos impregnados con las sustancias a evaluar se colocan en la superficie del agar, utilizando una pinza estéril: los sensidiscos deberán colocarse por lo menos a 22mm uno de otro y a 14mm del borde de la placa. Los sensidiscos se deben presionar suavemente con una punta de la pinza, tratando de no moverlos una vez colocados en su lugar. Sobre cada sensidisco se coloca la concentración de aceite esencial a evaluar.

**Control positivo.** Se evaluó la sensibilidad de las cepas experimentales a sensidiscos con un antibiótico sintético cloramfenicol a 25µg por disco.

**Incubación.** Ya que las placas con agar estén preparadas para la prueba de susceptibilidad, se colocarán en una incubadora a 35°C, sin mayor tensión de CO<sub>2</sub>. Esto es importante ya que el CO<sub>2</sub> puede formar ácido carbónico en la superficie humedecida del agar, provocando un descenso en el pH. El desarrollo de algunos microorganismos es inhibido a pH ácido, lo cual puede provocar una estrechez en la inhibición. Así como también la actividad de diversos antibióticos puede aumentar o disminuir con la caída del pH, produciéndose diferencias en las velocidades de difusión y alteraciones en las zonas de inhibición. Se incuban siempre placas con discos a evaluar como control (control negativo).

**Interpretación de resultados.** Las zonas de inhibición se medirán con una regla calibrada en mm. En todos los casos, la prueba se realizó por triplicado y los valores promedio se reportaron en mm.

## **Apéndice III**

### **Determinación de concentración mínima inhibitoria (CMI) y de concentración bactericida mínima (CBM).**

#### **Método modificado de dilución en agar (Koneman, 1985).**

##### **1. Preparación de reactivos y diluciones.**

La solución antimicrobiana de trabajo se prepara diluyendo el aceite en el agar (Müeller-Hinton Bioxon 260 para bacterias y para hongos el medio es el agar Czapek) a la mayor concentración final deseada. La prueba se realiza en cajas de petri. Las concentraciones fueron: 0.065, 0.125, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0 mg/ml En cada caja se colocó 3ml de agar con la concentración de aceite correspondiente, cada bioensayo se realiza por triplicado con un control positivo y uno negativo.

##### **2. Inoculación e incubación de los tubos.**

Se prepara un inóculo que contenga  $10^5$  UFC/ml (unidades formadoras de colonia/ml). Se agrega a cada caja 0.1 ml del inóculo. Las cajas se incuban a 35°C durante 16 a 20 horas.

##### **3. Interpretación de resultados.**

La menor concentración de antimicrobiano que produce una inhibición completa del desarrollo visible representa la Concentración Bactericida Mínima (CBM).

## **Apéndice IV**

**Método cualitativo de inhibición del crecimiento radial de hongos** (Wang & Bun, 2002).

El ensayo contra hongos filamentosos se lleva a cabo en cajas petri, que contienen 20 ml de agar Czapek (DIBICO), en el cual se coloca una pequeña cantidad de micelio en medio de la caja petri, posteriormente se colocan sensidiscos impregnados de aceite esencial (5 µl).

### **Incubación**

Las placas son incubadas a 23 °C durante 72 horas o hasta que el crecimiento micelial se haya desarrollado.

### **Control positivo**

Se evalúa la sensibilidad de las cepas experimentales con sensidiscos de Ketoconazol de 56 µg/disco.

### **Interpretación de resultados**

En caso de que existan zonas de inhibición el aceite esencial se reporta como activo, en todos los casos esta prueba se realizó por triplicado.

## Apéndice V

**Método cuantitativo de inhibición del crecimiento radial de hongos (CF<sub>50</sub> y CFM)**  
(Wang & Bun, 2002).

El ensayo contra hongos filamentosos se lleva a cabo en cajas petri, que contienen 20 ml de agar Czapek (DIBICO), en las cuales se colocan las siguientes concentraciones de aceite esencial: 0.065, 0.125, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0 mg/ml, posteriormente se coloca una pequeña cantidad de micelio en medio de la caja petri..

### **Incubación**

Las placas son incubadas a 23 °C durante 72 horas o hasta que el crecimiento micelial se haya desarrollado.

### **Control positivo**

Se evalúa la sensibilidad de las cepas experimentales con Ketoconazol a las siguientes concentraciones: 0.05, 0.10, 0.20, 0.40, 0.80, 1.70, 3.50, 7.00, 14.00, 28.00 µg/ml.

### **Interpretación de resultados**

En caso de que existan zonas de inhibición el aceite esencial se reporta como activo de acuerdo a las concentraciones utilizadas, en todos los casos esta prueba se realizó por triplicado.

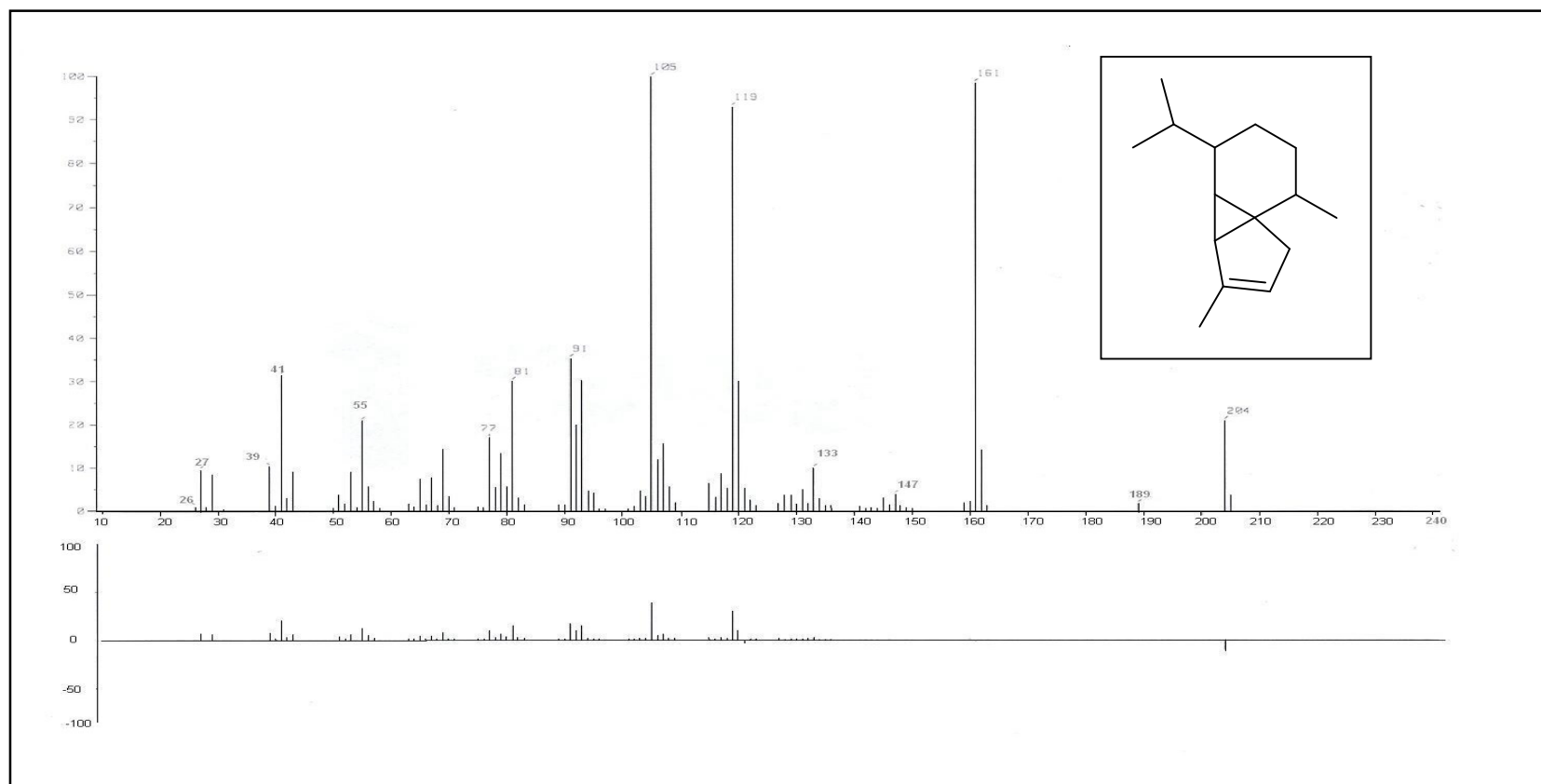
## Apéndice VI

### Espectros de masas del aceite esencial de *C. curassavica*

#### Espectro1.

4-isopropil-3,7-dimetil-3<sup>a</sup>,3<sup>b</sup>,4,5,6,7-hexahidro-1-H-ciclopenten [1,3] ciclopropa [1,2] benceno

TR = 16.32      2.22%      C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>      PM = 204





**Espectro 2.**

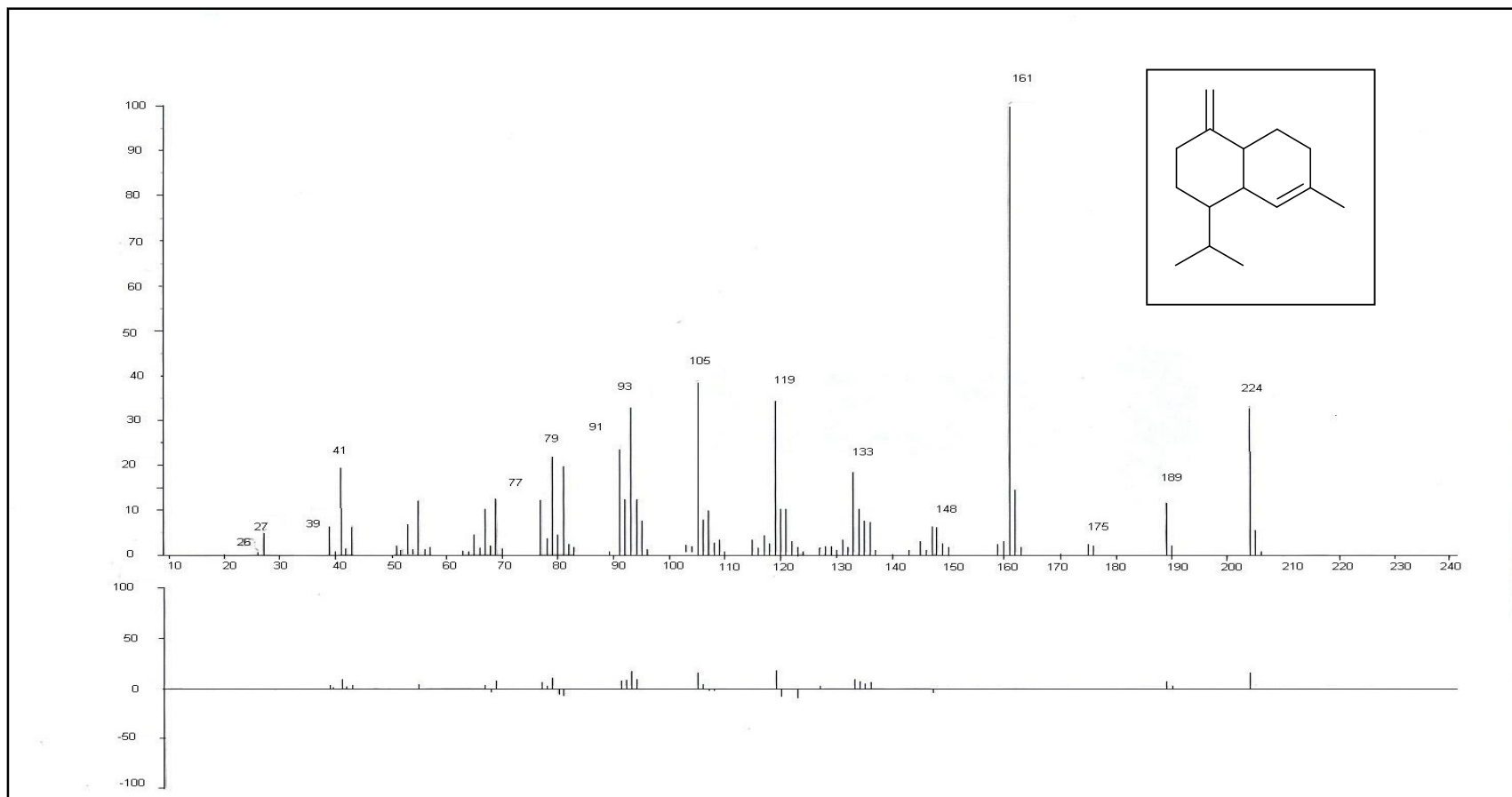
Candina 4(5), 10(14) dieno

TR = 17.22

7.93 %

$C_{15}H_{24}$

PM = 204



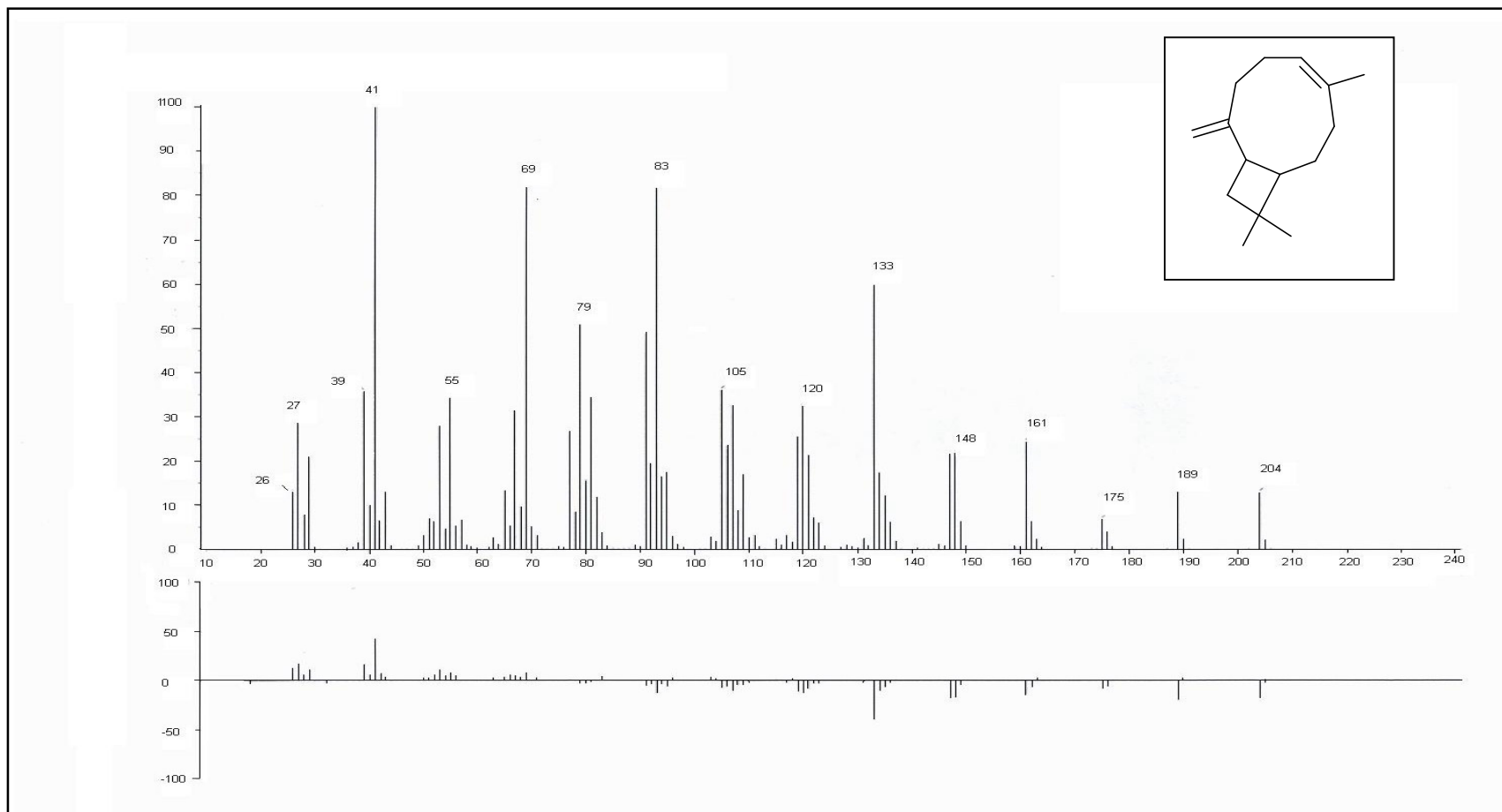
**Espectro 3.**  
Isocaradioleno

TR = 17.97

2.39 %

$C_{15}H_{24}$

PM = 204



**Espectro 4.**

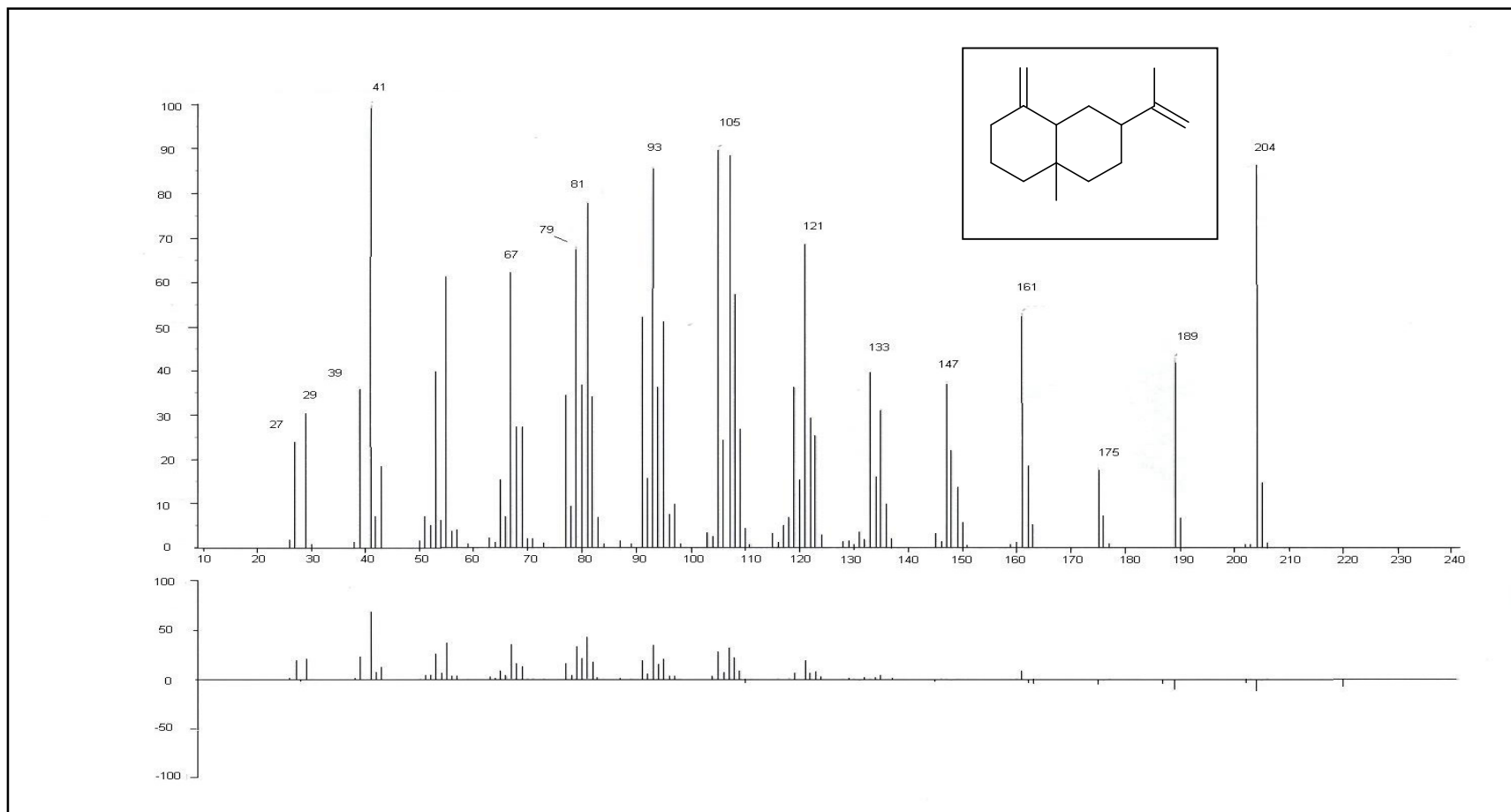
Selineno

TR = 19.32

3.79 %

$C_{15}H_{24}$

PM = 204



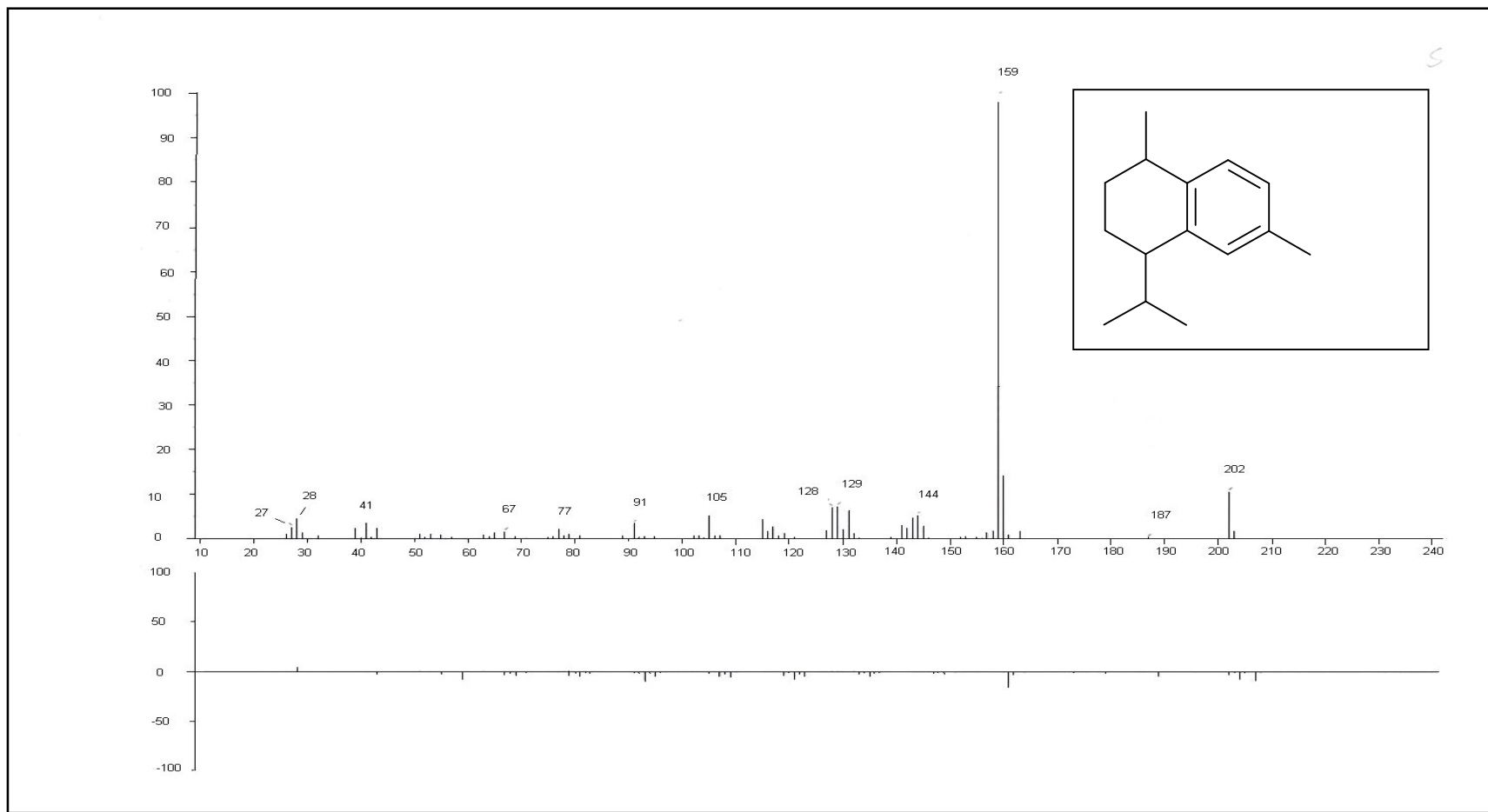
**Espectro 5.**  
Calameneno

TR = 19.88

3.72 %

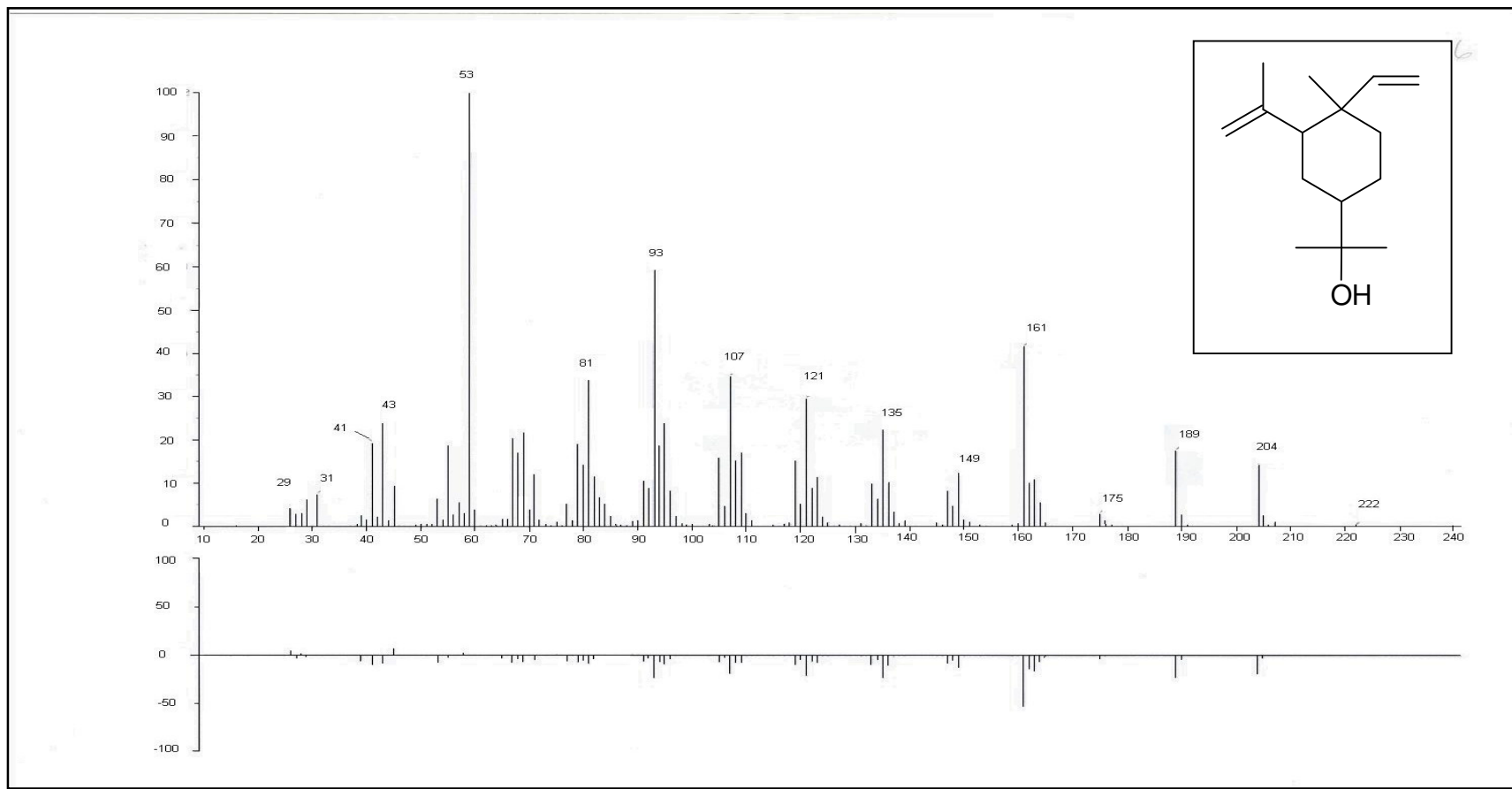
$C_{15}H_{22}$

PM = 202



**Espectro 6.**

4-metil, 4-etenil-3-(1-metil etenil)1-(1-metil metanol) ciclohexano TR = 20.66 37.34 % C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O PM = 222



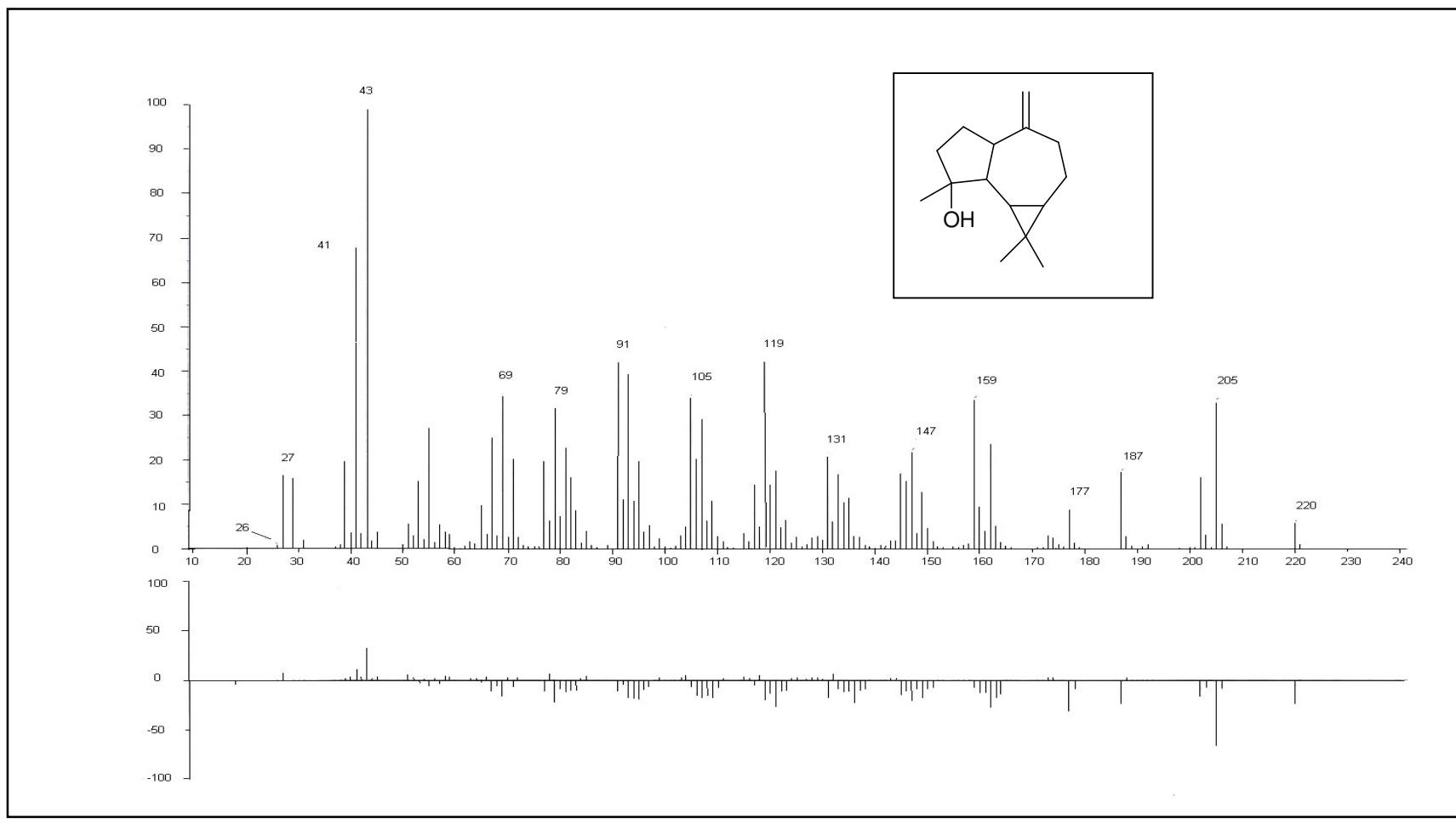
**Espetro 7.**  
Espatulenol

TR = 21.19

11.25 %

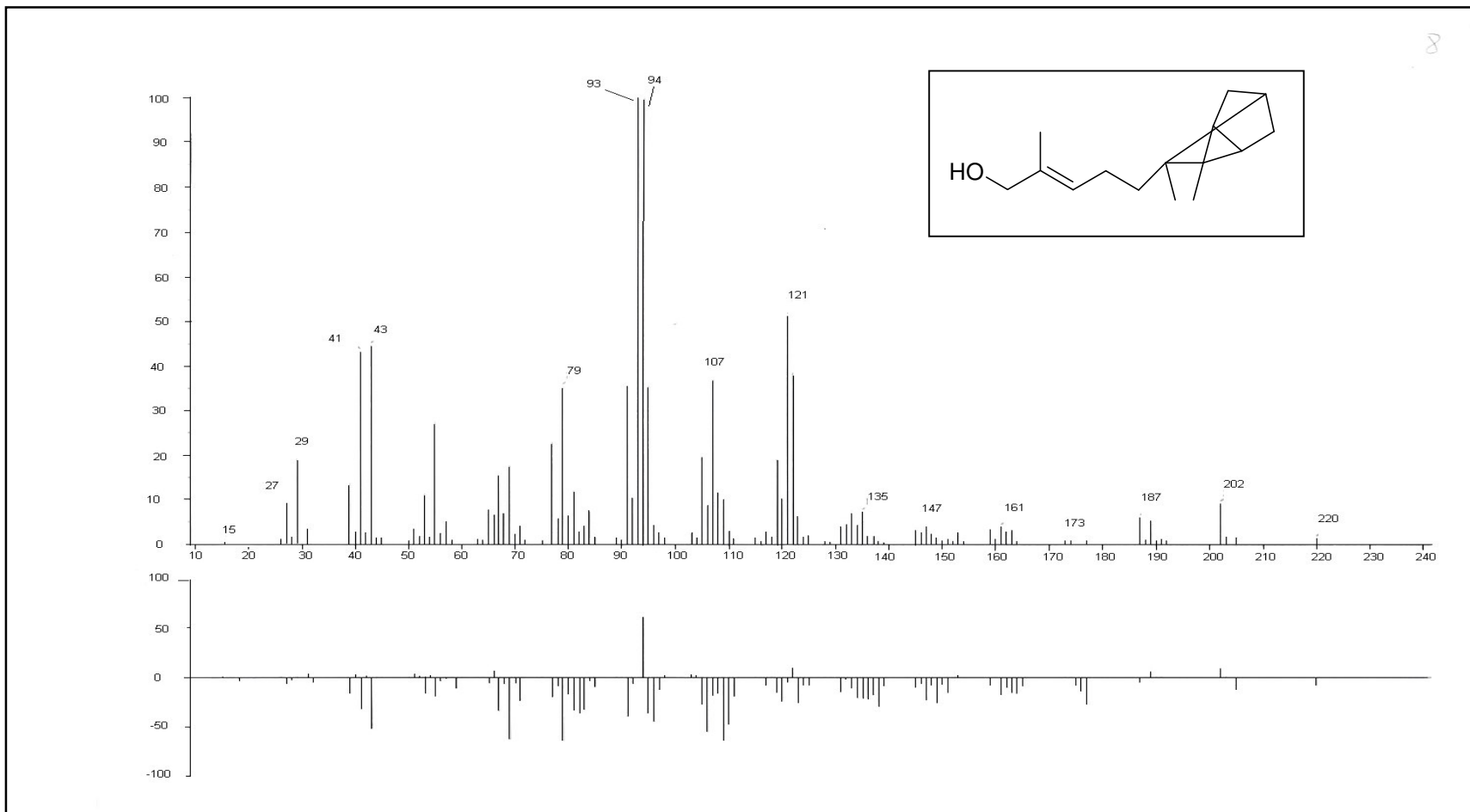
C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O

PM = 220



**Espectro 8.**

5-(2,3-dimetiltriciclo 2.2.1.02, 6 hept-3-y1)-2-metil-2-penten-1-ol TR = 21.32 2.48 % C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O PM = 220



**Espectro 9.**

$\beta$ -eudesmol

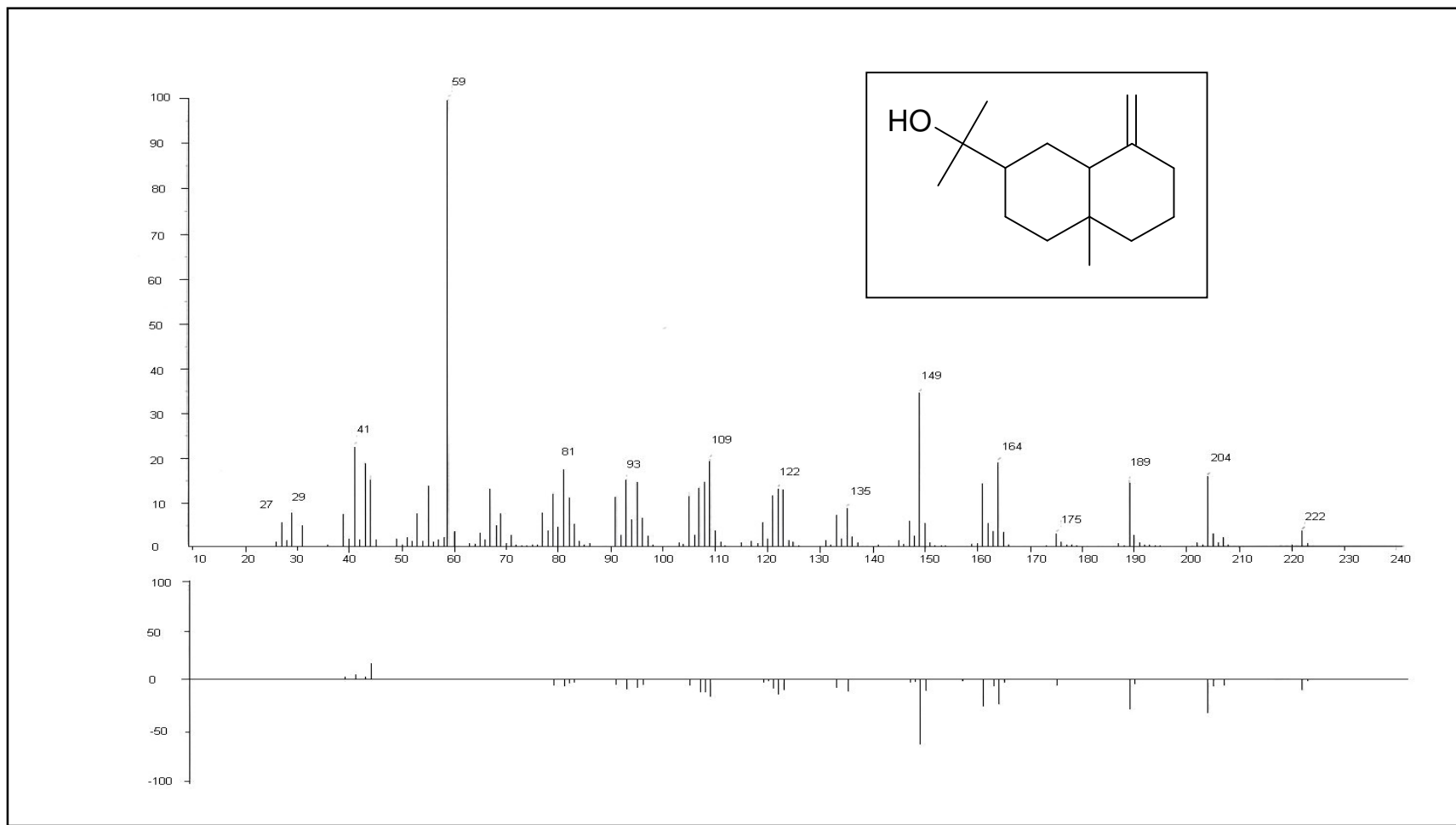
TR = 22.67

19.21 %

$C_{15}H_{26}O$

PM = 222





**Espectro 10.**

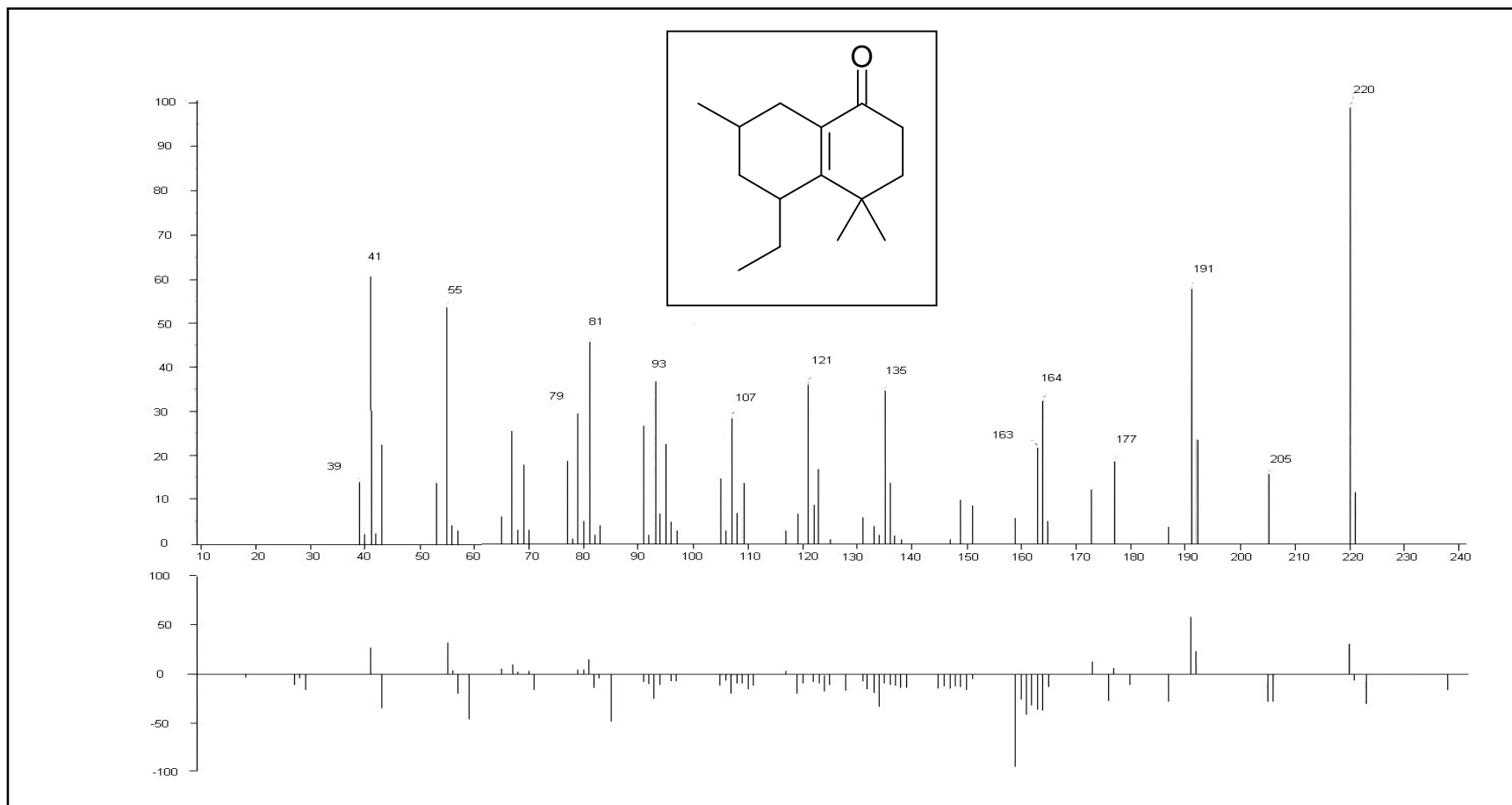
Hexahidro-2, 5, 5-trimetil-2H-2,4a-etanonaftalen-8(5H)-ona

TR = 24.05

2.90 %

$C_{15}H_{24}O$

PM = 220



**Espectro11.**

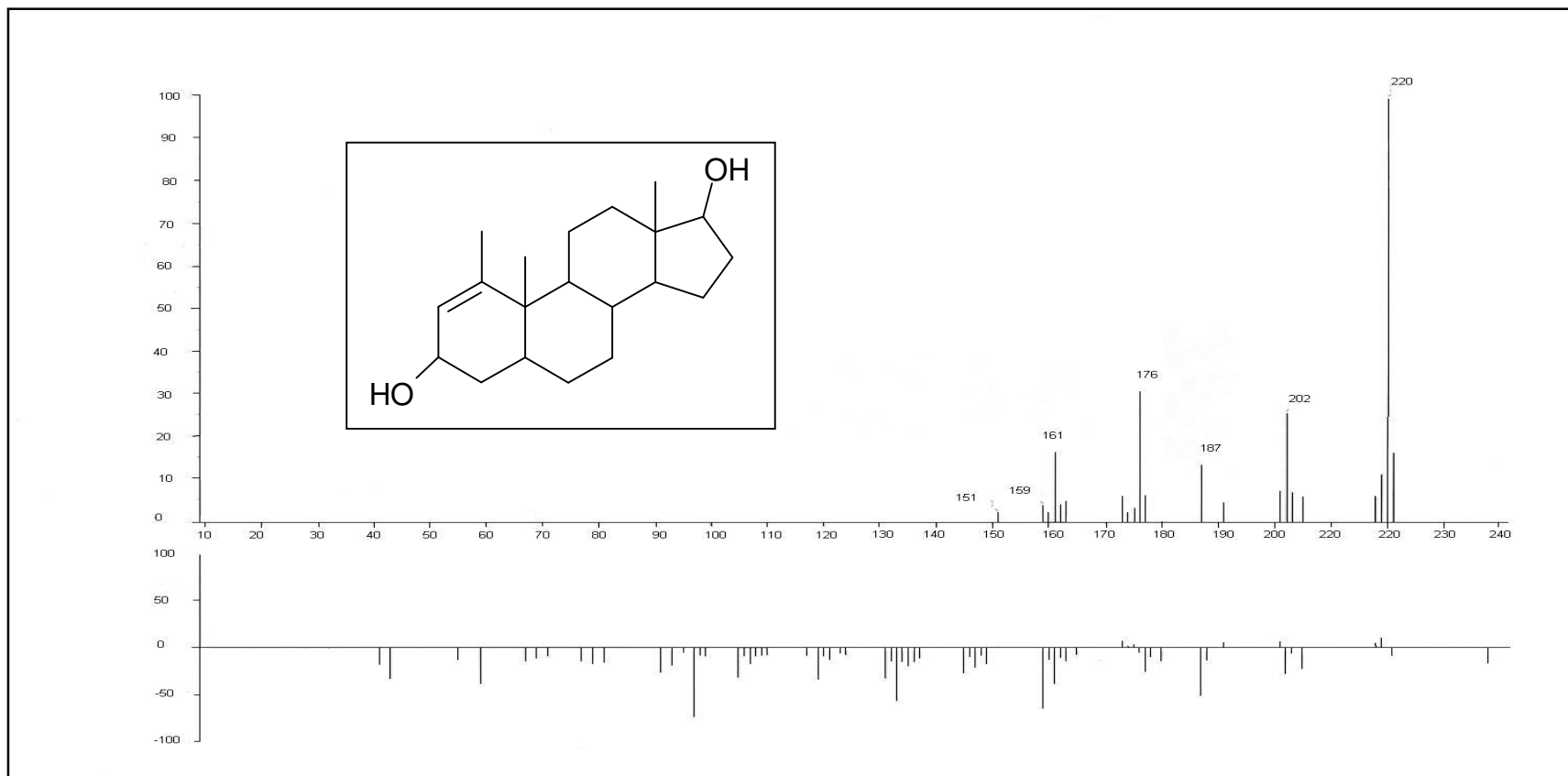
1-metil-, (3.β., 5.α., 17.β.)-androst-1-ene-3,17-diol

TR = 26.25

3.05 %

$C_{20}H_{32}O_2$

PM = 304



**Espectro 12.**

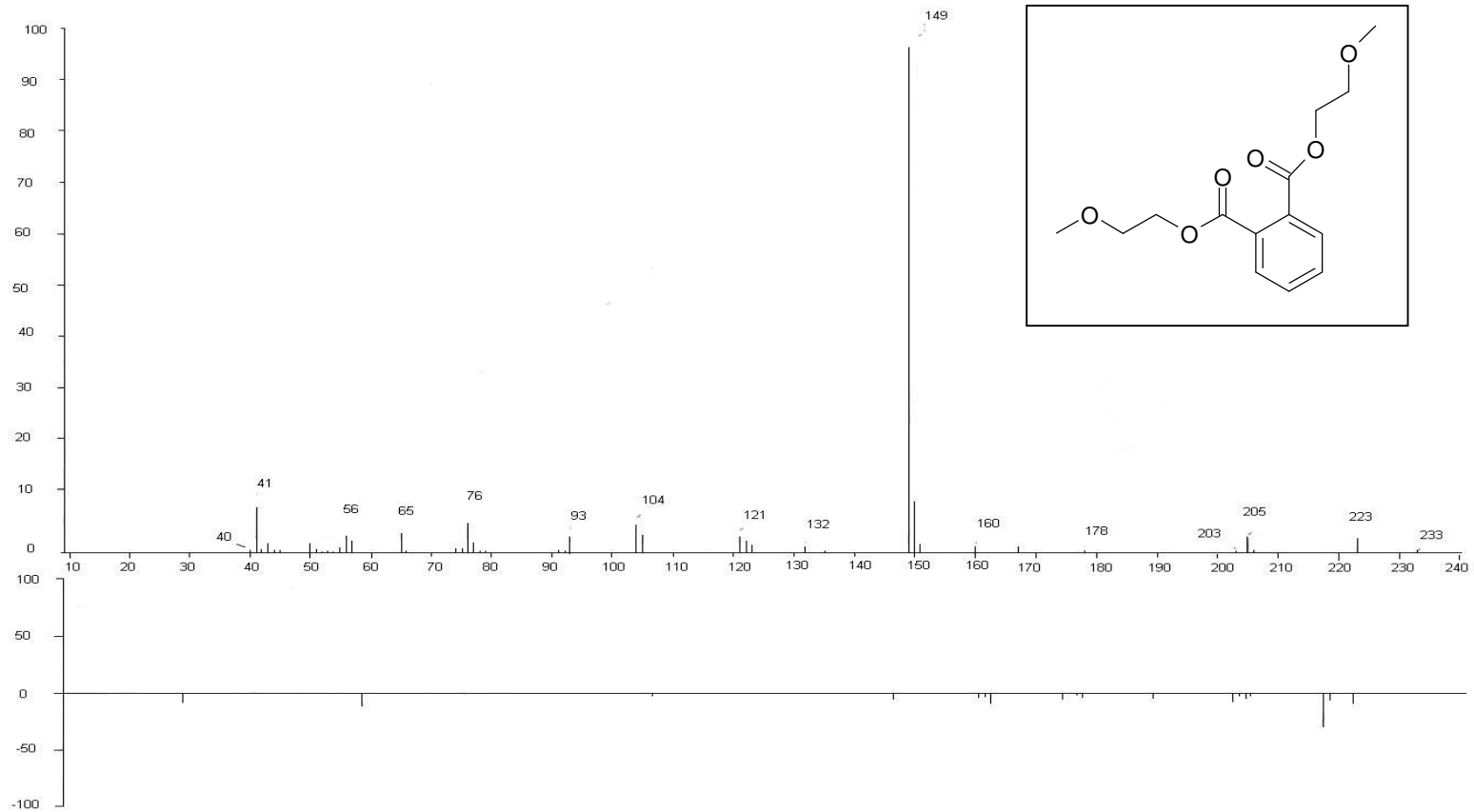
Bis(2-metoxietil) ftalato

TR = 27.14

3.72 %

$C_{14}H_{18}O_6$

PM = 282



Nombre de archivo: A7  
Directorio: C:\Mis documentos\TESIS\OLYBIA\DOC  
Plantilla: C:\WINDOWS\Application  
Data\Microsoft\Plantillas\Normal.dot  
Título: Apéndice I  
Asunto:  
Autor: BASE  
Palabras clave:  
Comentarios:  
Fecha de creación: 11/01/06 03:25 P.M.  
Cambio número: 1  
Guardado el: 11/01/06 03:27 P.M.  
Guardado por: BASE  
Tiempo de edición: 2 minutos  
Impreso el: 11/01/06 06:20 P.M.  
Última impresión completa  
Número de páginas: 19  
Número de palabras: 1,294 (aprox.)  
Número de caracteres: 7,376 (aprox.)