



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA POTENCIAL DE LA  
ESPECIE *Prunus domestica* L. CONTRA  
BACTERIAS PATÓGENAS ORALES**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

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

**MINERVA JIMÉNEZ CRUZ**



**MÉXICO, D.F.**

**2007**

---



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.

## JURADO ASIGNADO

Presidente: Dra. María Isabel Aguilar Laurents  
Vocal: Dra. Rachel Mata Essayag  
Secretario: Dr. José Fausto Rivero Cruz  
1er. Suplente: M. en C. Isabel Del Carmen Rivero Cruz  
2do. Suplente: M. en C. Mario Alberto Figueroa Saldivar

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 126. Edificio E.  
Facultad de Química UNAM.

Asesor

---

Dr. José Fausto Rivero Cruz

Sustentante

---

Minerva Jiménez Cruz

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, por mi formación como profesionista.

Al Dr. Fausto Rivero Cruz, por su tutoría y dirección en el presente trabajo.

Al personal técnico de la USAI por el registro y análisis de los distintos espectros utilizados en ésta investigación.

A la Dra. Rachel Mata Essayag por el apoyo a este proyecto de investigación y consejos para la realización de la tesis.

Este trabajo se realizó mediante el apoyo económico otorgado a través del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIT) IN208207.

## ÍNDICE

	<b>Pág.</b>
Lista de Abreviaturas	iii
Lista de Cuadros	iv
Lista de Tablas	iv
Lista de Diagramas	iv
Lista de Figuras	v
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2. ANTECEDENTES</b>	<b>4</b>
2.1. Antecedentes etnobotánicos y botánicos de <i>Prunus domestica</i> L.	4
2.2. Estudios biológicos de <i>Prunus domestica</i> L.	6
2.3. Estudios químicos de <i>Prunus domestica</i> L.	7
2.4. Enfermedades orales	18
2.4.1. Definición y su relación con la nutrición	18
2.4.2. Microorganismos de la cavidad oral	19
2.5. Compuestos antibacterianos	22
2.5.1. Situación actual del empleo de antibióticos	22
2.5.2. Compuestos antibacterianos aislados de plantas	22
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>33</b>
<b>4. OBJETIVOS</b>	<b>34</b>
4.1. Objetivos particulares	34
<b>5. PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>35</b>
5.1. Procedimientos generales	35
5.1.1. Análisis cromatográficos	35
5.1.2. Determinación de las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas	35
5.2. Material vegetal	36
5.3. Estudio fitoquímico de <i>Prunus domestica</i> L.	36
5.3.1. Preparación del extracto orgánico de <i>Prunus domestica</i> L.	36

5.3.2.	Fraccionamiento primario del extracto de diclorometano	36
5.3.3.	Fraccionamiento secundario del extracto de diclorometano	37
5.3.4.	Obtención del ácido ursólico	39
5.3.5.	Obtención del 5-(hidroximetil)-2-furfural	39
5.4.	Ensayo biológico	40
5.4.1.	Microorganismos de prueba	40
5.4.2.	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)	41
<b>6.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>42</b>
<b>7.</b>	<b>RESUMEN Y CONCLUSIONES</b>	<b>46</b>
<b>8.</b>	<b>PERSPECTIVAS</b>	<b>47</b>
<b>9.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>48</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
AcOEt	acetato de etilo
cm	centímetro
CC	cromatografía
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	diclorometano
δ	desplazamiento químico
DMSO	dimetilsulfóxido
EM	espectrometría de masas
EMIE	espectrometría de masas por impacto electrónico
MeOH	metanol
FAB (positivo)	bombardero rápido de átomos modalidad positiva
°C	grado centígrado
g	gramo
IR	infrarrojo
kg	kilogramo
L	litro
μg	microgramo
mg	miligramo
mL	mililitro
mm	milímetro
MHz	megahertz
nm	nanómetro
%	por ciento
ppm	partes por millón
RMN- <sup>1</sup> H	resonancia magnética nuclear protónica
RMN- <sup>13</sup> C	resonancia magnética nuclear de carbono 13
UV	ultravioleta

## LISTA DE CUADROS

Cuadro	Contenido	Pág.
1.	Metabolitos secundarios reportados de la especie <i>Prunus domestica</i> L.	8
2.	Microorganismos aislados de la cavidad oral.	20
3.	Ejemplos selectos de compuestos antibacterianos orales aislados de plantas.	23
4.	Fraccionamiento primario por cromatografía en columna al vacío del extracto de diclorometano obtenido de <i>Prunus domestica</i> L.	37
5.	Fraccionamiento secundario por cromatografía en columna abierta de la fracción FIII.	37

## LISTA DE TABLAS

Tabla	Contenido	Pág.
1.	Tasa de morbilidad de los principales casos nuevos de enfermedades, 2000 a 2004 en la República Mexicana.	3
2.	Composición química de algunos productos comerciales de <i>Prunus domestica</i> L. (por cada 100 g).	14
3.	Compuestos encontrados en distintas variedades de ciruelas.	16
4.	Actividad antibacteriana (CMI) del extracto de diclorometano contra las bacterias <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Porphyromonas gingivalis</i> .	42
5.	Actividad antibacteriana (CMI) de los compuestos aislados contra las bacterias <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Porphyromonas gingivalis</i> .	44

## LISTA DE DIAGRAMAS

Diagramas	Contenido	Pág.
1.	Proceso de extracción y fraccionamiento del extracto de CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> de <i>Prunus domestica</i> L.	38



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Contenido</b>	<b>Pág.</b>
1.	Árbol, flores, fruto fresco y fruto deshidratado de <i>Prunus domestica</i> L.	5
2.	Compuestos aislados de las fracciones activas	43

## 1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades orales, incluyendo caries dentales, enfermedades periodontales, desórdenes orofaciales y pérdida de los dientes resultan en sufrimiento y dolor, dificultad para hablar y/o masticar y en casos extremos la muerte. Además, son un problema de salud, que afecta a millones de personas más que otra enfermedad en el mundo (Wu *et al.*, 2002; Gift *et al.*, 1992; ACS, 1998). A pesar de los grandes avances en materia de salud oral, todavía existen problemas al respecto, principalmente en aquellos grupos no privilegiados de los países desarrollados y en vías de desarrollo, en los que, además de la gripe común, las enfermedades orales son la principal causa de la pérdida de días de trabajo en los adultos y de días de escuela en los niños, lo que repercute negativamente sobre la productividad así como en el aprendizaje escolar. (NIDR, 2005; Bloom *et al.*, 1989).

La más común de las enfermedades orales es la caries dental que afecta entre el 60 a 90% de los niños y a la mayoría de los adultos de Asia y Latinoamérica (WHO, 2003). La caries es producto de la formación de placa dento-bacteriana, que a su vez se origina por la interacción entre bacterias, saliva y restos de alimentos (Liébana, 2002). El grupo mutans de los estreptococos (SM), que se encuentra frecuentemente en la placa dental es considerado como uno de los principales agentes etiológicos de las caries en humanos y animales de laboratorio. Estudios epidemiológicos indican la presencia de *Streptococcus mutans* en al menos el 90% de las muestras biológicas aisladas a partir de caries dentales en humanos, mientras que, *Streptococcus sobrinus* representa la segunda especie más común de SM (Petersen *et al.*, 2004; Phan *et al.*, 2004). Entre los factores de virulencia más comunes de *Streptococcus mutans* se incluyen la adhesión, la acidogenicidad y la tolerancia a la acidez (Steinberg *et al.*, 2005; Yamanaka, 2004). Esta bacteria produce glucosiltransferasas y sintetiza polisacáridos extracelulares (principalmente glucanos insolubles en agua) a partir de los azúcares presentes en la dieta, los cuales actúan como mediadores de la adherencia de *S. mutans* y otras bacterias a la superficie de los dientes y contribuyen a la formación de la bioplaca (Koo *et al.*, 2000). De esta manera, la bacteria convierte los alimentos en ácidos, alterando el equilibrio dinámico de desmineralización-remineralización de la superficie del diente, disolviendo el esmalte y creando los orificios conocidos como caries (ADA, 2003).

A la caries le siguen en incidencia las enfermedades periodontales (EP), que afectan a cerca de la mitad de las personas entre los 18 y 64 años (Russell *et al.*, 1998). Las enfermedades periodontales pertenecen al grupo de las enfermedades inflamatorias crónicas, ocasionadas en principio, por las bacterias encontradas en la placa dento-bacteriana. La gran acumulación de éstas bacterias alrededor del diente, por arriba (supragingival) o por debajo (subgingival) del borde marginal de la encía, provocan cambios en la composición microbiana *Streptococcus* dominante hacia un aumento de *Actinomyces spp* y el incremento de bacterias Gram-negativas anaeróbicas específicas como *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, entre otras (Koo *et al.*, 2000; Quirynen *et al.*, 2000), las cuales activan los mecanismos inmunoinflamatorios en los tejidos periodontales, lo que conduce a la destrucción del colágeno y al hueso que soporta los dientes (Genco, 1992; Russell *et al.*, 1998; Scannapieco, 2004). Esto se manifiesta en la clínica como un enrojecimiento en la gingiva, desprendimiento de los tejidos blandos de los dientes para producir bolsas periodontales, incremento de la movilidad de los dientes, disminución de la habilidad para masticar y la pérdida de piezas dentales (Genco, 1992).

Las EP se engloban bajo la denominación de gingivitis y periodontitis. La gingivitis es la inflamación de los tejidos blandos que rodean al diente, fundamentalmente la encía, sin extenderse al cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar. Como ejemplo se puede mencionar a la gingivitis ulcerativa necrosante (también denominada enfermedad de Vincent o boca de las trincheras). Por otra parte, el término periodontitis se emplea para definir la inflamación de los tejidos de soporte del diente, habitualmente un cambio progresivamente destructivo con pérdida del hueso alveolar y ligamento periodontal, por complicación de la gingivitis (Liébana, 2002). La periodontitis adulta es la forma más común de EP y afecta al 10% de los adultos entre 35-44 años. La otra forma menos común es la periodontitis juvenil localizada (WHO, 2004).

La patogénesis de las EP también está vinculada a la existencia de factores locales y sistémicos en los individuos, de tal manera que la forma de los dientes y el padecimiento de enfermedades como la diabetes, la osteoporosis, el VIH, el SIDA, así como también los cambios hormonales y la administración de fármacos, son capaces de modificar la respuesta del hospedero e influir en la severidad y progresión de la enfermedad periodontal (Hollister *et al.*, 1993; Kirkpatrick *et al.*, 1998; Reichart, 2003).

Además, la quimioterapia y la radioterapia para el tratamiento del cáncer pueden dañar severamente las glándulas salivales dando como resultado boca seca con un incremento de las caries y otras infecciones orales (Binkley *et al.*, 2004; Doyle *et al.*, 2007; *inter alia*). De manera adicional, investigaciones recientes han demostrado que las bacterias orales pueden contribuir a incrementar el riesgo de ataques del corazón, infartos, enfermedades del pulmón y nacimientos prematuros (ADA, 2003; Liébana, 2002).

Por lo anterior, la prevención efectiva de enfermedades orales puede tener un efecto significativo en la salud y bienestar de la población en general (NIDR, 2005). Aún cuando la introducción del fluoruro ha resultado en la reducción de las caries dentales y las EP, éstas representan algunas de las enfermedades infecciosas más comunes en México (SSA, 2006). Tan solo en el país, la caries y las EP afectan al 90 y 70% de la población, respectivamente. De acuerdo a estadísticas de la Secretaría de Salud (SSA), la gingivitis y las EP representan casos nuevos de morbilidad en los últimos años. En la Tabla 1 se presenta la tasa de morbilidad de los principales casos nuevos de enfermedades comprendidos en el período 2000 a 2004.

**Tabla 1.** Tasa de morbilidad de los principales casos nuevos de enfermedades, 2000 a 2004 en la República Mexicana.

(Por 100 mil habitantes) Causa de casos nuevos de enfermedad	2000	2001	2002	2003	2004
Infecciones respiratorias agudas	29 427.3	27 980.5	28 874.3	25 948.9	24 581.3
Infecciones intestinales por otros organismos y las mal definidas	5 203.3	5 283.3	5 250.2	4 684.0	4 535.5
Infección de vías urinarias	2 967.1	3 240.5	3 276.0	3 154.2	3 228.2
Úlceras, gastritis y duodenitis	1 284.1	1 393.5	,m	1 281.7	1 365.7
Amebiasis intestinal	1 353.4	1 237.8	1 124.8	972.6	792.2
Otitis media aguda	614.6	643.2	693.9	695.6	675.3
Hipertensión arterial	401.4	407.8	418.8	478.2	529.8
Otras helmintiasis	735.2	646.5	580.6	524.4	498.0
Diabetes mellitus no insulino dependiente (Tipo II)	287.2	291.3	308.6	365.0	384.0
Varicela	377.1	235.5	282.7	307.0	365.8
Gingivitis y enfermedad periodontal	ND	ND	ND	276.0	350.0
Candidiasis urogenital	302.5	325.8	354.8	346.3	330.9
Asma y estado asmático	261.0	275.2	274.6	289.1	289.5
Intoxicación por picadura de alacrán	ND	221.7	231.7	233.4	218.5
Faringitis y amigdalitis estreptocócicas	ND	ND	ND	573.9	201.7

NOTA: Con base en el último año se consideran los quince principales casos nuevos de enfermedades.

ND. No disponible.

FUENTE: SSA. SUIVE. Dirección General de Epidemiología [www.dgepi.salud.gob.mx](http://www.dgepi.salud.gob.mx) (24 febrero del 2006).

---

---

## 2. ANTECEDENTES

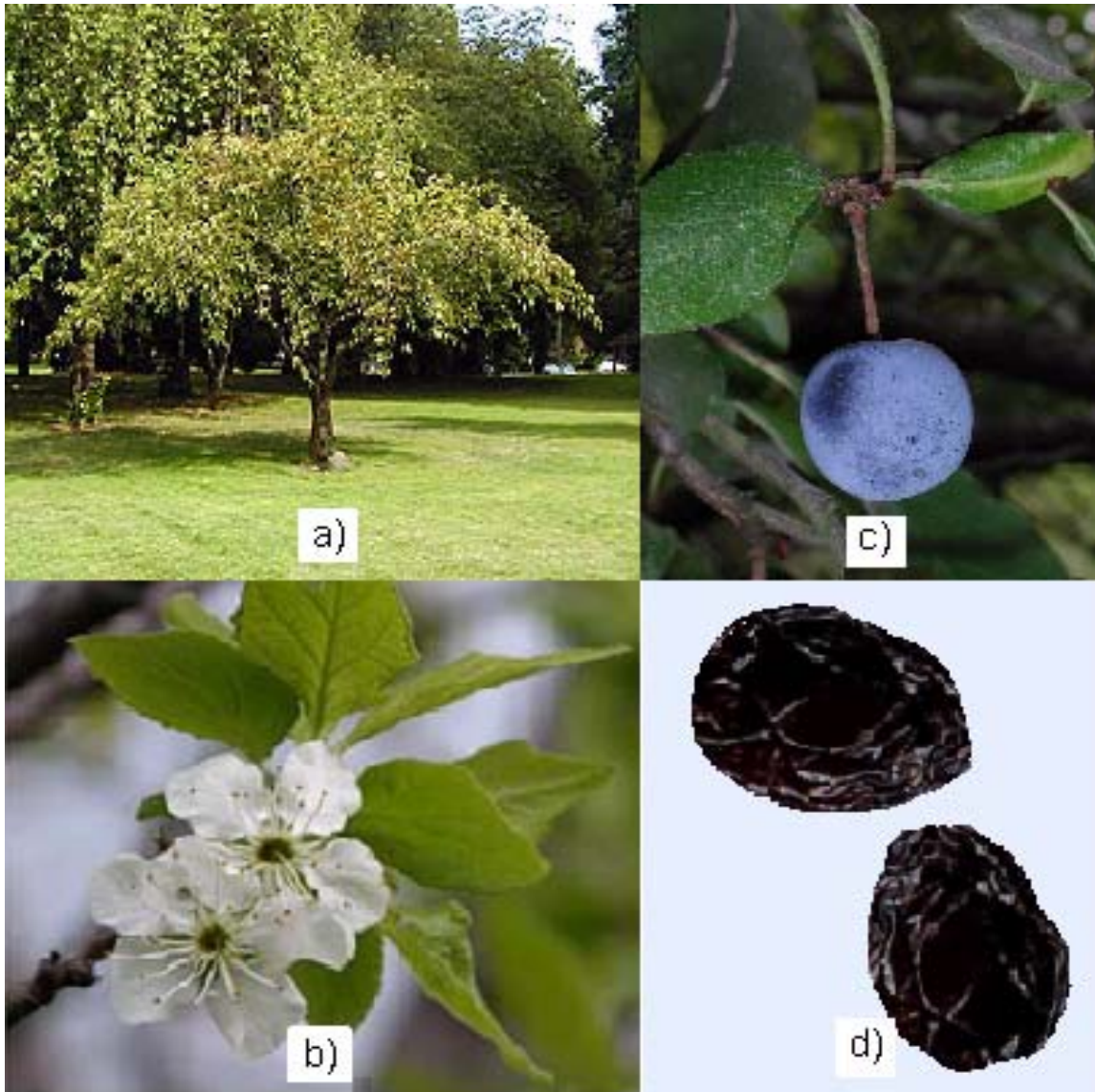
### 2.1 Antecedentes etnobotánicos y botánicos de *Prunus domestica* L.

*Prunus domestica* L., perteneciente a la familia de las rosáceas y conocido como ciruelo europeo o ciruelo, es un árbol de limitado desarrollo, ramoso, que alcanza alturas de 4-5 m. Posee hojas caducas, pecioladas, opuestas, lisas, oblongas, dentadas, de matiz verde oscuro por el haz y más claro y vellosas por el envés. Sus flores pequeñas, pedunculadas, y de color blanco, están reunidas en corimbos axilares y terminales. Florece en primavera y produce frutos globosos, druposos, ovales, de varios colores y comestibles, comúnmente llamados “ciruelas” en México; “pruneau d’Ente” en Francia y “plums”, en Estados Unidos (Juscafresa, 1995; Stacewicz-Sapuntzakis *et al.*, 2001; CPB, 2000). El ciruelo es cultivado principalmente en países de clima templado y se clasifica con base en su época de floración, o bien, por el contenido de azúcares, consistencia de la pulpa, forma y color de sus frutos (ASERCA, 2001). Otras clasificaciones incluyen la capacidad de soportar los procesos de deshidratación de los frutos frescos, de tal manera que los frutos secos reciben el nombre de “ciruelas pasa”, “preneau d’Agen” y “prune plums” o “dried plums” en español, francés e inglés, respectivamente (ASERCA, 2001; Stacewicz-Sapuntzakis *et al.*, 2001; CPB, 2000). Ver Figura 1.

En el mundo existe una amplia diversidad de ciruelas y entre sus distintos orígenes se encuentra la variedad “Myrobalan”, nativa de la región Caucásica en el oeste de Asia (ASERCA, 2001). Otros autores proponen la cruce entre las dos antiguas especies silvestres, *Prunus cerasifera* Ehrh y *Prunus spinosa* L., produciéndose así, las variedades comerciales que conocemos en nuestros días, las cuales fueron posteriormente cultivadas y propagadas a Europa y otros continentes. De hecho, *Prunus domestica* c.v. de A’gen, propia del sureste de Francia, fue introducida a California por Louis Pellier en 1856 (Stacewicz-Sapuntzakis *et al.*, 2001).

Los principales países productores de ciruela son: China, Estados Unidos, Yugoslavia, Rumania y Alemania, los cuales en su conjunto aportan cerca del 65% de la producción mundial. Más hay que hacer notar que Estados Unidos, en particular el estado de California, destaca por ser el principal productor de ciruela para deshidratar. Para tener

una idea de la importancia, California produce el 99% de ciruela deshidratada para autoconsumo así como el 70% de la producción mundial (ASERCA, 2001).



**Figura 1.** (a) árbol, (b) flores, (c) fruto fresco y (d) fruto deshidratado de *Prunus domestica* L.

La ciruela tiene una amplia variedad de usos, desde el consumo en fresco hasta la obtención de diversos productos a través del procesamiento de la fruta. Es posible obtener licores, destacándose el conocido como “*Silvovica*”, que se produce en Bosnia-Herzegovina. Así mismo la ciruela pasa, es ampliamente demandada dentro de la industria de la repostería (ASERCA, 2001). Además, a partir de ella se producen

mermeladas, ates, jugos y polvos, los cuales son ampliamente conocidos y pueden conseguirse en el mercado (Nergiz *et al.*, 1997).

La ciruela es altamente apreciada en la medicina tradicional de México y otros países principalmente para combatir el estreñimiento, aunque también se les ha empleado contra la diarrea, tos y úlceras bucales (Stacewicz-Sapuntzakis *et al.*, 2001). En la india, la combinación de las ciruelas y otras plantas medicinales se usa para el tratamiento de leucorrea, menstruación irregular y malestares posteriores al aborto (Fang *et. al*, 2002).

## **2.2 Estudios biológicos de *Prunus domestica* L.**

Las ciruelas deshidratadas y productos derivados de ellas producen efectos biológicos, algunos de ellos atribuidos a la presencia de minerales como el sodio y el potasio, que en conjunto, mejoran los problemas de hipertensión (Dikeman *et al.*, 2004). Además la preservación y regeneración del hueso en mujeres posmenopáusicas y ratas ovariectomizadas es debida a la acción combinada del cobre, boro, calcio y selenio (Arjmandi, 2001; Arjmandi *et al.*, 2002). Por otra parte, el contenido de fibra dietética y la presencia de sorbitol (un azúcar característico del género *prunus*) se relaciona con la regulación de la salud intestinal y con el efecto laxante. Al respecto, estudios recientes utilizando modelos animales y humanos han demostrado que el consumo de ciruelas pasa así como el jugo de las mismas, aumentan el contenido de humedad y suavidad en las heces, fenómenos que pueden ser explicados por la baja absorción del sorbitol y su habilidad para retener la humedad (propiedad conocida y ampliamente utilizada en la industria alimenticia y cosmética) (Stacewicz-Sapuntzakis *et al.*, 2001). Asimismo, la combinación de glucosa, fructosa y sorbitol con cantidades significativas de fibra dietética tienen una influencia benéfica sobre el metabolismo de los azúcares y control de la diabetes ya que reducen la concentración de glucosa sanguínea (Dikeman *et al.*, 2004; Stacewicz-Sapuntzakis *et al.*, 2001). Las ciruelas pasa también contienen compuestos fenólicos responsables de sus propiedades antioxidantes (Del Caro *et al.*, 2004). Algunos estudios vinculan estas propiedades a la presencia de los ácidos clorogénico y neoclorogénico, los cuales inhiben la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) *in vitro* (Chun *et al.*, 2003). En general, los compuestos fenólicos desempeñan un papel relevante como agentes captadores de radicales libres, y por lo tanto están vinculados con la prevención de enfermedades relacionadas a la edad, además, juegan

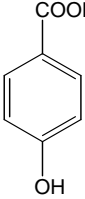
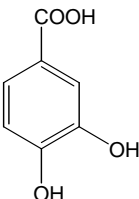
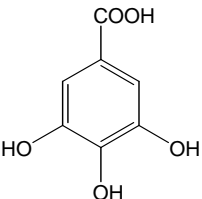
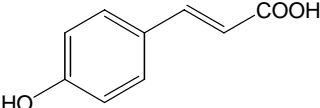
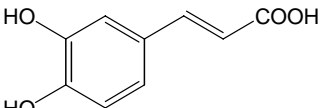
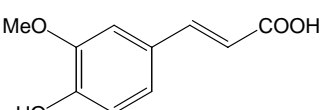
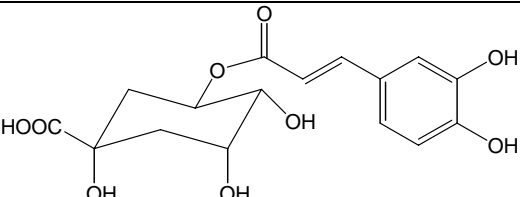
un importante papel en el metabolismo de la glucosa, prevención del cáncer, inhibición de la proteasa tipo I del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y sobre todo, poseen una potente actividad antimicrobiana (Fang *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2003). En este contexto, extractos preparados a partir de ciruelas han demostrado actividad antiviral, antifúngica y antibacteriana, especialmente contra el virus de la poliomielitis, el hongo *Scopulariopsis spp* y las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (Stacewicz-Sapuntzakis *et al.*, 2001).

### **2.3 Estudios químicos de *Prunus domestica L.***

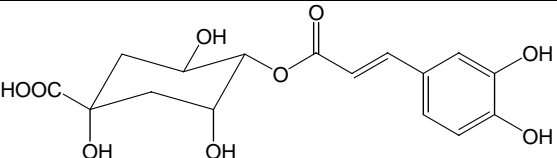
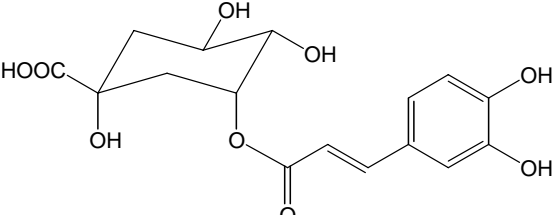
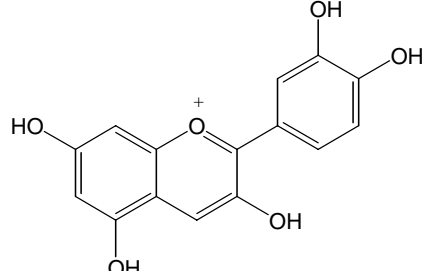
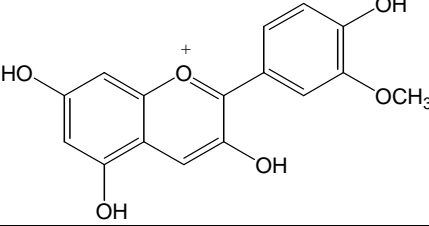
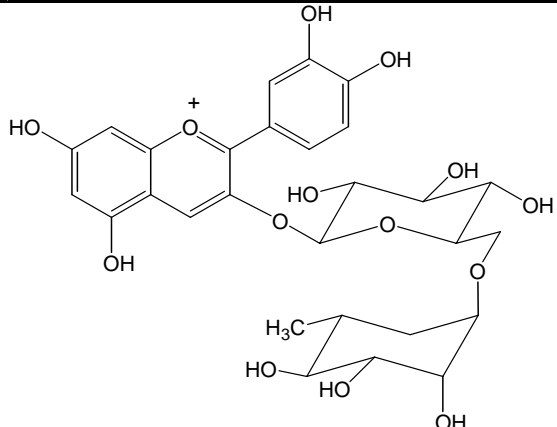
Los estudios fitoquímicos de *Prunus domestica* han permitido el aislamiento y caracterización de diversos compuestos, algunos de los cuales se muestran en el Cuadro 1. Las cantidades de cada uno de estos compuestos para las diferentes presentaciones comerciales y los compuestos reportados en distintas variedades se resumen en las Tablas 2 y 3, respectivamente. Es importante señalar que las cantidades pueden variar de acuerdo a las condiciones climáticas, el grado de madurez del fruto en la cosecha y el empleo de pesticidas, o bien, pueden concentrarse, alterarse o destruirse durante el proceso de deshidratación del fruto fresco y almacenamiento de los productos comerciales (Stacewicz-Sapuntzakis *et al.*, 2001; Dikeman *et al.*, 2004; Lombardi-Boccia *et al.*, 2004). Tal es el caso de las antocianinas, las cuales están presentes en los frutos frescos (excepto en las ciruelas amarillas) y su ausencia es característica de los frutos deshidratados. La disminución significativa de flavonoides, principalmente derivados de la quercetina, está relacionada a las reacciones de oxidación, mientras que las variaciones en el contenido de ácidos hidroxicinámicos puede deberse a la actividad enzimática de la PPO (polifenol oxidasa) durante el almacenamiento del producto (Chun *et al.*, 2003; Piga *et al.*, 2003; Del Caro *et al.*, 2004). Finalmente, la formación de artefactos y compuestos de alto peso molecular son debidos al calentamiento de los azúcares durante períodos prolongados (Stacewicz-Sapuntzakis *et al.*, 2001).



**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios reportados de la especie *Prunus domestica* L.

<b>A. ÁCIDOS FENÓLICOS SIMPLES</b>		
<b>Nombre químico</b>	<b>Estructura</b>	<b>Referencia</b>
ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico		Fang <i>et al.</i> , 2002
ácido protocatequico		Fang <i>et al.</i> , 2002
ácido gálico		Fang <i>et al.</i> , 2002
<b>B. ÁCIDOS HIDROXICINÁMICOS</b>		
<b>Nombre químico</b>	<b>Estructura</b>	<b>Referencia</b>
ácido <i>p</i> -cumárico		Del Caro <i>et al.</i> , 2004 Fang <i>et al.</i> , 2002
ácido caféico		Del Caro <i>et al.</i> , 2004 Fang <i>et al.</i> , 2002
ácido ferúlico		Fang <i>et al.</i> , 2002
ácido clorogénico		Del Caro <i>et al.</i> , 2004 Fang <i>et al.</i> , 2002 Piga <i>et al.</i> , 2003

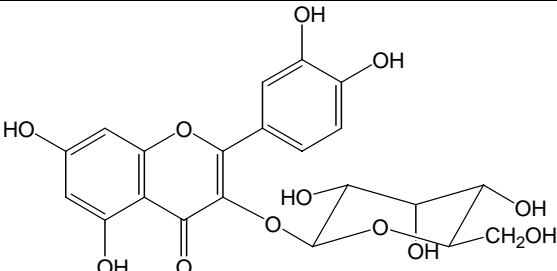
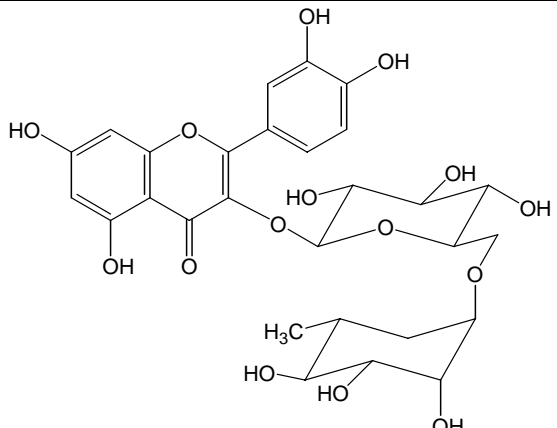
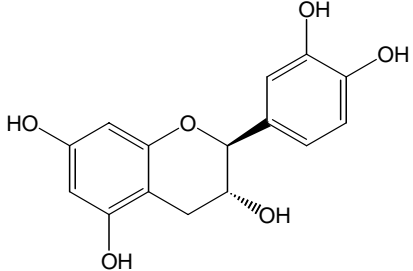
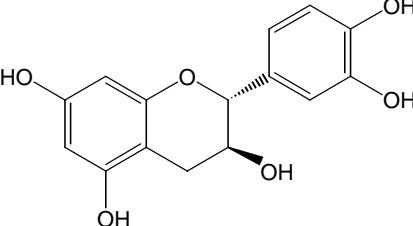
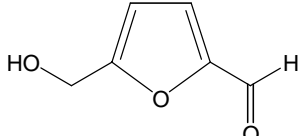
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios reportados de la especie *Prunus domestica* L. (continuación).

<b>B. ÁCIDOS HIDROXICINÁMICOS</b>		
<b>Nombre químico</b>	<b>Estructura</b>	<b>Referencia</b>
ácido criptoclorogénico		Fang <i>et al.</i> , 2002
ácido neoclorogénico		Del Caro <i>et al.</i> , 2004 Fang <i>et al.</i> , 2002 Piga <i>et al.</i> , 2003
<b>C. ANTOCIANINAS</b>		
<b>Nombre químico</b>	<b>Estructura</b>	<b>Referencia</b>
cianidina		Chun <i>et al.</i> , 2003 Piga <i>et al.</i> , 2003
peonidina		Chun <i>et al.</i> , 2003 Piga <i>et al.</i> , 2003
<b>D. ANTOCIANINAS</b>		
<b>Nombre químico</b>	<b>Estructura</b>	<b>Referencia</b>
3-O-rutinósido de cianidina		Chun <i>et al.</i> , 2003 Piga <i>et al.</i> , 2003

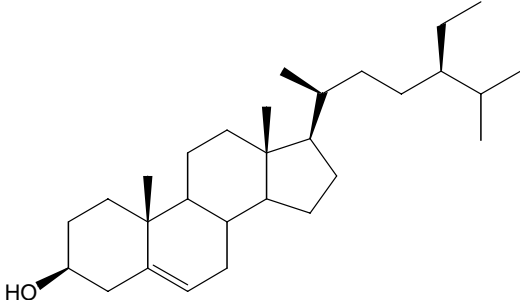
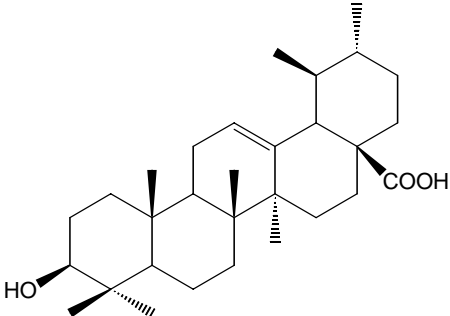
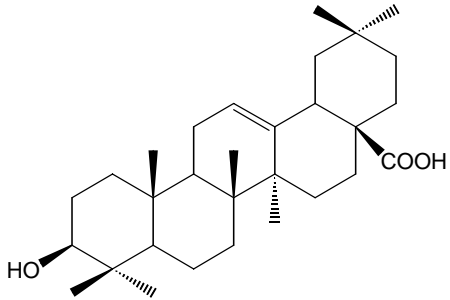
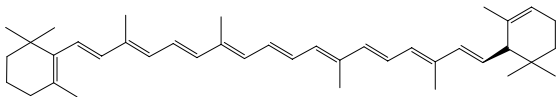
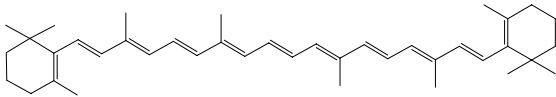
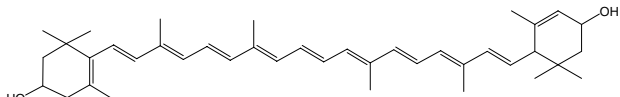
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios reportados de la especie *Prunus domestica* L. (continuación).

<b>D. ANTOCIANINAS</b>		
<b>Nombre químico</b>	<b>Estructura</b>	<b>Referencia</b>
3-O-glucósido de cianidina		Chun <i>et al.</i> , 2003 Piga <i>et al.</i> , 2003
3-O-rutinósido de peonidina		Chun <i>et al.</i> , 2003 Piga <i>et al.</i> , 2003
3-O-glucósido de peonidina		Chun <i>et al.</i> , 2003 Piga <i>et al.</i> , 2003
<b>E. FLAVONOIDES</b>		
<b>Nombre químico</b>	<b>Estructura</b>	<b>Referencia</b>
quercetina		Chun <i>et al.</i> , 2003 Kim <i>et al.</i> , 2003
3-O-glucósido de quercetina		Chun <i>et al.</i> , 2003 Kim <i>et al.</i> , 2003

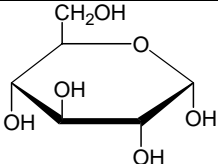
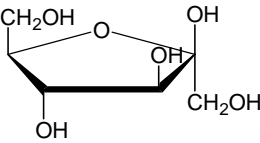
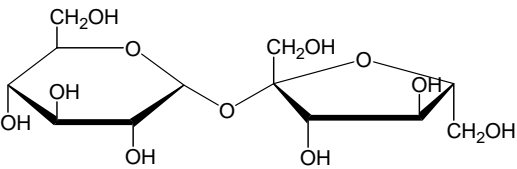
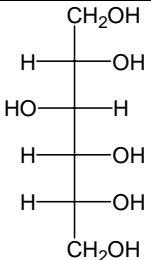
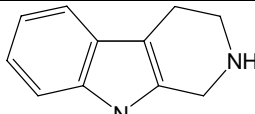
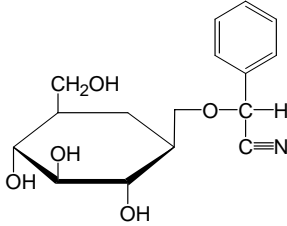
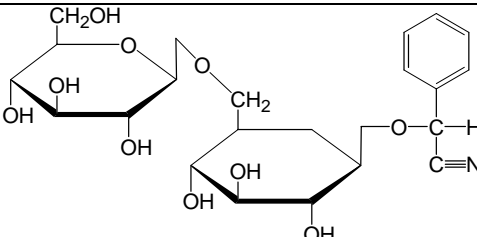
**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios reportados de la especie *Prunus domestica* L. (continuación).

<b>E. FLAVONOIDES</b>		
<b>Nombre químico</b>	<b>Estructura</b>	<b>Referencia</b>
3-O-galactósido de quercetina		Chun <i>et al.</i> , 2003 Kim <i>et al.</i> , 2003
3-O-rutinósido de quercetina		Chun <i>et al.</i> , 2003 Kim <i>et al.</i> , 2003
<b>F. CATEQUINAS</b>		
<b>Nombre químico</b>	<b>Estructura</b>	<b>Referencia</b>
(+)-catequina		Piga <i>et al.</i> , 2003
(-)-epicatequina		Piga <i>et al.</i> , 2003
<b>G. ALDEHÍDOS</b>		
<b>Nombre químico</b>	<b>Estructura</b>	<b>Referencia</b>
5-(hidroximetil)-2-furfural		Fang <i>et al.</i> , 2002

**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios reportados de la especie *Prunus domestica* L. (continuación).

<b>H. TERPENOIDES Y ESTEROIDES</b>		
<b>Nombre químico</b>	<b>Estructura</b>	<b>Referencia</b>
$\beta$ -sitosterol		Stacewicz-Sapuntzakis <i>et al.</i> , 2001
ácido ursólico		Stacewicz-Sapuntzakis <i>et al.</i> , 2001
ácido oleanólico		Stacewicz-Sapuntzakis <i>et al.</i> , 2001
<b>I. CAROTENOIDES</b>		
<b>Nombre químico</b>	<b>Estructura</b>	<b>Referencia</b>
$\alpha$ -caroteno		Stacewicz-Sapuntzakis <i>et al.</i> , 2001
$\beta$ -caroteno		Stacewicz-Sapuntzakis <i>et al.</i> , 2001
luteína		Stacewicz-Sapuntzakis <i>et al.</i> , 2001

**Cuadro 1.** Metabolitos secundarios reportados de la especie *Prunus domestica* L. (continuación).

<b>J. AZÚCARES</b>		
<b>Nombre químico</b>	<b>Estructura</b>	<b>Referencia</b>
glucosa		Dikeman <i>et al.</i> , 2004 Stacewicz-Sapuntzakis <i>et al.</i> , 2001
fructosa		Dikeman <i>et al.</i> , 2004 Stacewicz-Sapuntzakis <i>et al.</i> , 2001
sacarosa		Dikeman <i>et al.</i> , 2004 Stacewicz-Sapuntzakis <i>et al.</i> , 2001
sorbitol		Forni <i>et al.</i> , 1992
<b>K. ALCALOIDES</b>		
<b>Nombre químico</b>	<b>Estructura</b>	<b>Referencia</b>
tetrahidro-β-carbolina		Stacewicz-Sapuntzakis <i>et al.</i> , 2001
<b>L. GLUCÓSIDO CIANOGENICOS</b>		
<b>Nombre químico</b>	<b>Estructura</b>	<b>Referencia</b>
prunasina		Stacewicz-Sapuntzakis <i>et al.</i> , 2001
amigdalina		Stacewicz-Sapuntzakis <i>et al.</i> , 2001

**Tabla 2.** Composición química de algunos productos comerciales de *Prunus domestica* L. (por cada 100 g)

<b>COMPONENTE</b>	<b>CIRUELA FRESCA</b>	<b>CIRUELA DESHIDRATADA</b>	<b>JUGO DE CIRUELA DESHIDRATADA</b>
agua	78.0 g	32.4 g	81.2 g
<b>carbohidratos</b>	21.0 g	62.7 g	17.5 g
<b>proteínas</b>	0.8 g	2.6 g	0.6 g
<b>aminoácidos</b>	0.18 g	0.53 g	0.14 g
<b>lípidos</b>	0.2 g	0.5 g	0.03 g
<b>azúcares</b>			
glucosa	6.1 g	23.1 g	9.6 g
fructosa	3.4 g	13.1 g	6.2 g
sacarosa	4.5 g	0.6 g	-
sorbitol	5.4 g	14.7 g	6.1 g
<b>fibra dietética</b>			
pectina	0.76 g	2.1 g	0.01 g
celulosa	0.23 g	0.9 g	-
hemicelulosa	-	3.0 g	-
lignina	0.30 g	0.2 g	-
<b>minerales</b>			
calcio	14 mg	51 mg	12 mg
hierro	0.4 mg	2.5 mg	1.2 mg
magnesio	10 mg	45 mg	14 mg
fósforo	18 mg	79 mg	25 mg
potasio	221 mg	745 mg	276 mg
sodio	1.7 mg	4 mg	4 mg
zinc	0.1 mg	0.5 mg	0.2 mg
cobre	0.09 mg	0.4 mg	0.07 mg
manganeso	0.08 mg	0.2 mg	0.15 mg
boro	0.45 mg	2.2 mg	0.6 mg
<b>carotenoides</b>			
luteína	240 g	120 g	37 µg
α-caroteno	-	31 g	10 µg
β-caroteno	430 µg	140 g	43 µg

**Tabla 2.** Composición química de algunos productos comerciales de *Prunus domestica L.* (por cada 100 g)

COMPONENTE	CIRUELA FRESCA	CIRUELA DESHIDRATADA	JUGO DE CIRUELA DESHIDRATADA
<b>vitaminas</b>			
ácido ascórbico (C)	9.5 mg	3.3 mg	4.1 mg
tiamina (B1)	0.04 mg	0.08 mg	0.02 mg
riboflavina (B2)	0.10 mg	0.16 mg	0.07 mg
niacina (B3)	0.5 mg	2.0 mg	0.8 mg
ácido pantoténico	0.18 mg	0.46 mg	-
piridoxina (B6)	0.08 mg	0.28 mg	-
folato	2.2 µg	3.7 µg	0.4 µg
vitamina A	717 IU	259 IU	80 IU
α-tocoferol (E)	0.85 mg	1.76 mg	-
<b>ácidos orgánicos</b>			
ácido málico	0.3 g	1.1 g	0.1 g
ácido quínico	0.2 g	0.4 g	0.7 g
ácido salicílico	0.0001 g	0.0012 g	-
<b>compuestos fenólicos</b>			
ácido neoclorogénico	81 mg	131 mg	22.5 mg
ácido clorogénico	14.4 mg	44 mg	19.3 mg
ácido cafeico	-	0.9 mg	0.3 mg
ácido cumárico	-	1.0 mg	0.4 mg
antocianinas	7.6 mg	-	-
catequinas	5.4 mg	-	-
rutina	2.5 mg	3.3 mg	0.4 mg
<b>ácido sórbico</b> (conservador)	-	82 mg	-
<b>hidroximetilfurfural</b> (artefacto)	-	22 mg	53 mg

UI. Unidades Internacionales.

Adaptado de Stacewicz-Sapuntzakis *et al.*, 2001



**Tabla 3.** Compuestos encontrados en distintas variedades de ciruelas.

PRODUCTO		VARIEDAD	
Jugo de ciruela deshidratada		Para la mayoría de las variedades	
COMPUESTOS			
aminoácidos			
ácido $\alpha$ -amino adípico	<i>o</i> -fosfo-etanolamina	metionina	
ácido- $\alpha$ -aminobutírico	glicina	ornitina	
ácido- $\beta$ -aminobutírico	glutamina	prolina	
alanina	hidroxiprolina	serina	
$\beta$ -alanina	histidina	taurina	
arginina	1-metil-L-histidina	tirosina	
cisteína	isoleucina	treonina	
citrulina	leucina	triptófano	
fenilalanina	lisina	valina	
<i>o</i> -fosfo-L-serina			
PRODUCTO		VARIEDAD	
Fruto deshidratado		Francesa	Italiana
COMPUESTOS			
carotenoides			
$\alpha$ -caroteno	fitoeno*	neoxantina	
$\beta$ -caroteno	fitoflueno	persicacromo	
anteraxantina	luteína	persicaxantina	
criptoflavina*	luteoxantina*	violaxantina	
criptoxantina	mutatocromo*	violaxantal**	
5,6-epóxido de la criptoxantina	mutatoxantina	zeaxantina	
5´6´-epóxido de la criptoxantina **			
*ausentes en la variedad Francesa			
** ausentes en la variedad Italiana			

**Tabla 3.** Compuestos encontrados en distintas variedades de ciruelas (*continuación*).

PRODUCTO		VARIEDAD	
Ciruelo fresco		Blackamber	
COMPUESTOS			
compuestos volátiles			
$\alpha$ -copaeno	2,6- <i>bis</i> -(1,1-dimetil)-2,5-ciclohexadieno-1,4-diona	(E)-2-hexen-1-ol	
$\alpha$ -terpineol	2,6- <i>bis</i> -(1,1-dimetil)-4-etilfenol	(Z)-3-hexenilhexanoato	
$\beta$ -ciclocitral	2-etilhexanol	hexilacetato	
$\beta$ -ionona	etiloctanoato	isoborneol	
$\beta$ -pineno	estireno	isoforona	
$\gamma$ -decalactona	fenilacetaldehído	limoneno	
$\gamma$ -dodecalactona	geranilacetona	linanol	
acetofenona	(E,E)-2,4-heptadienal	1-metilciclopentanol	
butilacetato	hexanal	9-metil-5-undeceno	
bornilacetato	hexanol	naftaleno	
BHT (butilhidroxitolueno)	2-hexanona	nerol	
citral metil acetal	3-hexanona	nonanal	
(E, Z)-2,4-decadienal	(E)-2-hexenal	tetradecano	
dietilftalato	(Z)-2-hexenilacetato	3-tetradeceno	
1,4-dimetilbenceno	(Z)-3-hexenilacetato	1,2,3-trimetilbenceno	
2,3-dimetil-2-penteno	(E)-2-hexenilbutanoato	2,2,8-trimetildecano	
2,4-dimetil-2-deceno	(Z)-3-hexenilbutanoato	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	
2,5-dimetil-2-undeceno	(Z)-3-hexen-1-ol	undecenal	
3,8-dimetilundecano			

**Tabla 3.** Compuestos encontrados en distintas variedades de ciruelas (*continuación*).

PRODUCTO		VARIEDAD	
Ciruela deshidratada		d'Ente	Golden Egg
COMPUESTOS			
componentes de la cera			
ácido oleanólico		cetonas (C <sub>29</sub> -10-ona)*	
ácido ursólico*		esteres de ácidos (C <sub>16</sub> , C <sub>18</sub> , C <sub>24</sub> , C <sub>28</sub> )	
ácidos grasos (C <sub>28</sub> , C <sub>29</sub> )		esteres de alcoholes (C <sub>24</sub> , C <sub>26</sub> , C <sub>28</sub> )	
alcoholes primarios (C <sub>24</sub> , C <sub>26</sub> , C <sub>28</sub> )		esteroles (β-sitosterol)**	
alcoholes secundarios (C <sub>29</sub> -10-ol, C <sub>27</sub> -8-ol)		hidrocarburos (C <sub>29</sub> )	
aldehídos (nonanal)*			
*ausentes en la variedad d'Ente			
** ausentes en la variedad Golden Egg			

Adaptado de Stacewicz-Sapuntzakis *et. al.*, 2001

## 2.4 ENFERMEDADES ORALES

### 2.4.1 Definición y su relación con la nutrición

De acuerdo a la OMS, una enfermedad bucal u oral es aquella que afecta el estado de la boca, es decir, la lengua, los dientes y las glándulas salivales que ejercen normalmente todas sus funciones, siendo, la caries dental, la periodontitis y los cánceres oral y faríngeo los padecimientos orales más representativos. De manera general, estas enfermedades son ocasionadas por una alimentación desordenada desde los primeros años de vida, misma que se caracteriza por una elevada ingesta o combinación de bebidas y alimentos ácidos, pegajosos, ricos en grasas saturadas, azúcares y otros carbohidratos fermentables. A ello se suma la deficiencia del grado de higiene bucal, la vida sedentaria, los desórdenes alimenticios (anorexia y bulimia), las enfermedades agudas, crónicas y sistémico terminales que tenga cada individuo, las cuales pueden provocar la erosión del diente, debilitándolo y aumentando los riesgos de caries. Al respecto, declaraciones de la Asociación Dietética Americana (ADA) señalan que la

nutrición es un componente integral de la salud oral y que las enfermedades infecciosas orales tales como la caries y EP están directamente influenciadas por la dieta, por lo que existen pocas dudas de que las enfermedades bucales, tales como las sufrimos actualmente sean producto de los efectos de la civilización y el cambio en el estilo del régimen alimenticio que determina su prevalencia. Un punto de mejora para una buena salud oral es considerar todas estas propiedades cariogénicas y cariostáticas de los alimentos, modificando tanto los hábitos dietéticos como las prácticas de higiene bucal mediante el empleo de pasta dental con fluoruro, el uso de hilo dental y visitas regulares al dentista (WHO, 2004; ADA, 2003).

#### **2.4.2 Microorganismos de la cavidad oral**

La flora en la cavidad oral está compuesta por bacterias, hongos y levaduras. De estos organismos las bacterias representan la mayor parte. En la boca se han identificado aproximadamente 350 especies de bacterias y este número continúa incrementándose debido a los avances recientes en biología molecular. Uno de los factores que permite la existencia de este número de microorganismos es la gran diversidad de ambientes *intra*-orales presentes. En la cavidad oral se pueden encontrar diferentes poblaciones en la mucosa, las superficies paraqueratinizadas de la mucosa (detrás de los labios y las mejillas, el paladar, la partes inferiores de la lengua y de la boca), tejidos altamente queratinizados (interior del paladar, tejidos gingivales visibles adyacentes a los dientes) y en el altamente queratinizado, texturizado y especializado dorso de la lengua. Los dientes por si mismos contienen grupos de microorganismos, en las superficies adyacentes a la gingiva, en las superficies cubiertas por la gingiva (*gingival sulcus*) y dentro de las superficies irregulares de los dientes. Si se encuentran presentes, las prótesis para reemplazar los dientes ofrecen nichos. Muchos de los microorganismos orales se encuentran presentes en la saliva, que es excretada por las glándulas sublinguales, submandibulares y las pequeñas glándulas accesorias ubicadas en los labios, las mejillas y el paladar. El Cuadro 2 muestra los géneros y las especies de microorganismos aislados de la cavidad oral, algunos de los cuales están directamente relacionados a las caries y EP, mientras que otros son transitorios o bien, forman parte de la microflora oral (Liébana, 2002).

**Cuadro 2.** Microorganismos aislados de la cavidad oral.

<b>GÉNERO</b>	<b>ESPECIE</b>
<i>Abiotrophia</i>	<i>A. defectiva</i> y <i>A. adiacens</i>
<i>Actinobacillus</i>	<i>A. actinomycetemcomitans</i> **
<i>Actinomyces</i> ***	<i>A. georgiae</i> , <i>A. gerencseriae</i> , <i>A. israelii</i> , <i>A. adontolyticus</i> *, <i>A. naeslundii</i> * y <i>A. viscosus</i>
<i>Alloicoccus</i>	<i>A. otiditis</i>
<i>Bacillus</i>	<i>B. cereus</i>
<i>Bacteroides</i>	<i>B. capillosus</i> y <i>B. forsythus</i> **
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. dentium</i> , <i>B. inopinatum</i> y <i>B. denticolens</i>
<i>Bilophila</i>	<i>B. wadsworthia</i>
<i>Candida</i>	<i>C. albicans</i>
<i>Capnocytophaga</i>	<i>C. gingivalis</i> , <i>C. sputigena</i> y <i>C. ochracea</i>
<i>Cardiobacterium</i>	<i>C. hominis</i>
<i>Centipeda</i>	<i>C. periodontii</i>
<i>Clostridium</i>	<i>C. difficile</i> , <i>C. ramnosum</i> , <i>C. sporogenes</i> y <i>C. malenominatum</i>
<i>Corynebacterium</i>	<i>C. matruchotii</i>
<i>Desulfomonas</i>	<i>D. pigra</i>
<i>Desulfovrio</i>	<i>D. desulfuricans</i>
<i>Eikenella</i>	<i>E. corrodens</i> **
<i>Entamoeba</i>	<i>E. gingivalis</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecalis</i> y <i>E. faecium</i>
<i>Eubacterium</i>	<i>E. brachy</i> , <i>E. nodatum</i> , <i>E. saphenum</i> , <i>E. saburrenum</i> y <i>E. yurii</i>
<i>Fusobacterium</i>	<i>F. alosis</i> y <i>F. periodonticum</i>
<i>Gemella</i>	<i>G. haemolysans</i> y <i>G. morbillorum</i>
<i>Globicatella</i>	<i>G. sanguis</i>
<i>Haemophilus</i>	<i>H. influenzae</i>
<i>Helcococcus</i>	<i>H. kunzii</i>
<i>Simplexvirus</i>	<i>Herpes simplex</i>
<i>Lactobacillus</i> ***	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. salivarius</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. crispatus</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. oris</i> , <i>L. uri</i> , <i>L. casei</i> y <i>L. plantarum</i>

**Cuadro 2.** Microorganismos aislados de la cavidad oral (continuación).

GÉNERO	ESPECIE
<i>Lactococcus</i>	<i>L. lactis</i> y <i>L. garniae</i>
<i>Leptotrichia</i> ***	<i>L. buccalis</i>
<i>Leuconostoc</i>	<i>L. mesenteroides</i>
<i>Mycoplasma</i>	<i>M. salivarium</i> , <i>M. pneumonie</i> , <i>M. hominis</i> , <i>M. bucale</i> y <i>M. orale</i>
<i>Neisseria</i> ***	<i>N. cinerea</i> , <i>N. elongata</i> , <i>N. laveszens</i> , <i>N. lactamica</i> , <i>N. mucosa</i> , <i>N. paraelongata</i> , <i>N. polysaccharea</i> , <i>N. sicca</i> , <i>N. subflava</i> y <i>N. gonorrhoeae</i> (excepcional)
<i>Pediococcus</i>	<i>P. parvulus</i> , <i>P. damnosus</i> y <i>P. dexnitricus</i>
<i>Peptococcus</i>	<i>P. niger</i>
<i>Peptostreptococcus</i> ***	<i>P. anaerobius</i> , <i>P. magnus</i> , <i>P. micros</i> , <i>P. indolicus</i> , y <i>P. prevotii</i>
<i>Porphyromonas</i> ***	<i>P. gingivalis</i> ** , <i>P. endodontalis</i> y <i>P. catoniae</i>
<i>Prevotella</i> ***	<i>P. melaninogenica</i> , <i>P. nigrescens</i> ** , <i>P. corporis</i> , <i>P. intermedia</i> ** , <i>P. loescheii</i> , <i>P. pallens</i> , <i>P. denticola</i> , <i>P. buccae</i> , <i>P. buccalis</i> , <i>P. oris</i> , <i>p. oulorum</i> , <i>P. veroralis</i> , <i>P. zoogloformans</i> , <i>P. dentalis</i> , <i>P. tanneriae</i> y <i>P. enoeca</i>
<i>Propionibacterium</i>	<i>P. acnes</i> , <i>P. avidum</i> , <i>P. propionicus</i> , y <i>P. granulosum</i>
<i>Rothia</i>	<i>R. dentocariosa</i>
<i>Selenomonas</i> ***	<i>S. artemidis</i> , <i>S. diana</i> , <i>S. flueggei</i> , <i>S. infelix</i> , <i>S. noxia</i> y <i>S. sputigena</i>
<i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus</i> y <i>S. epidermidis</i>
<i>Streptococcus</i> ***	<i>S. mutans</i> * , <i>S. rattus</i> , <i>S. cricetus</i> , <i>S. sobrinus</i> * , <i>S. ferus</i> , <i>S. downei</i> , <i>S. macacae</i> , <i>S. sanguis</i> , <i>S. gordonii</i> , <i>S. parasanguis</i> , <i>S. crista</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. anginosus</i> , <i>S. intermedius</i> , <i>S. constellatus</i> , <i>S. salivarius</i> , <i>S. vestibularis</i> , <i>S. pyogenes</i> y <i>S. agalactiae</i>
<i>Treponema</i> ***	<i>T. vincentii</i>
<i>Tricomonas</i>	<i>T. tenax</i>
<i>Veillonella</i> ***	<i>V. parvula</i> , <i>V. atypica</i> y <i>V. dispar</i>

\*Microorganismos directamente relacionados a la formación de placa dento-bacteriana.

\*\* Microorganismos relacionados al desarrollo de enfermedades periodontales.

\*\*\* Géneros más representativos de la flora oral.

Liébana, 2002.

## **2.5 COMPUESTOS ANTIBACTERIANOS**

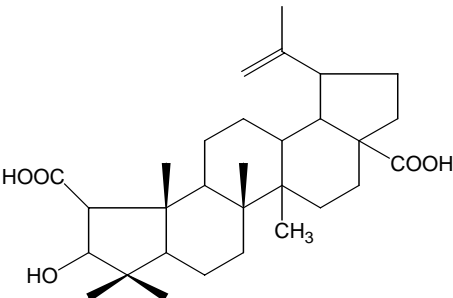
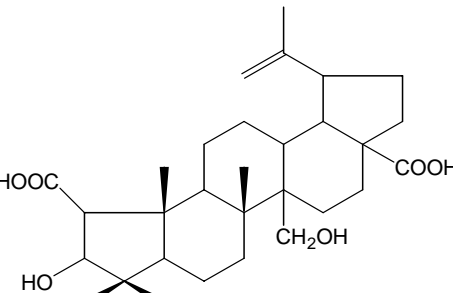
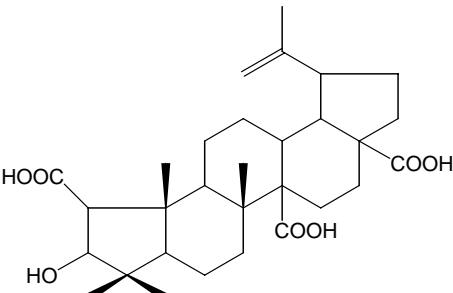
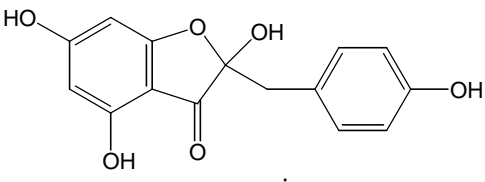
### **2.5.1 Situación actual del empleo de antibióticos**

Desde el descubrimiento de la penicilina por Alexander Fleming en 1928 y su posterior introducción al mercado en los años 40's, los antibióticos han sido la piedra angular contra las infecciones bacterianas, sin embargo su uso inapropiado, como la prescripción empírica, el abastecimiento de antibióticos de mala calidad o la interrupción del tratamiento contra la infección, han originado el incremento de bacterias patógenas resistentes a ellos como un mecanismo de defensa y estrategia de supervivencia de la propia bacteria, mediante el empleo de su maquinaria genética y su adaptación al medio ambiente. Esta circunstancia constituye una de las principales causas de muerte a nivel mundial, sobre todo en aquellas personas de bajos recursos económicos (Gibbons *et al.*, 2004; Lohner, 2001). Aunado a lo anterior, algunos factores como la super-población y la facilidad actual para viajar a diferentes regiones del mundo, favorecen la propagación de los agentes infecciosos. Incluso los rebrotes epidemiológicos de viejas enfermedades como el cólera, la malaria y el dengue, así como las enfermedades nuevas como el SIDA son algunos ejemplos de la actual problemática (FUNCEI, 2004).

### **2.5.2 Compuestos antimicrobianos aislados de plantas**

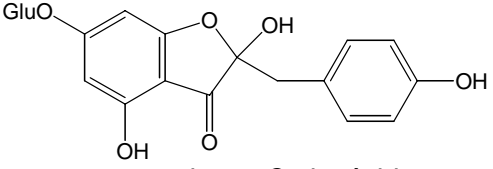
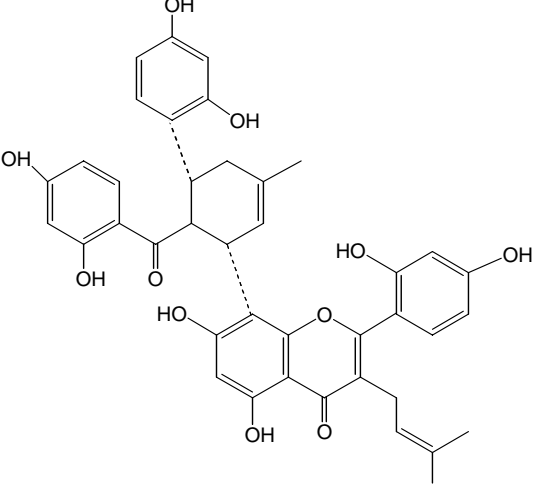
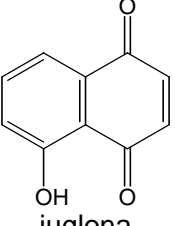
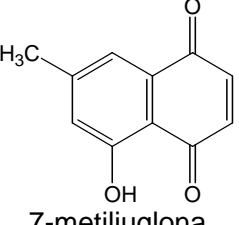
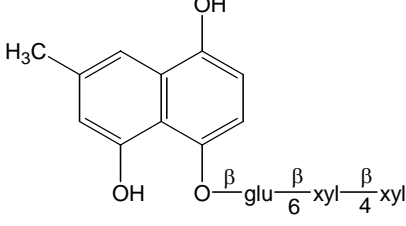
Por muchos años, compuestos derivados de especies vegetales superiores han sido utilizados para prevenir y curar enfermedades y hasta hace poco tiempo se constituían como la mayor fuente de remedios para su tratamiento (Farnsworth *et al.*, 1985), no obstante su importancia disminuyó por el descubrimiento de los antibióticos y el posterior desarrollo de fármacos semisintéticos y sintéticos por parte de las industrias farmacéuticas (Koehn y Carter, 2005). La mayoría de estas drogas vegetales son clasificadas como metabolitos secundarios de los organismos que los producen (Kinghorn *et al.*, 1992) y su aislamiento y caracterización química son de gran importancia medicinal y farmacéutica (Farnsworth *et al.*, 1985; Balandrin *et al.*, 1985; Kinghorn y Balandrin, 1993; Bruneton, 1995). Ver cuadro 3.

**Cuadro 3.** Ejemplos selectos de compuestos antibacterianos orales aislados de plantas.

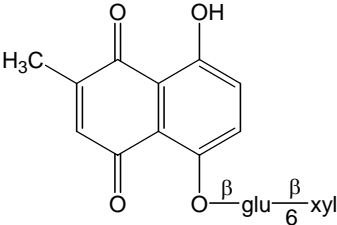
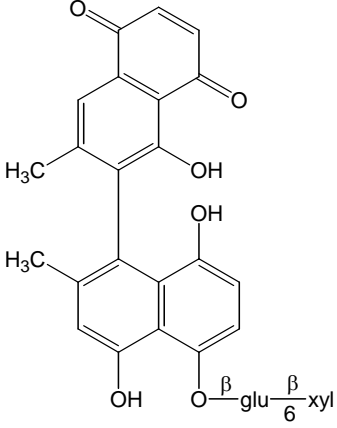
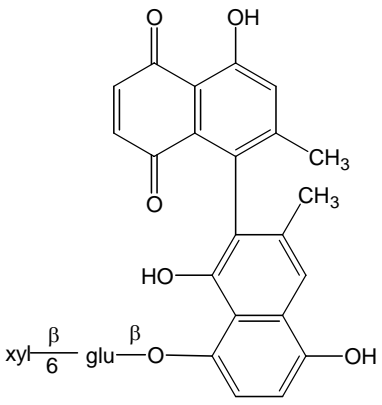
FUENTE	COMPUESTO	REFERENCIA
<p><i>Ceanothus americanus</i> (té de Nueva Jersey)</p>	 <p>ácido ceanótico</p>	<p>Li <i>et al.</i>, 1997</p>
<p><i>Ceanothus americanus</i> (té de Nueva Jersey)</p>	 <p>ácido 27-hidroxiceanótico</p>	<p>Li <i>et al.</i>, 1997</p>
<p><i>Ceanothus americanus</i> (té de Nueva Jersey)</p>	 <p>ácido ceanotétrico</p>	<p>Li <i>et al.</i>, 1997</p>
<p><i>Ceanothus americanus</i> (té de Nueva Jersey)</p>	 <p>maesopsina</p>	<p>Li <i>et al.</i>, 1997</p>



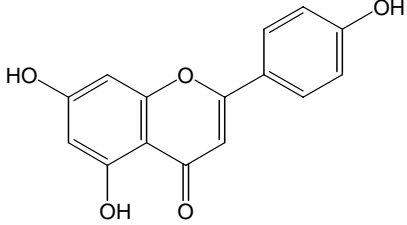
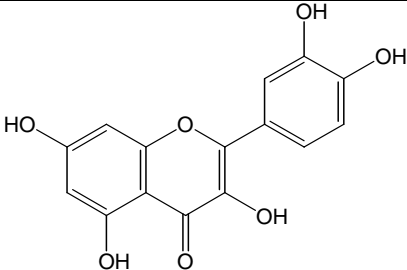
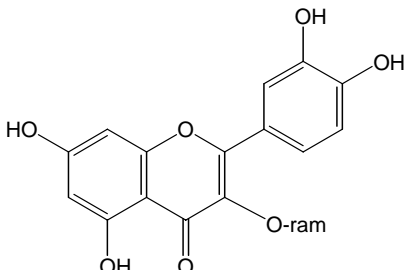
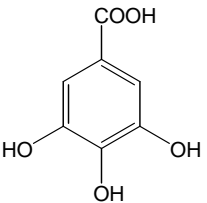
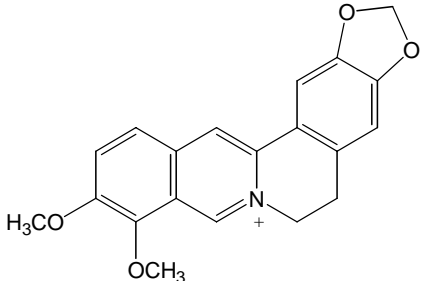
**Cuadro 3.** Ejemplos selectos de compuestos antibacterianos orales aislados de plantas (continuación).

FUENTE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>Ceanothus americanus</i> (té de Nueva Jersey)	 <p>maesopsina-6-O-glucósido</p>	Li <i>et al.</i> , 1997
<i>Morus alba</i> (morera)	 <p>kuwanona G</p>	Park <i>et al.</i> , 2002
<i>Diospyros lycioides</i> (muthala)	 <p>juglona</p>	Cai <i>et al.</i> , 2000
<i>Diospyros lycioides</i> (muthala)	 <p>7-metiljuglona</p>	Cai <i>et al.</i> , 2000
<i>Diospyros lycioides</i> (muthala)	 <p>1,4,5-trihidroxi-7-metilnaftalen-4-O-<math>\beta</math>-xilopiranosil(1<math>\rightarrow</math>4)-<math>\beta</math>-xilopiranosil(1<math>\rightarrow</math>6)-<math>\beta</math>-glucopiranosido.</p>	Cai <i>et al.</i> , 2000

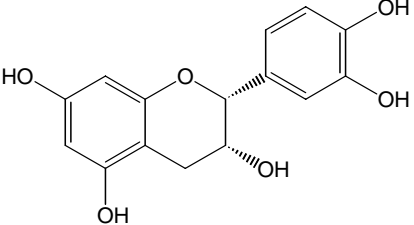
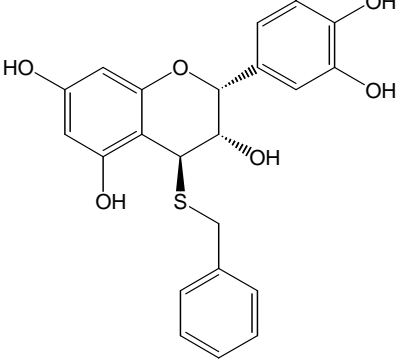
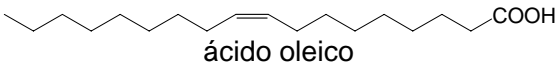
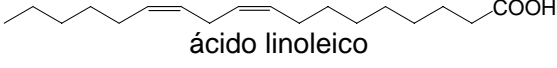
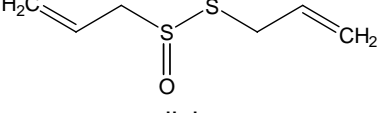
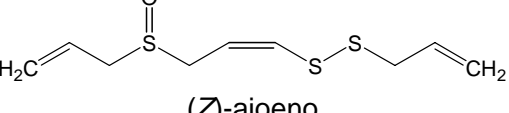
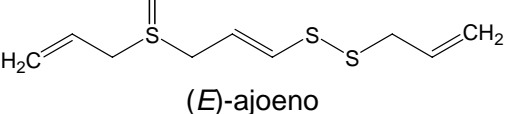
**Cuadro 3.** Ejemplos selectos de compuestos antibacterianos orales aislados de plantas (continuación).

FUENTE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>Diospyros lycioides</i> (muthala)	 <p data-bbox="539 649 1085 716">5,8-dihidroxi-2-metil[1,4]naftoquinona-5-O-<math>\beta</math>-xilopiranosil (1<math>\rightarrow</math>6)-<math>\beta</math>-glucopiranosido</p>	Cai <i>et al.</i> , 2000
<i>Diospyros lycioides</i> (muthala)	 <p data-bbox="574 1220 1069 1332">8,6'-binaftalen-1',4'-ona-7,7'-dimetil-1,4,5,5'-tetrahidroxi-4-O-<math>\beta</math>-xilopiranosil (1<math>\rightarrow</math>6)-<math>\beta</math>-glucopiranosido</p>	Cai <i>et al.</i> , 2000
<i>Diospyros lycioides</i> (muthala)	 <p data-bbox="574 1803 1069 1915">6,8'-binaftalen-1',4'-ona-7,7'-dimetil-1,4,5,5'-tetrahidroxi-4-O-<math>\beta</math>-xilopiranosil (1<math>\rightarrow</math>6)-<math>\beta</math>-glucopiranosido</p>	Cai <i>et al.</i> , 2000

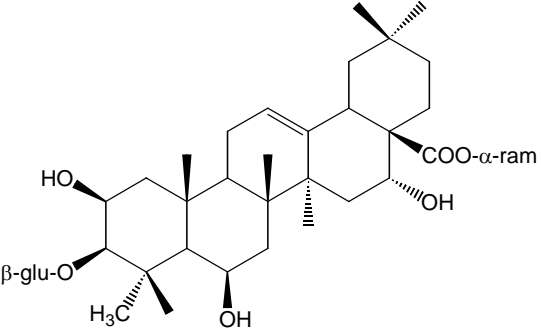
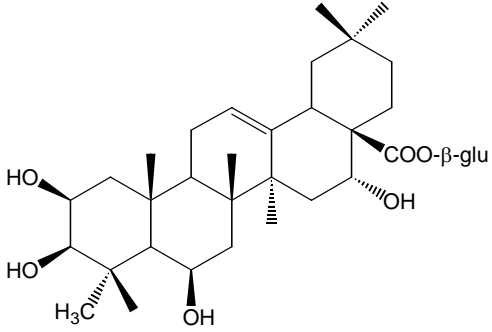
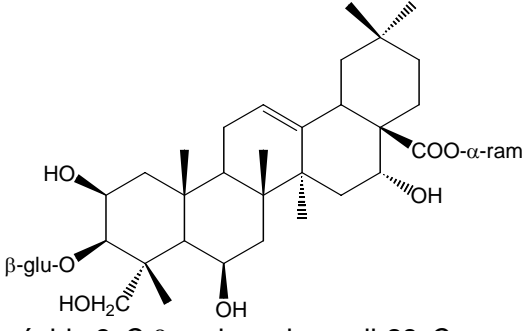
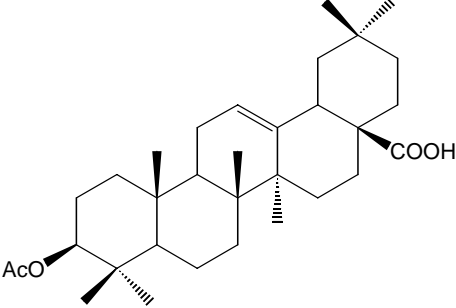
**Cuadro 3.** Ejemplos selectos de compuestos antibacterianos orales aislados de plantas (continuación).

FUENTE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>Polygonum aviculare</i> (sanguinaria)	 <p style="text-align: center;">camferol</p>	González <i>et al.</i> , 1999
<i>Polygonum aviculare</i> (sanguinaria)	 <p style="text-align: center;">quercetina</p>	González <i>et al.</i> , 1999
<i>Polygonum aviculare</i> (sanguinaria)	 <p style="text-align: center;">3-O-ramnósido de quercetina</p>	González <i>et al.</i> , 1999
<i>Polygonum aviculare</i> (sanguinaria)	 <p style="text-align: center;">ácido gálico</p>	González <i>et al.</i> , 1999
<i>Hydrastis canadensis</i> (goldenseal)	 <p style="text-align: center;">berberina</p>	Cowan, 1999

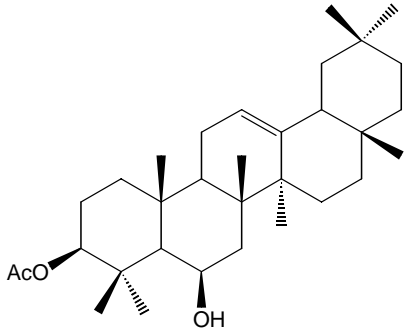
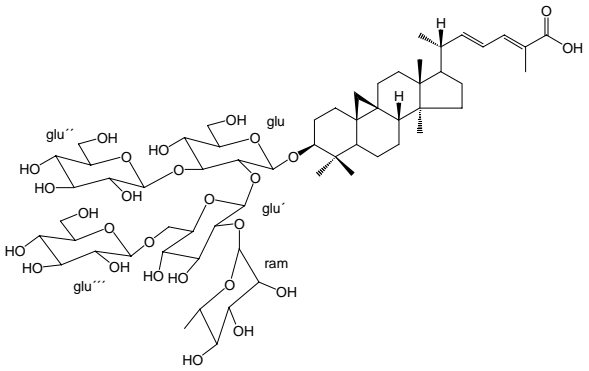
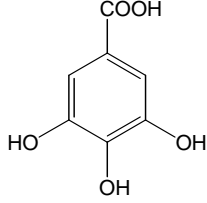
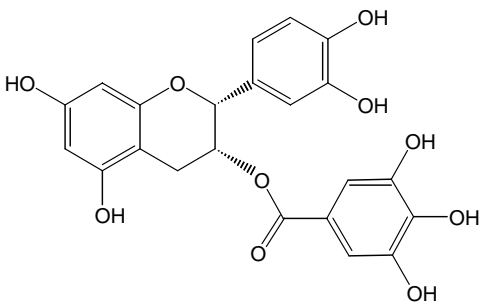
**Cuadro 3.** Ejemplos selectos de compuestos antibacterianos orales aislados de plantas (continuación).

FUENTE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>Theobroma cacao</i> (cacao)	 <p>epicatequina</p>	Oswa <i>et al.</i> , 2001
<i>Theobroma cacao</i> (cacao)	 <p>epicatequina-4-β-benciltioéter</p>	Oswa <i>et al.</i> , 2001
<i>Theobroma cacao</i> (cacao)	 <p>ácido oleico</p>	Oswa <i>et al.</i> , 2001
<i>Theobroma cacao</i> (cacao)	 <p>ácido linoleico</p>	Oswa <i>et al.</i> , 2001
<i>Allium sativum</i> L. (ajo)	 <p>alicina</p>	Weber <i>et al.</i> , 1992 Dorant <i>et al.</i> , 1993
<i>Allium sativum</i> L. (ajo)	 <p>(Z)-ajoeno</p>	Weber <i>et al.</i> , 1992 Dorant <i>et al.</i> , 1993
<i>Allium sativum</i> L. (ajo)	 <p>(E)-ajoeno</p>	Weber <i>et al.</i> , 1992 Dorant <i>et al.</i> , 1993

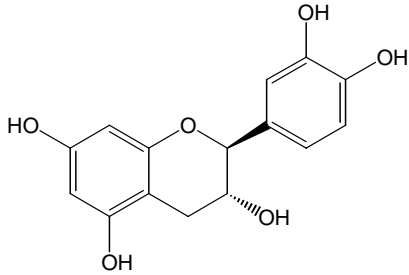
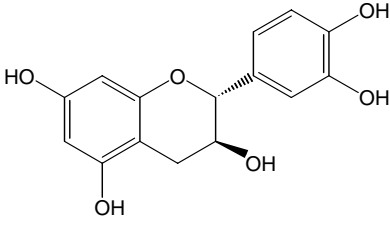
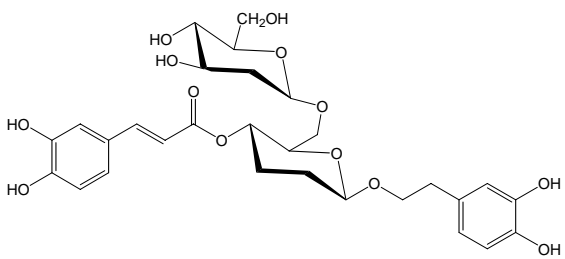
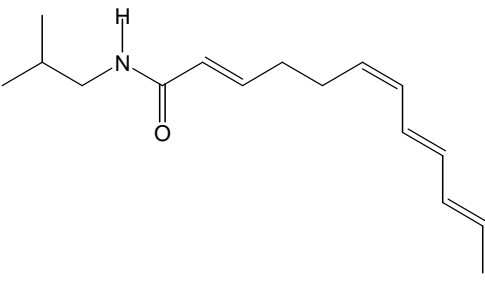
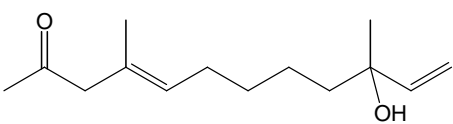
**Cuadro 3.** Ejemplos selectos de compuestos antibacterianos orales aislados de plantas (continuación).

FUENTE	COMPUESTO	REFERENCIA
<p><i>Mussaenda macrophylla</i> (dhobini)</p>	 <p>ácido 3-O-β-D-glucopiranosil-28-O-α-L-ramnopiranosil-16α-hidroxi-23-deoxiprotobásico</p>	<p>Kim <i>et al.</i>, 1999</p>
<p><i>Mussaenda macrophylla</i> (dhobini)</p>	 <p>ácido 28-O-β-D-glucopiranosil-16α-hidroxi-23-deoxiprotobásico.</p>	<p>Kim <i>et al.</i>, 1999</p>
<p><i>Mussaenda macrophylla</i> (dhobini)</p>	 <p>ácido 3-O-β-D-glucopiranosil-28-O-α-L-ramnopiranosil-16α-hidroxi-23-deoxiprotobásico</p>	<p>Kim <i>et al.</i>, 1999</p>
<p><i>Mussaenda macrophylla</i> (dhobini)</p>	 <p>ácido 3-O-acetiloleanólico</p>	<p>Kim <i>et al.</i>, 1999</p>

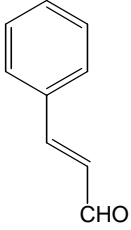
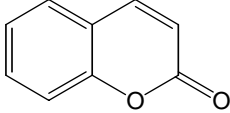
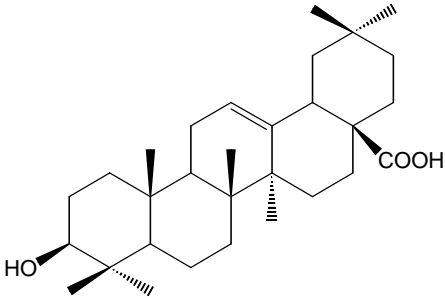
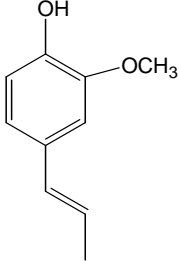
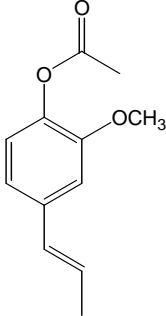
**Cuadro 3.** Ejemplos selectos de compuestos antibacterianos orales aislados de plantas (continuación).

FUENTE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>Mussaenda macrophylla</i> (dhobini)	 <p>3-O-acetildaturadiol</p>	Kim <i>et al.</i> , 1999
<i>Mussaenda macrophylla</i> (dhobini)	 <p>ácido 3-O-[[β-D-glucopiranosil-(1→6)]-O-α-L-ramnopiranosil-(1→2)-O-β-D-glucopiranosil-(1→2)]-O-β-D-glucopiranosil-(1→3)-O-β-D-glucopiranosil-cicloarta-22,24-dien-27-oico</p>	Kim <i>et al.</i> , 1999
<i>Camellia sinensis</i> (te negro y te verde)	 <p>ácido gálico</p>	Cowan, 1999
<i>Camellia sinensis</i> (te negro y te verde)	 <p>galato de epicatequina</p>	Cowan, 1999

**Cuadro 3.** Ejemplos selectos de compuestos antibacterianos orales aislados de plantas (continuación).

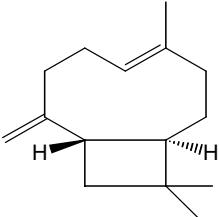
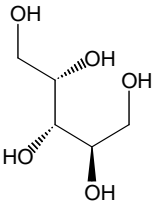
FUENTE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>Camellia sinensis</i> (te negro y te verde)	 <p>(+)-catequina</p>	Cowan, 1999
<i>Camellia sinensis</i> (te negro y te verde)	 <p>(-)-epicatequina</p>	Cowan, 1999
<i>Echinacea purpurea</i> (equinacea)	 <p>equinacósico</p>	Srivastava <i>et al.</i> , 2000
<i>Echinacea purpurea</i> (equinacea)	 <p>equinaceina</p>	Srivastava <i>et al.</i> , 2000
<i>Echinacea purpurea</i> (equinacea)	 <p>equinolona</p>	Srivastava <i>et al.</i> , 2000

**Cuadro 3.** Ejemplos selectos de compuestos antibacterianos orales aislados de plantas (continuación).

FUENTE	COMPUESTO	REFERENCIA
<p><i>Cinnamomum zeylanicum</i> (canela)</p>	 <p>aldehído cinámico</p>	<p>Srivastava <i>et al.</i>, 2000</p>
<p><i>Cinnamomum zeylanicum</i> (canela)</p>	 <p>cumarina</p>	<p>Srivastava <i>et al.</i>, 2000</p>
<p><i>Syzygium aromaticum</i> (clavo)</p>	 <p>ácido oleanólico</p>	<p>Srivastava <i>et al.</i>, 2000 Cowan, 1999</p>
<p><i>Syzygium aromaticum</i> (clavo)</p>	 <p>eugenol</p>	<p>Srivastava <i>et al.</i>, 2000 Cowan, 1999</p>
<p><i>Syzygium aromaticum</i> (clavo)</p>	 <p>acetil eugenol</p>	<p>Srivastava <i>et al.</i>, 2000 Cowan, 1999</p>



**Cuadro 3.** Ejemplos selectos de compuestos antibacterianos orales aislados de plantas (continuación).

FUENTE	COMPUESTO	REFERENCIA
<i>Syzygium aromaticum</i> (clavo)	 $\beta$ -cariofileno	Srivastava <i>et al.</i> , 2000 Cowan, 1999
<i>Betula alba</i> (birch)	 xilitol	Caglar, 2007

### **3. JUSTIFICACIÓN**

El desarrollo de resistencia, la falta de selectividad, la toxicidad y efectos adversos de los antibióticos utilizados con mayor frecuencia, han incrementado el uso de los sistemas tradicionales de medicina como una alternativa para disminuir estos inconvenientes. Las investigaciones para validar el uso de estos sistemas se han enfocado principalmente en el tratamiento y la prevención de enfermedades infecciosas sistémicas mientras que menor atención se ha prestado a las enfermedades orales ocasionadas por bacterias y levaduras. Las enfermedades de la cavidad oral incluyendo las caries dentales y las enfermedades periodontales son los padecimientos que con mayor frecuencia afectan a millones de personas de diferentes edades alrededor del mundo, las cuales resultan en sufrimiento y dolor al hablar o masticar. Además, representan la mayor causa de pérdidas de horas en el trabajo y en las escuelas. Métodos químicos y mecánicos son utilizados para controlar la placa dento-bacteriana, sin embargo, ninguno de los agentes actualmente disponibles en el mercado como enjuagues bucales y pastas dentales que contienen productos derivados de plantas es ideal. Por ello es importante validar la eficacia de algunos de los componentes de estos preparados. Esto justifica la búsqueda y desarrollo de agentes alternos derivados de fuentes vegetales que sean más seguros y efectivos.

## 4. OBJETIVOS

### Objetivo General

El objetivo general del presente proyecto de investigación consiste en evaluar el potencial de la especie *Prunus domestica* L. como remedio para la prevención y tratamiento de enfermedades ocasionadas por bacterias en la cavidad oral.

### 4.1 Objetivos particulares

- Evaluar el potencial antimicrobiano del extracto de diclorometano de *Prunus domestica* sobre la especie cariogénica (*Streptococcus mutans*) y la especie que ocasiona la gingivitis (*Porphyromonas gingivalis*).
- Aislar los compuestos bioactivos mayoritarios mediante la aplicación de procedimientos fitoquímicos convencionales.
- Establecer la estructura molecular de los compuestos aislados mediante la utilización de métodos espectroscópicos y espectrométricos.
- Determinar la actividad antibacteriana de los compuestos sobre *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*.

## 5. PARTE EXPERIMENTAL

### 5.1 PROCEDIMIENTOS GENERALES

#### 5.1.1 Análisis cromatográficos

La cromatografía en columna abierta y la cromatografía en columna al vacío se realizaron sobre gel de sílice Kieselgel 60 Merck con un tamaño de partícula de 0.063-0.200 mm, 70-230 mesh ASTM. Los análisis de cromatografía en capa fina analítica (CCF) se realizaron según las técnicas convencionales, utilizando diversos sistemas de elución y placas de aluminio de diferentes dimensiones, recubiertas con gel de sílice (60 F<sub>254</sub> Merck, malla 3.5-7.0 ASTM) de 0.25 mm de espesor. La visualización de las placas se realizó con luz UV (onda corta, 254 nm y onda larga, 365 nm) y posteriormente fueron reveladas con sulfato cérico amoniacal, seguido de calentamiento (110° C aprox.) hasta la visualización de los compuestos.

La cromatografía preparativa en capa delgada se realizó sobre una placa de vidrio (20 cm x 20 cm) recubierta de gel de sílice (60-254, Merck, 0.25 mm de espesor).

#### 5.1.2 Determinación de las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas

Los estudios de espectroscopia y espectrometría se realizaron en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI), edificio B de la Facultad de Química de la UNAM.

Los espectros en el IR se obtuvieron en un espectrofotómetro FTIR de rejilla modelo 1605 marca Perkin-Elmer, en pastilla de bromuro de potasio. Los espectros en el UV se determinaron en un espectrofotómetro UV-Vis Lambda 2 utilizando metanol como disolvente. Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica (RMN-<sup>1</sup>H, 300 MHz) y de carbono 13 (RMN<sup>13</sup>C, 75 MHz) se generaron en un equipo Varian VXR-300S utilizando DMSO-*d*<sub>6</sub>; los desplazamientos químicos se reportan en δ (ppm) con referencia al tetrametilsilano (TMS). Los espectros de masas por impacto electrónico (EMIE) 70eV se obtuvieron en un equipo Jeol JMS-SX 102A Hewlett-Packard 5890 serie II acoplado a

un cromatógrafo de gases. Se utilizó la técnica de introducción directa. En la modalidad de bombardeo de átomos rápidos (EM-FAB), los espectros se registraron en el mismo equipo usando alcohol nitrobenílico como matriz.

## **5.2 MATERIAL VEGETAL**

El material utilizado de *P. domestica* L. se compró en una tienda departamental en el mes de Febrero del año 2007. El producto comercial de marca Mariani Kirland Signature y con número de lote 7028 contenía 1.417g de ciruela pasa sin semilla. Una muestra de referencia se encuentra en el laboratorio 126 del edificio E de la Facultad de Química en la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

## **5.3 ESTUDIO FITOQUÍMICO DE *Prunus domestica* L.**

### **5.3.1 Preparación del extracto orgánico de *Prunus domestica* L.**

El extracto orgánico se preparó mediante un proceso de extracción continua en un equipo Soxhlet a partir de 1.1275 kg de ciruelas y utilizando 1L de diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) como disolvente, por un periodo de 3 horas. La solución resultante fue filtrada y luego concentrada al vacío obteniéndose 1.5059 g de extracto color café claro.

### **5.3.2 Fraccionamiento primario del extracto de diclorometano**

Los 1.5059 g de extracto de diclorometano fueron sometidos a un proceso de fraccionamiento cromatográfico en una columna al vacío empacada con 100g de gel de sílice, utilizando como fase móvil hexano, mezclas de hexano-acetona (diversas proporciones, Cuadro 4) y acetona. Este proceso generó 46 fracciones de 200 mL cada una, las cuales fueron reunidas en base a su similitud cromatográfica, obteniéndose así 5 conjuntos de fracciones. El diagrama 1 resume el proceso de fraccionamiento del extracto de diclorometano.

**Cuadro 4.** Fraccionamiento primario por cromatografía en columna al vacío del extracto CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> obtenido de *Prunus domestica* L.

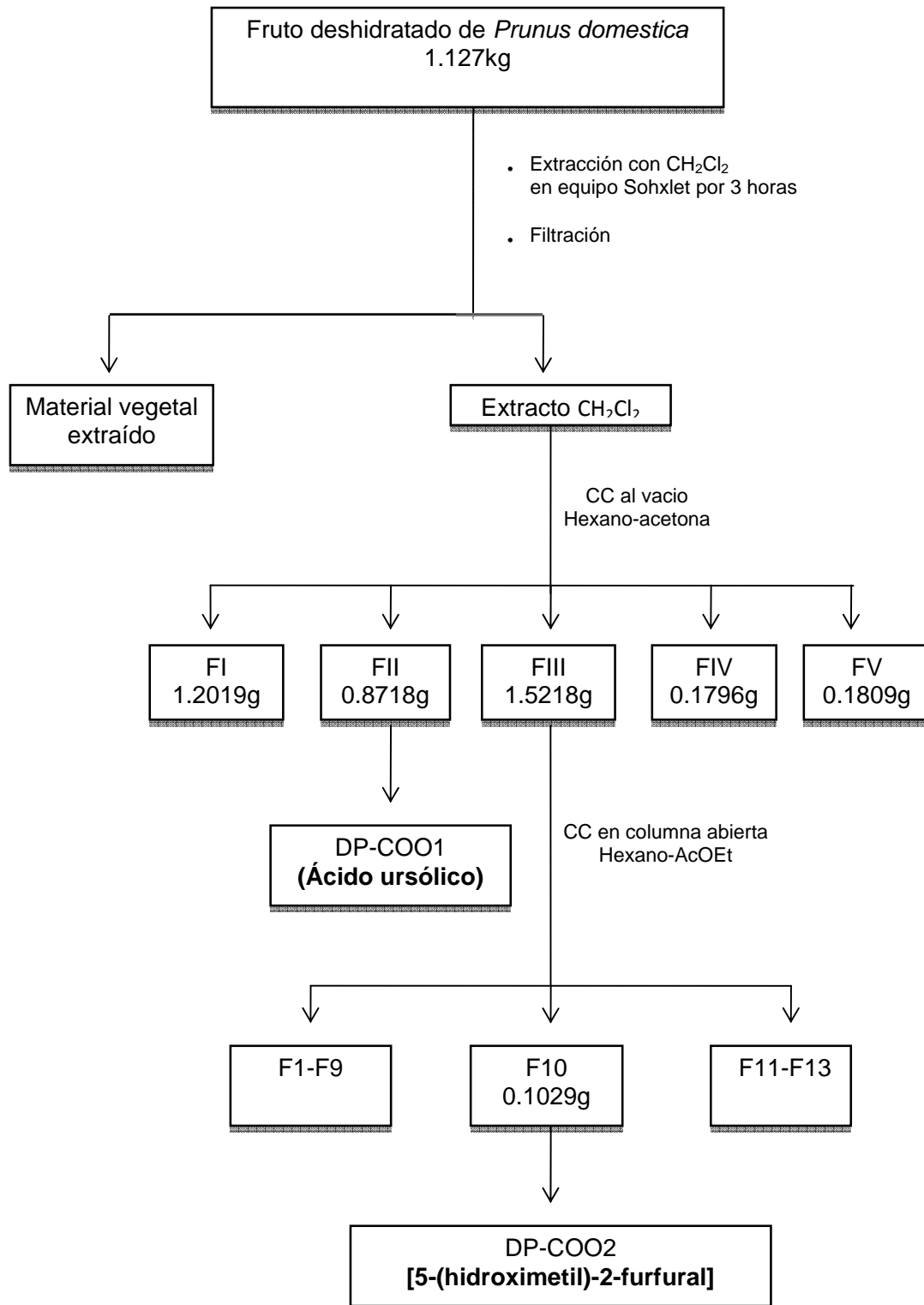
Sistema de elución	Proporción	Fracciones obtenidas	Fracciones reunidas	Clave	Peso (g)
hexano	100	1-3	1-8	FI	1.2019
hexano-acetona	95:5	4-5			
hexano-acetona	90:10	6-8			
hexano-acetona	85:15	9-20	9-17	FII	0.8718
hexano-acetona	80:20	21-22	18-39	FIII	1.5218
hexano-acetona	75:25	23-24			
hexano-acetona	70:30	25-28			
hexano-acetona	65:35	29-33			
hexano-acetona	60:40	34-35			
hexano-acetona	50:50	36-37			
hexano-acetona	40:60	38-39			
hexano-acetona	35:65	40-41	40-43	FIV	0.1796
hexano-acetona	30:70	42-43			
hexano-acetona	20:80	44-45	44-46	FV	0.1809
acetona	100	46			

### 5.3.3 Fraccionamiento secundario del extracto de diclorometano.

La fracción FIII (1.5218g) fue sometida a un fraccionamiento en columna abierta utilizando como fase estacionaria 50g de gel de sílice y como fase móvil hexano, hexano-AcOEt (en diversas proporciones. Ver Cuadro 5) y AcOEt. Mediante este proceso se obtuvieron 76 fracciones que luego fueron reunidas por su similitud cromatográfica, obteniéndose 13 conjuntos de fracciones.

**Cuadro 5.** Fraccionamiento secundario por cromatografía en columna abierta de la fracción FIII.

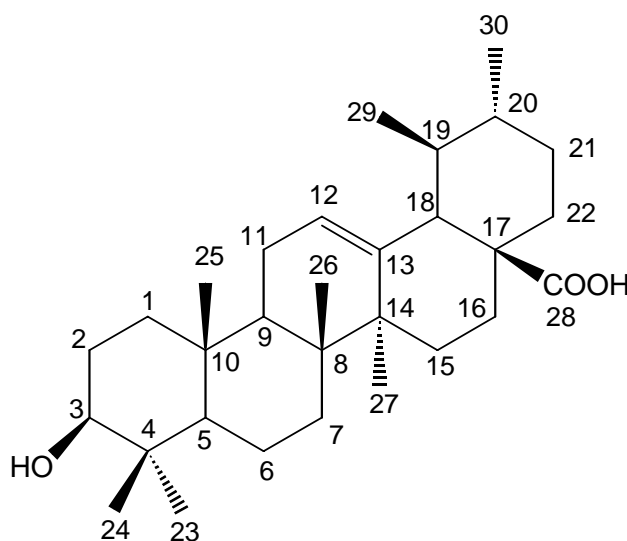
Sistema de elución	Proporción	Fracciones obtenidas	Fracciones reunidas	Clave	Peso (g)
hexano	100	1-8	1-9	F1	0.0165
hexano-AcOEt	95-5	9-16	10-11	F2	0.2855
hexano-AcOEt	90-10	17-24	12-19	F3	0.2878
hexano-AcOEt	85-15	25-32	20-25	F4	0.2605
hexano-AcOEt	80-20	33-40	26-30	F5	0.1252
hexano-AcOEt	75-25	41-48	31-32	F6	0.0344
hexano-AcOEt	70-30	49-56	33-34	F7	0.0318
hexano-AcOEt	65-35	57-64	35	F8	0.0845
hexano-AcOEt	50-50	65-72	36-40	F9	0.0877
AcOEt	100	73-76	41-48	F10	0.1029
			49-55	F11	0.0465
			56-60	F12	0.0208
			61-76	F13	0.0299



**Diagrama 1.** Proceso de extracción y fraccionamiento del extracto de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> de *Prunus domestica*.

### 5.3.4 Obtención del ácido ursólico

A partir de la fracción activa FII se observó la formación de cristales blancos que fueron separados mediante filtración al vacío y sometidos a múltiples lavados utilizando una mezcla de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (1:1). El sólido fue identificado como ácido ursólico por comparación de sus constantes espectroscópicas y espectrométricas con las reportadas previamente en la literatura (Mahato y Kundu, 1994) y por comparación directa con una muestra auténtica. **Ácido ursólico (1)**: EMIE  $m/z$  456  $[\text{M}]^+$  (5), 248 (100), 219 (6), 207 (23), 203 (33), 190 (11), 189 (13), 133 (23), 119 (10), 85 (10), 71 (14), 69 (10), 57 (19); RMN- $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz):  $\delta_{\text{H}}$  4.65 (1H, m, H-12), 3.84 (1H, m, H-3), 3.58 (1H, d,  $J=11.25$  Hz, H-18), 0.53 (3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 0.31 (3H, d,  $J=6.4$  Hz,  $\text{CH}_3$ ), 0.24 (3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 0.35 (3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 0.16 (3H, d,  $J=6.4$  Hz,  $\text{CH}_3$ ). RMN- $^{13}\text{C}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 100 MHz):  $\delta_{\text{C}}$  178.8 (C-28), 138.7 (C-13), 125.1 (C-12), 77.1 (C-3), 58.7 (C-18), 52.3 (C-5), 41.5 (C-14), 17.9 (C-29), 15.9 (C-23).



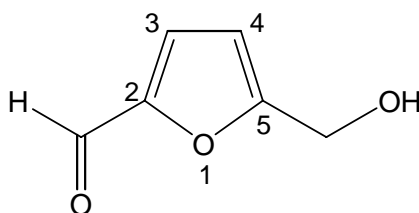
ácido ursólico

### 5.3.5 Obtención del 5-(hidroximetil)-2-furfural

La fracción F10 fue analizada mediante CC en capa fina y reveló la presencia de un compuesto contaminado, por lo que se realizó una cromatografía preparativa en capa delgada. Este proceso permitió el aislamiento y caracterización del 5-(hidroximetil)-2-



furfural. **5-(hidroximetil)-2-furfural (2)**: aceite de color amarillo, EMIE  $m/z$  126  $[M]^+$ , UV  $\lambda_{\max}$  (EtOH) nm: 278, IR  $\nu_{\max}$  ( $\text{CHCl}_3$ )  $\text{cm}^{-1}$ : 3400, 2850, 1670, RMN- $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz): 9.45 (2- $\text{CHO}$ ), 7.16 (1H, d,  $J= 3.5$  Hz), 6.48 (1H, d,  $J= 3.5$  Hz), 4.62 (2H, s, 5- $\text{CH}_2$ ,OH); RMN- $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz): 180.0 ( $\text{CHO}$ ), 161.2 (C-2), 152.4 (C-5), 123.3 (C-4), 110.0 (C-3), 57.3 ( $\text{CH}_2$ -OH).



**5-(hidroximetil)-2-furfural**

## 5.4 ENSAYO BIOLÓGICO

### 5.4.1 Microorganismos de prueba

Para realizar el ensayo biológico del extracto y los compuestos aislados de *Prunus domestica*, se eligieron los microorganismos *Streptococcus mutans* (ATCC 10449) y *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277) por tratarse de los principales patógenos orales causantes de las caries dentales y las enfermedades periodontales, respectivamente. Estas cepas fueron obtenidas del Departamento de Periodontología del Colegio de Odontología de la Universidad de Illinois en Chicago (University of Illinois at Chicago). Se utilizaron caldo infusión de cerebro-corazón (Difco, Sparks, MD) y medio soya tripticaseína suplementado con clorhidrato de cisteína (0.05%), menadiona (0.02  $\mu\text{g/mL}$ ), hemina (5  $\mu\text{g/mL}$ ) y nitrato de potasio (0.02 %) para crecer a *S. mutans* y *P. gingivalis* respectivamente.

#### 5.4.2 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)

La actividad antimicrobiana de los compuestos (Concentración Mínima Inhibitoria, CMI) se evaluó utilizando un ensayo de microdilución en placa estéril de 96 pozos (Sarstedt, Newton, NC, EU). Los cultivos de cada especie incubados a lo largo de la noche se centrifugaron (10 000 rpm, 10 min), se lavaron dos veces con buffer de fosfatos 0.05 M (PBS, pH 6.8) y se resuspendieron. La suspensión de células se ajustó utilizando un espectrofotómetro de la serie Cecil (Milton Roy, Rochester, NY). Cada pozo contenía *S. mutans*  $5 \times 10^5$  unidades formadoras de colonias (UFC)/mL o *P. gingivalis*  $5 \times 10^6$  UFC/mL, el compuesto de prueba en diluciones seriadas y el medio de cultivo apropiado. Se utilizaron muestras por triplicado para cada concentración de prueba.

Los controles utilizados consistieron en medio de cultivo inoculado y sin compuestos de prueba mientras que el blanco contenía únicamente medio de cultivo sin inocular. Todas las placas se incubaron a 37° C bajo condiciones atmosféricas adecuadas (*S. mutans* se incubó en condiciones aerobias, mientras que *P. gingivalis* se incubó en un sistema de recipientes de generación de gas GasPack EZ (BD, Sparks, Maryland, EU) conteniendo un sobre activado para la generación de CO<sub>2</sub> (GasPack EZ C0<sub>2</sub>) para crear la atmosfera anaeróbica. El crecimiento se estimó espectroscópicamente (A<sub>660</sub> nm) después de 24 y 48 horas, utilizando un lector de placas (Biorad, Hercules, CA, EU).

El valor de CMI para cada microorganismo analizado se definió como la mínima concentración del compuesto de prueba que limitaba la turbidez a menos de 0.05 A<sub>660</sub> nm. Se utilizó gluconato de clorhexidina (CHX, Sigma, St. Louis, MO, EU) como control positivo mostrando valores de CMI de 1.25 µg/mL contra *S. mutans* y 0.312 µg/mL, contra *P. gingivalis*.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las ciruelas, frutos de la especie *Prunus domestica* L. se consumen y comercializan como frutos frescos o productos procesados (ASERCA, 2001). En la medicina tradicional, las ciruelas son muy apreciadas para el tratamiento de la constipación, tos y úlceras bucales. En combinación con otras plantas, las ciruelas son empleadas para el tratamiento de la leucorrea y malestares posteriores al aborto (Stacewicz-Sapuntzakis *et al.*, 2001; Fang *et al.*, 2002). Otros usos no vinculados a su empleo en la medicina tradicional son los relacionados a la industria alimenticia, en la cual, las ciruelas son utilizadas para mantener el contenido de humedad de los alimentos, prevenir el desprendimiento de olores y sobre todo inhibir el crecimiento de bacterias en la carne (Dikeman *et al.*, 2004). Con base en los antecedentes descritos, se decidió realizar el estudio conducente a determinar el potencial antibacteriano contra las bacterias *S. mutans* y *P. gingivalis* del extracto de diclorometano preparado a partir de las ciruelas pasa. La determinación del potencial antibacteriano del extracto de los frutos deshidratados de *P. domestica* se realizó utilizando la metodología descrita en la Parte Experimental (5.4.2). Los resultados de ésta evaluación indicaron que el extracto de diclorometano preparado a partir de las ciruelas pasa presentaba una CMI de 251.1 y 200.5  $\mu\text{g/mL}$  para *S. mutans* y *P. gingivalis*, respectivamente (Ver Tabla 4). Se considera que un extracto vegetal es activo para *S. mutans* y *P. gingivalis* si la CMI es menor a 1000  $\mu\text{g/mL}$  (Wu *et al.*, 2002; Li *et al.*, 1998).

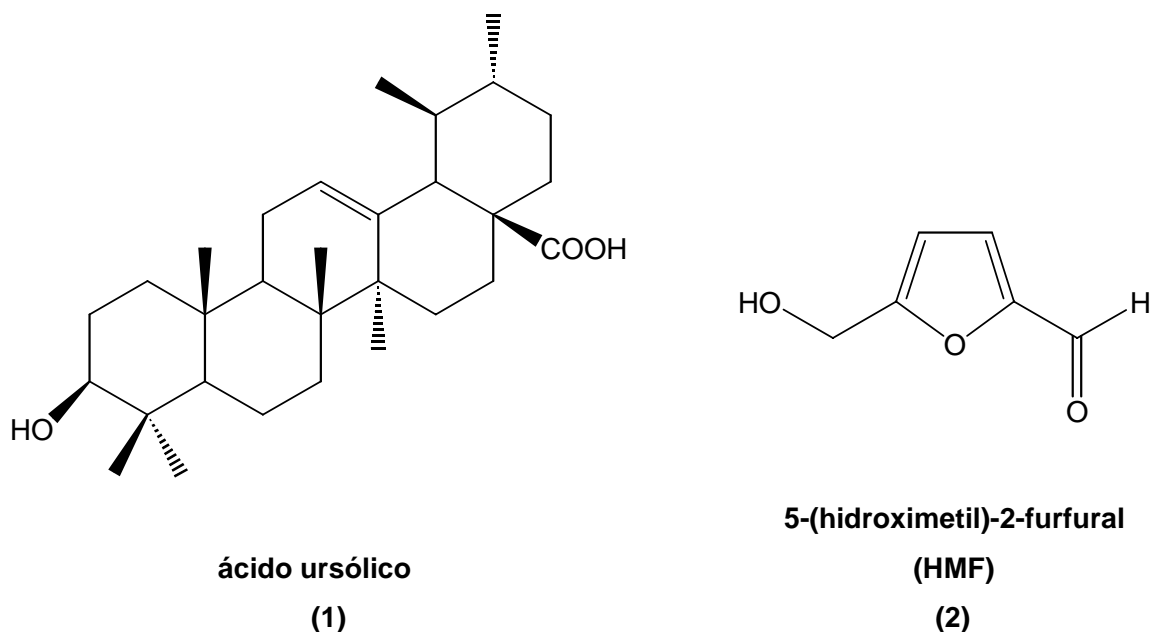
**Tabla 4.** Actividad antibacteriana (CMI) del extracto  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  contra las bacterias *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*

MUESTRA	CMI ( $\mu\text{g/mL}$ )	
	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	251.1	200.5
CHX*	1.2	0.3

\*CHX: gluconato de clorhexidina

El estudio fitoquímico biodirigido del extracto de diclorometano de las ciruelas pasa se realizó con la finalidad de aislar los compuestos mayoritarios y activos responsables de la actividad antibacteriana encontrada en el extracto de diclorometano. Como ensayo biológico se empleó el mismo que permitió detectar la actividad biológica del extracto original.

La preparación del extracto activo se realizó mediante un proceso de extracción continua utilizando un equipo Soxhlet. Posteriormente el extracto de diclorometano resultante se sometió a un fraccionamiento con disolventes de diferente polaridad. De este fraccionamiento primario se obtuvieron dos fracciones activas. De la fracción activa FII [CMI= 52.6  $\mu\text{g/mL}$  (*S. mutans*) y 40.1  $\mu\text{g/mL}$  (*P. gingivalis*)] mediante sucesivas cromatografías se aisló un sólido blanco (DP-COO1), el cual fue caracterizado como el ácido ursólico por comparación con una muestra auténtica y de sus constantes espectroscópicas y espectrométricas. Por otra parte, la fracción FIII [CMI= 180.3  $\mu\text{g/mL}$  (*S. mutans*) y 120.5  $\mu\text{g/mL}$  (*P. gingivalis*)] se sometió a sucesivas cromatografías utilizando como adsorbente gel de sílice y mezclas de hexano-acetato de etilo en diversas proporciones. Este proceso permitió el aislamiento y caracterización del compuesto DP-COO2. La estructura química del compuesto DP-COO2 se estableció mediante comparación de sus constantes espectroscópicas y espectrométricas como la del 5-(hidroximetil)-2-furfural (HMF). En la figura 2 se muestran las estructuras químicas de los compuestos aislados.



**Figura 2.** Compuestos aislados de las fracciones activas

Las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI's) obtenidas de cada una de las fracciones activas se muestran en la Tabla 5. En esta tabla se observa que el ácido ursólico presenta la mejor actividad antibacteriana con CMI de 52.6 y 40.1  $\mu\text{g/mL}$  para *S. mutans* y *P. gingivalis*. El 5-(hidroximetil)-2-furfural presentó una moderada actividad antimicrobiana con CMI's de 180.3 y 120.5  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente.

**Tabla 5.** Actividad antibacteriana (CMI) de los compuestos aislados contra las bacterias *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*.

MUESTRA	CMI ( $\mu\text{g/mL}$ )	
	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
ácido ursólico	52.6	40.1
HMF	180.3	120.5
CHX*	1.2	0.3

CHX: gluconato de clorhexidina

La presencia del ácido ursólico en las ciruelas pasa puede estar relacionada con su uso en la medicina tradicional para el tratamiento de las úlceras bucales (Stacewicz-Sapuntzakis *et al.*, 2001). En este contexto se sabe que el ácido ursólico aislado de las especies *Ganoderma lucidum* y *Vitex negundo* posee actividad antibacteriana contra *Streptococcus mutans* y *Escherichia coli* mediante la inhibición de la enzima glucosiltransferasa y de los genes vinculados con la formación de bioplaca (Kozai *et al.*, 1987; Hada *et al.*, 1989; Ren *et al.*, 2005). El extracto de *Rosmarinus officinalis* contiene ácido ursólico y es un constituyente frecuente de enjuagues y pastas dentales utilizados para el tratamiento de la gingivitis e inhibición de la formación de la bioplaca (Trivedi *et al.*, 2006). Otros estudios reportan actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Microsporium lenosum*, así como también, las bacterias y levaduras asociadas a la descomposición de los alimentos (Braghiroli *et al.*, 1996; Chandramu *et al.*, 2003; Liu, 1995). Entre las propiedades quimiopreventivas del ácido ursólico están aquellas relacionadas a su capacidad para inducir apoptosis (Cipak *et al.*, 2006; Lin-Shiau *et al.*, 2003). Por otra parte, el compuesto es útil en la prevención del envejecimiento prematuro de la piel por la exposición a la radiación UV y es considerado un nuevo agente en el combate del cáncer de piel y el melanoma (Lee *et al.*, 2003; Harmand *et al.*, 2005). Este triterpeno posee una amplia gama de actividades biológicas entre los que destacan: actividad antioxidante, hepatoprotectora, antiinflamatoria, analgésica, antipirética, vasodilatadora, antihiperlipidémica, hipoglucemiante y antiulcerosa (Zhang *et al.*, 2007; Saravanan *et al.*, 2006; Mankani *et al.*, 2006; El Emary *et al.*, 2002; *inter alia*). De manera

adicional, el ácido ursólico es un agente inhibidor de la ingesta de alimento en las larvas del insecto *Achaea janata* (Chandramu *et al.*, 2003).

El 5-(hidroximetil)-2-furfural (HMF) es un artefacto que se genera por el calentamiento a altas temperaturas y períodos prolongados de los azúcares contenidos en las ciruelas frescas durante el proceso de deshidratación (proceso que involucra temperaturas entre 85°C a 90° C por aproximadamente 18 horas) (Stacewicz-Sapuntzakis *et al.*, 2001). Algunas publicaciones relacionan la formación del 5-(hidroximetil)-2-furfural con el aumento en la actividad antioxidante de las ciruelas pasa por el hecho de tratarse de un intermediario en la formación de compuestos de alto peso molecular y con una potente actividad antioxidante (Del Caro *et al.*, 2004; Piga *et al.*, 2003). El HMF ha sido detectado en la miel, cerveza, jugos de frutas, frutas secas, leche, cigarrillos e incluso en los jarabes y las soluciones intravenosas que contienen fructosa. Estudios previos sobre el metabolismo reportan que el HMF administrado por vía oral es rápidamente absorbido en el tracto gastrointestinal y eliminado un 50% por vía urinaria bajo la forma de ácido 5-hidroximetil-2-furoico (HMFA) y *N*-(5-hidroximetil)-2-furoil-glicina, principalmente (NTP, 1994). El 50% restante es retenido en el cuerpo en los riñones, hígado y vejiga. Investigaciones realizadas mencionan su posible efecto inhibidor sobre la enzima aldosa reductasa (AR). Esta enzima se encuentra implicada en la formación de las cataratas en el ojo por la reducción de la aldosa a alditol, bajo condiciones anormales como en la diabetes (Shimizu, 1993). Estudios epidemiológicos no reportan casos relacionados a una posible actividad carcinogénica en humanos, sin embargo se ha visto que puede actuar como un iniciador y promotor del cáncer de colon en ratas (NTP, 1994).

## 7. RESUMEN Y CONCLUSIONES

Esta investigación representa una contribución al conocimiento de la especie *Prunus domestica* como agente antibacteriano contra las bacterias *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*, agentes etiológicos de la caries y enfermedades periodontales, respectivamente.

El estudio químico biodirigido del extracto preparado a partir del fruto deshidratado de la especie *Prunus domestica* permitió el aislamiento y la caracterización del triterpeno ácido ursólico (**1**) y el aldehído 5-(hidroximetil)-2-furfural (**2**) como los dos principales compuestos mayoritarios y biológicamente activos.

De los compuestos aislados el ácido ursólico (**1**) presentó la mejor actividad antibacteriana sobre las bacterias *S. mutans* y *P. gingivalis* con concentraciones mínimas inhibitorias de 52.6 µg/mL y 40.1 µg/mL. Por otra parte, el aldehído 5-(hidroximetil)-2-furfural (**2**) presentó una actividad antibacteriana moderada con CMI's de 180.3 µg/mL y 120.5 µg/mL, respectivamente.

Es importante destacar que la clorhexidina, uno de los agentes empleados con mayor frecuencia para el tratamiento de enfermedades ocasionadas por bacterias en la cavidad oral presenta una CMI considerablemente menor a la de los productos aislados en la presente investigación (CMI = 1.25 y 0.312 µg/mL para *S. mutans* y *P. gingivalis*, respectivamente). Sin embargo, este compuesto presenta desventajas tales como el manchado de los dientes y la alteración del sentido del gusto lo cual limita su utilización en el tratamiento de enfermedades de la cavidad oral (Quirynen *et al.*, 2000).

## 8. PERSPECTIVAS

Continuar con el estudio fitoquímico conducente a realizar el aislamiento y caracterización de los compuestos minoritarios del extracto de diclorometano para completar la obtención de los metabolitos secundarios con actividad antibacteriana de la especie *Prunus domestica* L.

Realizar ensayos de toxicidad para el extracto de diclorometano y los compuestos aislados.

Determinar el mecanismo de acción mediante el cual el extracto y los compuestos aislados de las ciruelas producen el efecto antibacteriano.

Continuar la síntesis parcial o total de compuestos análogos más potentes a partir del ácido ursólico aislado.



## 9. BIBLIOGRAFÍA

Aguirre-Crespo, F., Vergara-Galicia, J., Villalobos-Molina, R., López-Guerrero, J., Navarrete-Vázquez, G., Estrada-Soto, S. (2006). Ursolic acid mediates the vasorelaxant activity of *Lepechinia caulescens* via NO release in isolated rat thoracic aorta. *Life Sciences*, **79**, 1062-1068.

American Cancer Society. (2005). Cancer facts and figures. Atlanta, Georgia, ACS 1998.

American Dietetic Association. (2003). Position of the American Dietetic Association: oral health and nutrition. *Journal of the American Dietetic Association*, **103**, 615-625.

Andrikopoulos, N. K., Kaliora, A. C., Assimopoulou, A. N., Papapeorgiou, V. P. (2003). Biological activity of some naturally occurring resins, gums and pigments against in vitro LDL oxidation. *Phytotherapy Research*, **17**, 501-507.

Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria. (2001). De nuestra cosecha. Disponible en: <http://www.infoaserca.gob.mx/claridades/revistas/100/ca100.pdf>

Arjmandi, B. H. (2001). The role of phytoestrogens in the prevention and treatment of osteoporosis in ovarian hormone deficiency. *Journal of the American College of Nutrition*, **20**, 398S-402S.

Arjmandi, B. H., Khalil, D. A., Lucas, E. A., Georgis, A., Stoecker, B. J., Hardin, C., Payton, M. E., Wild, R. A. (2002). Dried plums improve indices of bone formation in postmenopausal women. *Journal of Women's Health & Gender-Based Medicine*, **11**, 61-68.

Badria, F. A., Zidan, O. A. (2004). Natural products for dental caries prevention. *Journal of Medicinal Food*, **7**, 381-384.

Balandrin, M. F., Klocke, J. A., Wurtele, E. S., Bollinger, W. H. (1985). Natural plant chemicals: sources of industrial medicinal materials. *Science*, **228**, 1154-1160.

Balanehru, S., Nagarajan, B. (1994). Triterpenes intervene in adriamycin-induced histamine release in rodents. *Medical Science Research*, **22**, 357-359.

Binkley, C., Furr, L. A., Carrico, R., McCurren, C. (2004). Survey of oral care practices in US intensive care units. *American Journal of Infection Control*, **32**, 161-169.

Bloom, B., Gift, H. C., Jack, S. S. (1992). Dental services and oral health: United States, 1989. Vital Health Statistics [10] No. 183. DHHS publication PHS 93-1511. Hyattsville, Maryland: National Center for Health Statistics.

Braghiroli, L., Mazzanti, G., Manganaro, M., Mascellino, M. T., Vespertilli, T. (1996). Antimicrobial activity of *Calluna vulgaris*. *Phytotherapy Research*, **10**, S86-S88.

Bruneton, J. (1995). Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants, Lavoisier Publishing Inc., Secaucus, New Jersey.

Caglar, E., Kavaloglu, S. C., Kuscu, O. O., Sandalli, N., Holgerson, P. L., Twetman, S. (2007). Effect of chewing gums containing xylitol or probiotic bacteria on salivary mutans streptococci and lactobacilli. *Clinical Oral Investigation*, ISSN 1436-3771 (Online). Disponible en: <http://www.springerlink.com>

Cai, L., Wei, G.-X., van der Bijl, P., Wu, C. D. (2000). Namibian chewing stick, *Diospyros lycioides*, contains antibacterial compounds against oral pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 909-914.

California Dried Plums. (2000). FDA grants name change, CBP, Pleasanton C. A. Disponible en: <http://www.californiadriedplums.org>

Chandramu, C., Manohar, R. D., Krupadanam, D. G. L., Dashavantha, R. V. (2003). Isolation, characterization and biological activity of betulinic acid and ursolic acid from *Vitex negundo* L. *Phytotherapy Research*, **17**, 129-134.

Chun, O. K., Kim, D.-O., Lee, C. Y. (2003). Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 8067-8072.

Chun, O. K., Kim, D.-O., Moon, H. Y., Kang, H. G., Lee, C. Y. (2003). Contribution of individual polyphenolics to total antioxidant capacity of plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 7240-7245.

- Cipak, L., Grausova, L., Miadokova, E., Novotny, L., Rauko, P. (2006). Dual activity of triterpenoids: apoptotic versus antidifferentiation effects. *Archives of Toxicology*, **80**, 429-435.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, **12**, 564-582.
- Del Caro, A., Piga, A., Pinna, I., Fenu, P. M., Aggabio, M. (2004). Effect of drying conditions and storage period on polyphenolic content, antioxidant capacity, and ascorbic acid of prunes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 4780-4784.
- Dikeman, C. L., Bauer, L. L., Fahey, G. C. (2004). Carbohydrate composition of selected plum/prune preparations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 853-859.
- Dorant, E., van den Brandt, P. A., Goldbohm, R. A., Hermus R. J., Sturmans, F. (1993). Garlic and its significance for the prevention of cancer in humans: a critical review. *British Journal of Cancer*, **67**, 424-429.
- Doyle, M. J., Hunter-Rinderle, S. J., Glandorf, W. M., White, D. J. (2007). Promoting whole body health with topical oral compositions containing antimicrobials. *U.S. Pat. Appl. Publ.*, 701848.
- El-Emary, N. A., Khalifa, A. A., Backheet, E. Y., Abdel-Mageed, W. M. (2002). Phytochemical and biological studies on the leaves of *Tecoma mollis* Humb. And Bonpl cultivated in Egypt. *Bulletin of Pharmaceutical Sciences*, **25**, 207-228.
- Enwonwu, C. O., Phillips, R. S., Falkler, W. A. (2002). Nutrition and oral infectious diseases: state of the science. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, **23**, 431-444.
- Fang, N., Yu, S., Prior, R. L. (2002). LC/MS/MS characterization of phenolic constituents in dried plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 3579-3585.
- Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., Guo, Z. (1985). Medicinal plants and therapy. *Bulletin of World Health Organization*, **63**, 965-981.
- Forni, E., Erba, M. L., Maestrelli, A., Polesello, A. (1992). Sorbitol and free sugar contents in plums. *Food Chemistry*, **44**, 269-275.

Fundación Centro de Estudios Infecto-biológicos. (2004). Buenos Aires, Argentina. Disponible en: <http://www.funcei.org.ar/contenido.aspx?idContenido=4>

Genco, R. J. (1992). Host responses in periodontal diseases: current concepts. *Journal of Periodontology*, **63**, 338-355.

Gibbons, S. (2004). Anti-staphylococcal plant natural products. *Natural Product Reports*, **21**, 263-277.

Gift, H. C., Reisine, S. T., Larash, D. C. (1992). The social impact of dental problems and visits. *American Journal of Public Health*, **86**, 1663-1668.

González, M. B., Quiroz, V., Reyes, E., Banderas, J. A., Yslas, N. (1999). Sanguinaria mexicana (*Polygonum aviculare* L.). Aplicaciones y beneficios. *Ciencia Ergo Sum*, **6**, 118-123.

Hada, S., Hattori, M., Namba, T. (1989). Dental caries prevention by traditional medicines. XII. Effect of components of *Ganoderma lucidum* on glucosyltransferase from *Streptococcus mutans*. *Wakan Iyaku Gakkaishi*, **6**, 100-107.

Harmand, P.-O., Duval, R., Delage, C., Simon, A. (2005). Ursolic acid induces apoptosis through mitochondrial intrinsic pathway and caspase-3 activation in M4Beu melanoma cells. *International Journal of Cancer*, **114**, 1-11.

Hollister, M. C., Weintraub, J. A. (1993). The association of oral status with systemic health, quality of life, and economic productivity. *Journal of Dental Education*, **57**, 901-912.

Instituto Nacional de Geografía e Informática. Disponible en: <http://www.inegi.gob.mx/est/contenidos/espanol/rutinas/ept.asp?t=msal06&c=3357>

Jayaprakasam, B., Olson, L. K., Schutzki, R. E., Tai, M.-H., Nair, M.G. (2006). Amelioration of obesity and glucose intolerance in high-fat-fed C57BL/6 mice by anthocyanins and ursolic acid in *Cornelian cherry* (*Cornus mas*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 243-248.

Jeong, H. G., Kim, H. G., Hwang, Y. P. (2005). Involvement of cytokines in the hepatic expression of metallothionein by ursolic acid. *Toxicology Letters*, **155**, 369-376.

- 
- Juscafresa, B. (1995). Guía de la flora medicinal tóxica, aromática y condimenticia. Aedos, Madrid, 165.
- Kim, D.-O., Chun, O. K., Kim, Y. J., Moon, H.-Y., Lee, C. Y. (2003). Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 6509-6515.
- Kim, D.-O., Jeong, S. W., Lee, C. Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, **81**, 321-326.
- Kim, N.-C., Desjardins, A. E., Wu, C. D., Kinghorn, A. D. (1999). Activity of triterpenoid glycosides from the root bark of *Mussaenda macrophylla* against two oral pathogens. *Journal of Natural Products*, **62**, 1379-1384.
- Kinghorn, A. D. (1992). Plants as a source of medicinally and pharmaceutically important compounds. In *Phytochemical Resource for Medicine and Agriculture*, Nigg, H. N., Seigler, D. (eds). Plenum Press, New York, 75-95.
- Kinghorn, A. D., Balandrin, M. F. (eds.). (1993). Human Medicinal Agents from Plants, Symp. Ser. No. 534, *American Chemical Society*, Washington, D. C.
- Kirkpatrick, W. R., Revankar, S. G., Mcatee, R. K. (1998). Detection of *Candida dubliniensis* in oropharyngeal samples from HIV infected patients in North America by primary CHROMagar Candida screening and susceptibility testing of isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, **36**, 3007-3012.
- Koehn, F. E., Carter, G. T. (2005). The evolving role of natural products in drug discovery. *Nature Reviews Drugs Discovery*, **4**, 206-220.
- Koo, H., Gomes, B. P. F. A., Rosalen, P. L., Ambrosano, G. M. B., Park, Y. K., Cury, J. A. (2000). In vitro antimicrobial activity of propolis and *Arnica montana* against oral pathogens. *Archives of Oral Biology*, **45**, 141-148.
- Kozai, K., Miyake, Y., Kohda, H., Kametaka, S., Yamasaki, K., Suginaka, H., Nagasaka, N. (1987). Inhibition of glucosyltransferase from *Streptococcus mutans* by oleanolic acid and ursolic acid. *Caries Research*, **21**, 104-108.

- 
- Lee, Y. S., Jin, D.-Q., Beak, S.-M., Lee, E.-S., Kim, J.-A. (2003). Inhibition of ultraviolet-A-modulated signaling pathways by asiatic acid and ursolic acid in HaCaT human keratinocytes. *European Journal of Pharmacology*, **476**, 173-178.
- Li, X.-C., Cai, L., Wu, C. D. (1997). Antimicrobial compounds from *Ceanothus americanus* against oral pathogens. *Phytochemistry*, **46**, 97-102.
- Li, X.-C., van der Bilj P., Wu, C. D. (1998). Binaphthalenone glycosides from african chewing sticks, *Diospyros lycioides*. *Journal of Natural Products*, **61**, 817-820.
- Liébana, U. J. (2002). Microbiología oral. Mc Graw-Hill-Interamericana, España, 297-525.
- Lin-Shiau, S.-Y., Lo, A.-H., Ho, C.-T., Lin, J.-K. (2003). Induction of apoptosis by rosemary polyphenols in HL-60 cells. *American Chemical Society*, **859**, 121-141.
- Liu, J. (1995). Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *Journal of Ethnopharmacology*, **(49)**, 57-68.
- Lohner, K. (2001). Development of novel antimicrobial agents: emerging strategies. Horizon Scientific Press, Wymondham, UK., 1-7.
- Lombardi-Boccia, G., Lucarini, M., Lanzi, S., Aguzzi, A., Cappelloni, M. (2004). Nutrients and antioxidant molecules in yellow plums (*Prunus domestica* L.) from conventional and organic productions: a comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 90-94.
- Madinier, I., Jehl-Pietri, C., Monteil, R. A. (1997). Drug-induced xerostomia. *Annales de Medecine Interne*, **148**, 398-405.
- Maguire, A., Rugg-Gunn, A. J., Butler, T. J. (1996). Dental health of children taking antimicrobial and non-antimicrobial liquid oral medication long-term. *Caries Research*, **30**, 16-21.
- Mahato, S. B., Kundu, A. P. (1994). <sup>13</sup>CNMR spectra of pentacyclic triterpenoids-a compilation and some salient features. *Phytochemistry*, **37**, 1517-1575.

Mankani, K. L., Krishna, V., Manjunatha, B. K., Vidya, S. M., Singh, S. D. J., Manohara, Y. N., Kuppast, I. J. (2006). Hepatoprotective effects of the triterpenes isolated from the stem bark of *Diospyros cordifolia* Roxb. *Journal of Natural Remedies*, **6**, 147-152.

National Institute of Dental Resech. (2005). Disponible en: <http://www.nidcr.nih.gov/>

National Toxicology Program. (1994). *Tecnical Resources Internacional, INC*, NO1-CP-56019(12/94). Disponible en: <http://ntpserver.niehs.nih.gov/index.cfm?objectid=03DF1AAC-F8A2-9CB9-BC9F93EBFD189830#expoinfo>

Nergiz, C., Yildiz, H. (1997). Research on chemical composition of some varieties of European plums (*Prunus domestica*) adapted to the Aegean District of Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45**, 2820-2823.

Osawa, K., Miyazaki, K., Shimura, S., Okuda, J., Matsumoto, M., Ooshima, T. (2001). Identification of cariostatic substances in the Cacao Bean Husk: their anti-glucosyltransferase and antibacterial activities. *Journal of Dental Research*, **80**, 2001.

Park, K. M., You, J. S., Lee, H. Y., Baek, N. I., Hwang, J. K. (2003). Kuwanon G: an antibacterial agent from the root bark of *Morus alba* against oral pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*, **84**, 181-185.

Petersen, P. J., Wang, T. Z., Dushin, R. G., Bradford, P. A. (2004). Comparative in vitro activities of Ac98-6446, a novel semisynthetic glycopeptide derivative of the natural product mannopeptimyci, and other antimicrobial agents against Gram-positive clinical isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **48**, 739-746.

Phan, T.-N., Buckner, T., Sheng, J., Baldeck, J. D., Marquis, R. E. (2004). Physiologic actions of zinc related to inhibition of acid and alkali production by oral streptococci in suspensions and biofilms. *Oral Microbiology and Immunology*, **19**, 31-38.

Piga, A., Del Caro, A., Corda, G. (2003). From plums to prunes: influence of drying parameters on polyphenols and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 3675-3681.

Quiryneen, M., Teughels, W., De Soete, M., Steenberghe, D. (2000). Topical antiseptics and antibiotics in the initial therapy of chronic adult periodontitis: microbiological aspects. *Periodontology*, **28**, 72-90.

Reichart, P. A. (2003). Oral manifestations in HIV infection: fungal and bacterial infections, kaposi's sarcoma. *Medical Microbiology and Immunology*, **192**, 165-169.

Ren, D., Zuo, R., González, B. A. F., Bedzyk, L. A., Eldridge, G. R., Pasmore, M. E., Wood, T. K. (2005). Differential gene expression for investigation of *Escherichia coli* biofilm inhibition by plant extract ursolic acid. *Applied and Environmental Microbiology*, **71**, 4022-4034.

Russell, M. W. (1998). Future strategies to control oral infections. Editor(s): Guggenheim, B., Shapiro, S. Oral Biology at the Turn of the Century: Misconceptions, Truths, Challenges and Prospects, Proceedings of the Conference on the Occasion of the 30th Anniversary of the Founding of the European Research Group of Oral Biology (ERGOB), Interlaken, Switzerland, **20-23**, 239-246.

Saravanan, R., Viswanathan, P., Pugalendi, K. V. (2006). Protective effect of ursolic acid on ethanol-mediated experimental liver damage in rats. *Life Sciences*, **78**, 713-718.

Scannapieco, F. A. (2004). Periodontal inflammation: from gingivitis to systemic disease?. *Compendium Continuing Education in Dentistry*, **25**, 16-25.

Shimizu, M., Zenko, Y., Tanaka, R., Matsuzawa, T., Morita, N. (1993). Studies on aldose reductase inhibitors from natural products. V. Active components of Hachimi-jio-gan (Kampo Medicine). *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, **41**, 1469-1471.

Srivastava, A., Shukla, Y. N., Kumar, S. (2000). Recent development in plant derived antimicrobial constituents-a review. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, **22**, 349-405.

Stacewicz-Sapuntzakis, M., Bowen, P. E., Hussain, E. A., Damayanti-Wood, B. I., Farnsworth, N. R. (2001). Chemical composition and potential health effects of prunes: a functional food?. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **41**, 251-286.



Steinberg, D., Feldman, M., Ofek, I., Weiss, E. I. (2005). Cranberry high molecular weight constituents promote *Streptococcus sobrinus* desorption from artificial biofilm. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **25**, 247-251.

Tomás-Barberán, F. A., Gil, M. I., Cremin, P., Waterhouse A. L., Hess-Pierce, B., Kader, A. A. (2001). HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches and plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 4748-4760.

Trivedi, H. M., Xu, T., Worrel, C. L., Panaligan, K. (2006). Dentifrice compositions containing extracts of Rosmarinus. *PCT Int. Appl.*, WO 2006065522.

Weber, N. D., Andersen, D. O., North, J. A., Murray, B. K., Lawson, L. D., Hughes, B. G. (1992). *In vitro* virucidal effects of *Allium sativum* (garlic) extract and compounds. *Planta Medica*, **58**, 417-423.

World Health Organization. (2004). WHO releases new report on global problem of oral diseases, Geneva. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr15/en/>

World Health Organization. (2003). The World Oral health Report 2003. Continuous improvement of the oral health in the 21<sup>st</sup> century the approach of the WHO Global Health Programme, Geneva. Disponible en: [http://www.who.int/oral\\_health/media/en/orh\\_report03\\_en.pdf](http://www.who.int/oral_health/media/en/orh_report03_en.pdf)

Wu, C. D., Wei, G.-X. (2002). Tea as a functional food for oral health. *Nutrition*, **18**, 443-444.

Yamanaka, Ayumi. (2004). Inhibitory effects of cranberry juice on attachment of oral streptococci and biofilm formation. *Shika Gakuho*, **104**, 115-119.

Zhang, H., Zhang, X., Tao, Z., Xu, L. (2007). Composition containing extract of flower, flower bud or receptacle of *Eriobotrya japonica* used as antitussive, antibacterial agent and antifungal agent, and its quality control method. *Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu*, 26.