



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA
CARRERA DE BIOLOGÍA



“Actividad antibacteriana y antifúngica de *Lantana camara* L.”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGA

PRESENTA

XIMENA GABRIELA MENDEZ CORONEL

DIRECTORA DE TESIS: DRA. CLAUDIA TZASNA HERNÁNDEZ
DELGADO

TLALNEPANTLA, ESTADO DE MÉXICO.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

RECONOCIMIENTO

El presente estudio fue realizado en el Laboratorio de Farmacognosia de la Unidad de Biología y Prototipos (UBIPRO) de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM y fue financiado por: proyecto PAPCA 2010-2011, y por el Royal Botanical Garden de Kew (MGU-Useful Plants Project México, UNAM).

Fue dirigido por la Dra: Claudia Tzasna Hernández Delgado

Fue revisado por el siguiente jurado:

Dr. José Guillermo Ávila Acevedo

Dr. Rafael Lira Saade

Dra. Claudia Tzasna Hernández Delgado

Dra. Ana María García Bores

M. en C. José Samuel Meraz Martínez

AGRADECIMIENTOS:

A la UNAM por haberme brindado la oportunidad de desarrollarme, y adquirir los mejores conocimientos para lograr este sueño

A la Dra: Claudia Tzasna Hernandez Delgado, por su gran cariño, conocimientos y paciencia, por la gran amistad que me brindó y por ser una gran persona

A la Dra. Ana Maria Garcia Bores por su apoyo y sus consejos, por siempre tener la disposición de ayudarme acompañada de una sonrisa

Al Dr. Guillermo Ávila Acevedo por ser un gran maestro, y por siempre estar dispuesto a aclarar mis dudas y compartirme sus valiosos conocimientos

Al Dr. Rafael Lira, por sus observaciones tan acertadas y conocimientos que ayudaron a enriquecer este proyecto

Al M. en C. Jose Samuel Meraz Martinez, por su paciencia, y el tiempo dedicado a mis dudas

A la maestra Marisol Ávila, por apoyarme en la redacción de este trabajo, y por todos los conocimientos compartidos, así como su valiosa amistad.

DEDICATORIAS

A Dios:

Por darme la oportunidad de vivir cada día de mi vida felizmente, por permitirme llegar a este momento tan importante de mi vida acompañada de mis seres queridos.

A mis padres:

A ustedes solo tengo que decirles Gracias!! Porque siempre me dieron lo mejor, y nunca me faltó nada, por los valores con los que me educaron para ser una buena persona, ustedes son mi ejemplo a seguir.

Mamá: Gracias por ser una guerrera, por ser una mujer ejemplar y la mejor madre del mundo, por siempre recibirme con una sonrisa y apoyarme en todo momento, Papá: Gracias por hacer de mí una mujer de bien, por todos los valores que me enseñaste desde pequeña, por ser una papá excepcional

Esto es para ustedes con todo mi cariño, porque ustedes son mi mayor fuerza para seguir adelante, luchando por mis sueños hasta cumplirlos. Les dedico esta tesis, porque sin ustedes no hubiera sido de esta manera, los amo!

A mis hermanos:

Emmanuel, María y Ricardo, gracias por ser mis compañeros de risas, peleas, lagrimas, por ser parte fundamental en mi vida, por el apoyo que siempre me han dado, esto es para ustedes, porque a pesar de toda adversidad siempre estaremos juntos como hermanos, los amo mucho.

A mi tía Esperanza, porque siempre has sido una segunda madre para mí, apoyándome, dándome consejos, preocupandote por mí por eso y más hoy te dedico mi tesis, te quiero muchísimo tía.

A mis amigos:

Ale, Julieta, Gaby; gracias amigas por siempre estar ahí, en las buenas y en las malas en las alegrías y tristezas, pero también en los momentos de felicidad, agradezco tanto por tenerlas, sin ustedes esto no tendría la misma dicha, las quiero.

Jess, Sara, Mir, Luis, gracias por compartir conmigo los mejores momentos de la carrera, por sorprenderse al igual que yo, viendo a través de un microscopio, por perderse en los bosques poniendo trampas, y siempre ver la vida a través de los ojos de la Biología, los quiero mucho amigos.

A farmacognosia

Adry, Gris, Pili gracias por aceptarme y regalarme una amistad tan bonita como la que tenemos, gracias por las risas y momentos compartidos

A Gilberto:

Gracias amor, por tantos años de paciencia y cariño, por tus ánimos cuando me desesperaba, por ser mi compañero de vida, por tanto amor que me brindas en cada momento de mi vida, por amarme y respetarme, sabes que esto lo comparto contigo Te amo.

ÍNDICE GENERAL

I. Resumen.	3
II. Introducción.	4
III. Objetivo general.	6
IV. Objetivos particulares.	8
V. Metodología.	9
3.1 Área de colecta	9
3.2 Microorganismos utilizados	10
3.3 Evaluación cualitativa de la actividad antimicrobiana	10
3.4 Evaluación cuantitativa de la actividad antimicrobiana	10
3.5 Evaluación cualitativa de la actividad antifúngica	11
3.6 Evaluación cuantitativa de la actividad antifúngica	11
3.7 Curva de sobrevivencia bacteriana	11
3.8 Caracterización fitoquímica de los extractos	12
VI. Resultados y análisis	13
VII. Discusión.	27
VII. Conclusiones.	30
IX: Apéndices.	31
Apéndice I. Familia Verbenaceae	31
Apéndice II. Área de estudio	33
Apéndice III. Método de maceración	34
Apéndice IV. Método de difusión en agar Kirby Bauer	34
Apéndice V. Método de dilución en agar	36
Apéndice VI. Método cualitativo de inhibición de crecimiento radial	37
Apéndice VIII. Método cuantitativo de inhibición del crecimiento radial de hongos	37
Apéndice IIX. Curvas de sobrevivencia bacteriana	38
Apéndice IX. Determinación de metabolitos secundarios	39
X. Referencias.	43

ÍNDICE DE CUADROS.

Cuadro 1. Antecedentes de <i>Lantana camara</i>	6
Cuadro 2. Pruebas cualitativas para la identificación de metabolitos secundarios de la especie en estudio	12
Cuadro 3. Datos etnobotánicos de <i>L. camara</i>	13
Cuadro 4. Rendimiento de los extractos de <i>L. camara</i>	14
Cuadro 5. Actividad antibacteriana en cepas Gram positivas de <i>L. camara</i>	14
Cuadro 6. Actividad antibacteriana en cepas Gram negativas de <i>L. camara</i>	15
Cuadro 7. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Bactericida Mínima (CBM) del extracto hexánico de <i>L. camara</i>	20
Cuadro 8. Actividad cualitativa del extracto hexánico de <i>L. camara</i> en organismos levaduriformes	23
Cuadro 9. Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Fungicida Mínima del extracto hexánico de <i>L. camara</i> en levaduras	25
Cuadro 10. Pruebas cualitativas en metabolitos secundarios	27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Evaluación cualitativa de la actividad antibacteriana de <i>L. camara</i>	16
Figura 2 . Halos de Inhibición del extracto Hexanico de <i>L. camara</i>	17
Figura 3. Efecto del extracto hexánico de <i>L. camara</i> en cepas Gram positivas y Gram negativas	18
Figura 4. Actividad antibacteriana de <i>L. camara</i>	18
Figura 5. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Bactericida Mínima (CBM) del extracto hexánico de <i>L. camara</i>	20
Figura 6. Efecto del extracto hexánico de <i>L. camara</i> sobre la curva de crecimiento de <i>S. aureus</i>	21
Figura 7. Efecto del extracto hexánico de <i>L. camara</i> sobre la curva de crecimiento de <i>E.coli</i>	22
Figura 8. Halos de Inhibición en actividad antifungica de <i>L. camara</i>	24
Figura 9. Efecto del extracto hexánico de <i>L. camara</i> sobre la curva de crecimiento de <i>C. albicans</i>	26
Figura 10. <i>Lantana camara</i>	31
Figura 11. Distribución de <i>L. camara</i> en México	33

Resumen

La especie *Lantana camara* es utilizada por los habitantes de San Rafael Coxcatlán para el tratamiento de enfermedades de posible origen infeccioso. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad antimicrobiana de *L. camara*. El material vegetal se colectó en San Rafael Coxcatlán Puebla. A partir de la planta seca y molida; mediante la técnica de maceración en metanol se obtuvo el extracto herbal, donde se obtuvieron 2 extractos uno polar y otro no polar. La actividad antimicrobiana se evaluó utilizando la técnica de difusión en agar de Kirby-Baüer, frente a 22 cepas bacterianas y 12 cepas de hongos, la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) y Concentración Bactericida Mínima (CBM) se determinaron mediante la técnica de dilución en agar, para la determinación de la Concentración Fungicida Media (CF₅₀) y Concentración Fungicida Mínima (CFM) se utilizó el método de inhibición del crecimiento radial. El extracto hexánico presentó actividad antimicrobiana frente a 15 cepas bacterianas (3 cepas de *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, 2 cepas de *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, 3 cepas de *Vibrio cholerae*, *Enterobacter aerogenes*, 2 de *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*), nueve cepas levaduriformes (5 cepas de *Candida albicans*, 2 cepas de *C. tropicalis*, *C. glabrata* y *Cryptococcus neoformans*). El extracto metanólico presentó actividad solo en 5 cepas bacterianas (2 cepas de *S. aureus*, *S. epidermidis* FESC y 2 de *V. cholerae*). Ambos extractos no presentaron actividad frente a hongos miceliados. Las cepas Gram negativas son más sensibles al efecto del extracto hexánico. Los resultados obtenidos tienden a validar el uso en la medicina tradicional de *L. camara* para el tratamiento de enfermedades de origen infeccioso.

Palabras clave: Actividad antibacteriana, *Lantana camara*, medicina tradicional.

INTRODUCCIÓN.

Desde tiempos antiguos los grupos humanos han utilizado las plantas para su consumo y uso curativo, contra los padecimientos de enfermedades (Sierra 2009). Nuestros antepasados investigaban la importancia de conocer profundamente las propiedades alimenticias, curativas y tóxicas de las plantas y animales que los rodeaban. Esto, con el paso del tiempo los llevo a la tarea de implementar una serie de instrumentos e ideas para poder utilizar los recursos naturales que las plantas les ofrecían. Uno de sus tantos descubrimientos son los grandes conocimientos etnobotánicos que hoy en día conocemos. La medicina tradicional suele utilizarse para tratar o prevenir algunos síntomas y enfermedades crónicas, así como para mejorar la calidad de vida, también se ha utilizado para tratar y cuidar a pacientes con enfermedades potencialmente mortales. La medicina tradicional es un elemento cultural con profundas raíces en todas las civilizaciones. Según la Organización Mundial de la Salud, entre 66 y el 85% de la población del planeta recurre a la herbolaria para curar diversos padecimientos y enfermedades (OMS, 2004).

Uno de los principales conocimientos que hoy en día tenemos gracias a nuestros antepasados son las plantas medicinales que son consideradas como el primer y más antiguo remedio que el ser humano utiliza desde sus orígenes, para el cuidado de la salud y que a la vez nos favorecen, en aspectos como la nutrición, alimentación, así como la aplicación dentro de la medicina alternativa o naturista la cual engloba todo tipo de productos naturales, destacando en las plantas, el uso de ciertos derivados como fibras y las hojas para fines de investigación y conservación (Pacheco et al., 2006).

Los productos naturales, son compuestos obtenidos de las plantas medicinales, que han sido ampliamente utilizadas desde tiempo atrás. Aunque los avances tecnológicos y de síntesis orgánica fina han ido desplazando cada vez más su uso por

sustancias sintéticas. Los consumidores prefieren a las plantas medicinales, de esta manera, se ha observado cómo ha crecido su consumo y utilización, dando paso a un desarrollo importante de la industria de plantas medicinales a nivel mundial (Pacheco et al., 2006).

En una gran variedad de países se mantiene la utilización de la medicina tradicional, la cual esta enfocada al estudio del conocimiento de las drogas medicinales. Esta ha sido una herramienta muy importante en los avances de la medicina y así mismo, para la cura de diferentes enfermedades usándose las plantas y sus productos como infusiones, tés, ungüentos, etc; para controlar algunos malestares en el ser humano. La mayor parte de los pueblos con culturas tradicionales, como lo es el caso de México, disponen de una enorme riqueza de conocimientos en la herbolaria aplicada al tratamiento de numerosas enfermedades (Aragón et al., 2009).

Como resultado de un llamado realizado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1977, para recuperar la “medicina tradicional” y validar el conocimiento que sobre ella se tenía con el debido rigor científico . En muchos países del mundo, se comenzó a producir un cambio importante en cuanto al estudio y empleo de las plantas medicinales (Pacheco et al., 2006).

Gran parte del territorio mexicano ha sido identificado como un centro de gran riqueza y alta fragilidad ecológica, donde existen grandes variedades de especies endémicas. Como resultado de su ubicación geográfica y compleja topografía así como su variedad de climas; se le considera un país megadiverso (Vega, 2008).

Como consecuencia de la gran variedad de condiciones ambientales que existen en nuestro territorio, en las plantas se encuentra también una amplia gama de sustancias químicas. Los principios activos se deben precisamente a los compuestos químicos de algunas plantas que las hacen útiles como medicamento, y pueden encontrarse en todo el individuo o sólo en algunas de sus estructuras. Su concentración y calidad dependen de diversos factores como la edad del organismo, el clima, la época del año, el tipo de suelo y la humedad, entre otros (Ocegueda et al., 2005).

Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios (MS) son compuestos de bajo peso molecular que no solamente tienen una gran importancia ecológica porque participan en los procesos de adaptación de las plantas a su ambiente, como el establecimiento de la simbiosis con otros organismos, en la atracción de insectos polinizadores, dispersores de las semillas y frutos etc. La síntesis activa de MS se induce cuando las plantas son expuestas a condiciones adversas tales como: a) el consumo por herbívoros, b) el ataque de microorganismos: virus, bacterias y hongos, c) la competencia por el espacio de suelo, la luz y los nutrientes entre las diferentes especies de plantas, d) la exposición a la luz solar u otros tipos de estrés abiótico. Los MS también reciben el nombre de productos naturales los cuales tienen un importante y significativo valor medicinal además de económico, derivando éste último en su uso en la industria cosmética, alimentaria y farmacéutica. Un gran número de los productos naturales, que ya se usaban en la medicina antigua como remedios para combatir enfermedades, se utilizan en la actualidad como medicamentos, resinas, gomas, potenciadores de sabor, aromas, colorantes, etc (Ávalos et al., 2009).

Los metabolitos secundarios se clasifican en aquellos que contienen a) nitrógeno, incluyen a: los alcaloides, aminoácidos no proteicos, aminos, glucósidos, cianogénicos y glucosinolatos. Y b) Los no nitrogenados: terpenoides, poliacetilenos, policétidos y fenilpropanoídes. (Jiménez et al., 2003).

En la medicina tradicional se han empleado una gran variedad de especies para el tratamiento de diversas enfermedades de todo tipo entre las cuales la familia *Verbenaceae* y especialmente las especies del género *Lantana* se encuentra bien representado (Garcilazo, 2003; Hernández et al., 2005).

Diversos estudios de *Lantana camara* se han reportado (Apéndice 1) en el siguiente cuadro se muestran algunos realizados en diferentes partes del mundo.

Cuadro 1. Antecedentes de *Lantana camara*

Autor	Año	Aportación
Verpoorte,	1982	Reporta que el extracto etanólico de las hojas presentan actividad antimicrobiana contra <i>Bacillus subtilis</i> siendo inactivo frente <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Candida albicans</i> .
Aguilar et al.	1994	El Instituto Mexicano del Seguro Social reporta, del género <i>Lantana</i> , a <i>L. frutilla</i> como antidiarreica, <i>L. involucrata</i> para el vómito y <i>L. vetulina</i> para aliviar el dolor de estómago. <i>L. camara</i> para aliviar diversos males estomacales
Barre Valsaraj Chariandy	1997 1997 1999	En distintos trabajos reportaron que las hojas presentan actividad contra <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>B. subtilis</i> y <i>Salmonella typhy</i> , no se encontró actividad contra <i>Enterococcus faecalis</i>
Chariandy et al.	1999	En Trinidad y Tobago <i>Lantana camara</i> es utilizada en el tratamiento de afecciones respiratorias y gastrointestinales asociadas a infecciones bacterianas

Ngassoum et al.	1999	Reportaron la composición química de el aceite esencial obtenido de las hojas y flores de planta cultivada en Madagascar y Camerún. Los principales componentes encontrados en el aceite de <i>Lantana</i> originaria de Camerún fueron el arcurcumeno (25%), el β -cariofileno (13%) y el epóxido de cariofileno (7%), junto con otros sesquiterpenos. El aceite de Madagascar fue rico en la davanona (15%) y β -cariofileno (12%).
Silva	1999	Estudiaron la composición del aceite esencial proveniente de la Región Amazónica del Norte de Brasil, y hallaron que el limoneno (17%), el α -felandreno (16%) y el sabineno (9%), junto con el germacreno D (13-28%), el β -cariofileno (11%), los curcumenos (27-31%) y el zingibereno (15- 19%) fueron componentes mayoritarios en estos aceites
Sharma	2000	Comprobaron la actividad hepatotóxica de los lantadenos (triterpenoides pentacíclicos) aislados de las hojas
Akhtar et al.	2000	Comprobaron la actividad antihelmíntica del aceite esencial siendo el α -selineno, isolongifoleno, β -gurjuneno y δ -cadineno sus componentes principales
Deena y Thoppil	2000	Mostraron que el aceite esencial posee una amplia actividad antibacteriana y antifúngica
Ghisalberti	2000	Hace una revisión completa de todos los compuestos aislados de esta especie y otras del género. Se puede destacar como antibacterianos los ácidos camarínico y lantánico y el triterpeno acetato de ursolato contra <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Salmonella thypi</i>
Laxminarain et al.,	2000	Se dedicaron al estudio de los componentes de la raíz aislando altas concentraciones de ácido oleanónico, lantadeno A, ácido camárico, β -sitosterol y su glucósido el ácido pomónico.

Kirimuhuzya et al.,	2009	Trabajaron con tres cepas de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> con extracto metanólico el cual mostró actividad contra las tres cepas probadas, y concluyeron que <i>L. camara</i> tiene principios activos contra la tuberculosis
---------------------	------	--

Justificación.

Desde tiempos antiguos la medicina tradicional ha sido de gran importancia para el ser humano en diferentes aspectos como lo es alimentación, herramientas para construcción, artesanía y medicinal siendo este último de gran interés, sin embargo, considerando a México un país megadiverso son pocos los estudios científicos que se han abordado con la gran diversidad de especies que habitan en el, tal es el caso de *L. camara*, que es utilizada en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de enfermedades de origen infeccioso es por eso que en el presente trabajo evaluó la actividad antimicrobiana (antibacteriana y antifúngica) ya que no existen reportes para esta especie que habita en México

De esta manera se estaría validando su uso en la medicina tradicional mexicana y de la misma manera se contribuye al conocimiento de la especie

Debido a que en otros países, se tienen registros de *Lantana camara* como agente antimicrobiano, se espera que en este trabajo los resultados coincidan con investigaciones anteriores.

Objetivo General

Evaluar la actividad antibacteriana y antifúngica de *L.camara*

Objetivos Particulares:

- Obtener extractos de diferente polaridad a partir de la planta seca
- Determinar el rendimiento de los extractos de *L. camara*
- Evaluar cualitativamente la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos de *L. camara*.
- Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), Concentración Bactericida Mínima (CBM), Concentración Fungicida Media (CF₅₀) y la Concentración Fungicida Mínima (CFM) de el o los extracto (s) activos de *L. camara*
- Evaluar el efecto del extracto activo sobre el crecimiento de dos poblaciones bacterianas
- Identificar los principales grupos de metabolitos secundarios presentes en el extracto activo

METODOLOGÍA

Área de coleta

La planta se colectó en el municipio de San Rafael Coxcatlán, En Noviembre del 2010 (Apéndice 1). La determinación de la especie se realizó por la M. en C. Edith López Villafranco del Herbario IZTA de la FES Iztacala y un ejemplar fue depositado en el mismo, teniendo como numero de colecta HCM 09

Obtención de los extractos

Los extractos se obtuvieron a partir de la parte aérea de *L. camara* por el método de maceración (Domínguez, 1973) mediante el uso de solventes de diferente polaridad (hexano y metanol). Los extractos se filtraron y el exceso de solvente se destiló a presión reducida. Se determinó el rendimiento total por diferencia de peso (Apéndice 3).

BIOENSAYOS

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Evaluación cualitativa de la actividad antibacteriana

Para la evaluación cualitativa de la actividad antibacteriana se utilizó la técnica de difusión en agar de Kirby - Bauer (Koneman, 1996), se realizó cada ensayo por triplicado. Los sensidiscos se impregnaron con 2 mg del extracto a probar como control positivo, se utilizaron sensidiscos impregnados con 25 µg de cloranfenicol y como control negativo se emplearon sensidiscos impregnados con 10 µL de cada uno de los disolventes empleados (Apéndice 4).

Microrganismos Utilizados:

Bacterias Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* ATCC 12398, *Staphylococcus*

epidermidis, *Bacillus subtilis* donadas por el laboratorio de microbiología de la FES Cuautitlán (UNAM). *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Streptococcus pneumoniae* aislada de un caso clínico donadas por el Hospital Ángeles (Metropolitano). *Staphylococcus aureus* Multiresistentes (78,75,83) aisladas de un caso clínico donadas por la CUSI.

Bacterias Gram-negativas: *Vibrio cholerae* NO-01, *Vibrio cholerae* INDRE 206 aislado de agua contaminada, *Vibrio cholerae* aislado de un caso clínico (estas cepas corresponden al grupo 01, productor de enterotoxinas, serotipo Inaba, biotipo El Tor), *Vibrio cholerae* CDC V12, *Enterobacter agglomerans* ATCC 27155, *Enterobacter aerogenes*, fueron donadas por el laboratorio de microbiología de la FES Cuautitlán (UNAM), *Yersinia enterocolitica*, fue donada por el laboratorio de análisis clínicos de la CUSI de la FES Iztacala (UNAM), y *Salmonella typhi* ATCC 19430. *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 53218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus mirabilis*, *Yersinia enterocolitica*, *Serratia mercrescens* aisladas de casos clínicos, donadas por el Hospital Ángeles (Metropolitano).

Evaluación cuantitativa de la actividad antibacteriana

La concentración Mínima Inhibitoria y la Concentración Bactericida Mínima se determinaron utilizando la microtécnica de dilución en agar (Koneman, 1996). Cada ensayo se realizó por triplicado. Las concentraciones para cada bioensayo fueron 0.0312, 0.065, 0.125, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 y 2.0 mg/mL, se utilizó cloramfenicol como control positivo a diferentes concentraciones (0.001-0.15µg/mL) (Apéndice 5).

Efecto del extracto sobre la curva de crecimiento de microorganismos

Para la evaluación de las curvas de sobrevivencia bacteriana se utilizó el método propuesto por Kubo y col 1993 (Modificado por Avila, 1996), se evaluaron dos cepas bacterianas una Gram positiva (*S. aureus*), una Gram negativa (*E. coli*) y un organismo levaduriforme (*C. albicans*), contabilizando un total de 24 horas divididos en 9 tiempos. Se utilizaron las concentraciones siguientes: ½ CMI, CMI, CBM y un

grupo control (Kubo et al., 1993 citado en Avila, 1996) (Apéndice 6).

ACTIVIDAD ANTIFUNGICA

Evaluación cualitativa de la actividad antifúngica

Para la evaluación cualitativa de la actividad antifúngica de los extractos de *L. camara* sobre los hongos filamentosos se utilizó el método cualitativo de inhibición del crecimiento radial (Wang y Bun, 2002). Se utilizaron sensidiscos impregnados con 2 mg del extracto a evaluar, los controles negativos fueron sensidiscos con 10 µL de hexano y metanol en como control positivo se utilizaron discos con 10 µg de ketoconazol (Apéndice 7). Para la evaluación de la actividad antifúngica sobre hongos levaduriformes se utilizó el método de difusión en agar de Kirby-Bauer, pero utilizando agar papa dextrosa (PDA), y como control positivo nistatina (20 µg/ disco).

Microrganismos Utilizados:

Hongos Filamentosos: *Fusarium sporotricoides* ATCC NRLL3299, *Fusarium moniliforme*, *Trichophyton mentagrophytes* donadas por el laboratorio de Fisiología Vegetal de la UPIBRO de la FES Iztacala (UNAM) *Fusarium moniliforme* CDBB-H-265, *Trichophyton mentagrophytes* CDBB-H-1112, *Aspergillus niger* CDBB-H-179, *Rhizoctonia solani* donada por el INIFAP, Celaya, México. *Rhizoctonia lilacina* CDBB-H-306

Levaduras: *Candida albicans* aislada de un caso clínico, donada por el laboratorio de Análisis Clínicos FES Iztacala (UNAM). *Cryptococcus neoformans*, *C. albicans* ATCC 10231, *C. albicans* ATCC 14065, donadas por la FES Cuautitlán (UNAM), *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* aisladas de casos clínicos, donadas por el Hospital Ángeles (Metropolitano).

Caracterización fitoquímica del extracto activo

El extracto se analizó mediante pruebas cualitativas de presencia y/o ausencia de alcaloides, fenoles, glicósidos, monoterpenos, esteroides y sesquiterpenlactonas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Pruebas cualitativas para la identificación de metabolitos secundarios en el extracto de la especie en estudio (Dey y Harbone, 1989; Domínguez, 1973).

Grupo	Reactivo	Coloración
Alcaloides	Dragendorff	Precipitado café
Fenoles	Cloruro férrico	Azul o verde
Glicósidos	Molish	Anillo morado
Monoterpenos	Vainillina en ácido	Azul
Esteroides y saponinas	sulfúrico	Azul, verde
Sesquiterpenlactonas	Lieberman-Burchard Prueba de Baljet	Naranja o rojo

Análisis estadísticos

A los resultados obtenidos de los bioensayos de la actividad antibacteriana se les realizó un análisis de varianza factorial, en donde los factores fueron: tratamientos, cepas bacterianas; mientras que para la actividad antifúngica se realizó un análisis de regresión de concentración del extracto contra inhibición del crecimiento radial, para cada especie, con el paquete de cómputo Minitab versión 15.

RESULTADOS Y ANALISIS

La planta *Lantana camara* L., conocida como “Cinco negritos rojos” se colectó en la región de San Rafael Coxcatlán Puebla durante el mes de Noviembre de 2010. Se depositó un ejemplar identificado en el Herbario IZTA de la FES-Iztacala UNAM. Los datos generales se muestran en el cuadro 3.

Cuadro 3. Datos etnobotánicos de *L. camara* L.

Familia.	Verbenaceae
Nombre científico	<i>Lantana camara</i>
Nombre común	Cinco negritos
Numero de colecta	HCM 09
Parte utilizada	Parte aérea
Forma de uso	Té o infusión.
Afección	Diarrea, malestares estomacales, cicatrización de heridas
Colector	Héctor Cervantes.

Rendimiento del extracto

El rendimiento de las dos fases tanto hexánica como metanólica se encuentra en el cuadro 4. Como se puede observar la partición metanólica tuvo un mayor rendimiento (2.1335 g) mientras que la fase hexánica fue de (1.739 g)

Cuadro 4. Rendimiento de los extractos de *Lantana camara*

Partición	Peso (g).	%
Matanólica (polar)	2.1335	1.82
Hexánica (no polar)	1.739	1.48

El mayor rendimiento del extracto metanólico se puede atribuir que la planta presenta un porcentaje mayor de compuestos polares como por ejemplo glicósidos, taninos etc

Evaluación cualitativa de la actividad antibacteriana

Los resultados obtenidos en la evaluación cualitativa de la actividad antibacteriana se presentan en los cuadros 5 y 6, en donde se puede observar el promedio y la desviación estándar de los halos de inhibición en las 22 cepas bacterianas desafiadas tanto con el extracto hexánico como con el extracto metanólico. La prueba cualitativa arrojó que el extracto hexánico presentó mayor actividad, mientras que el extracto metanólico solo presentó actividad en cinco cepas.

En el caso de las bacterias Gram positivas se encontró actividad en 7 de las 8 probadas para el extracto hexánico, mientras que para el metanólico solo se registró actividad en 3 de ellas

Cuadro 5. Actividad antibacteriana en cepas Gram positivas de *Lantana cámara L.*

Bacteria	Cloramfenicol	Extracto Hexánico	Extracto Metanólico
<i>B. subtilis</i>	29.33 ± 2.62	8.00 ± 0.00	Na
<i>E. feacalis</i> 29212	21.67 ± 1.70	6.00 ± 0.00	Na
<i>S. aureus</i> ATTCC		9.00 ± 0.00	Na
29213	27.60 ± 0.11	9.00 ± 0.00	10.00 ± 0.00
<i>S. epidermidis</i> FES C	7.00 ± 1.00	Na	Na
<i>S. aureus</i> Mr 48		6.00 ± 5.30	Na
<i>B. subtilis</i> Fes C	16.00 ± 0.47	8.00 ± 0.00	10.00 ± 0.00
<i>S. aureus</i> Mr 75		9.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00
<i>S. aureus</i> Mr 83			

Simbología: *B. subtilis* = *Bacillus subtilis*, *Enterococcus feacalis* 29212 = *E. feacalis* 29212, *Staphylococcus aureus* ATTCC 29213= *S. aureus* ATTCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* FES C= *S. epidermidis* FES C, *Staphylococcus aureus* Mr 48= *S. aureus* Mr 48, *Bacillus subtilis* Fes C= *B. subtilis* Fes C, *Staphylococcus aureus* Mr 75= *S. aureus* Mr 75, *Staphylococcus aureus* Mr 83= *S. aureus* Mr 83

Cuadro 6. Actividad antibacteriana en cepas Gram negativas de *Lantana camara*

Bacteria	Cloramfenicol	Extracto Hexánico	Extracto Metanólico
<i>V. cholerae</i> agua	10.00 ± 1.00	7.00 ± 0.00	Na
<i>V. cholerae</i> cc	27.67 ± 0.47	7.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00
<i>P. aeruginosa</i>	7.33 ± 0.60	5.00 ± 0.00	Na
<i>V. cholerae</i> Tor	6.66 ± 0.60	12.0 ± 0.00	8.00 ± 0.00
<i>E. aerogenes</i>	19.33 ± 0.47	6.66 ± 0.60	Na
<i>E. coli</i>	9.00 ± 0.00	Na	Na
<i>P. aeruginosa</i> cc	7.33 ± 0.60	9.666 ± 1.00	Na
<i>S. typhi</i>	25.67 ± 0.47	Na	Na
<i>Y. enterocolitica</i> HA	25.67 ± 0.47	10.00 ± 0.00	Na
<i>E. coli</i> ATTCC 53228	9.00 ± 0.00	17.00 ± 0.00	Na
<i>E. cloacae</i>	23.00 ± 0.47	Na	Na
<i>E. aerogenes</i> cc	12.00 ± 0.47	Na	Na
<i>P. mirabilis.</i>	13.33 ± 4.16	Na	Na
<i>Y. enterocólitica</i>	8.33 ± 0.60	Na	Na

Simbología: .HA= Hospital Ángeles, cc= caso clínico

Las bacterias Gram negativas presentaron mayor actividad para el extracto hexánico ya que presentó actividad en 8 de 14 cepas desafiadas; por otro lado el extracto metanólico solo presentó en dos cepas.

En la Figura 1, podemos observar de manera general la actividad presentada en ambos extractos y en ambos tipos bacterianos.

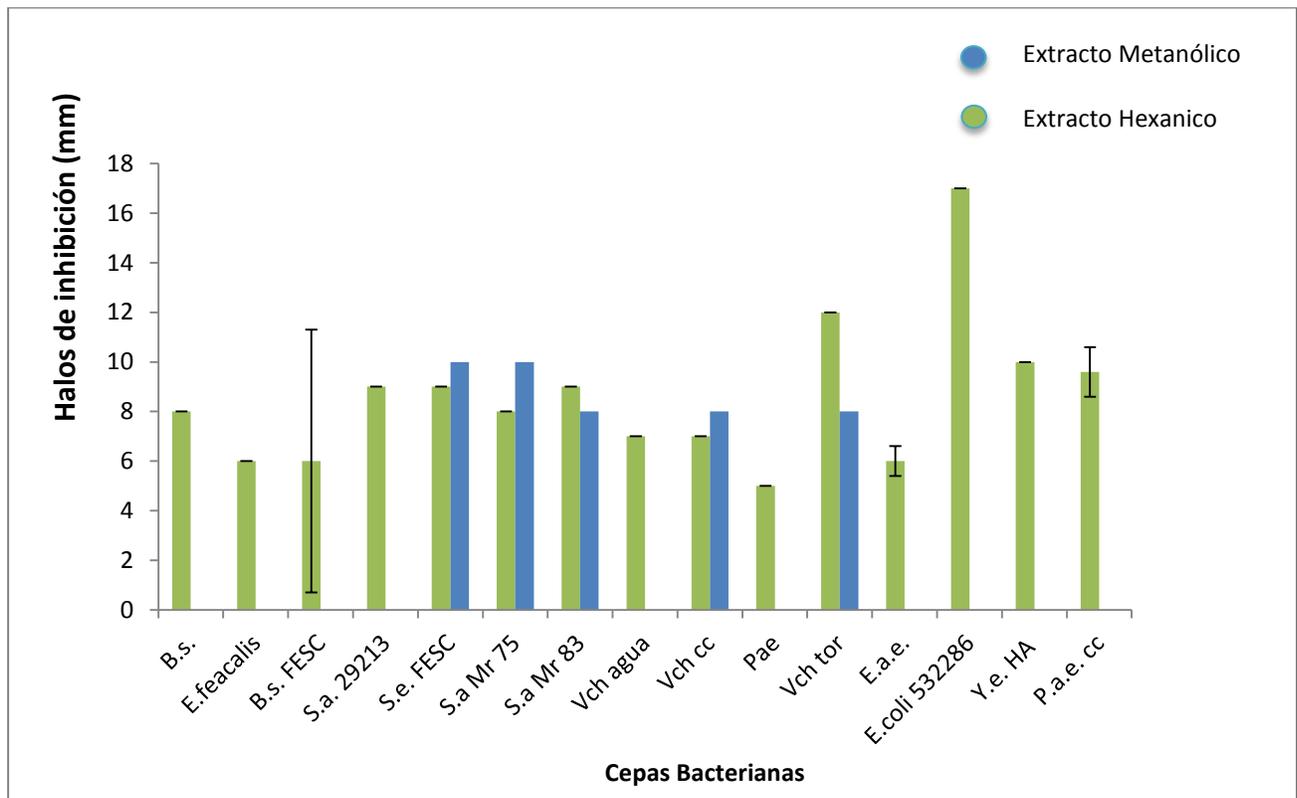


Figura 1. Evaluación cualitativa de la actividad antibacteriana de los extractos de *L. camara*. Simbología: *B.s* = *Bacillus subtilis*, *E. feacalis* = *Enterococcus faecalis*, *B.s* FESC = *Bacillus subtilis* FESC, *S.a.* 29213= *Staphylococcus aureus* 29213, *S.e.* FESC= *Staphylococcus epidermidis* FESC, *S.a.* 75 = *Staphylococcus aureus* 75, *S.a.* 83= *Staphylococcus aureus*, *Vch.* agua= *Vibrio cholerae* aislada de agua contaminada, *Vch.* Cc= *Vibrio cholerae* aislada de caso clínico, *P.a.e.* = *Pseudomonas aeruginosa*, *Vch* tor= *Vibrio cholerae* biotipo El Tor, *E.a.e.*= *Enterobacter aerogenes*, *E. coli* 532286= *Escherichia coli* 532286, *Y.e.* HA= *Yersinia enterocolitica*, *P.a.e.* cc= *Pseudomonas aeruginosa* aislada de caso clínico

Los resultados obtenidos en la prueba cualitativa muestran que el extracto hexánico presentó actividad antibacteriana frente a 15 cepas (7 Gram positivas y 8 Gram negativas) 3 cepas de *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, 2 cepas de *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, 3 cepas de *Vibrio cholerae*, 2 cepas de *Pseudomona aeruginosa*, *Yersinia enterocolitica*, *Enterobacter aerogenes* y *Escherichia coli*. Esta última fue la cepa que mostró los halos de inhibición más grandes (17.66 ± 2.081 mm) y *Pseudomonas aeruginosa* la que mostró los halos de inhibición más pequeños (5.33 ± 4.1 mm). (Figura 1). Por otro lado el extracto metanólico presentó muy poca actividad siendo *S. epidermidis* y *S. aureus* las que presentaron los mayores halos de inhibición con un promedio de (10.00 ± 0.71 mm) debido a lo anterior en las siguientes pruebas solo se trabajo el extracto hexánico.

En la figura 2 se observa el diagrama de caja donde se representa los halos de inhibición de las cepas bacterianas que se utilizarón y que tuvieron actividad con extracto hexánico; donde la cepa que presentó la mediana mas grande fue *B.subtillis* FESC con 10.00 mm, mientras que *P. aeruginosa* fue la que presentó la mediana más pequeña con 5.00 mm. El análisis de varianza ANOVA determinó que existen diferencias significativas ($F=14.25$ $P=0.000$). en cuanto halos de inhibición de las cepas evaluadas.

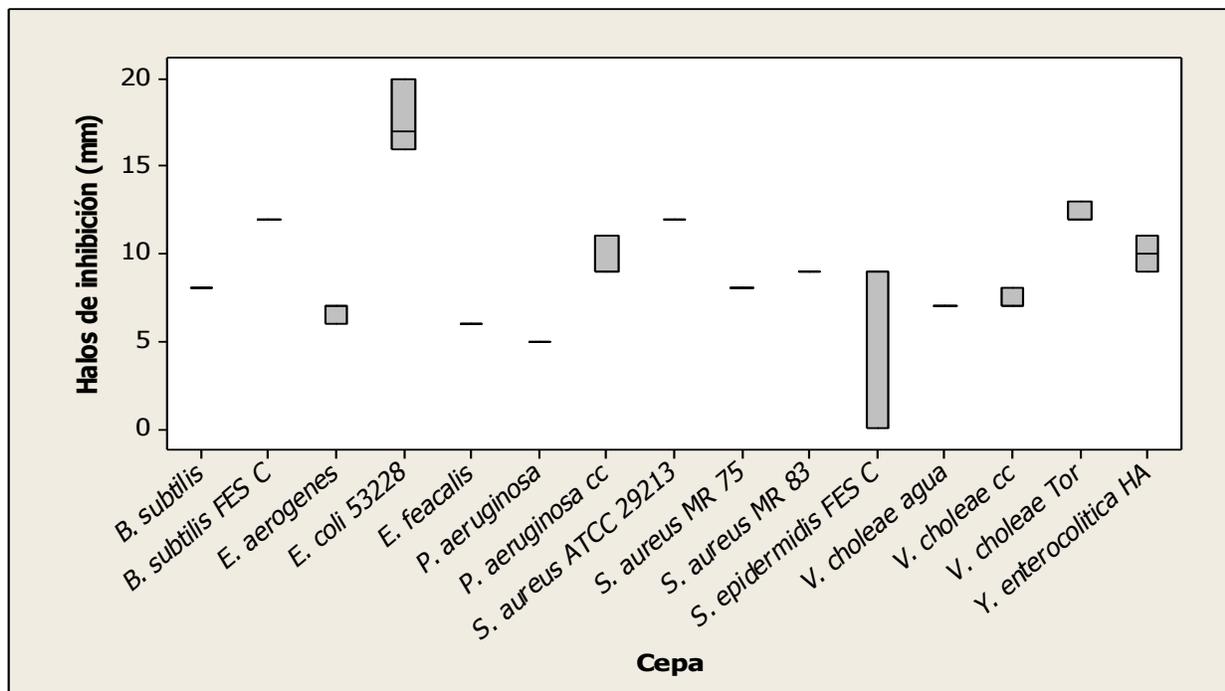


Figura 2. Halos de inhibición con extracto hexánico de *L. camara*.

Simbología: Igual a la anterior

En cuanto al tipo bacteriano podemos observar en la figura 3; que las bacterias Gram negativas tuvieron mayores halos de inhibición en comparación con las Gram positivas

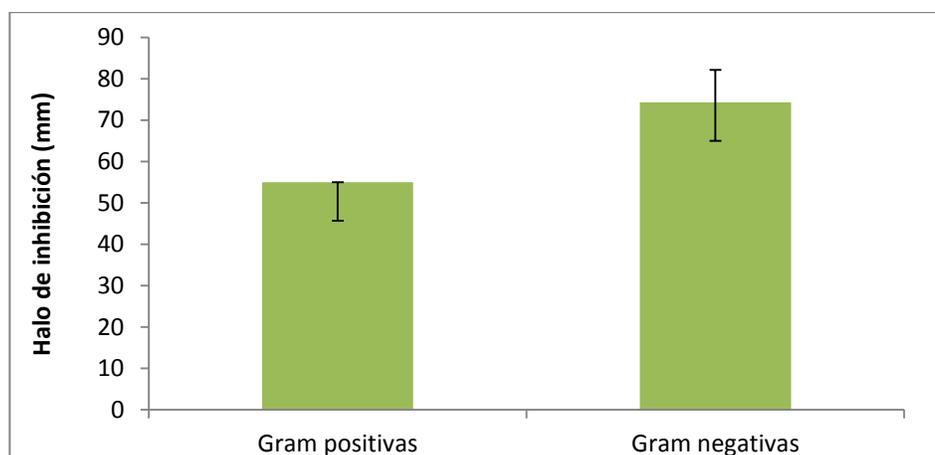


Figura 3 . Efecto del extracto hexánico de *Lantana camara* en bacterias Gram positivas y Gram negativas.

En la figura 4 se presenta el diagrama de caja que cual indica las diferencias del promedio en cuanto a los halos de inhibición por tipo bacteriano, de acuerdo con el análisis de varianza que se llevó a cabo, no se encontraron diferencias significativas ($F=0.51$, $P=0.480$). Como se observa En esta figura hay dos asteriscos los cuales representan los halos de inhibición que se salieron por completo del rango establecido, ya que las cepas probadas mostraron mucha similitud en sus halos de inhibición.

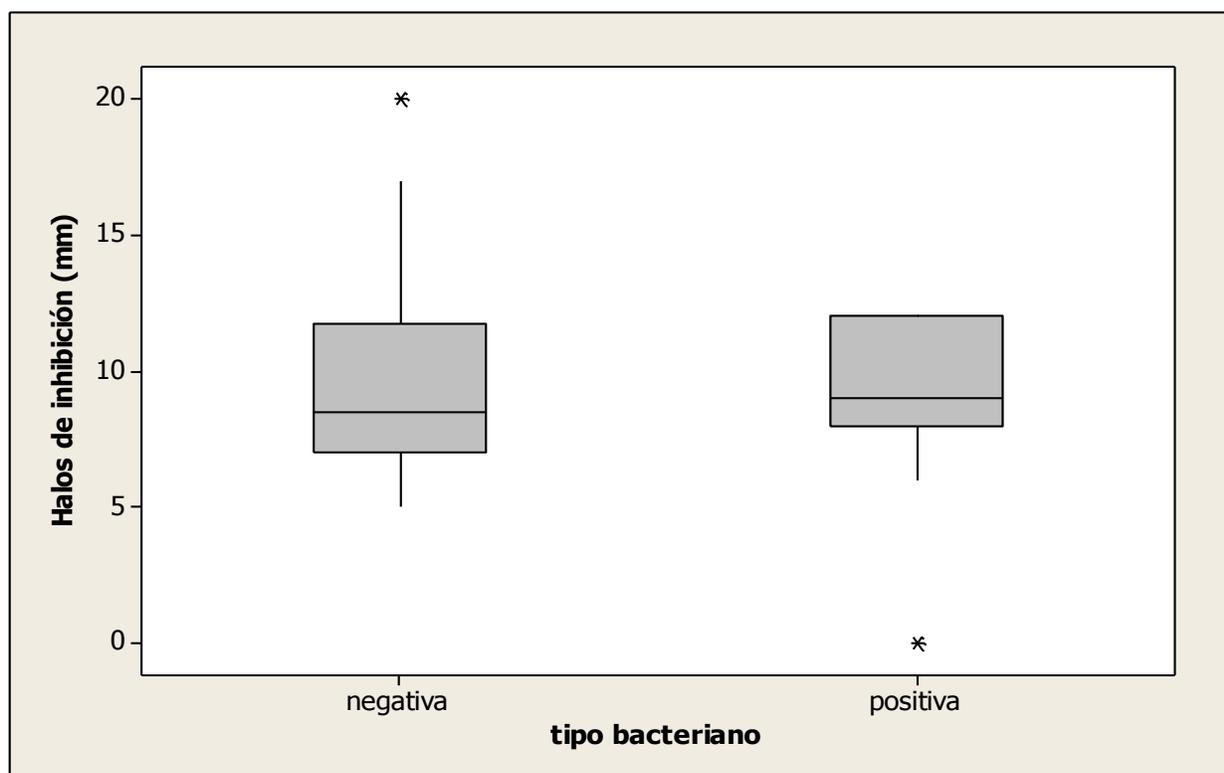


Figura 4. Actividad antibacteriana del extracto hexánico de *L. camara*

Evaluación cuantitativa de la actividad antibacteriana

Los resultados obtenidos en la evaluación cuantitativa de la actividad antibacteriana se muestran en el cuadro 7.

Cuadro 7. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Bactericida Mínima (CBM) del extracto hexánico de *Lantana camara L.*

Bacteria	MIC (mg/mL)	CBM (mg/ mL)
<i>B. subtilis</i>	0.250	0.500
<i>B. subtilis</i> FES C	0.125	0.250
<i>E. feacalis</i> ATCC 29212	0.500	0.750
<i>S.aureus</i> ATCC 29213	0.500	0.750
<i>S.epidermidis</i> FESC	0.125	0.250
<i>S.aureus</i> Mr 75	0.500	0.750
<i>S.aureus</i> Mr 83	0.500	0.750
<i>V. cholerae</i> agua	1.000	2.000
<i>V. cholerae</i> cc	0.500	0.750
<i>P. aeruginosa</i>	0.500	0.750
<i>V. cholerae</i> Tor	0.250	0.500
<i>E. aerogenes</i>	0.500	0.750
<i>E.coli</i> ATTCC 53228	0.0625	0.125
<i>Y. enterolítica</i> HA	0.500	0.750
<i>P. aeruginosa</i> cc	0.500	0.750

Simbología: Igual a la anterior

En la prueba cuantitativa para ver la concentración de CMI Y CBM se pudo observar que las bacterias mas sensibles al extracto hexánico fueron *E. coli* y *B. subtilis* ya que en el caso de *E. coli* requiere de una concentración igual a 0.0625 mg/mL para inhibir su crecimiento drásticamente, mientras que para *B. subtilis* inhibió su crecimiento a una concentración de 0.125 mg/mL. Por otro lado las que presentaron una menor sensibilidad fueron *S. epidermidis* y *V. cholerae* aislado de agua contaminada ya que ambas requieren 2.00 mg/mL para inhibir de manera drástica su crecimiento (Figura 5). De manera general puede decirse que en cuanto a los valores cuantitativos 9 cepas tuvieron una CMI de 0.750 mg/mL de las cuales 4 son Gram positivas y 5 Gram

negativas por lo cual se reporta que las más sensibles al extracto hexánico fueron las cepas Gram negativas

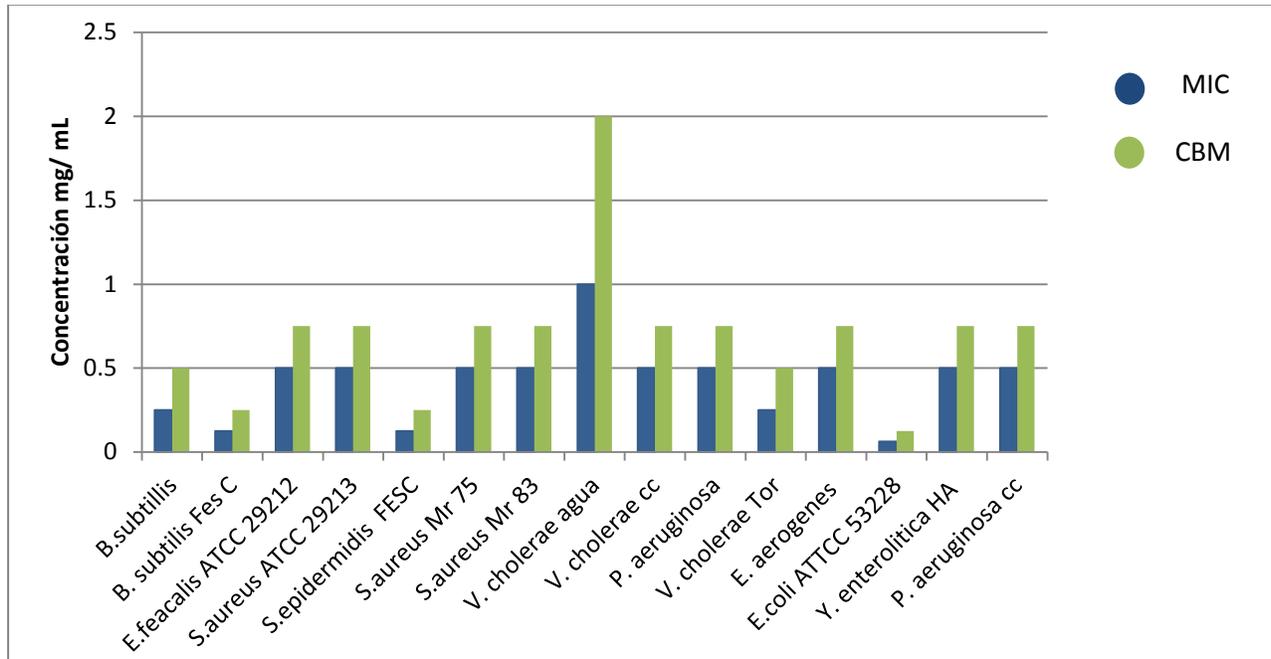


Figura 5. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Bactericida Mínima (CBM) del extracto hexánico de *L. camara*. Simbología: Igual a la anterior

Curvas de sobrevivencia bacteriana

El efecto del extracto hexánico sobre las curvas de crecimiento tanto de *S. aureus* y *E. coli* se observa en la figura 6 y 7, donde se muestra claramente un efecto bacteriostático ya que a concentraciones iguales a CBM o menores se logra disminuir las poblaciones bacterianas. Se puede observar que en las primeras 5 horas, el extracto de *L. camara*, logra disminuir las unidades formadoras de colonias UFC, sin embargo pasado este tiempo la población bacteriana logra recuperarse. Esto puede deberse a que se utilizó el extracto hexánico el cual es no polar y al momento en que interacciona con el caldo donde se diluyó la bacteria, no es fácil que se solubilice, lo

cual a su vez permitió que algunas de las bacterias permanecieran vivas y se siguieran reproduciendo ocasionando un incremento de la población a las 9 horas. Pero no alcanzando un crecimiento logarítmico típico bacteriano, por lo anterior no hubo muerte celular, pero se considera un efecto bacteriostático del extracto

Tomando en cuenta los resultados obtenidos, puede decirse que *L. camara* es un buen agente antimicrobiano, ya que a las diferentes concentraciones interrumpe el crecimiento tanto en *S. aureus* como en *E. coli*, permitiendo de esta manera que el sistema inmunológico actué eliminando la población de dichas bacterias.

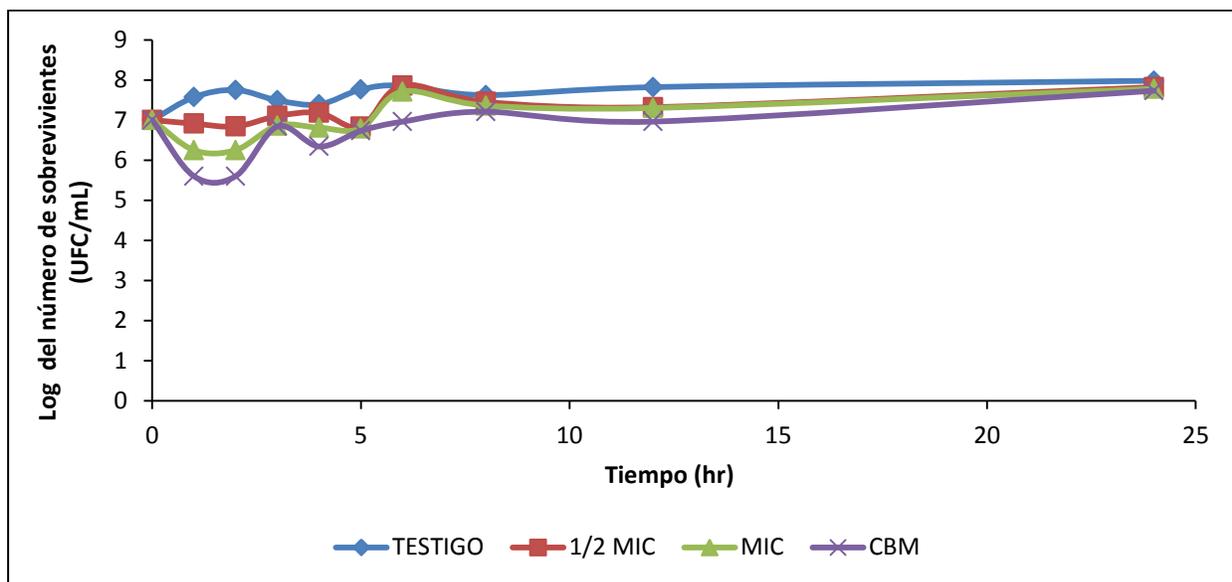


Figura 6. Efecto del extracto hexánico de *L. camara* sobre la curva de crecimiento de *S. aureus*. Simbología: UFC: unidades formadoras de colonias; hr: horas; $\frac{1}{2}$ MIC= 0.0625mg/mL; MIC= 0.125 mg/mL; CBM = 0.25 mg/mL.

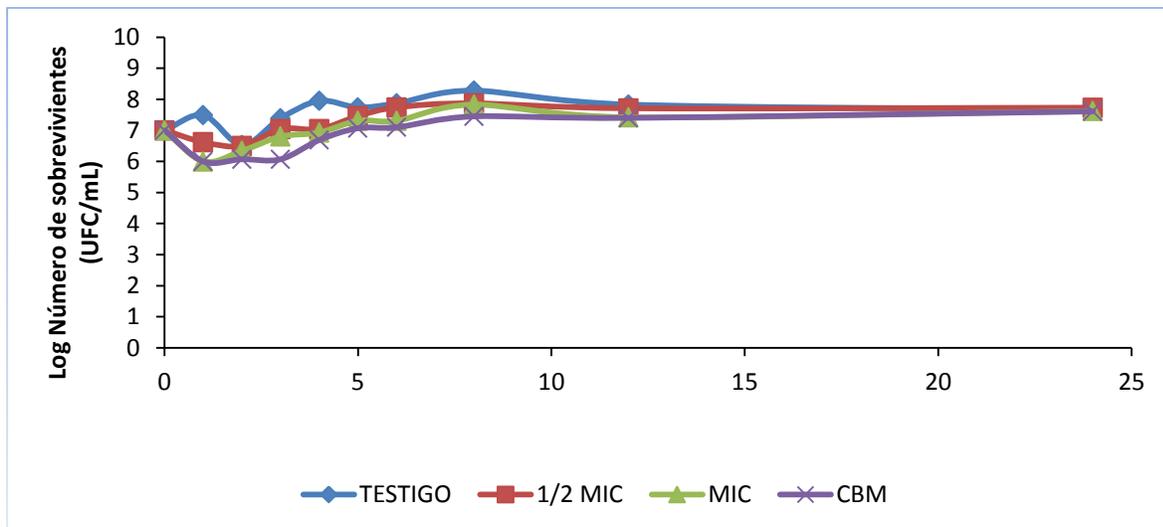


Figura 7. Efecto del extracto hexánico de *L. camara* sobre la curva de crecimiento de *E. coli*. Simbología: UFC: unidades formadoras de colonias; hr: horas; $\frac{1}{2}$ MIC= 0.0625mg/mL; MIC= 0.125 mg/mL; CBM = 0.25 mg/mL.

Evaluación cualitativa de la actividad antifúngica

Los resultados obtenidos en la evaluación cualitativa de la actividad antifúngica mostraron que no hay actividad en hongos miceliados. Sin embargo el extracto hexánico presentó actividad en 9 cepas levaduriformes las cuales se muestran en el cuadro (8), mientras que para el extracto metanólico no hubo registro de actividad antifúngica, es por eso que de igual manera para las pruebas posteriores solo se utilizó extracto hexánico

Como se observa *C. albicans* ATCC 14065 tuvo los halos de inhibición más grandes 11.00 ± 0.00 mm, mientras que *C. albicans* donada por la FESC, *C. glabrata* y *C. albicans* ATCC 10231 fueron las que presentaron los halos de inhibición más pequeños 7.00 ± 0.00 mm, como se muestra en el cuadro 8.

Cuadro 8. Actividad cualitativa del extracto hexánico de *L. camara* en organismos levaduriformes

Levadura	Nistatina	Extracto hexánico	Extracto metanólico
<i>C. albicans</i> MCC	9.33 ± 0.58	10.00 ± 0.00	Na
<i>C. glabrata</i>	7.67 ± 0.58	7.00 ± 0.00	Na
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	9.67 ± 0.58	7.00 ± 0.00	Na
<i>C. tropicalis</i>	9.00 ± 1.00	10.00 ± 0.00	Na
<i>C. albicans</i> URO	9.33 ± 0.58	10.00 ± 0.00	Na
<i>C. albicans</i> CUSI	9.33 ± 0.58	10.33 ± 0.00	Na
<i>C. albicans</i> ATCC 14065	11.83 ± 2.02	11.00 ± 0.00	Na
<i>C. tropicalis</i> MCC	9.00 ± 1.00	10.00 ± 0.00	Na
<i>C. glabatra</i> FESC	9.33 ± 0.58	7.00 ± 0.00	Na

Simbología: *C. albicans* MCC= *Candida albicans* aislada de un caso clínico, *C. glabrata* = *Candida glabrata*, *Ca* ATCC 10231= *Candida albicans* aislada de un caso clínico, , *C. tropicalis* = *Candida tropicalis*, *C. albicans* URO= *C. albicans* aislada de un urocultivo, *C. albicans* cc =*Candida albicans* donada por la CUSI, *C. albicans* ATCC 14065 = *Candida albicans* aislada de un caso clínico, *C. tropicalis* MCC= *Candida tropicalis* aislada de un caso clínico, *C. albicans* FESC = *C. albicans* donada por la FESC.

En la figura 8 se puede observar el diagrama de caja que representa como es que se comportaron los halos de inhibición que arrojaron las cepas de *C. albicans* donde se puede notar que las cepas que presentaron un comportamiento similar fueron *C. albicans* ATCC 10231. *C. glabatra* con una mediana de 7.00 mm. La cepa que presentó los mayores halos de inhibición fue *C. albicans* ATCC 14065 con una

mediana de 11.00 mm. Se aplicó un análisis de varianza donde se obtuvo que si existen diferencias significativas en los halos de inhibición ANOVA ($F=69.58$, $P<0.000$).

Cabe resaltar que como se observa en (Cuadro 8), ninguna de las cepas levaduriformes presentó actividad frente al extracto metanólico por lo cual el análisis de varianza se hizo de un solo factor.

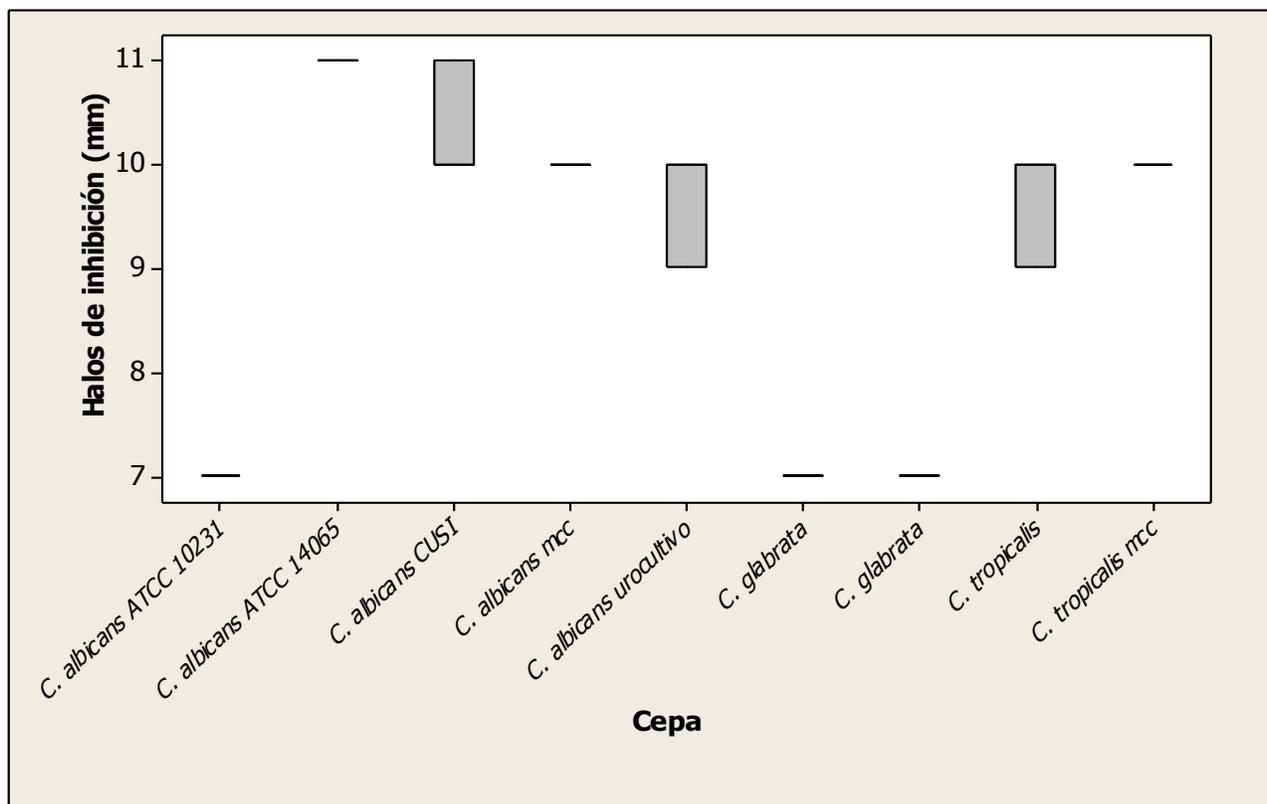


Figura 8. Halos de inhibición en actividad antifúngica de *L. camara*

Evaluación cuantitativa de la actividad antifúngica

Los resultados obtenidos en la evaluación cuantitativa de actividad antifúngica se muestran en el cuadro 9.

Cuadro 9. Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Fungicida Mínima del extracto hexánico de *Lantana cámara L.* en levaduras

Levadura	MIC (mg/ mL)	CBM (mg/ mL)
<i>C. albicans</i> MCC	0.250	0.500
<i>C. glabrata</i>	0.250	0.500
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	0.250	0.500
<i>C. tropicalis</i>	0.125	0.250
<i>C. albicans</i> URO	0.250	0.500
<i>C. albicans</i> CUSI	0.250	0.500
<i>C. albicans</i> ATCC 14065	0.062	0.125
<i>C. tropicalis</i> MCC	0.250	0.500
<i>C. albicans</i> FESC	0.500	0.750

Simbología: Igual a la anterior

En la prueba cuantitativa, los organismos levaduriformes que presentaron mayor sensibilidad al extracto hexánico fueron *C. albicans* ATCC 14065 con una MIC de 0.062 mg/ mL y *C. tropicalis* la cual inhibió su crecimiento a un concentración de 0.125 mg/ mL, por otro lado la que presentó mayor resistencia fue *C. albicans* FESC con una MIC de 0.500 mg/ mL

El efecto del extracto hexánico sobre la curva de crecimiento de *C. albicans* se muestra en la figura 9.

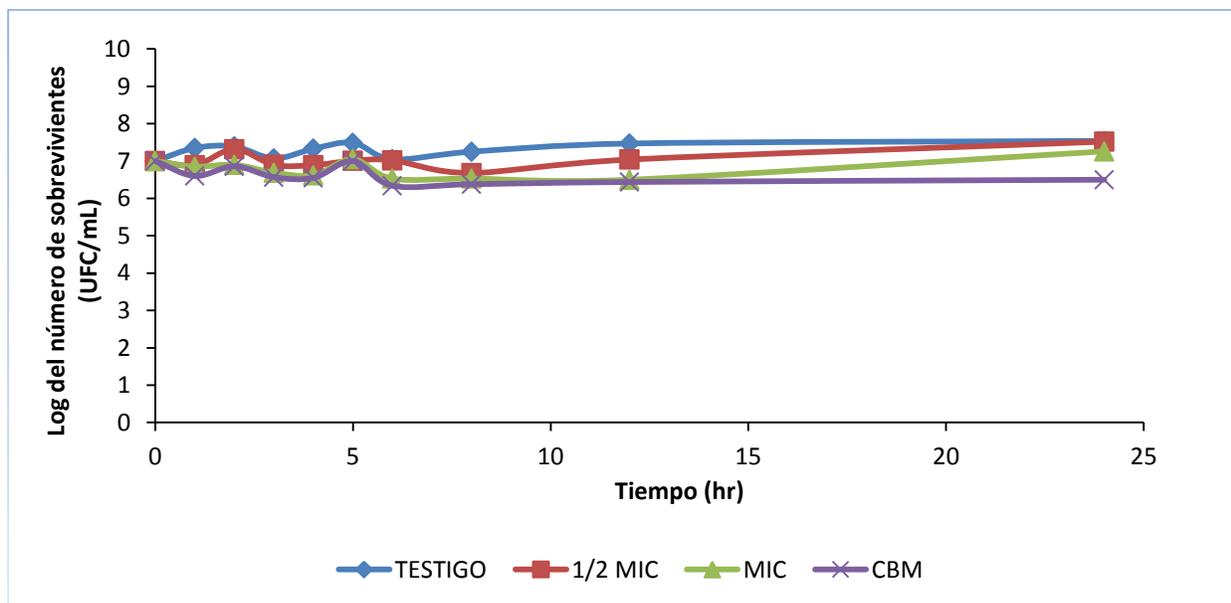


Figura 9. Efecto del extracto hexánico de *L. camara* sobre la curva de crecimiento de *C. albicans*. Simbología: UFC: unidades formadoras de colonias; hr: horas; $\frac{1}{2}$ MIC= 0.0625 mg/mL; MIC= 0.125 mg/mL; CBM = 0.25 mg/mL.

Como se puede observar en la figura 9 en el caso de *C. albicans* que es un organismo levaduriforme también se presentó un efecto fungistático, lo cual nos indica que *L. camara* tiene un gran alcance como antimicrobiano, ya que si no logra inhibir totalmente el crecimiento de la levadura, si logra disminuir la población, permitiendo que se active el sistema inmunológico. Y aunque se muestra una cierta recuperación en la actividad bacteriana, debe considerarse que al igual que las bacterias se utilizó el extracto hexánico el cual es no polar por lo cual pudo darse este cambio en el proceso de la cinética

No se encontró actividad antifúngica en los siguientes hongos; *Fusarium sporotricoides* ATCC NRL3299, *Fusarium moniliforme*, *Trichophyton mentagrophytes* donadas por el laboratorio de Fisiología Vegetal de la UPIBRO de la FES Iztacala (UNAM) *Fusarium moniliforme* CDBB-H-265, *Trichophyton mentagrophytes* CDBB-H-1112, *Aspergillus niger* CDBB-H-179, *Rhizoctonia solani* donada por el INIFAP, Celaya, México. *Rhizoctonia lilacina* CDBB-H-306

RESULTADOS DE PRUEBAS FITOQUÍMICAS.

En la parte fitoquímica se llevaron a cabo diferentes pruebas cualitativas de algunos grupos de metabolitos secundarios, obteniendo los resultados que se muestran en el cuadro 10.

Cuadro 10. Pruebas cualitativas de metabolitos secundarios

Tipo de metabolito secundario	Resultado
Alcaloides (Dragendorff y Meyer)	Positivo
Glicósidos (Molish)	Positivo
Fenoles (Cloruro férrico)	Negativo
Terpenos (Vainillina)	Positivo

Los resultados arrojados por las pruebas cualitativas para determinar que grupos de metabolitos se encuentran en *L. camara* se obtuvo que contiene alcaloides, glicósidos y terpenos, sin embargo no hubo presencia de fenoles.

Discusión general.

La especie *Lantana camara* conocida como cinco negritos rojos en San Rafael Coxcatlán Puebla, es una planta con una amplia distribución en el mundo y en México (ver apéndice 1– figura 5). Las propiedades de las plantas de su género han sido utilizadas en la medicina tradicional con fines terapéuticos (Ghisalberti, 2000), principalmente para el tratamiento de afecciones gastrointestinales, como casos de diarrea y dolor de estómago (Hernandez et al., 2005)

En otros lugares del mundo la usan como infusión para ayudar a la cicatrización más rápida de las heridas, para vómito, cólicos o simplemente para aliviar diversos malestares estomacales (Ávila 1996). Por este motivo en los últimos años se ha considerado a este género como un campo fructífero en la investigación farmacológica, sin embargo son escasos los estudios fitoquímicos y farmacológicos que se han realizado (Pascual et al., 2001). *Lantana camara* ha sido muy utilizada en la medicina tradicional en diferentes partes del mundo, para tratar una gran variedad de enfermedades (Ross, 1999), aunque no en México se han abordado de manera escasa investigaciones sobre *Lantana camara* por lo cual surgió el interés de validar su uso medicinal y estudiar su actividad antimicrobiana.

En cuanto al rendimiento de los extractos de *L. camara* el extracto metanólico fue el que tuvo un mayor rendimiento con un 1.82 % en comparación con el extracto hexánico 1.48 % (Cuadro 4). Estos resultados indican que *L. camara* presenta en mayor cantidad compuestos polares. El alto rendimiento del extracto metanólico puede ser debido a que la planta sintetiza mayor cantidad de compuestos polares (glucosidos, flavonoides, etc).

De acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas de la actividad antibacteriana, en la parte cualitativa, el extracto hexánico de *L. camara* presentó actividad en ambos tipos de bacterias como muestran los cuadros 5 y 6; ya que logro inhibir principalmente 7 bacterias Gram positivas y 8 Gram negativas siendo *E. coli* la que mostro los halos de inhibición más grandes (17.00 ± 0.00 mm) y *P. aeruginosa* la que obtuvo los más pequeños (5.00 ± 0.00 mm). Para saber exactamente a que concentración se inhibían se hicieron las pruebas cuantitativas, en donde se pudo observar que la bacteria más sensible al extracto hexánico de *L. camara* fue *E. coli* con una Concentración Mínima Inhibitoria de 0.0625 mg/mL y que por el contrario las más resistentes fueron *S. epidermidis* y *V. cholerae* con 2.00 mg/ mL, lo cual concuerda con lo reportado por Cruz y colaboradores (2010) ya que el extracto etanólico de las hojas de *L. camara* no presentó actividad frente a *E.coli*; sin embargo en el presente estudio se reportó que las pruebas arrojaron resultados positivos para *E.coli* lo cual concuerda con Barre (1997) y Chariandy y colaboradores en 1999

donde en diferentes trabajos reportaron que las hojas de *L. camara* si presentaron actividad contra *E. coli*.

Verpoorte y colaboradores en (1982) Reporta que el extracto etanólico de las hojas presentan actividad antimicrobiana contra *Bacillus subtilis* siendo inactivo frente *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*

De manera más general las bacterias Gram negativas presentaron mayores halos de inhibición (9.29 ± 0.6 mm) en comparación con las Gram positivas (7.85 ± 5.30 mm). Lo cual indica que coincidiendo con otras investigaciones esta planta se reporta como eficaz ante bacterias Gram negativas (Valsaraj 1997; Samy y Ignacimuthu, 2000), al igual que Navon en el 2005 quien reportó que el extracto de *L. camara* tuvo una mayor actividad en bacterias Gram negativas. Nuestros resultados son consistentes con los estudios previos realizados por Deena y Thoppil, donde se verificó el potencial antibacteriano de *L. camara* principalmente en cepas Gram negativas. Puede ser que en el caso de las cepas Gram positivas el compuesto activo no alcance el sitio blanco de acción o bien, alguna de sus estructuras impida el paso del principio activo al interior de la célula bacteriana (Soto, 2003), esto podría deberse a las diferencias en la composición de las paredes celulares de cada grupo de bacterias (Madigan et al., 2004).

El efecto del extracto hexánico de *L. camara* sobre las curvas de crecimiento de *S. aureus*, *E.coli* y *C. albicans* es bacteriostático ya que aunque existieron ciertos cambios en las UFC no se logró inhibir por completo el crecimiento de la población (figura 6, 7 y 9).

Diversas especies de la familia Verbenaceae, han mostrado tener actividad antimicrobiana contra *E. coli* y *S. aureus* (Lemos et al., 1990). En el 2009 Sharma y colaboradores reportaron actividad antimicrobiana de *L. camara* proveniente de la India contra *S aureus* debido a la alta presencia de flavonoides en esta planta.

Se sabe que la familia Verbenaceae contiene sesquiterpenos y han demostrado su

amplia actividad antifúngica, la cual se ha relacionado con su grupo α -metileno- γ -lactona,(Barrero et al., 2000)

En cuanto a la actividad antifúngica cualitativa el extracto hexánico presentó actividad en nueve organismos levaduriformes, en los cuales el mayor halo de inhibición fue de *C. albicans* ATCC 14065 11.00 ± 0.00 mm y los menores para *C. albicans* FESC, *C. albicans* ATCC 10231, *Ca. glabrata* con 7.00 ± 0.00 mm.

Mientras que en la evaluación cuantitativa se observó que al determinar MIC y CFM (cuadro 9) *C. albicans* ATCC 14065 fue la mas sensible al extracto hexánico mientras que *C. albicans* FESC fue la mas resistente. Nuestros resultados concuerdan con Pardo y colaboradores quienes en el 2011 con una fracción de los tallos de *L. camara* reportaron que presentó actividad antifúngica frente a la cepa de *C. albicans*. Sin embargo en otro estudio realizado por Rani y colaboradores en el 2012 se reporta que *L. camara* no presento actividad antifúngica frente a *C. albicans* . Esto puede deberse a los quimiotipos que son las variaciones en la composición química de metabolitos secundarios en plantas de la misma especie (Ruiz et al., 2007). La composición de los extractos está sujeta a variables tales como: técnica de extracción, tratamiento o almacenamiento del material vegetal y condiciones geobotánicas de crecimiento (Stashenko et al.,2004)

En cuanto a las pruebas cualitativas que se hicieron para metabolitos secundarios se encontró que el extracto hexánico tiene alcaloides, glicósidos y terpenos, sin embargo no hubo evidencia de fenoles; lo cual difiere de lo reportado por Kong y colaboradores en el 2006 quienes reportaron que *L. camara* produce ácidos fenólicos. En un estudio realizado por Ambika y colaboradores (2003) mencionan que las hojas, raíces y frutos de esta planta contienen principalmente alcaloides aromáticos y compuestos fenólicos

Conclusiones.

Lantana camara presentó actividad antimicrobiana frente a cepas Gram positivas, Gram negativas y hongos levaduriformes.

Las cepas Gram negativas son más sensibles al efecto del extracto hexánico

No se presentó actividad en hongos filamentosos como: *Fusarium sporotricoides* ATCC NRLL3299, *Fusarium moniliforme*, *Trichophyton mentagrophytes* donadas por el laboratorio de Fisiología Vegetal de la UPIBRO de la FES Iztacala (UNAM) *Fusarium moniliforme* CDBB-H-265, *Trichophyton mentagrophytes* CDBB-H-1112, *Aspergillus niger* CDBB-H-179, *Rhizoctonia solani* donada por el INIFAP, Celaya, México. *Rhizoctonia lilacina* CDBB-H-306

Los resultados obtenidos tienden a validar el uso en la medicina tradicional de *L. camara* para el tratamiento de enfermedades de origen infeccioso

PERSPECTIVAS

Realizar otros estudios para saber exactamente cual es la estructura química del o los compuestos que le confieren actividad antimicrobiana y saber específicamente su mecanismo de acción

Evaluar la toxicidad del extracto hexánico a diferentes niveles de organización

Realizar estudios comparativos de los extractos y aceites de las distintas partes de *Lantana camara*

Hacer estudios espacio-temporales en cuanto a la composición y concentración de metabolitos.

Apéndices

Apéndice I.

VERBENACEAE

La especies medicinales de esta familia, se emplean como infusiones, extractos o simplemente consumiendo algunas de sus partes; La Familia *Verbenaceae* comprende tanto especies silvestres como naturalizadas, es una grande familia botánica de plantas que incluye tanto árboles, plantas tropicales, arbustos y hierbas; se distribuyen en en Centro y Sur de América, Asia, y Europa. (Rzedowsky,1978)

Lantana camara.

La especie *Lantana camara* es nativa de América tropical, en la actualidad se encuentra ampliamente distribuida y es cultivada como planta ornamental. La infusión de las hojas es utilizada como tónico y estimulante. En México es utilizada para el tratamiento de infecciones intestinales.

La hojas frescas son utilizadas en la medicina tradicional de Filipinas para el tratamiento de las heridas. Mientras que el cocimiento de las hojas es empleado localmente en casos de tiña, furunculosis, dermatitis, etc; oralmente es empleado como antipirético (Barre et al., 1997)



Figura 10 . *Lantana camara*

Lantana camara es un arbusto leñoso perenne, fuertemente oloroso , de 1 a 5 m de altura; tallos con cuatro ángulos con espinas curvas; hojas opuestas; ovaladas a ovadas lanceoladas; de 2.5 a 10 cm de longitud, 1.75 cm de ancho, acuminadas, inflorescencias de 2,5 cm de diámetro generalmente amarillas o rosadas cuando abren, pueden variar en color y se disponen en racimos

Lantana camara se conoce comúnmente como carrasposa, santo negrito, cinco cincos, morita, pasaruin, lampana, alantana, flor de San Cayetano, alfombrilla hedionda (Michoacán), cinco negritos (Chiapas), confite, confite negro, sonora roja (Sinaloa), confituria, confiturilla (Sonora, chihuahua), confituro (Baja California), frutillo, matizadilla, sonoba, sonora (Jalisco), tres colores (Michoacán), uña de gato (Morelia), zapotillo (Oaxaca), chancanquilla (San Luís Potosí), peonia negra (Tamaulipas), siete colores, Martínez, 1979). Alfombrilla hedionda, chichiquelite, lantana, negritos, orozuz del país, salvia real y venturosa (Rzedowski y Rzedowski, 2003).

En el Bajío también se usa para referirse a esta especie como balsamillo, frutilla, hierba del pinolillo, hierba del viento, orozuz, yerba del aire; en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán se reporta hierba amarga y en Veracruz se usa flor de nauchi, mocototol, mozoquite, palabra de mujer, poteo, sapatillo, hierba mora, confitura

La decocción de las hojas es empleada en las afecciones del estómago y en los resfriados; la de la raíz, para purificar la sangre y en enfermedad hepáticas. Las flores y la raíz se emplean como expectorante en la bronquitis, la tos y el asma. Toda la planta en infusión se usa como emenagogo y antiséptico (Stashenko et al., 2003)

Distribución en México



Figura 11. Distribución de *Lantana camara* en México

Apéndice 2

Área de estudio.

El valle de Tehuacán-Cuicatlán forma parte de la región xerofítica mexicana (Rzedowski, 1978) y se localiza en la parte sureste del estado de Puebla y noroeste de Oaxaca, entre los 17° 39' y 18° 53' la latitud norte y los 96° 55' y 97° 44' de longitud oeste; cuenta con una extensión aproximada de 10,000 Km², presentando diversas comunidades vegetales como son: bosque tropical caducifolio, bosque espinoso, bosque de encino, bosque de pino-encino, pastizal y matorral xerófilo.

San Rafael Coxcatlán.

La localidad de San Rafael se encuentra situada en el municipio de Coxcatlán Puebla. Sus coordenadas geográficas son los paralelos 18° 12' y 18° 14' latitud norte y los meridianos 97° 07' y 97° 09' longitud oeste. El clima corresponde a un tipo seco, árido con lluvias en verano y temperatura media anual de 22 (Médina, 2000). Los tipos de suelo predominantes son regosoles calcáreos, regosoles éutricos y xerosoles.

Apéndice 3.

Método de maceración (Domínguez, 1973).

El material vegetal seco y pulverizado se coloca en un matraz y se agrega el solvente apropiado, de acuerdo al extracto que se desea obtener (hexano, acetato de etilo, metanol, etc). Se deja reposar durante 24 horas para obtener el máximo rendimiento, posteriormente se filtra el extracto y el exceso de solvente se destila a presión reducida. La extracción se realiza cuantas veces sea necesario, hasta que el solvente se observe transparente. Finalmente se determina el rendimiento total cuando el solvente se evapora en su totalidad

Apéndice 4.

Método de difusión en agar de Kirby-Bauer (Método modificado de Koneman et al., 1996).

Este método se utiliza para evaluar cualitativamente la actividad antibacteriana de los extractos y los aceites esenciales, el método es el siguiente:

El cultivo estándar el agar Mueller Hinton (Bioxon), se utiliza ya que promueve el desarrollo de la mayoría de las cepas bacterianas clínicamente significativas. Es importante que el medio alcance en la placa un espesor uniforme de 4 mm, si es más fino las sustancias a evaluar tienden a difundir más en dirección lateral aumentando el tamaño de las zonas de inhibición; por el contrario, un agar de más de 4 mm de espesor producen una mayor difusión del antibiótico hacia abajo, con tendencia a estrechar artificialmente las zonas de inhibición.

El inóculo se prepara tocando las superficies convexas de 4 o 5 colonias de apariencia semejante al de los microorganismos a ensayar, se sumerge el asa en 10 mL de caldo Mueller Hinton (Bioxon), se enjuaga bien en el líquido para descargar todo el material y luego se retira el asa de siembra. Incubar el tubo de cultivo a 37° C durante aproximadamente 24 horas, o hasta que la turbidez del medio sea equivalente al estándar No. 0.5 de McFarland. Esto equivale a una concentración de aproximadamente 1.5×10^8 bacterias por mL

El estándar 0.5 de Mc Farland se prepara añadiendo 0.5 mL de cloruro de bario a 99.5 mL de H₂SO₄ 0.36 N. La comparación de turbidez entre el estándar y el caldo con los organismos en estudio de pueden efectuar observándolos contra una cartulina blanca con líneas negras horizontales o con un espectrofotómetro a 660 nm.

Si la suspensión de organismos es menos turbia que el estándar, se vuelve a incubar el tubo; si por el contrario, la suspensión de organismos es más turbia que el estándar, se añade solución salina al 0.9% hasta igualarlas. Una vez logrado esto se sumerge un segundo hisopo estéril y seco en la suspensión bacteriana y antes de retirarlos se elimina el exceso de líquido haciendo rotar el hisopo contra la pared

interna del tubo. Con este hisopo se inocula la superficie de una placa de agar de Mueller Hinton. Previamente se deja que la placa alcance la temperatura ambiente. Es aconsejable mantener la tapa entre abierta para permitir la evaporación de cualquier exceso de humedad de la superficie del agar. Finalmente se siembra mediante estrías en por lo menos tres direcciones, dando vueltas a la placa en ángulos de aproximadamente 60° luego de cada estría.

Una vez seco el inóculo, la placa de agar Mueller Hinton está lista para la aplicación de las muestras, a las que se les evalúa la actividad antibacteriana. Para la aplicación de sustancias se utilizan sensidiscos de 5 mm de diámetro, hechos de papel Whatman del No. 5. Cada sensidisco se impregna con 2 mg de las sustancias a evaluar.

Para llevar a cabo la prueba de susceptibilidad, los discos impregnados con las sustancias se colocan en la superficie del agar manualmente, utilizando una pinza estéril.

Como control negativo para los bioensayos, se utilizan sensidiscos impregnados con 10 µL de los solventes utilizados para la extracción (metanol y hexano), dejándolos evaporar durante 24 horas, al igual que los experimentales. Como control positivo se evalúa la sensibilidad de las cepas bacterianas a sensidiscos impregnados con 25 µg de cloramfenicol

Una vez preparadas convenientemente las placas para la prueba de susceptibilidad, se colocan en una incubadora (aparato de laboratorio E-51 con termostato) a 37° C, sin mayor tensión de CO₂. Es preciso evitar presión de CO₂, debido a que se puede formar ácido carbónico en la superficie humedecida del agar, provocando un descenso del pH. El desarrollo de algunos microorganismos es inhibido a pH ácido, lo cual tiende a estrechar falsamente las zonas de inhibición. Así mismo, la actividad de diversos antibióticos puede aumentar o disminuir con la caída de pH, produciéndose diferencias en las velocidades de difusión y alteraciones de las zonas de inhibición

Para la interpretación de resultados, las zonas de inhibición se miden con una regla

de calibración en mm. En todos los casos, la prueba se hace por triplicado y se reportan los valores promedio en mm.

Apéndice 5

Método de dilución en agar (Método modificado de Koneman et al., 1996)

Para estos bioensayos se evalúan diferentes concentraciones de los extractos que resultan con actividad antibacteriana (0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 mg/mL), para ello se prepara una solución patrón y con base en esta se toman las alícuotas correspondientes, las cuales se agregan a 20 mL de agar Mueleer Hinton, a una temperatura de 45 ° C, con la finalidad de obtener las concentraciones señaladas. Una vez agregada cada concentración del extracto, la mezcla se agita rápidamente para obtener una dispersión homogénea y se colocan en cajas Petri

El inóculo consiste en una suspensión bacteriana con una concentración de 1.5×10^8 bacterias por mL. Se toma el inóculo con la ayuda de un hisopo estéril, el cual se sumerge en la suspensión bacteriana y se elimina el exceso de líquido antes de retirarlo, haciéndolo rotar contra la pared interna del tubo que contiene el inóculo, este se coloca sobre las placas con los extractos con diferentes concentraciones, tocando la superficie del agar por punteo. Este procedimiento se realiza tres veces, que corresponden a tres repeticiones

Como control positivo se utilizan placas sin extracto y como control negativo se usan cajas con los diferentes solventes de acuerdo con el volumen de las alícuotas utilizadas

Las placas se incuban a 37°C durante 24 horas. La interpretación de resultados se realiza considerando como CBM aquella concentración en la que ya no se observa crecimiento bacteriano y como CMI la concentración que antecede a la CBM y que aún presenta crecimiento bacteriano, aunque en menor proporción comparado con el grupo control.

Apéndice 6

Método cualitativo de inhibición de crecimiento radial (Wang y Bun, 2002)

En el ensayo contra hongos filamentosos se llevo a cabo en cajas Petri, que contendrán 20 mL de agar Czapek, posteriormente se inocularon 5 mm de diámetro de micelio del hongo a ensayar. Los discos fueron impregnados con 2 mg/mL del extracto a probar. Las placas se van a incubar a 23° C durante 72 horas o hasta que el crecimiento micelial se haya desarrollado

Apéndice 7

Método cuantitativo de inhibición de crecimiento radial (Wang y Bun , 2002)

En el ensayo contra hongos filamentosos se llevo a cabo en cajas petri, que contenían 20 mL de agar Mueller Hinton, con las siguientes concentraciones: 0.065, 0.125, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0 mg/mL, posteriormente se inocularon 5 mm de diámetro de micelio del hongo a ensayar. Las placas se incubaron a 23°C durante 72 horas o hasta que el crecimiento micelial se haya desarrollo. Se evaluó la sensibilidad de las cepas experimentales con sensidiscos de Ketoconazol a las giuientes concentraciones 0.05, 0.10, 0.20, 0.40, 0.80, 1.70, 14.00, 28.00 µg/mL. Con una regla se midió el crecimiento del hongo para calcular el porcentaje de inhibición. En todos los casos esta prueba se realizó por triplicado.

Apéndice 8

Curva de sobrevivencia bacteriana (Ávila, 1996)

Estas curvas se realizan para estudiar el efecto de los extractos vegetales, la metodología es la siguiente: En primer lugar se prepara el inóculo bacteriano,

tocando las superficies convexas de 4 o 5 colonias de apariencia semejante al de los microorganismos a ensayar, se sumerge el asa en 10 mL de caldo Mueller Hinton (Bioxon), se enjuaga bien en el líquido para descargar todo el material y luego se retira el asa de siembra. Incubar el tubo de cultivo a 37° C durante aproximadamente 24 horas, o hasta que la turbidez del medio sea equivalente al estándar No. 0.5 de Mc Farland. Esto equivale a una concentración de aproximadamente 1.5×10^8 bacterias por mL.

Con la ayuda de una micropipeta, se inocula 0.1 mL de la suspensión de bacterias en los tubos que contienen el antimicrobiano (extracto). Este estará a una concentración igual a la CBM y sus múltiplos medios, esto es la CMI y la mitad de la CMI. La concentración final debe ser de aproximadamente 1×10^5 UFC/mL de caldo en cada tubo. Los tubos se incuban en una estufa sin presión de CO₂ a 37° C

Durante los primeros cuatro tiempos, se muestrea cada hora (T₀-0, T₁-1, T₂-2, T₃-3, T₄-4) (tiempo-horas transcurridas); en los tiempos cinco y seis, se muestrean cada dos horas (T₅-6, T₆-8), para el tiempo siete se muestrea después de cuatro horas (T₇-12) y el tiempo ocho se muestre después de doce horas (T₈-24). Para determinar las UFC en cada tiempo, se realizan dos diluciones de cada concentración en solución salina estéril y se siembran en placas con agar para permitir su crecimiento. Estas se incuban durante 24 horas a 37°C

Una vez transcurrido el tiempo de incubación de las diluciones de los tratamientos, se cuenta el número de UFC y se grafica el Log del número de sobrevivientes Vs tiempo, para determinar el número de impactos necesarios para que se produzca la inactivación o muerte bacteriana, prolongando la zona lineal de la curva de supervivencia, hasta su inserción con el eje de las ordenadas.

Apéndice 9

Determinación cualitativa de metabolitos secundarios

Terpenos (Dominguez, 1973; Bruneton, 2001)

La relación entre el isopreno y los terpenoides es empírica ya que en la ruta biogénica de los terpenoides no se ha identificado al isopreno, el conocimiento de la unión de dos o más unidades isoprenoides y del isopreno como un componente de la estructura de los terpenoides, ha sido de gran ayuda en la elucidación de las estructuras de muchos de los productos naturales, entre ellos aceites esenciales y carotenoides

La vainillina es el componente mas importante de la vainilla. En estado natural se encuentra bajo la forma de un glicosído que es hidrolizado por un proceso fermentativo que elimina la molécula de azúcar. Muchos terpenos son componentes de los aromas florales, como el mirceno (mirto), geranial (geranio) y las iononas (violetas)

Determinación

Se utilizo reactivo de Vainillina (antes de usarlo, se mezclaron 2 volúmenes de vainillina al 10 % en etanol con ácido clorhídrico concentrado). Se emplearan placas de sílica gel 60 F₂₅₄ de 1.5 cm de ancho por 8.5 cm de largo, colocando una pequeña muestra del extracto hexánico a un cm del borde y se dejo saturar la cámara cromatográfica con la fase móvil y se coloco el cromatófilo dentro de la cámara y se mantuvo ahí hasta que avanzo unos 6 cm. La vainillina es el reactivo que se utilizo ya que se sabe que reacciona con los terpenos

Fenoles (Dominguez, 1973)

Los fenoles son pigmentos vegetales que poseen un esqueleto carbonado C6-C3-C6 como se encuentra en la flavona ,aurona, chalcona, flavonona, flavanonol, flavonol, flavandiol 3,4 atocianidina, catequina, isoflavona y neoflavona.

Se conocen unos 900 flavonoides naturales; se encuentran extensamente distribuidos entre las plantas, tanto libres o como glicósidos; estos últimos contribuyen a darle color a las flores, frutos y hojas. Los flavonoides presentan todos los matices de solubilidad, desde totalmente solubles en agua hasta insoluble en ella pero soluble en éter etílico.

Los flavonoides son sintetizados por numerosos grupos de plantas y con excepción de algunas flavonas localizadas en las alas de mariposa, probablemente por digestión, se puede decir que no se les encuentra en animales.

Los poliglicósidos son muy solubles en agua y escasamente solubles en la mayoría de los disolventes orgánicos. La posición ocupada por la porción de azúcar influye en la solubilidad de la molécula y su capacidad para formar lacas insolubles con los metales

Determinación

Una pequeña muestra del extracto hexánico un poco diluido se usó y se le agrego cloruro férrico. En caso de que sea positivo para fenoles se obtendrá un precipitado verde o bien azul intenso

Alcaloides. (Dominguez, 1973; Bruneton, 2001)

Los alcaloides se pueden identificar por reacciones coloridas y de precipitación con reactivos que contienen sales de metales pesados como el reactivo de Dragendorff y el de Mayer. Los alcaloides constituyen un grupo muy heterogéneo de bases vegetales nitrogenadas con acción fisiológica más o menos intensa sobre los animales.

Aunque se han encontrado unos 50 alcaloides en órganos animales solo 12 de estos no se han encontrado en vegetales y por definición se acostumbra a excluirlos del grupo

Los alcaloides aparecen en muy diversas familias de plantas, unos 256 en los hongos, algas y otros vegetales inferiores. De las gimnospermas se han aislado unos ciento quince alcaloides, dentro de las angiospermas se encuentran las monocotiledóneas. Estas han aportado 488 alcaloides. En tanto que de las dicotiledóneas se han obtenido unas 3600. La mayoría de los alcaloides se localizan en los vegetales como sales de ácidos orgánicos. En ciertas plantas hay un ácido especial asociado a los alcaloides. Así el ácido esta unido a los alcaloides de la quina, el ácido mecónico con los del opio y el ácido aconítico con las aconitinas. Algunos alcaloides se encuentran en forma de glucósidos, otros se hallan en forma de ésteres de ácidos orgánicos de complejidad variable. Aunque con frecuencia se agrupan los alcaloides de acuerdo a su procedencia botánica por otra parte es más racional clasificarlos de acuerdo con alguno de los 254 tipos estructurales en que

Desde hace algunos años se ha tratado de identificar la función de los alcaloides en las plantas, y se les ha considerado como productos terminales del metabolismo del nitrógeno. Algunos alcaloides contienen grupos funcionales específicos que pueden determinarse por reactivos así los alcaloides con hidroxilos fenólicos pueden dar coloraciones con el cloruro férrico o las sales de arildiazonio. Los alcaloides indólicos darán coloración azul con el reactivo de urk (B dimetilamino densalheido en ácido sulfúrico al 65%) los del tropano darán coloración con el reactivo de vitalli (evaporar material con HNO_3 fumante, luego KOH etanólica). Se han desarrollado marchas para averiguar a qué grupo de estructuras pertenece un alcaloide, mediante la aplicación sistemática y ordenada de reactivos especiales.

Debido a que los alcaloides son muy heterogéneos existen diferentes pruebas de coloración para demostrar su presencia. Para esta investigación, se usará el reactivo de Dragendorff al igual que el reactivo de Mayer.

En el caso del Reactivo de Dragendorff si hay presencia de alcaloides, se obtendrá un precipitado anaranjado

Por otro lado, con el reactivo de Mayer se observará un halo blanco en el extracto de

ser positivo para alcaloides (Domínguez, 1973).

Glicósidos (Miller,2001)

Reacción de Molisch (Identificación de Carbohidratos)

La presencia de carbohidratos en una muestra se pone de manifiesto por la reacción de Molisch, que a cierto punto es la reacción universal para cualquier carbohidrato. Se basa en la acción hidrolizante y deshidratante del ácido sulfúrico sobre los hidratos de Carbono. En dicha reacción el ácido sulfúrico cataliza la hidrólisis de los enlaces glucosídicos de la muestra y la deshidratación a furfural (en las pentosas) o hidroximetilfurfural (en las hexosas). Estos furfurales se condensarán con el alfa naftol del reactivo de Molisch (reacción de Molisch) produciendo una fase de color púrpura, en caso positivo de presencia de carbohidratos (Miller, 1959).

Procedimiento

Para el caso de los glicósidos se disolverá el extracto en metanol y se le agregará un poco de alfa-naftol y después se vertirá ácido sulfúrico resbalándolo por las paredes, obteniéndose así un precipitado rojo-violeta

Bibliografía.

- Aguilar. A.J., Camacho, R., Chino, S., Jácquez, P., López, M.E. 1994. Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. Información Etnobotánica. IMMS.
- Akhtar, M. S., Iqbal, Z., Khan, M. N., & Lateef, M. 2000. Anthelmintic activity of medicinal plants with particular reference to their use in animals in the Indo-Pakistan subcontinent. 38: 99-107
- Aragón F.Y.R., Elizabeth M., Méndez B., C.R. Lopez y Y. M.G.U. Portillo. 2009. "Evaluación mediante antibiogramas del efecto bactericida de quina amarilla (*Hintonia latiflora*) en cepas patógenas de *Escherichia coli*.
- Ávalos G. A., Urria Carril E., 2009. "Metabolismo Secundario de plantas" .Serie Fisiología Vegetal. 2 (3): 119-145, 2009
- Ávila J. G., 1996. Actividad anti-*Vibrio Cholerae* de dos plantas utilizadas en la medicina tradicional purépecha. Tesis de maestría. FES-Cuautitlán. UNAM. México.
- Barrero A. F., Oltra JE, Álvarez M, Raslan DS, Saúde DA, Akssira M. 2000. New sources and antifungal activity of sesquiterpene lactones. *Fitoterapia*. 71:60-4.
- Barre, J. T., Bowden, B. F., Coll, J. C., De Jesús, J., De la Fuente, V. E., Janairo, G. C., Ragasa, C. Y. 1997. A bioactive triterpene from *Lantana camara*. *Phytochemistry* 45(2): 321-324.
- Bruneton, J. 1991. Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia Ed. Acribia. España. 594 pp.
- Carrillo A.C., Rodríguez N., Rodríguez C.E. 2010. In vitro evaluation of the antibacterial effect of *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* and *Silybum marianum*. *Rev. U.D.CA Act. & Div. Cient.* 13 (2): 117-124.
- Chariandy, C. M., Seaforth, C. E., Phelps, R. H., Pollard, G. V., & Khambay, B. P. S. 1999. Screening of medicinal plants from Trinidad and Tobago for

antimicrobial and insecticidal properties. *Journal of Ethnopharmacology* 64: 265-270

- Deena, M. J., Thoppil, J.E. 2000 Antimicrobial activity of esencial oil of *Lantana* *Fitoterapia*, 71 (4) 453-455
- Dominguez, A.X. 1973. *Métodos de Investigación Fitoquímica*. Editorial Limusa. México, pp 189-200
- Domínguez E. 2004.” Los metabolitos secundarios de las especies vegetales”. *Estación experimental de pastos y forrajes*.
- Gallardo V. C., Macedo J P., Hernández A. M., Aureoles G A., Espinosa G. D., Rodríguez L.J.F. 2004; *Farmacognosia: breve historia desus orígenes y su relación con las ciencias médicas*. *Rev Biomed* 15:123- 136.
- Garcilazo T., R. 2003. *Actividad antimicrobiana de Cinco Negritos Blanco. (Lantana achyranthifolia Desf.:VERBENACEAE)*. Tesis de Licenciatura. UNAM. FES Iztacala pp 93.
- Ghisalberti, E.L. 2000. *Lantana camara L. (Verbenaceae)*. *Fitoterapia* 71: 467-486
- Harbone J.B y Baxter, H. 1993. *Phytochemical dictionary. A handbook of bioactive compounds from plants*. 550-669 pp.
- Hernández, T., Canales, M., Avila, J.G., Duran,A., Caballero, J., Romo de Vivar, A y Lira, R. (2003) *Ethnobotany and antibacterial activity of some plants use in traditional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla (México)*. *Journal of ethnopharmacology* 88:181-188.
- Jimenez G.S., Ducoing H.P., Sosa M.R. 2003 “Participacion de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas”. *Revista Mexicana de Fitopatología*,.
- Kirimuhuzya C., Wako P., Joloba M., Odyek O. The anti-mycobacterial activity of *Lantana camara* a plant traditionally used to treat symptoms of tuberculosis in south-western Uganda. *African Health Sciences* Vol 9. 2009.
- Koneman, E.W. 1996. *Diagnóstico microbiológico*. Editorial Panamericana México. PP 386-393
- Kong, C.H., Wang, P., Zhang, C.X., Zhang, M.X., Hu, F., 2006. *Herbicidal poten-*

tial of allelochemicals from *Lantana camara* against *Eichhornia crassipes* and the alga *Microcystis aeruginosa*. *Weed Research* 46, 290-295.

- Kubo, Y.Chang, P., Cheng, Y., Lien , C. 1993. Antimicrobial activity of green tea flavor components. En bioactive volatile compounds from plants. American Chemical Society. E. U.A. pp 626-631
- Lemos, T. L. G.; Matos, F. J. A.; Ajencar, J. W.; Craveiro, A. A.; McChesney, J. D., 1990. Antimicrobial activity of essential oils of Brazilian plants, *Phytother. Res.*, 4, p.p. 32-84.
- Medina ,S. J., Determinación del vigor y estado reproductivo de *Stenocereus stellatus* (cactaceae) a lo largo de un conosecuencia edáfica en un avanico aluvial en Coxcatlán, Valle de Tehuacán.Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.Facultad de Estudios Superiores Iztacala.México.90 pp.
- Miller, D., Sangines Franchini, M., Torre Marina, M. (2001). Química de Alimentos: Manual de Laboratorio. Ed Limusa. Mexico. 173pp.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko y J. Parker, *Brock*. 2004.*Biología de los micororganismos* , 10ª edición, Ed. Pearson-Prentice Hall, Madrid, España.
- Vega I., 2008.“Aplicaciones de la biogeografía histórica a la distribución de las plantas mexicanas”. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 79:217-241.
- Ngassoum, M.B., Yonkeu S., Jirovetz L., Buchbauer G., Schmos G., Hammerschmidt F.J. 1999. Chemical composition of esencial oils of *Lantana camara* leaves and flowers from Cameroon and Madagascar. *Flavour Grag J.*, 14, 245-250.
- Ocegueda, S., E.Moreno y P. Koleff. 2005. “Plantas utilizadas en la mediana tradicional y su identificación científica., CONABIO. *Biodiversitas* 62:12-15
- OMS (Organización Mundial de la salud). 2004. Nuevas directrices de la OMS para fomentar el uso adecuado de las medicinas tradicionales. ARP-Sociedad

para el Avance del Pensamiento Crítico.

- Pacheco, A.O. Barrios Y.R.G., Gurovich F.V. Las reacciones adversas de las plantas medicinales y sus interacciones con medicamentos. Universidad de Oriente. Departamento de Farmacia MEDISAN 2006; 10 (4)
- Pascual, M. E., Slowing, K., Carretero, E., Sanchez, M. D., Villar, A. 2001. *Lippia*: Traditional uses, chemistry and pharmacology: A review. Journal of Ethnopharmacology. 76 (3): 201-214.
- Pardo, A.K, Arenas J.J., GómezM., Lora F.M., Gómez J.E. 2011. Determinación de la actividad antifúngica de extractos de *L. camara* frente a *candida spp*. Infecti. 15(4):235-242
- Rani J.M.J., Chandramohan G., Kumaravel S. 2012. Evaluation of Antimicrobial Activity of Some Garden Plant Leaves Against *Lactobacillus Sp*, *Streptococcus mitis*, *Candida albicans* and *Aspergillus niger*. African Journal of Basic & Applied Sciences 4 (4): 139-142
- Rzedowski, J. 1978 La vegetación de México. Editorial Limusa. Mexico.
- Rzedowski, J., Vibrans, H. y G. Calderón de Rzedowski. 2003. *Senecio inaequidens* DC. (Compositae, Senecioneae), una maleza perjudicial introducida en México. Acta Botánica Mexicana. 63: 83-96.
- Robinson T. 1981. *The biochemistry of alkaloids*. 2ª ed. Springer, Nueva York.
- Ross, I.A., 1999. Medicinal plants of the world. Chemical constituents, traditional and modern medical uses. Humana Press, New Jersey
- Saleh, M., Kamel, A., Li, X., Swarray, J. 1999. Antibacterial triterpenoids isolated from *Lantana camara*. Pharmaceutical Biology, 37(1): 63-66
- Samy, R. I., S. 2000. Antibacterial activity of some folklore medicinal plants used by tribals in Western Ghats of India. J. Ethnopharmacol. 69:63-71.

-
- Stashenko, E.E., Jaramillo, B.E.J. R. Martínez. 2003. Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante *in vitro* de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia Verbenaceae. Rev. Acad. Colomb. Cienc. 27 (105): 579-597.
 - Sharma, S., Sharma, O. P., Singh, S., & Bhat, T. K. 2000. Biotransformation of lantadenes, the pentacyclic triterpenoid hepatotoxins of lantana plant, in guinea pig. Toxicon 38: 1191-1202.
 - Sierra Fraire L., 2009. "Utilización de plantas medicinales en comunidades vulnerables del estado de Tabasco, México". Ocuiltzapotlán, Centro, Tabasco, Méx.
 - Silva, M.H.L., Andrade, E.H.A., Zoghbi, M.G., Luz A.I.R., Silva, J.D. Mara J.G. 1999. The esencial oils of *Lantana camara* occurring in North Brazil. Flavour Frag.J. 14, 208-210.
 - Soto, L. 2003. Resistencia bacteriana. Rev. Cubana Med. Milit. 32(1):44-48.
 - Stashenko E.E, Jaramillo E, Martinez J,. 2003. "Comparacion de la composición química de la actividad antioxidante in vitro de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la Familia Verbenaceae". Rev.Acad. Colombiana,. Ciencia 27.(105): 579-597
 - Valsaraj, R., Pushpangadan, P., Smitt, U. W., Adsersen, A., & Nyman, U. 1997. Antimicrobial screening of selected medicinal plants from India. Journal of Ethnopharmacology. 58: 75-83.
 - Vega, L.I.2008. Aplicaciones de la biogeografía histórica a la distribución de las plantas mexicanas.Revista Mexicana de Biodiversidad. 79:217-241.
 - Verpoorte, R., Tjin, A., Tsoi, A., & Van-Doorne, H. 1982. Medicinal plants of Suriname. I. Antimicrobial activity of some medicinal plants. Journal of

Ethnopharmacology 5: 221-226.

- Wang, H. and Tzi Bun, N. (2002). Plant drug analyses, Second Edition, edit.Springer Germany, pp. 15-29
- Wollenweber E., Marion D., Muniappant R., and Siems K. 1997. “ Flavonoid Aglycones and Triterpenoids from the Leaf Exudate of *Lantana camara* and *Lantana camara* montevidensis . Biochemical Systematics and Ecology, 25 (3): 269-270.