



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS



Efecto inhibitorio de extractos polares de *Loeselia mexicana*, en cepas bacterianas asociadas a infecciones de vías respiratorias.

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

P R E S E N T A :

ALUMNA

BRENDA YARANI FRAGOSO MORALES

TUTORA

DRA. ALICIA ENRIQUETA BRECHÚ FRANCO



FACULTAD DE CIENCIAS UNAM

2019



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.

INDICE	
INDICE DE FIGURAS	10
AGRADECIMIENTOS	14
RESUMEN	17
INTRODUCCIÓN	19
ANTECEDENTES	22
Enfermedades de Vías Respiratorias (Definición médica).	22
Bacterias asociadas a enfermedades infecciosas de vías respiratorias	27
Ejemplos de Bacterias Gram-positiva	28
Ejemplos de Bacterias Gram-negativas	30
Definiciones de enfermedades de vías respiratorias (Real academia y medicina tradicional).	31
Plantas empleadas en enfermedades de vías respiratorias por la medicina tradicional mexicana.	32
Usos de <i>Loeselia mexicana</i> en la medicina tradicional mexicana.	33
Nombres comunes de <i>Loeselia mexicana</i> en la medicina tradicional mexicana.	33
Ubicación taxonómica (Roskov, et al., 2016).	34
Características botánicas de <i>Loeselia mexicana</i>	34
Fitoquímica de la Familia Polemoniaceae	39
Géneros y especies más afines químicamente con <i>Loeselia mexicana</i> de la Familia Polemoniaceae	44
Fitoquímica de las plantas empleadas en enfermedades de vías respiratorias por la medicina tradicional.	45

Antecedentes históricos del uso de <i>Loeselia mexicana</i>. (ANEXO I Cuadro 8)	59
Estudios previos sobre la fitoquímica de <i>Loeselia mexicana</i>.	60
Compuestos de otras Familias de plantas medicinales presentes en <i>Loeselia mexicana</i> (ANEXO II, Cuadro 09)	67
Terpenos	67
Compuestos fenólicos/ fenilpropanoides	69
Taninos	71
Alcaloides	72
JUSTIFICACIÓN	73
HIPOTESIS	75
OBJETIVOS	76
MATERIAL Y MÉTODOS	77
Encuesta sobre los usos de <i>Loeselia mexicana</i> en la medicina tradicional en la localidad de Santa Rosalía de Ocampo, Mineral del Monte, Hidalgo.	78
Colecta de material biológico	79
Obtención de extractos crudos o hidroalcohólicos	80
Obtención de fracciones a partir de los extractos crudos.	82
Método de Curvas de crecimiento bacteriano.	84
Diseño experimental	84
Conducción de las curvas de crecimiento bacteriano	89
1. Reactivación de cepas bacterianas.	89
2. Preparación de soluciones stock de los extractos	90

3. Medición de Absorbancia de las soluciones stock.	90
4. Determinación del crecimiento bacteriano.....	91
RESULTADOS	94
Usos de <i>Loeselia mexicana</i> en la medicina tradicional en la localidad de Santa Rosalía de Ocampo, Mineral del Monte, Hidalgo.	94
Rendimiento de extractos y fracciones de <i>Loeselia mexicana</i> .	95
A) <i>Klebsiella pneumoniae</i>	97
B) <i>Staphylococcus aureus</i>	99
C) <i>Escherichia coli</i>	101
DISCUSIÓN	104
A) <i>Klebsiella pneumoniae</i>	105
B) <i>Staphylococcus aureus</i>	105
C) <i>Escherichia coli</i>	105
Análisis comparativo del efecto que podrían estar ejerciendo los compuestos de <i>L. mexicana</i> según el efecto encontrado en otras plantas de la misma Familia.	108
Análisis comparativo del efecto de <i>L. mexicana</i> con plantas usadas en afecciones de vías respiratorias.	110
Análisis comparativo de <i>Loeselia mexicana</i> con los grupos de compuestos con acción antimicrobiana.	112
CONCLUSIONES	119
LITERATURA	120
ANEXO I Síntesis histórica de <i>L. mexicana</i>	141

ANEXO II Comparación entre compuestos encontrados en <i>L. mexicana</i> y las propiedades de estos compuestos en otras plantas.	143
ANEXO III Concentración mínima inhibitoria de extractos no polares en <i>L. mexicana</i>.	145
ANEXO IV Flavonoides presentes en tribus de Polemoniacea ...	146
ANEXO V Encuesta realizada	147
ANEXO VI Resultados de pruebas antibacterianas previas	148
ANEXO VII Cálculos de extractos, medio de cultivo y antibióticos.	154
1. Cálculos de extracto	154
2. Cálculos para medio de cultivo BHI (infusión corazón cerebro).	154
3. Cálculo para obtener la concentración deseada de antibiótico ENROFLOXACINA	154
4. Cálculo para obtener la concentración deseada de antibiótico AMIKACINA.	154
ANEXO VIII Fichas técnicas de antibióticos	155
ANEXO IX Método grafico para la elección de la fase exponencial bacteriana (Cabeza-Herrera, 2011).	160
ANEXO X Análisis para <i>K. pneumoniae</i> CON ANTIBIÓTICOS. ..	162
ANEXO XI Análisis DE <i>Staphylococcus aureus</i> con antibióticos	165
ANEXO XII Análisis de <i>Escherichia coli</i> con antibióticos	168
ANEXO XIII Aparatos y sustancias con Marca y país de origen.	171

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Fitoquímica de la familia Polemoniaceae (Glennie, et al., 1977).....	41
Cuadro 2. Flavonoides y otros compuestos fenólicos de las tribus: Bonplandieae y Cantueae. Tomado de Glennie C. W., Harborne J. B. y Williams C. A. (1977).	43
Cuadro 3. Comparación de las plantas medicinales usadas en enfermedades en vías respiratorias.....	46
Cuadro 4. Compuestos químicos identificados en <i>Loeselia mexicana</i> por diversos autores, agrupados por tipos de metabolitos secundarios.	64
Cuadro 5. Rendimiento de los extractos crudos de <i>Loeselia mexicana</i> y sus fracciones clorofórmica y acuosa. ETA CRUDO: Extracto etanólico crudo, ETA FC: Extracto etanólico fracción clorofórmica, ETA FA: Extracto etanólico fracción acuosa, AC CRUDO: Extracto acuoso, AC FC: Extracto acuoso fracción clorofórmica, AC FA: Extracto acuoso fracción acuosa.....	95
Cuadro 6. Efecto inhibitorio de los extractos polares de <i>Loeselia mexicana</i> en el crecimiento de las bacterias evaluadas, con los valores F de ANOVA.	103
Cuadro 7. Cronología histórica de textos donde citan a <i>Loeselia mexicana</i>	141
Cuadro 8. Comparación entre los compuestos encontrados en <i>Loeselia mexicana</i> y las propiedades para la salud referenciadas en otras plantas.	143
Cuadro 9. Concentración mínima inhibitoria de los extractos de <i>L. mexicana</i> . Información tomada del artículo ensayo in vitro antimicrobiano (Navarro García et. al., 2006).	145

Cuadro 10. Flavonoides y otros compuestos fenólicos de las tribus: Bonplandieae. Tomado de Glennie, C. W., Harborne, J. B., y Williams, C. A. (1977).....	146
Cuadro 11. Diluciones para pruebas antibacterianas.	148
Cuadro 12. Resultados obtenidas del extracto etanólico con la prueba de sensibilidad en placa con Cefuracet 8mg/ml.....	150
Cuadro 13. Resultados obtenidas del extracto acuoso con la prueba de sensibilidad en placa con Cefuracet 8mg/ml.....	150
Cuadro 14. Absorbancias de extractos centrifugados.....	152
Cuadro 15. Resultados de K. pneumoniae con el método liquido.....	152
Cuadro 16. Resultados de S. aureus con el método liquido.	152
Cuadro 17. Resultados de E. coli con el método liquido.....	153
Cuadro 18. Relación de concentración con respecto a la cantidad de extracto stock.....	153
Cuadro 19. Curva patrón de turbidez, MacFarland.	153
Cuadro 20. Características del antibiotico Enrofloxacin 100 mg/ml. Tomada de Monografía farmacéutica, 2013).	155
Cuadro 21. Rangos de CIM para microorganismos sensibles. Valores de MIC ($\mu\text{g/mL}$) a la Enrofloxacin contra Bacterias y Micoplasmas aisladas de infecciones Naturales. El punto de corte para sensibilidad - resistencia a la Enrofloxacin fue establecido en $2\mu\text{g/mL}$	156
Cuadro 22. Características del antibiotico Amikacina 100 mg/2ml. Tomado de la (Monografía farmacéutica PISA, 2010; Monografía farmacéutica IQB, 2010).	157
Cuadro 23. Análisis de Varianza para absorbancia Suma de Cuadrados Tipo III.	162
Cuadro 24. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia. K. pneumoniae con antibióticos.....	163
Cuadro 25. Análisis de Varianza para absorbancia. K. pneumoniae sin antibióticos.....	163

Cuadro 26. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por Tratamiento. K. pneumoniae sin antibióticos.	163
Cuadro 27. Análisis de Varianza para absorbancia. K. pneumoniae con antibióticos exponencial.	163
Cuadro 28. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por Tratamiento. K. pneumoniae con antibióticos exponencial.	164
Cuadro 29. Análisis de Varianza para absorbancia. K. pneumoniae sin antibióticos exponencial.	164
Cuadro 30. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por Tratamiento. K. pneumoniae sin antibióticos exponencial.	164
Cuadro 31. Análisis de Varianza para absorbancia. S. aureus con antibióticos.	165
Cuadro 32. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por Tratamiento. S. aureus con antibióticos.	165
Cuadro 33. Análisis de Varianza para absorbancia. S. aureus sin antibióticos.	166
Cuadro 34. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por Tratamiento. S. aureus sin antibióticos.	166
Cuadro 35. Análisis de Varianza para absorbancia. S. aureus con antibióticos exponencial.	166
Cuadro 36. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por Tratamiento. S. aureus con antibióticos exponencial.	167
Cuadro 37. Análisis de Varianza para absorbancia. S. aureus sin antibióticos exponencial.	167
Cuadro 38. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por Tratamiento. S. aureus sin antibióticos exponencial.	167
Cuadro 39. Análisis de Varianza para absorbancia. E. coli con antibióticos.	168
Cuadro 40. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por tratamiento E. coli con antibióticos.	168

Cuadro 41. Análisis de Varianza para absorbancia E. coli sin antibióticos.....	168
Cuadro 42. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por tratamiento. E. coli sin antibióticos.....	168
Cuadro 43. Análisis de Varianza para absorbancia. E. coli con antibióticos exponencial.....	169
Cuadro 44. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por tratamiento E. coli con antibióticos exponencial.....	169
Cuadro 45. Análisis de Varianza para absorbancia. E. coli sin antibióticos exponencial.....	170
Cuadro 46. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por tratamiento E. coli sin antibióticos exponencial.....	170

INDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Comparación estructural de bacterias A) Gram-positivas y B) Gram-negativas. Tomado de biotechmind (2018).....	29
Fig. 2. Loeselia mexicana (Espinosa). Fotos de Pedro Tenorio Lezama 2000 y Heike Vibrans 2006, CONABIO.....	35
Fig. 3. Loeselia mexicana (Lam.) Brand. A. Rama con flores y frutos. B. Flor. C. Fruto. D. Semilla. Ilustrado por Humberto Sánchez Córdova. (Calderón, 1997).	37
Fig. 4. Distribución geográfica bibliográfica Loeselia mexicana.....	38
Fig. 5. Diagrama de flujo de los procedimientos que se siguieron.	77
Fig. 6. Diagrama de flujo de la obtención de extractos crudos.	81
Fig. 7. Diagrama de flujo de la obtención de fracciones a partir de los extractos crudos.....	82
Fig. 8. Diagrama de flujo del diseño experimental.	88
Fig. 9. Cultivo de 12 horas (overnigh).	89
Fig. 10. Pigmentos de los extractos que interfieren con la lectura de la absorbancia.	90
Fig. 11. Prueba de medición de absorbancia en solución stock del extracto AC FA.....	91
Fig. 12. Incubación con agitación constante de bacterias.....	92
Fig. 13. Monitoreo de crecimiento bacteriano con método desfasado.	93
Fig. 14. Medición de absorbancia de extractos y controles.	93
Fig. 15. Usos de Loeselia mexicana en medicina tradicional en el poblado Santa Rosalía, Mineral del Monte, Hidalgo.	94
Fig. 16 . Explicación de extractos: A) Extracto acuoso crudo, B) (S) Extracto acuoso fase acuosa, (I) Extracto acuoso fase clorofórmica, C) Extracto etanólico crudo, D) (S) Extracto etanólico fase acuosa y (I) Extracto etanólico fase clorofórmica.	96

Fig. 17. Efecto de los extractos de <i>Loeselia mexicana</i> y controles, sobre el crecimiento de <i>Klebsiella pneumoniae</i> : a) Medias de absorbancia de ocho tratamientos: cinco extractos, dos antibióticos y crecimiento bacteriano. b) Medias de absorbancia sin antibióticos, c) Cinética de crecimiento bacteriano de ocho tratamientos.	98
Fig. 18. Efecto de los extractos de <i>Loeselia mexicana</i> y controles, sobre el crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> : a) Medias de absorbancia de ocho tratamientos: cinco extractos, dos antibióticos y crecimiento bacteriano. b) Medias de absorbancia sin antibióticos, c) Cinética de crecimiento bacteriano de ocho tratamientos.....	100
Fig. 19. Efecto de los extractos de <i>Loeselia mexicana</i> y controles, sobre el crecimiento de <i>Escherichia coli</i> : a) Medias de absorbancia de ocho tratamientos: cinco extractos, dos antibióticos y crecimiento bacteriano, b) Medias de absorbancia sin antibióticos, c) Cinética de crecimiento bacteriano de ocho tratamientos.	102
Fig. 20. Prueba de CMI en placas con tubo 5 de Mc Farland, concentraciones de extracto en sensidisco.	149
Fig. 21. Cantidades usadas en el método líquido con las fracciones de los dos extractos crudos.	151
Fig. 22. Método gráfico para distinguir la fase exponencial del crecimiento normal de <i>K. pneumoniae</i>	160
Fig. 23. Método gráfico para distinguir la fase exponencial del crecimiento normal de <i>S. aureus</i>	161
Fig. 24. Método gráfico para distinguir la fase exponencial del crecimiento normal de <i>E. coli</i>	161

Por mi gran admiración al conocimiento tradicional en la medicinal ancestral les muestro esta pequeña ventana de la cosmovisión, con mucho respeto y amor.

Asustado conejito... ¡No tengas miedo!, correr no evita el dolor, ni convierte la oscuridad en luz.

Oh, pequeña hormiga... como las arenas del tiempo tu paciencia crece. ¿Puedo aprender a ser como tú? ¿O es demasiado sublime?

Lagarto, ¿Soñarás conmigo?, ¿viajarás por las estrellas?, más allá del tiempo y del espacio, allí viven visiones lejanas.

Libélula, rompe ilusiones, trae visiones de poder, no hace falta probarlo, ¡ha llegado la hora!, conócelo, créelo, el gran espíritu intercede, te alimenta, te bendice, tus necesidades te concede.

Cisne... El poder de la mujer que entra en el espacio sagrado, tocando el futuro aún por venir, que trae la gracia eterna.

Cisne: Acataré feliz los planes del gran espíritu. No lucharé contra las corrientes del agujero negro. Me rendiré al flujo de la espiral y confiaré en lo que se me muestra.

Araña... tejiendo telarañas de encanto, téjeme un mundo repleto de paz, llevas la creación en tu tejer, a la espera de ser desplegada.

Jaime Sams

A menos que alguien como tú se interese de verdad, nada va a mejorar jamás.

Dr. Seuss

Tenemos que obligar a la realidad a que responda a nuestros sueños, hay que seguir soñando hasta abolir la falsa frontera entre lo ilusorio y lo tangible, hasta realizarnos y descubrir que el paraíso perdido está ahí, a la vuelta de todas las esquinas.

Julio Cortázar.

Apunta a la luna, incluso si fallas, aterrizaras sobre estrellas.

Les Brown

Cuando alguien que de verdad necesita algo, lo encuentra, no es la casualidad quien lo procura, sino él mismo. Su propio deseo y su propia necesidad le conducen a ello.

Hermann Hesse

"Le preguntaron al Gran Matemático árabe Al-Khawarizmi sobre el valor del ser humano, y este respondió":

Si tiene ética, Entonces su valor es =1

Si además es inteligente, agréguele un cero y su valor será =10

Si también es rico, súmele otro 0 y será =100

Si por sobre todo eso es además una buena persona, agréguele un 0 más y es igual a = 1000. Pero, si pierde el 1, que corresponde a la ética, perderá todo su valor, pues solamente le quedarán los ceros.

Uzbekistán

AGRADECIMIENTOS

Gracias al apoyo constante de un grupo de personas increíbles permitieron que esta aventura fuera tangible, sin su ayuda esto no habría sido posible, es por ello que el día de hoy me considero que soy la suma de toda la experiencia que me brindaron cada una de ellas. Gracias me siento muy agradecida en el ámbito profesional y personal.

Agradecimientos por el Apoyo Técnico en la Facultad de Ciencias, UNAM, a: M. en C. Fabiola Ramírez Corona por el apoyo con el método microbiológico, Dra. Edith Ponce Márquez, Taller de Hongos, bioseguridad en campana de flujo laminar, M. en B. María Eugenia Muñiz Díaz de León, del Taller de Biología de Plantas I y II, M. en C. Ramiro Cruz Durán, Asesoramiento en identificación de *Loeselia mexicana* (Lam.) Brand., M. en C. Manuel Hernández, de la Unidad de Análisis Ambiental, UNAAMB, M. en C. Beatriz Zúñiga Ruiz, del Taller de Química. María del Pilar Alonso Reyes del Dep. de matemáticas Dra. Alicia Enriqueta Brechú Franco y Dr. Guillermo Laguna Hernández, Depto. Ecología y Recursos Naturales, por el apoyo para continuar con este proyecto. Por la donación de las cepas, al Profesor Alejandro Camacho Cruz, del Cepario de la Facultad de Química, UNAM, Q.F.B. Carmen M. Peña Jiménez del Departamento de Cirugía, Facultad de Medicina, UNAM.

A mis sinodales: Dra. Patricia Guevara Fefer, M. en C. Benjamín Herminio León Mancilla, M. en C. Rosa María Fonseca Juárez, Biól. Jesús Ricardo de Santiago Gómez y a mi tutora Dra. Alicia Enriqueta Brechú Franco, por sus observaciones y comentarios que enriquecieron el trabajo y mi conocimiento.

¡Gracias por todo!, con respeto y cariño Yarani.

A mis amigos:

En primera instancia quiero agradecer Alicia y Guillermo, los años y la experiencia en la tesis nos acercaron de la mejor manera, atesoro gratamente todo lo vivido aprendí mucho en el viaje. Gracias Alis, atesoro mucho varias enseñanzas de vida y profesional, generalmente se deja de lado en cuestiones serias el lado humano pero en esta ocasión yo quiero reconocerlo y agradecerle por todo.

Gracias Ana Belén, Felipe y Maru, ¿qué hubiera hecho sin ustedes?, muchas gracias por los conocimientos, por sus consejos y el apoyo moral.

Gracias Julio César, ha sido grato compartir la pasión por la biología, aprender juntos y por todos estos años de amistad inigualables desde la prepa.

A mi querido Omar, Enrique y Jorge, muchas gracias por ser mis confidentes, por aguantar en los malos momentos, por no abandonar a su amiga, les agradezco mucho. Gracias por compartir los buenos pero sobre todo por hacer mejor los días en estos años de amistad, los quiero. Más años más de amistad mis estimados.

A mis compañeros y amigos de carrera, gracias por esos momentos inolvidables, amigos fugaces de etapa vivida, disfrute mucho la estancia con ustedes, aprendí mucho de la vida, buena fortuna en su vida.

Gracias por todo con respeto y cariño Yarani.

A mis padres:

A mi madre por enseñarme el valor de la disciplina, la voluntad y la constancia. Gracias Papá por creer en mí, enseñarme el valor de cada instante en la vida, por alentarme a seguir mis sueños y sobre todo poner ese gran “granito de arena, no escatimaste esfuerzo alguno para hacerlo realidad.

Gracias por todo, por sus desvelos, que ni aún con las riquezas más grandes del mundo nunca les podré pagar, pero que veré la manera de retribuirles tanto esfuerzo, nuevamente gracias.

A mi gran motor de amor que me movilizo para entrar en el arte de la ciencia María Luisa Escorsa, gracias abue, te recuerdo con mucho amor y mantengo tus enseñanzas, seguirás siendo ese gran motor en mi vida, aunque ya no estés.

Mi gran compañera de viaje canina que acompañó cada desvelo desde hace 13 años Leydi, y por último agradezco a mi esposo Juan Carlos por su esfuerzo, por el gran impulso que me das, esa confianza que depositas en mí para ir por nuestros sueños, metas y planes.

¡Gracias por todo! con respeto y cariño Yarani.

RESUMEN

En la actualidad es necesaria la búsqueda de agentes antimicrobianos contra bacterias cada vez más resistentes a fármacos, es por ello que los remedios herbolarios de la medicina tradicional de México representan una alternativa viable para la atención primaria de enfermedades infecciosas (tos, ronquera, gripe, bronquitis, neumonías y fiebre), esto permite tratar a personas susceptibles a enfermedades (niños, ancianos y personas con defensas bajas) ocasionadas generalmente por bacterias oportunistas que agravan estas infecciones.

En el presente estudio se evaluaron los extractos de *Loeselia mexicana*, por sus diversos usos medicinales, entre ellos destacando el uso medicinal en vías respiratorias (tos, ronquera, gripe, bronquitis, neumonías y fiebre) Según la encuesta realizada en el poblado de Santa Rosalía de Ocampo, Mineral del Monte, Hidalgo.

El objetivo fue determinar en tres cepas bacterianas asociadas a afecciones respiratorias, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, el efecto inhibitorio de los extractos de *Loeselia mexicana* (Lam.) Brand.

La metodología empleada fue: búsqueda en herbarios, colectas, obtención de extractos crudos: decocción (lío-filización) y maceración (rotavapor), separación de extractos crudos con cloroformo: lío-filización y rotavapor (vacío). Mediante el método de curvas de crecimiento bacteriano se midió la absorbancia con el uso de espectrofotómetro el efecto de los extractos sobre las tres cepas bacterianas.

Se evaluó la actividad antibacteriana de cinco extractos polares de *L. mexicana* denominados: ETA CRUDO, ETA FC, ETA FA, AC CRUDO y AC FA, sobre la cinética de crecimiento bacteriano de: *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *E. coli*. Los resultados mostraron que los cinco extractos promovieron una respuesta inhibitoria en diferentes etapas de la cinética de crecimiento de las cepas bacterianas en estudio, a una concentración baja de 4 mg/ml. El extracto ETA FC fue el más efectivo en la inhibición del crecimiento de las tres bacterias en estudio.

Se analizó el efecto inhibitorio de los extractos polares de *L. mexicana* sobre el crecimiento bacteriano de las tres cepas bacterianas, mediante la comparación de los compuestos reportados en la bibliografía fitoquímica de *L. mexicana* con la acción antibacteriana en otras especies que contienen los mismos o similares compuestos. Con base en ello se propone que los compuestos polares de *L. mexicana* ejercen un efecto sinérgico y complementario en la inhibición del crecimiento bacteriano.

Los resultados obtenidos revelaron la acción de estos extractos vegetales contra agentes patógenos, por lo que se propone su uso como una alternativa de elección frente a la necesidad de reemplazar a los antibióticos de síntesis química con tales fines, ante los cuales los microorganismos han desarrollado resistencia.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas o contagiosas-infecciosas pueden ser la manifestación clínica de una infección provocada por microorganismos patógenos como las bacterias, los virus, los parásitos o los hongos y pueden transmitirse, directa o indirectamente, de una persona a otra. En los últimos años se ha presentado un incremento en la incidencia de enfermedades infecciosas, dentro de las cuales se encuentran las Infecciones Respiratorias Agudas (IRA). A nivel mundial se registran 94 millones de casos de IRA y mueren 3.9 millones de personas al año por esta causa (Caro-Lozano y Zúñiga-Carrasco, 2009).

En el año de 1990 en México se presentaron 280 millones de episodios de IRA (Secretaría de Salud, 1990). En el 2005 las IRA formaron parte de las 10 primeras causas de muerte en la población, siendo la quinta causa de muerte en los pueblos indígenas (Secretaría de Salud, 2007), mientras que en el 2010 fue la sexta causa de mortalidad infantil, excepto neumonía e influenza que son consideradas la tercera causa (Fernández-Cantón, et al., 2012), así como la primera causa de consulta en los centros de salud de la población en general (Álvarez-Castelló, et al., 2008).

El INEGI (2013) señala la incidencia de 110 743 niños menores de un año afectados por las IRA. Las IRA son la principal causa de morbilidad y egreso hospitalario a razón de 13% de consultas médicas, con 2 y 4 episodios al año por niño, entre ellas las de origen viral representan de

80-90% de la consulta y hospitalización y una proporción puede complicarse con neumonía grave. Los niños menores de cinco años que padecieron las IRA en las dos semanas previas a las entrevistas hechas por la Encuesta Nacional de Salud 2000 (ENSA 2000) y las Encuestas Nacionales de Salud y Nutrición 2006 y 2012 (ENSANUT 2006 y ENSANUT 2012) fueron 38.4, 47.0 y 44.8%, respectivamente (DGE, 2010; ENSANUT, 2012).

La atención de estos padecimientos se realiza en una alta proporción en nuestro país a base de remedios herbolarios derivados de la medicina tradicional (Prieto-González, et al., 2004; Miranda-Velázquez, 2010). La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce esta práctica terapéutica y en el Artículo 4° Constitucional, referente al derecho a la salud en México, se decreta el respeto a las costumbres y tradiciones preventivas y curativas, permitiendo enriquecer las opciones de diagnóstico y terapéutica, dentro del conocimiento popular (Artículo 4° Constitucional 1992; Cabrera-Aguilar, 2010).

Sin embargo, la mayor parte de las plantas medicinales carecen de estudios que respalden su actividad. De las 3000 a 5000 plantas medicinales tradicionales, sólo se han estudiado las propiedades medicinales del 1%, por lo que se comercializan como complemento alimenticio y no como medicina (Urbán-Rascón, 2009; Miranda-Velázquez, 2010; Cabrera-Aguilar, 2010; González-Stuari, 2010).

El uso de productos naturales de origen vegetal para el tratamiento de infecciones bacterianas es una práctica milenaria en la medicina tradicional mexicana y ejemplo de ellos son los extractos acuosos y etanólicos de *Loeselia mexicana* (Lam.) Brand utilizados como remedios confiables contra afecciones respiratorias por amplios sectores de la población. *Loeselia mexicana* (Polemoniaceae), conocida como: espinosilla, hierba de la virgen, entre otros nombres populares, es referida en México desde la época prehispánica por poseer diversos usos medicinales, destacando sus propiedades para tratar enfermedades respiratorias (tos, ronquera, gripe, bronquitis, neumonías) (Márquez-Alonso y Lara-Ochoa, 1999; Zolla, Argueta y Mata, 2011). Sin embargo, para esta planta se carece de estudios que respalden su actividad antibacteriana en microorganismos asociados a enfermedades respiratorias, por lo que el presente trabajo se enfocó a valorar el efecto inhibitorio de crecimiento bacteriano de extractos de *L. mexicana* en bacterias asociadas a enfermedades de vías respiratorias.

ANTECEDENTES

Enfermedades de Vías Respiratorias (Definición médica).

Las Infecciones Respiratorias Agudas o IRA, están constituidas por un variado grupo de enfermedades causadas por diversos agentes que afectan las vías respiratorias, cuyos signos y síntomas se reflejan como tos de menos de 15 días de duración, dificultad para respirar, estridor (ronquido), dolor o enrojecimiento faríngeo, otalgia, otorrea, rinorrea, obstrucción nasal. Entre las IRAS se encuentran aquellas infecciones leves como resfrío, catarro, gripa, faringitis, amigdalitis, faringoamigdalitis, bronquitis, otitis o enfermedades graves como la neumonía (Kline, 2004; Rodríguez y Sánchez, 2006; González-Saldaña, et al., 2007). A pesar de que las IRA suelen tener cuadros benignos, se convierten en un problema de salud pública de gran trascendencia por su elevada incidencia y alto índice de contagio, que las coloca entre las causas principales de ausentismo escolar y laboral (Sánchez, et al., 1999; Kasper, et al., 2016).

La gripe y los resfriados comunes son las enfermedades virales infecciosas más frecuentes en el mundo, y como segundo agente asociado causal es la infección invasiva por bacterias, como el *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae*, que pueden complicar el cuadro clínico e incluso provocar la muerte (Carreón-Moldíz, 2005).

En la mayoría de los casos de faringoamigdalitis y neumonía, la inflamación de las estructuras mucosas de la garganta y del sistema respiratorio superior, debido a una infección viral; sin embargo, las bacterias también son responsables de un número significativo de episodios de infección secundaria. Las bacterias más comúnmente aisladas en los cultivos de garganta y en cultivos de pacientes con faringoamigdalitis aguda y neumonía, incluyen: *Streptococcus pyogenes* (estreptococos del grupo A), *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* y *Moraxella catarrhalis*, que pueden causar enfermedades graves y muerte. Los síntomas muestran variaciones ligeras según el microorganismo involucrado; generalmente, los síntomas de la infección del sistema respiratorio superior aparecen durante unos pocos días y se continúan con el comienzo súbito de fiebre, escalofríos ocasionales, tos seca y cortante, íleo (interrupción aguda del tránsito intestinal), dolor abdominal y signos de dificultad respiratoria (Kline, 2004; Rodríguez y Sánchez, 2006).

Cuando un niño ingresa a un hospital para ser tratado de neumonía, las bacterias oportunistas como *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, agravan el cuadro respiratorio, teniendo enfermedades respiratorias agudas nosocomiales, que en general son difíciles de tratar, llevando a la muerte en la mayoría de los casos médicos (Liñán-Cortés, et al., 1999).

En hospitales pediátricos de tercer nivel de atención de la Ciudad de México como el Hospital Infantil de México (HIM), en el Instituto Nacional de Pediatría (INP) y en el Hospital de Pediatría del Instituto Mexicano del Seguro Social (HPIMSS) se ha reportado que las infecciones que se agravan durante la hospitalización tales como neumonías, infecciones en piel, heridas quirúrgicas y gastroenteritis, se han detectado sólo algunos agentes causantes de infecciones nosocomiales. Por ejemplo, entre 1999 y 2003, los cinco principales agentes patógenos aislados fueron: *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae* y *S. aureus*; del 2004 al 2006, los agentes patógenos que ocuparon los cinco primeros lugares fueron, *S. epidermidis*, *K. pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* y *E. cloacae* (DGE, 2010; Martínez-Rojano y Anaya-González, 2001; González-Saldaña, et al., 2007).

El tratamiento para una IRA bacteriana se realiza con antibióticos específicos frente al microorganismo causal, además de medidas de soporte (oxígeno suplementario, sueroterapia, limpieza pulmonar y respiración asistida, si fuera necesario). Cabe señalar que los fármacos disponibles tienen contraindicaciones importantes, producen recurrencia (reaparición de los síntomas en un plazo inferior a un año) y en muchos casos causan resistencia. A través del uso excesivo de los antibióticos, el ser humano ha modificado el equilibrio de los microorganismos simbióticos que conviven naturalmente con él, lo que ha otorgado ventaja a cepas resistentes y ha generado un grave

problema de salud pública (Gil, 2000; Somogyi, et al., 1998; Gérvas, 2000). Por esta razón se está procurando el uso de nuevos agentes antimicrobianos más potentes, pero sobre todo más seguros que los existentes. La OMS señala que la resistencia a los antimicrobianos (RAM) pone en peligro la eficacia de la prevención y el tratamiento de una serie cada vez mayor de infecciones por virus, bacterias, hongos y parásitos. A su vez señala que la prolongación de la enfermedad, la necesidad de más pruebas y la utilización de fármacos más caros aumentan el costo de la atención sanitaria a los pacientes con infecciones resistentes en comparación con el de los pacientes con infecciones no resistentes (OMS, 2000 y 2016; Gil, 2010; Frick, et al., 2010).

En las comunidades rurales de varios estados de la República Mexicana, los tratamientos clínicos se ven limitados en el proceso salud-enfermedad, debido a que cada comunidad cuenta con una interpretación diferente sobre la enfermedad por sus creencias y valores culturales, lo que implica que las concepciones populares de las enfermedades difieren de las explicaciones otorgadas por los médicos. En consecuencia una barrera cultural al tratar la enfermedad, ocasionando que las madres en comunidades rurales ante la manifestación clínica de las IRA, no remitan a los niños a los centros oficiales de salud y prefieran acudir con curanderos que usan la medicina tradicional mexicana o recurren a tratamientos caseros

(Romero-Hernández, et al., 1999; Kline, 2004; Waizel y Waizel, 2005, Waizel-Bucay, 2006; OMS, 2013).

Estas barreras culturales, se pueden solventar estableciendo una comunicación con las comunidades y transformando a la medicina oficial en una medicina integral (medicina tradicional mexicana y centros oficiales de salud (medicina occidental)). Es de suma importancia conocer y explorar la multiculturalidad de México, además de entender y establecer procesos para evaluar la medicina tradicional mexicana, con la finalidad de poder respaldarla, utilizarla y llevarla a las comunidades y en un futuro no muy lejano establecer una medicina integral en todo México.

En la etnofarmacología, algunas de las problemáticas es crear una base empírica para el uso de fitomedicamentos. En otros países como Holanda, Australia, China y Alemania han encontrado una manera de que las plantas medicinales estén registradas y tengan uso en terapias hospitalarias coadyuvado a los medicamentos con licencia. En México teniendo una cultura tan diversa y llena de conocimiento en plantas medicinales se puede crear esta base empírica para la comercialización de “medicinas naturales” o “fitomedicamentos”. De esta manera poder integrar la medicina tradicional mexicana con la medicina con licencia y obtener una medicina integral en México (Gérvás, 2000; Jütte, et al., 2017).

Bacterias asociadas a enfermedades infecciosas de vías respiratorias.

La invasión de los tejidos por microorganismos patógenos, produce infecciones agudas que incluyen la formación de exudado purulento (pus) y fiebre. En algunos casos la enfermedad se debe a la respuesta inflamatoria frente a la bacteria y en otros a eventos patógenos que se producen cuando la bacteria se disemina en la sangre o en los órganos que invade (Breakwell, et al., 2009).

Para la identificación y clasificación de las bacterias, se utiliza el principio de la tinción de Gram que se basa en las características de la pared celular de las bacterias, la cual le confiere propiedades determinantes a cada microorganismo. La pared celular de las bacterias Gram-negativas está constituida por una capa fina de peptidoglicano y una membrana celular externa, mientras que las bacterias Gram-positivas poseen una pared celular gruesa constituida por peptidoglicano, pero no cuentan con membrana celular externa; así pues, la composición química y el contenido de peptidoglicano en la pared celular de las bacterias Gram-negativas y Gram-positivas explica y determina las características de esta técnica. La tinción de Gram se basa en la afinidad con el peptidoglicano de la pared bacteriana. Las bacterias Gram-positivas, al contener una gran cantidad de peptidoglicano, retienen con mayor fuerza este complejo, mientras que las Gram-negativas no lo pueden retener por tener menos cantidad de

peptidoglicano (Beveridge y Graham, 1991; Gil, 2000; Coico, 2001; Breakwell, et al., 2009).

Ejemplos de Bacterias Gram-positiva

El género *Staphylococcus* está formado por 19 especies, de las que algunas son patógenas oportunistas tanto para hombres como animales, entre estas se encuentra *S. pneumoniae*. Al menos el 50% de las personas poseen este microorganismo en las fosas nasales, garganta, heces y manos, distribuyéndose a otras zonas del cuerpo y vestimenta (Pascual y Calderón, 2000). Generalmente son inocuos en condiciones normales. Sin embargo, al romperse las barreras naturales de defensa del organismo (piel y/o mucosa), se favorece la invasión bacteriana y en consecuencia el riesgo de desarrollar infecciones como: abscesos, bacteriemias, neumonías, meningitis, infecciones en el tracto urinario, osteomielitis y endocarditis e incluso choque séptico; en pacientes con alteraciones inmunológicas o enfermedades debilitantes pueden ser mortales (Lowy-Franklin, 1998; Elliot, 1999; Mandell, et al., 2000; O'Gara y Humphreys, 2001).

El hábitat natural de *S. pneumoniae* son las vías respiratorias superiores. El ser humano es uno de los principales reservorios conocidos de este patógeno. Este microorganismo es Gram positivo debido a su factor patógeno principal, puesto que presenta una pared celular compuesta por macromoléculas como peptidoglucanos, polianiones de ácidos teicoicos (Tas) y proteínas de superficie

esenciales para su supervivencia. La adherencia a la mucosa nasal es mediada por los ácidos teicoicos. Entre las adhesinas asociadas a la pared celular que promueven la adherencia de la bacteria a las células del hospedero, están las proteínas de unión a la fibronectina y la colágena. Finalmente, esta cepa está recubierta por una capa externa de polisacáridos, que suelen considerarse como una cápsula o capa viscosa (Gil, 2000; Mandell, et al., 2000) (Fig.1).

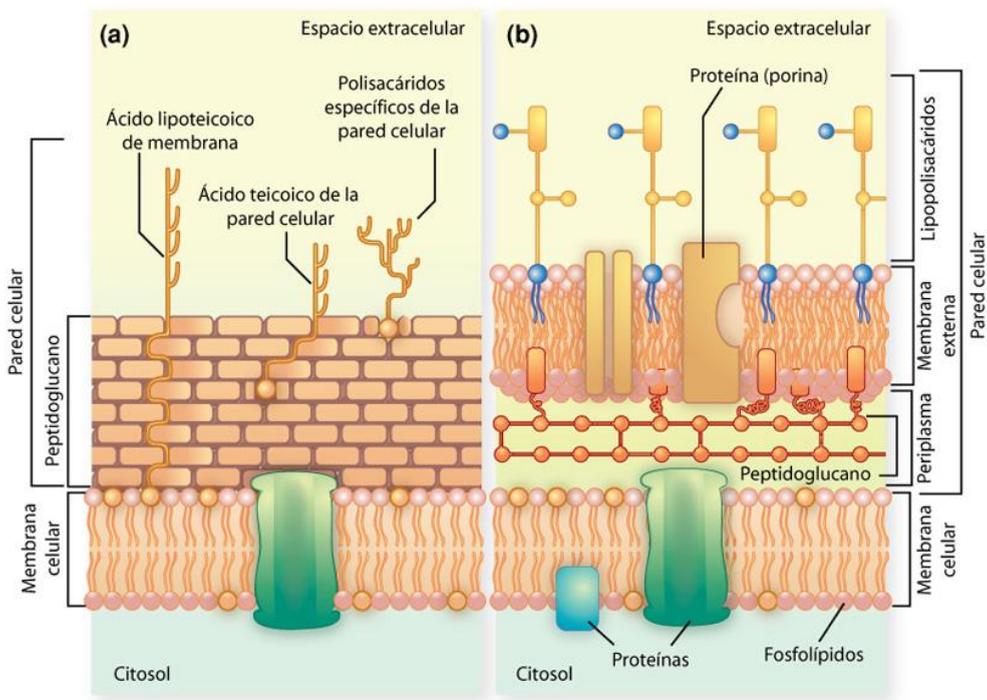


Fig. 1. Comparación estructural de bacterias A) Gram-positivas y B) Gram-negativas. Tomado de biotechmind (2018).

Ejemplos de Bacterias Gram-negativas

Las enterobacterias constituyen uno de los grupos bacterianos más importantes ya que incluyen una gran variedad de géneros asociados con el humano; algunas forman parte de la biota normal, mientras que otras tienen un papel patógeno ampliamente reconocido.

Las bacterias Gram-negativas, entre las que se encuentra *Klebsilla pneumoniae*, crecen en diversos medios de cultivo y forman parte de la flora normal gastrointestinal; sin embargo, son bacterias oportunistas, ya que el sistema inmunológico no puede eliminarlas eficientemente causando enfermedades nosocomiales. Los factores de virulencia de las cepas de *K. pneumoniae* incluyen el serotipo capsular, el polisacárido, los sistemas de captación de hierro y las adhesinas fimbriales y no fimbriales (Mandell, et al., 2000) (Fig.1).

La cápsula protege a *K. pneumoniae* contra la acción bactericida siendo su principal factor de virulencia (antígenos K.). Su hábitat más frecuente es la parte superior del aparato respiratorio y en el aparato digestivo.

Escherichia coli es el microorganismo más importante de su género, debido a que es un agente patógeno oportunista, el cual causa varias enfermedades en particular en vías urinarias, biliares, pulmones, peritoneo, meninges, enteritis, gastroenteritis y heridas. Es uno de los microorganismos comunes involucrados en sepsis por Gram-negativas y shock inducido por endotoxinas. Las infecciones urinarias y de heridas, neumonías en pacientes inmunosuprimidos y meningitis en

neonatos, son otras infecciones comunes causadas por la bacteria (Mandell, et al., 2000).

Definiciones de enfermedades de vías respiratorias (Real academia y medicina tradicional).

En la Real academia la gripe, es una enfermedad epidémica aguda, acompañada de fiebre y con manifestaciones variadas, especialmente catarrales. Mientras que la tos lo define como un movimiento convulsivo y sonoro del aparato respiratorio de las personas y de algunos animales.

Sin embarg, popularmente la tos, gripe, bronquitis o alguna afección de las vías respiratorias las nombran de forma informal, en ocasiones usando tos como la afección no como consecuencia de una enfermedad de vías respiratorias.

En la medicina tradicional la definición de afección de las vías respiratorias, es la enfermedad que se presenta principalmente con aumento en la temperatura corporal ("calentura"), dificultad para respirar, una tos que generalmente produce flema y que puede terminar en vómitos y una sensación de que "hierve el pecho", "como si trajera gatos encerrados" o "una olla de grillos" o le "hilara el pecho". Con menor frecuencia se presentan dolor en el pecho, espalda y pulmón, palpitaciones, sudor y escalofríos, caracterizada por que el enfermo tose continuamente (Zolla, Argueta y Mata, 2011).

Plantas empleadas en enfermedades de vías respiratorias por la medicina tradicional mexicana.

Allium cepa L. (cebolla), *Allium sativum* L. (ajo), *Anoda cristata* (L.) Schltld. (alache), *Argemone ochroleuca* Sweet (chicalote), *Artemisia ludoviciana* subsp. *Mexicana* (Willd. ex. Spreng.) D.D.Keck (estafiate), *Bidens pilosa* L. (aceitilla), *Bougainvillea spectabilis* Willd (bugambilia), *Bouvardia ternifolia* (Cav.) Schltld. (trompetilla), *Buddleja cordata* Kunth (tepozán), *Castilleja tenuiflora* Benth. (garañona), *Cissus sicyoides* L. (tripas de judas), *Crataegus mexicana* DC. (tejocote), *Crescentia alata* Kunth (pulpa de cuastecomate), *Dalea minutifolia* (Rydb.) Harms (hierba de la víbora), *Dyshania graveolens* (Willd.) Mosyakin & Clemants (epazote de zorrillo), *Eucalyptus globulus* Labill. (eucalipto), *Gentiana spathacea* Kunth (flor de hielo), *Gnaphalium chartaceum* Greenm. (gordolobo), *Gnaphalium oxyphyllum* DC (gordolobo), *Heterotheca inuloides* Cass. (árnica), *Hibiscus rosa-sinensis* L. (flor de obelisco), *Loeselia mexicana* (Lam.) Brand (espinosilla), *Marrubium vulgare* L. (marrubio), *Nicotiana glauca* Graham (tabaquillo), *Pinus patula* Schltld. & Cham. (ocote), *Prunus serotina* Ehrh. (capulín), *Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied. (arrayán), *Ricinus communis* L. (higuerilla), *Sambucus mexicana* C. Presl ex DC. (sauco), *Schinus molle* L. (pirul), *Solanum rostratum* Dunal (duraznillo), *Tagetes erecta* L. (cempasúchil), *Tagetes micrantha* Cav. (anís) (Bruneton, 2001; FARMACOPEA, 2001; Zolla, Argueta y Mata, 2011; Ortiz, Cervantes y Chimal, 2017).

Usos de *Loeselia mexicana* en la medicina tradicional mexicana.

En la medicina tradicional *Loeselia mexicana* es empleada para: dolor e inflamación del estómago, vómito, diarrea, disentería, purgante, diurético, tifoidea, bronquitis, gripe, ronquera, tos, afecciones renales, bilis, fiebres puerperales, contra la caspa y caída del cabello, erisipela, rubéola, sarampión, varicela, dolor de cabeza y para regular la menstruación. Mediante el cocimiento de las ramas y flor, tomado o aplicado localmente (Aguilar, et al., 1994; Márquez-Alonso y Lara-Ochoa, 1999; FARMACOPEA, 2001; Zolla, Argueta y Mata, 2011).

Es empleada con mayor frecuencia para la calentura (fiebre), padecimiento que tiene diversas causas, dicho padecimiento se caracteriza por dolencia de cuerpo y cabeza, a causa de resfriado o gripe, o por temperatura en el estómago, como suponen en Tlaxcala, o a consecuencia de fiebres puerperales (FARMACOPEA, 2001; Zolla, Argueta y Mata, 2011).

Nombres comunes de *Loeselia mexicana* en la medicina tradicional mexicana.

Hierba de la virgen, espinosilla, espinosillo, espinosa, mirto silvestre, mirto rojo, chuparrosa, huichichile, huitziltzitzin, cuachichil, cuachile, gallina ciega, hierba de san antonio, huasicil, bachichil, guachichile, huachichile, huitzizilic, chuparrosa, gallina ciega, hierba de san antonio, huachichile, huasicil, almaraduz. Estado de México: binyené (mazahua), huihuisyocen; Michoacán: tarepi: (purhépecha), checamicua tsitsiqui, tsitsiqui tsurhumu, chakamiti jukarati; Nayarit: basil

(tepehuano); Puebla: huitzitzixochitl (nahua), necaxanil (totonaco); Tlaxcala: huitzitziquitl (náhuatl), almaraduz, checamicua tsitsiqui (lengua purépecha), misthuuichu, tsitsiqui tsurhumu (lengua purépecha) (Aguilar, et al., 1994; Márquez-Alonso y Lara-Ochoa, 1999; Zolla, Argueta y Mata, 2011).

Ubicación taxonómica (Roskov, et al., 2016).

- ∞ Reino: Plantae
- ∞ División: Traqueophyta
- ∞ Clase: Magnoliopsida
- ∞ Orden: Ericales
- ∞ Familia: Polemoniaceae
- ∞ Género: *Loeselia*
- ∞ Especie: *Loeselia mexicana* (Lam.) Bran

Características botánicas de *Loeselia mexicana*

Planta arbustiva o (Fig.2) subarbustiva hasta de 1.5 (2) m de alto, pubescente en casi todas sus partes que no son fuertemente lignificadas; hojas subsésiles, en su mayoría alternas, las inferiores a menudo opuestas, por lo general elípticas, pero variando de linear-lanceoladas a ovadas, hasta de 4(6) cm de largo y 1.5 (2) cm de ancho, agudas o a veces obtusas en el ápice, cuneadas en la base, los márgenes espinuloso-aserrados, pinnati-nervadas; flores solitarias o con más frecuencia agrupadas por varias en las axilas de las hojas (Fig.

3), formando en las ramas largos conjuntos racemiformes, densamente foliosos (Rzendowski y Calderón., 1995; Correa., 1999; Rzendowski, et al., 2005).



Fig. 2. *Loeselia mexicana* (Espinosa). Fotos de Pedro Tenorio Lezama 2000 y Heike Vibrans 2006, CONABIO.

Cada flor individual rodeada por unas 10 brácteas linear-lanceoladas a linear-oblongas, de 6 a 10 mm de largo, dentado-espínulosas en el margen, las exteriores más cortas y verdes, las interiores escariosas; cáliz de 8 a 10 mm de largo, escarioso, pero con algo de coloración verde en los segmentos, que miden poco menos de la mitad del largo de todo el cáliz y son puntiagudas y espínulosas en el ápice; corola tubular, roja (excepcionalmente blanca o amarillenta), de (2) 2.5 a 3.5 cm de largo, lóbulos oblanceolados, de 5 a 7 mm de largo, redondeados en el ápice; estambres largamente exsertos, filamentos rojos, anteras de 2.5 a 3 mm de largo; estilo rojo, también largamente exserto; cápsula elipsoide, de 4 a 7 mm de largo, a menudo con algo de pubescencia en el ápice; semillas 2 a 5(8) por lóculo, circulares u oblongas, de 1.5 a 2 mm de largo, anchamente aladas (Rzendowski y Calderón., 1995; Correa., 1999; Rzendowski, et al., 2005).

Especie frecuente y a menudo abundante en la vegetación secundaria derivada de encinares, pinares, así como algunos matorrales xerófilos y bosques tropicales caducifolios. Parece ser planta mayormente ligada con suelos derivados de rocas ígneas. Altitud de 1500-2800 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.). Se ha encontrado en flor en casi todos los meses del año, pero su época preferencial es de octubre a febrero (Rzendowski y Calderón., 1995; Rzendowski, et al., 2005).

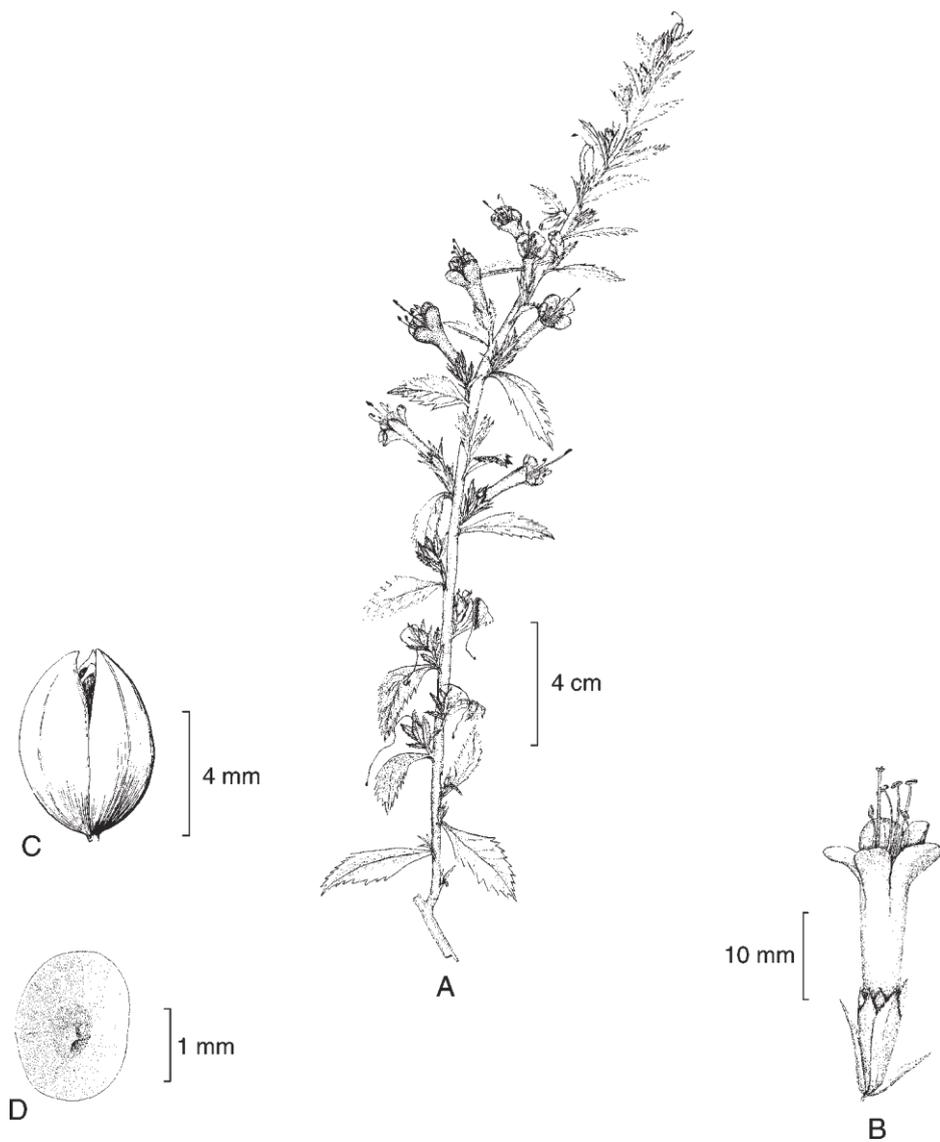


Fig. 3. *Loeselia mexicana* (Lam.) Brand. **A.** Rama con flores y frutos. **B.** Flor. **C.** Fruto. **D.** Semilla. Ilustrado por Humberto Sánchez Córdova. (Calderón, 1997).



Fig. 4. Distribución geográfica bibliográfica *Loeselia mexicana*.

Según Rzedowski, J., y Calderón de Rzedowski, G. (1995), está ampliamente distribuida desde Texas hasta Chiapas (Fig.4). Se elaboró un mapa de distribución de la especie con base en la información de: FARMACOPEA, 2001; González Stuari, 2010; GBIF, 2016 (Global Biodiversity Information Facility); MABA Flora, 2016 (Madrean Archipiélago Biodiversity Assessment); Magill, 2017; (Revisión de ejemplares en los herbarios: MEXU y FCME)).

Fitoquímica de la Familia Polemoniaceae

Dentro de la familia Polemoniaceae, son pocas las referencias con actividad terapéutica comprobada en relación con las especies de la familia Polemoniaceae, sin embargo, varias de las especies son mencionadas en la medicina tradicional.

El análisis de los compuestos químicos de la familia Polemoniaceae, deriva del interés sobre la biología sistemática de la familia, que en la década de los 60's se enfocan a compuestos fenólicos, saponinas y cyclitoles Hegnauer en el año 1969 y para inicios de los 70's, Smith, et al. (1971) centran su atención en los flavonoides y otros compuestos fenólicos, tomando en cuenta a Harborne en 1967 los reconoce como los marcadores taxonómicos más prometedores en las plantas superiores (Smith, et al., 1971).

De acuerdo a la fitoquímica de la familia Polemoniaceae tenemos un intervalo de variación en flavonoides, por lo que se reconoce a los flavonoides como marcadores taxonómicos debido a la comparación ya documentada para características morfológicas. Predominan tres grupos principales de flavonoides: (A) flavonoles comunes (kaempferol, quercetina, miricetina); (B) 6-metoxiflavonoles (patuletin, eupalitin, eupatolitin); y (C) C-glicosilflavonas (basada en apigenina y luteolina). Los flavonoides del grupo A se encuentran en los géneros *Cobaea*, *Loeselia*, *Polemonium*, *Allophyllum*, *Collomia* y *Gymnosteris* mientras que *Bonplandia*, *Ipomopsis* y *Eriastrum* tienen predominantemente

flavonoides del grupo B; para el caso de *Phlox*, *Microsteris* y *Leptodactylon* tienen mayoritariamente flavonoides del grupo C; los géneros restantes (*Cantua*, *Huthia*, *Gilia*, *Langloisia*, *Navarretia* y *Linanthus*) o bien tienen flavonoides de los tres grupos, o algunas especies dentro de un género tienen flavonoides de un grupo, mientras que otras especies tienen flavonoides de otro grupo (Glennie, et al., 1977) (Cuadro 1).

En Hegnauer (1990), identifico compuestos antociánicos, es decir glucosido-5-glucósido 3-glucósido, 3,5-Bismonoglucoside, 3- (p-coumaroil) glucósido y 3- (p-coumaroil), estas se encontraron en los géneros *Leptodactylon*, *Linanthus*, *Loeselia*, *Microsteris* y *Phlox*; aunque carecían de estos compuestos los géneros *Allophyllum*, *Collomia*, *Eriastrum*, *Gilia*, *Ipomopsis*, *langloisia*, *Navarretia* y *Polemonium*.

Se demostró que algunos glicósidos de 6-metoxiflavonol raros son los principales constituyentes fenólicos en *Ipomopsis aggregata*. Sus aglicones también se observaron en otros ocho géneros de la familia, generalmente en asociación con flavonoles comunes (Cuadro 1), quercetina y kaempferol. Otras apariciones notificadas de flavonoides en la familia incluyen solo antocianina, monardeína, en *Ipomopsis rubra*, dos C-xilosiloglicoflavonas en *Phlox drummondii*, y recientemente una serie adicional de glicoflavonas en *Phlox drummondii*, *Phlox pilosa*, y sus parientes. Aunque escasos, estos datos preliminares sugirieron que

la probabilidad de significación taxonómica en los datos de flavonoides era alta (Glennie, et al., 1977).

Se encontró que los flavonoles 6-metoxilados son importantes marcadores taxonómicos en la familia Polemoniaceae, en *Ipomopsis aggregata* (Polemoniaceae) se aislaron e identificaron Eupalitina, eupatolitina y patuletin 3-0-galactósidos (Smith, et al., 1971).

Cuadro 1. Fitoquímica de la familia Polemoniaceae (Glennie, et al., 1977).

Compuestos	Género
GRUPO A flavonoles comunes (kaempferol, quercetina, miricetina)	<i>Cobaea</i>
	<i>Loeselia</i> (ácido p-coumaryl-quinico, glycoflavonas)
	<i>Polemonium</i>
	<i>Allophyllum</i>
	<i>Collomia</i>
GRUPO B 6-metoxiflavonoles (patuletin, eupalitin, eupatolitín)	<i>Bonplandia</i>
	<i>Ipomopsis</i>
	<i>Eriastrum</i>
GRUPO C C-glicosilflavonas	<i>Phlox</i>
	<i>Microsteris</i>
	<i>Leptodactylon</i>
Diversidad de flavonoides Pueden presentar los tres grupos flavonoides o flavonoides mezclados de los grupos.	<i>Cantua</i> Quercetina, kaempferol, patuletina, eupatolitina y glicoflavonas.
	<i>Gilia</i> (daphnetin)
	<i>Huthia</i>
	<i>Langloisia</i> ,
	<i>Navarretia</i> (daphnetin)
<i>Linanthus</i> (daphnetin)	

No sólo los flavonoles 6- metilados son importantes a nivel taxonómico también flavonol eupatolitina (3,5,3',4'-tetrahidroxi-6,7-dimetoxi flavona) son importantes marcadores taxonómicos en la familia Polemoniaceae. La eupatolina es un derivado 6,7-dimetoxi de queretetina que ha demostrado actividad biológicas como antifúngicos, antibacterianos, antioxidantes y un fuerte efecto protector sobre el daño al ADN inducido por el H₂O₂ (Cuadro 1) (Smith, et al., 1971; Sen, et al., 2002).

En las flores de *Ipomopsis rubra* y dos C-xilosiloglicoflavonas en *Phlox drummondii*, se han encontrado los únicos flavonoides que se han caracterizado completamente en estas plantas son el antociano, la monardeína. Se detectaron tres flavonoles raros en varias especies, incluida *Ipomopsis aggregata*, es el primer descubrimiento de quercetagenin y éteres metílicos de 6-hidroxikaempferol en esta familia. Los tres géneros más grandes de la familia (*Linanthus*, *Gilia* y *Navarretia*) muestran gran diversidad de flavonoides. También mencionan dos hidroxycumarinas raras, una de las cuales es daphnetin, se detectaron en cinco generaciones, pero demostraron tener un interés sistemático limitado (Smith, et al., 1971; Glennie, et al., 1977).

Los géneros *Cobaea*, *Polemonium*, *Allophyllum*, *Collomia* y *Gymnosteris* también presentan flavonoles comunes (Cuadro 1) además de otras plantas medicinales reportaron su uso tradicional y en algunos casos hasta comprobaron su actividad antibacteriana *Cantua buxifolia*, *Cobaea*, *Polemonium*, *Collomia* y *Gymnosteris*, *Phlox*,

Microsteris y *Leptodactylon*. En el género *Loeselia* tenemos a *Loeselia coerulea* y *Loeselia ciliata* las cuales ha sido reportado su uso en la medicina tradicional, recordemos que presentan flavonoles comunes del grupo A. Al comparar los flavonoides del género *Loeselia* se reafirma la coincidencia de la presencia de flavonoides del grupo A, ácido p-coumaryl-quinico, glycoflavonas (Cuadro 2) (Glennie, et al., 1977).

Cuadro 2. Flavonoides y otros compuestos fenólicos de las tribus: Bonplandieae y Cantueae. Tomado de Glennie C. W., Harborne J. B. y Williams C. A. (1977).

Flavonoides y otros compuestos fenólicos de las tribus: Bonplandieae y Cantueae.													
Especie	FLAVONOIDES								OTROS CONSTITUYENTES				
	M	Q	K	P	Eo	E	O	G	C	P-Q	F	D	S
<i>L. ciliata</i> L.	-	X	X	-	-	-	-	X	X	-	-	-	-
<i>L. coerulea</i> (Cav.) Don.	-	X	-	-	-	-	-	X	X	-	-	-	-
<i>L. mexicana</i> (Lam.) Brand.	-	X	X	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-
<i>C. buxifolia</i> Juss. Ex Lam	-	X	X	-	-	-	X	X	-	-	-	-	-
<i>C. candelilla</i> Brand	-	X	-	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. pyrifolia</i> Juss	-	X	-	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. quercifolia</i> Juss	-	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Clave de abreviaturas: **M** = miricetina; **Q** = quercetina; **K** = kaempferol; **P** = patuletina; **Eo** = eupatolitina; **E** = eupalitina; **O** = otras agliconas o no identificadas; **G** = glicoflavonas; **C** = ácido clorogénico; **P-Q** = ácido p-coumaril-cinético; **F** = ácido ferulil-cinico; **D** = dapnetina; **S** = escopoletina; **X** = presente; - = ausente.

Géneros y especies más afines químicamente con *Loeselia mexicana* de la Familia Polemoniaceae

Siendo el género *Ipomopsis*, de los más afines a *Loeselia*, esta planta presenta actividad en sus compuestos químicos. La especie *Ipomopsis aggregate* contiene principios antineoplásicos como cucurbitacina y biscumarina (ipomopsin) y una hidroquinona (NSC-09247) con actividad citotóxica en linfocitos de leucemia, cáncer de mama, carcinoma Lewis de pulmón, cáncer de colon (Arisawa, et al., 1984).

El género *Eriastrum*, también de los más afines a *Loeselia*, presenta diferentes flavonoides en su corola (derivativos de eupalitin) y hojas (derivativos de patuletin y eupatolitin): en la primera son derivativos de eupalitin, mientras que los de hojas derivan de patuletin y eupatolitin, lo que sugiere diferencias funcionales. Presenta usos medicinales como: diarrea, medicamento estomacal y para niños con tuberculosis (Smith, et al., 1971; Smith y Patterson, 1981).

Otro género afín a *Loeselia* es *Cantua buxifolia* Juss. ex Lam (Smith, et al., 1971), del que reportan actividad antibacteriana sobre el crecimiento de *E. coli* y *S. aureus* del extracto etanólico. Los metabolitos secundarios extraídos con maceración con etanol al 70% de las flores a los que se les confiere esta actividad son flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, antocianidinas, lactonas, triterpenos, esteroides, catequinas, lactonas, saponinas, quinonas, (Soto, et al., 2014) (ANEXO IV).

La investigación química de *Polemonium viscosum* produjo varios diterpenos nuevos con esqueletos de labdano y pimarano, una nueva flavona y dos nuevos glucósidos monoterpénicos. La configuración absoluta de akhardiol se establece mediante la determinación de la estructura de rayos X del derivado de O-bromobenzoato (Stierle, et al. , 1988).

Fitoquímica de las plantas empleadas en enfermedades de vías respiratorias por la medicina tradicional.

En la mayoría de las plantas utilizadas en medicina tradicional como asépticas, antiinflamatorias, antibacterianas y antimicóticas, se ha demostrado la presencia de fitocompuestos comunes en los extractos de plantas, incluidos compuestos fenólicos como: flavonoides y cumarinas, alcaloides, lactonas sesquiterpénicas y taninos, como principales constituyentes activos (Ahmad y Beg, 2001). Es por eso que para el caso especial de las plantas medicinales usadas en enfermedades en vías respiratorias se concentró la información encontrada sobre la actividad biológica comprobada presente en cada una de estas plantas para posteriormente compararla con *L. mexicana* (Cuadro 3).

Cuadro 3. Comparación de las plantas medicinales usadas en enfermedades en vías respiratorias.

Plantas medicinales	Compuestos	Efecto del compuesto
<i>Allium cepa</i> L. (cebolla)	Antocianinas, leucoantocianidas, catequinas, flavonas, flavonoides, flavononas, taninos, alcaloides, fenol (Cruz, et al., 2015)	Enfermedades de vías respiratorias, asma. Actividad antibacteriana y moduladora de aminoglucósidos (Waizel y Waizel., 2009).
<i>Allium sativum</i> L. (ajo)	ajoeno, alicina, aliina, aliinasa, aliisatina, aliixina, aliildisulfuro, aliildisulfuro, aliilmetil-trisulfuro, α -tocoferol, α -prostaglandina F-2, ácidos: araquidónico, ascórbico, cafeico, clorogénico, eicosapentaenoico, ferúlico, oleanólico, p-cumárico, sinápico. β -caroteno, β -felandreno, β -sitosterol, β -tocoferol, caempferol, cicloaliina, -cital, cis-ajoeno, desgalactotigonina, dialil-disulfuro, dialil-trisulfuro, geraniol, metionina, prostaglandinas A, B, E, quercetina, rutina, stigmaterol (Waizel y Waizel., 2009).	Enfermedades de vías respiratorias, asma. Actividad antibacteriana (Waizel y Waizel., 2009).
<i>Anoda cristata</i> (L.) Schltl. (alache)	Los principales flavonoides aislados de la planta acetina y diosmetina. (Juárez-Reyes et al., 2016)	Tratamiento de la diabetes, inflamación, fiebre, tos y heridas. Enfermedades de vías respiratorias, asma. Es eficaz para disminuir los niveles de glucosa, podría deberse a la presencia de principios activos con diferentes modos de acción a nivel molecular, incluidos los inhibidores de α -glicosidasas, secretagogos de insulina, atrapamiento de glucosa y agentes de

		atrapamiento de radicales (Juárez-Reyes et al., 2016)
<i>Argemone mexicana</i> L. (chicalote)	Alcaloides (alocriptopina, berberina, citosterol, codeína, copticina, dihidrosanguinarina, dihidroqueleritrina, dihidroxicromona, isoramnetin-3-glicósido, morfina, protopina, metil-parmamuranina, N-metil-pavina, 7-neohesperiódosido, nor-sanguinarina, nor-eritrina, oxi-hidrastinina, pavina, protopina, queleritrina, sanguinaria, sanguinarina, α -tetrahidropamatina, meto-hidroxidocanadina, sheilanthifolina, sheleritrina, stilopina). Cortisona, flavonoides, compuestos fenólicos y taninos (Waizel y Waizel., 2009).	Enfermedades de vías respiratorias, asma. Los extractos crudos poseen efecto en <i>Plasmodium berghei</i> (Carrillo y Díaz, 2005).
<i>Argemone ochroleuca</i> Swe et (chicalote)	Alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos (Waizel y Waizel., 2009).	Efecto inhibitorio contra <i>Staphylococcus aureus</i> [1, 0.5 y 0.25 mg/disco] (Velasco, et.al. 2016).
<i>Argemone platyceras</i> Link & Otto (chicalote)	Contiene alcaloides (reticulina, munitagina, argemonina, metilargemonina, norargemonina, platycerina), isoquercitrina (Waizel y Waizel., 2009).	Remedio contra tos, bronquitis y neumonía, auxiliar en padecimientos asmáticos (Fernandez, et al., 2005).
<i>Artemisia copa</i> Phil. (copa)	Se realizó el análisis fitoquímico de los extractos diclorometánico, etanólico y de la infusión. En el extracto diclorometánico de <i>A. copa</i> se identificaron escopoletina, jaceosidina, espinacetina, penduletina, axilarina y tricina. En el extracto etanólico y la infusión, isovitexina, ácido p-cumárico, luteolina y crisoeriol. En el extracto etanólico se identificó además, luteolina-7-metil-éter. Todos los compuestos aislados, excepto	Tradicionalmente se usa para dolores reumáticos, disminuir la presión arterial, dolor de estómago, neumonías, resfríos y como sedante. La infusión mostró actividad analgésica. Los extractos diclorometánico y etanólico exhibieron actividad antiinflamatoria local. En los ensayos para determinar la actividad antiinflamatoria in

	<p>luteolina, fueron informados por primera vez para esta especie vegetal. No se detectó la presencia de artemisinina, presente en <i>Artemisia annua</i> L., por cromatografía en capa delgada (Moscatelli., 2015).</p>	<p>vitro, los flavonoides aislados de <i>A. copa</i>, espinacetina, jaceosidina, axilarina, crisoeriol, penduletina y tricina inhibieron la producción de mediadores relevantes en la respuesta inflamatoria. Jaceosidina resultó el más activo. La infusión de <i>A. copa</i> mostró actividad ansiolítica y anticonvulsivante en los ensayos realizados para evaluar su actividad sobre el sistema nervioso central en animales. La infusión exhibió además, actividad espasmolítica en el ensayo de yeyuno aislado de rata, predominantemente por el bloqueo de canales de calcio. Crisoeriol, luteolina, y espinacetina resultaron activos ejerciendo su acción por este mecanismo (Moscatelli., 2015)</p>
<p><i>Artemisia ludoviciana</i> sub sp. Mexicana (Willd. ex. Spreng.) D.D.Keck <i>Artemisia vulgaris</i> L.= <i>A. opulenta</i> Pamp. (estafiate)</p>	<p>1 mL por 10 de vehículo. Contiene β-caroteno, α-pineno, cienol, inulina, α-amirina, β-pineno, β-sitosterol, borneol, quercetina, y stigmasterol. El género contiene lactonas sesquiterpénicas (tóxicas), quercitina, quercetrina, taninos, tujonas (Waizel y Waizel, 2009).</p>	<p>Actividad antioomiceto contra <i>Phytophthora</i> spp. (Damian, et.al. 2010), y su uso tradicional contra diarrea, coraje, susto, indigestión (Sanchez, et al., 2008).</p>
<p><i>Artemisia giraldi</i> Pamp. Sinonimia <i>Oligosporus</i></p>	<p>6,7,4'-trihydroxy-3',5'-dimethoxyflavone, 5,5'-dihydroxy-8,2',4'-trimethoxyflavone, 5,7,4'-trihydroxy-3',5'-dimethoxyflavone (Cushnie y Lamb, 2005)</p>	<p>Inhibición sobre <i>Aspergillus flavus</i> (Cushnie y Lamb, 2005)</p>

<p><i>giraldii</i> (Pamp.) Poljakov</p>		
<p><i>Bergenia crassifolia</i> (L.) <i>Fritsch</i> (oreja de elefante)</p>	<p>(+)-catéquina 3,5-di-O-gallato, (+)-catéquina 3-O-gallato, 1,2,3,4,6-penta-O-galoilglucosa, 1,2,4,6-tétra-O-galoi-D-glucopiranosa, 1,2,6-tri-O-galoilglucosa, 1-O-galoilglucosa, telimagrandino I, Pedunculagina. Kaempférol 3-O-xilosilgalactosido, Kaempférol, quercétina. Géraniol, alpha-bisabolol, alphabisabololoxido B, alpha-cadinol, delta-cadinèno, alpha-terpinéol, linalol, m-cimèno, nérolidol, fitol, p-ment-1-èn-4-ol, prèno, timol, cadinol, élèmèno, eudesmol. Acido acétilsalicílico, acido caféoil quinico, acido elagico. Arbutino, 2-O-caféoilarbutino, 6-O-galoilarbutino, hidroquinona. Bergénina, norbergénina, 12, 11-O-(p-hidroxibenzoil) bergénino, 3,11-di-O-galoilbergénina, 4,11-di-O-galoilbergénina, bergaptèno. Bergénano BC. Rhododendrine (bétulosido) 0,04 %, caroténoides, cloropiyla (Ghédira y Goetz., 2017).</p>	<p>Antimicrobiano, actividad antilipática, Actividad antihipertensiva, Actividad antioxidante, Efecto antidiabético, Efecto antialérgico, Antiinflamatoria.</p> <p>Usos tradicionales Gingivitis, refuerza las paredes capilares, activa la vasodilatación local, disminuye la tensión arterial y aumenta la frecuencia cardíaca. Afecciones en tifoidea, pneumonia, problemas gástricos y diarrea. Astringentes y dolores menstruales (Ghédira y Goetz., 2017).</p>
<p><i>Bidens pilosa</i> L. (aceitilla)</p>	<p>Se identificaron cuarenta y cuatro componentes principales en aceites esenciales pertenecientes a los terpenos: β-cariofileno (10.9% y 5.1%) y escadineno (7.82% y 6.13%), en las hojas y flores, respectivamente. Los otros componentes químicos fueron α-pineno, limoneno, β-trans-ocimeno, β-cis-ocimeno, τ-muuroleno, β-bourboneno, β-elemeno, β-cubebeno, α-cariofileno, óxido de cariofileno y megastigmatrienona (Deba, et al., 2008).</p>	<p>Tratamiento de picaduras de serpientes, picaduras de insectos, heridas, shock después de accidentes, problemas pulmonares, fiebre e infecciones oculares (Perri L. M., 1980), insecticida sobre el gorgojo del maíz y sobre estados adultos y larvarios de algunos dípteros (Iannacone, et al. 2005; Gruben, 2004). Presenta actividad antimicrobiana contra</p>

		<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus pumilus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas ovalis</i> , y actividad antifúngica contra <i>Corticium rolfsii</i> f.sp., <i>Fusarium solani</i> y <i>Fusarium oxysporum</i> (Deba, et al., 2008).
<i>Borago officinalis</i> L. (borraja)	Flavonoides, triterpenos, esteroides, alcaloides, saponinas, taninos y mucilaginosos (Janick, et al., 1989).	Enfermedades de vías respiratorias, asma. Se utilizan en infusiones o cataplasmas para tratar asma, conjuntivitis, erupciones cutáneas, fiebres eruptivas, heridas, resfriados, sarampión, úlceras (Gil-Otaiza, 1999; López-Palacios, 1984). Efecto antibacteriano leve (Janick, et al., 1989).
<i>Bougainvillea spectabilis</i> Willd. (bugambilia)	Ácido gálico, alcaloides indólicos, flavonoides, glicósidos saponínicos, triterpenos (Waizel y Waizel, 2009).	Actividad antibacteriana contra <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> (Napoleon, et al., 2013), <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus faecalis</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Shigella flexneri</i> y <i>Vibrio cholerae</i> (Umamaheswari A., 2008)
<i>Bouvardia ternifolia</i> (Cav.) Schltl, (trompetilla)	Glucósido de quercetina, rutina, flavonol, ácido ursólico, cumarina escopoletina, ácido clorogénico, derivado de ac. clorogénico (García, 2015).	Inhibición micelial moderada de <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn y <i>Phytophthora infestans</i> Mont. (Gamboa, et al. 2003).

<p><i>Buddleja cordata</i> Kunth (tepozán)</p>	<p>Arciniegas, et al., (1997) identificaron verbascoside como agente antimicrobiano, que presenta propiedades antibacterianas. Este compuesto deriva del fenilpropano. Actividad contra el <i>Staphylococcus aureus</i>. Especies de <i>Buddleja</i> muestran actividad biológica (Pardo, Perich y Torres, 1993)</p>	<p>Acción antimicrobiana sobre <i>Staphylococcus aureus</i> (Ávila, et al., 1999).</p>
<p><i>Calendula officinalis</i> L. (caléndula)</p>	<p>Flavonoides. isorhamnetina 3-0 glicósido, isorhamnetina 3-0 rutinósido, isorhamnetina neo hesperidósido, isorhamnetina 3-0 rutinorhamnosido, quercetina 3-0 glucósido, quercetina 3-0 glucorhamnosido, calendoflosido, calendoflavosido, calendoflavobiosido, narcisina, isoquercetina, quercetina, rutosido y kaemferol. (Hadison, 1985; Vidal, Ollivier, 1988; Wagner, Bladt, y Zgainski, 1984).</p>	<p>Extractos fluidos obtenidos a partir de esta planta presentan actividad biológica sobre microorganismos de tipo bacteriano como: <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>S. fecalis</i> (Acosta de la Luz, et al. 2001; Lastra y Piquet, 1999; Muñoz, 2004). Acción bactericida frente a microorganismos como <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Staphylococcus fecalis</i> (Águila-Gil, et al., 2000), además de <i>Salmonella Typha</i>, <i>Mycobacterium tuberculosis</i> y <i>Staphylococcus epidermidis</i> (Rodríguez, 2010).</p>
<p><i>Cedrela odorata</i> L.= <i>Cedrela mexicana</i> M. Roem. (cedro)</p>	<p>Aceites esenciales (acetoxicedrodorina, cedrelanol, cedrodorina, gedunina, hidroxicedrodorina, odoratol, odoratona), ácidos angolésico y tánico. Esencias amargas, fotogedunina, mexicanólido (Waizel y Waizel, 2009).</p>	<p>Enfermedades de vías respiratorias, asma.</p>
<p><i>Cissus sicyoides</i> L.</p>	<p>Los análisis físico-químicos realizados a los extractos etéreos, alcohólicos y acuosos, tanto en la droga fresca y seca, como en la decocción y el liofilizado</p>	<p>Enfermedades de vías respiratorias, asma.</p>

(tripas de judas, bejuco-ubí)	demuestran la presencia de taninos, compuestos reductores, triterpenos-esteroides, aminoácidos, compuestos grasos y flavonoides (Waizel y Waizel., 2009).	
<i>Citrus aurantium</i> L.= <i>Citrus aurantifolia</i> (Chrisstm.) Swingle (naranja)	Terpenos, aceites esenciales (cariofileno, geraniol, limoneno, linalol, nerol, rutina, bergapteno), betaína, carotenos, cumarinas, narigenina, neohesperidina, pectinas, taninos, zeaxantina (Waizel y Waizel., 2009).	Enfermedades de vías respiratorias, asma.
<i>Crataegus mexicana</i> DC. (tejocote)	Presentan constituyentes con potencialidad antioxidante, entre ellos los ácidos epicatequino y clorogénico (Özcan, et al., 2005; Peschel, et al., 2008). Compuestos fenólicos (Franco-Mora, et al., 2010).	Padecimientos del corazón, del sistema respiratorio y del urinario (Nieto y Borys, 1991; Özcan, et al., 2005).
<i>Crescentia alata</i> Kunth (pulpa de cuastecomate)	Alcaloides, flavonoides, esteroides y fenoles. Se han detectado hasta el momento ocho grupos químicos presentes tanto en frutos como en hojas. Sin embargo, aún no se han determinado qué compuestos son responsables del efecto sobre estas enfermedades. Es posible que derivados de la epigenina y quercitina, los cuales son del grupo de flavonoides, sean responsables de la actividad antiinflamatoria. Así como las furanonaftoquinonas de la actividad anticancerígena (Santander, 1994; Pío-León, et al., 2013).	Usadas para golpes, tumores, sistema respiratorio, enfermedades del riñón, enfermedades del hígado, y como purgante. Presenta actividad antibacteriana contra <i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Samonella</i> , <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Shigella flexneri</i> y <i>Pseudomonas aureginosa</i> . (Pío-León, et al., 2013).
<i>Dalea coerulea</i> (L.f.) Schinz & Thell. Sinonimia <i>Dalea mutisii</i> Kunth	Análisis de sus aceites tiene: triciclono, β -ocimeno, campheno, β -pineno, β -phelandreno β -mirceno, α terpineno, limoneno, sabineno, alloocimeno, 3-careno, P-cimeno, 2-	Tos e indigestión (estomacal y pectoral). Presenta actividad antimicrobiana a concentraciones de 10000 $\mu\text{g/mL}$ frente a <i>Staphylococcus aureus</i>

(gusanillo)	careno, α -cubebeno, α -copaeno. α -humuleno, α -amorpheno, E-citral, δ cadieno (Castro-Alcocer., 2012).	ATCC 6538 y <i>Candida albicans</i> ATCC 10231; posiblemente debido a los abundantes compuestos fenólicos que contienen los extractos (Castro-Alcocer., 2012).
<i>Ehretia laevis</i> Roxb. (roble)	Betulina, ácido betulínico. En otras especies hay glucósidos fenólicos y lignanos (metoxi-hidroquinonas), rosmarinato, ácidos rosmarínico y ursólico, quercetina, sitosterol (Waizel y Waizel, 2009).	Es usada para el asma
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill. (eucalipto)	aceites esenciales, fenoles, taninos, saponinas, triterpenoides, esteroides, Quercetol, quercetrina, rhammazina, rhamnetina, rutina, flavonoides, ácidos tánicos, Eucaliptol, D-Limoneno, 1,8-cineol, P-cimeno, Aromadendreno, Cariofileno, Globulol, sesquiterpenoalcohol, eudesmol (Waizel y Waizel., 2009).	Antimicrobiano
<i>Gnaphalium chartaceum</i> Gre enm. <i>Gnaphalium oxyphyllum</i> DC <i>Gnaphalium aff. Decurrens</i> DC (gordolobo)	De <i>Gnaphalium viscosum</i> se aislaron saponinas, taninos y terpenoides. En <i>G. affine</i> se reportan flavonoides (tres metoxiflavonas y una charcona). En otras especies hay aceites esenciales y esencias amargas. <i>G. aff decurrens</i> DC Oxhidrilos fenólicos, cumarinas, sesquiterpenlactonas, flavonas, grupos carbonilo, carbohidratos y lactonas (Waizel y Waizel., 2009).	Son usadas para enfermedades respiratorias. <i>G. aff decurrens</i> , presenta actividad estimuladora sobre macrófagos.
<i>Heterotheca inuloides</i> Cass. (árnica)	Incluyendo Sesquiterpenos cadinane, flavonoides, fitosteroles, triterpenos, derivados del ácido benzoico y otros tipos de compuestos. los sesquiterpenos de cadineno son los principales	Antiinflamatoria, tratamiento antireumatismo, cólicos, procesos de inflamación, desordenes intestinales, diabetes (Rodríguez-Chávez, et al., 2017).

	Componentes bioactivos de <i>H. inuloides</i> con potenciales actividades farmacológicas. (Rodríguez-Chávez, et al., 2017).	
<i>Loeselia mexicana</i> (Lam.) Brand (espinosilla)	Pentahidroxilado del ácido Oleanólico, Lactonas sesquiterpénicas, Lactonas, triterpenos, esteroides, Cumarinas bis-cumarina dafnoretina cumarinasdafnoretina escopoletina y umbelliferona, flavonas, Flavonoides: quercetina, Kaempferol, Miricetina y Glycoflavones, Compuestos fenólicos, flavonoides, catequinas, antocianidinas y Quinonas, saponinas, glucósidos, alcaloides (loeselina) (Jiménez, et al., 1989; Glennie, et al., 1997; Vargas, et al., 1998; Pérez, Pérez y Zavala, 2005; Navarro-García, et al., 2007; Herrera-Ruiz, et al., 2011; Soto, et al., 2014).	Acción antifúngica (Navarro-García et al., 2007). Según Schifter y Morales, (2012) mencionan al alcaloide loeselina con acción antibacterial.
<i>Malpighia emarginata</i> DC. (nanche rojo)		Principalmente se usa como cerca viva, medicinal contra afecciones estomacales, diabetes, escorbuto y como alimento, entre otras (Morton, 1987).
<i>Marrubium vulgare</i> L. (marrubio)	Camphene, N,N- bistrimethylsilyl, α -Pinene, 1-Vinylcyclohexane, Geraniol, α -Thujone, 1,8-Cineole, Camphor, Iso menthon, Borneol β -Citronellol, Trans- caryophyllene, Citronellyl formate, Geranyl formate, α -Copaene, β -Bourbonene, α -Humulene, α -Muurolene, α -Amorphene, Nealloocimene, Germacrene- D, Neryl acetate, γ -Eudesmol. Ledene, β -bisabolene,	Contraindicado en embarazo (Waizel y Waizel, 2009). Propiedades hypoglucemica, vaso relajante, antihipertensiva, analgésica, antiinflamatoria, antioxidante, antidermatogena, antibacteriana. Kahlonche-Riachi et al. (2012) actividad

	<p>6-Cadinene, α-Agarofuran, Furan-2-one, 4-phenyltetrahydro, Geranyl tiglate, β-Cubebene, Cyclononasiloxane, octadecamethyl (Bokaeian, et al., 2014) Marrubina, fenoles ácidos, mucílago (Waizel y Waizel, 2009).</p>	<p>antibacteriana sobre <i>E. coli</i>. Además muestra actividad antibacteriana sobre <i>S. aureus</i> (Bokaeian, et al., 2014).</p>
<p><i>Nicotiana glauca</i> Graham (tabaquillo)</p>	<p>Alcaloides, saponinas, taninos, antraquininas, esteroides, flavonoides, glicosidos y glucosidos (Abdel, et al., 2011).</p>	<p>Actividad sobre <i>S. aureus</i> 72, <i>S. aureus</i> 224, <i>Bacillus cereus</i> y <i>K. pneumonia</i>. (Abdel, et al., 2011).</p>
<p><i>Pinus teocote</i> Ch.&Sch., y otras especies de coníferas/ Pinaceae (ocote)</p> <p><i>Pinus pinaster</i> Aiton</p>	<p>Contiene oleorresinas, aceites esenciales (terpenoides, principalmente: α-pineno y β-pineno, ácidos oleico y abiético, aromadendreno, hexadecanal, ledano) y turpentina. Otras especies con: ácidos ascórbico y protocatechuico; β-mirceno, β-felandreno, bornil-acetato, camfeno, cariofileno, cineol, citral, dipenteno, limoneno, pinitol, quercetina y terpineol, etc (Waizel y Waizel, 2009).</p> <p>Puede atribuirse al contenido de polifenoles según lo informado por algunos autores (Royer, Houde y Tatjana, 2010).</p>	<p>Afecciones de vías respiratorias</p> <p>Actividad antibacteriana probada sobre <i>Escherichia coli</i> con una MIC de 0.195 mg / ml y <i>S. aureus</i>. (Kahlouche-Riachi, et al., 2012).</p>
<p><i>Piper aurita</i> (Kunth) Miq. (hoja santa)</p>	<p><i>Piper auritum</i> (Diego, 2012) cuya molécula mayoritaria es el safrol y se resalta su actividad antifúngica. En <i>Piper pubinervulum</i> C. DC el aceite esencial contiene abundantemente β-cariofileno, iso-eugenol metil éter, asarona y el nerolidol. La mayoría de los componentes son sesquiterpenos oxigenados. En <i>Piper aduncum</i> (Oliveira, et al., 2013; Guerrini, et al., 2009), 1,8 cineol y dillapiol,</p>	<p>actividad antifúngica</p>

	<p><i>Piper hispidinervum</i> (Sauter, et al., 2012) el componente principal es el safrol, en <i>Piper holtonii</i> (Diego, 2012) la molécula más abundante es el apiol y se observa una muy buena actividad antifúngica, <i>Piper divaricatum</i> (Barbosa, et al., 2012) en donde se observa un elevado contenido de safrol y una buena actividad antimicrobiana, entre los estudios más importantes.</p>	
<p><i>Prunus serotina</i> (Cav.) Mc. Vaug Cav. (capulín)</p>	<p>Azúcares reductores, fenoles, aminoácidos, flavonoides, antocianidinas (cianidina 3-glucósido) (Lock, 1994; Ganoza, 2001). Se identificaron flavonoides, antocianidinas, cianidina-3-O-(6-O-α-ramnopiranosil)-β-glucopiranosido y cianidina-3-O-β-glucopiranosido como las antocianinas mayoritarias presentes en la cáscara del fruto de Capulín (Pérez., 2013).</p>	<p>Enfermedades de vías respiratorias, tos, asma. Antioxidante (Pérez., 2013).</p>
<p><i>Psidium sartorianum</i> (O. Berg) Nied. (arrayán o guayabillo)</p>	<p>Rivero-Maldonado, et al. (2013) identificaron la presencia de flavonoides, miricetina, luteonina, quercetina y apigenina. Flavonoides encontrados en la planta indican la presencia de miricetina, quercetina, leucocianidina, apigenina, luteolina y kaempferol (Torres, 2014).</p>	<p>Antifúngica (Camacho-Hernandez, et al., 2004). Los extractos hidroalcohólicos de la planta de guayaba presentan actividad biológica contra bacterias de tipo Gram negativas como: <i>E. coli</i>, <i>Salmonella typhimurium</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Espinosa-Mendoza, et al. 2012; Martínez, et al., 1997; Souza, et al. 2011). <i>E. coli</i>, <i>Salmonella</i> sp., <i>Shigella</i>, <i>Streptococcus</i>, <i>Enterococcus faecalis</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Trichophyton</i> spp y</p>

		<i>Candida albicans</i> . (Pío León, et al., 2008; Camacho - Hernández et al., 2004).
<p><i>Sambucus peruviana</i> Kunth.</p> <p><i>Sambucus mexicana</i> C. Presl ex DC.</p> <p><i>Sambucus nigra</i> L. (sauco)</p>	<p>Terpenoides, flavonoides, saponinas, alcaloides, quinonas, con mayor cantidad flavonoides, terpenoides y quininas (Jean-Pierre., 2018)</p> <p>fenoles, taninos, saponinas, triterpenoides, esteroides, aceites esenciales, taninos y flavonoides (Jean-Pierre., 2018).</p>	<p>Para resfriados, tos y neumonía se utiliza de 1 a 2 flores en infusión. Para la garganta se hierven 4 a 5 flores en 1L de agua y se realiza evaporaciones. Inflamaciones respiratorias, gastritis. Presenta efecto antibacteriano frente a <i>Streptococcus mutans</i> (Jean-Pierre., 2018)</p> <p>Actividad antibacteriana <i>S. aureus</i>, <i>E. faecium</i>, <i>C. albicans</i> y <i>P. rettgeri</i> (Jean-Pierre., 2018)</p>
<i>Schinus molle</i> L. (pirul)	Taninos, alcaloides, flavonoides, saponinas, esteroidales, esteroides, terpenos y aceite esencial. El aceite esencial presente en hojas contiene ácido behénico, bergamota, bicyclogermacreno, borneno, cadineno, cadinol, calacoreno, calamenediol, calamaneno, canfeno, carvacrol, ácido gálico, butirato de geraniol, limoneno, mirceno, ácido limoneno, ácido palmítico, entre otros (González-Alex, et al., 2009).	Actividad antibacteriana, antifúngica, antiviral. Propiedades de los aceites, antiséptico, antiespasmódico, sedante, estimulan secreción gástrica son digestivos y estomacales, estimulación uterina, antiinflamatoria en caso de cervicitis y vaginitis (González-Alex, et al., 2009).
<i>Tagetes erecta</i> L. (cempasúchil)	Alcaloides, taninos pirogalatánicos, terpenos, glucósido cardiotónicos, esteroides, flavonoides, cumarinas, saponinas y azúcares reductores (Waizel y Waizel., 2009).	Antibacteriana, antifúngica, nematocida. (Pupo, 2007; Camacho-Campos, et al., 2018; Gómez-Brisuela L., 2019).

		Fiebre, problemas epilépticos, estomacales, trastornos del hígado, sarna, tratamiento ocular, resfriados, reumatismo, bronquitis y lavado de la piel (Camacho-Campos, et al., 2018)
<i>Tagetes micrantha</i> Cav. (anís)	Sabinene, α -pinene, β -pinene, c-Ocimene, t-Ocimene, Linalool, α Terpineol, c-Tagetone, t-Tagetone, Tagetenone, Neryl acetate y eudesmol. (Zygodlo, et al., 1990).	
<i>Verbena litoralis</i> Kunth (verbena)	Presencia de Nonano, Oct-1-en-3-ol, Nonanal, 3,7-Dimetil-1,6-octadien-3-ol, Salicilato de metilo, Terpineol, Tridecano, 6,6-Dimetilciclohexa-1,3-dienilprop-1-enil cetona, Hexadecano, p-Menta-1(7),8(10)-dien-9-ol, Tetradecanal, 6,10,14-Trimetilpentadeca-2-ona, Eneicosano, Fitol, Tricosano y Pentacosano en aceites esenciales. Los extractos presentaron flavonoides, cardioativos, antracenosidos, saponinas hemolíticas, taninos catéquicos y carotenóides. En menor concentración fue detectada a presencia de aceites esenciales, cumarinas y mucilago (Quispe y Rojas., 2013).	Dolor de estómago, vómito, fiebre y tos. Antiespasmodica. (Carrizo, Palacio y Roic, 2002; Quispe y Rojas., 2013).

Antecedentes históricos del uso de *Loeselia mexicana*. (ANEXO I Cuadro 8)

De la Cruz (1964 manus. 1552) menciona a la especie con el nombre náhuatl de cuahuitztlilxochitl, y Sahagún (1830 manus. 1577) y Martínez (1969) con el nombre de huitztlilxochitl, sin embargo, no reportan su uso. Según Martínez (1969) se le conoce también con los nombres de mirto silvestre, chuparroza, huichichile, cuauchil y cuachile, reportando su uso contra fiebres, como vomitivas, purgante y para aumentar las secreciones de tipo biliar y salival (Linares-Mazari, et al., 1988).

Según Francisco Hernández en su obra del siglo XVI, el humo ahuyenta las moscas, alivia el pecho y las afecciones frías, provoca la orina, limpia el vientre conteniendo así el flujo, si lo hay. A inicios del siglo XVII, Francisco Ximenes señaló que ayuda contra las mordeduras de animales ponzoñosos, a la digestión, de curar los miembros resfriados, a mitigar los dolores nacidos de causa fría y de evacuar las heces detenidas en los intestinos (Zolla, Argueta y Mata, 2011).

En datos para la Materia Médica Mexicana, a fines del siglo XIX se retomó la información de Hernández y agregó que Mociño y Sessé la mencionaron para combatir fiebres catarrales. Quedó referida con un poderoso sudorífico, cuando no obra el sudor es un buen diurético. Como diaforético (que provoca la secreción de sudor) a veces, en otras se lleva su acción al aparato uropoiético manifestándose en otros efectos emetocatórticos (arrojar, vomitar o expulsar), determinando

vómitos y diarreas de materiales biliosos y que presentan un color verde intenso. También sirve para combatir las inflamaciones de la garganta; en baños, para combatir el reumatismo articular puerperal. Asíndola, el Dr. J. M. Vázquez consiguió la diaforesis (excesiva sudoración), cuando no se había obtenido por ninguno de los medios conocidos en aquella época (Zolla, Argueta y Mata, 2011).

En el siglo XX, según Alfonso Herrera la población le alude gran reputación para curar las fiebres en general. Paul Stanley, en la misma época señala que se utiliza como remedio para las fiebres, tiene propiedades eméticas (provoca o estimula el vómito), purgantes, diuréticas y sudoríficas (Zolla, Argueta y Mata, 2011).

Estudios previos sobre la fitoquímica de *Loeselia mexicana*.

El estudio de Glennie, et al. (1977) sobre especies representativas de la familia Polemoniaceae muestra rangos variables en los compuestos flavonoides, señalando que *Loeselia mexicana* contiene quercetin, Kaempferol y Glycoflavones. (ANEXO IV, Cuadro 11).

Jiménez, et al. (1989) identificaron un compuesto triterpeno pentahidroxilado del ácido olleanólico en las partes aéreas de la planta, en una proporción del 1% y mostró la estereoquímica del compuesto. También detectaron en las ramas, un aceite esencial, alcaloides, resina, saponinas, colorante y taninos (Zolla, Argueta y Mata, 2011).

Vargas, et al. (1998) evaluaron la propiedad antidiarreica de extractos acuoso, hexánico, clorofórmico y metanólico de *L. mexicana*, en el que

se indujo diarrea en ratones con aceite de ricino. En estos últimos, los extractos acuosos y metanólicos de *L. mexicana* promueven la disminución de este padecimiento y el extracto acuoso además, inhibe la defecación en ratones normales. Los compuestos detectados en la planta fueron flavonas y sesquiterpenos en el cribado químico del extracto acuoso.

Navarro-García, et al. (2006) compararon 10 extractos crudos de cuatro especies vegetales utilizadas en medicina tradicional para tratamiento de enfermedades infecciosas, entre las cuales está incluida *L. mexicana*. Los ensayos *in vitro* para determinar la actividad antimicrobiana con *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum*, mostraron actividad antimicrobiana probada al menos contra dos microorganismos (ANEXO III, Cuadro 10). A su vez, en el extracto metanólico de *Loeselia mexicana* se registró la mayor actividad antifúngica frente a dermatofitos (microorganismos de enfermedades de la piel).

Navarro-García, et al. (2007) aislaron bis-cumarina dafnoretina y sus precursores monoméricos escopoletina y umbelliferona de la parte aérea de la planta. El extracto etanólico crudo y la dafnoretina, mostraron un efecto ansiolítico en ratones machos ICR.

En el estudio que realizaron Navarro-García, et al. (2011) encontraron propiedades antifúngicas de las cumarinas: dafnoretina, umbelliferona y escopoletina, aisladas del extracto con diclorometano de las partes aéreas de *Loeselia mexicana*, contra tres hongos filamentosos y una levadura de importancia clínica. Infieren que esta propiedad antifúngica deriva del compuesto 7-hidroxycumarina, la cual posee un OH libre derivado de alquilados esenciales, además de mostrar efecto antibacteriano. De esta forma, los autores explican el uso de esta planta en la medicina popular para el tratamiento de diversas infecciones por hongo asociados a las enfermedades.

Herrera, et al., (2011) también reconocen la presencia de cumarinas como dafnoretina en el extracto metanólico de *L. mexicana*, pero su estudio se dirige a evaluar el efecto ansiolítico en la actividad motora de los ratones machos ICR (Cepa Albina nombrada en honor al Institute of Cancer Research en EAU).

El alcaloide Loeselina de la espinosilla, especie refererida como *Loeselia coccínea*, se menciona a finales del siglo XIX en la lista de los principios activos encontrados en las plantas mexicanas analizadas en el Instituto Médico Nacional (IMN), desde diciembre de 1892 a

noviembre de 1896. Del mismo compuesto no se vuelve a tener referencia sino hasta 2012 cuando Schifter y Morales mencionan a este compuesto al analizar la actividad científica de Francisco Río de la Loza, farmacéutico destacado del IMN (Instituto Médico Nacional) del siglo XIX. En la Memoria de la Secretaría de Fomento se describe que además de tanino y saponina de la espinosilla, se encuentra el alcaloide Leselina, el cual se presenta en agujas transparentes, incoloras, de sabor amargo; que es poco soluble en agua fría y más en caliente.

Sharma, et al. (2017) En su revisión de especies vegetales con registro de actividad antibacterial dentro de las plantas medicinales de México, señalan en la familia Polemoniaceae, únicamente a la especie *Loeselia mexicana*.

La información de los compuestos químicos identificados en *Loeselia mexicana* por diversos autores, se compiló en el siguiente cuadro sinóptico (Cuadro 4) y la síntesis histórica de *L. mexicana* en el cuadro 8 del ANEXO I.

Cuadro 4. Compuestos químicos identificados en *Loeselia mexicana* por diversos autores, agrupados por tipos de metabolitos secundarios.

Metabolitos secundarios	Clase de Metabolitos secundarios	Ruta metabólica	Tipo de extracto	Compuestos encontrados en <i>L. mexicana</i>
Terpenos	Hormonas (giberelinas, ácido abscísico y citoquininas), pigmentos o aceites esenciales.	Ácido mevalónico y ruta del metileritritol fosfato	Extracto acuoso	lactonas sesquiterpénicas (Vargas, et al., 1998; Pérez, Pérez y Zavala, 2005)
			Extracto metanólico	pentahidroxilado del ácido Oleanólico (Jiménez et al. , 1989)
			Extracto metanólico	Aceite esencial (Jiménez et al. , 1989)
			Extracto etanólico	Lactonas, triterpenos, esteroides (Soto, et al., 2014)
Compuestos fenólicos/ fenilpropanoides	Cumarinas, Flavonoides, lignina y taninos.	Ácido siquímico, Ácido gálico, Ruta del ácido malónico y ácido cinámico	Extracto de diclorometano	bis-cumarina dafnoretina y sus precursores monomericos escopoletina y umbelliferona (Navarro-García, et al., 2007)
			Extracto acuoso	Flavonas (Vargas, et al., 1998; Pérez, Pérez y Zavala, 2005)

			No especificado	flavonoides: quercetina, Kaempferol y Glycoflavones (Glennie, et al., 1977)
			Extracto acuoso	Taninos (Pérez, Pérez y Zavala, 2005)
			Extracto metanólico	Taninos (Jiménez et al., 1989); cumarinasdafno retina (Herrera-Ruíz et al.,2011)
			Extracto etanólico	Compuestos fenólicos, flavonoides, catequinas, taninos, antocianidinas y quinonas (Soto,et al., 2014)
Glicósidos	Saponinas, glicósidos cardiacos, glicósidos cianogénicos y glucosinolatos.	Vía de los isoprenoides (terpenoides) Aglicona	Extracto acuoso Extracto metanólico Extracto etanólico	Saponinas y glucósidos (Pérez, Pérez y Zavala, 2005). Saponinas (Jiménez et al., 1989) Saponinas (Soto, et al., 2014)

Alcaloides	Tirosina, ácido ornitina. triptófano, nicotínico,	Ciclo de los acidos tricarboxílicos (Aminoácidos alifáticos) y Ruta del ac. Siquimico (Aminoácidos aromáticos)	Extracto acuoso Extracto metanólico No especificado	Alcaloides (Pérez, Pérez y Zavala, 2005) Alcaloides (Jiménez et al., 1989) Alcaloides (loeselina) (Dr. Río de la Loza en el siglo XIX (Schifter y Morales, 2012))
------------	---	--	---	---

Compuestos de otras Familias de plantas medicinales presentes en *Loeselia mexicana* (ANEXO II, Cuadro 09)

Terpenos

En las partes aéreas de *L. mexicana* se identificó un compuesto triterpeno pentahidroxilado derivado del ácido oleanólico (Jiménez et al., 1989), en una proporción del 1%. El ácido oleanólico es un triterpeno natural del grupo oleanano presente en *Olea europea* (árbol de olivo) y otras plantas con fuerte actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora (Martín et al., 2012,). *O. europea* se ha usado en países mediterráneos de África y Europa como emoliente, febrífugo y tónico, para infecciones urinarias y de la vejiga, para dolores de cabeza, así como una terapia para el dolor inflamatorio (Dold y Cocks, 1999). Derivados sintéticos de triterpenoides oleananos, basados en ácido oleanólico, presentan actividades más potentes, que se han asociado con actividad antioxidante y vasorelajante (Rodríguez-Rodríguez et al., 2006).

Los terpenos aislados en otros reportes muestran actividad antibiótica. Según Castaño, et al. (2010) el extracto de *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) presenta daño a la bacteria *S. aureus*, esta puede derivar de la desestabilización de la bicapa lipídica debido a la interacción de los terpenos presentes en el extracto.

Sepúlveda-Jiménez, et al. (2003) reportan sesquiterpenos tales como la risitina y lubimina de la papa (*Solanum tuberosum* L.), el capsidiol del chile (*Capsicum annum* L.) y el 2,7-dihidroxicadalenol del algodón (*Gossypium hirsutum* L.) son compuestos con acción inhibitoria sobre

el factor de transcripción NF- κ B, activador de procesos inflamatorios, factor de transcripción muy especializado que reconocen secuencias específicas de ADN en la región reguladora de todos los genes. Es un factor nuclear capaz de unirse a un potencializador K de región reguladora del promotor de la cadena pesada de los genes que codifican para inmunoglobulinas.

Saroglou, et al. (2005) evaluaron *in vitro* la actividad de diez lactonas sesquiterpénicas en tres bacterias Gram-positivas y tres Gram-negativas, y señalan que todas las lactonas sesquiterpénicas probadas, además de mostrar actividad citotóxica, inhibían levemente el crecimiento de las bacterias Gram-positivas, con un efecto moderado del compuesto 2 contra *Staphylococcus aureus*, pero fueron inactivas frente a las bacterias Gram-negativas.

Kuo-Hsiung, et al. (1977) estudiando la relación entre estructura de 36 lactonas sesquiterpénicas y su actividad antimicrobiana, mostraron que el anillo beta no sustituido de ciclopentenona contribuye con una actividad antimicrobiana moderada contra las bacterias Gram-positivas; también observan una disminución de más de diez veces, en la actividad antimicrobiana cuando se sustituyó la posición beta del anillo de ciclopentenona.

Las lactonas esquiterpenicas tienen una actividad biológica (antibacteriana, antimicrobiana, antiviral, antiprotozoaria, citotóxica y anticancerígena) distintiva, debido al anillo anillo γ -lactona α , β

insaturado. Una artemisinina sesquiterpénica lactona aislada de *Artemisia annua* L. (Asteraceae), ha sido conocida como antimalárica, también se probó la actividad antiviral. La especie *Tanacetopsis mucronata* S. Koval. (Asteraceae) tiene actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Shigella flexneri*, por las dos lactonas sesquiterpénicas y derivados amino (dimetilaminoderivado), puede explicarse por la diferente posición del doble enlace en el anillo (Matejić, Šarac y Randjelovic, 2014).

En *Loeselia mexicana* se ha identificado la presencia de sesquiterpenos, moléculas que en otras especies como *Lepechinia meyeri* (Labiatae), son usadas en medicina tradicional como desinfectante para evitar contraer tuberculosis, y que Mango, et al. (1990) han identificado como guaiol, un alcohol bicíclico sesquiterpénico, constituyente de la extracción de los aceites esenciales. Sin embargo, los autores (Mango, et al., 1990) resaltan su actividad citotóxica y antitumoral, la cual se ha ligado a la presencia de grupos carbonilo conjugados que sirven como agentes alquilantes en uniones con grupos nucleofílicos de macromoléculas biológicas.

Compuestos fenólicos/ fenilpropanoides

Dentro de los compuestos fenólicos se encuentran las cumarinas, que actúan como agentes antifúngicos y antibacterianos (Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009; Navarro-García, et al., 2011).

Los flavonoides son compuestos importantes debido a que contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante (Havsteen, 1983). Por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías (Sen, et al., 2002).

Navarro, et al. (2011) asocia los compuestos cumarínicos de *L. mexicana* como responsables de la actividad antifúngica, mismos que también se han señalado con acción antibacterial en especies de otras familias, como *Rhoeo discolor* L. (sinonimia de *Tradescantia spathacea* Sw.), ejerciendo su actividad a través de la inhibición del ADN girasa (Laurin, et al., 1999). Matos (2013) reporta que la cumarina 3-(3'-metilfenil)-6-nitrocumarina presenta un halo de inhibición frente a *S. aureus* de 32 mm y una Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) de 8 µg/mL, valores comparables con la ampicilina (halo = 32 mm y MIC = 2 µg/mL), usada como compuesto de referencia.

También los compuestos fenólicos y flavonoides se encuentran en hongos como *Phellinus merrilli*, donde se ha visto una actividad bactericida probada sobre bacterias Gram-negativas y Gram-positivas mediante un extracto metanólico (Leyva, et al., 2013).

Los compuestos fenólicos se encuentra en especies de otras familias de plantas medicinales como *Kalanchoe gracilis* (Crassulaceae) (Liu, et al.,1989), *Psidium guajava* (Myrtaceae), *Pithecoctenium cynanchoides* (Bignoniaceae), *Solidago chilensis* (Asteraceae), *Senna aphylla* (Fabaceae), *Larrea cuneifolia* y *Larrea divaricata* (Zygophyllaceae) (Ruiz y Betancourt, 2014), en las que se ha probado su acción antibacteriana en extractos polares contra bacterias de tipo Gram-negativas como *K. pneumoniae* y *E. coli*, en estos extractos polares con la presencia de flavonoides como quercetina, Kaempferol y 7-hidroxycoumarina (Liu, et al.,1989; Zampini, Cudmani e Isla, 2007), compuestos similares reportados en *Loeselia mexicana* los cuales podrían estar implicados en el efecto antibacteriano (Glennie, et al., 1977; Vargas, et al., 1998; Pérez, Pérez y Zavala, 2005).

Taninos

Los flavonoides y taninos son los principales constituyentes fenólicos presentes en extractos de plantas (Ainsworth y Gillespie, 2007). Estos grupos de compuestos presentes en *L. mexicana*, presentan características como solubilidad en agua y alcohol, y se unen a proteínas, tornándolas insolubles y resistentes, privando a los microorganismos del medio apropiado para desarrollarse (Ávalos-García y Peréz-Urria, 2009; Arango-Acosta, 2010).

Los flavonoides y compuestos fenólicos contienen un anillo aromático de areno (fenilo) con uno o más residuos de ácido hidroxilo unidos a él.

El ácido hidroxicinámico, flavonoides, antocianinas y taninos representan la mayor y más común clase de fenoles distribuidas en las plantas (Ainsworth y Gillespie, 2007). Los radicales fenólicos son menos reactivos y con un potencial reductor de electrones menor que los radicales de oxígeno. Debido a estas propiedades, los compuestos fenólicos se consideran excelentes secuestradores de radicales (Al-Abd, et al., 2015).

Desde el punto de vista farmacológico, tienen propiedades astringentes, antidiarreicas, antimicrobianas y antifúngicos (Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009; Arango-Acosta, 2010). Una de las plantas que ha mostrado esta actividad es *Melaleuca canjuputi*, a la que le atribuyen su actividad antibacteriana sobre bacterias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermitis* y *Bacillus cereus*), por la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos, sin embargo una respuesta contraria frente a bacterias Gram-negativas (Al-Abd. et al, 2015).

Alcaloides

Entre las propiedades medicinales de los alcaloides, se encuentra la acción antibacteriana y antifúngica. Por ejemplo, a los alcaloides encontrados en *Siparuna sessiliflora*, se les ha asignado el potencial antimicrobiano contra cepas Gram negativas, como *E. coli* y Gram positivas, como *S. aureus* (Peña-López, 2011). Los alcaloides alicina y alistatina han presentado una comprobada acción antibacteriana (Hunter, et al., 2005). El alcaloide harmino, del grupo de alcaloides beta-

carbolino de la semilla de *Peganum harmala*, fue el más efectivo contra las bacterias *Proteus vulgaris* (Gram-negativa) y *Bacillus subtilis* (Gram-positiva). Pero su acción se incrementó al aplicar mezclas binarias de alcaloides, sugiriendo una interacción sinérgica con las zonas de inhibición (Nenaah, 2010).

JUSTIFICACIÓN

El uso de las hierbas medicinales está profundamente arraigado en la cultura mexicana, a pesar de que numerosas ciudades y poblados en México tienen medicina occidental (clínicas, hospitales modernos), muchas personas todavía dependen de la medicina tradicional (a base de hierbas) (González Stuari, 2010).

Existe gran cantidad de plantas medicinales usadas contra malestares de la garganta, por ejemplo: *Allium cepa* L. (cebolla), *Gnaphalium oxyphyllum* DC. (gordolobo), *Pinus patula* Schltld. & Cham. (ocote), *Allium sativum* L. (ajo), *Crataegus mexicana* DC. (tejojote), *Dalea minutifolia* (Rydb.) Harms (hierba de la víbora), etc.

En el poblado de Santa Rosalía, municipio de Mineral del Monte, estado de Hidalgo, México, se tiene referencia directa del uso la espinosilla (*Loeselia mexicana*) contra diversos malestares, ente ellos las afecciones de la garganta que producen tos. En este caso, la gente recomienda preparar el té en aproximadamente 1 litro de agua

hirviendo, al cual se le agregan 4 ramas de la planta y se deja hervir por 10 minutos; se deja reposar y se toma tibio de preferencia en la noche, antes de acostarse. Produce sudoración y alivia la tos.

Los estudios bibliográficos de *Loeselia mexicana* dan cuenta de sus efectos como fungicida (resequedad del cuero cabelludo) (Navarro-García, et al., 2006; Navarro-García, et al., 2011) y como antimicrobiano (antidiarréico) (Vargas, et al., 1998). Sin embargo se cuenta con poca información generada a partir de métodos experimentales sobre su uso contra enfermedades respiratorias que la respalden.

Así mismo, *Loeselia mexicana* está incluida en la lista de la Extrafarmacopea (FARMACOPEA, 2001) la cual carece de estudios sobre su actividad antibacteriana en enfermedades de vías respiratorias en su uso popular, por lo que para tener una mejor caracterización de su potencial medicinal tradicional en el alivio de enfermedades de vía respiratorias altamente contagiosas, son necesarios estudios sobre su actividad antibacteriana.

Por lo anterior y de acuerdo a la alta incidencia de Infecciones Respiratorias Agudas (IRA) a nivel mundial y en México, diversas organizaciones como la Organización Mundial de la Salud (OMS) han vuelto la atención hacia las prácticas terapéuticas de la medicina tradicional como preventiva y curativa. Dado que en México, desde la época Colonial se señala a *L. mexicana* o espinosilla como remedio contra afecciones de vías respiratorias, y en la actualidad varios grupos

étnicos tienen múltiples usos medicinales de esta planta, algunos respaldados por estudios sobre el efecto antifúngico y antimicrobiano, sin resultados específicos para las IRA, se plantea que los extractos acuoso y etanólico de la especie, pueden disminuir las poblaciones de bacterias relacionadas con estas afecciones, a través de un efecto antimicrobiano.

El análisis de los efectos antimicrobianos de los extractos de *Loeselia mexicana*, planteado en el presente trabajo, permitirá tener información por medio de experimentos *in vitro* con cepas bacterianas, que podría relacionarse con su uso contra afecciones respiratorias. Estos resultados aportarán un método de análisis validado que podría contribuir en la conformación de una monografía regular, requerida para su inclusión en la Farmacopea Herbolaria.

HIPOTESIS

Si los extractos (acuoso y etanólico) de *Loeselia mexicana*, utilizada tradicionalmente para controlar tos, gripa y neumonía; tienen actividad antimicrobiana contra cepas asociadas a IRA (Infecciones Respiratorias Agudas), entonces se observará que el crecimiento bacteriano de las cepas cesará o disminuirá al exponerlas a estos extractos polares.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto que tienen los extractos polares de *Loeselia mexicana* sobre bacterias relacionadas con enfermedades de vías respiratorias.

Objetivos particulares

1. Describir los usos en la medicina tradicional de la planta *Loeselia mexicana* en la localidad de Santa Rosalía de Ocampo, Mineral del Monte, Hidalgo, con énfasis en su relación con enfermedades de vías respiratorias.
2. Obtener los extractos crudos polares –etanólico y acuoso- de la planta *Loeselia mexicana* y las fracciones derivadas de una separación clorofórmica.
3. Obtener el rendimiento de los extractos.
4. Establecer el rango de la concentración inhibitoria mínima de los extractos.
5. Determinar el potencial antimicrobiano *in vitro* de los extractos polares, etanólico y acuoso de *Loeselia mexicana*, frente a tres cepas bacterianas asociadas a enfermedades respiratorias mediante curvas de crecimiento bacteriano.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una búsqueda bibliográfica de la planta, se realizó una búsqueda en los herbarios MEXU y Facultad de Ciencias de la UNAM (FCME). Se realizó una primera colecta, se identificó el ejemplar con la ayuda del Taxónomo M. en C. Ramíro Cruz Durán, para posteriormente realizar la entrevista y encuesta con el ejemplar en mano.

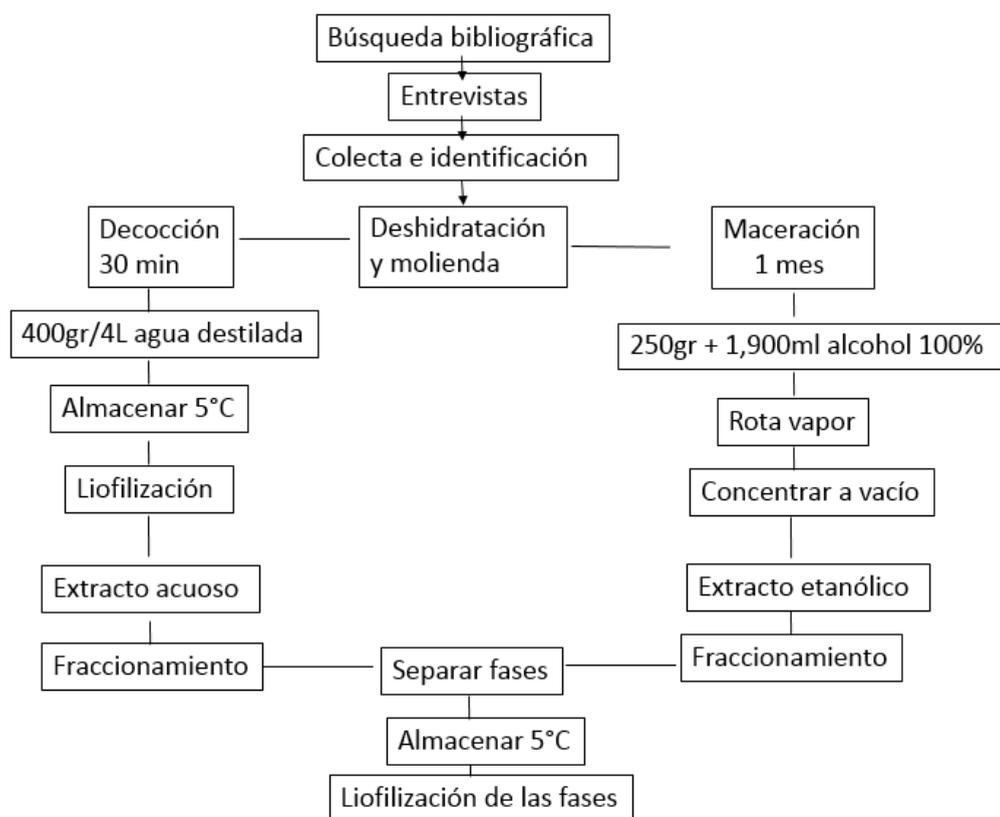


Fig. 5. Diagrama de flujo de los procedimientos que se siguieron.

Encuesta sobre los usos de *Loeselia mexicana* en la medicina tradicional en la localidad de Santa Rosalía de Ocampo, Mineral del Monte, Hidalgo.

Se realizó una visita de 3 días, del 18 al 20 de mayo del 2012, a la comunidad, con la finalidad de recopilar información sobre el conocimiento y uso en medicina tradicional, que le dan a *Loeselia mexicana* (espinosilla) y su relación con enfermedades de vías respiratorias. La información se obtuvo a través de una encuesta abierta y participativa basada en Gispert, et al. (1979), previamente diseñada (ANEXO V).

De las 122 viviendas de Santa Rosalía, Mineral del Monte, Hidalgo (Sistema para la Consulta de Información Censal SCINCE, INEGI, 2013), se aplicó la encuesta a 32 viviendas, considerando a cada una, como núcleos familiares o unidades con un cierto conocimiento tradicional, lo cual correspondió al 26.22% del poblado total.

Los resultados se procesaron y se representaron en una gráfica para obtener los usos principales de la planta y valorar la importancia del uso para enfermedades respiratorias.

La siguiente etapa del presente trabajo fue explorar las propiedades antibacterianas de *L. mexicana*, por medio de la evaluación del efecto que se tuviera frente a bacterias asociadas a enfermedades de vías respiratorias, a partir de la obtención de los extractos etanólico y acuoso de la planta, siguiendo los procedimientos tradicionales relatados por

los pobladores, a los cuales se les nombró ETA CRUDO y AC CRUDO. Con la separación clorofórmica de ambos extractos, en el caso de ETA CRUDO se lograron depurar dos fases: ETA FC y ETA FA; pero en el caso de AC CRUDO no se presentó separación, sino sólo una purificación del extracto AC FA.

Colecta de material biológico.

Se realizaron dos colectas de *L. mexicana* (Lam.) Brand, ambas de la parte aérea de la planta con flor:

- El 19 de septiembre del 2012 en la localidad de Azoyatla de Ocampo, Mineral de la Reforma, Hidalgo, a 1,127 m.s.n.m (20°07'130"N-98°40'269"W).

- El 20 de mayo de 2015, en la localidad de San Lorenzo Tlacoyucán, Delegación de Milpa Alta, Distrito Federal, a 2,640 m.s.n.m (19°17'32"N 99°03'23"W)

Las muestras herborizadas de *Loeselia mexicana* se depositaron en el Herbario Nacional de México, con sede en el Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (IBUNAM: MEXU) Folio 1399555 y en Herbario Medicinal del IMSS Folio 16000121 y 16000122.

Con la primera colecta de la parte aérea de la planta (hojas, flor y tallos delgados de la parte aérea) se establecieron parámetros relacionados con cantidades necesarias de los extractos contra las tres cepas bacterianas en estudio, intervalos medibles de absorbancia y se

probaron diferentes concentraciones mediante el método de placa para obtener el rango de la concentración mínima inhibitoria (ANEXO III, VI, VII y VIII). Este intervalo fue de 2mg/ml a 8 mg/ml, del cual se seleccionó la concentración de 4mg/ml para los siguientes ensayos (Andrews, 2001) (ANEXO VI).

Con la segunda colecta de la parte aérea de la planta se implementó el experimento sobre la evaluación de los extractos hidroalcohólicos y sus fracciones correspondientes, con la finalidad de extraer lo que comúnmente la gente se toma en una decocción, para esto se procesaron dos extractos a los que llamamos crudos, de estos extractos hidroalcohólicos se realizó una separación simple con el objetivo de concentrar el principio activo y de comenzar a separar compuestos menos polares dentro del extracto. Estos extractos con las tres cepas bacterianas en estudio.

Obtención de extractos crudos o hidroalcohólicos

Obtención de extractos crudos. El material biológico seco se molió en molino de manivela y se procedió a la obtención de los extractos crudos (Fig.5).

Extracto etanólico crudo (ETA CRUDO). (Fig.6.) Se usaron 250g de material seco y molido para su maceración en 1.9L de etanol 100%, dejándolo reposar con agitaciones esporádicas por un mes. Transcurrido ese tiempo se concentró con Rotavapor (Buchi Rotavapor R-300) y el concentrado se sometió a vacío con CaCl₂ hasta sequedad.

Extracto acuoso crudo (AC CRUDO). (Fig.6.) Se llevó a cabo la decocción de 400g de material vegetal molido en 4L de agua destilada estéril, durante 20 minutos y con agitación. De este proceso se obtuvieron 1,5L de extracto acuoso crudo, que se enfrió a 5°C, seguido de su congelación con nitrógeno líquido para su posterior liofilización (LABCONCO Freezezone 2.5 Liter Benchtop), la cual duró una semana. El extracto seco se conservó a -80°C en ultracongelador (Thermo REVCO).

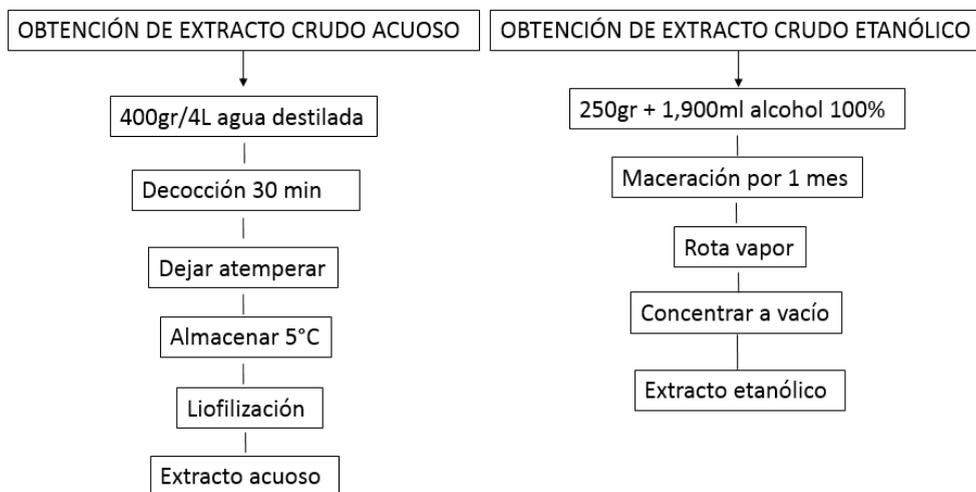


Fig. 6. Diagrama de flujo de la obtención de extractos crudos.

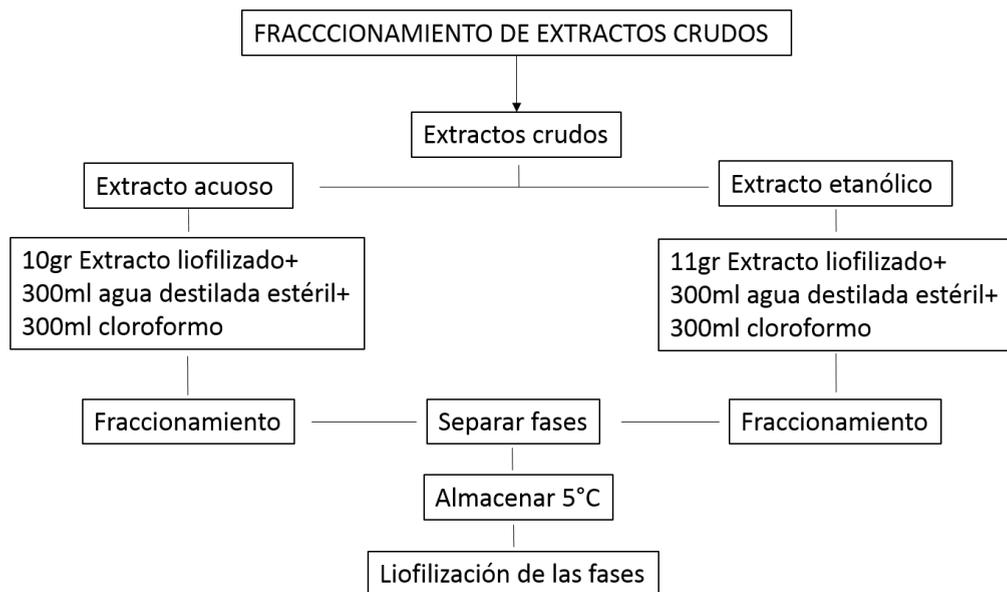


Fig. 7. Diagrama de flujo de la obtención de fracciones a partir de los extractos crudos.

Obtención de fracciones a partir de los extractos crudos.

Extracto etanólico fase clorofórmica (ETA FC) y fase acuosa (ETA FA).

Se pesaron 11g de extracto etanólico crudo (ETA CRUDO) macerado y rotavaporado, el cual se disolvió en 300ml de agua destilada estéril, se trasvasó a un embudo de separación al que se le agregaron 300ml de cloroformo (Baker). Se agitó suavemente y se dejó reposar por 3 días.

Paulatinamente se separaron las fases por su polaridad (Fig.7). Una vez separadas las fases en el embudo, se colectó primero, con pipeta, la fase menos polar, la cual dejaba restos de grasa en la pared del embudo (ETA FC). Posteriormente la fase polar se recolectó en otro recipiente, abriendo la llave del embudo (ETA FA).

Extracto acuoso fase clorofórmica (A FC) y fase acuosa (A FA).

Extracto acuoso fase acuosa (AC FA). Se pesaron 10g de extracto AC CRUDO liofilizado, se disolvieron en 300ml de agua destilada estéril y se siguió el mismo procedimiento realizado con el extracto etanólico crudo (Fig.7). En este caso se mantuvo una alta proporción de la fase AC FA y muy baja de la fase AC FC, reflejándose en su rendimiento, por lo que sólo se continuó con el extracto correspondiente a AC FA.

Las fracciones de ambos extractos crudos que se obtuvieron de la separación, se almacenaron a 5°C dos días y se congelaron con nitrógeno líquido para su posterior liofilización.

A partir de las cantidades iniciales de material biológico se calculó el rendimiento de las fracciones obtenidas.

Método de Curvas de crecimiento bacteriano.

Cepas bacterianas. Se utilizaron tres cepas bacterianas como agentes asociados con infecciones del tracto respiratorio, las cuales se obtuvieron del Cepario de la Facultad de Química, UNAM: *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

Antibióticos. Se utilizaron dos antibióticos cuyas características y acción farmacológica se presentan en el ANEXO VIII: 1) Enrofloxacin 100mg/ml, bactericida de acción acelerada que se cataloga como bactericida absoluto; y 2) Amikacina 100mg/2ml, antibiótico semisintético del grupo de los aminoglucósidos, derivado de la Kanamicina, de acción bactericida.

Diseño experimental

Se planeó un diseño experimental desbalanceado para cada bacteria, considerando los siguientes factores (Fig.8):

- Factor 1. Tratamientos extractos de *L. mexicana* con 5 niveles con 4 repeticiones (20 tubos):

ETA FA (Etanólico fracción acuosa),

ETA FC (Etanólico fracción clorofórmica),

ETA CRUDO (Etanólico crudo),

AC FA (Acuoso Fracción acuosa),

AC CRUDO (Acuoso crudo)

- Factor 2. Controles con dos repeticiones (6 tubos):

Control de crecimiento normal: crecimiento de la bacteria

Control 1 Enrofloxacin

Control 2 Amikacina

- Factor 3: Tiempo de incubación medido cada 2 horas = 12 tiempos:

Tiempo 0h	Tiempo 12h
Tiempo 2h	Tiempo 14h
Tiempo 4h	Tiempo 16h
Tiempo 6h	Tiempo 18h
Tiempo 8h	Tiempo 20h
Tiempo 10h	Tiempo 22h

Desde el enfoque del estudio matemático del crecimiento bacteriano puede abordarse de forma individualizada en cada una de las fases del crecimiento (Curvas lineales) o desde un enfoque continuo donde el crecimiento ocurre como una serie de fases sucesivas (Curva sigmoideal). Se tomo en cuenta ambas formas para poder hacer el análisis de los resultados obtenidos (Cabeza-Herrera, 2011).

Además de tomar en cuenta la absorbancia (D.O.) como población bacteriana con un crecimiento equilibrado (en el cultivo de bacterias la división celular ocurre de manera aleatoria, y

produce una mezcla de células que representan todas las fases del ciclo de división), se utilizan ecuaciones de crecimiento equilibrado donde el crecimiento bacteriano sigue una relación exponencial. Estos datos al graficar el Log₁₀ de la población en función del tiempo se obtiene como evoluciona esta población. Este crecimiento bacteriano o muerte bacteriana puede entonces ajustarse a una tendencia que comparan el crecimiento real frente a una función matemática definida en este caso a una función exponencial y por ende logarítmica, por método gráfico y estimación logarítmica (Log₁₀ o/y Ln). Se observa un crecimiento exponencial en la densidad celular, que corresponde a la fase exponencial de crecimiento. Esta fase es la más significativa en el ciclo de crecimiento de los microorganismos y se caracteriza porque los parámetros cinéticos del crecimiento (μ , k) se mantienen constantes (Cabeza-Herrera, 2011).

Los datos obtenidos de las absorbancias (datos crudos) se limpiaron con las absorbancias de los extractos centrifugados, posterior se les aplicó Log 10, fueron analizados con la prueba estadística ANOVA (simple y multivariada) para cada cepa con el objetivo de identificar si hubo o no diferencias entre los tratamientos. Además, se utilizó Análisis de Rango Múltiple para determinar diferencias en los tratamientos (Steel y Torrie, 1985; Montgomery, 2004).

Teniendo las curvas de crecimiento bacteriano, con el método gráfico de microbiología predictiva (ANEXO IX) se identificó el intervalo de la fase exponencial dentro de la cinética bacteriana (Cabeza-Herrera, 2011). También se le aplicó ANOVA simple y multivariada a los datos (absorbancias) ya limpios y transformados con Log10.

El análisis estadístico para cada cepa, se dividió en cuatro secciones:

- a) ANOVA GENERAL, que abarcaba los resultados de los cinco extractos, dos antibióticos y el crecimiento normal.
- b) ANOVA GENERAL SIN ANTIBIÓTICOS, evaluando los cinco extractos y el crecimiento normal, para evitar sesgos por la alta influencia de los antibióticos.
- c) ANOVA FASE EXPONENCIAL, evaluando el rango de crecimiento exponencial.
- d) ANOVA RANGO EXPONENCIAL SIN ANTIBIÓTICOS, considerando a los cinco extractos y el crecimiento normal.

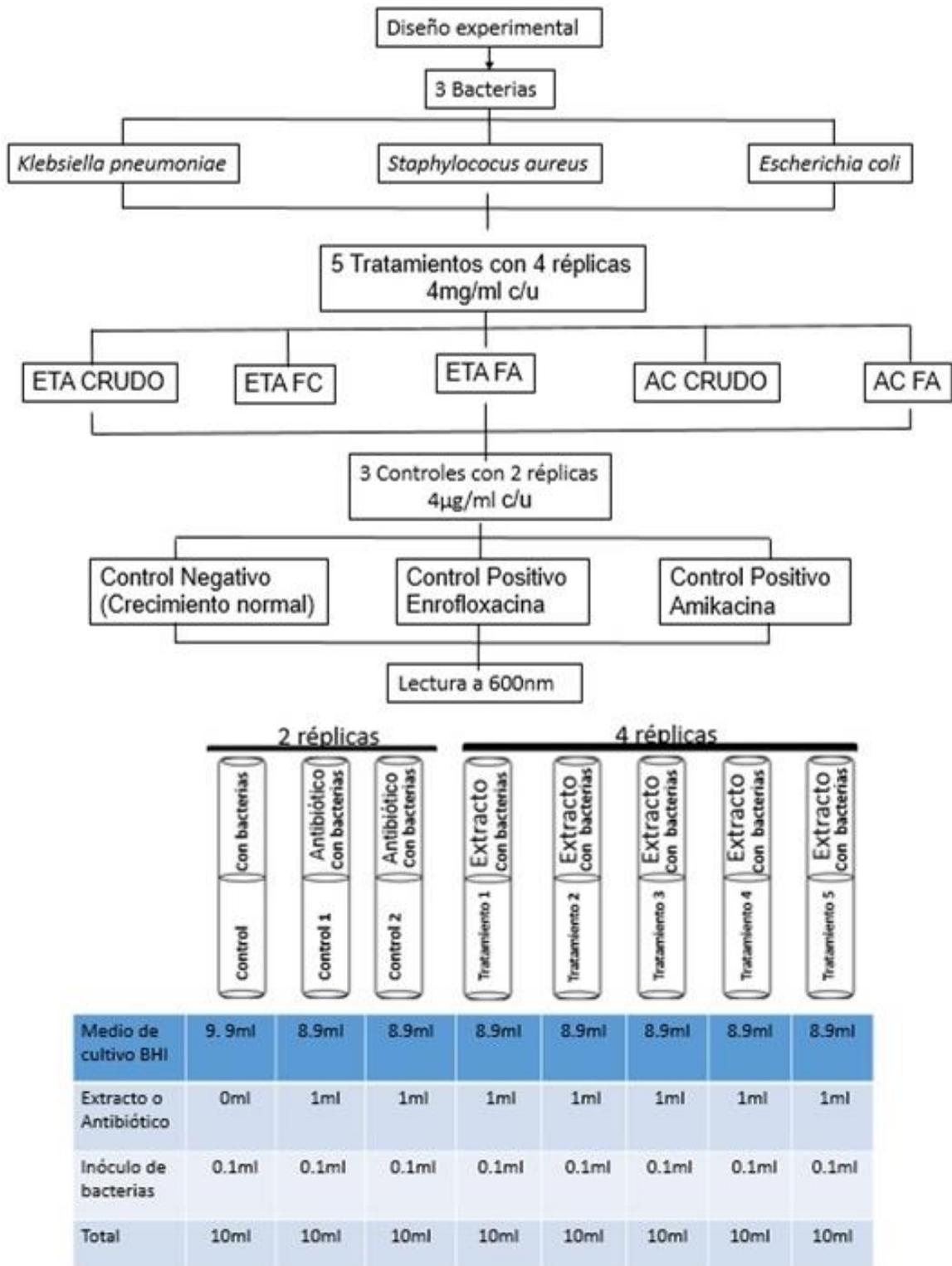


Fig. 8. Diagrama de flujo del diseño experimental.

Conducción de las curvas de crecimiento bacteriano.

1. Reactivación de cepas bacterianas.

La cepas bacterianas *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, se reactivaron cultivándolas en medio de cultivo BHI (corazón, hígado y cerebro) (BD Bioxon™) estéril, a una concentración 8g/L, en un cultivo de toda la noche (Fig.9) (overnight) a 37°C con agitación constante a 200rpm en una incubadora PROBLOT 12S (LABNET).

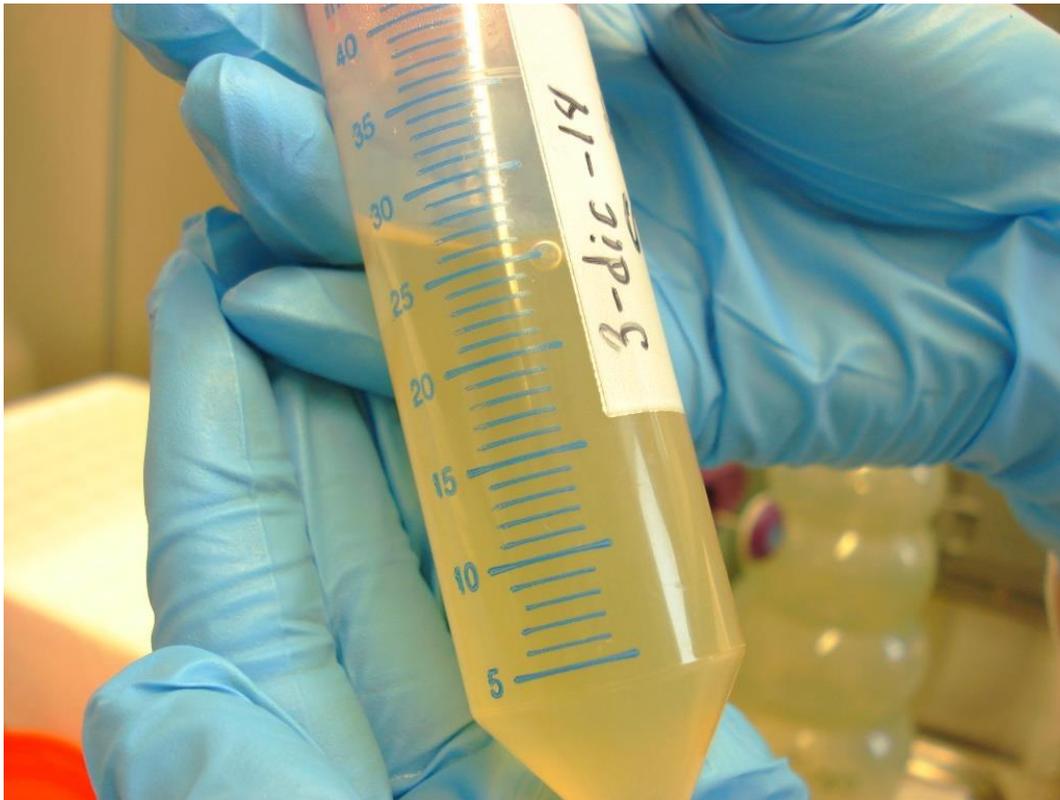


Fig. 9. Cultivo de 12 horas (overnight).

2. Preparación de soluciones stock de los extractos.

Para realizar el stock de cada extracto, se pesaron 480mg/12ml de agua destilada esterilizada, lo que da una concentración de 40 mg/ml. Cada extracto se almacenó a 5°C. (ANEXO IV)

3. Medición de Absorbancia de las soluciones stock.

Dado que los extractos contenían pigmentos (Fig.10) que podían interferir con la lectura de la absorbancia a 600nm, se centrifugaron a 14,000rpm por 20 min y se recuperó el sobrenadante. Con éste se realizó una prueba preliminar en el espectrofotómetro: leyendo el medio de cultivo con cada uno de los extractos a la concentración de 4 mg/ml, para evaluar que los pigmentos restantes no interferían con la lectura (Fig.11).

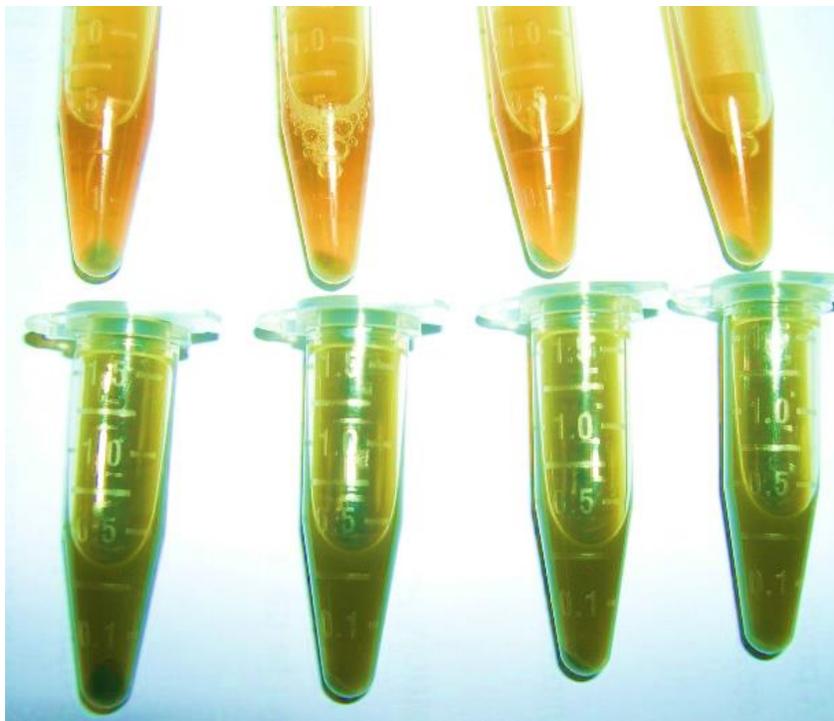


Fig. 10. Pigmentos de los extractos que interfieren con la lectura de la absorbancia.

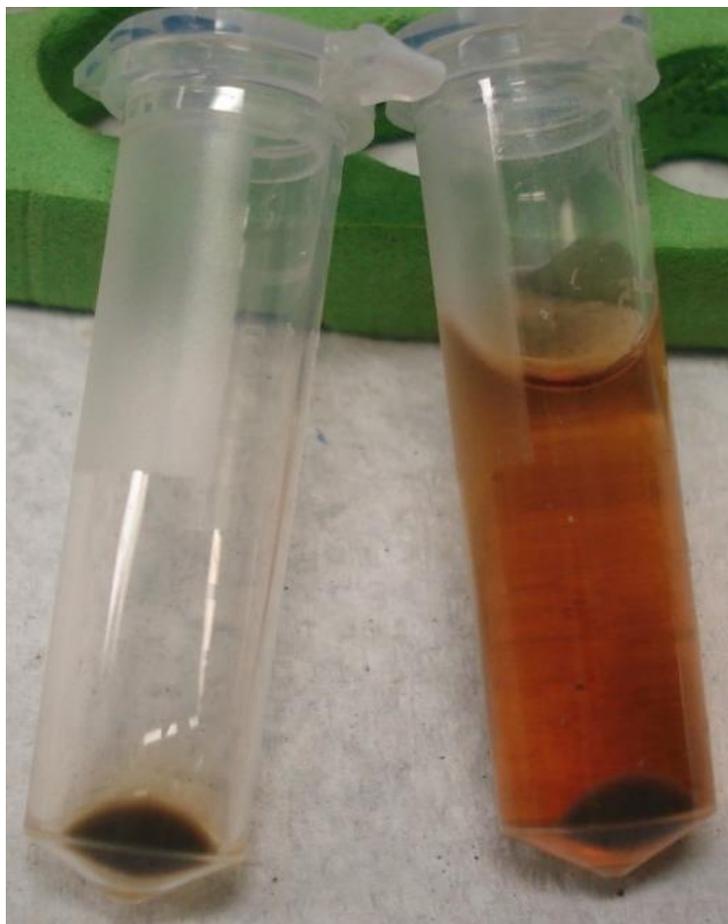


Fig. 11. Prueba de medición de absorbancia en solución stock del extracto AC FA.

4. Determinación del crecimiento bacteriano.

Para cada bacteria reactivada y de acuerdo con el diseño experimental cada tratamiento-extracto y controles se prepararon una serie de tubos Falcon de 15 ml estériles que contenían: 8.9 ml de medio de cultivo BHI, 0.1 ml inóculo bacteriano respectivo y 1 ml del extracto correspondiente o antibiótico según fuera el caso, haciendo un volumen total de 10 ml. Además se preparó el control de crecimiento normal bacteriano conteniendo: 9.9 ml de medio de cultivo BHI y 0.1 ml del inóculo bacteriano respectivo.



Fig. 12. Incubación con agitación constante de bacterias.

Todos los tubos se incubaron a 37°C con agitación constante de 200 rpm, en una incubadora PROBLLOT 12S (LABNET) durante 12 horas (Fig.12).

Utilizando un método de desfase se monitoreó el crecimiento bacteriano durante 24 horas, tomando la lectura de densidad óptica (OD) en un espectrofotómetro (BIOMATE 3 marca THERMO ELECTON CORPORATION), utilizando celdas estándar de 2 ml, en intervalos de 2 horas, manteniendo constantes las condiciones de crecimiento bacteriano (Fig.13 y 14). Empleando como blanco al medio de cultivo BHI, en las mediciones de absorbancia y para evitar la contaminación cruzada, se planeó el experimento por bacteria cada semana.

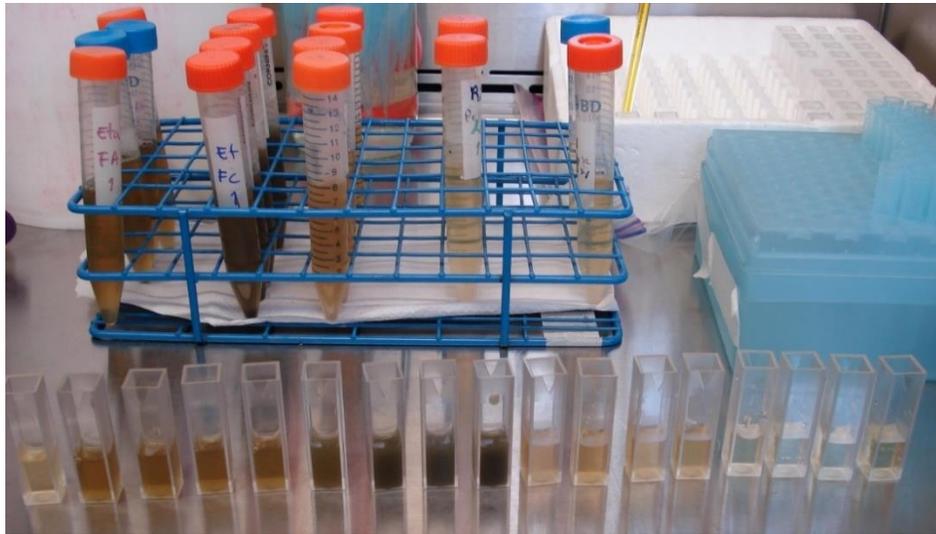


Fig. 13. Monitoreo de crecimiento bacteriano con método desfasado.

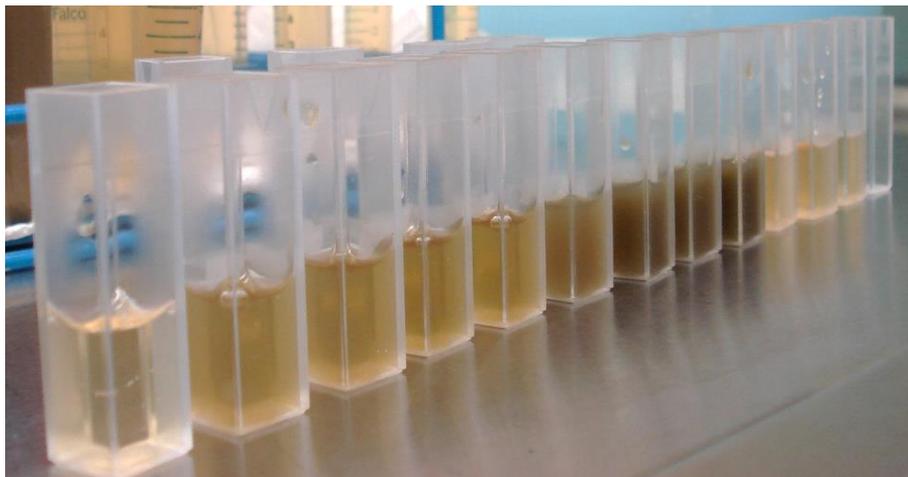


Fig. 14. Medición de absorbancia de extractos y controles.

Se realizó un análisis con las cinéticas de crecimiento bacteriano de cada una de las cepas, se evaluaron las fases que forman la cinética bacteriana de cada cepa y se centró la atención en la fase exponencial, porque es un lapso caracterizado por la duplicación celular, donde el número de nuevas bacterias que aparecen por unidad de tiempo, es proporcional a la población presente en ese momento. Por lo tanto el número de células de la población se duplica con cada período de tiempo consecutivo, dando como resultado el tipo de crecimiento exponencial (Ramírez y Castaño, 2009).

RESULTADOS

Usos de *Loeselia mexicana* en la medicina tradicional en la localidad de Santa Rosalía de Ocampo, Mineral del Monte, Hidalgo.

El análisis de la información obtenida a partir de las entrevistas abiertas a 32 núcleos familiares (ANEXO V), que correspondió al 26.22% del poblado, reveló 12 diferentes usos de *L. mexicana* en la medicina tradicional. Las principales categorías mencionadas fueron: enfermedades respiratorias, mordeduras de animales ponzoñosos y para desinflamar heridas (Figura 15). La información se obtuvo a partir de la encuesta realizada en los hogares con respuestas dadas principalmente por las personas de la tercera edad y de edad mediana, observando que este conocimiento es adquirido de forma transgeneracional.

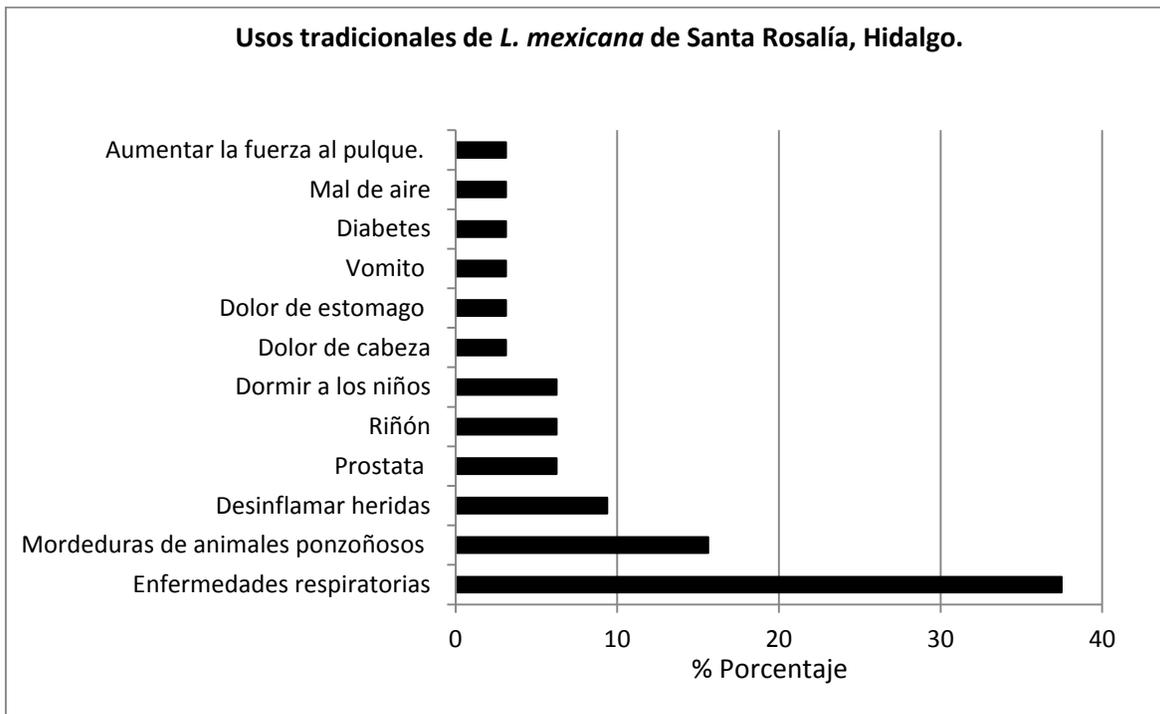


Fig. 15. Usos de *Loeselia mexicana* en medicina tradicional en el poblado Santa Rosalía, Mineral del Monte, Hidalgo.

Rendimiento de extractos y fracciones de *Loeselia mexicana*

Los extractos: acuoso y etanólico de *Loeselia mexicana*, así como sus fracciones (Cuadro 5).

Cuadro 5. Rendimiento de los extractos crudos de *Loeselia mexicana* y sus fracciones clorofórmica y acuosa. ETA CRUDO: Extracto etanólico crudo, ETA FC: Extracto etanólico fracción clorofórmica, ETA FA: Extracto etanólico fracción acuosa, AC CRUDO: Extracto acuoso, AC FC: Extracto acuoso fracción clorofórmica, AC FA: Extracto acuoso fracción acuosa.

Extractos	Planta seca y molida (g)	Fracciones (g)	Peso del extracto (g)	Rendimiento (%)
ETA CRUDO	250g/1.9 L EtOH100%		19.2067	7.68
ETA FC		11g de ETA CRUDO	3.409	1.36
ETA FA			3.6966	1.48
AC CRUDO	400g /4 L H2Odest estéril		33.6231	8.41
AC FC		10g de AC CRUDO	0.2969	0.07
AC FA			9.2489	2.31

El rendimiento de los extractos crudos fue 7% en el extracto ETA CRUDO de 250g de planta seca y molida, en el extracto AC CRUDO el rendimiento fue 8% a partir de 400g de planta seca y molida, considerando la cantidad de planta seca de los extractos tuvo mayor rendimiento el extracto ETA CRUDO. Con el fraccionamiento de los extractos, se logró la separación de dos fases: fase clorofórmica y fase acuosa.

Considerando los 11g de extracto ETA CRUDO en el fraccionamiento, el rendimiento de las fracciones ETA FC y FTA FA es del 1% aproximadamente el cual es menor comparado con el rendimiento que obtuvo en el fraccionamiento del extracto AC CRUDO el cual se originó de 10 g, obteniendo un rendimiento del 2% en la fracción AC FA, mientras que en la segunda fracción AC FC se obtuvo 0.29g de extracto con un rendimiento de 0.07%. Por lo que era necesario usar más gramos para el fraccionamiento con cloroformo para obtener mínimo unos 4g o 5g y que

permitiera realizar el experimento con esta fracción. Por lo que eran necesarios 140g de extracto AC CRUDO para obtener 4g aproximadamente de la fracción AC FC, o tal vez 200g del extracto AC CRUDO para obtener 5.938 de la fracción AC FC aproximadamente. Debido al bajo rendimiento de la fracción AC FC, sólo se consideraron cinco extractos para evaluar su potencial antimicrobiano (Fig.16): ETA CRUDO (Extracto Etanólico Crudo), ETA FA (Extracto Etanólico, Fase Acuosa), ETA FC (Extracto Etanólico, Fase Clorofórmica), AC CRUDO (Extracto Acuoso Crudo) y AC FA (Extracto Acuoso, Fase Acuosa).

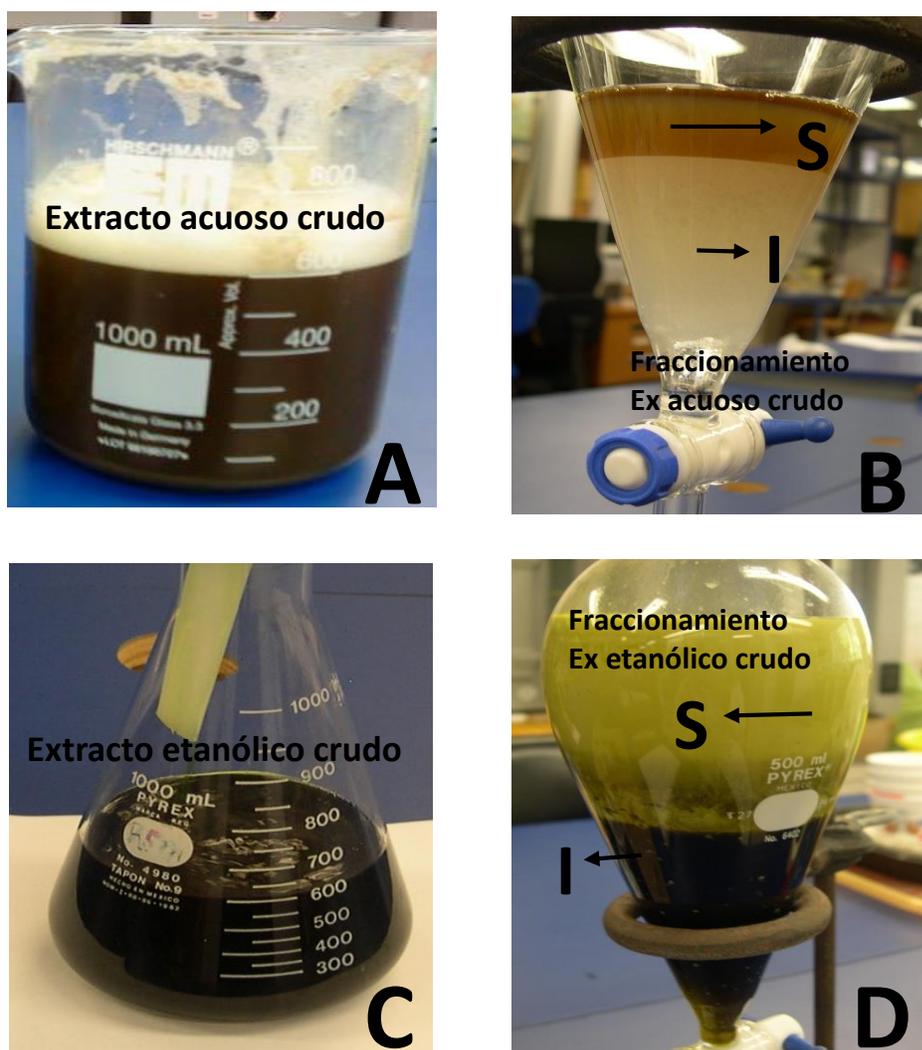


Fig. 16 . Explicación de extractos: A) Extracto acuoso crudo, B) (S) Extracto acuoso fase acuosa, (I) Extracto acuoso fase clorofórmica, C) Extracto etanólico crudo, D) (S) Extracto etanólico fase acuosa y (I) Extracto etanólico fase clorofórmica.

Efecto del extracto sobre las curvas de crecimiento bacteriano

La cinética de crecimiento bacteriano, absorbancia a través del tiempo, de las tres cepas en estudio, mostró que algunos extractos de *Loeselia mexicana* presentaron efecto inhibitorio (Fig. 17, 18 y 19), cuyos resultados se analizaron estadísticamente.

A) *Klebsiella pneumoniae*

La cinética de crecimiento bacteriano de los tratamientos ETA FC, ETA FA y ETA CRUDO mostró una disminución del crecimiento bacteriano con respecto a la curva de crecimiento normal (Fig.17) (ANEXO X).

a) ANOVA GENERAL (aplicado al total de datos de Absorbancia).

El ANOVA mostró que existen diferencias entre los ocho tratamientos ($F=118.10$; $p=0.0001$); el análisis de rango múltiple (Tukey) (Anexo) mostró que los dos antibióticos presentaron el mayor efecto inhibitorio del crecimiento bacteriano presentando valores de -1 comparado con los tratamientos. Les siguió el tratamiento ETA FC (-0.608944) y ETA CRUDO (-0.597617), los cuales fueron menores y diferentes a todos los demás, indicando que dichos tratamientos inhiben el crecimiento bacteriano. (ANEXO X cuadros 22 y 23 de ANOVA y rango múltiple).

b) ANOVA GENERAL SIN ANTIBIÓTICOS.

El ANOVA mostró que existen diferencias ($F=588.06$; $p=0.0001$). El análisis de rango múltiple (Tukey) mostró que el tratamiento con mayor efecto inhibitorio fue ETA FC, con el menor crecimiento; a su vez los tratamientos ETA FA (0.4155) y ETA CRUDO (0.476125), no presentaron diferencias entre ellos, observando un efecto inhibitorio menor a ETA FC, pero mayor a los tratamientos Control de crecimiento normal (0.515904), AC CRUDO y AC FA. (ANEXO X Cuadros 24 y 25 de ANOVA y rango múltiple).

c) ANOVA FASE EXPONENCIAL.

El ANOVA mostró que existen diferencias ($F=48.68$; $p=0.0001$). El análisis de rango múltiple mostró que los dos antibióticos (Enrofloxacin 0.0479125 y Amikacina 0.0500375) presentaron el mayor efecto inhibitorio del crecimiento bacteriano respecto al resto de los tratamientos. Éstos fueron seguidos por el tratamiento ETA

FC (0.286313), el cual fue menor y diferente al crecimiento normal (0.330538). (ANEXO X Cuadros 26 y 27 de ANOVA y rango múltiple).

d) ANOVA FASE EXPONENCIAL SIN ANTIBIÓTICOS.

El ANOVA mostró diferencias ($F=57.47$; $p=0.0001$). El análisis de rango múltiple mostró que el tratamiento ETA FC (0.286313) inhibió el crecimiento bacteriano, él cual fue diferente y menor al crecimiento normal (0.330538). (ANEXO X Cuadros 28 y 29 de ANOVA y rango múltiple).

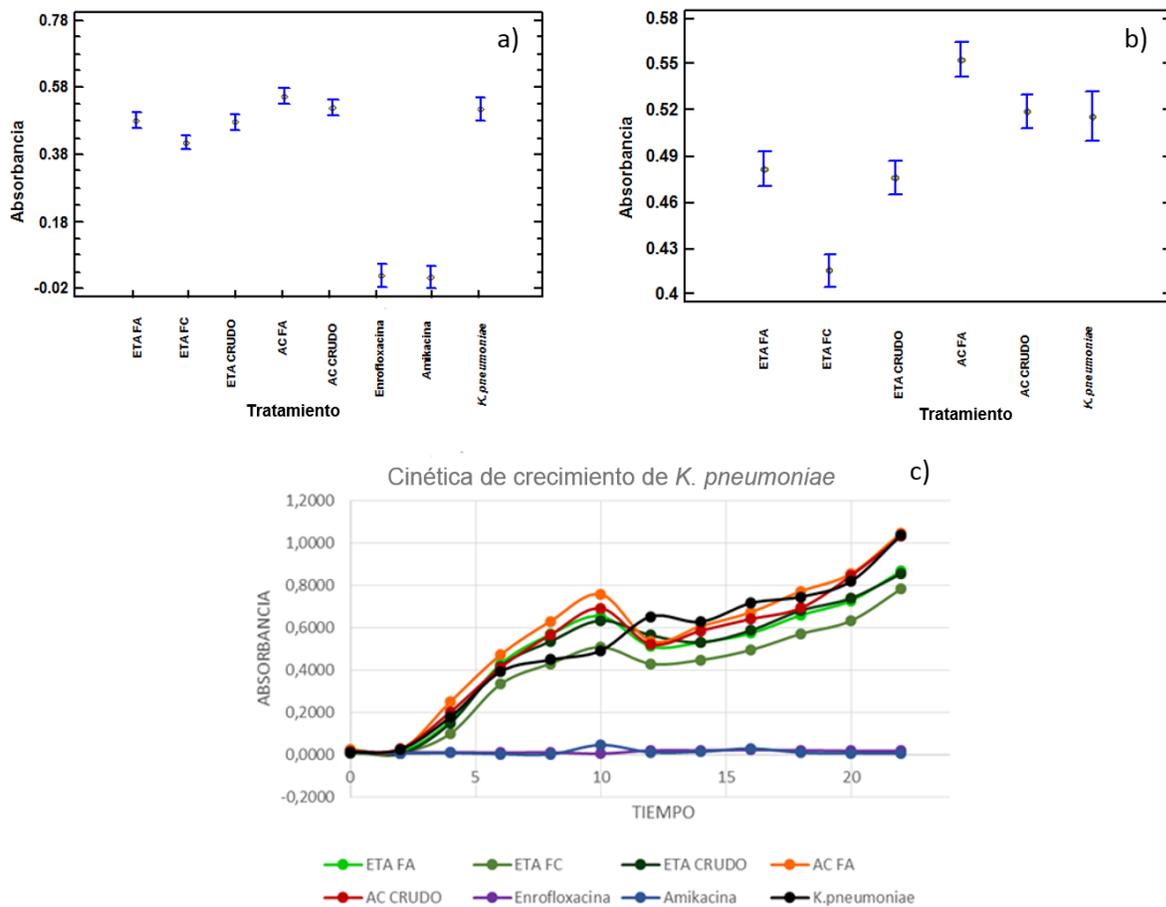


Fig. 17. Efecto de los extractos de *Loeselia mexicana* y controles, sobre el crecimiento de *Klebsiella pneumoniae*: a) Medias de absorbancia de ocho tratamientos: cinco extractos, dos antibióticos y crecimiento bacteriano. b) Medias de absorbancia sin antibióticos, c) Cinética de crecimiento bacteriano de ocho tratamientos.

B) *Staphylococcus aureus*

Aunque la cinética de crecimiento bacteriano del tratamiento ETA FC no mostró diferencias con el Control (crecimiento bacteriano normal) se observó una tendencia a ejercer un efecto inhibitorio sobre el crecimiento bacteriano (Fig.12) (ANEXO XI).

a) ANOVA GENERAL (aplicado al total de datos de Absorbancia).

El ANOVA mostró que existen diferencias entre los ocho tratamientos ($F=90.85$; $p=0.0001$). El análisis de rango múltiple (Tukey) mostró que los dos antibióticos (Enrofloxacin 0.05395, Amikacina 0.0551167) promovieron un menor crecimiento bacteriano al resto de los tratamientos. Le siguen los tratamientos ETA FC (0.276042) y Control (crecimiento normal 0.309408) que, aunque no presentaron diferencias entre sí, el tratamiento ETA FC (0.276042) mostró una tendencia a ejercer un mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento bacteriano, menor que el de los antibióticos, pero superior al efecto inhibitorio de los tratamientos ETA FA, ETA CRUDO, AC FA y AC CRUDO. (ANEXO XI Cuadros 30 y 31 de ANOVA y rango múltiple).

b) ANOVA GENERAL SIN ANTIBIÓTICOS.

El ANOVA mostró que existen diferencias entre los tratamientos ($F=257.39$; $p=0.0001$). El análisis de rango múltiple (Tukey) mostró que el tratamiento ETA FC (0.276042), fue diferente y superior en su efecto inhibitorio a los tratamientos AC FA (0.305625), Control de crecimiento normal (0.309408) y ETA CRUDO (0.322125). Aunque estos últimos no mostraron diferencias, se observó una tendencia del tratamiento AC FA (0.305625) a mostrar un efecto inhibitorio del crecimiento bacteriano (Fig. 18) (ANEXO XI Cuadros 32 y 33 de ANOVA y rango múltiple).

c) ANOVA FASE EXPONENCIAL.

El ANOVA mostró que existen diferencias entre tratamientos ($F=54.18$; $p=0.0001$). El análisis de rango múltiple mostró que los antibióticos (Enrofloxacin 0.05117, Amikacina 0.05387) presentaron el mayor efecto inhibitorio del crecimiento bacteriano respecto al resto de los tratamientos, seguidos por el tratamiento ETA FC (0.269) que tuvo un valor de crecimiento bacteriano inferior y diferente al Control de crecimiento normal. (ANEXO XI Cuadros 34 y 35 de ANOVA y rango múltiple).

d) ANOVA FASE EXPONENCIAL SIN ANTIBIÓTICOS.

El ANOVA mostró diferencias entre tratamientos ($F=86.24$; $p=0.0001$). El análisis de rango múltiple mostró que el tratamiento ETA FC (0.269) inhibió el crecimiento bacteriano, obteniendo un valor inferior y diferente al del Control de crecimiento normal (0.309408). Se observa que el tratamiento AC FA (0.2891) presenta una tendencia a ser uno de los posibles inhibidores del crecimiento (Fig. 18) (ANEXO XI Cuadros 36 y 37 de ANOVA y rango múltiple).

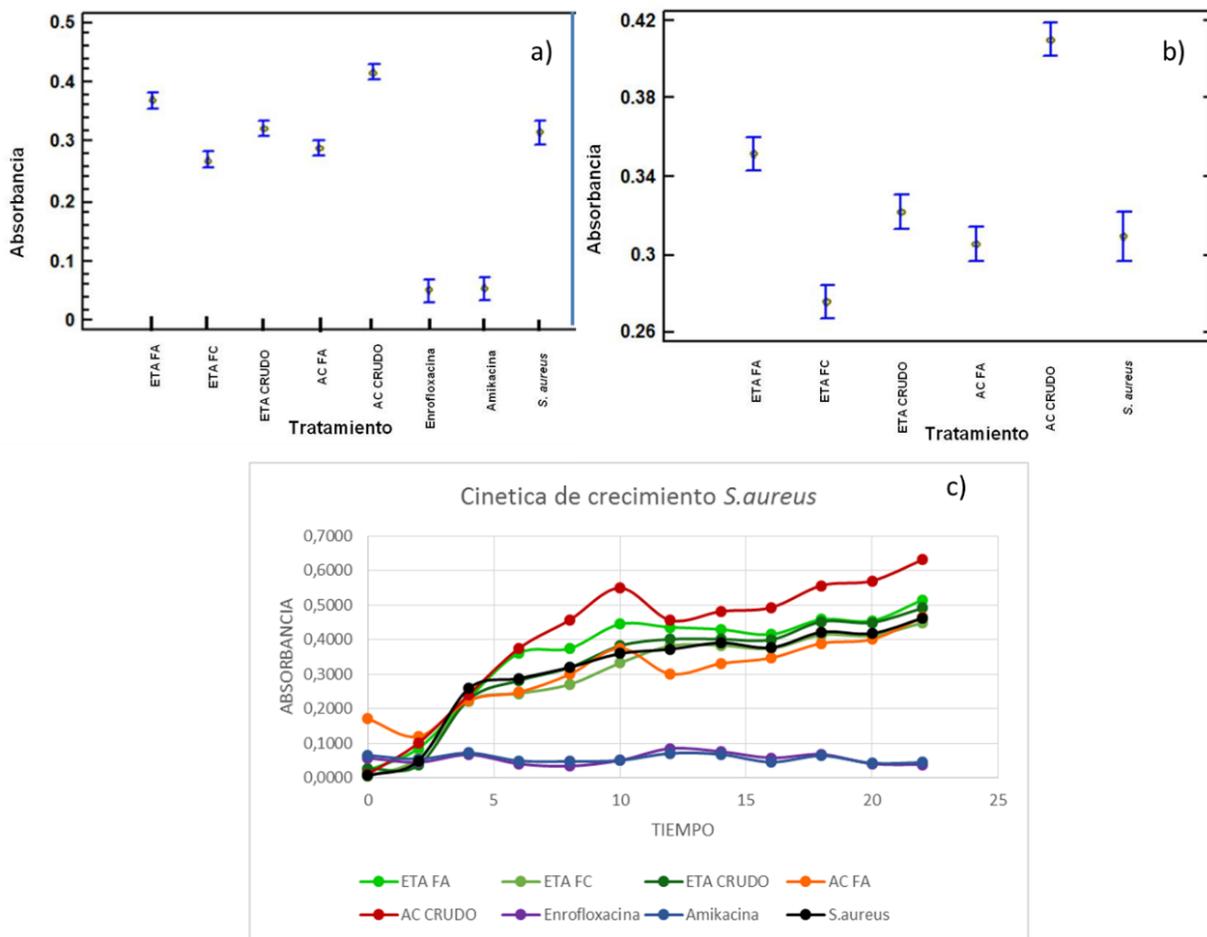


Fig. 18. Efecto de los extractos de *Loeselia mexicana* y controles, sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*: a) Medias de absorbancia de ocho tratamientos: cinco extractos, dos antibióticos y crecimiento bacteriano. b) Medias de absorbancia sin antibióticos, c) Cinética de crecimiento bacteriano de ocho tratamientos.

C) *Escherichia coli*

La cinética de crecimiento bacteriano mostró que la mayoría de los tratamientos tuvieron un efecto inhibitorio sobre el crecimiento bacteriano, al compararlo con la curva Control de crecimiento normal (Fig. 19). (ANEXO XII).

a) ANOVA GENERAL.

El ANOVA mostró que existen diferencias entre los ocho tratamientos ($F=68.47$; $p=0.0001$). El análisis de rango múltiple (Tukey) mostró que los antibióticos (Enrofloxacin 0.0133792, Amikacina 0.0086708) promovieron un menor crecimiento que el resto de los tratamientos, seguidos por los tratamientos AC CRUDO (0.270625) y ETA FC (0.289208), sin diferencias entre sí, pero con mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento bacteriano que AC FA (0.331729), tratamiento que a su vez mostró un mayor efecto inhibitorio que ETA FA (0.373896). Este último también promovió un efecto inhibitorio mayor que el tratamiento Control de crecimiento normal (0.421004). Por último, ETA FA no mostró diferencias con ETA CRUDO (0.384813), el cual tampoco presentó diferencias con el tratamiento Control de crecimiento normal (ANEXO XII Cuadros 38 y 39 de ANOVA y rango múltiple).

b) ANOVA GENERAL SIN ANTIBIÓTICOS.

El ANOVA mostró que existen diferencias entre los tratamientos ($F=130.43$; $p=0.0001$). El análisis de rango múltiple (Tukey) mostró que todos los tratamientos tuvieron valores menores y diferentes al tratamiento Control de crecimiento normal (0.421004), reflejando un efecto inhibitorio de los cinco extractos. La mayor inhibición se registró con los tratamientos AC CRUDO (0.270625) y ETA FC (0.289208), que dieron los valores más bajos, sin diferencias significativas entre ellos. Le siguió AC FA (0.331729) que fue diferente e inferior a ETA FA (0.373896) y ETA CRUDO (0.384813), sin diferencias entre ellos, los cuales fueron diferentes e inferiores al Control de crecimiento normal (ANEXO XII Cuadros 40 y 41 de ANOVA y rango múltiple).

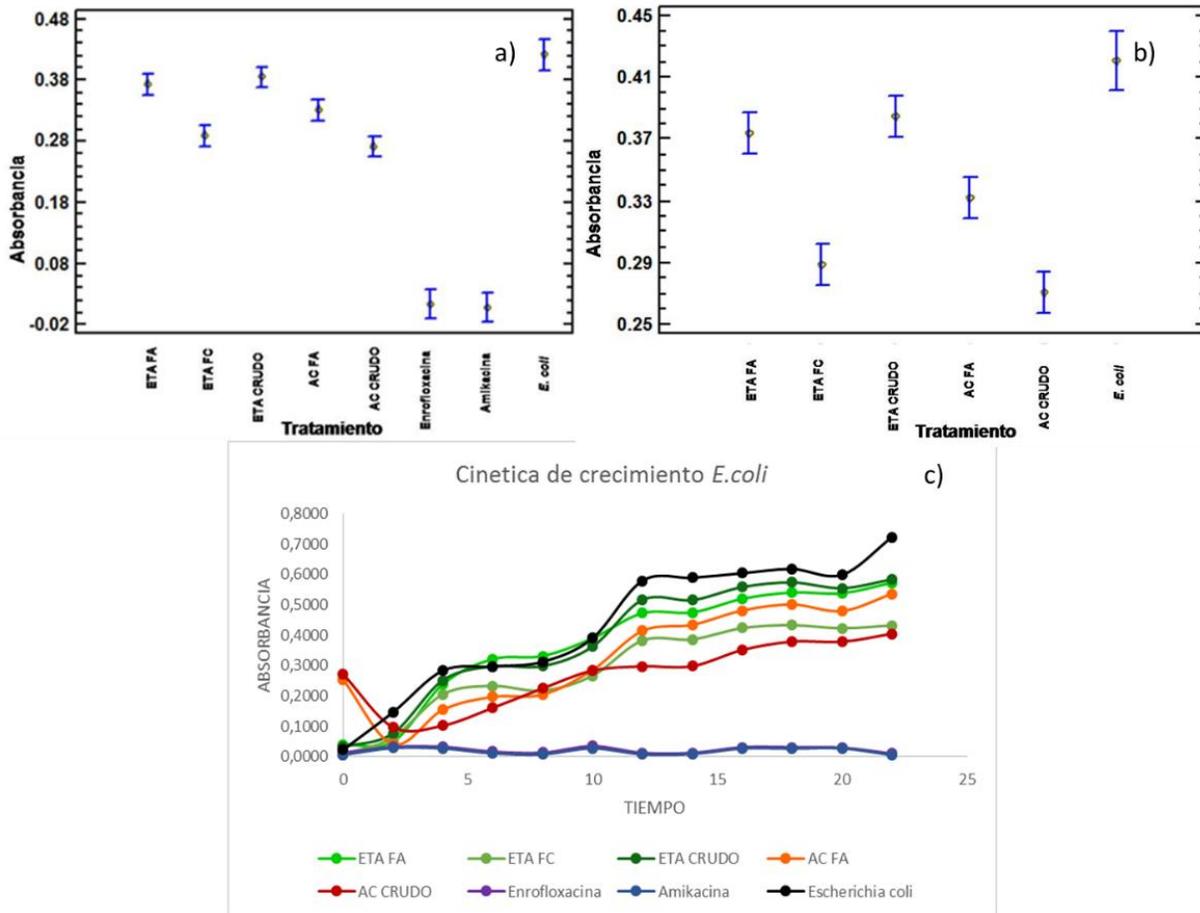


Fig. 19. Efecto de los extractos de *Loeselia mexicana* y controles, sobre el crecimiento de *Escherichia coli*: a) Medias de absorbancia de ocho tratamientos: cinco extractos, dos antibióticos y crecimiento bacteriano, b) Medias de absorbancia sin antibióticos, c) Cinética de crecimiento bacteriano de ocho tratamientos.

a) ANOVA FASE EXPONENCIAL.

El ANOVA mostró que existen diferencias entre los tratamientos ($F=55.94$; $p=0.0001$). El análisis de rango múltiple mostró que los antibióticos presentaron los mayores efectos de inhibición, con los valores más bajos (Enrofloxacin 0.0146167, Amikacina 0.0091166), seguidos por los tratamientos AC CRUDO (0.268333), ETA FC (0.288667) y AC FA (0.301167), sin diferencias entre ellos, pero a su vez con mayor inhibición y diferentes a los tratamientos ETA CRUDO, ETA FA y Control del crecimiento normal, en los cuales no hubo diferencias significativas entre ellos (ANEXO XII cuadros 42 y 43 de ANOVA y rango múltiple).

b) ANOVA FASE EXPONENCIAL SIN ANTIBIÓTICOS.

El ANOVA mostró diferencias entre los tratamientos ($F=84.80$; $p=0.0001$). El análisis de rango múltiple mostró que los tratamientos AC CRUDO (0.268333), ETA FC (0.288667) y AC FA (0.301167) promovieron mayor inhibición con los valores más bajos y sin diferencias significativas entre ellos, pero diferentes a ETA CRUDO (0.392), ETA FA (0.397583) y al Control de crecimiento normal (0.421617), sin diferencias entre estos últimos (ANEXO XII cuadros 44 y 45 de ANOVA y rango múltiple).

Las ANOVA de las curvas de crecimiento, sin considerar a los antibióticos, mostraron que el mayor valor de F correspondió al extracto ETA FC ($F= 86.24$) revelando un mayor efecto inhibitorio del crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* (Cuadro 6).

Cuadro 6. Efecto inhibitorio de los extractos polares de *Loeselia mexicana* en el crecimiento de las bacterias evaluadas, con los valores F de ANOVA.

Bacteria	ETA FC	ETA FA	ETA CRUDO	AC FA	AC CRUDO	ANOVA Cinética bacteriana	ANOVA Fase exponencial
<i>K. pneumoniae</i>	★ ★ ★	★ ★	★ ★			F=588.06	F=57.47
<i>S. aureus</i>	★ ★ ★					F=257.39	F=86.24
<i>E. coli</i>	★ ★ ★	★ ★	★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★	F=130.43	F=84.80

★ Efecto inhibitorio de los extractos polares de *Loeselia mexicana*
 Todas las ANOVA presentaron diferencias significativas ($p=0.0001$).

DISCUSIÓN

La encuesta aplicada en el poblado Santa Rosalía, Mineral del Monte, Hidalgo, reveló que la principal categoría de uso de *L. mexicana* o espinosilla, correspondió a las enfermedades respiratorias, ya que los malestares mayormente tratados con esta planta son: tos, ronquera, dolor de garganta, fiebre, producción de moco, congestión en el pecho, molestias al respirar, los cuales se consideran síntomas de padecimientos como gripe, bronquitis, neumonías, revelando la importancia de esta especie en el tratamiento de enfermedades de vías respiratorias. Con frecuencia los encuestados señalaron a la espinosilla como remedio para afecciones causadas por microorganismos, como mordedura de animales ponzoñosos (como vectores de microorganismos), afecciones del riñón, dolor de estómago, por lo que su uso mismo hace referencia a un efecto antimicrobiano, los resultados de este trabajo evaluaron un efecto inhibitorio o bacteriostático lo que explicaría el variado uso que le dan en la comunidad.

A partir de la obtención de los primeros extractos crudos a los cuales se les nombró ETA CRUDO (7.68%) y AC CRUDO (8.41%).

Con la separación clorofórmica de ETA CRUDO se lograron depurar dos fases: ETA FC (1.4%) y ETA FA (1.4%), pero en el caso del extracto AC CRUDO no se presentó la separación de dos fases, sólo una purificación del extracto AC FA, que tuvo un rendimiento del 2.3%.

En la realización de la evaluación bacteriostática de los extractos etanólicos ETA CRUDO, ETA FC, ETA FA y extractos acuosos AC CRUDO y AC FA de *Loeselia mexicana*, frente a las tres cepas bacterianas seleccionadas asociadas con enfermedades de vías respiratorias, se analizaron las curvas de crecimiento bacteriano de los extractos etanólicos y acuosos contra las curvas de crecimiento normal, esto a su vez forma cinéticas bacterianas las cuales nos brindan un patrón de comportamiento de cada bacteria como de los compuestos de la planta implicados en el efecto inhibitorio bacteriostático y el tiempo del efecto.

A) *Klebsiella pneumoniae*

Al eliminar a los antibióticos del análisis estadístico general, los tres extractos etanólicos (ETA FC, ETA FA y ETA CRUDO) presentaron una reducción del crecimiento bacteriano comparado con la curva normal de crecimiento de *K. pneumoniae*.

En la fase exponencial, que comprendió de las 6 a las 12 horas, el extracto ETA FC promovió la reducción del crecimiento bacteriano normal, incluso previo a ésta fase, desde las 4 horas, mostrando una efectividad potencial temprana. Fuera de este lapso, el efecto inhibitorio del extracto se mantuvo constante y continuo desde las 12 horas hasta las 22 horas. Los extractos ETA FA y ETA CRUDO también inhibieron el crecimiento, pero en etapas posteriores, de las 12 horas hasta las 22 horas, cuando ya había concluido la fase exponencial. Mientras que los extractos AC FA y AC CRUDO, no mostraron diferencias significativas respecto al crecimiento normal.

B) *Staphylococcus aureus*

En la curva general del crecimiento bacteriano, el extracto ETA FC presentó una reducción del crecimiento normal, iniciando su efecto desde etapas tempranas, de las 4 horas hasta las 10 horas, siendo el mejor momento en la fase exponencial, entre las 8 y las 10 horas. Aunque el extracto AC FA no mostró diferencias significativas respecto al control de crecimiento normal, se observó una tendencia a inhibir tempranamente desde las 4 horas, perdiendo un poco de potencia a las 10 horas, pero recuperando su efecto inhibitorio de las 12 horas hasta las 22 horas, comparando con el crecimiento normal de *S. aureus*. Cabe señalar que el ANOVA sin antibióticos para esta cepa, con un valor elevado de $F= 257.39$, reveló un efecto potente de la actividad inhibitoria del extracto ETA FC.

C) *Escherichia coli*

Fue la cepa más afectada por los extractos etanólicos y acuosos, ya que en la cinética del crecimiento bacteriano, los cinco extractos tuvieron un efecto reductor

del crecimiento, por debajo de los antibióticos. En el análisis estadístico, sin tomar en cuenta a los dos fármacos, resalta el efecto de AC CRUDO y ETA FC con los mejores resultados de inhibición, seguidos por AC FA y por último ETA FA Y ETA CRUDO. La inhibición del crecimiento bacteriano fue relevante desde las 2 horas hasta las 22 horas, lapso en el que está incluida la fase exponencial (de 8 a 12 horas) y momento en el cual se presentó la mejor acción inhibitoria de AC CRUDO, ETA FC y AC FA.

En las curvas bacterianas de las cepas en estudio existen lapsos donde diferentes extractos ejercen efecto inhibitorio. En general, los extractos etanólicos tuvieron un efecto temprano sobre las tres bacterias, como se observó principalmente con el extracto ETA FC, seguido por ETA FA y ETA CRUDO. Mientras que en etapas posteriores de la curva, fueron principalmente los extractos acuosos los que tuvieron efecto inhibitorio.

Los extractos polares: etanólicos y acuosos de *Loeselia mexicana* presentaron un efecto bacteriostático en diferentes etapas de la curva de crecimiento, actuando consecutivamente, como en *K. pneumoniae*, y en otras de manera conjunta como en el caso de *S. aureus* y *E. coli*. Dentro de los compuestos que se encuentren en los extractos se estaría hablando de una actividad sinérgica de los compuestos presentes en la especie durante el consumo tradicional, esto debido a que las personas ingieren una decocción, cuatro a cinco veces al día y durante cuatro a cinco días (declaraciones de familias del poblado Santa Rosalía, Hidalgo), puede que aporte un efecto inhibitorio sobre el crecimiento bacteriano continuo.

Una posibilidad de acción de *L. mexicana*, es que se encuentren sustancias químicas que inhiban el mecanismo de defensa de las bacterias y que actúen conjuntamente con los componentes con actividad terapéutica. Stermitz, et al. (2000) plantea que aquellas plantas que sintetizan un inhibidor de las bombas de resistencia a múltiples drogas (MDR) se verán beneficiadas en su supervivencia.

La posible actividad sinérgica entre los compuestos se debe a que algunos ellos actúan antes y después durante la fase exponencial, lo que podría explicar el efecto

bacteriostático de la planta, porque si los compuestos inhiben el crecimiento bacteriano antes de la fase exponencial, se estaría reduciendo la cantidad de bacterias viables en la infección. El tiempo de inhibición bacteriana también juega un papel importante porque es en el tiempo donde dejan de reproducirse, por ende baja la cantidad de bacterias viables. Si sumamos a esta posible acción sinérgica en el tiempo, el efecto bacteriostático de los compuestos después de la fase exponencial, estaríamos hablando de que las bacterias que lograron pasar ese tiempo de acción bacteriostático pasaran a otra etapa de deterioro por otros compuestos totalmente diferentes, los cuales afectan a las bacterias debido a que es el momento cinético más crítico de la vida bacteriana con todos los extractos. Es por ello que podemos sugerir que la actividad bacteriostática sinérgica es mucho más eficiente o potente contra las bacterias, la capacidad de los compuestos analizados en las cinéticas bacterianas con larga duración y los de corta duración, es lo que podría estar manteniendo el efecto bacteriostático sobre las bacterias hasta por 22 horas.

Retomando como hacen uso de la decocción en el poblado, cuatro veces por día o hasta cinco veces, ya que lo toman como agua de tiempo hasta por una semana, es muy probable que tenga un efecto bacteriostático en el tiempo, lo cual explica el consumo como remedio herbolario al que acude la gente y a su vez contribuye a reconocer este remedio herbolario tradicional mexicano.

Cabe aclarar que en el planteamiento de la investigación se contempló la evaluación del efecto de los extractos sobre las bacterias, sin llegar a la identificación (cromatografía, caracterización fitoquímica) de compuestos contenidos en ellos. Sin embargo, se realizó un análisis comparativo de los compuestos con acción antibacteriana, reportados en la bibliografía fitoquímica en otras especies, similares con los compuestos reportados en *L. mexicana*, que permite explicar la posible acción bacteriostática de los compuestos de *L. mexicana* frente a las bacterias.

Es por ello que el análisis que se realizó abarca plantas medicinales de la familia Polemoniaceae, plantas usadas en afecciones de vías respiratorias y plantas que contienen compuestos similares a los de *L. mexicana*.

Análisis comparativo del efecto que podrían estar ejerciendo los compuestos de *L. mexicana* según el efecto encontrado en otras plantas de la misma Familia.

Dentro de las plantas medicinales utilizadas en la medicina tradicional en padecimientos infecciosos (ANEXO II), es común encontrar que tienen características asépticas, antiinflamatorias, antibacterianas (bacteriostáticas) y antimicóticas en una misma especie, género o familia cuando se estudian a fondo, se encuentra que tienen una acción frente a microorganismos, las cuales permiten validar su actividad y su uso tradicional. Sharma, et al. (2017) señala a *L. mexicana* como planta medicinal con actividad antibacterial en la Familia Polemoniaceae. Es por ello que el análisis comparativo de *L. mexicana* se llevó en varios niveles los cuales nos permiten explicar su actividad bacteriostática.

La evidencia de la actividad antibacteriana de extractos etanólicos y acuosos en estudios de la Familia Polemoniacea (*Cobaea*, *Polemonium*, *Allophyllum*, *Collomia* y *Gymnosteris*) que contienen componentes químicos similares (terpenos, compuestos fenólicos, flavonoides (kaempferol, quercetina, miricetina), cumarinas, antocianidinas, saponinas) a los de *Loeselia* permiten explicar los compuestos implicados en el efecto bacteriostático. Estos compuestos asociados en diversas especies con actividad antimicrobiana en el tratamiento de padecimientos causados por infecciones, *L. mexicana* los contiene la mayoría y podrían estar involucrados en diferentes mecanismos de acción frente a las bacterias evaluadas, a través de su acción bacteriostática (impide su reproducción o crecimiento bacteriano) o una acción sinérgica bacteriostática (acción conjunta de los compuestos) (Hegnauer, 1990; Bagchi, et al., 2002; Rashid et al., 2013).

Es importante considerar que flavonoles 6-metoxilados, eupatolitina (3,5,3',4'-tetrahidroxi-6,7-dimetoxi flavona), y derivado de ramnosido son importantes marcadores taxonómicos de la Familia Polemoniacea. Glennie, et al. (1977) mencionan que *L. mexicana* contiene quercetina. Si nosotros retomamos que eupatolina es un derivado 6,7-dimetoxi de quercetina, *L. mexicana* tiene presente eupatolina en su fitoquímica. A su vez eupatolina derivado 6,7-dimetoxi de quercetina ha demostrado actividad antifúngica, antibacteriana, antioxidante y un

fuerte efecto protector sobre el daño al ADN inducido por el H₂O₂ (Smith, et al., 1971). La fitoquímica de la Familia apoya cada vez más la actividad bacteriostática de *L. mexicana*.

Eriastrum es uno de los tres géneros más afines fitoquímicamente a *Loeselia mexicana*. Muestran usos medicinales con padecimientos causados por bacterias. *Eriastrum* y *Loeselia mexicana* presentan compuestos similares: antocianidinas, eupalitin, patuletin, eupatolitin, catequinas, triterpenos, quinonas, lactonas, sesquiterpenos y compuestos fenólicos, en el caso de *Eriastrum* tienen una comprobada actividad antibacteriana (Smith y Patterson, 1981). Esto permite hacer fuerte el fundamento sobre la actividad bacteriostática que presenta en los extractos *L. mexicana* debido a la cercanía que presenta con estos géneros afines químicamente (Glennie, et al., 1977). Aunado a esto, la cercanía entre los dos géneros *Loeselia* y *Eriastrum* presentan una estrecha relación filogenética.

El segundo género es *Cantua*, muy conocida por su comprobada actividad y uso en la medicina tradicional (Soto, et al., 2014), presentan similitud químicamente (Glennie, et al., 1977), mismos que, en ambas plantas han comprobado su eficacia en la acción antibacteriana según Prosdócimo, et al. , (2010), quien menciona que el efecto antibacteriano es debido a que estos compuestos afectan la capa lipídica de la membrana citoplasmática de las bacterias, provocando una disminución del consumo de oxígeno y la alteración de la cadena respiratoria.

Los compuestos identificados en los extractos etanólicos que contiene *Cantua buxifolia* Juss. Ex Lam también se han encontrado en *L. mexicana*, como son: flavonoides, taninos, antocianidinas, lactonas, triterpenos y saponinas. Estos compuestos en *Cantua buxifolia* Juss. Ex Lam tuvieron un efecto inhibitorio sobre *E. coli* y *S. aureus* (Soto, et al., 2014), lo que permite relacionar que los compuestos presentes en los extractos de *L. mexicana* estén favoreciendo la inhibición de las bacterias *K. pneumoniae*, *S. aureus* y *E. coli*.

Del tercer género *Ipomopsis*, de los más afines a *Loeselia*, la especie *Ipomopsis aggregate* contiene cucurbitacina y biscumarina, los cuales también están presentes

en *L. mexicana*. En esta especie de *Ipomopsis* se ha reportado actividad sobre linfocitos (Arisawa, et al., 1984), la cual está relacionada con la estimulación en el sistema inmune. Entre los compuestos estimuladores del sistema inmune se encuentran compuestos fenólicos (cumarinas y flavonoides) y lactonas sesquiterpénicas, las cuales promueven una mayor resistencia de los macrófagos. Varias plantas medicinales muestran esta actividad estimuladora en el sistemas inmune, como *Viguiera sylvatica*, *Decachaeta thieleana* y *Gnaphalium aff. decurrens*, (Asteraceae), algunas otras como *Cantua buxifolia* Juss. Ex Lam (Polemoniaceae), *Lepechinia meyeri* (Labiatae), *Solanum tuberosum* L., *Capsicum annuum* L. (Solanaceae), *Gossypium hirsutum* L. (Malvaceae) (Mango, et al., 1990; Sepúlveda-Jiménez, et al., 2003; Dupuy, et al., 2008; Waizel y Waizel ., 2009).

Análisis comparativo del efecto de *L. mexicana* con plantas usadas en afecciones de vías respiratorias.

En las plantas usadas para enfermedades de vías respiratorias en la medicina tradicional tienen como característica que se usan también para afecciones primarias como dolor de estómago, tos, gripa, neumonía, desentería, etc, los cuales remiten particularmente a infecciones bacterianas. Otra característica es la presencia de compuestos similares a los grupos de compuestos de *L. mexicana*.

La presencia del alcaloide leselina en *L. mexicana* podría intervenir en el efecto antimicrobiano de afecciones de vías respiratorias como ocurre con las plantas con un uso tradicional contra estas mismas afecciones como: *Allium cepa* L. (cebolla morada), *Allium sativum* (Ajo) y *Allium fistulosum* (cebolla), donde los extractos acuosos cuentan con los alcaloides como alicina y alistatina con una comprobada acción antibacteriana (Pérez, Pérez y Zavala, 2005; Hunter, et. al., 2005; Peña, 2011).

Otros grupos de compuestos que también contiene *L. mexicana*, además de los alcaloides ya mencionados, son triterpenos, compuestos fenólicos (flavonoides), taninos y saponinas los cuales podrían estar involucrados en la actividad bacteriostática como sucede en *Bougainvillea glabra*, que tiene propiedades medicinales que se han apoyado con reportes de su actividad antibacteriana y

antiinflamatoria atribuidas a estos compuestos (Napoleón, et al., 2013; Umamaheswari, 2008; Waizel y Waizel ., 2009).

Otra referencia a la relación de compuestos químicos presentes en *L. mexicana* con actividad comprobada antibacteriana, se encuentra en las especies de *Gnaphalium chartaceum*, *Gnaphalium oxyphyllum* y *Gnaphalium aff. Decurrens*, donde se identificaron terpenoides, flavonoides, cumarinas, oxhidrilos fenólicos sesquiterpenos y lactonas. Así mismo, en *Gnaphalium aff. decurrens* ha tenido presencia estimuladora sobre macrófagos (Waizel y Waizel ., 2009), lo cual abre una nueva pregunta sobre el comportamiento químico de *L. mexicana* frente al efecto en el sistema inmune.

Como resultado de la presente investigación se propone que la efectividad de los extractos de *L. mexicana* es el resultado de la sinergia originada al actuar combinadamente los compuestos químicos con actividad antimicrobiana, en comparación con el efecto de cada uno de los compuestos en forma individual, como lo proponen Ross, et al. (2001), Busquet, et al. (2005) y Figuera-Chacín, et al. (2013). Tal es el caso de *Bauhinia variegata*, cuya acción antibacteriana y citotóxica se explica por el efecto sinérgico del conjunto de metabolitos secundarios (compuestos fenólicos, alcaloides y terpenos) y no sólo por los mecanismos ejercidos únicamente por los compuestos fenólicos (flavonoides, taninos y quinonas) (Martínez, et al., 2011).

Varias plantas medicinales usadas para afecciones de vías respiratorias muestran efecto antibacterial menciona a los flavonoides quercetina, kaemferol como responsables en: *Argemone ochroleuca*, *Artemisia ludoviciana*, *Artemisia giraldi*, *Bougainvillea spectabilis*, *Bouvardia ternifolia*, *Calendula officinalis*, *Crescentia alata*, *Prunus serótina*, *Psidium sartorianum*, mientras que otras plantas tiene flavonoides y cumarinas que son las responsables de los efectos antibacterianos *Artemisia copa*, *Bergenia crassifolia*, *Bougainvillea spectabilis*, *Bouvardia ternifolia*, *Gnaphalium aff decurrens*, *Pinus pinaster*, *Polemonium caeruleum*, *Tagetes erecta*, otras plantas como: *Bidens pilosa*, *Eucalyptus globulus*, *Gnaphalium aff decurrens*, *Heterotheca inuloides*, *Pinus teocote*, *Sambucus peruviana*, presentan terpenoides,

sesquiterpenoides, lactonas y lactonas sesquiterpénicas las que presentan actividad antibacteriana, esta evidencia de plantas usadas en afecciones de vías respiratorias corroborada por varios autores respalda el efecto bacteriostático de *L. mexicana* debido a que esta planta presenta compuestos (Kaemferol, quercetina, cumarinas, sesquiterpenos) con actividad biológica los cuales pueden estar implicados en el efecto bacteriostático que arrojaron los resultados de *L. mexicana* (Cuadro 02.).

Otra planta usada tradicionalmente en vías respiratorias es *Bergenia crassifolia* (L.) en Mongolia para el tratamiento de neumonía, problemas gástricos y afecciones de tifoidea, astringente. A la que le identificaron compuestos similares a los que contiene *L. mexicana* los cuales podrían estar implicados con el efecto bacteriostático, identificaron cumarinas, hidroquinona, varios flavonoides como kaemferol y quercetina, compuestos a los que les confieren sus efectos antibacterianos contra *Streptococcus mutans* (Ghédira y Goetz., 2017).

Loeselia mexicana puede ser una alternativa o coadyuvante en los tratamientos médicos con personas inmuno sensibles, tanto *Loeselia* y *Polemonium* tienen flavonoides del grupo A, en Rusia *Polemonium caeruleum* L. es recomendada en tratamientos médicos como expectorante en bronquitis, en pacientes con tuberculosis al parecer las condiciones catarrales de los pulmones mejoran que la tos disminuye (Shikov, et al., 2014; Smith, et al., 1971), entonces lo más probable es que *L. mexicana* tenga un posible efecto bacteriostático y una propuesta viable médica.

Análisis comparativo de *Loeselia mexicana* con los grupos de compuestos con acción antimicrobiana.

Shah, et al., (2017) señala que los flavonoides, cumarinas, taninos, terpenoides y alcaloides son compuestos muy importantes no por los efectos antimicrobianos sino también por los efectos antioxidantes. De esta forma, la actividad de los extractos polares de *L. mexicana* en el tratamiento de las enfermedades de vías respiratorias, puede estar relacionada con efectos antioxidantes y reforzamiento del sistema inmune, que bloquea la acción deletérea de las bacterias. Los flavonoides presentes, con sus grupos hidroxilo fenólicos, podrían retirar oxígeno reactivo

especialmente en forma de aniones superóxidos, radicales hidroxilos, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos (Havsteen, 1983; Sen, et al., 2002) y este efecto relacionarlo con la actividad antimicrobiana (Hernández, et al., 2000).

Los flavonoides también se han relacionado con actividad antiinflamatoria (Sen et al., 2002) y aumento en la efectividad de las células natural-killer del sistema inmunológico, como se menciona en el caso de *Gnaphalium aff. decurrens* la cual tiene actividad antibacteriana y coadyuva en el sistema inmune (Bagchi, et al., 2002).

Los reportes donde se ha probado la acción antibacteriana con extractos polares en otras familias de plantas medicinales, permiten entender el efecto bacteriostático que presenta *L. mexicana*, debido a los compuestos fenólicos: flavonoides (quercetina, Kaempferol) y 7-hidroxycumarina, los cuales son responsables de la actividad antibacteriana (Glennie, et al., 1977; Liu, et al., 1989; Vargas, et al., 1998; Pérez, Pérez y Zavala, 2005; Zampini, Cudmani e Isla, 2007; Ruiz y Betancourt, 2014).

La actividad antifúngica y antibacteriana de los compuestos fenólicos en específico de cumarinas (Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009) se relaciona con el OH libre derivado de alquilados esenciales de 7-hidroxycumarina, molécula que puede mostrar estas propiedades (Navarro, et al., 2011); el mismo autor reporta que en *L. mexicana* los compuestos cumarínicos son responsables de la actividad antifúngica. Debido a que los flavonoides y taninos son los principales constituyentes fenólicos presentes en extractos de plantas (Ainsworth y Gillespie, 2007), estos contienen un anillo aromático de areno (fenilo) con uno o más hidroxilos unidos a él. Por estas propiedades se les considera excelentes secuestradores de radicales, las cuales les atribuyen la actividad antibacteriana de *Melaleuca canjuputi* (Al-Abd et al., 2015).

Otros autores señalan que las cumarinas tienen actividad antibacteriana, tal es el caso de *Rhoeo discolor* L. donde la actividad es debido a la inhibición del ADN girasa de las bacterias frente al extracto (Laurin, et al., 1999). Es por ello que es probable que la presencia de cumarinas en los extractos de *L. mexicana* este ejerciendo un

efecto inhibitorio frente a las bacterias de este estudio y que a su vez estén permitiendo un efecto bacteriostático frente a *S. aureus*, tal como reporta Mateos (2013) con la cumarina 3-(3'-metilfenil)-6-nitrocumarina la cual tiene efecto inhibitorio frente a *S. aureus*.

Otros de los compuestos solubles en agua y alcohol presentes en *L. mexicana* son los taninos, compuestos polifenólicos que se unen a proteínas, tornándolas insolubles y resistentes, privando a los microorganismos del medio apropiado para desarrollarse. Desde el punto de vista farmacológico, tienen propiedades astringentes, antidiarreicas, antimicrobianas y antifúngicos (Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009; Arango-Acosta, 2010).

Al igual que los compuestos fenólicos, los alcaloides tienen la propiedad antibacteriana y antifúngica, debido a esto es probable que estén implicados en el efecto bacteriostático de *L. mexicana* frente a *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *E. coli*. Respalda su actividad potencial de los alcaloides el estudio de Hunter, et al. (2005), donde alicina y alistatina tienen actividad antibacteriana. El gran potencial antibacteriano que le asigna Peña-López (2011) a los alcaloides presentes en *Siparuna sessiliflora* contra *E. coli* y *S. aureus*. Tienen una gran capacidad antibacteriana por su amplia actividad inhibitoria contra bacterias Gram negativas y Gram positivas, como se menciona en el caso de la semilla de *Peganum harmala*, donde harmine del grupo de alcaloide beta-carbolina tiene actividad antibacteriana frente a *Proteus vulgaris* y *Bacillus subtilis* (Nenaah, 2010). Esta actividad antibacteriana también puede estar combinada con un potente inhibidor de las MDR, tal como pasa con el efecto terapéutico de *Berberis fremontii*, que contiene alcaloides de la berberina, la acción combinada promueve la actividad inhibitoria de la bacteria *Staphylococcus aureus* (Stermitz, et al., 2000). Esto nos permite aumentar las probabilidades de la actividad inhibitoria de *L. mexicana* con el alcaloide leselina (Schifter y Morales, 2012), esta planta contiene varios compuestos implicados con actividad antibacteriana comprobada.

Otro grupo de compuestos probablemente implicado son el grupo de lactonas sesquiterpénicas que tienen actividad antibacteriana según Saroglou, et al. (2005)

y Kuo-Hsiung, et al. (1977), sobre todo frente a bacterias Gram positivas teniendo efecto moderado contra *Staphylococcus aureus*. Su actividad antibacteriana al parecer se debe por el anillo beta no sustituido de ciclopentenona, se ve un efecto contrario cuando se sustituye la posición beta del anillo de ciclopentenona. En reportes de fitoquímica de *L. mexicana* mencionan lactonas sesquiterpénicas que podrían estar implicadas en los extractos usados en el trabajo, debido a que las lactonas sesquiterpénicas tienen un mejor efecto sobre bacterias Gram positivas, contemplando el efecto moderado que menciona Saroglou, et al. (2005), es más probable que esté actuando como bactericida en este grupo de compuesto, tal como lo muestra el valor elevado de la F en los ANOVAs del efecto de los extractos sobre el crecimiento de esta cepa. Estas moléculas también se encuentran en *Lepechinia meyeri* (Labiatae) y son usadas en medicina tradicional como desinfectante para evitar contraer tuberculosis (Mango, et al., 1990).

L. mexicana podría relacionarse con la estimulación del sistema inmune, ya que la presencia de lactonas sesquiterpénicas, además de la acción antibacteriana, contribuyen con una acción antiinflamatoria, señalada por Bork, et al. (1997), así como a mejorar al sistema inmune, promoviendo una mayor resistencia de los macrófagos, como lo mencionan Sepúlveda-Jiménez, et al. (2003) para la papa (*Solanum tuberosum* L.), el capsidiol del chile (*Capsicum annum* L.) y el 2,7-dihidroxicaldeno del algodón (*Gossypium hirsutum* L.).

Otro compuesto presente en *L. mexicana* es el ácido oleanólico, aislado por Jiménez, et al. (1989) en esta especie, que podría estar implicado en la actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora reportada para esta molécula en *O. europea* (Martín, et al., 2012).

Con base en la discusión de los resultados y la luz de los reportes bibliográficos, en la presente tesis se logró integrar una explicación del efecto bacteriostático de los extractos polares de la planta contra las bacterias de estudio, que surgió a partir del conocimiento tradicional de la especie *L. mexicana*.

Se propone que el efecto inhibitorio de los extractos polares de *L. mexicana* sobre las curvas de crecimiento bacteriano de *K. pneumoniae*, *S. aureus* y *E. coli*, se debe al conjunto de compuestos fenólicos como cumarinas y flavonoides, alcaloides, terpenos, taninos, lactonas sesquiterpénicas actuando sinérgicamente. El efecto bacteriostático se relaciona con la actividad sinérgica de los compuestos químicos presentes en la planta, debido a la combinación que permite potenciar esta acción y así beneficiar la salud (Chanda, et al., 2010).

Este efecto sinérgico de los compuestos presentes en *L. mexicana* podría permitir tratar con mayor eficacia padecimientos causados por bacterias con resistencia a antibióticos, debido a que la membrana externa de las bacterias Gram negativas, las hace patógenos mucho más difíciles de tratar que las bacterias Gram positivas. Sin embargo, en el presente trabajo, los extractos etanólicos ETA FC, ETA AC y ETA CRUDO de *L. mexicana* promovieron inhibición del crecimiento de las cepas Gram-negativas *K. pneumoniae* y *E. coli*, teniendo también en esta última bacteria inhibición en su crecimiento por los extractos acuosos AC FA y AC CRUDO. Los extractos de *L. mexicana* revelaron una amplia capacidad de inhibición del crecimiento bacteriano, a diferencia de los extractos de otras especies señaladas con propiedades antibacterianas, como las asteráceas *Eupatorium salvia* (Urzua, et al., 1998) y *Diplostephium tolimense* (Ávila, et al., 2006), donde ninguno de los compuestos extraídos inhibieron el crecimiento de bacterias Gram-negativas como *E. coli* y *K. pneumoniae*.

Las cepas evaluadas en el presente trabajo se encuentran entre los microorganismos de interés médico que presentan resistencia a antibióticos: *S. aureus* con resistencia a Metacilina (MRSA: siglas en inglés de “*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina”) y/o múltiples antibióticos (Frick, et al., 2010), y los bacilos Gram negativos como *E. coli* y *Klebsiella* sp., tienen multirresistencias a antibióticos como amoxicilina-ácido clavulánico y ciprofloxacino (Gil, 2000; Andreu y Planells, 2008).

El uso de antibióticos con compuestos aislados ha favorecido la resistencia a los medicamentos (Delcour, 2009; Marchetti, et al, 2011). Es por ello que en la

búsqueda de un control sostenible de las enfermedades respiratorias agudas con multirresistencia, se propone el uso de extractos naturales de plantas en las primeras etapas de enfermedades de vías respiratorias con vigilancia médica y en casos graves podría coadyuvar combinado con antibióticos. Considerando la experiencia de los médicos generales holandeses para el tratamiento de 4.860 pacientes de otitis media aguda sin antibióticos, quienes reportaron que no hubo ninguna meningitis y sólo un caso de mastoiditis, que cedió con antibioterapia oral (Gérvás, 2000), se propone el uso de *L. mexicana* en el tratamiento de enfermedades respiratorias agudas desde etapas tempranas, haciendo un seguimiento sin antibióticos y teniendo cuidado de que el paciente no se agrave. Los extractos vegetales de *L. mexicana* con acción antibacteriana pueden ser capaces de burlar los mecanismos de resistencia de las cepas actuales, representando una importante alternativa en el tratamiento de enfermedades respiratorias agudas infecciosas.

La efectividad del uso tradicional de *L. mexicana* se puede relacionar con el resultado de los extractos ETA FC, ETA FA, ETA CRUDO, AC FA y AC CRUDO, que mostraron un importante potencial de bioactividad, promoviendo una respuesta inhibitoria en diferentes etapas de la cinética de crecimiento, a una concentración baja de 4 mg/ml. Entre los extractos sobresale ETA FC por su efecto inhibitorio sobre *S. aureus* (análisis estadístico) dada la alta resistencia que presenta esta cepa en las infecciones en general, representando un punto de partida en la lucha contra la resistencia antimicrobiana.

De ahí el valor de retomar en la actualidad el conocimiento ancestral mexicano sobre las plantas medicinales de uso tradicional y aplicarlo como una alternativa efectiva, sobre todo en personas inmunosensibles y acompañarlos en los tratamientos contra bacterias resistentes. Como lo señalan Cowan (1999) y Navarro, et al. (2006), la fitoterapéutica con *L. mexicana* enriquece las posibilidades curativas como tratamiento preventivo, ofreciendo márgenes curativos más amplios que los fármacos sintéticos y una menor proporción de efectos secundarios.

Loeselia mexicana presenta propiedades farmacológicas en sus extractos polares que pueden ser utilizadas con fines terapéuticos en humanos. Los ensayos microbiológicos con los extractos estudiados mostraron que éstos tienen una aplicación potencial como bacteriostáticos, por lo que se sugiere profundizar en el conocimiento de las sustancias bioactivas que contienen, aislando y cuantificando los compuestos como flavonoides, cumarinas, lactona sesquiterpenica, leselina y taninos, procediendo a hacer un estudio de curvas de crecimiento bacteriano y método de placa, para establecer un uso estandarizado en humanos. Los resultados aportan bases para proponer un consumo como probable fitomedicamento que permita una terapia inicial en etapas tempranas de enfermedades de vías respiratorias causadas por microorganismos resistentes en personas inmusensibles como niños y personas mayores.

CONCLUSIONES

Se obtuvo evidencia de un posible efecto bacteriostático de los extractos (ETA FC, ETA FA, ETA CRUDO, AC FA y AC CRUDO) de *Loeselia mexicana* sobre *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, que contrasta con el uso tradicional que se le da a la planta en el poblado de Santa Rosalía, donde las personas ingieren una decocción tres o cuatro veces al día, aporta un efecto bacteriostático continuo sobre las bacterias.

Dado que los los extractos etanólicos y acuosos actúan a distintos intervalos en las curvas de crecimiento, antes y después en la fase exponencial de las bacterias, sus compuestos químicos podrían ejercer un efecto sinérgico, manteniendo un efecto bacteriostático prolongado en el tiempo.

Las personas de la comunidad continúan utilizando la planta debido al alivio que les proporciona cuando presentan enfermedades de las vías respiratorias.

PERSPECTIVAS

Proponer a la comunidad científica a realizar más estudios con el uso de extractos etanólicos, metanólicos y acuosos para la caracterización fitoquímica de la planta (tamiz, cromatografía abierta), ya que se conoce poco sobre su composición, lo cual permitirá continuar con los análisis de los principios activos de *Loeselia mexicana*.

LITERATURA

Abdel-Rahman S. M., Abd-Ellatif S. A., Deraz S. F., y Khalil A. A. 2011. Antibacterial activity of some wild medicinal plants collected from western Mediterranean coast, Egypt: Natural alternatives for infectious disease treatment. *African Journal of Biotechnology*. 10(52):10733-10743.

Águila-Gil B., Menéndez-Castillo R., González-Roque C., y Fernández-Fernández D. (2000). Extracto acuoso de *Calendula officinalis*. Estudio preliminar de sus propiedades. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 5(1), 30-31.

Aguilar A., Camacho J., Chino S., Jácquez P., y López M. 1994. *Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 1ed., Instituto Mexicano del Seguro Social. México. pp. 163-164.

Ahmad I., y Beg A. Z. 2001. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*. 74:113–123.

Ainsworth E. A., y Gillespie K. M. 2007. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. *National Protocols*. 2(4):875-7.

Álvarez-Castelló M., Castro-Almarales R., Abdo-Rodríguez A., Orta-Hernández S. D., Gómez-Martínez M. y Álvarez-Castelló M. P. 2008. Infecciones respiratorias altas recurrentes: Algunas consideraciones. *Revista Cubana de Medicina General Integral*. 24(1):1-10.

Andreu A., y Planells I. 2008. Etiología de la infección urinaria baja adquirida en la comunidad y resistencia de *Escherichia coli* a los antimicrobianos de primera línea. Estudio nacional multicéntrico. *Medicina Clínica*. 130(13):481-486.

Andrews J. M. 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 48 Supplement 1: 5-16.

Arango-Acosta G. J. 2010. Introducción al metabolismo secundario. Compuestos derivados del ácido shikimico. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

Arciniegas A., Avendaño A., Perez-Castorena A.L., Romo de Vivar A., 1997. Flavonoids from *Buddleja parviflora*. *Biochemical Systematics and Ecology* 25 (2), 185–186.

Arisawa M., Funayama S., Pezzuto J. M., Kinghorn A. D., Cordell G. A. y Farnsworth N. R. 1984. Potential Anticancer Agents XXXII. Hydroquinone from *Ipomopsis aggregate*. *Journal of Natural Products*. 47 (2):393–394.

Artículo 4° Constitucional. 1992. Adición al Artículo 4° Constitucional en Materia Indígena. Diario Oficial de la Federación del día 28 de enero de 1992. [En línea]. <https://archivos.juridicas.unam.mx/www/bjv/libros/2/957/4.pdf>

Ávalos-García A. y Pérez-Urria C. E. 2009. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*. Serie Fisiología Vegetal. 2(3):119-145.

Ávila L., Baquero E., Viña A. y Murrillo E. 2006. Actividad antibacteriana de *Diplostephium tolimense* Cuatrec. (Asteraceae) frente a *Staphylococcus aureus*. *Vitae*. 3 (1):55-60.

Ávila J. G., de Liverant J. G., Martínez A., Martínez G., Muñoz J. L., Arciniegas A., y Romo de Vivar A. (1999). Mode of action of *Buddleja cordata* verbascoside against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*. 66(1):75–78.

Bagchi D., Bagchi M., Stohs S. J., Ray S. D., Sen C. K., y Preuss H. G. 2002. Cellular Protection with Proanthocyanidins Derived from Seeds. *Ann N Y Acad Sci*, 957:260-270.

Barbosa Q. P.S., da Câmara C.A.G., Ramos C. S., Nascimento D. C.O., Lima-Filho J. V. y Guimarães E. F. 2012. Chemical composition, circadian rhythm and antibacterial activity of essential oils of *Piper divaricatum*: a new source of safrole. *Química Nova*. 35 (9) :1806-1808.

Beveridge T. J. y Graham L. L. 1991. Surface layers of bacteria. *Microbiology Reviews*. 55(4):684-705.

Biotechmind. 2018. [En línea]. <https://biotechmind.wordpress.com/tag/gram-positivo/> (10 de septiembre del 2018).

Bokaeian M., Saboori E., Saeidi S., Ali-Niazi A., Amini-Borojeni N., Khaje H. y Bazi S. 2014. Phytochemical Analysis, Antibacterial Activity of *Marrubium vulgare* L against *Staphylococcus aureus* in vitro. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. 16(10): 60-64.

Bork P. M., Scmitz M. L., Kuhnt M., Escher C., y Heinrich M. 1997. Sesquiterpene lactone containing Mexican Indian medicinal plants and pure sesquiterpene lactones as potent inhibitors of transcription factor NF-KB. *FEBS (Federation of European Biochemical Societies) Letters* 402:85-90

Breakwell D. P., Moyes R. B. y Reynolds J. 2009. Differential staining of bacteria: capsule stain. *Current Protocols in Microbiology*. 15:3l:A.3l.1–A.3l.4.

Bruneton J. 2001. *Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas Medicinales*. 2° edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.

Busquet M., Calsamiglia S., Ferret, A., Carro M. D., Kamel C. 2005. Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation. *Journal Dairy Science*. 88:4393–4404.

Cabeza-Herrera E. 2011. *Fundamentos de microbiología predictiva: Aplicaciones teóricas y prácticas*. 1 ed. Universidad de Pamplona, Colombia.

Cabrera-Aguilar R. 2010. *Plantas medicinales del municipio de Tlalnelhuayocan, Veracruz*. Tesis Doctoral (Biología). Universidad Veracruzana, Facultad de Biología. Xalapa, Veracruz.

Calderón de R., G. 1997. Familia Compositae, tribu Lactuceae. In: Rzedowski, J. y G. Calderón de Rzedowski (eds.). *Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes*. Camacho-Campos C., Pérez-Hernández Y., Valdivia-Ávila A., Ramírez-Pérez H.L.,

Camacho-Hernandez, I. L., Cisneros-Rodriguez, C., Uribe-Beltran, M. J., Rios-Morgan, A. y Delgado-Vargas, F. 2004. Antifungal activity of fruit pulp extract from *Psidium sartorianum*. *Fitoterapia* 75: 401–404.

Caro-Lozano J. y Zúñiga-Carrasco I. R. 2009. Panorama epidemiológico de la mortalidad de las neumonías en menores de cinco años en México en el periodo 2000-2007, *Rev. Enfermedades Infecciosas Pediátricas*. 22(88):102.

Carreón Moldíz J. 2005. Epidemias de gripes mortales. ¿Estamos preparados?. *Revista Mexicana de Patología Clínica*. 52(4):263-265.

Carrillo T. y Díaz A. 2005. Actividad antimalárica de extractos crudos de plantas en ratones infectados con *Plasmodium berghei*. *Revista de la Facultad de Farmacia* 47(1):2-9 Universidad de Los Andes, Venezuela.

Carrizo E., Palacio M., y Roic L. 2002. Plantas de uso medicinal en la flora de los alrededores de la ciudad de Santiago del Estero (Argentina). *Dominguezia*. 21(1): 25-32.

Castaño H. I., Ciro G., Zapata J. E., y Jiménez S. L. 2010. Actividad bactericida del extracto etanólico y del aceite esencial de hojas de *Rosmarinus officinalis* L. sobre algunas bacterias de interés alimentario. *Vitae*, 17(2):149-154.

Castro-Alcocer G. E. 2012. “Determinación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las hojas y flores de iso (*Dalea mutisii*)”. Tesis de licenciatura. Escuela superior politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Ecuador.

Chanda S., Dudhatra S., y Kaneria M. 2010. Antioxidative and antibacterial effects of seeds and fruit rind of nutraceutical plants belonging to the Fabaceae family. *Food funct.* The Royal Society of Chemistry. 1:308-315.

CONABIO. Fotos de *Loeselia mexicana* (Espinosa). Tomadas por Pedro Tenorio Lezama 2000 y Heike Vibrans 2006. [Disponible en línea en] <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/polemoniaceae/loeselia-mexicana/fichas/pagina1.htm> (revisada el 17 de septiembre de 2010).

Coico R. 2001. Gram staining. Current Protocols Immunology. Appendix 3: p. Appendix 3O.

Correa M. N. 1999. Polemoniaceae. En: M.N. Correa. Flora Patagónica, Colección Científica del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 8(6): 97-106.

Cowan M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews 12(4):564-582.

Cruz F. J A., Brito I. P., Sobral F. M. A., Sousa L. A. T., Alves E. F., Andreza MD R. S., Ferreira S. S., Costa O.R., Figueredo G.F., Tam Guedes T., Macedo O. R., Ribeiro R.G.T., Leandro MG.L., Oliveira D.M. C., Tintino R.S., Costa S.M. y Aquino E.A.P. 2015. Evaluación de la actividad antibacteriana y moduladora de los extractos metanol y hexano de la hoja de *Allium cepa*. Rev. Cienc. Salud. 14 (2): 191-200 / 197.

Damian B. L., Martinez M. R., Salgado G. R., y Martinez P. M. (2010). In vitro antioomycete activity of *Artemisia ludoviciana* extracts against *Phytophthora* spp. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 9 (2), 136-142.

Deba F., Trang X. T., Yasuda M. y Tawata S. 2008. Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. Food Control. 19(4):346-352.

DGE (Dirección General de Epidemiología). 2010. Perfil epidemiológico de la infancia en México 2010. México D.F. Junio 2011. ISBN 978-607-460-237-1.

Diego L. 2012. Chemical composition and antifungal activity of *Piper auritum* Kunth and *Piper holtonii* C. DC. against phytopathogenic fungi. Chilean Journal of Agricultural Research. 72:4.

De la Cruz, M. 1964. *Libellus de medicinalibus indorum herbis*. Manuscrito azteca de 1552. Según traducción latina de Juan Badiano. México: Instituto Mexicano del Seguro Social. México.

Delcour A. H. 2009. Outer Membrane Permeability and Antibiotic Resistance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Proteins and Proteomics*. 1794(5):808–816.

Dold A.P., y Cocks M.L. 1999. Preliminary list of Xhosa plant names from the Eastern Cape, South Africa. *Bothalia*. 29:267-292.

Dupuy O. A., Murillo R., y Bonilla J. A. 2008. Lactonas sesquiterpénicas de las plantas *Viguiera sylvatica* y *Decachaeta* (Asteraceae) modulan la producción de óxido nítrico y la fagocitosis de macrófagos RAW. *Revista de Biología Tropical*. 56(3):1063-1073.

Elliot T. S. 1999. Antibacterial resistance in the intensive care unit. Mechanisms and management. *British Medical Bulletin*. 55(1):259-276.

ENSANUT (Encuesta nacional de Salud y Nutrición). 2012. Infecciones respiratorias agudas en niños: inmunizar a tiempo y educar la respuesta. Instituto Nacional de Salud Pública.

Espinosa-Mendoza D. A., Ramírez-García E., González-Bustamante L. O., Cesáreo-Castorena K. A., Rosas-Acevedo H., y Sánchez García F. L. (2012). Actividad antibacterial de extractos de *Psidium guajava* L. y *Psidium guineense* L. *Rev. Latinoamer. Quim. (Suplemento especial)*, 39, 197.

FARMACOPEA. 2001. Farmacopea herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Secretaría de Salud. Pág.45, 47.

Fernández-Cantón S. B., Gutiérrez-Trujillo G. y Viguri-Urbe R. 2012. Principales causas de mortalidad infantil en México: tendencias recientes. *Boletín Médico Hospital Infantil de México*. 69 (2):144-148.

Fernandez J., Reyes R., Ponce H., Oropeza M., Van Calsteren M. R., Jankowski C., y Campos M. G. 2005. Isoquercitrin from *Argemone platyceras* inhibits carbachol and leukotriene D4-induced contraction in guinea-pig airways. *European Journal of Pharmacology*, 522(1-3), 108–115.

Figuera-Chacín, Y. J., Malavé-Acuña, A. del C., Cordero-Mendoza, J. J. y Méndez-Natera, J. R. 2013. Constituyentes químicos de las hierbas y especias: Efectos sobre la salud humana. *Revista Científica UDO Agrícola* 13(1):1-16.

Franco-Mora O., Aguirre-Ortega S., Morales-Rosales E. J., González-Huerta A. y Gutiérrez-Rodríguez F. 2010. Caracterización morfológica y bioquímica de frutos de tejocote (*Crataegus mexicana* DC.) de Lerma y Ocoyoacac, México. *Ciencia ergo sum*. 17(1):61-66.

Frick M. A., Moraga-Llop F. A., Bartolome R., Larrosa N., Campins M., Roman Y., Vindel A., y Figueras C. 2010. Infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina adquirido en la comunidad en niños. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 28:675-679 doi:10.1016/j.eimc.2010.01.007

García M. G. 2015. Efecto neuroprotector del extracto y fracciones de *Bouvardia ternifolia* (cav.) Schltld. División de ciencias biológicas y de la salud. Tesis doctoral. Universidad Autónoma Metropolitana, México.

GBIF. 2016. Global Biodiversity Information Facility. [En línea]. <https://www.gbif.org/species/2927928> [Consultado el 22 de agosto del 2016].

Gamboa-Alvarado R., Hernández-Castillo F., Guerrero-Rodríguez E., Sánchez-Arizpe A., y Lira-Saldívar R. (2003). Inhibición del crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora infestans* Mont. (de Bary) con extractos vegetales metanólicos de hojaseñ (*Flourensia cernua* d.c.). *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21 (1): 13-18.

Gérvás J. 2000. La resistencia a los antibióticos, un problema de salud pública. *Atención Primaria*. 25:589-96.

Ghédira K. y Goetz P. (2017). Bergénie. *Phytothérapie*. 15(6): 326–331.

Gil M. 2000. *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. *Revista Chilena de Infectología*. 17(2):145-152.

Gil-Otaiza R. 1999. Breve Diccionario de Plantas Medicinales. Colección Quirón. Los Libros de El Nacional. Caracas, Venezuela; 247 p.

Gispert M., Diego N., Jiménez J., Gómez A., Quintanilla J. M., y García L. 1979. Un nuevo enfoque en la metodología etnobotánica en México. Medicina Tradicional 7 (II):41-52.

Glennie C. W., Harborne J. B., y Williams C. A. 1977. Flavonoid diversification in the Polemoniaceae. Biochemical Systematics and Ecology. 5(2):107-115.

Gómez-Brisuela L., 2019. Propiedades fitoquímicas y antibacterianas de extractos de *Tagetes erecta* L. (Asteraceae). Rev. Cub. Quim. 31(1):53-64.

González-Saldaña N., Hernández-Orozco H. G., Castañeda-Narváez J. L., Arzate-Barbosa P., Navarrete N., Saldaña-Maldonado C., Monroy-Díaz A. y Lucas-Reséndiz E. 2007. Retrospectiva de infecciones nosocomiales en el Instituto Nacional de Pediatría 1999-2006. Acta Pediátrica de México. 28(6):253-257.

González-Stuari A. E. 2010. Uso de plantas medicinales en Monterrey, México. Revista Notulae Scientia Biologicae. 2(4):07-11.

Gruben G. J. 2004. Plant Resources of Tropical Africa. Backhuys Publishers, O. A. Denton. Publicado por Prota 2. p.114-117.

Guerrini A., Sacchetti G., Rossi D., Paganetto G., Muzzoli M., Andreotti E. y Bruni R. 2009. Bioactivities of *Piper aduncum* L. and *Piper obliquum* Ruiz & Pavon (Piperaceae) essential oils from Eastern Ecuador. Environmental toxicology and pharmacology. 27:39-48.

Havsteen B. 1983. Flavonoids. A class of natural products of high pharmacological potency. Biochem Pharmacol. 32:1141-1148.

Hernández N.E., Tereschuk M.L. y Abdala L.R. 2000. Antimicrobial activity of flavonoids in medicinal plants from Tafi del Valle (Tucuman, Argentina). Journal Ethnopharmacology. 73 (2000): 317-322.

Hegnauer R. 1990. Polemoniaceae. In: Chemotaxonomie der Pflanzen. Lehrbücher und Monographien aus dem Gebiete der Exakten Wissenschaften. 31. Birkhäuser, Basel. ISBN 978-30348-9965-9.

Herrera-Ruiz M., González-Carranza A., Zamilpa A., Jiménez-Ferrer E., Huerta-Reyes M., y Navarro-García V. M. 2011. The standardized extract of *Loeselia mexicana* possesses anxiolytic activity through the gamma-amino butyric acid mechanism. Journal of Ethnopharmacology. 138:261-267.

Hunter R., Caira M., y Stellenboom N. 2005. Thiolsulfinate allicin from garlic: inspiration for a new antimicrobial agent. Annals of the New York Academy of Sciences. 1056: 234-241.

Iannacone J., Ayala H., y Amid R. 2005. Efectos toxicológicos de cuatro plantas sobre el gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais* Motschulsky 1855 (Coleoptera: Curculionidae) y sobre el gorgojo de las galletas *Stegobium paniceum* (Linnaeus 1761) (Coleoptera: Anobiidae) en Perú. Gayana. 69(2):234-240.

INEGI: Sistema para la Consulta de Información Censal (SCINCE). 2013. <http://www.microrregiones.gob.mx/catloc/contenido.aspx?refnac=130390008> [Consulta de datos demográficos Santa Rosalía 1990-2010: 10 de agosto del 2015; hora: 8:00 pm].

Janick J., Simon J.E., Quinn J., y Beaubaire N. 1989. Borage: a source of gamma linolenic acid. Herbs, Spices and Medicinal Plants: Recent Advances in Botany, Horticulture and Pharmacology. 4:145-168.

Jiménez E. M., Velázquez A. K., Lira-Rocha A., Ortega A., Díaz E., Aumelas A., y Jankowski K. 1989. Structure of a pentacyclic triterpenyl angelate from *Loeselia mexicana*. H 2D-NMR data and stereochemistry. Can. J. Chem. 67(12):2071-2078.

Kahlouche-Riachi F., Mansour-Djalab H., Serakta-Delmi M., Djerrou Z., Hamimed S., Moulahoum T. y Hamdipacha Y. 2012. Evaluation of antibacterial activity of some wild plant of Algeria. Int J Med Arom Plant. 2(2): 275-280.

Kasper D., Fauci A., Hauser S., Longo D., Jameson J. L. y Loscalzo J. 2016. Harrison Principios de Medicina Interna. Parte 11, Sección 2. Enfermedades del Aparato Respiratorio, 19ª ed. McGraw-Hill/Interamericana de México. 1669-1727.

Kline A. 2004. Establecer la causa precisa de la dificultad respiratoria pediátrica. *Nursing*. 22(34):8-13.

Laurin P., Ferroud D., Schiol L., Klich M., Dupuis-Hamelin C., Mauvais P., Lassaing P., Bonnefoy A., y Musicki B. 1999. Structure activity relationship in two of aminoalkyl substituted coumarin inhibitors of gyrase B. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 9(19):2875-2880.

Kuo-Hsiung L., Ibuka, T., Rong-Yang W., y Geissman T. A. 1977. Structure, antimicrobial activity relationship among the sesquiterpene lactones and related compounds. *Phytochemistry* 16:1177-1181.

Leyva J. M., Pérez- Carlón J. J., González-Agular G. A., Esqueda M., y Ayala-Zavala J. F. 2013. Funcionalidad antibacteriana y antioxidante de extractos hidroalcohólicos de *Phellinus merrillii*. *Rev. Mexicana de Micología*. 37:11-17.

Linares-Mazari E., Flores-Peñañiel B., y Bye R. 1988. Selección de plantas medicinales de México. 1ed. Noriega editores. Pág.40-41.

Liñán-Cortés S., Tardío-Torío E., Escribano-Montaner A., Cobos-Barroso N., Garmendia-Iglesias M. A., Korta-Murua J., Martínez-Gómez M., Navarro-Merino M., Pascual-Sánchez M.T., Planell-Soler C., Reverte-Bover C., Sánchez-Jiménez J., Sánchez-Sánchez E., Séculi-Palacios J. L., Sequeiros-González A., Sirvent-Gómez J. H. y Tabares-Lezcano, J. M. 1999. Protocolo del tratamiento de las neumonías en la infancia. *Anales Españoles de Pediatría*. 50(2):189-195.

Liu K. C. S., Shi-Lin Y., Roberts M. F., y Phillipson J. D. 1989. Flavonol glycosides with acetyl substitution from *Kalanchoe gracilis*. *Phytochemistry*. 28(10):2813-2818.

López-Palacios S. 1984. Usos Médicos de Plantas Comunes. Talleres Gráficos Universitarios; Mérida, Venezuela; 241 p.

Lowy-Franklin D. 1998. *Staphylococcus aureus* infections. New England Journal of Medicine. 339(8):520-532.

MABA Flora (Madrean Archipelago Biodiversity Assessment). [En línea]. <http://www.madrean.org/symbflora/taxa/index.php?taxon=48896> [Consultado el 22 de agosto del 2016].

Magill Robert. 2017. Tropicos-Missouri Botanical Garden mission. www.Tropicos.org

Malbrán C. 2001. Manual de procedimientos para la determinación de sensibilidad a los antimicrobianos en bacterias aisladas de humanos. Buenos Aires: (Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. Departamento Bacteriología) INEI-ANLIS, 39-66., pp.9

Mandell G. L., Bennett J. E. y Dolin R. 2000. Principles and practices of infectious diseases. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, Edinburgh: Churchill Livingstone, Volume 1: pp. 45-72.

Mango R., Chavez J., y Lock de Ugaz O., 1990. Sesquiterpene guaiol from *Lepechinia meyenii*. Revista Latinoamericana de Química. 21: 63– 66.

Marchetti A, Felicioni L., Malatesta S., Sciarrotta M. G., Guetti L., Chella A., Viola P., Pullara C., Mucilli F., y Buttitta F. 2011. Clinical features and outcome of patients with non-smallcell lung cancer harboring BRAF mutations. Journal of Clinical Oncology. 29(26):3574–3579.

Márquez-Alonso C. y Lara-Ochoa F. 1999. Plantas medicinales de México II, composición, usos y actividad biológica. 1 ed. Instituto de Química. UNAM. Mexico, D.F. p. 77.

Martínez M. 1969. Las Plantas Medicinales de México. Quinta edición Editorial Botas. México. pp. 131-133.

Martínez M. M., Ocampo D. M., Galvis J. H., y Valencia A. 2011. Actividad antibacteriana y citotoxicidad *in vivo* de extractos etanólicos de *Bauhinia variegata* L. (Fabaceae). Revista Cubana de Plantas Medicinales 16(4):313-323.

Martínez M. J., Molina N., y Boucourt E. 1997. Evaluación de la actividad antimicrobiana del *Psidium guajava* L. (Guayaba). Revista Cubana De Plantas Medicinales. 2(1): 12-14.

Martínez-Rojano H., y Anaya-González V. 2001. Infecciones nosocomiales en un servicio de pediatría de un hospital de tercer nivel. Revista Mexicana de pediatría. 68(2):56-65.

Matejić J. S., Šarac Z., y Randjelovic V. 2014. Pharmacological Activity of Sesquiterpene Lactones. Biotechnology & Biotechnological Equipment. 24(sup1):95-100.

Matos M. J. 2013. Cumarinas: Versatilidad estructural y aplicaciones en Química Farmacéutica. Tesis para optar por el título de Doctora en Farmacia. Facultad de Farmacia Universidad de Santiago de Compostela. España.

Miranda-Velázquez L. G. 2010. Actividad hipocolesterolémica de plantas de uso etnobotánico en México. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. Nuevo León, México.

Monografía farmacéutica 2013. Ficha técnica Enrofloxacina 100 mg/ml [en línea] http://www.ecuaquimica.com.ec/pdf_ganaderia/QUINOCALFCDK.pdf (revisada el 26 de agosto del 2013).

Monografía farmacéutica 2010. Ficha técnica de AMIKACINA. Equipo de redacción de IQB (Centro colaborador de La Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica -ANMAT - Argentina) [en línea] <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/a043.htm> (revisada el 17 de septiembre de 2010).

Monografía farmacéutica 2010. Ficha técnica de AMIKACINA.Laboratorios PISA S.A DE C.V (Reg. Núm. 249M87, SSA FEAR-04363101605/RM2004/IPPA) [en línea] <http://www.medicamentos.com.mx/DocHTML/27908.htm> (revisada el 17 de septiembre de 2010).

Monografía farmacéutica 2010. Ficha técnica de Lincomicina inyectable 600mg/ml. [en línea] https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/41468/41468_ft.pdf (revisado el 17 de septiembre de 2010).

Monografía farmacéutica. Ficha técnica Cefuracet, 2016. [En línea disponible en] <http://pediamecum.es/wp-content/farmacos/Cefuroxima.pdf> (revisado el 3 de abril 2019).

Montgomery-Douglas C. 2004. Diseño y análisis de experimentos. 2 ed. Limusa Wiley.pp.

Moscatelli V. A. 2015. Química y farmacología de una planta medicinal argentina: Artemisia copa. Dominguezia. 31(1):5-13.

Napoleón A., Swetha S. K., y Angajala G. 2013. In-vitro anti oxidant and anti bacterial studies of betacyanin isolated from the bracts of Bougainvillea glabra. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 5(4):84-87.

Navarro-García, V., Rojas, G., Zepeda, G., Avilés, M., Fuentes, M., Herrera, A., y Jiménez, E. 2006. Antifungal and antibacterial activity of four selected mexican medicinal plants. Rev. Pharmaceutical Biology.44 (4):297-300.

Navarro-García V. M., Herrera-Ruiz M., Rojas G., y Zepeda G. L. 2007. Coumarin derivados from *Loeselia mexicana*. Determination of the anxiolytic effect of Daphnoretin on elevated plus-maze. Journal of the Mexican Chemical Society. 51(4):193-197.

Navarro-García V., Rojas G., Avilés M., Fuentes M., y Zepeda G. 2011. *In vitro* antifungal activity of coumarin extracted from *Loeselia mexicana* Brand. Mycoses. 54(5):e569–e571.

Nenaah G. 2010. Antibacterial and antifungal activities of (beta)-carboline alkaloids of *Peganum harmala* (L) seeds and their combination effects. *Fitoterapia*. 81(7):779-782.

Nieto Á. R., y Borys M. W. 1991. El tejocote (*Crataegus* spp.) en México. In: Avances en el Estudio de los Recursos Filogenéticos en México. Ortega P. R., Palomio H. G., Castillo G. F., González H. V. A. y Livera M. M. (eds.). Sociedad Mexicana de Fitogenética, A. C. (SOMEFI), UACH, Chapingo, México. pp. 309-329.

Oliveira G. L., Moreira D. D. L., Mendes A. D. R., Guimaraes E. F., Figueiredo L. S., Kaplan M. A. C., y Martins E. R. 2013. Growth study and essential oil analysis of *Piper aduncum* from two sites of Cerrado biome of Minas Gerais State, Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 23:743-753.

O'Gara J. P., y Humphreys H. 2001. *Staphylococcus epidermidis* biofilms: importance and implications. *Journal of Medical Microbiology*. 50(7):582-587.

Organización Mundial de la Salud (OMS). 2000. Boletín de Medicamentos Esenciales. Resistencia a los antimicrobianos: los hechos. Boletín OMS 2000;(28-29):7-9.

Organización Mundial de la Salud (OMS). 2013. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Hong Kong SAR, China.

Organización Mundial de la Salud (OMS). 2016. Nota descriptiva: Neumonía. Noviembre de 2016.

Ortiz-Palacios L., Cervantes-Gutiérrez V., y Chimal-Hernández A. 2017. Plantas medicinales de San Francisco Tlaltenco, Tláhuac, Ciudad de México. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Programa SEDEREC.

Özcan M., Hacseferoğullari H., Marakoğlu T., y Arslan D. (2005). Hawthorn (*Crataegus* spp.) Fruit: Some Physical and Chemical Properties. *Journal Food Engineering*. 69: 409-413.

Pardo F., Perich F., Villaroel L., y Torres R. 1993. Isolation of verbascoside, an antimicrobial constituent of *Buddleja globosa* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*. 39 (3): 221–222.

Pascual-Anderson M. R. y Calderón y Pascual V. 2000. *Microbiología Alimentaria: Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas*. 2ed. Díaz de Santos, S.A. Madrid, España. pp. 77-80.

Peña-López D. H. 2011. Evaluación de la actividad antibacteriana de los alcaloides provenientes de las hojas de *Siparuna sessiliflora*. Tesis de Licenciatura. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Química. Microbiología Industrial. Bogotá, Colombia.

Pérez S., Pérez C., y Zavala M. A. 2005. A study of the antidiarrheal properties of *Loeselia mexicana* on mice and rats. *Phytomedicine*. 12(9): 670-674.

Pérez-Segura M. 2013. Análisis químico, estabilidad y actividad biológica in vitro de la fracción de polifenoles del fruto de capulín (*Prunus serótina* Ehrh. Var. Capulí). Tesis licenciatura. Universidad de Nariño. Facultad de ciencias exactas y naturales. Dep. Química. San Juan de Pasto.

Pío-León J. F., López-Angulo G., Ahumada-Santos Y. P., López-López, M. de J., López-López M. A., Uribe-Beltrán M. J., Díaz-Camacho S. P., y Delgado-Vargas F. 2008. Actividad antibacteriana de la pulpa de fruto de arrayán *Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied. 5° Reunión Nacional de Investigación en Productos naturales. *Revista Latinoamericana de Química*. Universidad. Pp. 95.

Pío-León J. F., Díaz-Camacho S. P., López-López M. Á., Uribe-Beltrán M. de J., Willms K., López-Angulo G., Montes-Ávila J. y Delgado-Vargas F. 2013. Actividad antibacteriana de extractos de frutos de nanchi (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth), arrayán (*Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied.) y ayale (*Crescentia alata* Kunth). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 12 (4): 356–364.

Prieto-González S., Garrido-Garrido G., González-Lavaut J. A. y Molina-Torres J. 2004. Actualidad de la Medicina Tradicional Herbolaria. Revista CENIC (Centro Nacional de Investigaciones Científicas) Ciencias Biológicas. 35(1):19-36.

Prosdócimo F., Batallé M., Sosa N., De Franceschi M., Barrios H. 2010. Determinación *in vitro* del efecto antibacteriano de un extracto obtenido de quebracho colorado, *Schinopsis lorentzii*. InVet (Investigación Veterinaria) 12(2):139-143.

Pupo B. Y. G. 2007. Efecto del extracto crudo de hojas de *Tagetes erecta* L. en el control de cuatro hongos patógenos de hortalizas "*in vitro*". Centro Agrícola, 34(4):83-86.

Quispe E. M. y Rojas M. A. 2013. Actividad Antioxidante del Extracto Alcohólico de Hojas de *Verbena littoralis* Kunth (Verbena) en Iquitos, Loreto, Perú. Tesis de Grado. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Facultad de química. P: 13-14.

Ramírez L. S. y Castaño M. D. 2009. Metodologías para evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. Scientia et technica año XV. 2(42):263-268.

Rashid U., Rashid Khan M., Jan S. y Bokhari J. 2013. Assessment of phytochemicals, antimicrobial and cytotoxic activities of extract and fractions from *Fagonia olivieri* (Zygophyllaceae). BMC Complementary and Alternative Medicine. 13:167-173.

Rivero-Maldonado G. del C. 2013. Revisión sistemática de *Psidium* (Myrtaceae) en la región occidental de Venezuela. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba (UCO). Córdoba, España. 276 pp.

Rodríguez-Chávez J. L., Egas V., Linares E., Bye R., Hernández T., Espinosa-García F. J. y Delgado G. 2017. Mexican Arnica (*Heterotheca inuloides* Cass. Asteraceae: Astereae): Ethnomedical uses, chemical constituents and biological properties Journal of Ethnopharmacology. 195:39-63.

Rodríguez-Tamayo R. y Sánchez-Tarragó N. 2006. Infecciones respiratorias agudas: aspectos clínicos y epidemiológicos. Reporte Técnico de Vigilancia. 5(7):1-10. [En línea] http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/vigilancia_rtv0700.pdf [Consultado el 23 de febrero del 2012].

Romero-Hernández C., Vaca-Martín M. Á., y Bernal-Alcántara D. A. 1999. Creencias sobre infecciones respiratorias agudas en niños menores de cinco años: Estudio etnográfico en dos comunidades indígenas del estado de Oaxaca. Revista Instituto Nacional Enfermedades Respiratorias de México. 12(4):250-261.

Roskov Y., Abucay L., Orrell T., Nicolson D., Flann C., Bailly N., Kirk P., Bourgoin T., DeWalt R. E., Decock W., y De Wever A., eds. 2016. Species 2000 and ITIS Catalogue of Life, 2016 Annual Checklist. [En línea]. www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2016. Species 2000: Naturalis, Leiden, the Netherlands. ISSN 2405-884X.

Ross Z. M., O'Gara E. A., Hill D. J., Sleightholme H. V., y Maslin D. J. 2001. Antimicrobial properties of garlic oil against human enteric bacteria: evaluation of methodologies and comparisons with garlic oil sulfides and garlic powder. Applied and Environmental Microbiology. 67(1):475-480.

Royer M., Houde R., Tatjana-Stevanovic, M. 2010. Potentiel de développement lié aux extractibles: Etat des connaissances et revue des marchés. Département des sciences du bois et de la forêt, CRB, Université Laval.

Ruiz-Hurtado, F. M., y Betancourt-Calderón, G. C. 2014. Evaluación de la actividad bactericida de fracciones enriquecidas en flavonoides a partir de: *Psidium guajava* L. (guayaba), *Calendula officinalis* L. (calendula), L. (romero) y *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) sobre: *Erwinia carotovora* (Dye). Tesis de Licenciatura de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ingeniería Agronómica. Universidad del Tolima. Ibagué, Colombia.

Rzendowski J., y Calderón de Rzendowski G. 1995. Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Fascículo 33.Polemoniaceae. Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío. Pátzcuaro, Michoacán, México. 55 pp.

Rzedowski G. C. de J. Rzedowski y colaboradores. 2005. Flora Fanerogámica del Valle de México. 2a. ed. y 1a reimp. Instituto de Ecología A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán), 1406 pp.

Sahagún B. 1830. Historia General de las Cosas de la Nueva España. Editorial Bustamante. México (Fecha de creación 1577).

Sánchez-Jiménez J., Sánchez-Sánchez E., Séculi-Palacios J.L., Sequeiros-González A., Sirvent-Gómez J.H., y Tabares-Lezcano J.M. 1999. Protocolo del tratamiento de las neumonías en la infancia. Anales Españoles de Pediatría. 50(2):189-195.

Sharma A., Flores-Vallejo R. C., Cardoso-Taketa A., y Villarreal M. L. 2017. Antibacterial activities of medicinal plants used in Mexican traditional medicine. Journal of Ethnopharmacology, 208:264–329.

Shah F., Hasan Z., y Zaidi K.U. 2017. Phytochemical Constituents and Synergistic Activity of *Olea Europaea* Plant Extracts against some Human Disease Causing Species. Journal Microbiolgy Exp. 4(5): 00127.

Saroglou V., Karioti A., Demetzos C., Dimas K., y Skaltsa H. 2005. Sesquiterpene lactones from *Centaurea spinosa* and their antibacterial and cytotoxic activities. Journal of Natural Products, 68(9):1404–1407.

Schifter-Aceves L., y Morales-Sarabia A. 2012. La trayectoria de Francisco Río de la Loza en la Sección de Química Analítica del Instituto Médico Nacional. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéutica. 43(4):69-78.

Secretaría de Salud. 1990. Dirección General de Epidemiología. Encuesta Nacional Epidemiológica 1987-1988. México.

Secretaría de Salud. 2007. Dirección General de Epidemiología. Programa Nacional de Salud 2007-2012. Por un México sano: construyendo alianzas para una mejor salud. México.

Sen C.K., Khanna S., Gordillo G., Bagchi D., Bagchi M. y Roy S. 2002. Oxygen, Oxidants, and Antioxidants in Wound Healing: A Emerging Paradigm. *Ann N Y Acad Sci.* 957:239-249.

Sepúlveda-Jiménez G., Porta-Ducoing H., y Rocha-Sosa M. 2003. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología.* 21(3):355-363.

Smith D. M., Glennie C. W., y Harborne J. B. 1971. Identification of eupalitin, eupatolitin and patuletin glycosides in *Ipomopsis aggregate*. *Phytochemistry.* 10: 3115-3120.

Smith, D. M., y Patterson, R. 1981. Flavonoid differentiation between leaves and corollas of *Eriastrum densifolium*. *Biochemical Systematics and Ecology.* 9(2-3): 149-151.

Somogyi T., Alfaro W., Herrera M. L., y Herrera J. F. 1998. Infecciones del tracto respiratorio: etiología bacteriana y viral en una población pediátrica. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera.* 33(1-2):5-18.

Soto-Vásquez M. R., Soto-Vásquez K., y Serrano-Bringas A. 2014. Metabolitos secundarios y efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroetanólico de las flores de *Cantua buxifolia* Juss. ex Lam. (Polemoniaceae) "Flor Sagrada de los Incas". *Arnaldoa.* 21(1):81-90.

Steel G.D.R., y Torrie H.J. 1985. Bioestadística: Principios y procedimientos. 2 ed. McGraw-Hill Latinamericana. Colombia.

Stermitz F. R., Lorenz P., Jeanne N. Tawara J. N., Zenewicz L. A., y Lewis K. 2000. Synergy in a medicinal plant: Antimicrobial action of berberine potentiated by 5'-

methoxyhydnocarpin, a multidrug pump inhibitor. Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS). 97(4):1433-1437.

Stierle D. B., Andrea A. Stierle A. A., y Larsen R. D. 1988. Terpenoid and flavone constituents of *Polemonium viscosum*. *Phytochemistry*. 27(2):517-522 .

Torres-Chatí J. 2014. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de *Luma chequen* (molina) a. gray “arrayán” frente a patógenos aislados de hemocultivos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Lima, Perú. Tesis Licenciatura. Biólogo Microbiólogo Parasitólogo. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Ciencias Biológicas. Lima Perú.

Urbán-Rascón R. T. 2009. Estudio de la actividad antipropulsiva de productos derivados de plantas medicinales de la herbolaria mexicana. Tesis Licenciatura (Químico Farmacéutico Biólogo). UNAM. Facultad de Química. México, D.F.

Urzua A., Caroli M., Vasquez L., Mendoza L., Wilkens M., y Tojo E. 1998. Antimicrobial study of the resinous exudate and of diterpenoids isolated from *Eupatorium salbia* (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*. 62: 251–254

Vargas R., Zavala M. A., Pérez C., Pérez R. M., y Pérez S. 1998. Preliminary study of antidiarrhoeic activity in five Mexican plant species. *Phytotherapy Research*. 12(1):S47-S48.

Waizel B.J. y H.S. Waizel. 2005. Algunas plantas utilizadas popularmente en el tratamiento de enfermedades respiratorias. Parte I. *Anales de Otorrinolaringología Mexicana*. 50(4): 76-87.

Waizel H. S. y Waizel B.J. 2009. Algunas plantas utilizadas en México para el tratamiento del asma. *Anales de Otorrinolaringología Mexicana*. 54(4):145-71.

Waizel-Bucay J. 2006. Las plantas medicinales y las ciencias. Una visión multidisciplinaria. 1 ed. Instituto politécnico nacional. México. pp.326, 332.

Zampini I. C., Cudmani N., e Isla M. I. 2007. Actividad antimicrobiana de plantas medicinales argentinas sobre bacterias antibióticas resistentes. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. 41(3):385-93.

Zolla C., Argueta A., y Mata S. 2011. Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana. [En línea] <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/> Espinosilla *Loeselia mexicana*. [Consultado: 11/nov/2011. hora: 11:30 pm].

ANEXO I Síntesis histórica de *L. mexicana*

Cuadro 7. Cronología histórica de textos donde citan a *Loeselia mexicana*.

Año	Autor	Aportación
1964	De la Cruz y Badiano	Mencionan a <i>Loeselia mexicana</i> con el nombre náhuatl de cuahuitztzilxochitl
1979	Sahagún	La mencionan con el nombre de huitztzilxochitl, pero no reportan su uso.
1969	Martínez	Mencionó a la planta como: mirto silvestre, chuparrosa, huichichile, cuauchil y cuachile, reportó el uso contra fiebres, vomitiva, purgante y para aumentar las secreciones de tipo biliar y salival.
siglo XIX	Francisco Hernández	Mencionó que el humo ahuyenta las moscas, alivia el pecho y afecciones frías, provoca la orina, limpia el vientre conteniendo así el flujo, si lo hay.
siglo XX	Francisco Ximenes	Señaló que ayuda a las mordeduras de animales ponzoñosos, digestión, de curar resfriados, mitigar dolores nacidos de causa fría y de evacuar las heces detenidas en los intestinos.
siglo XX	Mociño y Sessé	La mencionó para combatir fiebres catarrales. Poderoso sudorífico, diurético, vómitiva, diarreas de materiales biliosos, inflamaciones de la garganta y en baños para combatir el reumatismo articular puerperal.
Siglo XX	Alfonso Herrera	Le aludió gran reputación para curar fiebres en general.
siglo XIX	Paul Stanley	Usado como remedio para fiebres, con propiedades eméticas, purgantes, diuréticas y sudoríficas.
1977	Glennie, et al.	Encontró los flavonoides que contiene <i>L. mexicana</i> : quercetin, Kaempferol y Glycoflavones.
1984	Pérez	Observó que la infusión obtenida de la planta ejerce una acción vomitiva y purgante en perros. En conejos, esta planta provocó aumento de la secreción biliar y salivar.

1989	Jiménez, et al.	Identifico un derivado pentahidroxiado del ácido olleanólico. En las ramas de esta planta detecto un aceite esencial, alcaloides, resina, saponinas, colorante y taninos.
1998	Vargas, et al.	Encontró una inhibición significativa en la diarrea. El mayor efecto antidiarreico reportado fue de la decocción.
2006	Navarro García et al.	En el ensayo <i>in vitro</i> , el extracto de metanol de <i>Loeselia mexicana</i> obtuvo la mayor actividad antifúngica frente a dermatofitos. Mientras que en: <i>S. aureus</i> , <i>Streptococcus faecalis</i> , <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> , no tuvo efecto antimicrobiano.
2007	Navarro-García et al.	Aisló bis-cumarinadafnoretina de la parte aérea de la planta y sus precursores monomericosescopoletina y umbelliferona. No mostró un efecto ansiolítico en ratones machos ICR.
2011	Navarro García et al.	Determinaron un efecto antifúngico de bis-cumarinadafnoretina, escopoletina y umbelliferona, aislados del extracto de diclorometano de las partes aéreas de <i>L. mexicana</i> contra hongos. Concluyendo que diclorometano extracto de <i>L. mexicana</i> tiene propiedades antifúngicas, por radicales de cumarinas.
2011	Herrera-Ruiz et al.	Se evaluó el efecto ansiolítico del extracto metanólico, que contiene cumarinasdafnoretina. Con la estandarización mostró un efecto ansiolítico en los ratones machos ICR.
2014	Soto,et al.	Prepararon el extracto etanólico de las flores de <i>Cantua buxifolia</i> Juss. Ex Lam, conteniendo: catequinas, lactonas, triterpenos, esteroides, saponinas, compuestos fenólicos, taninos, quinonas, flavonoides y antocianidinas. Evaluaron la actividad antimicrobiana en distintas concentraciones del extracto, las cuales inhibieron el crecimiento bacteriano de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> y <i>P. aeruginosa</i> . De las distintas concentraciones, 1.5 mg/ml fué la que presentó mayor porcentaje de inhibición frente a las cepas.

ANEXO II Comparación entre compuestos encontrados en *L. mexicana* y las propiedades de estos compuestos en otras plantas.

Cuadro 8. Comparación entre los compuestos encontrados en *Loeselia mexicana* y las propiedades para la salud referenciadas en otras plantas.

Compuestos encontrados en <i>L. mexicana</i>	Usos y propiedades beneficiosas para la salud	Referencias
Pentahidroxilado del ácido Oleanólico	Para inmunoinflamatorios (alteraciones en la permeabilidad vascular, infiltración de leucocitos) Alternativa contra la esclerosis múltiple, diabetes	(Jiménez, et al., 1989)
Lactonas sesquiterpénicas	Inducen apoptosis y activación de la vía MAPK en líneas celulares tumorales humanas.	(Vargas, et al., 1998; Pérez et al., 2005)
Aceite esencial	ácido Oleanólico	(Jiménez, et al., 1989)
Lactonas, triterpenos, esteroides	Tónicovenosas, antibióticas, propiedades antiespasmódicas, anticoagulantes	(Soto, et al., 2014)
Cumarinas	Agentes antifúngicos y antibacterianos	(Navarro-García et al., 2007)
bis-cumarina dafnoretina	Ansiolítico, actividad antifúngica	(Herrera-Ruíz et al., 2011)
cumarinas dafnoretina		
escopoletina y umbelliferona	Regula la presión sanguínea Actividad antioxidante	
Flavonas	Actividad antioxidante	(Vargas, et al., 1998; Pérez et al., 2005)
Flavonoides:		(Glennie et al., 1997)
quercetina,	Actividad antioxidante	
Kaempferol	Propiedades antidepresivas	
Miricetina y Glycoflavones	Actividad antioxidante	
Taninos	Propiedades antibacterianas	(Jiménez et al., 1989); (Pérez et al., 2005) (Soto, et al., 2014)

Compuestos fenólicos, flavonoides, catequinas, antocianidinas y quinonas	Propiedades antibacterianas Actividad antioxidante Colorantes naturales agentes antitumorales	(Soto, et al., 2014)
Saponinas	Reducen el colesterol, refuerzan el sistema inmune. Inyectado produce hemólisis de los glóbulos rojos.	(Pérez et al., 2005). (Jiménez, et al., 1989) (Soto, et al., 2014)
Glucósidos	Propiedades antiespasmódicas, cardiotónicos, tónicovenosas, antibióticas, propiedades antiespasmódicas, anticoagulantes.	(Pérez et al., 2005).
Alcaloides (loeselina)	Acción antibacteriana	(Jiménez et al., 1989) (Pérez et al., 2005) (Dr. Río de la Loza en el siglo XIX (Schifter Aceves y Morales Sarabia, 2012))

ANEXO III Concentración mínima inhibitoria de extractos no polares en *L. mexicana*.

Cuadro 9. Concentración mínima inhibitoria de los extractos de *L. mexicana*. Información tomada del artículo ensayo in vitro antimicrobiano (Navarro García et. al., 2006).

Especies	Parte usada de la planta	E x t r a c t o	Rendimiento de Extracto	CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (MIC, mg/ml)							
				Sa	Sf	Ec	Kn	St	Ca	Tm	Tr
<i>Loeselia mexicana</i>	S	H	2.9	2.0	4.0	>8.0	>8.0	>8.0	>8.0	1.0	1.0
		D	3.7	2.0	2.0	>8.0	>8.0	>8.0	>8.0	0.5	0.5
		M	5.1	>8.0	>8.0	>8.0	>8.0	>8.0	4.0	0.25	0.25
Gentamycin				0.002	0.002	0.008	0.008	0.008	0.008	NT	NT
Myconazol				NT	NT	NT	NT	NT	NT	0.008	0.008
Nystatin				NT	NT	NT	NT	NT	0.008	NT	NT

Plant part tested: **S**, stem.

Extract: **D**, dichloromethane; **H**, hexane; **W**, wáter extract; **M**, methanol.

Microbial species: **Sa**, *Staphylococcus aureus*; **Sf**, *Streptococcus faecalis*; **Ec**, *Escherichia coli*; **Kn**, *Klebsiella pneumoniae*; **St**, *Salmonella typhi*; **Ca**, *Candida albicans*; **Tm**, *Trichophyton mentagrophytes*; **Tr**, *Trichophyton rubrum*.

NT, Not tested.

ANEXO IV Flavonoides presentes en tribus de Polemoniacea

Cuadro 10. Flavonoides y otros compuestos fenólicos de las tribus: Bonplandieae. Tomado de Glennie, C. W., Harborne, J. B., y Williams, C. A. (1977).

Flavonoides y otros compuestos fenólicos de las tribus:													
Bonplandieae.													
Especie	FLAVONOIDES								OTROS CONSTITUYENTES				
	M	Q	K	P	Eo	E	O	G	C	P-Q	F	D	S
<i>L. ciliata</i> L	-	X	X	-	-	-	-	X	X	-	-	-	-
<i>L. coerulea</i> (Cav.) Don.	-	X	-	-	-	-	-	X	X	-	-	-	-
<i>L. mexicana</i> (Lam.) Brand.	-	X	X	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-

Clave de abreviaturas: **M** = miricetina; **Q** = quercetina; **K** = kaempferol; **P** = patuletina; **Eo** = eupatolitina; **E** = eupalitina; **O** = otras agliconas o no identificadas; **G** = glicoflavonas; **C** = ácido clorogenico; **P-Q** = ácido p-coumaril-cinético; **F** = ácido ferulil-cinico; **D** = dapnetina; **S** = escopoletina; **X** = presente; - = ausente.

ANEXO V Encuesta realizada

Encuesta etnobotánica en el poblado de Santa Rosalía, en el Estado de Hidalgo. Usos y conocimiento de espinosilla (*Loeselia mexicana*).

La información de esta encuesta etnobotánica, es con propósitos de estudio, sin ningún fin de lucro.

FECHA:

NOMBRE:

EDAD:

HOMBRE:

MUJER:

DIRECCION:

¿Eres originario de Santa Rosalía?

¿Conoce la planta? **SI NO** Nombre(s) común:

¿Desde cuándo conoces la planta?

¿Le dan algún uso? **SI NO** ¿Para qué?

¿Cómo la usas?

¿Cuántas veces?

¿Le tienen algún aprecio? **SI NO** ¿Por qué?

¿Conoce algún riesgo al usar la planta?

¿Se puede comer de todo cuando estas tomándola? **SI NO** ¿Cuáles?

¿Se considera fría o caliente?

¿Qué parte de la planta estas usando?

¿Cómo la preparas (si es te hervido o en infusión)?

¿Qué dosis (cantidad de la planta) preparas para una toma? ¿Una sola toma o más?

¿Cómo la tomas? A) en ayunas B) por la mañana C) por la noche D) durante el día E) agua de tiempo

¿Durante cuantos días?

¿En cuánto tiempo te hace efecto? ¿Qué efectos siente cuando la toma?

¿Se utiliza sola o acompañada con otras plantas? **Sola Acompañada** ¿Cuáles?

¿Cuáles son las condiciones para la recolección (día, noche, fase lunar, época de frío, etc.)?

¿En qué estado se usa la planta (seca, fresca)?

¿Cuál es el método de conservación de la planta?

¿Prefieres utilizar la planta o el medicamento? **Planta Medicamento**

¿Los medicamentos que les dan el medico les ayuda para este tipo de afecciones? **SI NO**

ANEXO VI Resultados de pruebas antibacterianas previas

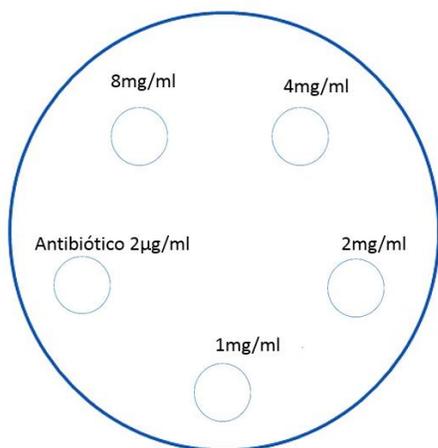
Concentraciones del extracto de *Loeselia mexicana* con base en pruebas antibacterianas previas con el método de diluciones.

Diluciones para pruebas antibacterianas. Se prepara una solución de 80mg/2 ml, tanto de cada extracto, para tener una solución stock de 40mg/ml. Se centrifugo por primera vez a 10,000 rpm/7min y se toma el sobrenadante en tubo de Ependorf, correspondiente al extracto diluido, para eliminar partículas suspendidas. A partir del stock se preparan las siguientes diluciones como se muestra en el cuadro 10.

Cuadro 11. Diluciones para pruebas antibacterianas.

	pesar	diluir en			Pesar	diluir en	
Solución Stock de 40mg/ml	80mg	2ml		Solución Stock de 40mg/ml	80mg	2ml	
	80mg	2000µl			80mg	2000µl	
Diluciones		Tomar	agregar	Diluciones		Tomar	agregar
	8mg	200µl	800µl		8mg	200µl	800µl H ₂ O
Stock p/Trat 1	8mg	1000µl		Stock p/Trat 1	8mg	1000µl	
Del extr stock	4mg	100µl			4mg	500µl	
	4mg	100µl	900µl		4mg	500µl	500µl H ₂ O
Stock p/Trat 2	4mg	1000µl		Stock p/Trat 2	4mg	1000µl	
Del extr stock	2mg	50µl			2mg	500	
	2mg	50µl	950µl		2mg	500µl	500µl H ₂ O
Stock p/Trat 3	2mg	1000µl		Stock p/Trat 3	2mg	1000µl	
Del extr stock	1mg	25µl			1mg	500µl	
	1mg	25µl	975µl		1mg	500µl	500µl H ₂ O
Stock p/Trat 4	1mg	1000µl		Stock p/Trat 4	1mg	1000µl	

Se toman 200µl los cuales se diluyen en 800µl de agua destilada, correspondiente a una concentración de 8mg/ml (tratamiento 1). Del mismo extracto stock se toman 100µl diluyéndolo en 900µl de agua destilada, correspondiente a una concentración de 4mg/ml (tratamiento 2). Para el siguiente tratamiento se toman 50µl del extracto stock se agrega 950µl de agua destilada, correspondiente a una concentración de 2mg/ml (tratamiento 3). Para el último tratamiento se toman 25µl del extracto stock y se diluye en 975µl de agua destilada, correspondiente a una concentración de 1mg/ml (tratamiento 4).



Tratamiento	Concentración del tratamiento	Concentración en el sensidisco µg/µl
1	8mg/ml	160µg/20µl
2	4mg/ml	80µg/20µl
3	2mg/ml	40µg/20µl
4	1mg/ml	20µg/20µl
5	Antibiótico 2µg/ml	0.04µg/20µl

Fig. 20. Prueba de CMI en placas con tubo 5 de Mc Farland, concentraciones de extracto en sensidisco.

Con la primera colecta de *L. mexicana* se realizaron pruebas de efecto sobre las bacterias y permitió establecer la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante el método de placa (Fig.20), con tres antibióticos Cefuracet como control frente a nuestros tratamientos. Además de que también se aplicó la prueba de sensibilidad con método de placa, mediante el tubo 5 de Mc Farland, con la técnica de Kirby-Bauer. En ambos métodos se vio el efecto cuantitativo, sin embargo se buscó una forma más novedosa y repetitiva de forma cuantitativa de poder observar la cinética bacteriana durante 24 horas.

Los primeros resultados en la evaluación del efecto y el establecimiento de la CMI, con el antibiótico Cefuracet se obtuvieron los siguientes resultados (Cuadro 11 y 12).

Cuadro 12. Resultados obtenidas del extracto etanólico con la prueba de sensibilidad en placa con Cefuracet 8mg/ml.

Concentración Mínima Inhibitoria del Extracto etanólico			
Concentraciones	<i>K.pneumonie</i>	<i>S.aureous</i>	<i>E.coli</i>
Cefuracet (8mg/ml)	10mm	10.66mm	8mm
8mg/ml	8.33mm	10mm	13.33mm
4mg/ml	7.83mm	11.16mm	10.66mm
2mg/ml	4.33mm	9.66mm	10.66mm
1mg/ml	4.33mm	4.66mm	6mm

Cuadro 13. Resultados obtenidas del extracto acuoso con la prueba de sensibilidad en placa con Cefuracet 8mg/ml.

Concentración Mínima Inhibitoria del Extracto acuoso			
Concentraciones	<i>K.pneumonie</i>	<i>S.aureous</i>	<i>E.coli</i>
Cefuracet (8mg/ml)	10mm	10.66mm	8mm
8mg/ml	8mm	11.16mm	8.5mm
4mg/ml	9.66mm	9.66mm	8.5mm
2mg/ml	10.16mm	9.16mm	7.33mm
1mg/ml	8.5mm	8.3mm	7.66mm

Al analizar los datos que se obtuvo que tenían un efecto de los extractos crudos sobre las bacterias, se procedió a realizar el fraccionamiento de los mismos con cloroformo, obteniendo las fracciones ETA FA, ETA FC y AC FA. Con los que se realizaron la prueba de sensibilidad sobre las bacterias mediante el método líquido, como patrón estándar sobre el control bacteriano tubo 5 de la escala de McFarland con la técnica de Kirby-Bauer. En tubos de ensayo con 1ml total, con 6 repeticiones en cada tratamiento, con dos concentraciones 2mg/ml y 4mg/ml de cada tratamiento, como control el antibiótico Lincomicina, en esta prueba nos enfrentamos a la complejidad de medir el efecto sin que interfirieran partículas de los extractos en el espectrofotómetro, por lo que se midieron las absorbancias de cada uno de los extractos. Al ver que las partículas se suspendían cuando se centrifugaban los extractos, todos los tratamientos se centrifugaron por segunda vez a 14 000rpm/20 min, para evitar tener tanta interferencia con las partículas en las mediciones con el espectrofotómetro.

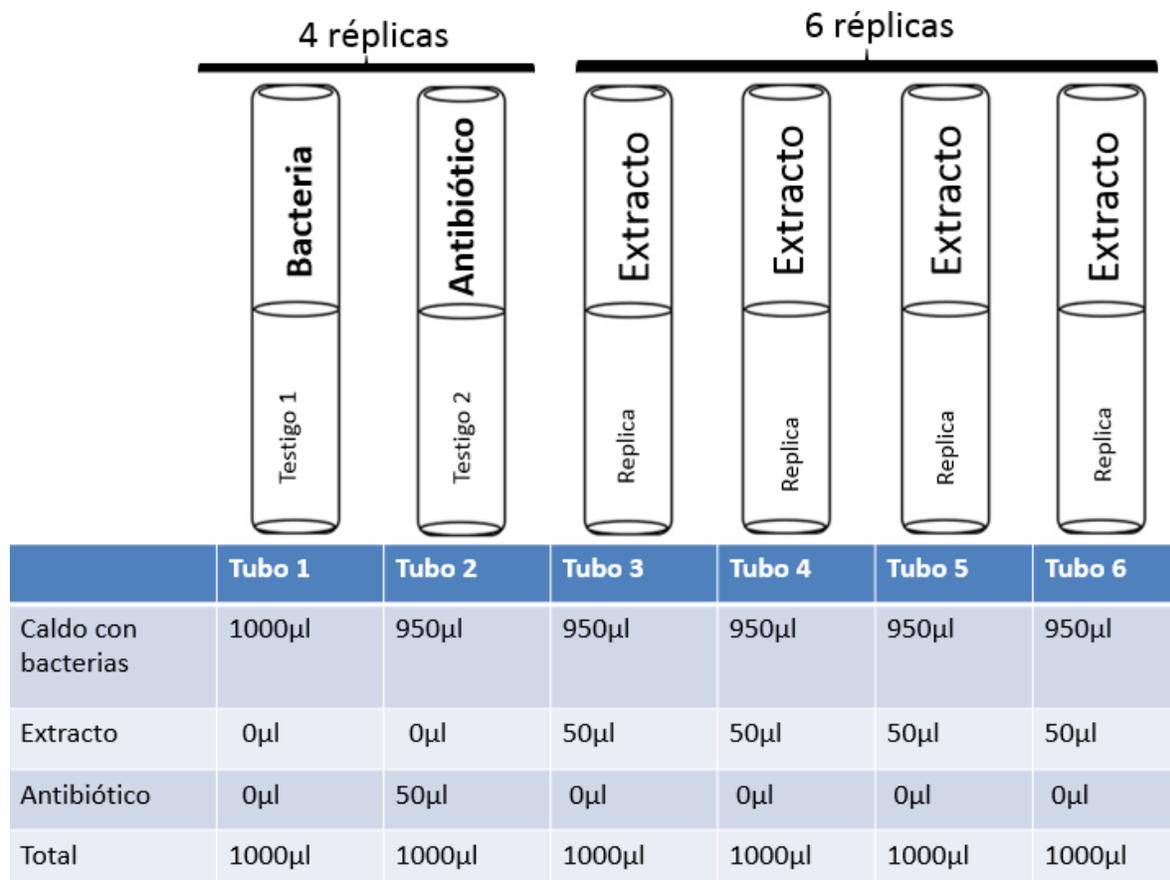


Fig. 21. Cantidades usadas en el método líquido con las fracciones de los dos extractos crudos.

Cuadro 14. Absorbancias de extractos centrifugados.

Extractos	Absorbancia 4mg/ml Centrifugado 14,000rpm/20min	Absorbancia 4mg/ml Centrifugo 10,000rpm/7min
ETA CRUDO	0.088	
ETA FC	0.201	0.679
ETA FA	0.045	2.328
AC CRUDO	0.116	
AC FA	0.103	0.435

Cuadro 15. Resultados de *K. pneumoniae* con el método líquido.

Tratamientos	Absorbancias	Tratamientos	Absorbancias
ETA FC 2mg/ml	0.6203	ETA FC 4mg/ml	0.4773
ETA FA 2mg/ml	0.6485	ETA FA 4mg/ml	0.7498
AC FA 2mg/ml	0.8938	AC FA 4mg/ml	0.7957
LINCOMICINA	0.5754	LINCOMICINA	0.5754
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1.296	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1.196

Cuadro 16. Resultados de *S. aureus* con el método líquido.

Tratamientos	Absorbancias	Tratamientos	Absorbancias
ETA FC 2mg/ml	0.638	ETA FC 4mg/ml	0.204
ETA FA 2mg/ml	0.220	ETA FA 4mg/ml	0.253
AC FA 2mg/ml	0.387	AC FA 4mg/ml	0.313
LINCOMICINA	0.259	LINCOMICINA	0.259
<i>S. aureus</i>	0.7275	<i>S. aureus</i>	0.7275

Cuadro 17. Resultados de *E. coli* con el método líquido.

Tratamientos	Absorbancias	Tratamientos	Absorbancias
ETA FC 2mg/ml	0.4236	ETA FC 4mg/ml	0.544
ETA FA 2mg/ml	0.4188	ETA FA 4mg/ml	0.366
AC FA 2mg/ml	0.5358	AC FA 4mg/ml	0.680
LINCOMICINA	0.379	LINCOMICINA	0.379
<i>E. coli</i>	0.590	<i>E. coli</i>	0.590

Cuadro 18. Relación de concentración con respecto a la cantidad de extracto stock.

Tratamiento	Concentración	Cantidad de extracto stock para 1ml	Cantidad de H ₂ O para 1ml
1	8mg/ml	200µl	800µl
2	4mg/ml	100µl	900µl
3	2mg/ml	050µl	950µl
4	1mg/ml	025µl	975µl

En la estandarización del inóculo bacteriano para la prueba de sensibilidad bacteriana se utilizó la escala de McFarland, en el tubo 5 el cual se tomó como referencia, para estimar el número de bacterias midiendo en el rango de 0.8 a 0.10 de absorbancia. Esto corresponde aproximadamente a una suspensión homogénea de *E. coli* de 1.5×10^8 UFC/ml. Se procede a comparar la absorbancia del tubo 5 con cada cepa, respectivamente (Malbrán, 2001).

Cuadro 19. Curva patrón de turbidez, MacFarland.

Tubo	BaCl ₂ al 1%	H ₂ SO ₄ al 1%	Nº Células
1	0.01 ml	9.9 ml	3×10^8
2	0.02 ml	9.8 ml	6×10^8
3	0.03 ml	9.7 ml	9×10^8
4	0.04 ml	9.6 ml	12×10^8
5 *	0.05 ml	9.5 ml	15×10^8
6	0.06 ml	9.4 ml	18×10^8
7	0.07 ml	9.3 ml	21×10^8
8	0.08 ml	9.2 ml	24×10^8
9	0.09 ml	9.1 ml	27×10^8
10	0.10 ml	9.0 ml	30×10^8

ANEXO VII Cálculos de extractos, medio de cultivo y antibióticos.

1. Cálculos de extracto

Para hacer el stock de cada extracto, se pesaron 480 mg/12 ml de agua destilada esterilizada, lo que da una concentración de 40 mg/ml. Cada extracto se almacenó a 5°C. Del stock se toma para cada tubo 1 ml de extracto a una concentración de 40 mg/ml.

2. Cálculos para medio de cultivo BHI (infusión corazón cerebro).

Se prepara el caldo BHI (corazón, hígado y cerebro) de BIOXON con número de catálogo 211200, en un matraz de 150 ml con 80 ml de agua destilada se agregan 0.7 gr, agitando constantemente hasta su disolución completa con ayuda de un agitador. Se esteriliza en autoclave a una temperatura de 120°C, por 15 minutos. Se deja atemperar y se refrigera a 5°C. Para su uso se atempera a temperatura de laboratorio y se introduce en incubadora a 37°C. Teniendo la proporción 8 g por cada Litro de agua destilada.

3. Cálculo para obtener la concentración deseada de antibiótico ENROFLOXACINA

Se realizaron tres diluciones: a partir del antibiótico 100 mg/ml, se toman 200 μ l y se diluyen con 800 μ l de agua destilada, teniendo una solución de 20 mg/ml. Para la segunda dilución se toman 20 μ l de la dilución anterior y se diluye con 980 μ l de agua destilada, teniendo de esta manera una concentración de 0.4 mg/ml, lo que es igual a 400 μ g/1000 μ l, de esta dilución se toman 100 μ l y se diluyen en 900 μ l, teniendo una dilución de 40 μ g/1000 μ l. Por tanto en la concentración aplicada de antibiótico de 1000 μ l antibiótico en 10 ml de medio BHI con bacterias contiene 4 μ g/ml.

4. Cálculo para obtener la concentración deseada de antibiótico AMIKACINA.

Se realizarán dos diluciones: a partir del antibiótico 100 mg/2ml (50 mg/ml), se toman μ l y se diluyen en 1 ml de agua destilada, teniendo una solución de mg/ml. Para la segunda dilución se toman μ l de la dilución anterior y se diluye en 1 ml de agua destilada, teniendo de esta manera una concentración de 4mg/ml. De esta dilución se tomaron μ l y se diluyo en 1 ml de agua destilada teniendo una concentración de mg/ml (μ g/ ml). Posterior de esta concentración se toma 1 ml para los 10 ml de cada tubo falcon con antibiótico del experimento teniendo una concentración

ANEXO VIII Fichas técnicas de antibióticos

Cuadro 20. Características del antibiótico Enrofloxacin 100 mg/ml. Tomada de Monografía farmacéutica, 2013).

Dosis	Bacterias sensibles	Acción farmacológica
<p>Caninos: (5 mg/kg de peso cada 24 hs) equivalente a 1 ml cada 20 kg de peso.</p> <p>Felinos: (5 mg/kg de peso/día).</p>	<p><i>Staphylococcus intermedius</i>,</p> <p><i>Staphylococcus aureus</i>,</p> <p><i>Escherichia coli</i>,</p> <p><i>Klebsiella pneumoniae</i>,</p> <p><i>Proteus mirabilis</i>,</p> <p><i>Pseudomonas spp.</i>,</p> <p><i>Salmonellas spp.</i> ,</p> <p><i>Mycoplasmas spp.</i>,</p> <p><i>Erlichiacaanis</i>,</p> <p><i>Chlamydia spp.</i></p>	<p>A las concentraciones inhibitorias mínimas son bactericidas de acción acelerada y se los cataloga como bactericidas absolutos.</p> <p>Las fluoroquinolonas presentan un efecto post antibiótico prolongado en general y superlativo para ciertos microorganismos con lo cual permite una flexibilidad terapéutica increíble. Esta característica sumada a su acción concentración- dependiente y no del tiempo de administración las transforma en los antimicrobianos ideales.</p> <p>Las quinolonas están contraindicadas en animales que presenten reacciones de hipersensibilidad a las mismas. Una vez dentro de la bacteria, actúan sobre el cromosoma bacteriano, siendo atrapadas por uniones no covalentes en el llamado bolso u ojal de las quinolonas del complejo de la ADN-girasa, que se encarga de la preparación del DNA para la transcripción, a la que inhiben, impidiendo por lo tanto el proceso de replicación, recombinación y reparación del ADN de la bacteria.</p> <p>Las fluoroquinolonas permiten una flexibilidad terapéutica increíble. A las concentraciones inhibitorias mínimas son bactericidas de acción acelerada y se los cataloga como bactericidas absolutos. Una vez dentro de la bacteria, actúan sobre el cromosoma bacteriano, siendo atrapadas por uniones no covalentes en el llamado bolso u ojal de las quinolonas del complejo de la ADN-girasa, que se encarga de la preparación del DNA para la transcripción, a la que inhiben, impidiendo por lo tanto el proceso de replicación, recombinación y reparación del ADN de la bacteria.</p>

Cuadro 21. Rangos de CIM para microorganismos sensibles. Valores de MIC ($\mu\text{g/mL}$) a la Enrofloxacin contra Bacterias y Micoplasmas aisladas de infecciones Naturales. El punto de corte para sensibilidad - resistencia a la Enrofloxacin fue establecido en $2\mu\text{g/mL}$.

Bacteria No	Aislamiento	MIC50 **	MIC90**
<i>Actinomyces pyogenes</i> *	105	1	1
<i>Escherichia coli</i> *	100	0.03	0.06
<i>Haemophilus somnus</i> *	104	0.015	0.03
<i>Mycoplasma spp</i> *	124	0.25	0.5
<i>Mannheimia (Pasteurella) haemolytica</i>	121	0.06	0.06
<i>Pasteurella multocida</i>	108	0.015	0.03
<i>Staphylococcus aureus</i>	135	0	12
<i>Corynebacterium pyógenes</i>	29	0	75

* La significancia clínica in vitro no ha sido bien demostrada.

** El MIC 50% para el 90% de los aislados.

Cuadro 22. Características del antibiotico Amikacina 100 mg/2ml. Tomado de la (Monografía farmacéutica PISA, 2010; Monografía farmacéutica IQB, 2010).

Dosis	Bacterias sensibles	Acción farmacológica
<p>La dosis adultos, niños y preescolares con función renal normal, es de 15 mg/kg/día, divida en 2 ó 3 dosis iguales, administradas a intervalos divididos de manera equitativa.</p> <p>(7.5 mg/kg cada 12 h ó 5 mg/kg cada 8 h)</p> <p>Pacientes con exceso de peso no debe exceder 1.5 g/día.</p> <p>dosis total diaria no debe exceder de 15 mg/kg/día.</p>	<p><i>Pseudomonas</i> spp, <i>E. coli</i>, <i>Proteus spp</i>(<i>indol-positivos e indol-negativos</i>), <i>Providencia spp</i>, <i>K. pneumoniae</i>, <i>Enterobacter</i>, <i>Serratiaspp</i>, <i>Acinetobacter</i>(<i>Mima-Herellea</i>), <i>S. aureus</i>, <i>Citrobacterfreundii</i>, <i>Streptococcuspyogenes</i>, <i>Enterococos y</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>(Diplococcus pneumoniae)</i>.</p>	<p>Es un antibiótico semisintético del grupo de los aminoglucósidos, derivado de la Kanamicina, de acción bactericida. El cual se une en forma irreversible a uno o más receptores específicos de la subunidad 30S de los ribosomas bacterianos, además de interferir en el complejo de inicio del RNA mensajero de la subunidad 30S. Impidiendo la transcripción del DNA bacteriano y, por tanto, la síntesis de proteínas en los microorganismos susceptibles.</p> <p>Desarrolla un efecto sinérgico al ser administrada en forma de concomitante con antibióticos b-lactámicos ante bacterias gramnegativas.</p>

Propiedades farmacológicas de lincomicina antibiotico bacteriostático.

Grupo farmacoterapéutico: antibacterianos para uso sistémico.

Lincosamidas, código ATC: J01FF02.

El mecanismo de acción La lincomicina es un antibiótico que pertenece al grupo de las lincosamidas, cuya actividad principal es bacteriostática. La lincomicina se une a la subunidad ribosomal 50S de la bacteria, inhibiendo la síntesis proteica.

La resistencia a estafilococos y estreptococos se debe a la metilación de nucleótidos específicos en la 23S RNA de la subunidad 50S del ribosoma, que puede determinar la resistencia cruzada a los macrólidos y estreptograminas B (fenotipo MLSB). En aislados con resistencia a los macrólidos de estos organismos deben realizarse pruebas utilizando el test de zona D para evaluar la resistencia inducible a lincomicina/clindamicina. La resistencia cruzada entre lincomicina y clindamicina es completa.

Microbiología

La lincomicina tiene un espectro de actividad similar a la clindamicina; sin embargo es en general menos eficaz que la clindamicina frente a los organismos sensibles. In vitro, concentraciones de lincomicina de 0,02-3,1 µg/mL inhiben la mayoría de las cepas sensibles de estafilococos y estreptococos. In vitro, la concentración mínima inhibitoria (CMI) de lincomicina para la mayoría de las bacterias sensibles anaerobias y microaerofílicas es 0,1 - 6,2 µg/mL. La prevalencia de la resistencia adquirida puede variar geográficamente y con el tiempo para especies seleccionadas y es deseable obtener la información local sobre la resistencia, particularmente cuando se traten infecciones graves. Cuando sea necesario, se debe buscar el consejo de un experto cuando la prevalencia de la resistencia sea tal que la utilidad del agente en algunos tipos de infecciones sea cuestionable. Particularmente en infecciones graves o en caso de fallo de la terapia se recomienda un diagnóstico microbiológico con verificación del patógeno y su sensibilidad a lincomicina/clindamicina (Monografía farmacéutica. Ficha técnica lincomicina, 2010).

Propiedades farmacológicas de Cefuracet antibiotico bacteriostático.

Cefalosporina de 2ª generación activa normalmente frente a aerobios gram positivos (*S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. pneumoniae* sensible a penicilina, *S. aureus* sensible a meticilina, *S. coagulasa* negativo sensible a penicilina), aerobios gram negativos (*E. coli*, *Proteus mirabilis*, *H. influenzae* y *Moxarella* (*Branhamella*) *catarralis*) y anaerobios (*Peptococcus* spp. *Peptostreptococcus* spp). Mecanismo de acción bactericida inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana mediante la unión a proteínas blanco, lisis bacteriana. Cefuroxima-axetilo es un profármaco oral de cefuroxima.

USO CLÍNICO

Formas orales

Tratamiento de infecciones por microorganismos sensibles, en niños > 3 meses (A).

- Infecciones del tracto respiratorio superior (ORL): Otitis media, sinusitis, amigdalitis y faringitis causadas por *S. pyogenes* (estreptococos β hemolíticos del Grupo A).
- Infecciones del tracto respiratorio inferior: Bronquitis aguda y exacerbaciones agudas de bronquitis crónica, neumonía adquirida en la comunidad.
- Infecciones no complicadas del tracto urinario.
- Infecciones no complicadas de piel y tejidos blandos.

Administración vía parenteral Niños > 14 años.

El período de tratamiento normal es de 7-10 días. La dosis usual es de 750 mg, 3 veces al día (cada 8 horas), por inyección intramuscular o intravenosa. En infecciones más graves esta dosis se puede aumentar a 1.500 mg 3 veces al día, por vía intravenosa. La frecuencia de las inyecciones intramusculares o intravenosas se puede incrementar, si es necesario, a 1 cada 6 horas, administrando dosis totales de 3 a 6 g/día (Monografía farmacéutica. Ficha técnica Cefuracet, 2016).

ANEXO IX Método gráfico para la elección de la fase exponencial bacteriana (Cabeza-Herrera, 2011).

Se graficaron los datos del experimento limpios sin las partículas del extracto interfiriendo, se linearizaron los datos con Log 10, se siguieron los pasos del manual de microbiología predictiva de Cabeza- Herrera (2011). Se obtuvieron los puntos de la fase exponencial mediante este método gráfico al que también se le aplicó ANOVA y Análisis de Rango Múltiple.

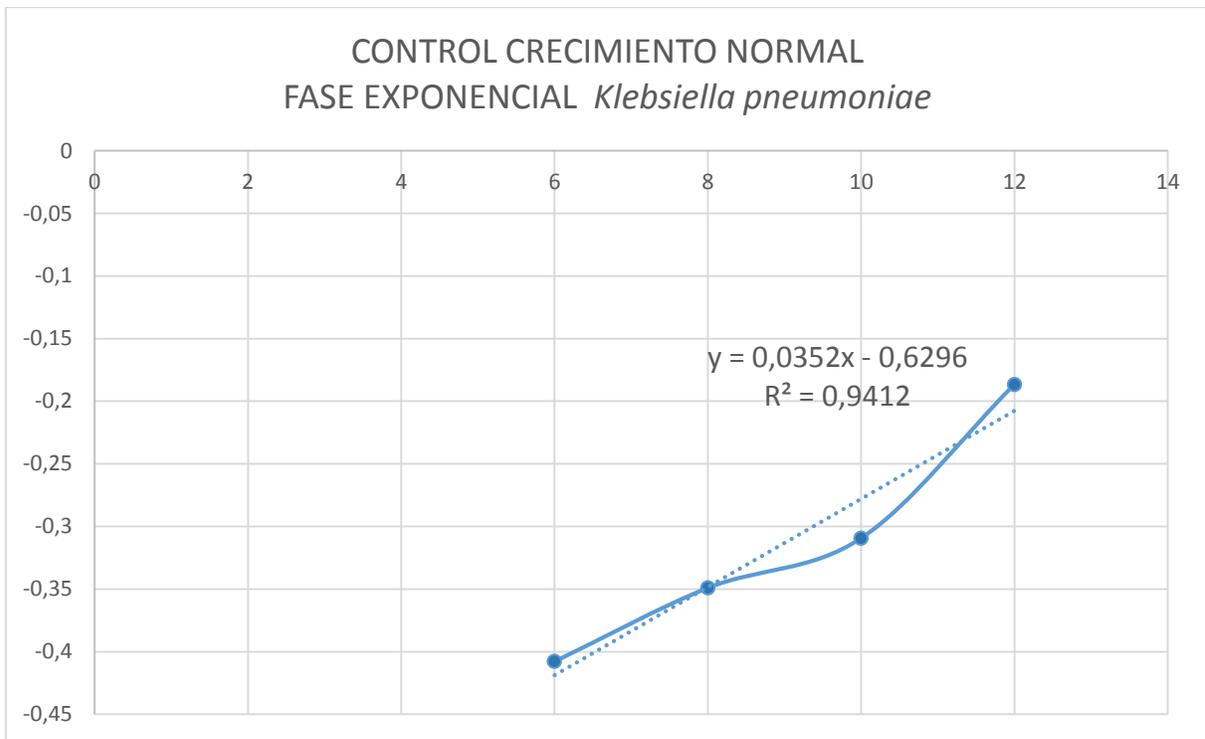


Fig. 22. Método gráfico para distinguir la fase exponencial del crecimiento normal de *K. pneumoniae*.

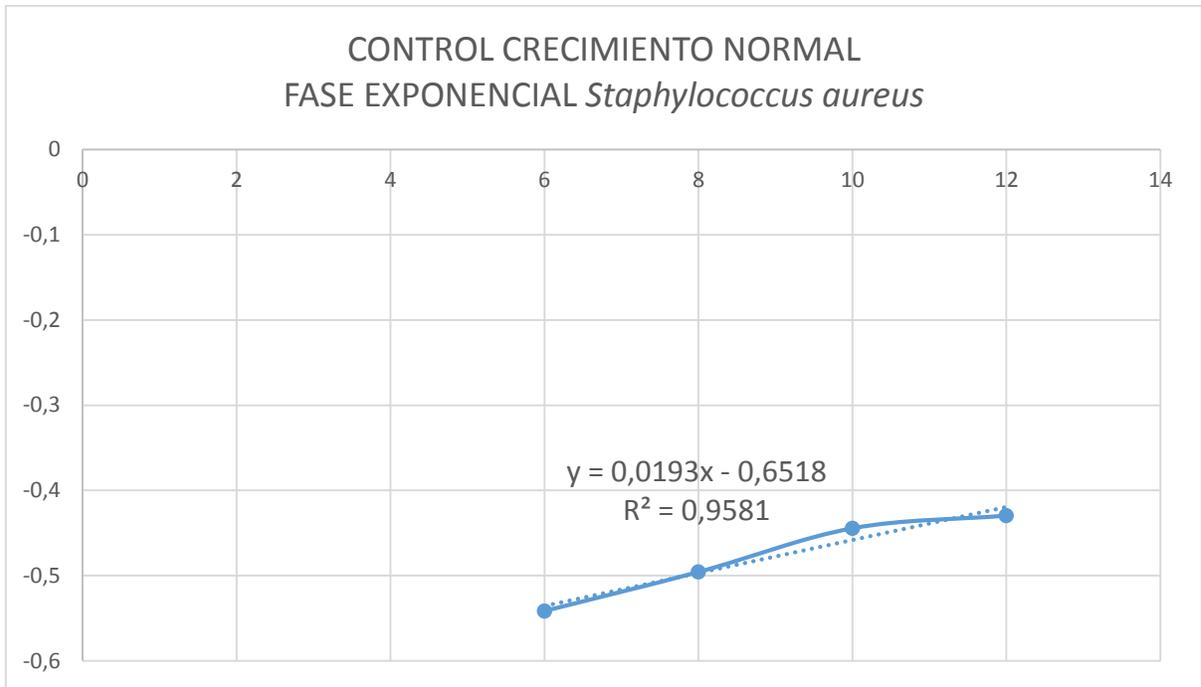


Fig. 23. Método gráfico para distinguir la fase exponencial del crecimiento normal de *S. aureus*.

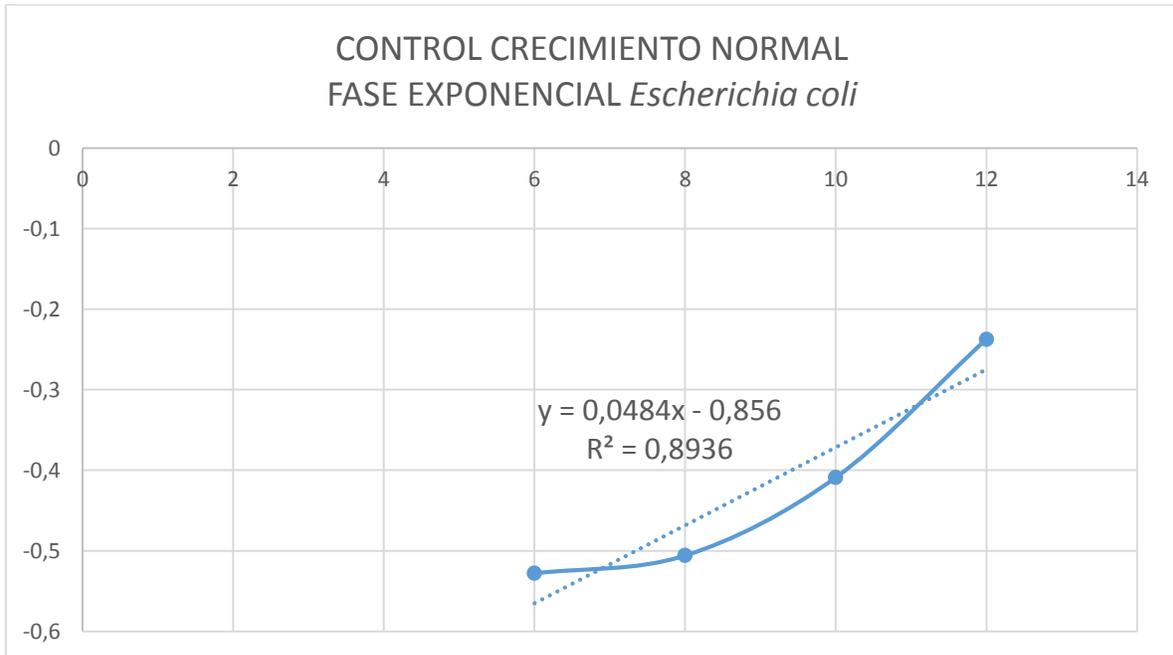


Fig. 24. Método gráfico para distinguir la fase exponencial del crecimiento normal de *E. coli*.

ANEXO X Análisis para *K. pneumoniae* CON ANTIBIÓTICOS.

Análisis de Varianza (multifactorial) y Análisis de Rango Múltiple para las pruebas de curvas de crecimiento bacteriano de tres cepas asociadas a enfermedades respiratorias: *K. pneumoniae*, *S. aureus* y *E. coli*, expuestas a los tratamientos ETA FA, ETA FC, ETA CRUDO, AC FA, AC CRUDO y CONTROL. (Programa estadístico Statgraphics Centurion XVI).

Variable dependiente: **Col_4 ABSORBANCIA**

Factores:

Col_1 TRATAMIENTO

Col_2 REPETICIONES

Col_3 LECTURAS

Número de casos completos: 312

El StatAdvisor

Este procedimiento ejecuta un análisis de varianza de varios factores para Col_4 (absorbancia). Realiza varias pruebas y gráficas para determinar que factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre Col_4 (absorbancia). También evalúa la significancia de las interacciones entre los factores, si es que hay suficientes datos. Las pruebas-F en la tabla ANOVA le permitirán identificar los factores significativos. Para cada factor significativo, las Pruebas de Rangos Múltiples le dirán cuales medias son significativamente diferentes de otras.

Cuadro 23. Análisis de Varianza para absorbancia Suma de Cuadrados Tipo III.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
TRATAMIENTO	8.68101	7	1.24014	95.30	0.0001
REPETICIONES	0.0102946	3	0.00343152	0.26	0.8515
LECTURAS	16.9039	11	1.53672	118.10	0.0001
RESIDUOS	3.77363	290	0.0130125		
TOTAL (CORR.)	30.4819	311			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

El StatAdvisor. La tabla ANOVA descompone la variabilidad de Col_4 (absorbancia) en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 2 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre Col_4 (absorbancia) con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 24. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia. *K. pneumoniae* con antibióticos.

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos					
7 Amikacina	24	-1.92665	0.738956	X					
6 Enrofloxacin	24	-1.77546	0.738956	X					
2 ETA FC	48	-0.608944	0.498204		X				
3 ETA CRUDO	48	-0.597617	0.498204		X				
8 CONTROL	24	-0.514831	0.738956		X	X			
1 ETA FA	48	-0.512008	0.498204		X	X			
5 AC CRUDO	48	-0.504333	0.498204		X	X			
4 AC FA	48	-0.41745	0.498204			X			

Análisis de *K. pneumoniae* sin antibióticos.

Número de casos completos: 264

Cuadro 25. Análisis de Varianza para absorbancia. *K. pneumoniae* sin antibióticos.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
TRATAMIENTOS	0.525179	5	0.105036	34.11	0.0001
REPETICIONES	0.0103695	3	0.00345651	1.12	0.3405
LECTURAS	19.9167	11	1.81061	588.06	0.0001
RESIDUOS	0.751261	244	0.00307894		
TOTAL (CORR.)	21.2002	263			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

Cuadro 26. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por Tratamiento. *K. pneumoniae* sin antibióticos.

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos					
2 ETA FC	48	0.4155	0.00800903	X					
3 ETA CRUDO	48	0.476125	0.00800903		X				
1 ETA FA	48	0.481833	0.00800903		X				
6 CONTROL	24	0.515904	0.0118793			X			
5 AC CRUDO	48	0.515904	0.00800903			X			
4 AC FA	48	0.553167	0.00800903				X		

Análisis DE *K. pneumoniae* con antibióticos exponencial

Número de casos completos: 104

Cuadro 27. Análisis de Varianza para absorbancia. *K. pneumoniae* con antibióticos exponencial.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
TRATAMIENTO	1.45687	7	0.208124	201.04	0.0001
REPETICIONES	0.0014819	3	0.000493967	0.48	0.6990
LECTURAS	0.151194	3	0.050398	48.68	0.0001
RESIDUOS	0.093172	90	0.00103524		
TOTAL (CORR.)	1.83366	103			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Cuadro 28. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por Tratamiento. *K. pneumoniae* con antibióticos exponencial.

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos					
6 Enrofloxacina	8	0.0479125	0.0119309	X					
7 Amikacina	8	0.0500375	0.0119309	X					
2 ETA FC	16	0.286313	0.00804381		X				
4 AC FA	16	0.305437	0.00804381		X	X			
8 CONTROL	8	0.330538	0.0119309			X	X		
3 ETA CRUDO	16	0.34575	0.00804381				X		
1 ETA FA	16	0.403938	0.00804381		X	X		X	
5 AC CRUDO	16	0.459125	0.00804381			X			X

Análisis DE *K. pneumoniae* sin antibióticos exponencial

Número de casos completos: 88

Cuadro 29. Análisis de Varianza para absorbancia. *K. pneumoniae* sin antibióticos exponencial.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
TRATAMIENTO	0.33169	5	0.066338	68.52	0.0001
REPETICIONES	0.00148386	3	0.000494619	0.51	0.6760
LECTURAS	0.166926	3	0.055642	57.47	0.0001
RESIDUOS	0.073583	76	0.000968198		
TOTAL (CORR.)	0.572576	87			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Cuadro 30. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por Tratamiento. *K. pneumoniae* sin antibióticos exponencial.

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos					
2 ETA FC	16	0.286313	0.00777897	X					
4 AC FA	16	0.305438	0.00777897	X	X				
6 CONTROL	8	0.330538	0.0115381		X	X			
3 ETA CRUDO	16	0.34575	0.00777897			X			
1 ETA FA	16	0.403937	0.00777897				X		
5 AC CRUDO	16	0.459125	0.00777897					X	

ANEXO XI Análisis DE *Staphylococcus aureus* con antibióticos

Variable dependiente: **Col_4 ABSORBANCIA**

Factores:

- Col_1 TRATAMIENTO**
- Col_2 REPETICIONES**
- Col_3 LECTURAS**

Número de casos completos: 312

Cuadro 31. Análisis de Varianza para absorbancia. *S. aureus* con antibióticos.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
TRATAMIENTOS	3.2257	7	0.460814	104.41	0.0001
REPETICIONES	0.0114013	3	0.00380042	0.86	0.4617
LECTURAS	4.41062	11	0.400965	90.85	0.0001
RESIDUOS	1.27988	290	0.00441339		
TOTAL (CORR.)	9.30346	311			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Cuadro 32. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por Tratamiento. *S. aureus* con antibióticos.

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos					
6 Enrofloxacina	24	0.05395	0.0142225	X					
7 Amikacina	24	0.0551167	0.0142225	X					
2 ETA FC	48	0.276042	0.00958883		X				
4 AC FA	48	0.305625	0.00958883			X			
8 CONTROL	48	0.309408	0.0142225		X	X			
3 ETA CRUDO	24	0.322125	0.00958883			X			
1 ETA FA	48	0.351979	0.00958883				X		
5 AC CRUDO	48	0.409938	0.00958883					X	

Análisis de *S. aureus* sin antibióticos.

Número de casos completos: 264

Cuadro 33. Análisis de Varianza para absorbancia. *S. aureus* sin antibióticos.

Fuente	Suma Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
TRATAMIENTOS	0.510052	5	0.10201	55.22	0.0001
REPETICIONES	0.0116559	3	0.00388531	2.10	0.1004
LECTURAS	5.2307	11	0.475519	257.39	0.0001
RESIDUOS	0.450778	244	0.00184745		
TOTAL (CORR.)	6.20357	263			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Cuadro 34. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por Tratamiento. *S. aureus* sin antibióticos.

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos					
2 ETA FC	48	0.276042	0.00620392	X					
4 AC FA	48	0.305625	0.00620392		X				
6 CONTROL	24	0.309408	0.0092019		X				
3 ETA CRUDO	48	0.322125	0.00620392		X				
1 ETA FA	48	0.351979	0.00620392			X			
5 AC CRUDO	48	0.409938	0.00620392				X		

Análisis de *S. aureus* con antibióticos exponencial.

Número de casos completos: 130

Cuadro 35. Análisis de Varianza para absorbancia. *S. aureus* con antibióticos exponencial.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
TRATAMIENTO	1.44222	7	0.206031	113.29	0.0001
REPETICIONES	0.00218376	3	0.00072792	0.40	0.7531
LECTURAS	0.394108	4	0.0985269	54.18	0.0001
RESIDUOS	0.209132	115	0.00181854		
TOTAL (CORR.)	2.17547	129			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Cuadro 36. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por Tratamiento. *S. aureus* con antibióticos exponencial.

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos						
6 Enrofloxacina	10	0.05117	0.0141435	X						
7 Amikacina	10	0.05387	0.0141435	X						
2 ETA FC	20	0.269	0.00953557		X					
4 AC FA	20	0.2891	0.00953557		X	X				
8 CONTROL	10	0.31557	0.0141435			X	X			
3 ETA CRUDO	20	0.32195	0.00953557				X			
1 ETA FA	20	0.3692	0.00953557					X		
5 AC CRUDO	20	0.4153	0.00953557							X

Análisis de *S. aureus* sin antibióticos exponencial.

Variable dependiente: **Col_4 ABSORBANCIA**

Factores:

Col_1 TRATAMIENTO
Col_2 REPETICIONES
Col_3 LECTURAS

Número de casos completos: 110

Cuadro 37. Análisis de Varianza para absorbancia. *S. aureus* sin antibióticos exponencial.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
TRATAMIENTO	0.287086	5	0.0574171	42.39	0.0001
REPETICIONES	0.00218346	3	0.00072782	0.54	0.6578
LECTURAS	0.467181	4	0.116795	86.24	0.0001
RESIDUOS	0.131372	97	0.00135435		
TOTAL (CORREGIDO)	0.887	109			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Cuadro 38. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por Tratamiento. *S. aureus* sin antibióticos exponencial.

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos						
2 ETA FC	20	0.269	0.00822907	X						
4 AC FA	20	0.2891	0.00822907	X	X					
6 CONTROL	10	0.309408	0.0122057		X	X				
3 ETA CRUDO	20	0.322125	0.00822907			X				
1 ETA FA	20	0.351979	0.00822907				X			
5 AC CRUDO	20	0.409938	0.00822907					X		

ANEXO XII Análisis de *Escherichia coli* con antibióticos

Número de casos completos: 312

Cuadro 39. Análisis de Varianza para absorbancia. *E. coli* con antibióticos.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
TRATAMIENTOS	4.67216	7	0.667452	97.95	0.0001
REPETICIONES	0.0225186	3	0.00750619	1.10	0.3488
LECTURAS	5.13266	11	0.466606	68.47	0.0001
RESIDUOS	1.97619	290	0.00681446		
TOTAL (CORREGIDO)	11.9725	311			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

Cuadro 40. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por tratamiento *E. coli* con antibióticos.

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos					
7 Amikacina	24	0.0086708	0.0176728	X					
6 Enrofloxacina	24	0.0133792	0.0176728	X					
5 AC CRUDO	48	0.270625	0.011915		X				
2 ETA FC	48	0.289208	0.011915		X				
4 AC FA	48	0.331729	0.011915			X			
1 ETA FA	48	0.373896	0.011915				X		
3 ETA CRUDO	48	0.384813	0.011915				X	X	
8 CONTROL	24	0.421004	0.0176728					X	

Análisis de *E. coli* sin antibióticos.

Número de casos completos: 264

Cuadro 41. Análisis de Varianza para absorbancia *E. coli* sin antibióticos.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
TRATAMIENTOS	0.65137	5	0.130274	30.79	0.0001
REPETICIONES	0.02321	3	0.00773665	1.83	0.1426
LECTURAS	6.07102	11	0.551911	130.43	0.0001
RESIDUOS	1.03251	244	0.00423159		
TOTAL (CORREGIDO)	7.83043	263			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Cuadro 42. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por tratamiento. *E. coli* sin antibióticos.

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos					
5 AC CRUDO	48	0.270625	0.011915	X					
2 ETA FC	48	0.289208	0.011915	X					
4 AC FA	48	0.331729	0.011915		X				
1 ETA FA	48	0.373896	0.011915			X			
3 ETA CRUDO	48	0.384813	0.011915			X			
6 CONTROL	24	0.421004	0.0176728				X		

Análisis de *E. coli* con antibióticos exponencial.

Número de casos completos: 78

Cuadro 43. Análisis de Varianza para absorbancia. *E. coli* con antibióticos exponencial.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFEKTOS PRINCIPALES					
TRATAMIENTO	1.21768	7	0.173954	70.54	0.0001
REPETICIONES	0.00289547	3	0.000965157	0.39	0.7596
LECTURAS	0.275898	2	0.137949	55.94	0.0001
RESIDUOS	0.160296	65	0.00246609		
TOTAL (CORREGIDO)	1.71532	77			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Cuadro 44. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por tratamiento *E. coli* con antibióticos exponencial.

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos					
7 Amikacina	6	0.0091166	0.021263	X					
6 Enrofloxacina	6	0.0146167	0.021263	X					
5 AC CRUDO	12	0.268333	0.0143355		X				
2 ETA FC	12	0.288667	0.0143355		X				
4 AC FA	12	0.301167	0.0143355		X				
3 ETA CRUDO	12	0.392	0.0143355			X			
1 ETA FA	12	0.397583	0.0143355			X			
8 CONTROL	6	0.421617	0.021263				X		

Análisis de *E. coli* sin antibióticos exponencial.

Número de casos completos: 66

Cuadro 45. Análisis de Varianza para absorbancia. *E. coli* sin antibióticos exponencial.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Col_1	0.219418	5	0.0438837	22.66	0.0001
B:Col_2	0.00299645	3	0.000998817	0.52	0.6731
C:Col_3	0.328418	2	0.164209	84.80	0.0001
RESIDUOS	0.106505	55	0.00193646		
TOTAL (CORREGIDO)	0.666756	65			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

Cuadro 46. Pruebas de Rango Múltiple para absorbancia por tratamiento *E. coli* sin antibióticos exponencial.

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos			
5 AC CRUDO	12	0.268333	0.0127032	X			
2 ETA FC	12	0.288667	0.0127032	X			
4 AC FA	12	0.301167	0.0127032	X			
3 ETA CRUDO	12	0.392	0.0127032		X		
1 ETA FA	12	0.397583	0.0127032		X		
6 CONTROL	6	0.421617	0.0188419		X		

ANEXO XIII Aparatos y sustancias con Marca y país de origen.

Liofilizador (LABCONCO Freezone 2.5 Liter Benchtop Freze Dry System Cat 7670521, Kansas City, U.S.A.)

Ultracongelador (Thermo REVCO) (Privada Maiz manzana 19 Lote 16, C-16, Las trojes, Temoaya, Edomex.)

Rotavapor (Buchi Rotavapor R-300 Evaporation Systems, U.S) (BUCHI Latinoamérica, Rua Francisco Glicério, 175, 13271-200, Valinhos – SP, Brasil).

Cloroformo (Baker. Serviquimia, Pol. Ind. de Constantí C/ Dinamarca, s/n 43120 Constantí, Tarragona, España).

Medio de cultivo BHI (corazón, hígado y cerebro) (BD Bioxon™. Monte Pelvoux 111, 9º Piso; Col. Lomas de Chapultepec; Del. Miguel Hidalgo. Méx., D.F. 11,000 México).

Incubadora PROBLOT 12S marca LABNET (31 Mayfield Avenue Edison-NJ08837, USA).

Espectrofotómetro BIOMATE 3 marca THERMO ELECTON CORPORATION (166 Cummings Center. Beverly, MA 01915 USA.).

Microcentrifuga Centrifuge MiniSpin plus, Eppendorf (Barkhausenweg 1, 22339, Hamburg, Deutschland).