



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**“Análisis biodirigido de Malva parviflora
para validar su uso tradicional como
auxiliar en el tratamiento de la
gastritis .”**

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

DIRECTORA DE TESIS:
DRA. MARÍA CRISTINA PÉREZ AMADOR BARRÓN



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

2005

m. 343654



FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Mendiola Almaraz Lorena

FECHA: 29 de Abril 2005

FIRMA: [Firma manuscrita]

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito: "Análisis biodirigido de Malva parviflora para validar su uso tradicional como auxiliar en el tratamiento de la gastritis", realizado por Lorena Mendiola Almaraz

con número de cuenta 097172350 , quien cubrió los créditos de la carrera de: Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis Dra. María Cristina Pérez-Amador Barrón
 Propietario

Propietario M. en C. Josefina Herrera Santoyo

Propietario Dra. Patricia Guevara Fefer

Suplente M. en C. Raúl Contreras Medina

Suplente Dra. Helia Reyna Osuna Fernández

[Firma manuscrita]

[Firma manuscrita]

[Firma manuscrita]

[Firma manuscrita]

Consejo Departamental de Biología

FACULTAD DE CIENCIAS

[Firma manuscrita]
 M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chavez



UNIDAD DE ENSEÑANZA
DE BIOLOGÍA

DEDICATORIA

A mis padres enseñarme a luchar por mis metas sin importar que tan oscuro se vea el camino.

A mis hermanas Nydia, Mayra y Nelly, por hacerme la vida más ligera con su presencia y su cariño.

A Etienne que me ha apoyado incondicionalmente.

A todos mis familiares y amigos por estar presentes y apoyarme en la realización de este sueño.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. María Cristina Pérez Amador Barrón por dirigir este trabajo.

A la M. en C. Josefina Herrera Santoyo por su apoyo en la realización de este trabajo; su asesoría en las pruebas biológicas, su amistad durante mi estancia en el laboratorio y por sus clases de paciencia (especialmente en las pruebas con *Artemia salina*).

A Verónica Muñoz Ocotero por su apoyo en la realización de extractos selectivos, y cromatogramas.

A la Dra. Patricia Guevara Fefer por su asesoría en la realización de extractos acuosos; así como por su amistad y consejos dentro y fuera del laboratorio.

Al M. en C. Raúl Contreras Medina por la revisión de este trabajo y por su amistad a lo largo de la carrera.

A la Dra. Elia Reyna Osuna Fernández por la revisión de este trabajo.

A Susana Valencia por la identificación botánica de los ejemplares de *Malva parviflora* L.

Un agradecimiento muy especial a Carolina, mi tía, y a la señora Marina, por su apoyo en este trabajo ya que sin su ayuda no se hubiera realizado.

Al laboratorio de pruebas biológicas en el Instituto de Química, de la UNAM.

Al departamento de microbiología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

INDICE

	Página
Resumen	1
Introducción	1
Antecedentes	3
Objetivos	9
Diagrama de metodología general	10
Material y métodos	11
Resultados y discusión	20
Conclusión	34
Perspectivas	35
Referencias	36

RESUMEN

En México una de las enfermedades comunes es la gastritis, pero con frecuencia no es atendida ya que los medicamentos para tratarla son costosos.

Por estos motivos se investigó entre los remedios utilizados en medicina tradicional una planta que ayudara al tratamiento de la gastritis; y fue *Malva parviflora* L. la planta que se eligió para el estudio.

Este estudio se realizó en raíces y hojas de *Malva parviflora* L. recolectada en Huixquilucan, Estado de México. Se obtuvieron extractos acuosos (directos e infusiones) y selectivos (hexánicos, de acetato de etilo y metanólicos) para ambos órganos; a todos los extractos se les realizaron pruebas generales para determinar grupos de metabolitos secundarios. También se determinó su toxicidad en nauplios de *A. salina*, y se probó su actividad bacteriostática (en bacterias gram + y gram -) y antiinflamatoria (en un modelo de edema de ratón inducido por TPA).

El grupo de metabolitos secundarios más abundante fue el de los terpenos y esteroides que se presentó en los extractos selectivos de hojas; para la prueba de toxicidad realizada en nauplios de *A. salina* el extracto con mayor actividad fue el metanólico de raíz; la actividad bacteriostática se observó mejor en los extractos acuosos (tanto directos como infusiones) para ambos órganos; la actividad antiinflamatoria fue mayor en los extractos acuosos de raíz que en los de hoja. Estos resultados ayudan al avance de la validación el uso tradicional de *Malva parviflora* L.

INTRODUCCIÓN

México es un país con una gran diversidad tanto de flora como de fauna, esto se debe a la combinación de varios factores ambientales: la ubicación del país en una zona de transición entre dos regiones biogeográficas, el Neártico y el Neotropical, una accidentada orografía, una historia geológica compleja y la presencia de casi todos los climas del mundo (Carabias, 1994)

Además México ocupa el tercer lugar en biodiversidad a nivel mundial. El primero en reptiles (217 especies), el segundo en mamíferos (449), el cuarto en anfibios (282); y el 32% de la fauna es endémica (Williams, Halffter, Ezcurra, 1992, en Carabias *op. cit.*).

“Se calcula que existen alrededor de 22 mil especies de plantas fanerógamas de las que el 52% aproximadamente son endémicas, se encuentran fundamentalmente en matorral xerófilo de las zonas áridas y semiáridas y en los pastizales” (Rzedowzki, 1992, en Carabias *op. cit.*). También es un país con una riqueza cultural muy grande, donde se conservan un número importante de etnias (53 etnias, CDI, 2003), entre las que se encuentran Mayas, Zapotecas, Totonacas, etc. que conservan un amplio conocimiento tradicional.

En los últimos tiempos el conocimiento tradicional o folk ha sido de vital importancia para el descubrimiento de nuevos medicamentos (Cox, 1993), basándonos en las plantas que se conocen como plantas medicinales que son utilizadas desde tiempos antiguos por indígenas buscamos contrarrestar las enfermedades más comunes en la población. Este conocimiento se ha validado en los últimos tiempos con la ayuda de varias ciencias, como la etnobotánica, la biología, la química y la farmacología, que trabajan en conjunto para conocer los principios activos (el compuesto de la planta que ayuda a curar la enfermedad) haciendo nuevos medicamentos, y bajando en lo posible el costo en el tratamiento de algunas enfermedades.

Este mejoramiento ha sido posible desde que los investigadores se fijaron en la importancia de los metabolitos secundarios, en un principio tratados como desechos de la planta, pues se creía que no tenían una utilidad en sí mismos. Mientras que por el contrario, a las plantas éstos les sirven de defensa contra el ataque de animales fitófagos, entre otras funciones (Dirzo, 1985)

Hoy en día el uso de medicamentos es cada vez más complicado, ya que algunos tratamientos pueden causar efectos secundarios además los precios de los medicamentos son muy elevados, y en ocasiones son incosteables para la mayoría de la población. Debido a esto si se logra desarrollar una medicina alternativa con bajos costos y que disminuyan el riesgo de tener efectos secundarios se brindará una mejor calidad de vida a los pacientes, más gente tendrá acceso a ellos y las enfermedades se podrán controlar en un mayor número de personas.

La gastritis es una enfermedad común en la población (Alan, 2001) y su tratamiento provoca efectos secundarios. Estos varían dependiendo de la clase específica del medicamento involucrado, pero en general los comúnmente observados son: los antiácidos que contienen hidróxido de magnesio los cuales pueden provocar elevaciones excesivas de la concentración de magnesio en el cuerpo y pueden afectar a personas con insuficiencia renal; otros antiácidos que tienen altas concentraciones de calcio, pueden provocar un "rebote ácido" horas después de haberse suministrado; los inhibidores de la Bomba de Protones pueden llegar a producir "falta crónica de ácido" en el estómago lo cual estimula la secreción de una hormona denominada gastrina y esto puede ocasionar el crecimiento o "hiperplasia" de las glándulas del estómago, originando en el futuro la aparición de pequeños tumores (NEXIUM, 2002).

Además su tratamiento suele ser largo y caro para los pacientes por lo que este trabajo fue dirigido a una de las plantas utilizadas en medicina tradicional para tratar este padecimiento.

La especie *Malva parviflora* L. (Malvaceae) con la que se realizó el estudio fue elegida entre los remedios utilizados en Huixquilucan en el Estado de México por la comunidad. Gente de la misma comunidad nos ayudó a la recolecta y proporcionó la receta para el uso de la planta contra la gastritis, que consiste en tomar un cocimiento de la raíz de "malva" como té durante algunos días.

No se tienen informes científicos a la fecha del uso de esta especie contra la gastritis.

ANTECEDENTES

Enfermedad

Gastritis es el término utilizado por los médicos para referirse a un cuadro muy frecuente en patología humana que se manifiesta por síntomas como vómitos y dolor epigástrico (Correa *et al.*, 1986).

Las causas de la gastritis son muy diversas, entre las más comunes se encuentran:
*Alcohol: que provoca inflamación y daño al estómago, ya que su consumo estimula la producción de ácido.

La gastritis es una enfermedad común en la población (Alan, 2001) y su tratamiento provoca efectos secundarios. Estos varían dependiendo de la clase específica del medicamento involucrado, pero en general los comúnmente observados son: los antiácidos que contienen hidróxido de magnesio los cuales pueden provocar elevaciones excesivas de la concentración de magnesio en el cuerpo y pueden afectar a personas con insuficiencia renal; otros antiácidos que tienen altas concentraciones de calcio, pueden provocar un "rebote ácido" horas después de haberse suministrado; los inhibidores de la Bomba de Protones pueden llegar a producir "falta crónica de ácido" en el estómago lo cual estimula la secreción de una hormona denominada gastrina y esto puede ocasionar el crecimiento o "hiperplasia" de las glándulas del estómago, originando en el futuro la aparición de pequeños tumores (NEXIUM, 2002).

Además su tratamiento suele ser largo y caro para los pacientes por lo que este trabajo fue dirigido a una de las plantas utilizadas en medicina tradicional para tratar este padecimiento.

La especie *Malva parviflora* L. (Malvaceae) con la que se realizó el estudio fue elegida entre los remedios utilizados en Huixquilucan en el Estado de México por la comunidad. Gente de la misma comunidad nos ayudó a la recolecta y proporcionó la receta para el uso de la planta contra la gastritis, que consiste en tomar un cocimiento de la raíz de "malva" como té durante algunos días.

No se tienen informes científicos a la fecha del uso de esta especie contra la gastritis.

ANTECEDENTES

Enfermedad

Gastritis es el término utilizado por los médicos para referirse a un cuadro muy frecuente en patología humana que se manifiesta por síntomas como vómitos y dolor epigástrico (Correa *et al.*, 1986).

Las causas de la gastritis son muy diversas, entre las más comunes se encuentran:

*Alcohol: que provoca inflamación y daño al estómago, ya que su consumo estimula la producción de ácido.

*Alimentos que contienen gran cantidad de especias.

*Algunos fármacos principalmente aspirina y DAINE (drogas antiinflamatorias no esteroideas). El uso prolongado de la aspirina reduce la prostaglandina que es una sustancia protectora del estómago. Estas sustancias (DAINE) no causan problemas a corto plazo (NEXIUM, 2002; Correa *et al.*, 1986).

**Helicobacter pylori*. es una bacteria que se encuentra normalmente en el estómago, pero en infecciones agudas afecta la gruesa capa de mucosa que lo recubre, produciendo una inflamación aguda y crónica. La infección de *H. pylori* se incrementa con la edad, ocurre en un 10% en gente de menos de 30 años de edad y se incrementa a casi 60% en gente de más de 60 años. (Alan, 2001)

Familia Malvaceae

Hábito: hierbas, arbustos o rara vez pequeños árboles, con indumento de pelos estrellados, también escamas peltadas u otros tipos de pelos; hojas alternas, simples, enteras o divididas, generalmente palmatinervias, estipuladas.

Flores: de solitarias y axilares a dispuestas en inflorescencias cimosas compuestas.

Perianto: epicáliz a menudo presente; sépalos 5, más o menos connados en la base; nectarios formados por penachos de pelos en la base de los sépalos; pétalos 5, libres, a menudo adnados a la base del tubo de los filamentos.

Androceo: con estambres con los filamentos connados en un tubo; anteras bisporangiadas, monotécicas; polen equinado, pantoporado.

Gineceo: de (1)2-muchos (a menudo 5) carpelos unidos, con igual o doble número de estilos que de carpelos; primordios seminales 1-muchos.

Fruto: cápsula loculicida o esquizocarpo separándose en mericarpos, rara vez una drupa o sámara.

Tamaño: 75 géneros, 1000-1500 especies.

Distribución: cosmopolita, mejor representada en los trópicos.

(Cronquist, 1981 y SIT de México, 2005).

Especie



Tomada de UIB, 2003



Ubicación taxonómica

Malva parviflora L.

Division: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Dilleniidae

Orden: Malvales

Familia: Malvaceae

Género: *Malva*

Especie: *Malva parviflora* L.

(Cronquist, 1981)

Descripción

Malva parviflora L. es una hierba ascendente de 60 cm de altura, sin pelos, de hojas anchas en forma de riñón con cinco ondulaciones muy marcadas en el borde y unidas al tallo por un largo soporte. Las flores son pequeñas en grupo de cuatro que salen en la unión del tallo con la hoja con pétalos lilas. Los frutos tienen forma de pequeños quesos, son arrugados con una sola semilla. Habita como maleza en varios Estados de la República, pero es una planta

originaria de Europa que habita en climas calidos, semicálidos y templados, desde los 1000 m snm hasta los 3900 m snm . (Aguilar et al, 1996 e INI, 1994)

Sinonímias

Conocida comúnmente como “malva”, es una planta introducida de uso frecuente y extendida actualmente en el país. En los distintos estados de la República toma los siguientes nombres: huitle (Hidalgo), malva (Chiapas, Estado de México, Puebla, Veracruz), malva de quesitos (Tlaxcala) (Aguilar et al, 1996). Juriata eranchi, juriaterango (lengua purépecha), yucu ndi-candi (Guerrero., mixteco), “Ská tzo bii” (hoja de sol) (SEMARNAT, 2003).

Distribución en la República Mexicana:

Chiapas, Estado de México, Hidalgo, Michoacán, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Tlaxcala, Guerrero, Veracruz y Zacatecas (Aguilar et al, 1996 y SEMARNAT, 2003).

Usos medicinales:

Principalmente es utilizado para desinflamar, para problemas del estómago como la gastritis, así como problemas del hígado, garganta e intestino, entre otros. Se debe beber un cocimiento de la planta.

Se utiliza toda la planta en cocimiento para lavar las heridas.

En el caso de desinflamar las heridas, se prepara una pasta que se aplica en forma de emplastos. (Aguilar et al. 1996)

Para la varicela se utiliza el agua resultante del hervor de la planta.

Sancochada en el sartén y aplicada como emplasto en el vientre actúa como ocitótico expulsando la “sangre cuajosa” que se quedó dentro de la matriz después del parto. (SEMARNAT, 2003)

Uso comestible:

Las hojas se comen como quelite.

Antecedentes químicos

Las Malváceas se caracterizan por su mucílago abundante y por el aceite de sus semillas que tienen ácidos grasos ciclopropanoides.

El mucílago es un compuesto ácido de membrana y varía en cantidad y composición según el género.

En análisis hechos en *Althaea officinalis* y *Malva silvestris* se encontró que el mucílago está constituido por ácido galacturónico (15-30 %), metilpentosa (4-40 % ramnosa) y hexosas (30-50 % de galactosa 4-18 % de glucosa).

Franz (1966) (en Classen y Wolfgang *op. cit.*) en reporta el contenido de mucílago en estas dos especies, lo cual da una idea de la cantidad que contienen, para *Malva silvestris* encontró en hojas 8.2 %, en flores 6.1 % y en flores sin cáliz 8.9 % de mucílago crudo.

En general son pocos los trabajos en cuanto a la química de *Malva parviflora*, y están poco estudiados sus metabolitos secundarios, en su mayoría los trabajos de los últimos cincuenta y cinco años están dirigidos a metabolismo primario (proteínas)¹.

Entre los trabajos hechos directamente con *Malva parviflora* esta el aislamiento de un nuevo estigmastano de la raíz, el "5 α -estigmast-9(11)-en-3-ona" (Sharma *et al*, 1999). Otros para la familia Malvaceae son: un estudio del contenido de ácidos epóxicos en semillas (Hopkins *et al*, 1960), un análisis histoquímico de las características del polen durante el desarrollo (Rumi *et al*, 1973), un trabajo sobre los flavonoides presentes en hojas y flores (Matlawaska, 1990); todos estos en distintos géneros de la familia. También se encontró un estudio donde comparan muestras de mucílago de siete familias, entre ellas la familia Malvaceae, con base en su actividad hipoglucémica (Tomoda *et al*, 1987).

¹Información tomada del Chemical abstract de 1950 a 2005

Antecedentes farmacológicos

Es una planta poco estudiada en cuanto a su acción biológica. Se ha comprobado su actividad como diurético, por lo que se justifica su uso para afecciones renales e hidropesía (INI, 1994).

Se probó su acción contra *Mycobacterium avium*, encontrándose que su extracto metanólico inhibe el crecimiento de esta bacteria (Jiménez-Arellanes *et al.* 2003).

En África se realizó un estudio en extractos de raíz y hojas de las dos formas de crecimiento de *Malva parviflora*, comparando en estas dos formas de crecimiento la actividad presentada en pruebas antiinflamatorias y antibacteriales, también se realizó un fraccionamiento de el extracto de diclorometano, que fue el que presentó mayor actividad antiinflamatoria, pero no se han obtenido las estructuras de los compuestos activos (Shale *et al.* 2004)

OBJETIVOS

General

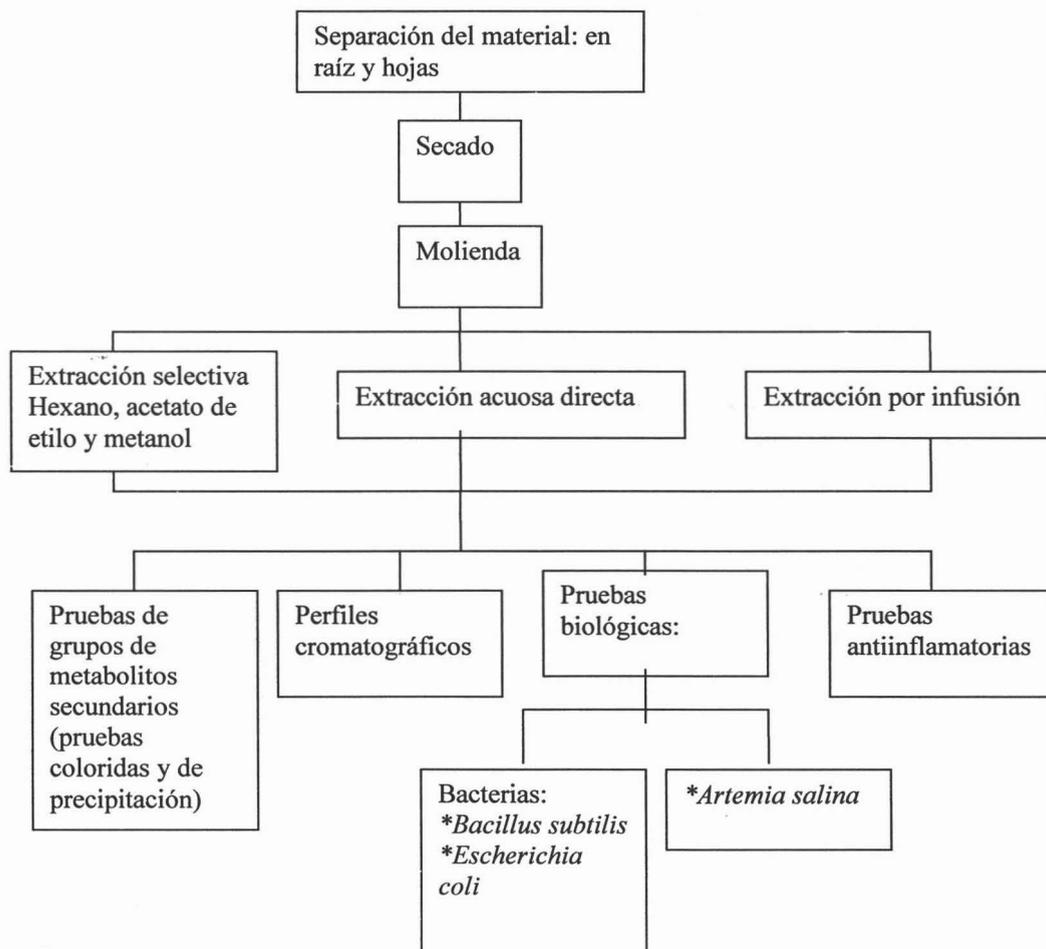
- ❖ Validar el uso de *Malva parviflora* L. en medicina tradicional mediante un análisis biodirigido de hojas y raíces.

Particulares

- ❖ Obtener extractos orgánicos y acuosos a partir de hojas y raíces de *Malva parviflora* L.
- ❖ Evaluar la actividad de los extractos de hojas y raíces de *Malva parviflora* L. utilizando un modelo biológico de *Artemia salina*.
- ❖ Detectar los grupos de metabolitos secundarios en extractos de hojas y raíces de *Malva parviflora* L. a través de pruebas generales.
- ❖ Comprobar la actividad antiinflamatoria y antibacteriana de los extractos de raíz y hojas de *Malva parviflora* L. a fin de comparar cual de ellos presenta mayor actividad.

DIAGRAMA METODOLÓGICO GENERAL

A partir de la especie recolectada y ubicada taxonómicamente, se siguieron los siguientes pasos:



MATERIAL Y MÉTODOS

Recolección

La recolección se realizó a finales del mes de septiembre de 2003 en Huixquilucan, Estado de México, con ayuda de la comunidad.

El material recolectado se depositó en bolsas de malla, que permitieron su ventilación para evitar contaminación por hongos durante su transportación.

Se colocaron ejemplares en el herbario de la Facultad de Ciencias de la UNAM donde Susana Valencia realizó determinación botánica; los números de voucher de estos corresponden al número de folio del 0095335 al 0095338.

Secado y molienda

Antes de secar el material fueron separadas las raíces, y las hojas. Se colocaron en cartón y se llevaron a la cámara de secado de la Unidad de Ambientes Controlados de la Facultad de Ciencias de la UNAM.

Posteriormente se molieron (en un molino manual) y se pesaron por separado hojas y raíces, para su posterior tratamiento.

Extracciones

Extractos selectivos

La extracción se realizó a temperatura ambiente (~25°C) por la posible presencia de compuestos termolábiles. Se pesaron 50 g de muestra seca, se colocaron en un frasco ámbar, agregando hexano hasta cubrir por completo la muestra y se dejó macerar durante un periodo de 24 horas.

Pasado este tiempo, se concentró el extracto rotaevaporando el hexano. Se llevó a cabo dos veces más la extracción. Después de estas tres extracciones se

realizaron otras tres con acetato de etilo y luego tres más con metanol, dejando secar la muestra de cada disolvente nuevo.

Para obtener el rendimiento del extracto se dejó evaporar totalmente el disolvente a presión reducida, para obtener el peso del extracto seco.

Extractos acuosos

Acuoso directo

La extracción se realizó en un equipo soxhlet, se preparó el cartucho para cada órgano (raíz y hojas) con cinco gramos de muestra y la extracción se efectuó en 3 periodos de 8 horas. El extracto obtenido se liofilizó para obtener el peso del extracto seco.

Infusión

La infusión se preparó con 250 ml de agua destilada hirviendo, inmediatamente después de retirarla del calentamiento se adicionó la muestra (5 g), se dejó reposar 3 minutos, posteriormente se filtró el extracto y se liofilizó.

Análisis de los extractos

Determinación de metabolitos secundarios

Estos grupos se detectaron con las pruebas coloridas y de precipitación (Domínguez, 1975). Se pesaron 30 mg de extracto, se disolvieron en 6 ml de metanol, y se vació 1 ml en cinco tubos de ensayo, dejando un mililitro como control, con el que se compararon los resultados finales de las reacciones.

Flavonoides. Prueba de Shinoda (Domínguez, 1975)

Se adiciona un trozo de magnesio y dos gotas de ácido clorhídrico.

*Si es positivo da un cambio de coloración a rosa o verde.

Alcaloides. Prueba con Ácido silicotúngstico y reactivo de Draggendorff (Domínguez, 1975)

El extracto de dos tubos se evapora y se redisuelve en 1 ml de ácido clorhídrico al 1%, se agregan 2 gotas de ácido silicotúngstico a un tubo y dos gotas de reactivo de Draggendorff al otro tubo de ensaye.

*Si la prueba es positiva se forma un precipitado color marrón.

Terpenos y esteroides. Prueba con el reactivo Liebermann- Burchard (Domínguez, 1975)

Se evapora el metanol y se redisuelve el extracto en cloroformo, se adiciona 1 ml de reactivo, que se prepara al instante de la siguiente manera: 1 ml de cloroformo + 1 ml de anhídrido acético + 1 gota de ácido sulfúrico, se debe prepara en hielo ya que la reacción es muy exotérmica.

*Si la prueba es positiva hay cambio de coloración, a verde para terpenos y a rosa para esteroides.

Glucósidos. Prueba con el reactivo de Molish (Domínguez, 1975)

Se adicionan dos gotas de α - naftol y un mililitro de ácido sulfúrico resbalando por las paredes.

* Se forma un anillo entre las fases formadas, si es violeta la prueba es positiva si es café es negativa.

Perfiles cromatográficos

Para todos los extractos se realizaron los perfiles cromatográficos en placas de gel de sílice, y se probaron distintos sistemas de elución, hasta obtener el mejor sistema de separación.

Las placas fueron vistas en una lámpara de luz UV a una longitud de onda de 365 nm, y reveladas con sulfato cérico.

Pruebas biológicas

Ensayo con *Artemia salina*

Para realizar las pruebas con *Artemia salina*, se pusieron a eclosionar los huevecillos dos días antes de realizar las pruebas, a 30 °C con agua marina, para utilizar nauplios (Meyer *et al.*, 1982).

Extracto

Se probaron para cada extracto tres concentraciones (10, 100 y 1000 ppm)

Al testigo se le agregó 1 ml de disolvente. A todos los tubos se les evaporó totalmente el disolvente en baño maría, y se redisolvió el extracto en 10 ml de agua marina (Meyer *et al.*, 1982).

Las soluciones fueron oxigenadas por 5 minutos y finalmente se colocaron 10 nauplios por tubo.

Prueba

Se realizaron cinco repeticiones por concentración para cada extracto.

Los tubos se incubaron por 24 horas a temperatura ambiente y se contó la sobrevivencia de los nauplios por tubo.

Para obtener a partir de estos resultados el porcentaje de mortandad se aplicó la siguiente fórmula (Meyer *et al.*, 1982).

$$\frac{\text{Número de individuos control} - \text{Número de individuos del tratamiento}}{\text{Número de individuos del control}} * 100 = \% \text{ de mortandad}$$

Ensayo con bacterias

Bacterias

Para realizar estas pruebas se utilizó el método de discos de papel (Bauer, *et al*, 1966).

La prueba se realizó en dos tipos de bacterias; *Bacillus subtilis* (gram +) la cepa utilizada tiene el número de catálogo ATCC 6633 y *Escherichia coli* (gram -) para la cual la cepa utilizada no tiene número de catálogo porque no ha sido tipificada. Ambas cepas fueron donadas por el departamento de microbiología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

Para tener un control en la concentración de bacterias por caja; se utilizó el estándar de Mc. Farland. Este se obtuvo utilizando una mezcla de ácido sulfúrico 0.36 N y una solución de cloruro de bario al 1% en proporciones como se indica en la tabla 1 (Bauer, *et al*, 1966).

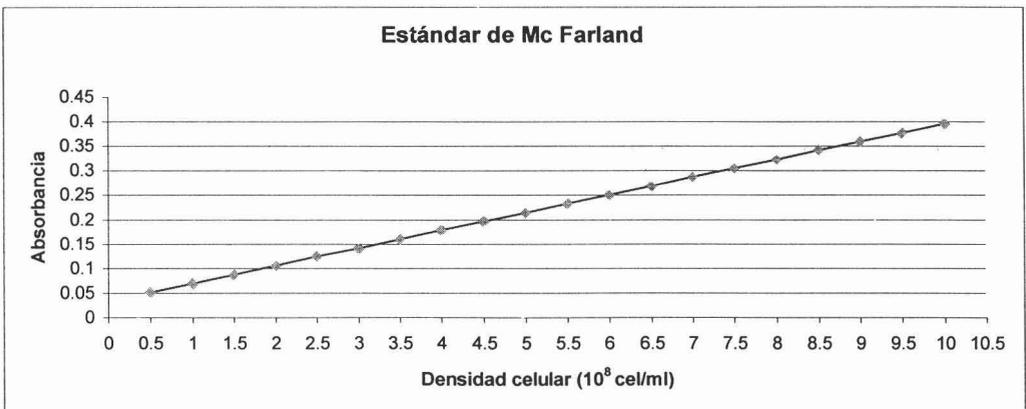
Número de tubo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ácido sulfúrico volumen en ml	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9.4	9.3	9.2	9.1	9.0
Cloruro de Bario volumen en ml	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0
Densidad celular aproximada.(x 10 ⁸ bacterias/ ml)	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30

Tabla 1.- Proporciones para obtener valores para la curva de Mc. Farland

Las bacterias se incubaron a temperatura ambiente en caldo nutritivo durante 24 horas, pasado este tiempo, se midió su absorbancia en el espectrofotómetro, a una longitud de onda de 530 nm (tabla 2). Con los datos obtenidos se realizó una regresión lineal (gráfica 1), con la que se estimó el inóculo bacteriano utilizado en las pruebas.

Número de Mc Farland	X Densidad celular ($\times 10^8$ bacterias/ ml)	Y Absorción a 530 nm
0.2	0.5	0.0513
0.3	1	0.0682
0.5	1.5	0.0863
0.7	2	0.1056
0.8	2.5	0.1237
1	3	0.1406
1.2	3.5	0.1599
1.3	4	0.178
1.5	4.5	0.1961
1.7	5	0.2142
1.8	5.5	0.2323
2	6	0.2504
2.2	6.5	0.2685
2.3	7	0.2866
2.5	7.5	0.3047
2.7	8	0.3228
2.8	8.5	0.3409
3	9	0.359
3.7	9.5	0.3771
3.3	10	0.3952

Tabla 2 Datos para el estándar de Mc Farland

Gráfica 1. Ajuste de McFarland que muestra la densidad celular ($\times 10^8$) de acuerdo a la absorbancia dada a 530 nm.

Tanto para *B. subtilis* como para *E. coli* se utilizó una densidad de 4.3×10^8 bacterias/ ml.

Sensi- discos

Se utilizaron discos con tres concentraciones para cada extracto (1, 2 y 3 mg), un control positivo (ampicilina) a una concentración de 2 mg, y un control negativo (0.5 ml del disolvente correspondiente al extracto).

Cajas

Se utilizaron cajas petri con 30 ml de medio Mueller-Hinton, adicionando 1 ml de las bacterias estandarizadas (inoculadas en caldo nutritivo) a cada caja. (Bauer *et al.*, 1966).

Repeticiones

La prueba se hizo por quintuplicado.

Se colocaron los discos de las tres concentraciones un control positivo y uno negativo en cada una de las cinco cajas por extracto (Figura 1). Dejando un espacio de 2 cm entre cada uno, para evitar la difusión de un extracto en otro.

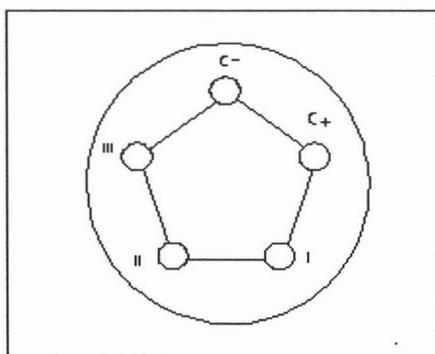


Fig. 1 Esquema de la forma en que deben ser colocados los discos impregnados dentro de las cajas Petri. Se coloca un disco de 1 mg, uno de 2 mg, uno de 3 mg, uno con ampicilina y uno con el control negativo dejando 2 cm aproximadamente entre cada disco.

Se incubaron las bacterias a una temperatura de 30 °C y se hicieron dos lecturas; la primera a las 24 horas y la segunda a las 48 horas.

La lectura de las zonas de inhibición se hizo con una regla, contando a partir del borde del disco y sumando al final los 3 mm del radio del disco (Bauer *et al.*, 1966).

Se pueden presentar dos tipos de resultados; uno donde el extracto funciona como bacteriostático, presentando una disminución en el crecimiento de las bacterias; y otro donde funciona como bactericida inhibiendo por completo el crecimiento de éstas.

Prueba de Actividad Antiinflamatoria

Se utilizaron 50 mg de los extractos de raíz y hoja de *Malva parviflora* (hexánico, acetato de etilo, metanólico, acuoso e infusión) para la determinación de la actividad antiinflamatoria en el modelo de edema inducido con TPA (12-O-Tetradecanoilforbol-13-acetato) en oreja de ratón. La prueba se realizó en el laboratorio de pruebas biológicas en el Instituto de Química, de la UNAM.

Se utilizaron en todos los casos ratones machos de la cepa CD1, con un peso entre 25 y 30 g. Los animales se colocaron en cajas de acrílico transparente con un fotoperiodo luz/oscuridad 12 hrs/12 hrs, y permanecieron a una temperatura entre 24 y 26 °C.

Los extractos de acuerdo a su solubilidad se aplicaron por dos vías la intraperitoneal o la tópica.

Vía de administración intraperitoneal

Los extractos acuosos directos, las infusiones de hojas y raíz así como el extracto metanólico de raíz se administraron por esta vía.

Los extractos fueron administrados 60 minutos antes de inducir el edema con TPA. Bajo anestesia general con pentobarbital sódico 3.5 mg/kg vía

subcutánea, en la oreja derecha se aplicaron 10 μ l de una solución etanólica de TPA (0.25mg/ml), la oreja izquierda recibió solamente el vehículo (10 μ l de etanol).

Vía de administración Tópica

Los extractos hexánicos y de acetato de etilo de hojas y raíces así como el metanólico de hojas se aplicaron por esta vía.

Bajo anestesia general con pentobarbital sódico 3.5 mg/kg vía intraperitoneal, en la oreja derecha se aplicaron 10 μ l de una solución etanólica de TPA (0.25mg/ml). Diez minutos después, en la misma oreja se aplicaron 20 μ l de la solución del extracto (1mg/ μ l). La oreja izquierda recibió solamente los vehículos (10 μ l de etanol y 20 μ l del vehículo).

Para ambas vías de administración se siguió el siguiente procedimiento. Cuatro horas después los animales se anestesiaron con éter, se sacrificaron por dislocación cervical y se tomó una muestra de 7mm de diámetro de ambas orejas. La diferencia en peso entre la muestra de la oreja derecha y la izquierda, representa el edema para cada ratón. El porcentaje de inhibición del edema se calculó con la siguiente fórmula:

$$\left[\frac{C-E}{C} \right] * 100 = \% \text{ de inhibición}$$

donde:

C= edema del grupo tratado con TPA.

E= edema del grupo tratado con TPA y el extracto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Extracciones

En la tabla 3 se dan los pesos totales de la muestra seca para cada órgano estudiado (raíz y hojas), y la cantidad de muestra que se utilizó para cada tipo de extracción.

	Infusión	Acuoso directo	Selectivo en frío
Raíz	5 g	5 g	50 g
Hojas	5 g	5 g	50 g

Tabla 3. Pesos utilizados de las muestras secas de raíz y hoja para cada tipo de extracción.

Tanto para la infusión como para la extracción acuosa directa se utilizaron 5 g de muestra.

En la tabla 4 se muestran los rendimientos de cada extracto acuoso, en peso y en porcentaje de acuerdo con la cantidad de muestra seca que se utilizó para la extracción.

	Infusión		Acuoso directo	
	Raíz	0.5490 g	10.98 %	0.5255 g
Hojas	0.8025 g	16.05 %	1.6990 g	33.98 %

Tabla 4. Rendimiento por extracto en peso y porcentaje de los extractos acuosos para hojas y raíz.

Los rendimientos obtenidos en la infusión y en el extracto acuoso directo son muy parecidos en raíz sin embargo en hoja se observó una diferencia del doble de rendimiento en el extracto acuoso directo.

En la tabla 5 se muestran los rendimientos en peso y en porcentaje de acuerdo con la cantidad de muestra seca que se utilizó para la extracción selectiva en frío. En el extracto metanólico se formó un precipitado al redissolver el extracto

en metanol, el cual fue filtrado y pesado. Su rendimiento fue de 1.5841 g (3.17 %) que se incluye en el rendimiento total del extracto metanólico.

	Raíz		Hojas	
Hexano	0.2633 g	0.53 %	0.8998 g	1.79 %
Acetato de etilo	0.1862 g	0.37 %	0.3608 g	0.72 %
Metanol	*3.1209 g	*9.41 %	5.2102 g	10.42 %

Tabla 5. Rendimiento en porcentaje y peso por extracto en la extracción selectiva tanto para hojas como para raíz.

Se presentaron los mayores rendimientos en los extractos de alta polaridad (metanólicos (tabla 5), infusiones y acuosos directos (tabla 4)) para ambos órganos. Esto nos habla de que los compuestos que están en mayor cantidad en la planta son de naturaleza polar.

El extracto de mayor rendimiento de todos fue el acuoso directo de hojas, que fue dado como receta alternativa.

Se sabe que las Malváceas se caracterizan por su mucílago abundante (Hegnauer, 1963), se ha estudiado el mucílago crudo en *Malva silvestris* encontrándose un 8.2% de este en hojas (Franz, 1966 en Classen y Wolfgang *op. cit.*); además el mucílago estudiado en *Opuntia Picus-indica* Mill. tiene como propiedad ayudar al alivio de la gastritis (Vázquez, 2004).

El mucílago está formado por diferentes polisacáridos que son de naturaleza polar, por lo que podemos deducir que los extractos acuosos y metanólicos han extraído a los polisacáridos de hojas y raíces de *Malva parviflora*.

Perfiles cromatográficos de los extractos acuosos.

En la siguiente figura se presenta un esquema donde se muestran los compuestos de los extractos acuosos, así como el mejor sistema de elución. Presentando en línea punteada las manchas vistas con luz UV (365 nm) y con línea continua las reveladas con sulfato cérico.

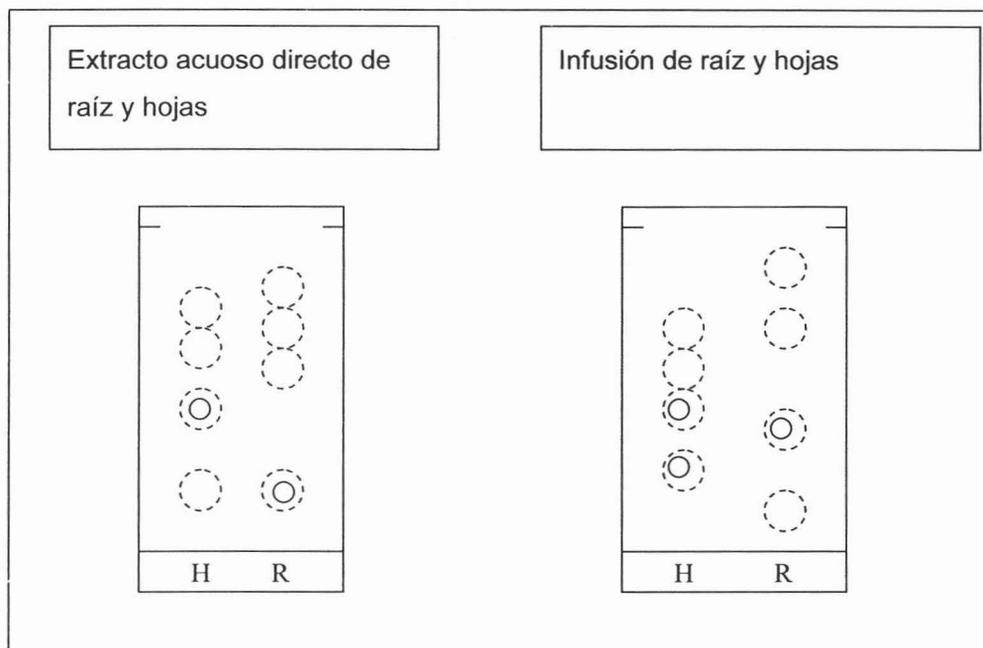


Fig. 2 Perfiles cromatográficos desarrollados con Butanol: Ácido acético: Agua (BAA) acuoso directo (a la izquierda) y de la infusión (a la derecha) de hoja (H) y raíz (R).

Los perfiles cromatográficos de los extractos acuosos directos y de las infusiones de hojas y raíces presentan el mismo número de manchas (cuatro). En los extractos acuosos directos de raíces y hojas coinciden en posición las cuatro manchas observadas; mientras que en las infusiones solo coincide una de las cuatro manchas. Haciendo una comparación entre los extractos acuosos directos e infusiones para cada órgano vemos que los extractos de raíz tienen una coincidencia en tres de las cuatro manchas, mientras que en los extractos de hojas solamente coincide una de las cuatro manchas.

En la figura 3, se presentan los esquemas donde se muestran los compuestos separados en los extractos hexánicos y de acetato de etilo obtenidos por extracción selectiva en frío, así como su mejor sistema de elución.

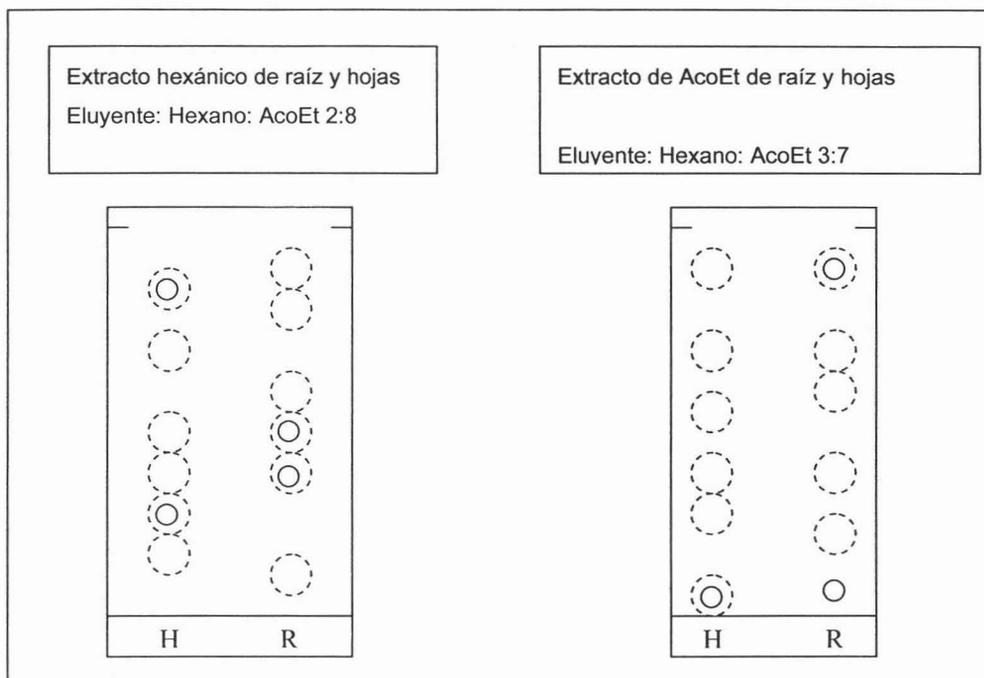


Fig.3. Perfiles cromatográficos desarrollados con Hexano: Acetato de Etilo (AcoEt) del extracto hexánico (a la izquierda) y de acetato de etilo (a la derecha) de hoja (H) y raíz (R). En línea punteada se muestran las manchas vistas con luz UV (365 nm) y con línea continua las vistas con sulfato cérico.

En el cromatograma de los extractos hexánicos tanto de hojas como de raíces se observan siete manchas en cada órgano, de las cuales cinco coinciden en posición y dos son diferentes.

Las manchas observadas para los extractos de acetato de etilo tanto para hojas como para raíz fueron también siete, de éstas solamente coinciden tres y las otras cuatro se encuentran en una posición diferente.

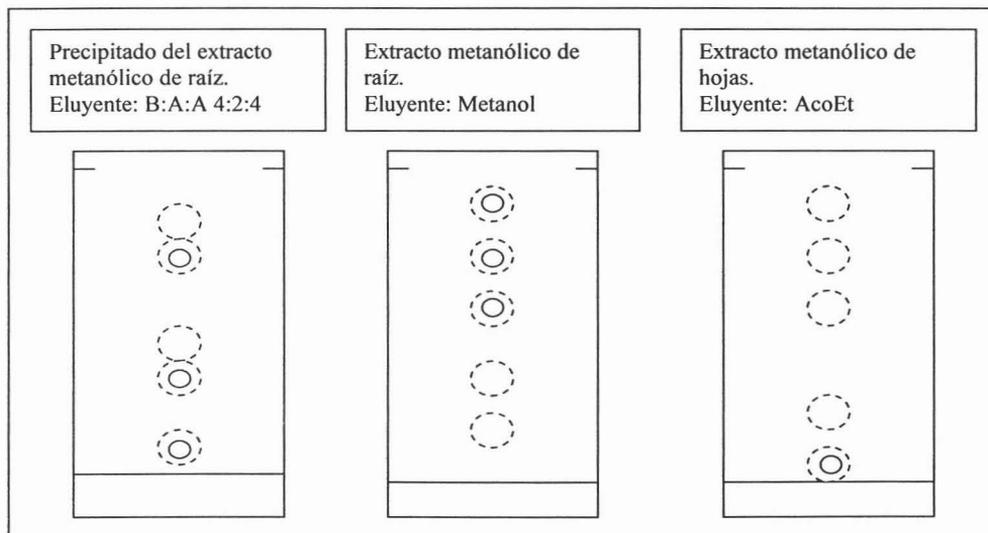


Fig. 4 Perfiles cromatográficos de los extractos metanólicos. A la izquierda se muestra el precipitado del extracto metanólico de raíz (B:A:A butanol: ácido acético: agua), en medio se muestra el cromatograma de extracto de raíz (R) y a la derecha el del extracto de hoja (H) (AcoEt acetato de etilo). En línea punteada se muestran las manchas vistas con luz UV (365 nm) y con línea continua las vistas con sulfato cérico.

Para los extractos metanólicos (figura 4) no se puede hacer una comparación entre placas, ya que se corrieron en eluyentes diferentes.

Para el extracto metanólico de raíz se obtuvieron cinco manchas y para el extracto metanólico de hojas se observaron seis manchas. Las manchas observadas en el extracto metanólico de raíz son de mayor polaridad que las observadas en el extracto metanólico de hojas.

El precipitado del extracto metanólico de raíz presentó cinco manchas, por su sistema de elución sabemos de su naturaleza polar.

En los cromatogramas para los extractos acuosos directos e infusiones observamos un menor número de manchas que las vistas en los perfiles cromatográficos de la extracción selectiva. Esto junto con los porcentajes de rendimiento nos indica que los compuestos de baja y mediana polaridad pueden estar en menor concentración aunque en mayor variedad en la planta; a diferencia de los polares que parecen ser menos variados pero a una concentración mayor.

Determinación de metabolitos secundarios

Después de realizar las pruebas coloridas y de precipitación para determinar los grupos de metabolitos secundarios presentes en todos los extractos obtenidos, los resultados se evaluaron con base en la siguiente escala:

- negativa
- + ligeramente positiva
- ++ positiva
- +++ positiva marcada
- ++++ fuertemente positiva

	Extracción										
	Selectiva							Acuosa			
	Raíz				Hoja			Directa		Infusión	
	Hex	AcoEt	Me	Me*	Hex	AcoEt	Me	Raíz	Hoja	Raíz	Hoja
Shinoda flavonoides	-	-	+	-	+	++	++	+	-	++	-
Ácido silicotúngstico	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Dragendorff alcaloides	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Molish Glucósidos	+	+	-	-	-	-	-	+	+	++	+
Liberman- Buchard Terpenos y esteroides	+	+	-	-	+++	+++	+++	-	-	-	-
	rosa	verde			verde	verde	verde				

Tabla 6. Muestra los resultados obtenidos de las pruebas coloridas para cada extracto. Extracto hexánico (Hex), extracto de acetato de etilo (AcoEt) y extracto metanólico (Me) el extracto marcado con un asterisco (Me*) es el precipitado que se formó en el extracto metanólico de raíz.

En la figura 6 se muestran todos los grupos de metabolitos secundarios encontrados para hojas y raíces de *Malva parviflora* L. En la raíz a diferencia de las hojas está presente el grupo de los alcaloides (en el extracto de acetato de etilo).

Distribución de grupos metabolitos secundarios encontrados en este estudio para hojas y raíces de *Malva parviflora*

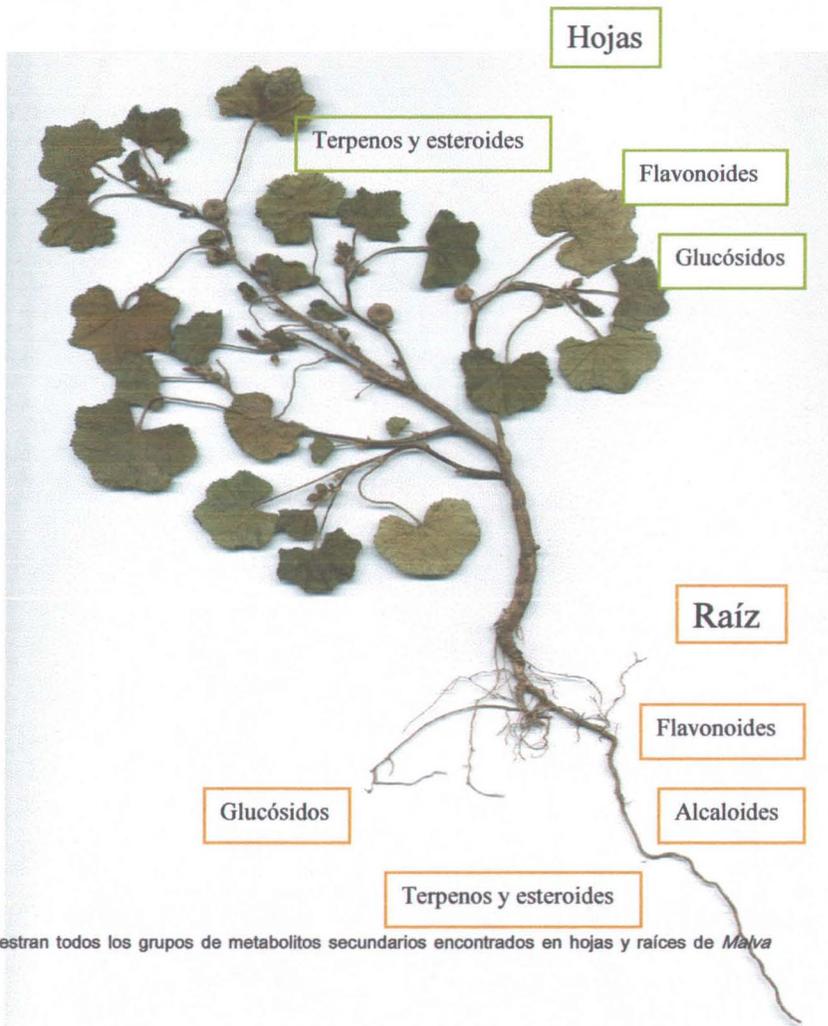


Fig. 6.- Se muestran todos los grupos de metabolitos secundarios encontrados en hojas y raíces de *Malva parviflora* L.

Los grupos de metabolitos más abundantes para los extractos selectivos de hojas fueron terpenos, esteroides y flavonoides para los tres extractos. Hubo presencia de glucósidos tanto para la infusión como para el extracto acuoso directo pero esta prueba no dio positiva en la extracción selectiva.

Para los extractos selectivos de raíces las pruebas que resultaron positivas fueron flavonoides para el extracto metanólico terpenos, esteroides y glucósidos para los extractos hexánico y de acetato de etilo y este último presenta también alcaloides. Los resultados indican menor abundancia en estos extractos de raíz que en los de hojas. Para el extracto acuoso directo de raíz se observaron más grupos de metabolitos (flavonoides, alcaloides y glucósidos) que para la infusión (flavonoides y glucósidos) pero se presentó menor abundancia de los grupos en el extracto acuoso directo que en la infusión.

Estos resultados indican que en la raíz se encuentra una mayor diversidad de compuestos, en hojas se presenta una menor diversidad pero se encuentran en una mayor concentración.

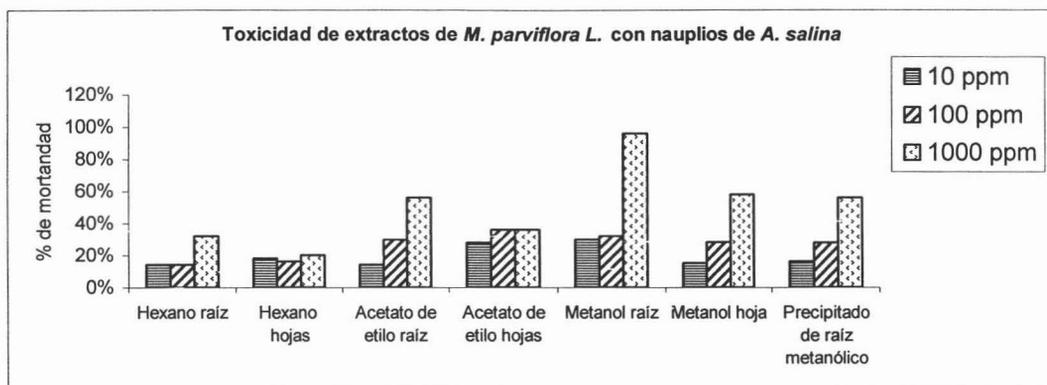
Es importante mencionar que la prueba para glucósidos dio positiva para extractos de raíz (hexánico, de acetato de etilo, acuoso directo e infusión) y hojas (acuoso directo e infusión)

Ensayo con *Artemia salina*

Después de aplicar las diferentes concentraciones en los nauplios de *Artemia salina* en las tablas 7 y 8 se dan los porcentajes de mortandad de los nauplios por extracto y por concentración después de 24 horas de tratamiento. Los extractos metanólicos, de acetato de etilo y hexánicos se muestran en la gráfica 2; y los extractos acuosos en la gráfica 3.

	Hexano raíz	Hexano hojas	Acetato de etilo raíz	Acetato de etilo hojas	Metanol raíz	Metanol hoja	Precipitado de raíz metanólico
10ppm	14%	18%	14%	28%	30%	28%	16%
100ppm	14%	16%	30%	36%	32%	15%	28%
1000ppm	32%	20%	56%	36%	96%	58%	56%

Tabla 7. Porcentaje de mortandad de nauplios de *Artemia salina* después de 24 horas de tratamiento con los extractos obtenidos por extracción selectiva. Datos calculados utilizando la fórmula 1.



Grafica 2. Porcentajes de mortandad de nauplios de *Artemia salina* en los extractos hexánicos, de acetato de etilo y metanólicos, obtenidos por extracción selectiva a tres diferentes concentraciones (10, 100, 1000 ppm).

En los extractos obtenidos por extracción selectiva la toxicidad aumentó conforme aumentó la polaridad (tanto para extractos de hojas como de raíces) excepto en el extracto metanólico de hoja donde vemos una disminución del porcentaje de mortandad con respecto al de acetato de etilo. En todos los extractos y en el precipitado el mayor porcentaje de mortandad lo observamos en la mayor concentración probada (1000 ppm). Observamos también que los extractos de raíz mostraron una mayor actividad contra *Artemia salina* que los extractos de hoja.

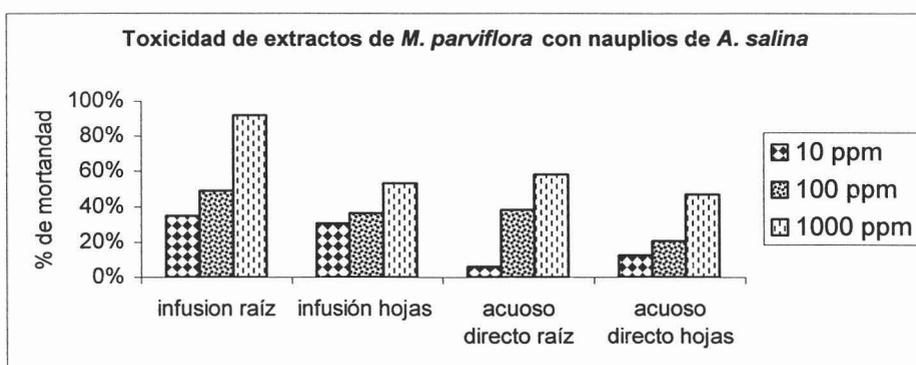
En la mayoría de los extractos se observó un incremento de mortandad en función del aumento de la concentración excepto en los extractos hexánico y metanólico de hojas.

El precipitado de raíz presentó una menor actividad que el extracto metanólico.

Tanto en las infusiones como en los extractos acuosos directos (tabla 8, gráfica 3) se observa un incremento de mortandad a medida que se incrementa la concentración. En las infusiones es en la raíz donde nuevamente se observa la mayor mortandad. En los extractos acuosos directos también observamos en la raíz la mayor actividad.

	Infusión raíz	Infusión hojas	Acuoso directo raíz	Acuoso directo hojas
10 ppm	35%	31%	6%	12%
100 ppm	49%	36%	38%	20%
1000 ppm	92%	53%	58%	47%

Tabla 8 Porcentaje de mortandad de nauplios de *Artemia salina* para los extractos acuosos después de 24 hrs de tratamiento. Datos calculados según la fórmula 1.



Gráfica 3 Porcentaje de mortandad de nauplios de *Artemia salina* en los extractos obtenidos por infusión y de forma directa a tres concentraciones (10, 100, 1000 ppm).

Estos resultados nos señalan que los compuestos presentes en los extractos polares de *Malva parviflora* L. (metanólicos, infusiones y acuosos directos) son los más tóxicos para los nauplios de *A. salina*.

Ensayos con bacterias

En la tabla 9 se observa la presencia o ausencia de actividad bacteriostática de los diferentes extractos utilizados. En el caso de existir actividad se registró el tamaño del halo obtenido

	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Raíz Hexánico	no	no
Hojas Hexánico	no	no
Raíz AcoEt	no	no
Hojas AcoEt	no	si
Raíz Metanólico	si	si
Precipitado de metanólico de raíz	si	no
Hojas Matanólico	no	no
Acuoso directo de raíz	no	si
Acuoso directo de hojas	7 mm	si
Infusión de raíz	si	si
Infusión de hojas	6 mm	si

Tabla 9. La tabla muestra la presencia o ausencia de actividad bacteriostática, los extractos que tienen "si" presentaron un halo de inhibición muy reducido (menos de 2 ml) por lo que no se reporta el tamaño de este.

Los extractos hexánicos de hoja y de raíces (extractos de baja polaridad) no presentaron actividad contra ninguna de las bacterias. En acuosos directos infusiones y en el metanólico de raíz fue donde se observó la mayor actividad bacteriostática. Sin embargo es en las infusiones tanto de hoja como de raíz donde se observó mejor esta actividad. De las dos especies utilizadas *E. coli* fue más sensible a los extractos acuosos (acuoso directo de hoja e infusiones de

hojas y raíz) *B. subtilis* fue sensible a los extractos acuosos e infusiones de hojas y raíces así como al extracto de hojas de acetato de etilo y al metanólico de raíz aunque esta respuesta fue cuantitativamente menor a la de *E. coli*.

Es probable que al aumentar la concentración de los extractos se tenga una mayor respuesta, también se podría realizar una separación de estos y probar las diferentes fracciones obtenidas. Además es conveniente realizar la prueba directamente con *Helicobacter pylori*, bacteria que una de las causas de la gastritis, y ver si hay un aumento en la actividad de los extractos contra esta bacteria específicamente.

Prueba antiinflamatoria

En la tabla 10 observamos el resultado de la prueba antiinflamatoria para los extractos acuosos de raíz y hojas. Se observa que el porcentaje de inhibición es semejante en las dos infusiones (hoja y raíz) lo mismo ocurre con los extractos acuosos directos. Podemos ver también que son los extractos acuosos directos los que presentan mayor porcentaje de inhibición, en particular el extracto acuoso directo de raíz. Comparando estos resultados con los obtenidos en esta prueba para el extracto metanólico de raíz vemos en éste una actividad intermedia entre las infusiones y los extractos acuosos directos (tabla 11).

Muestra	Dosis	Edema (mg)	Inhibición (%)
Control (agua)	-	17.86 ± 1.16	-
Infusión raíz	31 mg/kg	16.33 ± 0.86	8.58
Infusión hojas	31 mg/kg	16.40 ± 1.28	8.21
Acuoso raíz	31 mg/kg	16.23 ± 0.84	12.32
Acuoso hojas	31 mg/kg	16.46 ± 1.13	11.56

Tabla 10.- Resultado de la prueba antiinflamatoria para los extractos acuosos de raíz y hojas de *Malva parviflora*. Los datos representan el promedio de tres animales (n=3) (el error estándar de la media (ESM). Los resultados se analizaron mediante una prueba de t de Student, los valores con significancia de 99.05 % (*) y 99 % (**) se consideraron como diferencia significativa con respecto al control.

Muestra	Dosis	Edema (mg)	Inhibición (%)
Control (DMSO 10% - agua)	-	18.23 (0.54)	-
Metanólico	31 mg/kg	16.30 (1.81)	10.60
Metanólico (pp)	31 mg/kg	17.80 (1.53)	2.38

Tabla 11.- Resultado de la prueba antiinflamatoria para los extractos metanólicos de raíz de *Malva parviflora*. Los datos representan el promedio de tres animales (n=3) (el error estándar de la media (ESM). Los resultados se analizaron mediante una prueba de t de Student, los valores con significancia de 99.05 % (*) y 99 % (**) se consideraron como diferencia significativa con respecto al control.

La tabla 12 muestra el resultado de la prueba antiinflamatoria para el extracto hexánico y de acetato de etilo de raíz de *Malva parviflora* L. por vía de administración tópica.

Muestra	Dosis	Edema (mg)	Inhibición (%)
Control (hexano)	-	16.26 ± 0.21	-
Hexánico	1 mg/oreja	13.36 ± 0.61*	17.83
Control (Hexano:AcOEt)	-	15.96 ± 0.98	-
Acetato de etilo	1 mg/oreja	8.20 ± 2.00**	48.64

Tabla 12.- Resultado de la prueba antiinflamatoria para el extracto hexánico y de acetato de etilo de raíz de *Malva parviflora*. Los datos representan el promedio de tres animales (n=3) (el error estándar de la media (ESM). Los resultados se analizaron mediante una prueba de t de Student, los valores con significancia de 99.05 % (*) y 99 % (**) se consideraron como diferencia significativa con respecto al control.

La tabla 13 muestra el resultado de la prueba antiinflamatoria para el extracto hexánico, de acetato de etilo y metanólico de hojas de *Malva parviflora* L. por vía de administración tópica.

Muestra	Dosis	Edema (mg)	Inhibición (%)
Control (Hexano:AcOEt)	-	15.96 (0.98)	-
Hexánico	1 mg/oreja	11.10(0.98*	30.48
Acetato de etilo	1 mg/oreja	11.40 ± 0.36*	28.60
Metanólico	1 mg/oreja	6.93 ± 1.53**	56.58

Tabla 13.-Resultados de la prueba antiinflamatoria para los extractos selectivos de hojas de *Malva parviflora*. Los datos representan el promedio de tres animales (n=3) ± el error estándar de la media (ESM). Los resultados se analizaron mediante una prueba de *t* de Student, los valores con significancia de 99.05 % (*) y 99 % (**) se consideraron como diferencia significativa con respecto al control.

Los resultados muestran que los extractos de raíz y hoja de *Malva parviflora* L. aplicados por vía tópica pueden contener compuestos activos capaces de desinflamar edemas, los resultados obtenidos de los extractos utilizados para la prueba vía intraperitoneal no fueron significativos.

Comparando los extractos de la misma polaridad de ambos órganos, vemos que el extracto hexánico de hoja presentó mayor porcentaje de inhibición que el de raíz, pero en el extracto de acetato de etilo observamos una mayor actividad en raíz que en hoja. De la hoja el extracto que presentó la mayor inhibición fue el metanólico, en la raíz fue el de acetato de etilo (no se realizó la prueba para el metanólico).

Los extractos que presentaron la mayor actividad antiinflamatoria son los que dieron positivas la prueba de flavonoides, terpenos y esteroides para los extractos de hojas, mientras que para los de raíz fueron los que dieron positiva la prueba de terpenos y esteroides.

Los extractos acuosos tanto de hojas como de raíz, al igual que el extracto metanólico de raíz no tuvieron valor significativo en la prueba antiinflamatoria, y recordemos que en las pruebas de determinación de grupos de metabolitos secundarios dieron positiva la prueba para flavonoides y negativa la de terpenos y esteroides; por lo que es probable que este grupo de compuestos (terpenos y esteroides) sea el que tiene la propiedad para desinflamar.

Es importante remarcar que los extractos de hoja obtenidos por extracción selectiva (hexánico, de acetato de etilo y metanólico) son los que dieron positiva la prueba de terpenos y esteroides con mayor abundancia.

CONCLUSIÓN

En el estudio realizado en hojas y raíces de *Malva parviflora* L. observamos que los mayores rendimientos se obtuvieron en los extractos polares (metanólicos, infusiones y acuosos directos), pero estos fueron mayores en los extractos obtenidos a partir de hojas. Lo que nos indica que los compuestos que están en mayor cantidad en la planta son de naturaleza polar.

De acuerdo con las pruebas realizadas para detectar grupos de metabolitos secundarios es en la raíz donde se encuentra una mayor diversidad de compuestos, y en las hojas se presenta menor diversidad pero mayor concentración de estos. El grupo de metabolitos secundarios más abundante fue el de los terpenos y esteroides que se presentó en los extractos selectivos (hexánico, de acetato de etilo y metanólico) de hojas.

Para la prueba de toxicidad realizada en nauplios de *A. salina* el extracto con mayor actividad fue el metanólico seguido de la infusión ambos extractos de raíz. Lo que nos señala que los compuestos presentes en los extractos polares de raíz son los más tóxicos para los nauplios de *A. salina*.

La actividad bacteriostática de los extractos probados contra *E. coli* y *B. subtilis* se observó mejor en los extractos acuosos (tanto directos como infusiones) para ambos órganos; pero se presentó de forma muy baja, por lo que se deben probar los extractos en un mayor variedad de bacterias incluyendo a *H. pylori* bacteria causante de la gastritis.

La actividad antiinflamatoria fue mayor en los extractos acuosos (tanto en las infusiones como en los acuosos directos) de raíz que en los de hoja; y en los extractos selectivos aumenta la actividad conforme aumenta la polaridad de los extractos. Estos resultados junto con las pruebas de grupos de metabolitos

Es importante remarcar que los extractos de hoja obtenidos por extracción selectiva (hexánico, de acetato de etilo y metanólico) son los que dieron positiva la prueba de terpenos y esteroides con mayor abundancia.

CONCLUSIÓN

En el estudio realizado en hojas y raíces de *Malva parviflora* L. observamos que los mayores rendimientos se obtuvieron en los extractos polares (metanólicos, infusiones y acuosos directos), pero estos fueron mayores en los extractos obtenidos a partir de hojas. Lo que nos indica que los compuestos que están en mayor cantidad en la planta son de naturaleza polar.

De acuerdo con las pruebas realizadas para detectar grupos de metabolitos secundarios es en la raíz donde se encuentra una mayor diversidad de compuestos, y en las hojas se presenta menor diversidad pero mayor concentración de estos. El grupo de metabolitos secundarios más abundante fue el de los terpenos y esteroides que se presentó en los extractos selectivos (hexánico, de acetato de etilo y metanólico) de hojas.

Para la prueba de toxicidad realizada en nauplios de *A. salina* el extracto con mayor actividad fue el metanólico seguido de la infusión ambos extractos de raíz. Lo que nos señala que los compuestos presentes en los extractos polares de raíz son los más tóxicos para los nauplios de *A. salina*.

La actividad bacteriostática de los extractos probados contra *E. coli* y *B. subtilis* se observó mejor en los extractos acuosos (tanto directos como infusiones) para ambos órganos; pero se presentó de forma muy baja, por lo que se deben probar los extractos en un mayor variedad de bacterias incluyendo a *H. pylori* bacteria causante de la gastritis.

La actividad antiinflamatoria fue mayor en los extractos acuosos (tanto en las infusiones como en los acuosos directos) de raíz que en los de hoja; y en los extractos selectivos aumenta la actividad conforme aumenta la polaridad de los extractos. Estos resultados junto con las pruebas de grupos de metabolitos

secundarios nos muestran que la actividad antiinflamatoria puede estar presente en el grupo de flavonoides o terpenos y esteroides.

Estos resultados ayudan al avance de la validación del uso tradicional de *Malva parviflora* L. como auxiliar en el tratamiento contra la gastritis.

PERSPECTIVAS

Los resultados anteriores sugieren un estudio más profundo a fin de caracterizar los compuestos presentes en los diferentes extractos, así como la realización de ensayos biológicos con hojas y raíces de *Malva parviflora* L. colectados en diferentes épocas del año.

Ayudaría al seguimiento de este trabajo la separación y purificación de los compuestos presentes en la infusión de raíz que fue la que presentó mayor actividad contra *Artemia salina*, actividad bacteriostática contra *B. subtilis* y *E. coli* y de los extractos acuosos fue el que presentó mayor actividad antiinflamatoria. Además del seguimiento del grupo de terpenos y esteroides en los extractos selectivos de hojas para probar si este grupo es el que presenta la actividad antiinflamatoria.

Se debe tomar en cuenta la posible actividad de los polisacáridos de la planta por lo que se sugiere hacer un estudio más detallado de estos.

secundarios nos muestran que la actividad antiinflamatoria puede estar presente en el grupo de flavonoides o terpenos y esteroides.

Estos resultados ayudan al avance de la validación del uso tradicional de *Malva parviflora* L. como auxiliar en el tratamiento contra la gastritis.

PERSPECTIVAS

Los resultados anteriores sugieren un estudio más profundo a fin de caracterizar los compuestos presentes en los diferentes extractos, así como la realización de ensayos biológicos con hojas y raíces de *Malva parviflora* L. colectados en diferentes épocas del año.

Ayudaría al seguimiento de este trabajo la separación y purificación de los compuestos presentes en la infusión de raíz que fue la que presentó mayor actividad contra *Artemia salina*, actividad bacteriostática contra *B. subtilis* y *E. coli* y de los extractos acuosos fue el que presentó mayor actividad antiinflamatoria. Además del seguimiento del grupo de terpenos y esteroides en los extractos selectivos de hojas para probar si este grupo es el que presenta la actividad antiinflamatoria.

Se debe tomar en cuenta la posible actividad de los polisacáridos de la planta por lo que se sugiere hacer un estudio más detallado de estos.

REFERENCIAS

1. Aguilar, A. Camacho, J.R. Chino, S. Jacquez y P. López, M.E. 1996. Plantas Medicinales del herbario IMSS. Cuadros básicos por aparatos y sistemas, 1^{er} edición, México: IMSS; pp. 218.
2. Alan, R. G. 2001. *Helicobacter pylori* eradication: Are there alternatives to antibiotics? Alternative medicine review. August.
3. Bauer, A.W. Kirby, W.M.M. Sherris, J.C. y Tuhck, M. 1966, Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. The American Journal of clinical pathology 45 (4): 493-496.
4. Carabias, J., V. Arriaga y V. Cervantes, 1994. Los recursos naturales de México y el desarrollo. En P. Pascual Moncayo y J. Woldenberg (Coords). Desarrollo, desigualdad y medio ambiente. Editorial Cal y Arena. México, pp. 303-345.
5. CDI Comisión nacional para el desarrollo de los pueblos indígenas www.cdi.gob.mx, 2003.
6. Classen, B. y Blaschek, W, 1998. High Molecular Weight Acidic Polysaccharides from *Malva sylvestris* and *Alcea rosea*. Planta Medica 64: 640-644.
7. Connors, K. 1981. Curso de análisis farmacéutico (ensayo de medicamento). España. Editorial Reverté.
8. Correa, P. Arias-Stella, J. Pérez, T.R. y Carbonell, L.M. 1986. Texto de patología, 2^{da} edición, Ediciones científicas la prensa médica mexicana, México, pp 1162.

9. Cox, P.A. 1993 Shaman as scientist: indigenous knowledge system in pharmacological research and conservation. Department of botany and Range Science, Brigham Young University, Provo, UT 84602, USA.
10. Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering Plants Columbia, University Press Nueva York, pp 1262.
11. Dirzo, R. 1985. Metabolitos secundarios en las plantas ¿Atributos panglossianos o de valor adaptativo? Ciencia, 36: 137-145.
12. Domínguez, X. 1975. Métodos de investigación fitoquímica. AID, México, Editorial Limusa.
13. Hegnauer, R. 1963. "Chemotaxonomie der pflanzen" Birkhäuser Verlag Basel und Stuttgart IV p 31.
14. Hopkins, Y. and Chyholm, M.J. 1960. Epoxy acid in seed oils of Malvaceae and preparation of (+)-threo-12,13-dehydrooleic acid. J. Am. Oil Chemist's Soc. Ottawa Can. 37:682-684.
15. Hostettmann, K. Marston, A. y J.L, Wolfender. Strategy in the search for new biologically active plant constituents. Institut de Pharmacognosie et Phytochimie, Section de Pharmacie, BEP, Université de Laussane, Suiza.
16. INI, 1994, Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana Tomo II, Biblioteca de la medicina tradicional mexicana. México, pp 944 y 945.
17. Jiménez-Arellanes, A. Meckes, M. Ramirez, R. Torres, J. y Luna-Herrera, J. 2003. Activity against multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Mexican plants used to treat respiratory diseases. Phytotherapy research: 903-908.

18. Matlawska, I, 1990. Investigation of flavonoid compounds of select species from Malvaceae family. Herbal Pol. 36(3), 65-69.
19. México Indígena, INI 30 años después, revisión crítica, Diciembre, 1978.
20. Meyer, B.N. Ferrigni, N.R. Putman, N. E. Jacobsen, L.B. Nicols, D.E. and McLaughlin. 1982. Brine Shrimp: A venient General Biassay for Active Plant Constituents. Planta Médica 45: 31-34.
21. NEXIUM Boletín informativo, 2002, 16 pp.
22. Rumi, V.A. Radzhabova, D. 1973. Histochemical characteristics of Malvaceae species pollen in the rhythm of development. Tsiol. Genet. 7(5), 417-419.
23. SEMARNAT www.semarnat.gob.mx, 2003.
24. Shale, T.L. Stirk W.A. van Standen, J. 2004. Variation in antibacterial and anti-inflammatory activity of different growth forms of *Malva parviflora* and evidence for synergism of the anti-inflammatory compounds. J of Ethnopharmacology 96: 325-330.
25. Sharma, Surendrak, 1999. A new stigmstane derivative from root of *M. parviflora*; Indian J Chem 38B (6) 746-748.
26. Sistema integrado de información taxonómica de México <http://sit.conabio.gob.mx>
27. Tomoda, M. Shimizu, N. Oshima, Y. Takahashi, M. Murakami, M. Hikino, H. 1987, Antidiabetes drugs. Part 25. Hypoglycemic activity of twenty plant mucileges and three modified products. Plant Med. 53(1).8-12.
28. UIB. Universita de les Illes Balears www.uib.es, 2003

29. Vázquez, R.A. 2004. Análisis de las propiedades terapéuticas del mucílago de *Opuntia picus-indica* Mill. con un modelo experimental de gastritis inducida con la administración de etanol en ratas. Maestría en. C.B. Facultad de Ciencias.
30. Wickeberg, B. 1993. Chemical methods in ethnopharmacology, Organic Chemistry Center, Lund Institute of technology, Elsevier Scientific Publisher Ireland Ltd, Irlanda.
31. Wink, A. de Bore, Guido N.J. T. 2000. Treatment of *Helicobacter pylori* infection. (review article). British. Jan 1.
32. Y. Hopkins and Mary J. Chisholm, 1960. Epoxy acid in seed oils of Malvaceae and preparation of (+)-threo-12,13-dehydrooleic. J. Am. Oil Chemist'Soc 37: 682-684
33. Yoshiko B. 1994. Ciencias de la salud, 2da edición, México, Editorial Mc Graw-Hill.