



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

# **POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

FACULTAD DE CIENCIAS

**ESTUDIO BACTERIOLÓGICO Y QUÍMICO  
DE PLANTAS USADAS EN LA MEDICINA  
TRADICIONAL MEXICANA EN EL  
TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES  
DIARRÉICAS**

## **TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
**DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P R E S E N T A

**M. en C. ROSARIO RUIZ DE ESPARZA  
VILLARREAL**

DIRECTOR DE TESIS: DR. MANUEL JIMÉNEZ ESTRADA

MÉXICO, D.F.

Agosto, 2007



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.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Posgrado de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México haberme aceptado como alumna de doctorado y darme la oportunidad de hacer uso de sus instalaciones.

Al CONACYT el apoyo económico brindado para realizar este proyecto a través de la beca número 42332, así como el financiamiento de los proyectos “Estudio químico y bacteriológico de plantas usadas para curar la diarrea”, número de referencia 27991-M y “Obtención y caracterización de compuestos con actividad antiadherente y antimicrobiana de extractos acuosos de plantas medicinales”, número de referencia 38608-M

A la DGEP, UNAM la beca complementaria otorgada y el apoyo recibido.

Agradezco al Dr. Manuel Jiménez Estrada, la dirección y facilidades otorgadas durante la realización del trabajo y a los miembros del Comité Tutorial los Drs. Mariana Meckes, Robert Bye Boettler y Javier Torres López sus indicaciones durante la realización de este trabajo.

Al Dr. Manuel Jiménez Estrada mi gratitud por su apoyo y paciencia durante todo este tiempo.

Agradezco de manera especial a la Dra. Mariana Meckes su tiempo y sugerencias que fueron relevantes para la mejor presentación del manuscrito.

A los miembros del jurado Drs. Ana Luisa Anaya Lang, José Guillermo Ávila Acevedo, Robert Arthur Bye Boetler, Mariano Martínez Vázquez, Manuel Jiménez Estrada, María Cristina Pérez Amador y Barrón y Francisco Javier Torres López, les agradezco su minuciosa revisión a este trabajo y sus comentarios orientados al enriquecimiento del mismo.

El apoyo técnico recibido durante el trabajo microbiológico efectuado el laboratorio de Salud Pública del Departamento de Salud Pública, Facultad de Medicina, UNAM por parte del Dr. Carlos Eslava, M. C. Armando Navarro, Biol. Delia Licon, Biol. José Luis Méndez, Tec. Acad. Luis León y Tec. Acad. Gabriel Pérez.

A la Dra. Gloria Gutiérrez Venegas, por permitirme realizar las pruebas microbiológicas en el laboratorio Bioquímica a su cargo y todas sus atenciones.

Al Dr. Guillermo Ávila Acevedo, las cepas proporcionadas para realizar las pruebas microbiológicas.

A mis compañeros del laboratorio 2-10 por el tiempo que compartimos.

Y a todos aquellos que de manera directa e indirecta me apoyaron durante el doctorado.

La parte química fue desarrollada en el laboratorio 2-10 del Departamento de Productos Naturales del Instituto de Química, UNAM. Las pruebas de actividad antimicrobiana se hicieron de 1998 a 2001 en el laboratorio de Salud Pública del Departamento de Salud Pública, Facultad de Medicina, UNAM, y se concluyeron en el laboratorio de Bioquímica de la División de Estudios de Posgrado, Facultad de Odontología, División de Posgrado, UNAM.

A Bernardo, Guillermo y mis Papás

# ÍNDICE

LISTA DE TABLAS.....	V
LISTA DE FIGURAS.....	IX
RESUMEN.....	X
ABSTRACT.....	XII

# CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	ANTECEDENTES.....	3
2.1	DIARREAS.....	3
2.1.1	Etiología de las diarreas.....	3
2.1.2	Las diarreas como problema de salud.....	5
	Mortalidad.....	6
	Morbilidad.....	6
2.2	TRATAMIENTO DE LAS DIARREAS.....	7
2.2.1	Antibióticos.....	7
2.2.2	Rehidratación oral.....	8
2.2.3	Plantas medicinales.....	9
	Uso de plantas medicinales para curar la diarrea....	12
2.3	ESPECIES SELECCIONADAS PARA EL ESTUDIO.....	14
2.3.1	<i>Buddleia scordioides</i> Kunth.....	15
	Usos medicinales.....	15
	Estudios químicos.....	16
	Actividad biológica.....	17
2.3.2	<i>Byrsonima crassifolia</i> (L.) Kunth.....	18
	Usos medicinales.....	19

	Otros usos. . . . .	20
	Estudios químicos. . . . .	20
	Actividad biológica. . . . .	22
2.3.3	<i>Geranium seemannii</i> Peyer. . . . .	23
	Usos medicinales . . . . .	24
	Otros usos. . . . .	25
	Estudios químicos. . . . .	25
	Actividad biológica. . . . .	26
2.3.4	<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam. . . . .	27
	Usos medicinales . . . . .	28
	Otros usos. . . . .	29
	Estudios químicos. . . . .	30
	Actividad biológica. . . . .	31
2.3.5	<i>Larrea tridentata</i> (Sessé & Moc. Ex DC) Cov. . . . .	32
	Usos medicinales . . . . .	33
	Estudios químicos. . . . .	34
	Actividad biológica. . . . .	35
2.3.6	<i>Persea americana</i> Miller . . . . .	36
	Usos medicinales . . . . .	37
	Otros usos. . . . .	38
	Estudios químicos. . . . .	38
	Actividad biológica. . . . .	39
2.3.7	<i>Psidium guajava</i> L . . . . .	40
	Usos medicinales . . . . .	41
	Otros usos. . . . .	42
	Estudios químicos. . . . .	42
	Actividad biológica. . . . .	42
2.3.8	<i>Piqueria trinervia</i> Cav. . . . .	44
	Usos medicinales . . . . .	46
	Otros usos. . . . .	47
	Estudios químicos. . . . .	47
	Parte aérea. . . . .	48
	Raíz. . . . .	50
	Actividad biológica. . . . .	51
<b>III</b>	<b>HIPÓTESIS. . . . .</b>	<b>56</b>
<b>IV</b>	<b>OBJETIVOS . . . . .</b>	<b>57</b>
4.1	OBJETIVO GENERAL . . . . .	57
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS . . . . .	57
<b>V</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS. . . . .</b>	<b>58</b>
5.1	MATERIAL VEGETAL . . . . .	58

5.2	MATERIAL Y ENSAYO MICROBIOLÓGICO . . . . .	59
5.2.1	Cepas bacterianas . . . . .	59
5.2.2	Método de difusión . . . . .	59
5.2.3	Método de dilución . . . . .	60
5.3	PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS PARA EL RASTREO MICROBIOLÓGICO . . . . .	60
5.5.1	Preparación de los extractos acuosos . . . . .	60
	Extractos acuosos esterilizados por filtración . . . . .	60
	Extractos acuosos sin esterilizar . . . . .	61
	Extractos acuosos liofilizados . . . . .	61
	Partición líquido-líquido de los extractos sin liofilizar . . . . .	62
	Partición líquido-líquido de los extractos liofilizados . . . . .	62
	Extractos liofilizados disueltos directamente en disol- ventes orgánicos . . . . .	62
5.4	ESTUDIO QUÍMICO DE <i>Piqueria trinervia</i> . . . . .	63
5.4.1	Material vegetal . . . . .	63
5.4.2	Preparación del extracto acuoso de las partes aéreas y partición líquido-líquido con diclorometano . . . . .	63
5.4.3	Extracción seriada de la raíz con disolventes orgánicos y separación cromatográfica en placa fina preparativa del extracto hexánico . . . . .	63
5.4.4	Análisis de los extractos por espectrometría de masas y cromatografía de gases . . . . .	64
<b>VI</b>	<b>RESULTADOS . . . . .</b>	<b>65</b>
6.1	PLANTAS MEDICINALES INCLUIDAS EN EL RASTREO FARMA COLÓGICO . . . . .	65
6.2	ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS . . . . .	65
6.2.1	Actividad antibacteriana de los extractos acuosos esterili- zados por filtración . . . . .	65
6.2.2	Efecto que ejerce sobre la actividad antibacteriana la temperatura en el proceso de extracción de las muestras vegetales . . . . .	67
6.2.3	Efecto de los extractos acuosos contra cepas de <i>Staphy- lococcus aureus</i> de aislados clínicos . . . . .	69
6.2.4	Actividad de los extractos acuosos liofilizados y la rela- ción dosis-respuesta del efecto antibacteriano . . . . .	70
6.3	EFFECTO DEL TIEMPO Y LA TEMPERATURA DE CONSERVA- CIÓN SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LAS FA- SES ACUOSAS Y ORGÁNICAS . . . . .	75
6.3.1	Actividad antibacteriana de las fases obtenidas por parti- ción líquido-líquido del extracto acuoso sin liofilizar . . . . .	75

6.3.2	Efecto que ejercen sobre la actividad antibacteriana de los extractos la temperatura y el tiempo de conservación.	77
6.3.3	Actividad antibacteriana de las fases obtenidas por partición líquido-líquido del extracto acuoso liofilizado de <i>Geranium seemannii</i> .	81
6.3.4	Actividad antimicrobiana del extracto liofilizado de <i>Geranium seemannii</i> disuelto en disolventes orgánicos	81
6.4	ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE <i>Piquería trinervia</i> .	83
6.4.1	Parte aérea.	83
6.4.2	Raíz	84
6.4.3	Actividad antibacteriana de las fracciones del extracto hexánico de la raíz gruesa.	86
6.5	IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS DE DOS EXTRACTOS DE <i>Piqueira trinervia</i> POR ANÁLISIS DE FRAGMENTACIÓN POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS Y COMPARACIÓN CON LA BASE DE DATOS	87
6.6	PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A DOS ANTIBIÓTICOS.	90
6.6.1	Enterobacterias	90
6.6.2	Cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> de aislados clínicos	91
<b>VII</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	93
<b>VIII</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	99
<b>IX</b>	<b>REFERENCIAS</b>	101
<b>X</b>	<b>PROYECCIONES FUTURAS</b>	122
<b>ANEXO</b>	<b>SINÓNIMOS Y NOMBRES COMUNES EN LENGUAS PREHISPANICAS Y ESPAÑOL DE LAS ESPECIES ESTUDIADAS</b>	123

## LISTA DE TABLAS

Tabla 2.1	Procedencia de 520 productos aprobados por la FDA.	10
Tabla 2.2	Uso de los medicamentos aprobados por la FDA.	11
Tabla 2.3	Plantas seleccionadas para el presente estudio.	14
Tabla 5.1	Lugar de colecta de las plantas incluidas en el estudio.	58
Tabla 6.1	Ejemplares depositados en el herbario Nacional, MEXU.	65
Tabla 6.2	Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos acuosos de <i>Buddleia scordioides</i> , <i>Byrsonima crassifolia</i> y <i>Guazuma ulmifolia</i> .	66
Tabla 6.3	Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos acuosos de <i>Geranium seemannii</i> , <i>Larrea tridentata</i> , <i>Persea americana</i> y <i>Psidium guajava</i> .	67
Tabla 6.4	Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos acuosos liofilizados preparados con las hojas y la corteza de <i>Guazuma ulmifolia</i> .	68
Tabla 6.5	Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos acuosos liofilizados preparados con la parte aérea y la raíz de <i>Piqueria trinervia</i> .	68
Tabla 6.6	Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos acuosos preparados con <i>Larrea tridentata</i> , <i>Geranium seemannii</i> , <i>Psidium guajava</i> , <i>Guazuma ulmifolia</i> , <i>Byrsonima crassifolia</i> , <i>Buddleia scordioides</i> y <i>Piqueria trinervia</i> contra cepas de <i>S. aureus</i> aisladas de casos clínicos.	70
Tabla 6.7	Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos acuosos liofilizados y sin liofilizar preparados con la parte aérea de <i>Buddleia scordioides</i> y <i>Geranium seemannii</i> .	71

Tabla 6.8	Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos acuosos liofilizados y sin liofilizar preparados con las hojas y corteza de <i>Byrsonima crassifolia</i> .	72
Tabla 6.9	Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos acuosos liofilizados y sin liofilizar preparados con las hojas de <i>Guazuma ulmifolia</i> y <i>Larrea tridentata</i> .	73
Tabla 6.10	Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos acuosos liofilizados y sin liofilizar preparados con las hojas y corteza de <i>Psidium guajava</i> .	74
Tabla 6.11	Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con el extracto acuoso y las fases orgánicas y acuosas del extracto preparado con las hojas de <i>Byrsonima crassifolia</i> .	76
Tabla 6.12	Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con el extracto acuoso y las fracciones orgánicas y acuosas del extracto preparado con la parte aérea de <i>Geranium seemannii</i> .	76
Tabla 6.13	Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con el extracto acuoso preparado con las hojas de <i>Larrea tridentata</i> y sus fracciones orgánicas y acuosas.	77
Tabla 6.14	Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con el extracto acuoso y las fracciones orgánicas y acuosas del extracto preparado con las hojas de <i>Byrsonima crassifolia</i> . Los discos impregnados se guardaron durante 14 días a 3 temperaturas diferentes.	78
Tabla 6.15	Diámetros (mm) de las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con el extracto acuoso y las fracciones orgánicas y acuosas del extracto preparado con la parte aérea de <i>Geranium seemannii</i> . Los discos impregnados se guardaron durante 15 días a 3 temperaturas diferentes.	79
Tabla 6.16	Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con el extracto acuoso y las fracciones orgánicas y acuosas del extracto preparado con las hojas de <i>Larrea tridentata</i> . Los discos	80

impregnados con los extractos se guardaron durante 7 días a 3 temperaturas diferentes.

- Tabla 6.17 Diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con el extracto acuoso y las fracciones orgánicas y acuosa del extracto preparado con las hojas de *Larrea tridentata*. Los discos impregnados se guardaron durante 28 días a 3 temperaturas diferentes. 80
- Tabla 6.18 Diámetros (mm) de los halos y las zonas disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con las fases orgánicas y acuosas de los extractos liofilizados preparados con *Geranium seemanii*. 81
- Tabla 6.19 Diámetros (mm) de los halos inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos acuosos liofilizados de *Geranium seemannii* disueltos en agua y disolventes orgánicos. 82
- Tabla 6.20 Diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos y los valores de concentraciones mínimas inhibitorias y letales en mg/ml de la fase orgánica del extracto preparado con la parte aérea de *Piqueria trinervia*. 84
- Tabla 6.21 Diámetros (mm) de los halos y las zonas disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos orgánicos preparados con la raíz gruesa de *Piqueria trinervia*. 85
- Tabla 6.22 Diámetros (mm) de los halos y las zonas disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos orgánicos preparados con la raíz delgada de *Piqueria trinervia*. 86
- Tabla 6.23 Diámetros (mm) los halos de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con las fracciones del extracto hexánico preparado con la raíz gruesa de *Piqueria trinervia*. 87
- Tabla 6.24 Diámetros (mm) de los halos de inhibición y las zonas disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con ampicilina y estreptomocina. 90
- Tabla 6.25 Diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con ampicilina y estreptomocina en cepas de *S. aureus* aisladas de casos clínicos. 92

## Tablas del Anexo

Tabla 1	Nombres comunes de <i>Buddleia scordioides</i> en español.	123
Tabla 2	Nombres comunes de <i>Byrsonima crassifolia</i> en lenguas prehispánicas.	123
Tabla 3	Nombres comunes de <i>Byrsonima crassifolia</i> en español.	124
Tabla 4	Nombres comunes de <i>Geranium seemannii</i> en lenguas prehispánicas.	125
Tabla 5	Nombres comunes de <i>Geranium seemannii</i> en español.	125
Tabla 6	Nombres comunes de <i>Guazuma ulmifolia</i> en lenguas prehispánicas.	126
Tabla 7	Nombres comunes de <i>Guazuma ulmifolia</i> en español.	127
Tabla 8	Nombres comunes de <i>Larrea tridentata</i> en lenguas prehispánicas.	128
Tabla 9	Nombres comunes de <i>Larrea tridentata</i> en español.	128
Tabla 10	Nombres comunes de <i>Persea americana</i> en lenguas prehispánicas.	128
Tabla 11	Nombres comunes de <i>Persea americana</i> en español.	129
Tabla 12	Nombres comunes de <i>Psidium guajava</i> en lenguas prehispánicas.	130
Tabla 13	Nombres comunes de <i>Psidium guajava</i> en español.	131
Tabla 14	Nombres comunes de <i>Piqueria trinervia</i> en lenguas prehispánicas.	132
Tabla 15	Nombres comunes de <i>Piqueria trinervia</i> en español.	135

## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1	Estructuras de los compuestos aislados de la parte aérea de <i>Piqueria trinervia</i> .	49
Figura 2.2	Estructuras de los compuestos aislados de la raíz de <i>Piqueria trinervia</i> .	50
Figura 2.3	Estructuras de los compuestos con actividad biológica aislados de <i>Piqueria trinervia</i> .	54
Figura 6.1	Probables estructuras de los compuestos identificados.	89

## RESUMEN

Los extractos acuosos liofilizados obtenidos de ocho especies usadas en la medicina tradicional mexicana para curar las diarreas fueron evaluados microbiológicamente. Las plantas seleccionadas para el presente estudio fueron: *Buddleia scordioides* (Buddleiaceae), *Byrsonima crassifolia* (Malphigiaceae), *Geranium seemannii* (Geraniaceae), *Guazuma ulmifolia* (Sterculiaceae), *Persea americana* (Lauraceae), *Piqueria trinervia* (Asteraceae), *Psidium guajava* (Myrtaceae) y *Larrea tridentata* (Zigophyllaceae).

Los liofilizados se rehidrataron para preparar cuatro concentraciones (10x, 5x, 2x y 1x). Sin embargo los extractos sin liofilizar (equivalentes a la concentración 1x) fueron mas activos que los extractos liofilizados rehidratados a 1x, los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano midieron entre 8 y 16 mm. Se observó un aumento del número de cepas sensibles a los extractos preparados a concentraciones mayores, en la mayoría de los halos no hubo crecimiento bacteriano y los diámetros midieron entre 8 y 15 mm.

Tres de las plantas con actividad fueron seleccionadas y se prepararon extractos mediante separaciones líquido-líquido. Con cada una de las fases, acuosas y orgánicas, se humedecieron los discos, los discos impregnados se guardaron a tres temperaturas (ambiente, 4º y -70º C) hasta 28 días. Las pruebas realizadas el día que se prepararon los extractos mostraron que *B. crassifolia* inhibió el crecimiento del mayor número de cepas (5) y que *Staphylococcus aureus* fue sensible a casi todas las fases [ $\varnothing$  de 7 a 13 mm]; además, en los halos no hubo crecimiento bacteriano. La actividad antibacteriana de los discos guardados a diferentes temperaturas decreció, dependiendo de la cepa; *L. tridentata* continuó siendo activa siete días después, pero a los 28 días fue activa únicamente contra *S. typhi*; en el caso de *B. crassifolia* y *G. seemannii* la actividad antibacteriana disminuyó notablemente a los

14 y 15 días.

Por otro lado, se evaluó tanto la parte aérea como la raíz de *P. trinervia*. Con la parte aérea a temperatura ambiente se preparó un extracto acuoso y se fraccionó, con las fases acuosa y orgánica se hicieron pruebas de actividad antimicrobiana; la fase orgánica fue la única activa, los diámetros de los halos midieron entre 9 y 22 mm, también se determinaron los valores de concentración mínima inhibitoria (5 a 8.5 mg/ml) y concentración mínima letal ( 5.0 a 10.0 mg/ml). La raíz fue separada en delgada y gruesa y con cada una se prepararon extractos orgánicos (Hex, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, AcOEt y MeOH); las pruebas microbiológicas mostraron que el extracto hexánico de la raíz gruesa es el más activo, por lo que se procedió a fraccionarlo en placa fina preparativa, obteniéndose nueve fracciones. La banda del punto de aplicación y las tres fracciones de menor polaridad fueron las más activas.

Los extractos preparados con la parte aérea (fase orgánica) y la raíz (hexano) de la *Piqueria trinervia* fueron sometidos a un análisis de espectrometría de masas acoplada a gases, lo que permitió identificar a las moléculas que posiblemente son las causantes de la actividad antibacteriana.

## ABSTRACT

Aqueous extracts of seven plants used in traditional Mexican medicine for treating diarrheas were evaluated *in vitro* for antibacterial activity. The species included: *Buddleia scordioides* (Loganiaceae), *Byrsonima crassifolia* (Malphigiaceae), *Geranium seemannii* (Geraniaceae), *Guazuma ulmifolia* (Sterculiaceae), *Persea americana* (Lauraceae), *Piqueria trinervia* (Asteraceae) y *Psidium guajava* (Myrtaceae), as well as *Larrea tridentata* (Zygophyllaceae). The microbiological tests were made using cultures of bacteria known to cause diarrhea.

The aqueous extracts were lyophilized and dehydrated to prepare four concentrations (10x, 5x, 2x y 1x). The antimicrobial effect of the non-lyophilized extract (1x) was as active as the most active lyophilized preparations; the diameters of the ring of inhibition of bacteria growth measured between 8 and 16 mm. The number of cultures sensitive to the extracts of high concentration increased with the majority of the inhibition rings measured between 8 and 15 mm.

Liquid-liquid separations of the aqueous extracts were prepared from three of the selected plants; microbiological tests were performed for each phase. Disks impregnated with the extract were stored at three temperatures (room temperature, 4° & -70° C) for 28 days. The tests performed on the day of the extract preparation with wet disks resulted in *B. crassifolia* inhibiting most of the cultures (5); *Staphylococcus aureus* was most sensitive in almost all the phases [diameters from 7 to 13 mm], in addition the halos had no bacteria growth. The antimicrobial activity of the disks stored at different temperatures varied depending upon the plant and culture. The extracts of *L. tridentata* were active seven days later but after 28 days, only one culture was sensitive. In the cases of *B. crassifolia* and *G. seemannii*, antimicrobial activity dropped noticeably at days 14 and 15.

Tests were performed using the aerial portion and roots of *P. trinervia*. The aqueous extracts (at room temperature) were prepared from the aerial parts and the aqueous and organic phases were subjected to microbial tests. Only the organic phase was active with halos measuring between 9 and 22 mm; the minimum inhibitory concentration was 5 to 8.5 mg/ml while the minimum lethal concentration was 5.0 a 10.0 mg/ml. The roots were separated into two groups based upon their size: thin and thick. Organic extracts (Hex, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, AcOEt & MeOH) were prepared for each root size group; the hexane extract of the thick roots was the most active. This extract was fractionated using thin layer chromatography and nine fractions were obtained. The most active fractions were the band at the point of application and the three bands of least polarity.

The extracts from the aerial part (organic phase) and from the roots (hexane) of *Piqueria trinervia* were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry that allowed the identifications of the molecules possibly responsible for the antimicrobial activity.

# I INTRODUCCIÓN

Datos de la Secretaría de Salud indican que las enfermedades infecciosas intestinales son una de las principales causas de mortalidad en la República Mexicana; de 1992 a 1995 ocuparon el décimo lugar y en 1996 descendieron al decimo-cuarto (Secretaría de Salud, 1994a, 1994b, 1996a, 1996b y 1997). Las personas más susceptibles son los adultos mayores de 65 años y los niños menores de 5, años siendo los menores de un año los mas afectados.

A pesar de los avances en el tratamiento de este tipo de enfermedades, las diarreas constituyen aún un gran problema de salud pública por su alta incidencia; el problema es más evidente en los estados del País en que predominan las condiciones de pobreza (Tapia-Conyer, 1994b).

En México el conocimiento y uso de las propiedades medicinales de las especies vegetales se remonta desde siglos antes de la conquista, y en la actualidad se siguen empleando, el conocimiento etnobotánico ha sido recopilado en diversos trabajos como tesis, artículos y obras de recopilación. Se estima que en nuestro País entre 3,000 y 5,000 especies vegetales son usadas medicinalmente (Lozoya, 1990; Argueta *et al.*, 1994), y del total de especies medicinales registradas, la mayoría corresponden a las especies utilizadas para curar enfermedades gastrointestinales (Argueta *et al.*, 1994; Frei *et al.*, 1998; Ankli *et al.*, 1999), lo que constituye un reflejo de la alta incidencia de este tipo de enfermedades en México. El uso de las plantas medicinales en el mundo es parte de la cultura y de las tradiciones de los pueblos, además, se trata de un recurso barato y accesible ya que la mayoría de los remedios vegetales se obtienen a partir de plantas que crecen en cada localidad (Waller, 1993).

Con la finalidad de contribuir al conocimiento de las propiedades antimicrobianas de las plantas medicinales mexicanas en el presente trabajo se evaluó *in vitro* la actividad antibacteriana de los extractos de ocho especies usadas en la medicina tradicional. Las pruebas microbiológicas se hicieron mediante la técnica de difusión en agar. Por otro lado, mediante cromatografía de gases acoplada a un detector másico, se identificaron los compuestos que posiblemente sean las causantes de la actividad antibacteriana de los extractos activos de *P. trinervia*, parte aérea (fase orgánica) y la raíz (extracto hexánico).

Como resultado importante de este estudio, se comprobó que los extractos preparados con las plantas seleccionadas poseen actividad antibacteriana contra algunas enterobacterias causantes de la diarrea, validando de esta manera el uso medicinal de algunas plantas.

## II ANTECEDENTES

### 2.1 DIARREAS

La diarrea es un padecimiento en el cual el paciente realiza tres o más deposiciones blandas o acuosas al día, sin embargo las deposiciones normales y frecuentes no se consideran como diarrea. Las deposiciones de una persona con diarrea contienen más agua de lo normal (OMS, 1994). La diarrea se clasifica en tres tipos: aguda líquida (la más frecuente), persistente o de evolución prolongada y disentería. En tanto que para el tratamiento efectivo de la diarrea aguda líquida la hidratación oral es la herramienta esencial para impedir 95% de las muertes, en la diarrea persistente la alimentación apropiada es fundamental, mientras que para la disentería pueden requerirse antimicrobianos (Mota-Hernández, 2006).

La diarrea es una de las principales causas de muerte infantil en el mundo, superada solo por las infecciones respiratorias agudas (IRA). Una de cada cuatro muertes infantiles se debe a la diarrea, de estas muertes el 99.6% tienen lugar en el tercer mundo (Silva, 2000).

#### 2.1.1 ETIOLOGÍA DE LAS DIARREAS

La etiología de las diarreas es variada, entre los agentes causales se incluyen virus, bacterias, parásitos y hongos. Considerando la etiología las diarreas se clasifican en 1. Infecciosa: viral, bacteriana y parasitaria. 2. No infecciosa: Por sobrealimentación o alimentos hiperosmolares, por fármacos (antibióticos y otros) por alergia o hipersensibilidad, por hormonas, por tóxicos por inflamación, por trastornos psiquiátricos y post-quirúrgico (Mota Hernández, 2006). Entre las bacterias pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, las comúnmente asociadas al padecimiento son: *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii*, *S.*

*sonneii*, *Salmonella enteritidis* y *S. typhimurium* (Coria Lorenzo, 2001), en un muestreo realizado en niños de 1 a 3 años de edad fueron identificados como agentes acusantes de la enfermedad el Rotavirus, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Cryptosporidium parvum*, *Giardia lamblia*, *Blastocystis hominis*, *Entamoeba histolytica* (Larrosa-Haro *et al.*, 2002). Situación similar a la reportada por Mota-Hernández (2002) quien menciona que el 80 % de las diarreas son causadas por Rotavirus *Campylobacter jejuni*, *Salmonella spp.* y *Shigella spp.*

Existen varias categorías de *E. coli* causantes de diarrea, las cuales se establecen de acuerdo varios parámetros entre ellos están los distintos grados de virulencia, las interacciones con la mucosa intestinal, los síntomas clínicos, la epidemiología y los serotipos (O:H). Los biotipos de *E. coli* son: enterotoxígena, enteroinvasiva, enteropatógena y enterohemorrágica (Levine y Edelman, 1984). Por los patrones de adherencia a las células Hep-2 de *E. coli* enteropatógena fue diferenciada la *E. coli* enteroagregante (Mathewson *et al.*, 1985).

La shigelosis, también llamada disentería bacilar, se caracteriza por eliminación de heces muco-sanguinolentas, dolor abdominal, tenesmo y fiebre. Es ocasionada por *Shigella dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* y *S. sonnei*. El período de incubación es de 2 a 4 días (Álvarez, 1995).

La salmonelosis es una enfermedad infecciosa aguda septicémica con manifestaciones locales en intestino, hígado, pulmón, etc. El padecimiento es mas frecuente en verano, siendo más común en niños de edad escolar. El agente causante es *Salmonella typhi* que se encuentra en el agua y en los alimentos contaminados como mariscos, leche, etc. En los portadores convalecientes o permanentes, el germen se aloja en la vesícula biliar hasta por un año o de por vida. El período de incubación es de 10 a 14 días y en ocasiones hasta de 3 semanas (Álvarez, 1995).

La incidencia de las diarreas puede ser abatida mediante el mejoramiento de las condiciones del medio y la educación e higiene personal. Para un

control efectivo se requieren obras de saneamiento básico, suministro de agua potable y depósito adecuado de los desechos (Álvarez, 1995).

### **2.1.2 LAS DIARREAS COMO PROBLEMA DE SALUD**

Las enfermedades infecciosas producen pérdida de peso corporal, así como cambios fisiológicos y metabólicos. Las diarreas producen un daño aún mayor, pues a las alteraciones mencionadas se suman la pérdida de nutrientes, agua y electrolitos. Debido a la pérdida excesiva de líquidos en las evacuaciones, es indispensable que el enfermo tome líquidos con más frecuencia y en cantidad mayor a lo habitual (Mota-Hernández, 1990). Un problema trascendente que se produce como secuela de la diarrea es la desnutrición. Una de las causas más comunes de la desnutrición infantil es la frecuencia de episodios de diarrea, así como el manejo nutricional inadecuado durante la enfermedad y la convalecencia (Tapia-Conyer, 1994b). El daño nutricional es una de las causas que influyen negativamente en el crecimiento y en el desarrollo óptimo de la población infantil.

La diarrea aguda es un padecimiento que afecta a los mexicanos desde tiempos prehispánicos. Para Fray Bernardino de Sahagún, Martín de la Cruz y Juan Badiano, las enfermedades gastrointestinales eran las más frecuentes entre los nahuas (Flores y Troncoso, 1982). Las condiciones que predisponen al padecimiento de enfermedades gastrointestinales eran conocidas en México desde el siglo antepasado, como menciona Oraños (1894), "Se han hecho algunos estudios preliminares de mayor frecuencia de diarrea en personas que viven en habitaciones sucias, en casas donde hay aglomeración de individuos y en la primera infancia".

Los grupos más susceptibles a las enfermedades intestinales corresponden a los extremos de edad ( $\leq 5$  y  $\geq 65$  años), de estos grupos, los más propensos son los niños menores a un año. Además de la relación edad / enfermedad, ciertos grupos sociales son los más afectados por las diarreas. Por ejemplo, en los estados de Chiapas, Oaxaca y Puebla, de 1992 a 1997 se registraron las tasas de

mortalidad más elevadas, incluso superaron al promedio nacional (Secretaría de Salud, 1994a, 1994b, 1996a, 1996b, 1997 y 1998). Además, no todos los casos de morbilidad son registrados, debido a la escasez de servicios de salud en las zonas indígenas, así como a la baja frecuencia de notificación y asistencia a los servicios de atención para la salud (Tapia-Conyer, 1994a).

### **Mortalidad**

La mortalidad a causa de las enfermedades infecciosas intestinales en la República Mexicana tiende a disminuir. En 1990, estos padecimientos ocupaban el 7º lugar con una tasa de 27.32 (por 100,000 habitantes); la cifra descendió gradualmente al 14º lugar en 1997, con una tasa de 7.79, y en el 2003, ocupó el 15º lugar con un valor de 4.2. En el ámbito nacional, el grupo más susceptible a las enfermedades diarreicas corresponde a los niños menores de un año, su incidencia supera a la media nacional (Secretaría de Salud, 1991, 1998).

Los habitantes de las comunidades rurales son quienes más padecen diarreas. En un estudio realizado en los estados de Chiapas, Guerrero e Hidalgo se analizaron 553 certificados de defunción con diagnóstico de muerte por enfermedad diarreica o deshidratación; de ese total, el 58.4% de los casos correspondió a niños menores de un año (Reyes *et al.*, 1998).

Las diarreas ya no son una de las causas principales de muerte, pero continúan siendo un problema de salud pública; su incidencia las ubica como una de las principales causas de morbilidad dentro del grupo de las enfermedades infecciosas. El porcentaje de admisiones por diarrea persistente en el Hospital Pediátrico de México de 1988 a 1999, disminuyeron de un 31.7 a 13.8%, sin embargo los rangos de letalidad y mortalidad por la enfermedad no cambiaron (Guerra-Godínez *et al.*, 2003).

### **Morbilidad**

En el ámbito nacional, las tasas de morbilidad (por 100,000 habitan-

tes) causadas por diarrea han aumentado de 2,905.93 en 1990, a 5,218.91 en 1998 (Secretaría de Salud, 1992a; 1999). En promedio, en los niños se presentan de uno a tres episodios de diarrea por año en el medio urbano y 4.9 en el medio rural (Herrera Contreras, 1990).

En cuanto a la distribución geográfica, se hace evidente la polarización norte-sur respecto a la incidencia de diarreas en México, patrón que es muy cercano al que presenta la desnutrición. En general, los estados del norte y el de Jalisco muestran niveles de desnutrición mínimos; la mayoría de los estados del centro de la República y el de Tabasco presentan niveles moderados, mientras que en los estados del sureste la desnutrición alcanza niveles superiores, patrón que parece mantener una correlación con la presencia de grupos indígenas (Ávila-Curiel *et al.*, 1998).

## **2.2 TRATAMIENTO DE LAS DIARREAS**

### **2.2.1 ANTIBIÓTICOS**

Los antibióticos revolucionaron la medicina, permitiendo el tratamiento de enfermedades infecciosas que alguna vez fueron fatales y no se pudieron combatir, (Livermore, 2004), sin embargo, el uso inadecuado de los antibióticos ha ocasionado el surgimiento de cepas bacterianas resistentes, situación que es de gran preocupación desde 1990, ya que el incremento de cepas resistentes continúa ocasionando severos problemas de salud pública (Pollard y Dobson, 2000).

Los antimicrobianos solo están indicados en casos de disentería, cólera o inmunocompromiso (Mota-Hernández, 2006). Los principales grupos de antibióticos empleados para tratar las infecciones causadas por enterobacterias son:  $\beta$ -lactamas, quinolonas, aminoglicósidos, tetraciclinas y sulfonamidas (Georgopadakoü, 2002). Algunos de los efectos adversos que causan los antibióticos son:

el incremento de la resistencia bacteriana, los costos elevados del tratamiento, las reacciones alérgicas y sobre todo la destrucción de la flora bacteriana normal que favorece la colonización de gérmenes potencialmente patógenos como *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Clostridium* y *Candida* y predispone al huésped a adquirir infecciones sistemáticas graves (Gutiérrez-Camacho *et al.*, 1997).

Un estudio que fue realizado en una zona periurbana de la ciudad de México reporta que en 37% de los episodios de diarrea se emplearon antibióticos, sin embargo solo en 5% de los casos, el medicamento fue recetado por la presencia de sangre en las evacuaciones. En el 72% de los enfermos, la automedicación fue asociada con dosis inadecuadas de los fármacos y el tratamiento duró menos de 5 días en 66% de los casos tratados (Bojalil y Calva, 1994).

### **2.2.2 REHIDRATACIÓN ORAL**

El peligro al que conlleva la diarrea, es la pérdida de líquidos y de nutrientes corporales, lo que puede causarle al paciente un grado severo de deshidratación y desnutrición. Los niños tienen mayor riesgo a morir a causa de la deshidratación provocada por la diarrea que los adultos, debido a que su cuerpo contiene menos agua por lo que la deshidratación ocurre con mayor rapidez (UNICEF). La mayoría de los niños enfermos de diarrea mueren a causa de la deshidratación, cuanto más pequeño y delgado es el niño se deshidrata más rápidamente y muere (Silva, 2000). Aproximadamente el 70% de las muertes infantiles por diarrea se debe a la deshidratación; estas muertes pudieron evitarse con una terapia de rehidratación oral adecuada, la terapia consiste en incrementar el consumo de líquidos, dar suero de hidratación oral, continuar con la alimentación y no usar antidiarreicos (Álvarez-Larrauri, 1998). En el tratamiento del paciente con diarrea, la hidratación oral es aceptada universalmente como uno de los procedimientos más importantes para prevenir o corregir el desequilibrio hidroelectrolítico, disminuir las complicaciones, los costos de atención y abatir la mortalidad por la enfermedad (Larracilla, 2002). La fórmula estándar de las sales de rehidratación oral aceptada por la

Organización Mundial de la Salud para mezclar en un litro de agua, se compone de: glucosa 20.0 g; cloruro de sodio 3.5 g; cloruro de potasio 1.5 g; citrato trisódico dihidratado 2.9 g (de León Glonzález).

Entre 1958 y 1959, en el Hospital Infantil de México “Federico Gómez” fue creado el Centro de Hidratación Oral Voluntaria, iniciándose en México y Latinoamérica un programa institucional que demostró su utilidad en la prevención y corrección del desequilibrio hidroelectrolítico en lactantes con gastroenteritis (Larracilla, 2002). El empleo de este recurso ha sido aceptado y adoptado unánimemente en los centros de salud de segundo nivel de atención del País. Esta medida terapéutica ha influido en la disminución de casos de abdomen agudo que se presentan como consecuencia de la diarrea infecciosa (Baeza Herrera *et al.*, 2002). No obstante, hay estudios que indican que la hidratación oral no se aplica con la frecuencia deseada. En un estudio realizado en Coatepec, Ver, Álvarez-Larraui (1998) menciona que el 47% de las madres de niños enfermos de diarrea proporcionaron suero de hidratación oral a sus hijos. Existe una relación positiva entre los adultos que conocen el concepto de deshidratación y la administraron del suero. También se comprobó que existe una relación significativa entre mayor administración de medicamentos, y menor uso del suero de hidratación oral. El hecho que los adultos no conciban a la deshidratación como pérdida de líquidos a través de las heces, además de desconocer los beneficios de administrar el suero al enfermo, está estrechamente ligado a la falta del uso del suero de hidratación oral, motivos por los que en casos de diarrea es mas frecuente que recurran a los medicamentos (Álvarez-Larraui, 1998).

### **2.2.3 PLANTAS MEDICINALES**

En las últimas dos décadas, a nivel mundial se ha incrementado considerablemente el interés por el estudio de las plantas medicinales como fuente de obtención de compuestos farmacológicamente activos; además el uso de la medicina tradicional está muy extendido en los países en vías de desarrollo, su empleo está arraigado a las circunstancias históricas y creencias, siendo en algunos casos

la medicina tradicional la única fuente accesible de atención sanitaria, especialmente para los pacientes mas pobres (OMS, 2002). Las plantas medicinales registradas a través de los estudios etnobotánicos, pueden ser una fuente de información para encontrar los compuestos bioactivos. Además los estudios fitoquímicos y farmacológicos ofrecen la ventaja de validar la actividad de las plantas empleadas tradicionalmente (Verpoorte, 1998). Por otra parte, el incremento de bacterias patógenas fármaco-resistentes ha hecho mas urgente la necesidad de encontrar nuevos agentes antibacterianos (Shu, 1998).

Se estima que en el mundo existen 250,000 especies de plantas (Primm *et al.*, 1995), de esta riqueza florística se estima que 13,952 especies han sido evaluadas para al menos un tipo de actividad biológica (Verpoorte, 1998). La búsqueda de nuevos agentes farmacológicamente activos obtenidos de fuentes naturales, ha hecho posible el descubrimiento de muchos medicamentos para uso clínico (Shu, 1998). De 1983 a 1994, la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos de Norteamérica (FDA por sus siglas en inglés) e instituciones similares en otros países, reportaron el uso de 520 medicamentos, de los cuales, 231 son de origen natural y 289 son sintéticos (Cragg *et al.*, 1997). Los totales y su procedencia se presentan en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Procedencia de 520 productos aprobados por la FDA.

Fuente	Total	%
Biológicos	28	5.4
Derivados de productos naturales sin modificar	30	5.8
Derivados de productos naturales (semisintéticos)	127	24.4
Sintéticos, moldeados a partir de un producto natural relacionado	46	8.8
Sintéticos	289	55.6
Total	520	100.0

Estos productos fueron aprobados e indicados para tratar 33 padecimientos. Los padecimientos que contaron con 10 o más productos nuevos se presentan en la Tabla 2.2. Los antibacterianos ocuparon el primer lugar con 64 medicamentos, de los cuales, 44 son semisintéticos y 6 son derivados de productos na-

turales sin modificar, lo que indica que el 78% de estos medicamentos tienen un origen natural (Cragg *et al.*, 1997).

Tabla 2.2. Uso de los medicamentos aprobados por la FDA.

Uso	B	N	DN	S	S*	Total
Antibacterianos	-	6	44	14	-	64
Antiinflamatorios	1	-	12	27	-	40
Anticancerígenos	6	4	11	12	4	37
Antiulceras	-	1	9	11	-	21
Antitrombóticos	2	-	3	5	-	10
Analgésicos	-	-	-	12	-	12
Antidepresivos	-	-	-	-	16	16
Antifúngicos	-	-	-	-	16	16
Antihipertensores	-	-	-	27	25	52
Antivirales	-	-	-	3	7	10
Hipnóticos	-	-	-	-	16	16

Leyenda. B, Biológicos; N, Derivados de productos naturales sin modificar; DN, Derivados de productos naturales (semisintéticos); S, Sintéticos, moldeados a partir de un producto natural relacionado y S\*, Sintéticos.

Entre las regiones que cuentan con el mayor número de plantas medicinales cabe citar a México, América Central y la región oeste-central de Sur América (Colombia, Ecuador y Perú), el subcontinente Indio, el oeste de Asia y la porción noreste de África. Sin embargo, la sobre explotación de las plantas medicinales silvestres con fines comerciales, está causando la pérdida del recurso (Groombridge, 1992).

Actualmente, en nuestro país existe un fuerte arraigo al uso de plantas para curar diversas enfermedades. Para amplios sectores de la sociedad mexicana, y en particular para los indígenas, la medicina tradicional constituye el principal o único recurso para atender los problemas de salud (Tapia-Conyer, 1994a).

La presencia de la medicina tradicional es claramente observada en las áreas del sur de México como Chiapas y Oaxaca, donde prevalece la cultura indígena (Lozoya, 1990). Aunque existen servicios médicos en algunas de las comunidades rurales, los habitantes prefieren la medicina tradicional. Además de los aspectos culturales, la medicina tradicional es más accesible para las personas que habitan en las comunidades rurales, ya sea porque los centros de atención médica

se encuentran lejos de la localidad o bien, porque es más costoso el tratamiento con medicina alópata (Frei *et al.*, 1998).

En un estudio realizado de 1983 a 1985 en las zonas rurales de la República Mexicana, a través de encuestas realizadas por los médicos de 2,242 clínicas del Programa IMSS-COPLAMAR a médicos tradicionales, se enlistaron las 1,950 especies medicinales más utilizadas en el país. Por la frecuencia de uso resaltaron 140 especies vegetales, de las cuales, el 38 % es empleado para curar trastornos del aparato digestivo (desparasitantes, espasmolíticos, laxantes, antidiarreicos y coléricos), el 13.6 % se emplea para curar afecciones del sistema respiratorio y el 13.5 % para el tratamiento de lesiones de la piel (Lozoya *et al.*, 1987).

Entre 1994 y 1995, los padecimientos más frecuentes atendidos por los curanderos en las zonas rurales del País fueron los digestivos (44.0 %), respiratorios, (11.0 %) y los traumatismos (9.0 %) (Lozoya, 1990).

Los curanderos zapotecos del Istmo de Tehuantepec emplean 205 especies vegetales, de las cuales 46.1 % se utilizan para tratar problemas dermatológicos y el 39.6 % para curar enfermedades gastrointestinales (Frei *et al.*, 1998).

En tres comunidades indígenas del estado de Oaxaca (maya, nahua y zapoteca) la mayoría de las plantas medicinales se emplean para tratar enfermedades gastrointestinales, dermatológicas y respiratorias (Heinrich *et al.*, 1992).

### **Uso de plantas medicinales para curar la diarrea**

El número de plantas usadas como medicinales en México oscila entre 3,000 y 5,000 (Lozoya, 1990; Argueta *et al.*, 1994), de las cuales, la mayoría son especies silvestres (Lozoya, 1994). Considerando el total de especies estimadas para la flora mexicana, cifra que oscila entre 22,800 a 29,222 especies (Rzedowski, 1993; Villaseñor, 2003), significa que aproximadamente entre el 10.34 y 17.24% de las plantas reciben algún uso medicinal.

En el Atlas de la Medicina Tradicional Mexicana (Argueta *et al.*,

1994), ha sido reunida la información acerca de las plantas medicinales. En la obra se encuentran registradas 3,103 especies empleadas como medicinales, de las cuales la tercera parte (1,024), son usadas para curar enfermedades del aparato digestivo.

El número tan elevado de plantas empleadas para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales puede considerarse como un reflejo de la incidencia que tienen estos padecimientos en la población que emplea la medicina tradicional.

Como ejemplo podemos citar un estudio realizado en cuatro comunidades zapotecas (Santo Domingo Petapa, Santa María Petapa, Santa María Guevanati y Guevara de Humboldt) localizadas en la sierra de Oaxaca, de las 445 plantas medicinales registradas, 205 (46.1%) especies son empleadas para curar padecimientos dermatológicos; 176 especies (39.6%) se usan para curar enfermedades gastrointestinales, el resto son destinadas para tratar otras enfermedades. Entre los padecimientos gastrointestinales más frecuentes están: la diarrea, disentería y cólico (Frei *et al.*, 1998).

En la comunidad Mixe de Oaxaca, la diarrea y la disentería se encuentran entre las 8 enfermedades más atendidas por los curanderos; del total de 213 especies usadas con fines medicinales, 65 son usadas para tratar problemas gastrointestinales; 30 para curar el dolor de estómago; 23 para tratar la diarrea y 10 para combatir parásitos intestinales. La infusión es la forma más común de preparar las plantas medicinales (Heinrich *et al.*, 1992; Frei *et al.*, 1998).

En las comunidades mayas (Chikindzonot, Ekpez y Xcocmil) localizadas al sur de Valladolid, Yucatán, las enfermedades más frecuentes son las gastrointestinales, (principalmente la diarrea en niños) y las enfermedades respiratorias. De las 320 especies que tienen uso medicinal, 147 son empleadas para curar enfermedades del aparato digestivo (Ankli *et al.*, 1999).

Aunque el uso de plantas medicinales en México es muy frecuente, es lamentable que los estudios etnobotánicos sean aún escasos. Faltan estudios en más de dos tercios del territorio nacional. Las zonas áridas y semiáridas del norte del País son las menos estudiadas, mientras que los estados cercanos a la capi-

tal están mejor estudiados. El inventario químico y la evaluación farmacológica de las plantas medicinales es aún más incompleto que el inventario taxonómico (Bye *et al.*, 1991). De las 3,103 plantas enlistadas en El Atlas de la Medicina Tradicional Mexicana, sólo existen 521 estudios de tipo farmacológico y 88 mixtos (químico, farmacológico y de principio activo) (Argueta *et al.*, 1994).

Por lo tanto, realizar estudios que evalúen las propiedades de las plantas medicinales mexicanas es una aportación necesaria al conocimiento farmacológico.

## 2.3 ESPECIES SELECCIONADAS PARA EL ESTUDIO

Con base en una revisión de la literatura y considerando la disponibilidad de las plantas para colecta se seleccionaron ocho especies usadas en la medicina tradicional mexicana para curar la diarrea. La lista de las plantas estudiadas y las partes de las plantas utilizadas en la medicina tradicional se presentan en la Tabla 2.3.

Tabla 2.3. Plantas seleccionadas para el presente estudio.

Especie	Partes estudiadas	Partes usadas en la medicina tradicional	Padecimientos
<i>Buddleia scordioides</i> (Buddleiaceae)	Parte aérea	Ramas o Raíz	Diarrea y dolor de estomago
<i>Byrsonima crassifolia</i> (Malpighiaceae)	Corteza y hojas	Corteza	Diarrea, disentería y dolor de estómago
<i>Geranium seemannii</i> (Geraniaceae)	Parte aérea	Hojas	Diarrea
<i>Guazuma ulmifolia</i> (Sterculiaceae)	Corteza y hojas	Corteza, hojas, brotes o raíz	Diarrea, disentería, dolor de abdomen o de estómago
<i>Larrea tridentata</i> (Zygophillaceae)	Hojas y ramas delgadas	Ramas	Mala digestión y dolor de estómago
<i>Persea americana</i> (Lauraceae)	Hojas	Hojas o hueso	Disentería, diarrea y diarreas atónicas
<i>Piqueria trinervia</i> (Asteraceae)	Parte aérea y raíz	Parte aérea	Infecciones intestinales, diarreas y disentería
<i>Psidium guajava</i> (Myrtaceae)	Corteza y hojas	Hojas, raíz, corteza y fruto	Diarrea y disentería

Fuentes: Díaz, 1976 a y b; Cáceres *et al.*, 1990; Heinrich, *et al.*, 1992; Aguilar Contreras *et al.*, 1994; Argueta *et al.*, 1994; Versagui, *et al.*, 1996.

### **2.3.1 *Buddleja scordioides* Kunth**

Arbusto bajo, de 30 cm a 1 m de alto, muy ramificado, estrellado-pubescente sobre todo en las partes jóvenes, de color verde-amarillento, glabro, exfoliante en las partes viejas. Hojas opuestas con líneas estipuladas inconspicuas, sésiles, oblanceoladas, de 0.2 a 0.8 (3) cm de largo por 0.1 a 0.3 (0.8) cm de ancho, ápice agudo a obtuso, margen crenado, base atenuada, venación muy conspicua en el envés, densamente estrellado-pubescente en ambas caras. Inflorescencia terminal con varios pares de cimas capitadas colocadas en las axilas foliares. Flores de más o menos 0.5 cm de diámetro, disminuyendo de tamaño progresivamente hacia el ápice de la inflorescencia; cáliz densamente estrellado-tomentoso exteriormente, de 2 mm de largo; corola de 3 a 3.5 mm de largo, amarilla o de color amarillo limón, infundibuliforme, tomentosa por fuera, glabra por dentro, lóbulos oblongos, aproximadamente del mismo largo que el tubo; estambres subsésiles; ovario largo. Semillas varias de 6 mm de diámetro sin ala (Rzedowski y Rzedowski, 1985).

Distribución geográfica. Crece en altitudes entre 2250 a 2400 msnm, habita en los estados de Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Durango, Zacatecas, Aguas Calientes, San Luis Potosí, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, Jalisco, México y Distrito Federal (Standley, 1924; Rzedowski y Rzedowski, 1985).

Los diferentes nombres locales que recibe esta especie se pueden consultar en la Tabla 1 del Anexo.

#### **Usos medicinales**

En Aguascalientes, Durango y Guanajuato su uso medicinal incluye el tratamiento de padecimientos digestivos, principalmente dolor de estómago y diarrea. También se usa como eupéptico, para curar los cólicos de los niños (Argueta *et al.*, 1994) y como remedio contra la indigestión (Standley, 1924).

En Nuevo León, los campesinos preparan con las partes aéreas de la planta extractos con agua o alcohol que usan como protector solar (Ávila *et al.*, 2005).

## Estudios químicos

Pocos estudios fitoquímicos se han realizado a la especie *Buddleia scordioides*, aunque otras especies del género han sido más estudiadas reportando la presencia de diversos compuestos en ellas.

A partir del extracto metanólico de la parte aérea de *B. scordioides* se extrajo el o-metilcatalpol, verbascosido, linarina, siringina y manitol. La mezcla de buddlejasaponinas fue expuesta a una hidrólisis ácida y se obtuvieron dos agliconas: saicogenina A y 3,23,28-trihidroxioleana-11,13(18)dieno (Ávila y Romo de Vivar, 2002), y del extracto metanólico de las hojas fueron aislados los glucosidos de iridoides, catalpol y metilcatalpol (Pérez Gutiérrez *et al.*, 2006).

El primer diterpeno aislado de la familia fue la buddlejona, reportado en *B. albiflora* (Houghton *et al.*, 1996); de esta especie también se aisló la desoxy-buddlejona (Mensah, 2000).

De las hojas de *B. asiatica* se aislaron los monoterpenos citronelol,  $\beta$ -cariofileno y óxido de  $\beta$ -cariofileno (Garg y Dengre, 1992).

De la corteza del tallo de *B. cordata* subsp. *cordata* se aislaron 10 esteroides de cadena larga (Acevedo *et al.*, 2000).

Del extracto metanólico de la corteza y la raíz de *B. davidii* se aislaron los sesquiterpenos: Buddleinas A, B y C, tóxicas para los peces; y las buddleinas D y E que no son tóxicas (Yoshida *et al.*, 1976; Yoshida *et al.*, 1978a y 1978b), y del tallo se aisló el cistanósido D (Houghton, 1985a). Otros compuestos reportados son el coniferaldeido y la balanoponina (Houghton *et al.*, 1985b).

A partir de la raíz de *B. globosa* se extrajeron las buddleidonas A y B, las cuales poseen actividad antiinflamatoria (Liao, 1999). De las hojas fueron aislados los triterpenos  $\beta$ -amirina, acetato de  $\beta$ -amirina, glutinol, el esteroide chondristerol, las geninas ácido  $p$ -cumárico y el ácido ferúlico y lupeol (López, 1979; Marin *et al.*, 1979). Para la especie también se reportan la aucubina, catalpol, metilcatalpol, biridósido (Duff *et al.*, 1965; Houghton, 1985b; Mansoor *et al.*, 1992) 7- $p$ -metoxicinnamolaucubina, 7- $p$ -metoxicinnamoilcatalposido (Houghton y Hikino, 1989).

De las hojas y flores de *B. globosa*, *B. heterophylla*, *B. lindleyana*

var. *minor* se aislaron los flavonoides 6-hidroxiluteolina, acacetina, kaempferol, luteolina, quercetina, 7-O-rutinósido de acacetina, 7-O-glucósido de apigenina, 3-O-rutinósido de quercetina, 7-O-glucósido de escutellareina, 7-O-glucósido de luteína y 7-O-glucósido de 6-hidroxyteolina (Harbone y Williams, 1971; Marin *et al.*, 1979).

Los terpenos buddlindeterpenos A, B y C se aislaron de *B. lindleyana* (Jianghai *et al.*, 2004).

De las flores de *B. officinalis* se aislaron las saponinas mimengósidos A y B (Ding *et al.*, 1992) C y-G (Guo *et al.*, 2004) y de la parte aérea de *B. japonica* se aislaron las buddleiasaponinas I, II, III y IV (Yamamoto *et al.*, 1991).

En especies del género *Buddleia* se reportan los fenilpropanoides: ácidos cafeíco, ferúlico y *p*-cumárico, martinósido, jionósido, angorósido (López, 1979; Houghton, 1985a). Los fenil etanoides: 1-(-4-hidroxifenil) etil lignoserato, 2-(-4-hidroxifenil) etil dodecanoato (Houghton, 1985b), glicósidos fenilttenoides (Yamamoto *et al.*, 1993). Los esteroides: chondrasterol (López, 1979). Los esteroides  $\beta$ -sitosterol y estigmasterol están presentes en las hojas de especies de este género (Chawla *et al.*, 1981; Houghton, 1984).

### **Actividad biológica**

El verbascósido es un compuesto que tiene efectos letales sobre *Staphylococcus aureus*, al inhibir la absorción de leucina lo que afecta severamente la síntesis de proteínas (Ávila *et al.*, 1999).

Las buddleinas A y B extraídas de la corteza del tallo de *B. globosa*, inhiben el crecimiento de los hongos *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton rubrum* y *T. interdigitale*, el diterpeno maitenona y los diterpenos buddlejona y oxidibuddlejona inhiben también el crecimiento de los hongos (Mensh *et al.*, 2000).

Fue reportado que la actividad amebicida de *B. cordata* es ocasionada por la linarina. Esta especie puede ser una fuente natural para obtener el compuesto ya que constituye el 24% del extracto metanólico de las partes aéreas (Rodríguez-Zaragoza *et al.*, 1999).

Se comprobó que los extractos crudos de las partes aéreas de *B. scordioides* y *B. perfoliata* tienen actividad antiespasmódica y un efecto relajante en el yeyuno de conejos y el ileum de cobayos. Este tipo de actividades pueden ser la causa de su uso en la medicina tradicional en el tratamiento de dolores gastrointestinales, espasmos y cólicos (Cortés *et al.*, 2006).

La actividad analgésica, antiinflamatoria y antipirética del extracto acuoso y de la linarina de *B. cordata* fue evaluada en ratones. En el estudio se encontró que la actividad analgésica del extracto acuoso crudo es mayor en comparación con la linarina, por lo tanto otros compuestos están involucrados en las propiedades analgésicas de la planta. Respecto a la actividad antiinflamatoria del extracto crudo y la linarina se encontró una relación dosis-dependencia; la linarina es más activa que el extracto crudo, con lo que se concluyó que el compuesto es antiinflamatorio. En cuanto a las propiedades antipiréticas de la planta, la linarina redujo más la temperatura que el extracto crudo. Con estos estudios se valida el uso de la planta en la medicina tradicional (Martínez-Vázquez *et al.*, 1996 y 1998).

En un estudio, fueron evaluadas las propiedades fotoprotectoras del extracto metanólico, el verbascósido y la linarina aislados de *B. scordioides* y el acetato de linarina preparado en el laboratorio. Para estimar el efecto fotoprotector contra la radiación UV-B la cual produce muerte celular, se emplearon cepas de *E. coli*, y se encontró que el verbascósido y el acetato de linarina protegen mejor a las bacterias. El factor de protección solar se evaluó en cobayos, y el valor más alto se obtuvo con el verbascósido (Ávila *et al.*, 2005).

### **2.3.2 *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth**

Árbol de 5 a 8 m de altura. Hojas opuestas coriáceas, ovado-elípticas, ovado-lanceoladas; base cuneada u obtusa, margen engrosado y algo revuelto, de 4 a 15 cm de largo y 2 a 9 cm de ancho; el haz glabro, brillante, el envés lanuginoso ferrugíneo cuando tierna, luego glabrescente; pecíolo crasiúsculo, lanu-

ginoso-tomentoso, luego glabro. Inflorescencia, pseudorracimo terminal, alargado, multifloro, raquis pubescente; pedúnculos crasos; brácteas ovado-lanceoladas, exteriormente lanuginosas. Flores de 14 a 15 mm de diámetro; cáliz con 10 sépalos de 2.5 mm, glandulosos, ovados con ápice recurvado, obtuso; pétalos glabros, amarillos, cóncavos; filamentos híspidos en la base, anteras oblongas, de 2.5 a 3 mm de largo. Fruto drupáceo ovado, globoso, glabro de 8 a 12 mm de diámetro (García, 1992).

Distribución geográfica, planta originaria de América tropical, habita en áreas con climas cálido, semicálido y templado desde el nivel del mar hasta los 1,390 de altitud. Está asociada a los bosques tropicales caducifolio, subcaducifolio, subperennifolio y perennifolio, bosque de encino y mixto de pino-encino; presente en la vegetación secundaria de selvas, sobretodo deciduas y subdeciduas (Miranda, 1952; Argueta *et al.*, 1994). Se distribuye en los estados de Sinaloa, Nayarit, Guerrero, Michoacán, Chiapas, Tabasco, Península de Yucatán, Veracruz, Morelos, Tamaulipas, América Central, norte de América del sur y las Antillas (Standley, 1923; Martínez, 1959; Mason y Mason, 1987).

Los nombres comunes de *B. crassifolia* en lenguas prehispánicas y español se presentan en las Tablas 2 y 3 del Anexo.

### **Usos medicinales**

El uso medicinal, de mayor frecuencia, que se le da a la planta es como antidiarreico, aunque también se usa para tratar otras afecciones del aparato digestivo como disentería, dolor de estómago, empacho, mala digestión, bilis y estreñimiento con inflamación del estómago. Para tratar estos padecimientos se bebe el cocimiento de la corteza (Martínez, 1959; Argueta *et al.*, 1994).

En Oaxaca, los zapotecos la usan para tratar enfermedades gastrointestinales y hepáticas (Frei, 1998; Leonti *et al.*, 2003) y los curanderos con frecuencia recomiendan tomar la decocción de la corteza o de las hojas para curar la diarrea y disentería (Béjar y Malone, 1993).

El cocimiento de la corteza sirve para favorecer la digestión, afirmar la dentadura, para curar fungosidades en las encías, limpiar y purgar al vientre de las paridas, llamar la leche, entonar el cuerpo y en la metrorragia (Martínez, 1959). También la usan para tratar problemas ginecológicos como infección de la matriz e inflamación de los ovarios, evitar el aborto y facilitar el parto (Argueta *et al.*, 1994), (Martínez, 1959).

Se emplea para curar afecciones de la piel como sarna, granos, clavillos y heridas (Argueta *et al.*, 1994).

Otros padecimientos en los que se administra la planta son para tratar las afecciones renales, dolor de cintura, resfriados, fiebres, diabetes, como tónico y mordedura de serpiente. Se le atribuyen propiedades antipiréticas y astringentes (Standley, 1923; Argueta *et al.*, 1994).

### **Otros usos**

Los frutos, se comen crudos, cocidos, en dulces y encurtidos, también se usan para preparar agua fresca. En algunas localidades los fermentan para preparar una bebida alcohólica (Standley, 1923; Miranda, 1952; Martínez-Vázquez *et al.*, 1999).

La madera es de color rojizo y se usa principalmente como leña. La corteza se usa para curtir pieles (Standley, 1923; Miranda, 1952).

### **Estudios químicos**

En la raíz del nanche, se ha reportado la presencia de terpenos, saponinas, flavonoides y glicósidos y del tallo se han aislado saponinas, flavonoides, glicósidos y taninos (Martínez-Vázquez *et al.*, 1999).

Diversos compuestos han sido identificados en la corteza del tallo: proantocianidinas formadas principalmente por unidades de (+)-epicatequina como

los trimeros (3-*O*-galoil-(+)-epicatequina-[4 $\alpha$ →8]-3-*O*-galoil-(+)-epicatequina-[4 $\alpha$ →8]-(+)-epicatequina y el 3-*O*-galoil(-)-epicatequina-[4 $\alpha$ →8]-3-*O*-galoil-(+)-epicatequina-[4 $\alpha$ →8]-(+)-epicatequina; los dimeros (3-*O*-galoil-(+)-epicatequina-[4 $\alpha$ →8]-3-*O*-galoil-(+)-epicatequina, 3-*O*-galoil-(+)-epicatequina-[4 $\alpha$ →8]-(+)-epicatequina, (+)-epicatequina-[4 $\alpha$ →8]-3-*O*-galoil-(+)-epicatequina, (+)-epicatequina-[4 $\alpha$ →6]-(+)-epicatequina y (+)-epicatequina-[4 $\alpha$ →8]-(+)-epicatequina; los monómeros (+)-epicatequina, 3-*O*-galoil-(+)-epicatequina y catequina; y el ácido gálico (Geiss *et al.*, 1995).

En el extracto etanólico de las hojas se aislaron los siguientes compuestos: sapogeninas triterpénicas del ácido oleanólico, ácido hidróxi oleanólico 2- $\alpha$ - y 2- $\beta$ , ácido lupeanólico, ácido hidróxido lupeanólico y ácido 2- $\alpha$ -hidroxi lupeanólico, catequinas, epicatequina y quercetina 3-*O*- $\beta$ -D-galactósido (Berger *et al.*, 1998) y en el extracto metanólico se reportaron los siguientes compuestos: lupeol, 2- $\beta$ -hidroxi-lupeol,  $\beta$ -sitosterol, betulinaldeido, ursenaldeido, betulina, ácido betulínico, ácido oleanólico, ácido 2- $\beta$ -hidroxi-oleanólico, ácido 2- $\alpha$ -hidroxi-oleanólico, quercetina, quercetina de 3-*O*-(6"-galoil)-galactósido, 3-*O*- $\beta$ -D-galacto-piranósido, duacosterol, metil galato, guaijaverina, catequina, epicatequina, hiperina, sulfono-glicolípido, valina, prolina, D-alanina, ácido 5-hidroxi piperólico y el ácido aspártico,  $\beta$ -amirina y el acetato triterpénico, 1,2-di-*O*-palmitoil-3-*O*-(6-sulfo- $\alpha$ -D-quinovopiranosil)-glicerol (Bejar *et al.*, 1995; Rastrelli *et al.*, 1997) y los glicolípidos 1,2-di-*O*-palmitoil-3-*O*-(6-sulfo- $\alpha$ -D-quinovopiranosil)-glicerol, (2S)-1,2-di-*O*-miristoil-3-*O*-(6-sulfo- $\alpha$ -D-quinovopiranosil)-glicerol, (2S)-1,2-di-*O*-(8-hexadecenoil)-3-*O*-(6-sulfo- $\alpha$ -D-quinovopiranosil)-glicerol, -1,2-di-*O*-palmitoil-3-*O*-( $\beta$ -D-glucopiranosil)-glicerol y 1,2-di-*O*-(8-hexadecenoil)-3-*O*-( $\beta$ -D-glucopiranosil)-glicerol (Amarquaye *et al.*, 1994; Rastrelli *et al.*, 1997).

En la pulpa del fruto del nanche fueron detectados 95 compuestos de los cuales el 50% son ésteres, 10.4% cetonas y aldehídos, 9.4% ácidos carboxílicos, 8.3% terpenoides, 6.2% alcoholes, 4.1% lactonas, 4.1% compuestos de sulfuro y otras sustancias constituyen el 7.6%. El aroma característico del fruto se atribuye a los compuestos: butanoato etilo, hexanoato etilo, 1-octen-3-ol, ácido buta-

nóico, ácido hexanóico. En las semillas los compuestos más abundantes son los ácidos linoléico, oleico, esteárico, palmítico, butírico y hexanoico (Rezende y Fraga, 2003).

El néctar de las flores contiene glicéridos (mono, di y tri) y los ácidos grasos, mirístico (6%), palmítico (19%) esteárico (16%), oleico (30%), linoleico (8%), eicosa-5.8. dienoico (10-20%) y otros (5%) (Vinson *et al.*, 1997).

### **Actividad biológica**

Los valores de las concentraciones mínimas inhibitorias del extracto metanólico preparado con las hojas del nanche fueron determinados en cepas de *Staphylococcus aureus* (10.0 mg/ml), *Escherichia coli* y *Candida albicans* (40.0 mg/ml) y *Pseudomonas aeruginosa* (> 40.0 mg/ml) (Navarro *et al.*, 1996).

La actividad antibacteriana de los extractos orgánicos (hexano, acetato de etilo y metanol) preparados con la corteza y raíz del nanche, ha sido reportada en la literatura. Los extractos de acetato de etilo resultaron más activos, el extracto de la raíz inhibió el crecimiento de *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermis*, *Streptococcus pneumoniae* y *Micrococcus luteus*. El extracto preparado con el tallo inhibió el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri* y *Bacillus subtilis*. El extracto metanólico de la raíz fue activo contra *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, con los tres extractos existió una respuesta dosis-actividad (Martínez-Vázquez *et al.*, 1999).

La actividad antibacteriana de la corteza contra cepas de *Vibrio cholerae* O1 fue determinada, el valor de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico fue de 100 µg/ml (España *et al.*, 1994).

En otro estudio se reporta la actividad antiparasitaria de las hojas y la corteza. El crecimiento *in vitro* CI<sub>90</sub> de los tripomastigotes de *Trypanosoma cruzi*,

fue inhibido con el extracto acuoso preparado con la corteza (420.9 µg/ml) y las hojas (442.3 µg/ml) y los extractos orgánicos de las hojas de hexano (580.1 µg/ml) y etanol (376.3µg/(ml)). El extracto más activo, el etanólico, fue fraccionado y de las 8 fracciones obtenidas, tres inhibieron el crecimiento de tripomastigotes con valores  $CI_{90}$  de 98.7, 89.3 y 94.3%, efecto de inhibición entre 14 y 10 veces menor que nifurtimox y benznidazol (Berger *et al.*, 1998).

A su vez, el extracto metanólico de las hojas del nanche ha sido reportado por su actividad antiespasmódica *in vitro* (Bejar y Malone, 1993), atribuyéndose esta actividad a los siguientes compuestos ursenaldeido, betulina, ácido betulínico, quercetina e hiperina (Béjar *et al.*,1995).

### **2.3.3 *Geranium seemannii* Peyer**

Hierba perenne, inicialmente erecta, pero pronto ascendente o rastrojera; tallos hasta de 1 m de largo, por lo general ramificados, más o menos densa. Hojas con estípulas subuladas a lanceoladas, hasta 8 mm de largo, láminas reniformes a orbiculares de 2 a 7 cm de largo y de ancho, profundamente divididas en 5 lóbulos romboides a cuneado-obovados, irregularmente inciso-dentados y mucronados en el ápice, o a veces pilosas y a menudo tendiendo a glabrescentes en el haz. Flores actinomorfas, pentámeras, sépalos ovados a lanceolados o elípticos, de 3 a 5 mm de largo, provistos de una arista terminal de 0.3 a 1 mm de largo, por lo común glanduloso-piloso; pétalos de color morado intenso variando a blanco, angostamente obovados a oblanceolados, a veces enteros en el ápice, cortamente pilosos a casi glabros en la base; anteras oblongas a suborbiculares, de aproximadamente 1 mm de largo. Fruto de 14 a 23 mm de largo, columna estilar por lo general glanduloso-pilosa, su pico de 1 a 2 mm de largo. Semillas de 2 a 2.5 mm de largo, caféscas o negras (Rzedowski y Rzedowski, 1995).

Distribución geográfica, especie propia de bosques de encino y de coníferas, pero con franca preferencia a ocupar claros y ambientes perturbados, con

frecuencia comportándose como maleza ruderal y arvense. Crece en altitudes de 1,000 a 3,200 m. De extensa distribución en México, se localiza en los estados de Sinaloa, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Durango, Zacatecas, San Luis Potosí, Aguascalientes, Guanajuato, Distrito Federal, Querétaro, Hidalgo, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Tlaxcala, Veracruz y Chiapas (Sánchez, 1979; Rzedowski y Rzedowski, 1995) y es cultivada en los huertos familiares (Argueta *et al.*, 1994). Especie relativamente abundante en los lugares donde prospera, por lo que no se considera como vulnerable a la extinción (Rzedowski y Rzedowski, 1995).

Esta especie recibe nombres comunes en lenguas prehispánicas y español, los cuales se enlistan en las Tablas 4 y 5 del Anexo.

### **Usos medicinales**

El Códice Florentino del siglo XVI menciona que la planta molida y untada cura el paño o manchas de la cara (Sahún, 1963). Francisco Hernández, en el mismo siglo relata: “es astringente, cura las disenterías y demás flujos, la inflamación de los ojos, las hemorroides y el empacho, refresca las fiebres, combate el excesivo calor, afirma los dientes, aprieta y fortalece las encías, calma los dolores lavando el lugar afectado con el agua, madura y abre los tumores, favorece la concepción y cura las úlceras de la boca o cualesquiera otras. Aseguran algunos que mezclada con “chilli” alivia la tos y sola purga la bilis” (Hernández, 1959).

A mediados del siglo XX, la Sociedad Farmacéutica de México señala a esta planta como emoliente. Posteriormente, Maximino Martínez (1959) reporta los siguientes usos: contra aftas, como antidisentérico, antipirético, antitumoral, astringente, desfleante, diurético, cura apostemas, heridas, enfermedades exantemáticas, enfermedades de los ojos y es oxiótico.

En la actualidad el uso más común de esta planta es para tratar trastornos digestivos como vómito y diarrea. A los adultos se les da un vaso del cocimiento de las hojas con una pizca de sal. Si es para los niños, se endulza con

azúcar y se les da dos o tres cucharadas. Como purgante, se ingiere la infusión de las hojas o se preparan supositorios (Argueta *et al.*, 1994).

También se emplea para curar cólicos, el salpullido, la sarna, el “chincual” de niños, el puerperio, bajar la fiebre, tratar rozaduras, llagas, golpes y granos (Argueta *et al.*, 1994).

### **Otros usos**

En ciertas ceremonias la parte aérea se usa para adornar los altares y es consumida en pastoreo cerril por el ganado (Hernández Muñoz, 2005).

### **Estudios químicos**

Las especies de este género son usadas con fines terapéuticos en México, Turquía, Bulgaria (Calzada *et al.*, 1999; Serkedjieva e Ivancheva, 1999; Akdemir *et al.*, 2001) por lo que varias especies del género han sido estudiadas fitoquímicamente. La geranina, es el tanino mas abundante en el género *Geranium* (Okuda *et al.*, 1986). En las hojas secas de 16 especies de *Geranium* de Japón, se determinó que el contenido promedio de geranina es de 9.8 a 12%, mientras que en los tallos es del 1 al 2%, la concentración de geranina en la planta varía durante el año (Okuda *et al.*, 1980).

Del extracto acuoso de las hojas secas de *G. thunbergii* fueron extraídos los polifenoles ácido geránico A y elaeocarpusina, muy solubles en agua (Okuda *et al.*, 1986).

En la raíz de *G. mexicanum* se reportó la presencia de (-)-epicatequina, (+)-catequina,  $\beta$ -sistosterol 3- O- $\beta$ glucósido, tiramina y sacarosa (Calzada *et al.*, 2005).

En la raíz de *G. niveum* fue determinada la presencia de dos proantocianidinas del tipo A, la epiafzelechina-(4 $\beta$ →8, 2 $\beta$ →O→7)-afzelechina y la epica-

tequina-(4 $\beta$ →8,2  $\beta$ →O→7)-afzelechina y cinco compuestos mas, la mahuannina B, la reinoutrina, la hiperina, el metil galato y el ácido 3- $\beta$ -cafeoil-12-oleaneno-28-oico (Calzada *et al.*, 1999).

Once de las especies de *Geranium* que crecen en Bulgaria fueron estudiadas desde el punto de vista quimiotaxonómico y se aislaron 22 flavonoides. Las agliconas mas comunes en las especies estudiadas fueron luteolina, caempferol y quercetina y en menor cantidad se encontró miricetina (Ivancheva y Petrova, 2000).

### **Actividad biológica**

A principios del siglo XX, en el Instituto Médico Nacional evaluaron las propiedades purgantes del geranio en el hombre, sin embargo los resultados obtenidos fueron negativos (Argueta *et al.*, 1994).

En un rastreo farmacológico de plantas mexicanas usadas para curar enfermedades gastrointestinales se demostró que los extractos acuosos y metanólicos preparados con la parte aérea y la raíz de *G. mexicanum* poseen actividad antibacteriana contra cepas de *E. coli*, *Shigella sonneii*, *S. flexneri* y *Salmonella sp.* (Alanís *et al.*, 2005).

En un estudio, en el que se emplearon ratones libres de protozoarios se infectaron con trofozoitos de *Giardia lamblia*, a los 6 días se les administraron flavonoides extraídos del *G. mexicanum*. Los flavonoides tuvieron efecto antiparasitario, el mas activo fue la (-)-epicatequina con una DL<sub>50</sub>=0.072  $\mu$ mol/kg, valor superior al obtenido con los medicamentos metronidazol (DL<sub>50</sub>=1.134  $\mu$ mol/kg) y emetina (DL<sub>50</sub>=0.351  $\mu$ mol/kg); el valor de DL<sub>50</sub> del tilirósido fue de 1.429  $\mu$ mol/kg y del caempferol de 2.057  $\mu$ mol/kg (Barbosa *et al.*, 2007). Calzada y colaboradoras (2005) obtuvieron valores de CI<sub>50</sub>= 1.9  $\mu$ g/ml sobre *Giardia lamblia* y de CI<sub>50</sub>= 1.6  $\mu$ g/ml sobre *Entamoeba histolytica* empleando la (-)-epicatequina.

En ratas tratadas con la toxina del cólera, el extracto metanólico de las partes aéreas de *G. mexicanum* ejerció una actividad antisecretora del 93 % (Velásquez *et al.*, 2006).

#### **2.3.4 *Guazuma ulmifolia* Lam.**

Árbol de hasta 25 m y diámetro hasta de 70 cm a la altura del pecho, normalmente de menor talla; tronco derecho que a veces produce chupones, frecuentemente ramificado desde la base; copa dispersa. Hojas caducifolias, alternas, simples; láminas de 3 x 1.5 a 13 x 6.5 cm, ovadas, oblongo-lanceoladas o lanceoladas, con el margen aserrado, ápice agudo o acuminado, base truncada a cortada, a veces muy asimétrica; de color verde oscuro en el haz y verde grisáceo o amarillento en el envés, con pelos estrellados cortos más abundantes en el envés; nervios 3 a 5 que salen desde la base; pecíolos de 5 a 15 mm de largo. Inflorescencia paniculada en panículas de 2 a 5 cm de largo; pedicelos de 2 a 4 mm de largo. Flores con olor dulce, actinomorfas, de 5 mm de diámetro; sépalos verdosos, 2-3, de 2 a 3 mm de largo o desiguales, elípticos, reflejos, densamente estrellado-pubescentes en el superficie externa; 5 pétalos de color crema de 3 a 4 mm de largo; tubo estaminal rojo de 2 a 2.5 mm de largo, terminado en 5 pequeñas ramas con 3 estambres blancos cada una; ovario súpero, 5-locular, lóculos multiovulares, estrellado-pubescente; estilo de 1 mm de largo; estigma simple. Fruto en infrutescencias de hasta 10 cm de largo, es una cápsula de 3 a 4 cm de largo, oscuro a negro cuando está totalmente maduro, de olor y sabor dulce. Semillas numerosas, maduran casi todo el año, especialmente de septiembre a abril y permanecen durante largo tiempo en el árbol (Pennington y Sarukhán, 1998).

Distribución geográfica, especie originaria de América tropical, habita en todos los climas cálidos y semicálidos, también está presente en los climas semiseco y templado del país, entre los 0 y 1130 m de altitud. Crece en los estados de Veracruz, Morelos, Guerrero, Tabasco, Campeche, Sinaloa, Nayarit y Tamaulipas (Martínez, 1959; Argueta *et al.*, 1994). Es muy abundante en la vegeta-

ción secundaria, especialmente en regiones con la temporada seca bien marcada, en zonas con vegetación sabanoide o en potreros de casi toda el área cálidohúmeda. Puede presentarse como especie importante de etapas secundarias muy avanzadas de selvas medianas subperennifolias, dando la impresión de ser un elemento primario. Se desarrolla indiferentemente en suelos de origen volcánico o sedimentario (Pennington y Sarukhán, 1998).

Las listas de los nombres comunes en lenguas prehispánicas y en español de la *G. ulmifolia* se muestran en las Tablas 6 y 7 del Anexo.

### **Usos medicinales**

Esta planta es empleada en la medicina tradicional mexicana para tratar diversos padecimientos. En Guerrero, Puebla y Veracruz, se emplea para el tratamiento de padecimientos gastrointestinales. Contra la diarrea se bebe el cocimiento de la corteza, hojas o brotes, en ayunas o como agua de tiempo. A los niños que padecen de infección intestinal con diarrea (obran entrecortado, a veces con diarrea verde amarillenta con moco o sangre, padecen de dolor de estómago y calentura), se les suministra el té preparado con los brotes de guásuma, los retoños de guayabo (*Psidium guajava*), las tecatas del tallo de nanche (*Byrsonimia crassifolia*) y las de encino (*Quercus sp.*) (Argueta *et al.*, 1994).

En las comunidades Mixe de Oaxaca y Popoluca de Veracruz, es empleada para curar la diarrea (Leonti *et al.*, 2003). La especie es muy empleada por los zapotecos de Oaxaca para tratar enfermedades gastrointestinales. Los curanderos reconocen a las plantas con propiedades astringentes como esta (que tienen concentraciones altas de taninos) como útiles en el tratamiento de padecimientos gastrointestinales (Frei, 1998).

En Puebla, Quintana Roo y Yucatán, se ingiere la infusión o el macerado acuoso de la corteza o de las hojas para tratar la disentería y en el estado de México se usa la raíz. El cocimiento de la corteza o de las hojas, o el agua donde se maceraron las hojas se usa en casos de empacho (Argueta *et al.*, 1994).

Los padecimientos del aparato renal-urinario tratados con la planta

son: inflamación de los riñones, “mal de riñón”, “mal de orín”, retención de orina y como antiséptico de las vías urinarias (Argueta *et al.*, 1994), trastornos de las vías urinarias y/o como diurético (Lozoya *et al.*, 1987)

Diversas lesiones o padecimientos cutáneos como el chincual de los niños, erupciones, dermatitis, granos, llagas, heridas, la mordedura de serpiente o el piquete de alacrán, enfermedades como la escarlatina, la lepra, elefantiasis son tratadas con el cocimiento de la corteza, las hojas o el fruto.

La corteza también es empleada para tratar la pérdida de cabello (Galina *et al.*, 2005) y estimular el nacimiento del mismo (Martínez, 1959; Argueta *et al.*, 1994).

Trastornos gineco-obstétricos y enfermedades venéreas son tratados con la planta. Se emplea como coagulante en casos de hemorragias en las parturientas, en casos de menstruación irregular o dismenorrea, dolor de vientre o menstrual, para estimular el parto y expulsar la placenta, infección o inflamación de la matriz y ovarios. La especie ha sido empleada para tratar la sífilis (Martínez, 1959; Argueta *et al.*, 1994).

La *G. ulmifolia* también se usa para combatir la fiebre, diabetes, reuma, “garrotillo”, “tirisia” como desinfectante y antidiabético (Argueta *et al.*, 1994), contra el paludismo y enfermedades del pecho (Martínez, 1959). Otros padecimientos tratados con la planta son la malaria, sífilis, lepra y elefantiasis (Standley, 1923).

### **Otros usos**

Los frutos son consumidos por las personas y el ganado en libre pastoreo (García Barriga, 1992; Pennington y Sarukhán, 1998; Mizrachi *et al.*, 1998).

Por su composición química y su disponibilidad en los trópicos, *Guazuma ulmifolia* puede ser considerada como un recurso potencial para alimentar

a los rumiantes (Ortega *et al.*, 1998), aunque su contenido en taninos es mas alto de 60 gr/kg de materia seca, lo que la hace menos palatable (López *et al.*, 2004), sin embargo, es una de las especies mas utilizadas como forrajeras en los bosques tropicales y es consumida en cualquier etapa de desarrollo (Carranza-Montaña *et al.*, 2003). En el estado de Chiapas es una de las especies de importancia forrajera y la madera se usa como combustible (López-Merlín *et al.*, 2003; Pinto Ruiz *et al.*, 2003); en el estado de Yucatán es consumida en libre pastoreo por el ganado bovino (Mizrachi *et al.*, 1998).

La madera *G. ulmifolia* es ligera, pero firme y fuerte, es fácil de trabajar y no se astilla fácilmente; ocasionalmente se usa en carpintería, para construcción interior, para fabricar mangos de herramientas de campo, cajas, así como para hacer carbón. No se conocen otros datos de utilización industrial de la madera (Miranda, 1952; Pennington y Sarukhán, 1998; López-Merlín *et al.*, 2003).

La corteza se ha usado para aclarar las mieles en la fabricación del azúcar de caña (Miranda, 1952).

### **Estudios químicos**

El contenido de los taninos varía según la parte de la planta; en las hojas se encontraron 0.145 mg/g, en las hojas y tallo, 0.115 mg/g, en los tallos 0.087 mg/g, y en los frutos no se detectaron (Ortega *et al.*, 1998).

En el follaje de guázuma se reporta un contenido de taninos condensados libres gr/kg de materia seca de 129.7; taninos condensados unidos a proteína, 21.1; taninos condensados unidos a fibra, 55.1 y taninos condensados totales, 205.9 (López *et al.*, 2004).

Del extracto etanólico de la corteza del tallo se aislaron los siguientes compuestos, ácido tánico, (-)-epicatequina-[4 $\beta$ →8]-(-)-epicatequina-4 $\beta$ -benziltioeter, (-)-epicatequina-[4 $\beta$ →6]-(-)-epicatequina-4 $\beta$ -benziltioeter; los monómeros (-)-epicatequina; dímeros procianidinas B2 y B5; trímeros procianidina C1, (-)-epicatequina-[4 $\beta$ →6]-(-)-epicatequina-[4 $\beta$ →8]-(-)-epicatequina y (-)-epicatequina-

[4 $\beta$ →8]-(-)-epicatequina-[4 $\beta$ →6]-(-)-epicatequina; tetrámeros (-)-epicatequina-[4 $\beta$ →8]-(-)-epicatequina-[4 $\beta$ →8]-(-)-epicatequina-[4 $\beta$ →8]-(-)-epicatequina (Hörr *et al.*, 1996).

Únicamente en dos árboles que crecen en La Pacífica, cerca de Cañas, Costa Rica se encontró que el principal glúcido cianogénico de *G. ulmifolia* es (2R)-taxifilina (> 90 %), el cual co-ocurre con (2S)-dhurrina; esta búsqueda del compuesto fue realizada en mas de 100 individuos de México y Costa Rica (Seigler *et al.*, 2005).

### **Actividad biológica**

Las cepas *E. coli* y *P. aeruginosa* fueron sensibles a los extractos hexánico y metanólico respectivamente preparados con la corteza de *G. ulmifolia*, el valor de la concentración mínima inhibitoria (CMI) es de 2.5 mg/ml (Camporese *et al.*, 2003). En otro trabajo se reporta la actividad antibacteriana del extracto metanólico preparado con el fruto; la CMI sobre *Staphylococcus aureus* fue de 10.0 mg/ml, sobre *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* 20 mg/ml y sobre *Candida albicans* 40.0 mg/ml (Navarro *et al.*, 1996).

El extracto crudo preparado con la corteza del tallo (acetona/agua 7:3) y sus fracciones acuosa y orgánica (acetato de etilo) ejercieron actividad antiviral contra el poliovirus (P-1) y el virus del herpes bovino (BHV-1). Los tres extractos tuvieron actividad terapéutica en cultivos de células Hep-2, la fracción de acetato de etilo fue la mas activa, reduciendo la replicación viral en 99 % y 100 % respectivamente. La actividad antiviral de las extractos contra los virus fue demostrada, el extracto crudo fue el mas activo, con valores de 26 % y 60 % a (Felipe, 2006).

Del extracto de la corteza del tallo se aislaron proantocianidinas inhibidoras de la toxina del cólera (Hör *et al.*, 1996).

Un estudio sobre el efecto hipoglucemiante de 28 plantas mexicanas que se usan para tratar la diabetes mellitus, demostró que *G. ulmifolia* disminu-

ye significativamente la glicemia (Alarcón-Aguilera *et al.*, 1998).

Otros reportes señalan que *G. ulmifolia* sirve de hospedero natural de organismos patógenos para las plantas cultivadas. En Costa Rica, se tomaron durante el año cinco muestras de las malezas y plantas que crecen cerca de las parcelas de melón y ahí fueron encontrados los virus que infectan a los melones (Sánchez *et al.*, 1998).

### **2.3.5 *Larrea tridentata* (Sessé y Moc. Ex DC) Cav.**

Arbusto de 0.5 a 3.5 m de alto, fuertemente aromático; tallo con numerosas ramas flexuosas que salen desde la base y que a su vez se ramifican abundantemente en forma divaricada y ascendente. Hojas opuestas formadas por 2 foliolos oblongos a ovados, unidos en la base por medio del raquis que sobresale entre ambos, a modo de mucrón hacia el ápice, cada foliolo mide de 5 a 10 mm de largo y 3 a 6 mm de ancho, enteros, coriáceos, resinosos, verdes o verde-amarillentos; pedúnculos de 3 a 12 mm de largo. Flores con pétalos de color amarillo fuerte, de 8 a 10 mm de largo y 3 a 5 mm de ancho; sépalos elípticos, de 6 mm de largo y 4 mm de ancho, pubescentes, caedizos; filamentos de 4 a 8 mm de largo, acompañados en su base de una escama bilobada o laciniada, de más o menos la mitad de su longitud, anteras oblongas, de 2 a 3 mm de largo; ovario densamente piloso, con alrededor de 8 óvulos en cada lóculo, estilo cilíndrico, de 4 a 6 mm de largo, persistente en el fruto joven, estigma entero o casi entero. Fruto subgloboso a obovoide, de aproximadamente 7 mm de alto, coriáceo, con pelos blancos, sedosos, que se vuelven pardo-rojizos con el tiempo, 5 mericarpios, conteniendo una semilla fértil cada uno. Semillas pardas a negras, algo curvadas, de unos 2 a 4 mm de largo (Standley, 1923).

Distribución geográfica, habita en terrenos áridos e inútiles para la agricultura, es uno de los arbustos más característicos de las zonas áridas del norte de México. Se encuentra en abundancia en San Luis Potosí, Querétaro, Coahuila,

Durango, Chihuahua, Nuevo León, Tamaulipas, Zacatecas, Sonora y Baja California (Standley, 1923; Martínez, 1959).

Los nombres comunes de la *L. tridentata* en seri y español se presentan en las Tablas 8 y 9 del Apéndice I.

### **Usos medicinales**

Son diversos los padecimientos que se tratan con la gobernadora, su uso más común es para tratar cálculos renales o de vejiga. Para deshacerlos, se recomienda tomar como agua de uso la decocción de las ramas o de toda la planta; para aliviar malestares renales (dolor de riñón, mal de orín, cistitis y disuria) se toma en ayunas una decocción preparada con las ramas jóvenes, raíces o corteza (Martínez, 1959; Argueta *et al.*, 1994).

El cocimiento de la planta tiene propiedades antisépticas y se toma para tratar problemas gástricos, enfermedades venéreas y tuberculosis (Standley, 1923) y pies infectados (Argueta *et al.*, 1994)., es útil contra el paludismo (Argueta *et al.*, 1994). Cuando hay mala digestión o dolor de estómago se ingiere la infusión de las ramas o se aplican calientes sobre el vientre (Argueta *et al.*, 1994). El cocimiento se usa en fomentos para curar las excoiaciones y heridas de la piel (Martínez, 1959).

Con frecuencia se emplea la planta para tratar problemas ginecológicos: esterilidad femenina, cólicos y regularizar la menstruación. También es abortivo (Argueta *et al.*, 1994).

La planta también se reporta como antirreumático (Standley, 1923; Martínez, 1959; Argueta *et al.*, 1994), para tratar la anemia, el catarro, la diabetes, el dolor de cabeza, la tos, la ulcera, las hemorroides, la uretritis y la presión sanguínea (Argueta *et al.*, 1994).

## Estudios químicos

Existen gran cantidad de estudios químicos de la gobernadora. La resina de las hojas contiene 19 agliconas de flavonoides, varios lignanos y ácido Nordihidroguaiaretico constituyendo entre el 5 y el 10 % del peso seco de las hojas; el 80 % de la resina esta constituida por los fenoles (Mabry y Bohnstedt,1981). Las concentraciones mayores de ácido norhidroguaiarético están en las hojas, 38.3 mg/g, y en los tallos verdes, 32.5 mg/g (Hyder *et al.*, 2002). Este ácido también está presente en las flores y tallos jóvenes. Aproximadamente el 0.1 % de las hojas corresponde a aceites volátiles, en esta fracción volátil se han identificado 67 compuestos que corresponden al 90 % de los aceites conocidos de la gobernadora. El 10 % restante es una mezcla de más de 300 constituyentes, principalmente monoterpenoides. El gran número de compuestos vinílicos y metilcetonas contribuyen significativamente al olor característico de la gobernadora (Mabry y Bohnstedt,1981; Arteaga *et al.*, 2005).

También se han identificado tres esteroides: campesterol, estigmasterol y  $\beta$ -sitosterol; saponinas del tipo C<sub>30</sub> (ursólico) que representan menos del 1 % del peso seco de la planta (Mabry y Bohnstedt, 1981). Los alcaloides han sido aislados de la corteza y raíz, pero no de las hojas y flores. De la planta también se han aislado lignanos, flavonoides y epoxilignanos con una parte de tetrahidrofurano que poseen gran actividad antioxidante (Abou-Gazar *et al.*, 2004).

De las hojas y los tallos se aislaron seis lignanos furanoides: 4-epilarreatricina, 3''hidroxi-4-epilarreatricina, larreatricina, 3'3-dimetoxilarreatricina, larreatridenticina y 3,4-dehidrolarreatricina (Konno *et al.*, 1990) .

De la parte frondosa superior de la planta se aislaron lignanos, tres butano lignanos tipo di-O-metilados, un butano lignano tipo tri-O-metilado y el ciclo-lignano 3-o-demetoxisoguaiacina y la flavanona (S)-4',5-dihidroxi-7-metoxiflavanona (Lambert *et al.*, 2005).

Diversos constituyentes volátiles del género *Larrea* fueron aislados por Bohnstedt and Mabry (1979). En la obra de Duke (2001) se puede consultar

una lista de compuestos aislados de la gobernadora.

### **Actividad biológica**

La actividad antibacteriana (concentración mínima inhibitoria, CMI) del extracto metanólico preparado con las hojas fue de 1.25 mg/ml sobre *Staphylococcus aureus*, 20.0 mg/ml) en el caso de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, y 40.0 mg/ml) sobre *Candida albicans* (Navarro *et al.*, 1996).

El extracto etanólico de las hojas de *L. tridentata* inhibió el crecimiento de los hongos: *Microsporum canis*, *M. gypseum*, *Trichophyton tonsurans*, *Epidemophyton floccosum*, *Sporotrix schenckii*; los valores de CMI oscilaron entre 14.0 y 16.6 mg/ml. Este extracto también inhibió a las bacterias: *Nocardia asteroides*, *N. brasiliensis*, *Shigella dysenteriae*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus vulgaris* y *Clostridium perfringens* las CMI fueron de 10.1 a 16.6 mg/ml (Verástegui *et al.*, 1996).

Los extractos orgánicos de las hojas de la gobernadora (6 gr material vegetal en 94 ml) preparados al 70 %, inhibieron el crecimiento de hongos que infectan a los granos almacenados de trigo y maíz; el crecimiento de todos los hongos (*Aspergillus flavans*, *A. niger*, *Penicillium chrysogenum*, *P. expansum*, *Fusarium poae*) fue inhibido por los extractos metanólico (41.5 a 100%) y etanólico (63.0 a 100%) (Tequida-Meneses *et al.*, 2002).

El extracto etanólico preparado con las partes aéreas a la concentración de 368 µg/ml en el medio de cultivo, inhibió el crecimiento radial de hongos xilófagos aislados de troncos muertos (*Pycnoporus sanguineus*, *Lenzites elegans*, *Schizophyllum commune* y *Ganoderma applanatum*; las levaduras: *Rhodotorula* sp. y *Saccharomyces carlsbergensis*; y los hongos fitopatógenos: *Fusarium oxysporum*, *Penicillium notatum*, *Trichoderma* spp. y *Aspergillus niger* desde 41 a 76% (Quiroga *et al.*, 2004).

Se encontró que lignanos aislados de la gobernadora son activos

contra el cáncer de mama, colón y melanomas. La potencia linear de la actividad contra el cáncer de mama parece estar correlacionada positivamente con el número de grupos O-metilo presentes en la molécula, los tres lignanos del tipo di-O-cetil, resultaron ser doblemente mas potentes que el ácido norhidroguayarético (Lambert *et al.*, 2005).

### **2.3.6 *Persea americana* Miller**

Árbol con una copa muy densa, redonda o alargada, las ramas jóvenes glabras, puberulentas o pilosas, frecuentemente glaucas. Hojas con pecíolos delgados de 2 a 5 cm de largo, alternas grandes, ovales o elípticas, la mayoría de 10 a 30 cm de largo, agudas o acuminadas. Inflorescencia en panículas axilares cerca de las terminaciones de las ramas de 6 a 20 cm de largo, pedunculadas. Flores pequeñas de color amarillo verdoso, cáliz gris tomentoso, 9 estambres, perfectos con 2 glándulas, planas, ovales y amarillentas y colocadas en la base de cada uno de los estambres. Fruto grande (10-30 cm), drupáceo más o menos ovoideo, piriforme o esférico, exocarpo verde amarillento o purpúreo con manchitas ferruginosas, mesocarpo pulposo, blanco o blanco amarillento y recorrido por haces de fibras; no tiene aroma pronunciado, apenas si se percibe un olor característico. Semilla, de dimensiones muy variadas, de forma generalmente redondeada; ocupa la parte más ensanchada del fruto, generalmente en el centro de la parte media cuando ésta es redondeada, cuando es en forma piriforme siempre se encuentra en la parte inferior (Miranda, 1952; García, 1974; Lozoya y Lozoya, 1982).

Distribución geográfica, esta especie crece desde el nivel del mar hasta 2000 m de altitud, en los bosques de encino, de pino-encino, templado húmedo o mesófilo, selva alta perennifolia sin perturbar, transicional entre bosque caducifolio y selva mediana. Está reportada en el D. F. y en los estados de Campeche, Chiapas, Distrito Federal, México, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán y ha sido introducida en muchas regiones

tropicales del planeta (Standley, 1961; Lozoya y Lozoya, 1982).

En las Tablas 10 y 11 del Anexo, se registraron los nombres comunes en lenguas prehispánicas y español de esta planta medicinal.

### **Usos medicinales**

Desde tiempos remotos esta planta ha sido valorada por sus propiedades alimenticias y medicinales. El fruto es altamente estimado por su aroma y exquisito sabor (Standley, 1922; Lozoya y Lozoya, 1982).

El aguacate es empleado en 25 de los estados de la República Mexicana para tratar diversos trastornos del aparato digestivo (Lozoya *et al.*, 1987) como disentería, dolor de estómago, estreñimiento, gases y vómito, entre otros (Argueta *et al.*, 1994). La infusión preparada con las hojas se emplea en el tratamiento de diarreas y en casos de indigestión. La infusión de la cáscara del aguacate es benéfica en el tratamiento de las parasitosis intestinales; para tratar las diarreas, también se emplea como agua de uso el cocimiento de las hojas con otras plantas (Martínez 1959; Lozoya y Lozoya, 1982; Argueta *et al.*, 1994).

Contra áscaris, lombrices o parásitos intestinales, se prepara una infusión o macerado con la cáscara de la semilla o del fruto y se toma en ayunas durante cuatro o cinco días, o tres veces al día hasta que se expulsen las lombrices. El cocimiento de las hojas, tomado tres veces al día antes de comer, sirve para expulsar a los parásitos (Martínez, 1959; Lozoya y Lozoya, 1982).

El cocimiento de las hojas y semillas también es inductor del parto y también se toma cuando hay cólicos menstruales (Lozoya y Lozoya, 1982; Argueta *et al.*, 1994).

El aceite de la semilla, extraído por compresión, se usa desde hace siglos para el tratamiento del cabello reseco y males del cuero cabelludo. Como ungüento se aplica para aliviar el dolor y suavizar la piel de zonas lastimadas (Lozo-

ya y Lozoya, 1982). La cocción de la semilla o un pedacito colocado en las caries cura el dolor (Standley, 1922).

La planta se emplea para tratar diversos problemas de la piel como manchas blancas, sabañones, tiña, caída de cabello, sarna y salpullido; para curar las reumas y para tratar enfermedades culturales como “mal de aire”, “susto”, “mal de ojo” y “hacer limpias” (Argueta *et al.*, 1994).

### **Otros usos**

El aguacate se cultiva por sus frutos desde antes de la llegada de los Españoles, también se encuentran árboles silvestres en las selvas bajas siempre verdes (Miranda, 1952).

A la semilla se le atribuyen efectos esterilizantes en los cerdos, por lo que son dadas como alimento a las hembras para que engorden y no vuelvan a tener crías (Lozoya y Lozoya, 1982). La semilla molida con queso es utilizada para envenenar a los ratones y ratas (Standley, 1922).

Hasta la aparición de las tintas indelebles, el jugo de la semilla del aguacate fue extensamente empleado durante siglos para marcar la ropa (Standley, 1922; Lozoya y Lozoya, 1982).

### **Estudios químicos**

En el extracto acuoso de las hojas del aguacate se reporta la presencia de compuestos farmacológicamente activos como: saponinas, taninos, flovotaninos, flavonoides, alcaloides y polisacáridos (Antia *et al.*, 2005). También se aislaron los flavonoles monoglicosidados, caempferol y quercetina- 3-O- $\alpha$ -D-arabinopiranosido, la afzelina (caempferol 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosido), la quercetina (quercetina 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosido), la quercetina- 3-O- $\beta$ -gluco-piranósido y la quercetina- 3-O- $\beta$ -galactopiranosido (Almeida *et al.*, 1998). A partir del extracto diclorometánico se extrajo el compuesto acetato de (*R*)-2-hidroxi-4-oxohenicosan-1-ilo denominado persina (Carman y Duffield, 1995).

En las hojas frescas de aguacate, el contenido del dieno Persina (acetato de (Z,Z)-2-hidroxi-4-oxohexadecano-12,15-dien-1-ilo), depende del tipo de cultivo varía de < 0.01 a 4.5 mg/g (Carman y Handley, 1999).

Los aceites esenciales de las hojas de ejemplares de las razas Mexicana, Guatemalteca e Indias están constituidos principalmente por terpenos, constituyendo del 83 % al 98 % de la mezcla. Los terpenos más abundantes son  $\beta$ -pineno,  $p$ -cimeno, cariofileno, farneseno, humuleno, estragol,  $\epsilon$ -cadineno, anetol. Los constituyentes minoritarios son:  $\alpha$ -pineno, sabineno,  $\beta$ -mirceno, alocimeno,  $\beta$  ocimeno, 1,8 cineol, farneseno y acetato de geranilo (Bergh *et al.*, 1973).

### **Actividad biológica**

En trabajos realizados con extractos metanólicos preparados con el tallo y las semillas del aguacate, se reporta actividad contra *Trypanosoma cruzi*. El extracto del tallo inmovilizó a los epimastigotes (Abe *et al.*, 2002). Mientras que el extracto de las semillas mostró actividad moderada *in vitro* contra los epimastigotes, en la fracción activa se identificaron, como compuestos activos, tres derivados del 1, 2,4 trihidroxiheptadec-16-eno, tres derivados de 1,2,4-trihidroxiheptadec-16-ino y dos derivados de 1,2,4-trihidrocicnonadecano (Abe *et al.*, 2005).

Se demostró que al incubar trofozoitos de *Giardia duodenalis* con extracto de aguacate la mortalidad fue del 23% (Ponce-Macotella *et al.*, 1994).

El extracto acuoso de las hojas del aguacate posee efectos analgésicos y antiinflamatorios (Adeyemi *et al.*, 2002).

En otro estudio, se demostró que el extracto de las hojas produce una respuesta vaso relajante en la aorta de ratas; en los aros de aorta con el endotelio intacto la concentración del extracto que produjo un 50 % de reducción de la respuesta máxima relajante ( $CE_{50}$ ) fue de  $0.88 \pm 0.03$  mg/ml y en los aros sin endotelio la acción vaso relajante fue significativamente atenuada,  $CE_{50}$  de  $2001.14 \pm 252.18$  mg/ml (Owolabi *et al.*, 2005).

En un experimento, se administraron hojas frescas de *P. americana* var. Guatemalteca y var. Mexicana, a cabras que estaban amamantando, la var. Mexicana no produjo síntomas, sin embargo la var. Guatemalteca causo daño a las glándulas mamarias y decremento en la producción de leche con dosis superiores a 20 gr/kg de peso corporal (Craigmill *et al.*, 1989). Las hojas de aguacate producen mastitis no infecciosa en ganado que amamanta. En el laboratorio, a ratonas que estaban amamantado se les dió hojas de aguacate y se presentaron las mismas lesiones, el compuesto responsable del síntoma es la persina (Z-Z)-1-(acetiloxi)-2hidroxi-12,15-heneicosadieno-4-ona (Olerichs *et al.*, 1995).

### **2.3.7 *Psidium guajava* L.**

Arbusto o árbol de 4 a 8 m de altura, con tallos ramificados, tortuosos, de madera dura, compacta y corteza rojiza y escamosa. Hojas con pecíolo corto, opuestas, sencillas, coriáceas, de forma oval de 0.5 a 15 cm de largo y 5.5 cm de ancho, con nervaduras bien marcadas, sobre todo en la parte inferior, que es pálida y finamente tomentosa. Flores muy fragantes, colocadas en las axilas de las hojas, tienen 4 o 5 pétalos blancos y miden de 1.5 a 2 cm de longitud, con numerosos estambres y, los lóbulos del cáliz persisten hasta la madurez del fruto. Fruto es una baya globosa o piriforme de 3 a 6 cm de diámetro, liso, con una pulpa blanco amarillenta o rosada, de consistencia gomosa; sabor dulce y olor penetrante. Semillas numerosas, pequeñas y duras (Standley, 1924; García, 1992).

Distribución geográfica, planta nativa de América Central, ampliamente distribuida en México y frecuentemente cultivada en el sur de Florida, Indias del Oeste, América Central y del Sur y en el viejo continente; en muchos lugares ha sido introducida y naturalizada (Standley, 1924).

Los nombres comunes en lenguas prehispánicas y español de *P. guajava*, se anotaron en las Tablas 12 y 13 del Anexo.

## Usos medicinales

La guayaba es de gran importancia en la herbolaria de México y el mundo, es usada para el tratamiento de diversos padecimientos en diferentes áreas de la República (Standley, 1924; Argueta *et al.*, 1994; Ross, 1999). En 23 estados se utiliza para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales (Lozoya *et al.*, 1987), entre las que destaca la diarrea (Standley, 1924). Generalmente, se prepara una decocción o infusión con las hojas del guayabo y se toma tres veces al día o como agua de uso (Argueta *et al.*, 1994).

Los tzotziles preparan una infusión para aliviar la diarrea fuerte, debilidad, vómito, dolor de estómago y para cuando se presentan evacuaciones aguadas o con sangre que pueden durar días (Argueta *et al.*, 1994). Entre los zapotecos del Istmo de Oaxaca, la infusión preparada con las hojas de guayaba es el remedio más empleado para curar la diarrea y disentería (Frei, 1998). La decocción de los retoños también es usada para curar la diarrea (Standley, 1924). En las Huastecas Veracruzana y Potosina, los mixes, zapotecos y totonacas acostumbra beber la infusión o decocción de las hojas para curar la disentería (Argueta *et al.*, 1994).

El fruto comido en ayunas o preparado en decocción actúa como desparasitante contra las lombrices y amibas (Argueta *et al.*, 1994).

La infusión o decocción de las hojas aplicados como lavados, enjuagues o cataplasmas se utilizan para tratar la caída del pelo, granos, salpullido, jiones, acné, prurito, sarampión, escarlatina y sabañones (Argueta *et al.*, 1994) y para curar la sarna (Martínez, 1959).

Esta planta se ha utilizado tradicionalmente en el tratamiento de dolor de vientre, caries, sofocamiento, bilis, escarlatina, hemorragia vaginal, para estimular la leche, heridas, tos, tos ferina, calentura, deshidratación y ansiedad (Argueta *et al.*, 1994). La corteza es muy astringente y su cocimiento quita la hinchazón de las piernas, cura las llagas fistulosas y úlceras (Standley, 1924; Martínez, 1959).

### **Otros usos**

Los frutos son empleados industrialmente para preparar dulces y jaleas. La corteza es empleada para curtir pieles (Miranda, 1952; Standley, 1924).

### **Estudios químicos**

Esta especie ha sido muy estudiada desde el punto de vista químico, una recopilación de los compuestos identificados fue publicada por Ross (1999).

Del extracto etanólico de las hojas de la guayaba se ha extraído quercetina, avicularina y guaijaverina (Khadem y Mohammed, 1958). Empleando un extracto metanol/agua 7:3 (v/v) se aislaron 17 isoflavonas: daidizina, glicitina, genistina, 6"-O-malonato-daiszina, 6"-O-malonato-glisitina, 6"-O-acetato-daidizina, 6"-O-acetato-glicina, 6"-O-malonato-genistina, ononina, daidzeina, sisotrina, genisteina, ononina-6"-O-acetato, isoformononetina, prunetina, biochanina A (Oldřich *et al.*, 2005).

Del extracto etanólico de las hojas frescas, sin secar ni macerar, se extrajeron triterpenoides: ácido 20 $\beta$ -acetoxi-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -dihidroxiurs-12-en-28-oico (ácido guavanoic) y ácido 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -dihidroxi-24-*p*-z-coumaroiloxiurs-12-en-28-oico (ácido guavacoumarico y los compuestos ácido 2 $\alpha$ -hydroxiursolico, ácido jacoumarico, ácido isoneriuoumarico, ácido asiático, ilelatifol D y 3-O- $\beta$ -glucopiranosido-sitosterol (Begum *et al.*, 2002).

Otros compuestos reportados en las hojas de la guayaba son los flavonoides quercetina y caempferol; los fenoles ácido gálico, quercetina, ácido procatechuico, ácido clorogenico, ácido caféico, ácido ferúlico; cuatro glicosidos de flavonoides 3-O- $\alpha$ -L-arabinosido-quercetina, 3-O- $\beta$ -D-glucósido-quercetina, 3-O- $\beta$ -D-galactosido-quercetina y glícidoso de caempferol (Liang *et al.*, 2005).

### **Actividad biológica**

La actividad antibacteriana de los extractos acuosos y etanólicos fue

evaluada utilizando sensidiscos (2.5 mg/disco) contra cepas de *Escherichia coli* (O157:H7, O026:H111, O111:MN, O22, ATCC 25922 y 5 cepas aisladas de bovinos). El extracto acuoso resultó más activo por el número de cepas inhibidas; los diámetros de los halos midieron 7 y 8 mm. Los valores más bajos de CMI (0.19 a 0.78 mg/ml) y CML (0.78 a 1.56 mg/ml), se obtuvieron con el extracto acuoso y con el extracto etanólico los valores fueron de 6.25 a 12.5 mg/ml y 12.5 mg/ml respectivamente (Voravuthikunchai, *et al.*, 2004).

El extracto metanólico de las hojas fue activo contra cepas multidrogorresistentes de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* spp y *Shigella* spp., aisladas de casos clínicos, los diámetros de los halos de inhibición midieron de 14 a 18 mm (Chah *et al.*, 2006).

Los extractos metanólico y acuoso, preparados con la corteza, inhibieron el crecimiento de *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. La actividad antibacteriana se evaluó con sensidiscos humedecidos con el extracto acuoso ( $\varnothing$  16 a 20 mm) y metanólico ( $\varnothing$  20 y 22 mm); también se determinó la CMI, para el extracto acuoso fue de 1.67 a > 13.05 mg/ml y para el extracto metanólico fue de 4.52 a 18.06 mg/ml (Abdelrahim *et al.*, 2002).

El crecimiento de *Staphylococcus aureus* fue significativamente inhibido por el extracto acuoso de las hojas a una concentración de 250  $\mu$ g/disco y  $\beta$ -estreptococcus grupo A fue inhibido con la dosis de 4000  $\mu$ g/disco (Jaiarj *et al.*, 1999).

El crecimiento de trofozoitos de *Giardia duodenalis*, incubados con el extracto vegetal fue inhibido en un 87%, porcentaje mayor al obtenido con tinidazol (79%) medicamento de uso común en la giardiasis (Ponce-Macotela *et al.*, 1994).

La amiba *Entamoeba histolytica* fue más sensible al extracto preparado con la corteza del tallo (MIC  $\leq$  7.81  $\mu$ g/ml), que al extracto preparado con las hojas (MIC  $\leq$  62.5  $\mu$ g/ml) (Tona *et al.*, 1998).

Otro mecanismo antidiarreico de la guayaba es producido por la quercetina presente en las hojas, este compuesto decrece el dolor abdominal, puede inhibir el movimiento intestinal y reducir la permeabilidad capilar en la cavidad

abdominal (Gálvez *et al.*, 1996 y Lozoya *et al.*, 2002).

Se evaluó *in vitro* la actividad de extractos acuosos preparados con las plantas utilizadas tradicionalmente para curar la diarrea en Brasil, contra los rotavirus de mono (SA-11) y humano (HCR3). Los extractos preparados con las hojas de la guayaba mostraron actividad contra el rotavirus humano (47.5%) y del mono (93.8%) y el extracto de la corteza fue activo únicamente contra el rotavirus del mono (53.2%) (Gonçalves *et al.*, 2005).

A ratas y cobayos se les indujo tos exponiéndolos a la capsaicina, posteriormente, los animales recibieron tres dosis (1, 2 y 5 g/kg de peso corporal) del extracto acuoso liofilizado de las hojas de guayaba. La dosis mayor suprimió la tos en un 54 % en los cobayos, con las ratas los resultados fueron similares (Jaiarj *et al.*, 1999).

El extracto acuoso de las hojas posee efectos antiinflamatorios y analgésicos en ratas, existiendo una relación dosis/efecto, lo que confirma el uso empírico que se le da a la planta para curar dolores e inflamaciones (Ojewole, 2006).

### **2.3.8 *Piqueria trinervia* Cav.**

Hierba perenne con raíz leñosa en la base, de donde las raíces fibrosas se ramifican y forman un macollo. Tallos anuales, subarborescentes, ligeramente cuadrangulares, a menudo semileñosos de color violáceo café en los ejemplares adultos, pueden alcanzar hasta 1 m de altura. Hojas opuestas, con pecíolo corto ligeramente acanalado en su base, simples, las láminas son dentadas, lampiñas ovales a oblongo-lanceoladas de 3 a 7 cm de largo y hasta 2 cm de ancho, con tres nervaduras muy marcadas, una media y dos laterales que parten de la base y se dirigen hacia el ápice paralelamente a los bordes, la base es cuneada; ápices agudos o acuminados. La inflorescencia es una panícula muy abierta que ocupa la mitad superior de la planta; los pedúnculos florales son axilares y terminales; los capí-

tulos son homógamos, tubiformes, provistos de un involucro campanulado, con 4 brácteas, aovadas, aquilladas, membranosas en el ápice y llevan los tres nervios que caracterizan a las hojas. Flores hermafroditas de color blanco, en las cabezuelas sobre el receptáculo muy pequeño, plano y desnudo; cáliz caduco y no está reemplazado por un vilano de pelos como en la mayoría de las Asteraceae; la corola es gamopétala regular, mide de 1.5 a 1.7 mm de longitud, limbo abierto y tubo corto; el androceo esta formado por 4 estambres exertos; gineceo, con estilos filiformes, divididos en dos ramas, estigmas alargados y dilatados. Fruto, aqueno reniforme de 1.7 a 2 mm de largo, desprovista de vilano, con cinco costillas bastante marcadas y truncadas en el ápice; las jóvenes tienen un color verdoso y las adultas gris oscuro (Farias, 1886; Ramírez, 1894; Robinson, 1906; Paray, 1953; Martínez, 1959; Sánchez, 1979; McVaugh, 1983; King y Robinson, 1987; Turner, 1997).

Distribución geográfica, la planta es nativa de México, América Central y Haití, habita en las zonas tropicales y templadas de México, América Central, Guatemala, Costa Rica y Haití (Paray, 1953). Habita en las márgenes de los bosques húmedos de pino o pino-encino, en lugares abiertos, soleados y húmedos, no se observa en los lugares sombreados, forma parches puros, lo que sugiere que tiene actividad alelopática que inhibe el crecimiento de otras especies. Crece como maleza en los lugares perturbados por el hombre como las laderas y las áreas quemadas de los bosques, márgenes de las carreteras, cerca de las cercas (Sánchez, 1979; González *et al.*, 1981; McVaugh, 1983; Lozano, 1996; Turner, 1997).

En México habita en altitudes de 100 a 3,000 msnm. Se localiza en Zacatecas, Tamaulipas, Guanajuato, Nayarit, Tepic, Jalisco, Michoacán, Guerrero, Morelos, Estado de México, Distrito Federal, Puebla, Valle de México, Oaxaca, Hidalgo, San Luis Potosí, Chiapas, Nuevo León, Sinaloa, Durango, Aguas Calientes, Colima, Querétaro, Morelos, Tlaxcala, Veracruz, Guerrero y Campeche (Farias, 1886; Ramírez, 1894; Martínez, 1959; Sánchez, 1979; Villaseñor, 1982; McVaugh; 1983; Turner, 1997).

Los diversos nombres comunes que recibe la *P. trinervia* se presentan en las Tablas 13 y 14 del Anexo.

## Usos medicinales

Ramírez (1894) refiere que los indios usaban la planta para curar los "tabardillos" y otras fiebres, propiedad a la que se atribuye tanto al nombre botánico *Ageratum febrifugum* (Sessé y Monciño, 1893), como al nombre común "tabardillo".

Desde el pasado, a la planta se le han atribuido propiedades febrífugas, aunque se la menciona también para tratar afecciones estomacales y como insecticida (Farías, 1886; Ramírez, 1894; Paray, 1953). Para tratar la fiebre, especialmente en casos de tifo exantemático y paludismo, usaban la decocción ya sea tomada o en lavados (Standley, 1926; Paray, 1953; Martínez, 1959). La raíz macedrada en agua, es usada en lavados, o bien, tomada en ayunas como agua de uso, es mencionada para combatir las fiebres producidas por el tifo (tifus epidérmico o exantemático) (Soto, 1987).

Durante las epidemias de tifo registradas entre 1892 y 1893 en Guanajuato, una parte importante de la población usó una decocción preparada con tabardillo y otras plantas para tratarse (Armendáriz, 1894).

Al poco tiempo de fundado el Instituto Médico Nacional se iniciaron los estudios de plantas con propiedades antipalúdicas, *P. trinervia* se ubicaba entre las más frecuentemente utilizadas (Anónimo, 1897) y en la medicina popular la *Piqueria* gozaba de fama para curar las intermitentes (Ruiz, 1905).

Con respecto al uso de la planta para tratar afecciones gastrointestinales, Standley (1924) reporta que la infusión de las hojas es un remedio contra la fiebre tifoidea. Información más reciente señala que la decocción de la planta se toma como agua de uso para tratar la infección intestinal, empacho y fiebre. También se emplea para enemas, aplicando uno en la mañana y otro en la noche durante dos días (Torres, 1984). La decocción de las hojas y flores se usa para tratar la disentería y cuando los niños obran verde. Otra información refiere que para curar las diarreas el té preparado con 4 yemas de la planta, se toma como agua de uso

(Linares, 1991). Para tratar el dolor de estómago, se prepara una infusión con las inflorescencias (Soto, 1987; Linares, 1991). También se ha reportado el uso tópico de las hojas frescas colocadas sobre el estómago como analgésico (Chino y Jáquez, 1986). Para curar la inflamación del estómago se aplica el macerado en forma de cataplasma (Cedillo, 1990). Finalmente, para tratar el empacho, se hierva la raíz junto con otras plantas, se agrega una pizca de cal y se da a tomar medio vaso en ayunas durante dos días. (Lozano, 1996) y cuando es empacho de leche, se toma el cocimiento de la raíz (Gómez y Chong, 1985).

Otros de los usos reportados de *P. trinervia* son: para combatir las lombrices (Chino y Jáquez, 1986), cálculos biliares (Paray, 1953; Martínez, 1959), constipado, ansiedad (Martínez, 1959; Argueta *et al.*, 1994; Lozano, 1996), en casos de reumas (Paray, 1953; Martínez, 1959, Esquivel, 1989), para tratar afecciones renales (Garay, 1997), para curar granos y ronchas (Cedillo, 1990), para disminuir el purito por sarampión, (Linares, 1991), para lavar heridas y pies hinchados (Estrada, 1984).

### **Otros usos**

Como forrajera, las hojas son consumidas por las chivas y ovejas en libre pastoreo (Linares, 1991).

### **Estudios químicos**

El interés por conocer la composición química de *P. trinervia* data desde el siglo antepasado. Farias (1886) presentó la tesis titulada “Ligero estudio de la Yerba del Tabardillo”, en el que reporta el contenido de un aceite esencial, grasa, clorofila, resina ácida y materia ácida amorfa, colorante amarillo, extractiva amarga y clorofila.

Otro análisis lo realizó el Prof. Francisco Río de la Loza en el Instituto Médico Nacional, reportando los siguientes resultados: “entre los elementos orgánicos encontró una pequeña cantidad de grasa, un aceite esencial, ácido tánico,

una resina, materias extractivas, materias gomosas y un alcaloide (al que denominó piquerina); las sustancias minerales son notables por su abundancia y la presencia de alúmina, cal y ácido clorhídrico” (Ramírez, 1894).

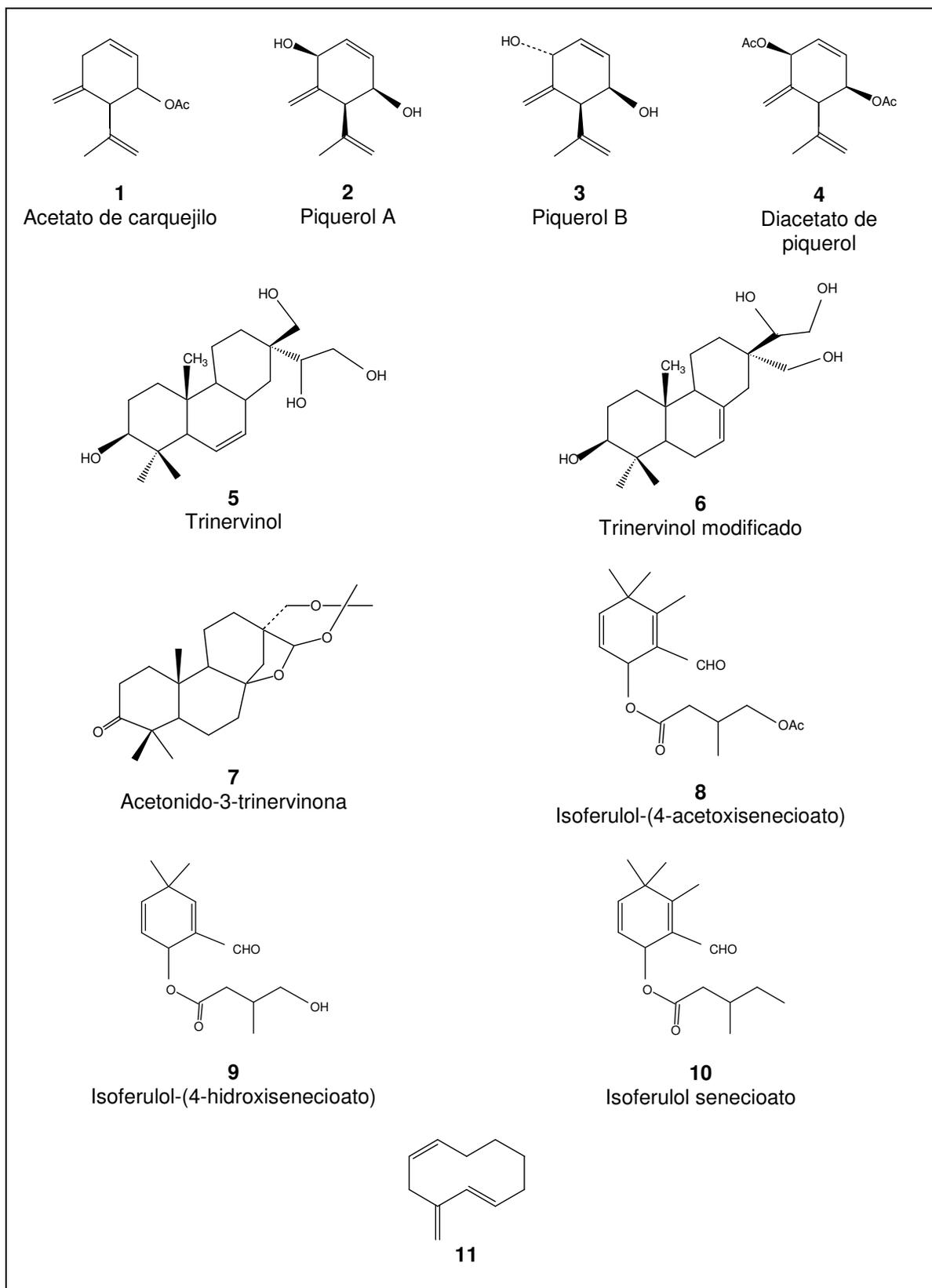
Diversos estudios químicos de las partes aéreas y raíces de *P. trinervia* fueron realizados posteriormente.

**Parte aérea.** A partir de extractos etanólicos, se obtuvieron acetato de carquejilo (Figura 2.1, 1), piquerol A (Figura 2.1, 2), piquerol B (Figura 2.1, 3) y diacetato de piquerol B (Figura 2.1, 4) (Romo *et al.*, 1970). La estructura de un cristal del piquerol A fue determinada por análisis de difracción de rayos X (Soriano-García *et al.*, 1983). La estructura electrónica de los piqueroles A y B varía únicamente en el oxidrilo insertado en el C-1, el cual tiene una configuración  $\beta$  en el piquerol A y  $\alpha$  en el piquerol B (Rubio *et al.*, 1985).

El trinervinol (Figura 2.1, 5) que es un alcohol diterpénico, fue el primer diterpeno natural con el esqueleto del pimarano que posee un grupo alcoholico en el carbón 17, y fue aislado de las hojas y flores fermentadas de *P. trinervia* en condiciones aeróbicas a temperatura ambiente (Jiménez y González de la Parra, 1983). La estructura cristalográfica, establecida por difracción de rayos X, está formada por una red de enlaces de hidrógeno intra o inter moleculares (Jiménez *et al.*, 1996a). Posteriormente, la estructura química del trinervinol fue revisada y se modificó la posición del doble enlace, confirmando que la configuración del glicol en el carbono 13 es  $\beta$  y la ramificación esta en el carbono 15 (Figura 2.1, 6) (Jiménez *et al.*, 1998).

Durante la caracterización de la estructura del trinervinol se realizaron transformaciones químicas, con lo que se obtuvieron compuestos derivados. La estructura molecular de uno de esos compuestos, el acetono-3-trinervinona (Figura 2.1, 7), fue determinada por Soriano-García *et al.* (1996). También se han aislado tres aldehidos del tipo isoferulol: isoferulol-(4-acetoxisenecioato) (Figura 2.1, 8), el isoferulol-(4-hidroxisenecioato) (Figura 2.1, 9) el isoferulol senecioato (Figura 2.1, 10) y el compuesto 11 (Figura 2.1, 11) (Bohlmann y Suwita, 1978).

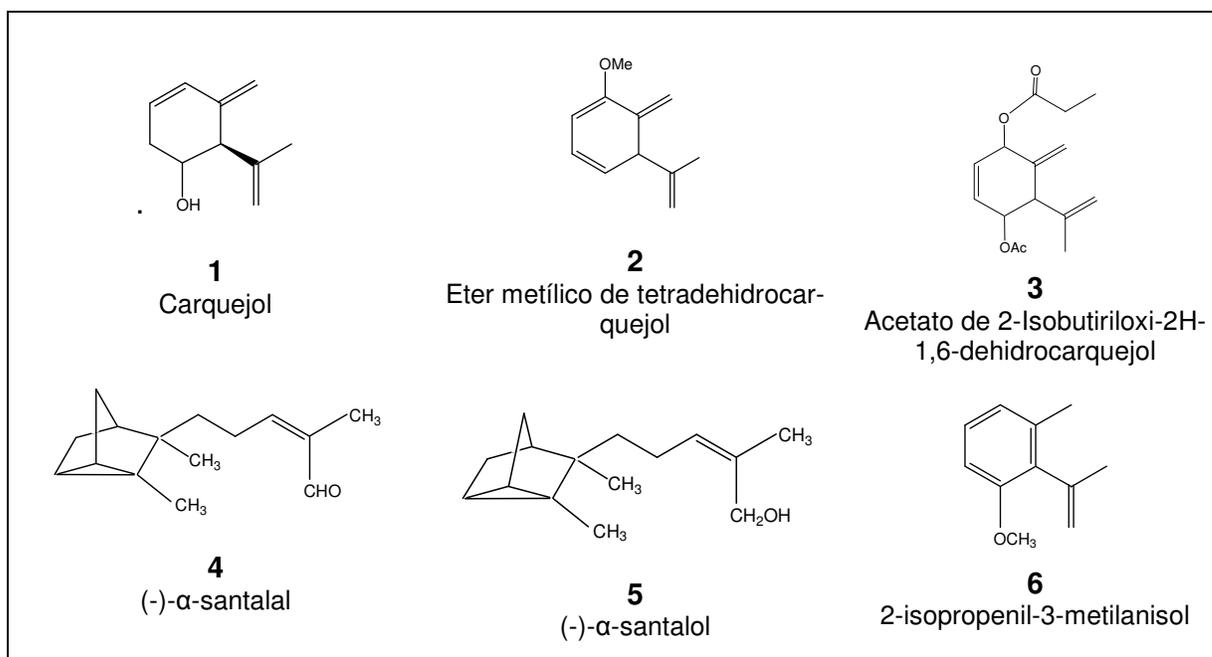
Figura 2.1. Estructuras de los compuestos aislados de la parte aérea de *Piqueria trinervia*.



**Raíz.** De la raíz se han aislado diversos compuestos, entre ellos: terpenos, que tienen el esqueleto del carquejol (Figura 2.2,1), el éter metílico de tetrahydrocarquejol (Figura 2.2, 2) y el acetato de 2-Isobutiriloxi-2H-1,6-dehydrocarquejol (Figura 2.2, 3). Se han reportado dos aldehidos del tipo isoferulol: el isoferulol-(4-acetoxiseneocioato) (Figura 2.1, 8) el isoferulol-(4-hidroxiseneocioato) (Figura 2.1, 9), aislados también de la parte aérea. Los santalales: el (-)- $\alpha$ -santalal (Figura 2.2, 4), y (-)- $\alpha$ -santalol (Figura 2.2, 5) (Bohlmann y Zdero, 1968; Bholmann y Suwita, 1978).

Por la semejanza del éter metílico de tetrahydrocarquejol (Figura 2.2, 2) con el carquejol (Figura 2.2, 6) y la posible relación biogénica entre los dos compuestos Sangaiah y Krishna (1981) realizaron una síntesis completa, y concluyeron que el compuesto aislado fue el 2-isopropenil-3-metilanisol (Figura 2.2, 6), argumentando que únicamente con espectros de resonancia magnética nuclear de hidrógeno no es posible distinguir los dos isómeros

Figura 2.2. Estructura de las compuestos aislados de la raíz de *Piqueia trinervia*



### **Actividad biológica**

*Piqueria trinervia* fue una de las especies sometidas a estudios clínicos como antipalúdico; a los enfermos se les dió diariamente un extracto fluido (6 a 12.5 g) por 6-8 días. Otros dos grupos de pacientes fueron tratados con el extracto en dosis diarias de 90 g por 6-7 días y de 50 g de tintura por 8 días. En algunos casos no se observó mejoría, en otros, desaparecieron los accesos pero el bazo continuó creciendo. En uno de los casos, se menciona que los parásitos de Laveran (paludismo) no desaparecieron, pero se observaron inmóviles en sus granulaciones, y en otro caso se menciona que los hematozoarios no desaparecieron de la sangre. Al administrar 100 gr del cocimiento se observó ligera disminución en la intensidad de la temperatura (Terrés, 1894). Los resultados en estos estudios demostraron que, aunque la *Piqueria* no presentaba propiedades antipalúdicas sí tenía actividad antitérmica (Ruiz, 1905). No se le demostró a esta especie efectos tóxicos y se atribuyó la actividad a un alcaloide (Altamirano, 1894).

En el mismo Instituto Médico Nacional se evaluaron las potencialidades terapéuticas de la planta para tratar la tuberculosis. A los enfermos se les administró durante períodos de 2 a 6 días, dosis de 3 a 15 g de extracto preparado con la planta. Aunque no cedió la infección, se observó en todos los pacientes tratados un mejor control de la hipertermia (Terrés, 1894).

Para comprobar si la planta realmente disminuye la temperatura febril, el Dr. M. Toussaint elevó la temperatura corporal de un conejo picando el núcleo caudado. Cuando la temperatura se mantuvo fija, se aplicó por vía intraabdominal una inyección de 30 ml del extracto de *P. trinervia*, logrando una disminución de 2 °C dos horas después. Al aplicar la dosis, de la misma manera, a conejos sanos no hubo efecto sobre la temperatura corporal (Ramírez, 1894).

En estudios más recientes se reporta que las concentraciones entre 400 y 500 ppm de piquerol A, inducen el 100% la mortalidad de *Aedes aegypti*, agente causante de la fiebre amarilla, así como de las larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus* (Jiménez Estrada y Rodríguez, 1990 ).

Otro trabajo, sugiere que el piquerol A puede ser un recurso potencial para el control de la enfermedad de chagas (Tripanosomiasis americana) causada por el protozoario *Trypanosoma cruzi*. Una dosis de 200 µg/ml de piquerol A detiene por 4 días la reproducción de los epimastigotes de *T. cruzi in vitro*, sin afectar el número de protozoarios iniciales. Los datos son similares a los reportados para la ofloxacina que inhibe el crecimiento en un 80 % a la concentración de 800 µg/ml; Por otro lado, se observaron diferencias significativas en la morfología (lisis celular) de los epimastigotes respecto al control (Castro *et al.*, 1992).

También se demostraron las propiedades molusquicidas del piquerol A, para controlar a algunos organismos que actúan como vectores de parásitos que afectan a los humanos y a ciertos animales de importancia económica. Para tal propósito, se emplearon los caracoles pulmonados transmisores de fascioliasis y del parásito *Schistosoma mansoni*. La mortalidad del 100 % de los caracoles, con la concentración de 50 ppm, ocurrió a las 6 horas de exposición, el mismo efecto fue obtenido con la concentración de 25 ppm a las 24 horas. Los rangos de mortalidad entre 60 y 100% se produjeron con 5 ppm a las 24 horas de exposición (Cruz-Reyes *et al.*, 1989).

La actividad acaricida de los piqueroles A y B, también fue evaluada contra la garrapata común del ganado, *Boophilus microplus*, ambos piqueroles a la concentración de 300 µg/ml inducen una mortalidad del 100% de las larvas a los 3 días de exposición. En hembras grávidas, el tiempo necesario para ocasionar el 50 % de mortalidad con el piquerol A fue de 8 a 7 días, con el piquerol B de 13 a 3. Al realizar la prueba con hembras y aplicación topica, los resultados fueron similares a los obtenidos con la prueba anterior. La T50 para el piquerol A fue de 8·6 días y para el piquerol B fue de 19·3 días. Ninguno de los piqueroles impidió la ovoposición, como sucede con los acaricidas comerciales. Los resultados son comparables con la actividad de los acaricidas organofosforados de uso comercial. Las propiedades acaricidas de los piqueroles A y B sugieren que los compuestos protegen a la planta contra insectos predadores (González de la Parra *et al.*, 1991).

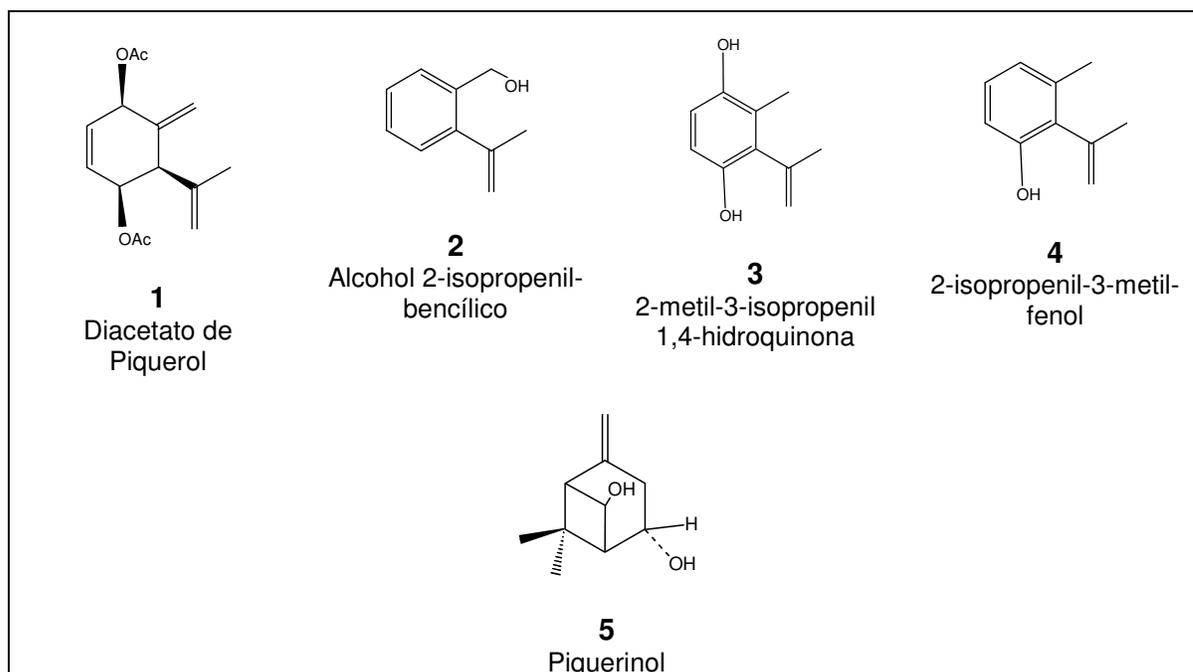
Asimismo, se demostró que el piquerol A inhibe la germinación y crecimiento de varias malezas, por lo tanto se le atribuye a *P. trinervia* actividad fitotóxica (González de la Parra *et al.*, 1981). Los derivados aromáticos del piquero A, diacetato de piquerol A (Figura 2.3, 1), alcohol bencílico (Figura 2.3, 2) y 2,3 dialquilhidroquinona (Figura 2.3, 3), así como los derivados fenólicos fueron evaluados en la germinación y desarrollo radicular de las malezas *Amaranthus hypocondriacus* y *Echinochloa crusgalli*, demostrando que en *A. hypocondriacus*, la dilución a 10 ppm de piquerol A estimula el crecimiento radicular en un 23 %, en tanto que concentraciones de 30 y 100 ppm lo inhiben en un 30 %. Los derivados diacetato de piquerol A y 2,3-dialquilhidroquinona también inhibieron el crecimiento a una concentración de 100 ppm; los compuestos 2-etil-3-metil-fenol (Figura 2.3, 4) y el alcohol bencílico, inhibieron el crecimiento radicular en 35 y 49.7 %. En el caso de *E. crusgalli*, los compuestos piquerol A, diacetato de piquerol y 2,3-dialquilhidroquinona inhibieron el crecimiento radicular en un 17.1, 25.0 y 59.5% respectivamente con la concentración de 100 ppm, la actividad del alcohol bencílico y el compuesto IVa no fueron significativas, 90.7 y 81.5 (Jiménez-Estrada *et al.*, 1996b).

El piquerol A (Figura 2.1, 2) y su diacetato (Figura 2.3, 1) tienen efecto inhibitor sobre el crecimiento radicular de *Ipomea purpurea*. A las concentraciones de 10, 25, 50 y 100 ppm de piquerol A se inhibe el crecimiento radicular en porcentajes de 65.7, 76.5, 72.9 y 81.9 respectivamente. Concentraciones de 10 y 25 ppm del diacetato de piquerol producen inhibición del crecimiento en 46.4 y 63.3 %, y del 100% con las dos concentraciones más altas. La actividad de la ATPasa del tonoplasto y la membrana plasmática fueron inhibidas en un 67.2 y 31.6% respectivamente con 500  $\mu\text{M}$  de diacetato de piquerol, el compuesto inhibió 15% la germinación con la concentración de 50  $\mu\text{M}$ ; a 100  $\mu\text{M}$ , la germinación fue inhibida totalmente (Cruz Ortega *et al.*, 1990).

El potencial de los cultivos de tejidos celulares de *P. trinervia* estimulados por hongos elicitors para la producción de monoterpenos fue estudiado por Saad *et al.* (2000). De hojas, raíces y flores de plantas silvestres de *P. trinervia* se colectaron 8 cepas de hongos monospóricos: *Alternaria alternata*, *Rizoctonia so-*

*lani*, *Fusarium poae*, *Fusarium moniliforme*, *Helminthosporium pedicellatum*, *Cladosporium cladosporoides*, *Phoma macdonaldii* y *Phaecilomyces elegans*. Todos los hongos indujeron una respuesta de defensa en los cultivos. Por análisis de cromatografía en placa fina del extracto crudo de diclorometano, de las células y los cultivos, se aislaron 4 compuestos, mismos que no se detectaron en los cultivos sin hongos elicitores. Un compuesto identificado fue un monoterpeno al que se denominó piquerinol (Figura 2.3, 5) y los otros 3 compuestos de polaridad alta son desconocidos. De las ocho cepas utilizadas en el estudio, la más sensible fue *P. macdonaldii* los 4 compuestos aislados retardaron su crecimiento; ningún compuesto afectó a *F. poae*, el cual infecta a *P. trinervia* ni a *R. solani* que no tuvo ninguna interacción con la planta. Dos de las cepas, *A. alternata* y *R. solani*, fueron resistentes a los 4 compuestos probados. El piquerinol causó fungistasis en tres de los hongos. Las aguas madres retardaron el crecimiento de 6 de las cepas lo que sugirió la presencia de otros compuestos antifúngicos de *P. trinervia*.

Figura 2.3. Estructuras de los compuestos con actividad biológica aislados de *Piqueria trinervia*.



Se hicieron ensayos para evaluar la actividad contra la malaria con seiscientas especies vegetales reportadas en la literatura; *P. trinervia* fue una de las especies probadas, pero los resultados fueron negativos (Spencer *et al.*, 1947).

### **III HIPÓTESIS**

Las ocho especies de plantas seleccionadas para el presente estudio se utilizan en la medicina tradicional para curar la diarrea y otros padecimientos. Por lo que es posible que estas especies sean una fuente para la obtención de metabolitos secundarios con actividad antibacteriana.

## IV OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GENERAL.

Evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana de los extractos acuosos y orgánicos de ocho plantas usadas en la medicina tradicional.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Evaluar la actividad antibacteriana de extractos acuosos y orgánicos preparados con diferentes partes de las plantas seleccionadas sobre cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *S. typhimurium*, *S. gallinarum*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.
- Evaluar los extractos crudos contra cepas de *S. aureus* aisladas de casos clínicos
- Realizar pruebas de actividad antibacteriana con los extractos acuosos y fracciones de los extractos orgánicos de la especie *Piqueira trinervia*.
- Determinar los valores de las concentraciones mínimas inhibitoria (CMI) y letal (CML) del extracto crudo más activo de *Piqueira trinervia*.
- Mediante espectrometría de masas acoplado a cromatografía de gases caracterizar los posibles compuestos presentes en el extracto crudo más activo.

## V MATERIAL Y MÉTODOS

### 5.1 MATERIAL VEGETAL

Las ocho plantas medicinales incluidas en el presente estudio provienen de diferentes zonas de la República (Tabla 5.1). La identificación botánica de las especies estuvo a cargo del Dr. Robert Bye y los ejemplares de herbario se depositaron en el Herbario Nacional (MEXU) ubicado en el Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.

Cada una de las especies se separó en hojas, corteza, raíz y/o parte aérea. Cada parte fue secada a temperatura ambiente y molida en un molino de cuchillas. El material resultante se guardó en un lugar seco hasta su empleo en los estudios.

Tabla 5.1. Lugar de colecta de las plantas incluidas en el estudio.

Especie	Lugar de colecta
<i>Buddleia cardioids</i> (Loganiaceae)	Gómez Palacio, Dgo.
<i>Byrsonima crassifolia</i> (Malpighiaceae)	Cuernavaca, Mor.
<i>Geranium seemannii</i> (Geraniaceae)	El Ajusco, D. F.
<i>Guazuma ulmifolia</i> (Sterculiaceae)	Cuernavaca, Mor.
<i>Larrea tridentata</i> (Zygophillaceae)	Gómez Palacio, Dgo.
<i>Persea americana</i> (Lauraceae)	Domicilio particular en Coyoacán, D. F.
<i>Piqueria trinervia</i> (Asteraceae)	El Ajusco, D. F.
<i>Psidium guajava</i> (Myrtaceae)	Cuernavaca, Mor.

## 5.2 MATERIAL Y ENSAYO MICROBIOLÓGICO

### 5.2.1 CEPAS BACTERIANAS

El trabajo se inició utilizando las cepas proporcionadas por el Dr. Alejandro Cravioto del Departamento Salud Pública, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México: *Escherichia coli* enteropatógena, *E. coli* enteroinvasiva, *E. coli* enterotoxígena, *E. coli* enteroagregante, *E. coli* (ATCC 25922), *S. typhi* (aislado clínico), *S. typhi* (ATCC 6539), *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853); las 34 cepas de aislados clínicos son procedentes del Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional siglo XXI. Se continuó trabajando con cepas proporcionadas por el Dr. José Guillermo Ávila del Laboratorio de Fitoquímica UBI-PRO, Facultad de Estudios Superiores, Iztacala Universidad Nacional Autónoma de México. Las cepas fueron: *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella boydii*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae* no tóxico, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans*. La cepa de *Salmonella gallinarum* fue proporcionada por el Dr. Arturo Macera del INIFAP.

### 5.2.2 MÉTODO DE DIFUSIÓN

Las pruebas se realizaron siguiendo el método de difusión descrito por Bauer *et al.* (1966) y Cáceres *et al.* (1990). De un cultivo puro de cada una de las bacterias se tomó un inóculo y se cultivó en cajas de Petri con agar infusión cerebro corazón, posteriormente se inoculó un tubo con 5 ml de agua peptonada al 1% (pH 7.2) y se incubó a 37 °C durante 24 horas. Este cultivo se ajustó al valor 0.5 de MacFarland, equivalente a  $1.5 \times 10^8$  de unidades formadoras de colonias/ml se llevó a una dilución 1:20 con solución salina 0.15 M. Se tomaron 100  $\mu$ l para inocular una caja con agar Müller-Hinton realizando un estriado bacteriano confluyente. Sobre la superficie del agar se colocaron de manera equidistante los discos (papel filtro Whatman No. 3 de 6.0 mm de diámetro) cada uno humedecido con 15  $\mu$ l del extrac-

to correspondiente. Las cajas se mantuvieron a temperatura ambiente durante 15 minutos; transcurrido este tiempo se incubaron a 37 °C durante 24 horas, el diámetro de la zona de inhibición del crecimiento formada alrededor del disco fue medida. Las pruebas se hicieron por duplicado.

### **5.2.3 MÉTODO DE DILUCIÓN**

Las concentraciones mínima inhibitoria (CMI) y mínima letal (CML) se determinaron por el método de microdilución en placa (Koneman *et al.*, 1997). El extracto se disolvió con un volumen mínimo de dimetil sulfóxido, posteriormente en condiciones de esterilidad el extracto fue aforado con caldo Müller-Hinton para obtener concentraciones de 110 a 0.68 mg/ml; de cada una de las soluciones se tomaron alícuotas de 180 µl y se colocaron en los pozos de las placas. Por otro lado, el cultivo puro de cada una de las cepas, fue incubado durante 24 horas en caldo Müller-Hinton y ajustado a la concentración del 0.5 de Mac Farland. Del cultivo se tomaron 20 µl y se sembraron en los pozos. En los pozos se obtuvieron concentraciones finales de 100 a 60 mg/ml. Los controles fueron los siguientes: control negativo, una fila de pozos sin inocular con las cepas, con el medio de cultivo y el extracto y como control positivo se consideró a una fila de pozos inoculada con las cepas, con el medio de cultivo y sin el extracto. Las placas se incubaron a 37 °C durante 18 horas. El primer pozo sin crecimiento correspondió a la concentración mínima inhibitoria. La concentración mínima letal fue la concentración mas baja que no presentó crecimiento bacteriano en la resiembra.

## **5.3 PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS PARA EL RASTREO MICROBIOLÓGICO**

### **5.3.1 PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS**

#### **Extractos acuosos esterilizados por filtración**

El material vegetal (5 g) se adicionó a un volumen de 250 ml de agua destilada hirviendo, el recipiente se retiró de la fuente de calor y el extracto se dejó enfriar a temperatura ambiente. Una vez frío se esterilizó por filtración empleando filtros con mallas Milipore de 20  $\mu\text{m}$  (extracto esterilizado). Los sensidiscos esterilizados se humedecieron en condiciones de esterilidad con 15  $\mu\text{l}$  del extracto y se secaron en la campana de flujo laminar.

### **Extractos acuosos sin esterilizar**

El extracto se preparó empleando agua a dos temperaturas, punto de ebullición y temperatura ambiente. En 250 ml de agua caliente se colocaron 5 gr del material vegetal, cuando el agua se enfrió, en condiciones de esterilidad se humedecieron los discos con 15  $\mu\text{l}$  y secaron en una campana de flujo laminar. En 250 ml de agua a temperatura ambiente, se maceraron durante 24 horas 5 gr del material vegetal, los discos se prepararon como previamente se indicó.

El extracto acuoso para realizar las pruebas con las cepas de *S. aureus* aisladas de casos clínicos fue mas concentrado, en 250 ml de agua destilada hirviendo se adicionaron 10 gr del material vegetal y se siguió el procedimiento descrito en el párrafo anterior. Se decidió preparar los extractos mas concentrados por tratarse de cepas aisladas de casos clínicos.

### **Extractos acuosos liofilizados**

Los extractos acuosos se prepararon con agua caliente como se mencionó en el párrafo anterior. Una vez a temperatura ambiente, en viales esterilizados se colocaron 10 ml del extracto y se congelaron a  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Los extractos se liofilizaron en un equipo Labconco durante 24 horas y se guardaron a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta el día que se realizaron las pruebas microbiológicas.

El peso promedio de los extractos liofilizados es de 0.04 gr, los cuales se rehidrataron con 1.0, 2.0 , 5.0 y 10.0 ml de agua destilada esterilizada para obtener cuatro concentraciones, 10x, 5x, 2x y 1x respectivamente. Los sensidiscos se humedecieron con 15  $\mu\text{l}$  de los extractos y se secaron en una campana de flujo

laminar.

### **Partición líquido-líquido de los extractos sin liofilizar**

El extracto acuoso se preparó como se indicó en el primer párrafo y el volumen total obtenido se dividió en tres partes para realizar particiones líquido-líquido en embudos de separación con hexano, acetato de etilo y diclorometano, respectivamente. Los discos se humedecieron con 15  $\mu$ l de las fase orgánicas y acuosas correspondientes y se secaron en una campana de flujo laminar, preparando una cantidad suficiente de discos para conservarlos a tres diferentes temperaturas (4° C, temperatura ambiente y -70° C).

### **Partición líquido-líquido de los extractos liofilizados**

Se hicieron particiones líquido-líquido con los extractos liofilizados y se prepararon dos concentraciones: a) concentración 10x; al liofilizado se le agregó 1 ml de agua destilada esterilizada, se disolvió el polvo y se agregó 1 ml del disolvente correspondiente, los discos se humedecieron con 20  $\mu$ l de cada una de las fases; b) concentración 5x; el liofilizado se disolvió en 2 ml de agua destilada esterilizada y se agregaron 2 ml del disolvente correspondiente, los discos se humedecieron con 20  $\mu$ l de cada una de las fases.

### **Extractos liofilizados disueltos directamente en disolventes orgánicos**

Los extractos liofilizados se disolvieron en metanol, etanol, butanol y acetona. Al agregar a los liofilizados los disolventes orgánicos se formó una fracción insoluble, la cual se extrajo y fue disuelta en 1 ml de agua destilada y esterilizada. Los discos se humedecieron respectivamente con 15  $\mu$ l del extracto orgánico y la fracción soluble en agua. Los discos se secaron en un campana de flujo laminar.

## **5.4 ESTUDIO QUÍMICO DE *Piqueria trinervia***

### **5.4.1 MATERIAL VEGETAL**

Las colectas de la planta se llevaron a cabo durante los meses de junio a agosto (2004 y 2005) en el Ajusco. Las partes aéreas y subterráneas de la planta se secaron a temperatura ambiente. El material vegetal seco se molió con molino de cuchillas.

### **5.4.2 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS PARTES AÉREAS Y PARTICIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO CON DICLOROMETANO**

Las partes aéreas de *P. trinervia* (500 g) se extrajeron por maceración a temperatura ambiente con agua destilada durante 24 horas, repitiendo el proceso dos veces. El extracto acuoso obtenido se filtró y en un embudo de separación se particionó con diclorometano.

La fase orgánica se concentró presión reducida y temperatura de 40 °C. La actividad antibacteriana del extracto se evaluó en 11 cepas de bacterias mediante discos de difusión y fueron estimados las concentraciones mínima inhibitoria y mínima letal. El extracto también se sometió al análisis de espectrometría de masas acoplado a cromatografía de gases (EM-CG) para identificar a los compuestos posiblemente activos.

El agua de la otra fase, se evaporó en una campana de extracción a temperatura ambiente.

### **5.4.3 EXTRACCIÓN SERIADA DE LA RAÍZ CON DISOLVENTES ORGÁNICOS Y SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA EN PLACA FINA PREPARATIVA DEL EXTRACTO HEXÁNICO**

La raíz se separó en gruesas y delgada, posteriormente se cortaron en pequeños trozos. El material vegetal (250 g) se extrajo por maceración a tempe-

ratura ambiente y de manera seriada con hexano, acetato de etilo, diclorometano y metanol. Los extractos se concentraron a presión reducida y se les determinó la actividad antibacteriana a concentraciones de 2 mg/disco y 3 mg/disco.

El extracto hexánico de la raíz gruesa fue sometido a separación cromatográfica en placa preparativa, utilizando como sistema de elusión Hex-AcOEt (8:2), se obtuvieron 9 fracciones (detectadas con UV y 1% de sulfato cérico en 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> como revelador). Tanto las fracciones como el punto de aplicación se sometieron al ensayo microbiológico.

#### **5.4.4 ANÁLISIS DE LOS EXTRACTOS POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS ACOPLADO CON CROMATOGRFÍA DE GASES**

Para identificar las estructuras químicas de los compuestos presentes en los extractos activos de la parte aérea (fase orgánica de diclorometano) y la raíz gruesa (extracto hexánico), se obtuvo el cromatograma de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-EM). El equipo empleado fue un cromatógrafo de gases 5890 series II y espectrómetro de masas JEOL JMS-AX505HA. Se utilizó una columna HP ultra 2 de 25 m x 0.2 mm con película de 0.33 µm, el gas transportador fue helio, el extracto fue diluido 1:10 en diclorometano y se inyectó 1 µl con divisor de flujo spled.

## VI RESULTADOS

### 6.1 PLANTAS MEDICINALES INCLUIDAS EN EL RASTREO FARMACOLÓGICO

Una vez identificadas las especies, los ejemplares de herbario de las plantas estudiadas se depositaron en el Herbario Nacional del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma De México (MEXU). En la Tabla 6.1 se muestra el número de herbario de cada especie identificada.

Tabla 6.1. Ejemplares depositados en el Herbario Nacional, MEXU.

Especies	No. colecta
<i>Buddleia scordioides</i>	1008
<i>Byrsonima crassifolia</i>	1000
<i>Geranium seemannii</i>	1007
<i>Guazuma ulmifolia</i>	1001
<i>Larrea tridentata</i>	1006
<i>Persea americana</i>	1005
<i>Piqueria trinervia</i>	1003
<i>Psidium guajava</i>	1004

### 6.2 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS

#### 6.2.1 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS ESTERILIZADOS POR FILTRACIÓN

Es esta fase del estudio se emplearon discos de papel filtro impregnados con 15  $\mu$ l de los extractos acuosos. Los extractos acuosos sin esterilizar por filtración mostraron una actividad ligeramente mayor respecto a la observada con los extractos esterilizados por filtración. Alrededor de los discos se observó dismi-

nución del crecimiento bacteriano. Esto se observó con los discos humedecidos con ambos extractos. Las bacterias empleados en esta fase del estudio fueron cinco cepas de *E. coli* enteropatógena (EP), enteroinvasiva (EI), enterotoxígena (ET), enteroagregante (EA) y ATCC 25922, *Salmonella typhimurium*, dos cepas de *S. typhi* aislada de caso clínico (acc) y ATCC 6539, *S. dysenteriae*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. En el estudio se incluyeron las ocho plantas medicinales, de las cuales siete tuvieron actividad antibacteriana, los resultados se presentan en las Tablas 6.2 y 6.3.

La cepa *E. coli* (EI) fue sensible a los extractos preparados con la parte aérea de *B. scordioides* [ $\varnothing = 15, 17$  mm] y la corteza de *G. ulmifolia* [ $\varnothing = 10, 14$  mm], los extractos sin esterilizar fueron ligeramente mas activos.. El crecimiento de *S. typhi* fue inhibido por los dos extractos preparados con las hojas de *L. tridentata* [ $\varnothing = 7$  mm]. La cepa *S. aureus* fue sensible a todos los extractos [ $\varnothing = 7$  a 10 mm].

Tabla 6.2. Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos acuosos de *Buddleia scordioides*, *Byrsonima crassifolia* y *Guazuma ulmifolia*.

Cepas	<i>B. scordioides</i>		<i>B. crassifolia</i>				<i>G. ulmifolia</i>			
	Parte aérea		Hojas		Corteza		Hojas		Corteza	
	E s E	E E F	E s E	E E F	E s E	E E F	E s E	E E F	E s E	E E F
<i>E. coli</i> (EP)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> (EI)	15, 17	10, 13	-	-	-	-	-	-	10, 14	12, 7
<i>E. coli</i> (ET)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> (ATCC)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> (EA)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. typhimurium</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. typhi</i> (acc)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. typhi</i> (ATCC)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. dysenteriae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	9, 9	9, -	8, 8	-	8, 7	7, 7	9, 8	7, 7	9, 10	7, 7
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Leyenda: E s E, extracto sin esterilizar; E E F, extracto esterilizado por filtración; números sin negritas, diámetros de la zona de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos; números en negritas, diámetros en mm de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; - cepa resistente; EP, enteropatógena; EI, enteroinvasiva; ET enterotoxígena; EA, enteroagregante.

Tabla 6.3. Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos acuosos de *Geranium seemannii*, *Larrea tridentata*, *Persea americana* y *Psidium guajava*.

Cepas	<i>G. seemannii</i>		<i>L. tridentata</i>		<i>P. americana</i>		<i>P. guajava</i>			
	Parte aérea		Hojas		Hojas		Corteza		Hojas	
	E s E	E E F	E s E	E E F	E s E	E E F	E s F	E E F	E s E	E E F
<i>E. coli</i> (EP)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> (EI)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> (ET)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> (ATCC)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> (EA)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. typhimurium</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. typhi</i> (acc)	-	-	<b>7, 7</b>	<b>7, 7</b>	-	-	-	-	-	-
<i>S. typhi</i> (ATCC)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. dysenteriae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	8, 9	<b>8, 7</b>	10, 10	-	<b>7, 7</b>	<b>7, 7</b>	8, 8	8, 8	8, 8	8, 8
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Leyenda: E s E, extracto sin esterilizar; E E F, extracto esterilizado por filtración; números sin negritas, diámetros en mm de la zona de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos; números en negritas, diámetros en mm de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; - cepa resistente; EP, enteropatógena; EI, enteroinvasiva; ET, enterotoxígena; EA, enteroagregante.

### 6.2.2 EFECTO QUE EJERCE SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA LA TEMPERATURA EN EL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE LAS MUESTRAS VEGETALES

Las observaciones sobre la temperatura en la extracción acuosa del vegetal y sus efectos en la actividad antibacteriana se determinó utilizando dos de las especies vegetales: La *G. ulmifolia* que fue una de las especies activas contra *E. coli* y la *P. trinervia* por ser una planta medicinal usada desde antes de la conquista y que ha sido poco estudiada. Los resultados en ambos casos muestran que el incremento de la temperatura en el proceso de extracción produce una mayor actividad de los extractos.

En el caso de *G. ulmifolia*, la temperatura del agua a punto de ebullición aumentó la actividad antibacteriana del extracto de las hojas contra *S. aureus* [ $\varnothing = 21, 18$  mm] y *P. aeruginosa* [ $\varnothing = 11, 10$  mm]; a diferencia de lo anterior, con los extractos preparados a temperatura ambiente la actividad antibacteriana disminuyó. Los extractos de la corteza preparados con agua caliente y temperatura ambiente, ejercieron actividad únicamente contra *S. aureus* [ $\varnothing = 17$  a 12 mm] (Tabla 6.4).

Tabla 6.4. Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos acuosos liofilizados preparados con las hojas y la corteza de *Guazuma ulmifolia*.

Cepas	Hojas				Corteza			
	Infusión		Macerado		Infusión		Macerado	
	1.6 mg/d	0.8 mg/d	1.6 mg/	0.8 mg/d	1.6 mg/	0.8 mg/d	1.6 mg/	0.8 mg/d
<i>E. coli</i> mdr.	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> (EA)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. sonneii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	21, 18	18, 18	11, 10	<b>7, 7</b>	14, 14	13, 12	14, 14	17, 14
<i>P. aeruginosa</i>	11, 10	10, 9	-	-	-	-	-	-

Leyenda: mg/d, miligramos por disco; mdr, multidrogo-resistente; EA, enteroagregante; números sin negritas, diámetros en mm de la zona de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos; números en negritas, diámetros de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; -, cepa resistente.

En las pruebas microbiológicas del extracto de las partes aéreas de *P. trinervia* se observó que la temperatura del agua a punto de ebullición incrementa ligeramente la actividad antibacteriana contra *S. aureus*. El extracto preparado con la raíz de esta planta empleando agua caliente, fue activo contra *P. aeruginosa* [ $\varnothing = 11$  mm] pero inactivo cuando la extracción se llevó a cabo a temperatura ambiente. La cepa *E. coli* (EA) fue sensible únicamente al extracto preparado con agua a temperatura ambiente. La actividad contra *S. sonneii* [ $\varnothing = 9$  a 7 mm] fue similar con ambos extractos (Tabla 6.5).

Tabla 6.5. Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos acuosos liofilizados preparados con la parte aérea y la raíz de *Piqueria trinervia*.

Cepas	Parte aérea				Raíz			
	Infusión		Macerado		Infusión		Macerado	
	1.6 mg/d	0.8 mg/d	1.6 mg/d	0.8 mg/d	1.6 mg/d	0.8 mg/d	1.6 mg/d	0.8 mg/d
<i>E. coli</i> mdr.	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> (EA)	-	-	-	-	-	-	13, 12	-
<i>S. sonneii</i>	-	-	-	-	<b>7, 7</b>	<b>7, 7</b>	<b>9, 8</b>	<b>7, 7</b>
<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	15, 13	-	9, 9	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	11, 11	-	-	-

Leyenda: mg/d, miligramos por disco; mdr, multidrogo-resistente; EA; enteroagregante; números sin negritas, diámetros de la zona de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos; números en negritas, diámetros en mm de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; -, cepa resistente.

### 6.2.3 EFECTO DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS CONTRA CEPAS DE *Staphylococcus aureus* DE AISLADOS CLÍNICOS

Debido a la gran susceptibilidad que presentó *S. aureus* a la mayoría de los extractos evaluados en el modelo *in vitro*, se realizó un estudio en el que se incluyeron 34 cepas de aislados de casos clínicos. Del total, 7 cepas (no incluidas en la Tabla 6.6) fueron resistentes a los extractos preparados con todas las especies vegetales.

En estos ensayos las tres especies más activas fueron: *G. seemannii* que inhibió el crecimiento de 26 de las cepas evaluadas, en 18 de estas cepas se formaron zonas [ $\varnothing = 13$  a 8 mm] de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos y en las restantes los halos de inhibición del crecimiento bacteriano midieron de 8 a 13 mm de diámetro. El extracto preparado con las hojas de *L. tridentata* fue activo contra 17 de las cepas, se observaron halos de inhibición del crecimiento bacteriano en 14 de las cepas [ $\varnothing = 16$  a 7 mm]. El extracto de la corteza de *P. guajava* ejerció actividad antibacteriana contra 8 de las cepas [ $\varnothing = 11$  a 7 mm] y el extracto de las hojas fue activo contra 7 cepas [ $\varnothing = 11$  a 7 mm], en la Tabla 6.6 se presentan los resultados obtenidos con las 7 especies evaluadas.

Tabla 6.6. Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos acuosos preparados con *Larrea tridentata*, *Geranium seemannii*, *Psidium guajava*, *Guazuma ulmifolia*, *Byrsonima crassifolia*, *Buddleia scordioides* y *Piqueria trinervia* contra cepas de *S. aureus* aisladas de casos clínicos.

<i>S aureus</i>	Plantas							
	Lt hojas	Gm p. a.	Pg corteza	Bc hojas	Gu Hojas	Bs p. a.	Pt raíz	
C. R.	<b>9, 9</b>	<b>10, 9</b>	<b>8, 7</b>	<b>7, 7</b>	7, -	-	-	-
11	<b>15, 12</b>	10, 9	9, 8	<b>8, 7</b>	9, 8	-	-	-
12	8, 8	10, -	-	-	9, -	-	-	-
12-2	8, 7	10, 10	-	-	-	-	-	-
13	<b>9, 8</b>	10, 8	<b>7, -</b>	<b>8, 7</b>	-	-	-	-
14	-	8, -	-	-	-	-	-	-
15	-	<b>8, 7</b>	-	-	-	-	-	-
16	<b>9, 8</b>	11, 10	<b>8, 7</b>	8, 8	8, -	-	-	-
17	<b>9, 8</b>	11, 11	8, 8	<b>8, 7</b>	8, 8	-	-	-
18	-	10, 9	<b>7, 7</b>	-	-	-	-	-
18-2	-	<b>10, 10</b>	-	-	-	-	-	-
19	-	9, 7	-	-	-	-	-	-
21	-	<b>7, -</b>	-	-	<b>7, -</b>	-	-	-
22	<b>8, 8</b>	11, 10	-	-	-	<b>7, 7</b>	-	<b>8, 7</b>
23	<b>7, -</b>	<b>11, 7</b>	-	-	-	<b>8, 7</b>	<b>9, 8</b>	-
24	<b>10, 8</b>	12, 10	-	-	-	-	-	-
28	12, 11	11, 10	-	-	-	-	-	-
30	-	10, 9	-	-	-	-	-	-
31	-	13, 12	-	<b>7, 7</b>	10, 9	-	-	-
32	<b>11, 10</b>	<b>13, -</b>	<b>9, -</b>	9, -	-	-	-	-
32-2	-	9, 10	-	-	-	-	-	-
33	<b>15, 12</b>	<b>12, 11</b>	-	-	-	-	-	-
34	-	11, 10	-	-	-	-	-	-
35	<b>16, 12</b>	<b>10, 10</b>	10, 9	-	<b>11, 10</b>	-	-	-
37	<b>7, 7</b>	-	-	-	-	<b>8, 7</b>	<b>8, 7</b>	9, 9
38	<b>12, 12</b>	<b>10, 8</b>	9, 7	<b>11, 10</b>	-	8, 8	<b>8, 7</b>	9, 8
38-2	<b>8, 8</b>	<b>11, 10</b>	-	-	-	-	-	-
39	<b>7, 7</b>	<b>9, -</b>	-	-	-	-	-	-

Leyenda: C. R., cepa de referencia; - cepa resistente; números en negritas, diámetros en mm de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; números sin negritas, diámetros en mm de la zona de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos.

#### 6.2.4 ACTIVIDAD DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS LIOFILIZADOS Y LA RELACIÓN DOSIS-RESPUESTA DEL EFECTO ANTIBACTERIANO

La actividad antibacteriana de los extractos acuosos sin liofilizar (**sL**) y liofilizados (**L**) preparados con seis plantas fue evaluada contra 11 cepas; los extractos liofilizados fueron rehidratados para obtener 4 concentraciones 10x, 5, 2.5x y 1x (equivalente al extracto sin liofilizar).

Todos los extractos acuosos sin liofilizar fueron activos contra una o más de las siguientes cepas *E. coli* (EI), *S. typhi* (acc o ATCC), *S. dysenteriae* y *S. aureus*, pero al hacer las pruebas con los extractos L a la concentración 1x, la única cepa sensible fue *S. aureus*, las plantas activas fueron *G. seemannii* [ $\varnothing = 9$  mm], la corteza [ $\varnothing = 7$  mm] y hoja [ $\varnothing = 9, 8$  mm] de *B. crassifolia*, observándose una relación dosis-respuesta. Los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano se presentan en las Tablas 6.7 y 6.8.

El extracto preparado con la corteza de *B. crassifolia* fue activo contra cinco de las cepas a partir de la concentración 2x, observándose una tendencia de aumento de actividad respecto a la concentración. Además fue uno de los dos extractos activos contra *S. typhimurium*, el crecimiento de la cepa fue inhibido a partir de la concentración 2x, la otra cepa es *E. coli* (EP), sensible a las concentraciones 5x y 10x. El extracto preparado con las hojas de esta misma planta solo fue activo contra dos de las cepas.

Tabla 6.7. Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos acuosos liofilizados y sin liofilizar preparados con la parte aérea de *Buddleia scordioides* y *Geranium seemannii*.

Cepas	<i>Buddleia scordioides</i> Parte aérea			<i>Geranium seemannii</i> Parte aérea				
	s L	Liofilizados		s L	Liofilizados			
		10x	5x		10x	5x	2x	1x
<i>E. coli</i> (EI)	16, 13	-	-	14, 13	-	-	-	-
<i>E. coli</i> (ET)	-	-	-	-	9, 9	<b>9, 9</b>	7, -	-
<i>S. typhi</i> (acc)	-	-	-	-	<b>10, 10</b>	8, -	-	-
<i>S. typhi</i> (ATCC)	-	-	-	-	10, 9	-	-	-
<i>S. dysenteriae</i>	-	<b>10,9</b>	<b>9, 7</b>	-	<b>9, 7</b>	<b>8, 8</b>	-	-
<i>S. aureus</i>	<b>9, 9</b>	<b>10, 10</b>	9, 8	<b>10, 9</b>	<b>14, 12</b>	<b>12, 12</b>	<b>13, 11</b>	<b>9, 9</b>

Leyenda: s L, extracto sin liofilizar; -, cepa resistente; números en negritas, diámetros en mm de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; números sin negritas, diámetros en mm de las zonas de disminución del crecimiento bacteriano; EI, enteroinvasiva; ET, enterotoxígena.

Tabla 6.8. Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos acuosos liofilizados y sin liofilizar preparados con las hojas y corteza de *Byrsonima crassifolia*.

Cepas	<i>Byrsonima crassifolia</i>									
	s L	Corteza Liofilizado				s L	Hoja Liofilizado			
		10x	5x	2x	1x		10x	5x	2x	1x
<i>E. coli</i> (EP)	-	15, 11	13, 12	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> (EI)	-	16, <b>7</b>	15, <b>7</b>	13, <b>7</b>	-	12, 11	-	-	-	-
<i>E. coli</i> (ET)	-	13, 11	13, 12	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> (ATCC)	-	9, -	9, -	13, -	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> (EA)	-	<b>7, 7</b>	9, 8	14, 9	-	-	-	-	-	-
<i>S. typhimurium</i>	-	15, 14	15, 13	12, <b>7</b>	-	-	-	-	-	-
<i>S. dysenteriae</i>	-	<b>7, 7</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	8, 8	12, 11	10, 10	10, 9	<b>7, 7</b>	<b>9, 9</b>	11, 10	12, 11	12, 11	9, 8

Leyenda: s L, extracto sin liofilizar; - cepa resistente; números en negritas, diámetros en mm de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; números sin negritas, diámetros de las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos; EP, enteropatógena; EI, enteroinvasiva; ET, enterotoxígena; EA, enteroagregante.

Los extractos **sL** preparados con las hojas de *G. ulmifolia* presentaron actividad contra: *E. coli* (EI) [ $\varnothing = 13, 10$  mm], observándose zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos, los halos de inhibición del crecimiento bacteriano se detectaron con las cepas *S. dysenteriae* [ $\varnothing = 11, 9$  mm] y *S. aureus* [ $\varnothing = 10, 8$  mm]. El extracto liofilizado fue activo a la concentración 10x contra *E. coli* (EP) [ $\varnothing = 12, 11$  mm] y *E. coli* ATCC [ $\varnothing = 13$  mm], formando zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos (Tabla 6.9).

Con respecto a la especie *L. tridentata*, podemos señalar que el extracto **sL** fue activo contra las cepas: *S. typhi* (acc) [ $\varnothing = 7$  mm] y *S. aureus* [ $\varnothing = 10, 9$  mm]. Cabe destacar que el extracto **L**, a la concentración 10x fue el único activo contra *P. aeruginosa* [ $\varnothing = 11, 10$  mm] además de inhibir el crecimiento de 10 cepas, presentando resistencia sólo *E. coli* (EP). La cepa *S. typhimurium* formó zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos de 10 y 9 mm. Los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano de las 9 cepas restantes midieron entre 7 y 15 mm,. El extracto preparado a la concentración 5x fue activo contra *E. coli* (EI) [ $\varnothing = 13, 10$  mm], *S. typhi* (acc) [ $\varnothing = 8$  mm], *S. dysenteriae* [ $\varnothing = 12, 11$  mm] y *S. aureus* [ $\varnothing = 9, 8$  mm].

Tabla 6.9. Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos acuosos liofilizados y sin liofilizar preparados con las hojas de *Guazuma ulmifolia* y *Larrea tridentata*.

Cepas	<i>Guazuma ulmifolia</i>			<i>Larrea tridentata</i>		
	s L	Hojas Liofilizados		s L	Hojas Liofilizados	
		10x	5x		10x	5x
<i>E. coli</i> (EP)	-	12, 11	-	-	-	-
<i>E. coli</i> (EI)	13, 10	-	-	-	<b>15, 14</b>	<b>13, 10</b>
<i>E. coli</i> (ET)	-	-	-	-	<b>7, -</b>	-
<i>E. coli</i> (ATCC)	-	13, 13	-	-	<b>9, -</b>	-
<i>E. coli</i> (EA)	-	-	-	-	<b>7, -</b>	-
<i>S. typhimurium</i>	-	-	-	-	10, 9	-
<i>S. typhi</i> (acc)	-	-	-	<b>7, 7</b>	<b>12, 11</b>	<b>8, 8</b>
<i>S. typhi</i> (ATCC)	-	-	-	-	<b>12, 10</b>	-
<i>S. dysenteriae</i>	<b>11, 9</b>	-	-	-	<b>13, 13</b>	<b>12, 11</b>
<i>S. aureus</i>	<b>10, 8</b>	-	-	<b>10, 9</b>	<b>11, 11</b>	<b>9, 8</b>
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	<b>11, 10</b>	-

Leyenda: s L, extracto sin liofilizar; - cepa resistente; números en negritas, diámetros en mm de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; números sin negritas, diámetros en mm de la zona de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos; EP, enteropatógena; EI, enteroinvasiva; ET, enterotoxigénica; EA, enteroagregante.

En el caso de *P. guajava*, el extracto preparado con la corteza fue mas activo que el extracto preparado con las hojas. La corteza inhibió el crecimiento de tres cepas a partir de la concentración 2x, las cepas sensibles fueron: *S. typhi* ATCC, *S. dysenteriae* y *S. aureus*, los diámetros de las zonas de disminución del crecimiento bacteriano midieron de 11 a 8 mm, a la concentración 5x las mismas tres cepas fueron susceptibles, pero la actividad fue mayor ya que se observaron halos de inhibición del crecimiento bacteriano ligeramente mas grandes. A la concentración 10x fueron sensibles cinco de las cepas, las tres anteriores y *E. coli* (EA) y *S. typhi* (acc). Por otra parte, el extracto sL preparado con las hojas de *P. guajava* fue activo contra *E. coli* (EI), *S. typhi* ATCC y *S. aureus*, los diámetros de las zonas de inhibición del crecimiento midieron de 12 a 8 mm, las cuatro concentraciones del extracto liofilizado fueron activas contra *P. aeruginosa*, observándose una relación dosis respuesta, los diámetros de los diámetros de las zona de disminución del crecimiento bacteriano alrededor del disco midieron de 7 a 11 mm. Los resultados de

las pruebas de la actividad antibacteriana se presentan en la Tabla 6.10.

Tabla 6.10. Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos acuosos liofilizados y sin liofilizar preparados con las hojas y corteza de *Psidium guajava*.

Cepas	<i>Psidium guajava</i>								
	S L	Corteza Liofilizados			s L	Hojas Liofilizados			
		10x	5x	2x		10x	5x	2.0	1x
<i>E. coli</i> (EI)	12, 12	-	-	-	12, 10	<b>7, 7</b>	-	-	-
<i>E. coli</i> (EA)	-	10, 9	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. typhi</i> (acc)	-	<b>9, 9</b>	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. typhi</i> (ATCC)	12, 10	<b>14, 13</b>	<b>11, 10</b>	11, 9	12, 10	sc	sc	sc	sc
<i>S. dysenteriae</i>	-	<b>10, 10</b>	<b>9, 8</b>	9, 8	-	<b>12, 11</b>	+, -	-	-
<i>S. aureus</i>	<b>8, 7</b>	<b>13, 13</b>	<b>12, 11</b>	10, 9	8, 8	13, 12	10, 10	-	-
<i>P. aeruginosa</i>					-	11, 11	10, 10	9, 7	7, -

Leyenda: s L, extracto sin liofilizar; - cepa resistente; números en negritas, diámetros en mm de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; números sin negritas, diámetros de la zona de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos; EI, enteroinvasora; EA, enteroagregante; sc, sin crecimiento.

El extracto sin liofilizar preparado con las hojas de *P. americana* sólo inhibieron el crecimiento de *S. aureus*, los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano midieron 7 mm.

Los extractos acuosos preparados con la parte aérea y la raíz de *P. trinervia*, fueron inactivos contra todas las cepas, por lo que se decidió preparar al extracto con agua a temperatura ambiente y liofilizarlo, con esta manera de preparación se detectó únicamente actividad antibacteriana a la concentración 10x, contra las cepas *S. typhi* y *S. dysenteriae*, los diámetros de las zona de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos midieron 14 y 10 mm y 11 y 10 mm respectivamente.

## 6.3 EFECTO DEL TIEMPO Y LA TEMPERATURA DE CONSERVACIÓN SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LAS FASES ACUOSAS Y ORGÁNICAS

### 6.3.1 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LAS FASES OBTENIDAS POR PARTICIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO DEL EXTRACTO ACUOSO SIN LIOFILIZAR

Los resultados que se reportan en esta serie de estudios comparativos corresponden a las actividades demostradas con el extracto acuoso crudo (**Aq<sub>c</sub>**), así como con las fases orgánicas (**Hex**, **CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>**, **AcOEt** y **BuOH**) y sus respectivas fases acuosas (**Aq<sub>hex</sub>**; **Aq<sub>AcOEt</sub>**; **Aq<sub>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></sub>**, **Aq<sub>BuOH</sub>**) obtenidas por partición líquido-líquido de los extractos acuosos sin liofilizar de *B. crassifolia*, *G. seemannii* y *L. tridentata*. Para la evaluación microbiológica se utilizaron las 11 cepas mencionadas.

Las cepas *E. coli* (EI) y *S. aureus* fueron sensibles al extracto crudo y las fases acuosas y orgánicas preparados con las hojas de *B. crassifolia*. El crecimiento de *E. coli* (EI) fue inhibido por el extracto crudo y las tres fases **Aq** [ $\varnothing = 8$  a 11 mm] y las fases orgánicas de **BuOH** y **AcOEt** [ $\varnothing = 9$  a 8 mm]. El crecimiento de *S. aureus* fue inhibido por el extracto crudo y las tres fases **Aqc** [ $\varnothing = 7$  a 11 mm] y las fases orgánicas de **AcOEt** y **BuOH** [ $\varnothing = 7$  a 10 mm]. La cepa *E. coli* ATCC fue sensible a **Aqc** y **Aq<sub>AcOEt</sub>**, *E. coli* (EA) a **Aq<sub>hex</sub>** y **Aq<sub>AcOEt</sub>** y *S. typhimurium* a **Aq<sub>hex</sub>** y **AcOEt** (Tabla 6.11).

En la Tabla 6.12 se observa que *E. coli* (EI) fue sensible a extracto crudo y las tres fases acuosas y orgánicas preparados con la parte aérea de *G. seemannii*, los diámetros de las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano midieron de 10 a 14 mm. El crecimiento de *S. aureus* fue inhibido por el extracto acuoso crudo, las tres fases **Aq** y las orgánicas de **AcOEt** y **BuOH** [ $\varnothing = 9$  a 13 mm].

Tabla 6.11. Diámetros (mm) de los halos y las zonas disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con el extracto acuoso y las fases orgánicas y acuosas del extracto preparado con las hojas de *Byrsonima crassifolia*.

Disolvente	Fase	Bacterias				
		<i>E. coli</i> (EI)	<i>E. coli</i> (ATCC)	<i>E. coli</i> (EA)	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>
Hexano	Orgánica	-	-	-	-	-
	Acuosa	10, 9	-	9, 8	9, 9	<b>11, 10</b>
Acetato de etilo	Orgánica	-	-	-	<b>7, 7</b>	<b>8, 7</b>
	Acuosa	8, -	<b>7, 7</b>	8, 7	-	<b>10, 10</b>
Butanol	Orgánica	9, 8	-	-	-	<b>10, 9</b>
	Acuosa	9, 9	-	-	-	<b>7, 7</b>
Extracto acuoso crudo		10, 11	<b>7, 7</b>	-	-	<b>10, 10</b>

Leyenda: EI, enteroinvasiva; EA, enteroagregante; números en negritas, diámetros en mm de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; números sin negritas, diámetros en mm de la zona de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos; -, cepa resistente

Tabla 6.12. Diámetros (mm) de los halos y las zonas disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con el extracto acuoso y las fracciones orgánicas y acuosas del extracto preparado con la parte aérea de *Geranium seemannii*.

Disolvente	Fase	Cepas			
		<i>E. coli</i> (EI)	<i>S. typhi</i> (acc)	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. aureus</i>
Acetato de Etilo	Orgánica	12, 10	-	-	<b>9, 8</b>
	Acuosa	14, 14	9, 9	<b>10, 9</b>	<b>12, 11</b>
Dicloro-metano	Orgánica	10, -	-	-	-
	Acuosa	13, 13	8, 7	-	<b>11, 11</b>
Butanol	Orgánica	13, 14	-	-	<b>11, 10</b>
	Acuosa	13, 11	-	-	<b>11, 10</b>
Extracto acuoso crudo		15, 14	8, 8	<b>10, 9</b>	<b>13, 12</b>

Leyenda: EI, enteroinvasiva; acc, aislado de caso clínico; números en negritas, diámetros de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; números sin negritas, diámetros de las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos; -, cepa resistente.

Finalmente, **Aqc** de *L. tridentata* tuvo actividad contra cuatro de las cepas, en tanto que las fases orgánicas y acuosas fueron activas contra 3 de los microorganismos. La cepa *E. coli* (EI) fue sensible a **Aqc**, **Aq<sub>hex</sub>** y **CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>** [ $\varnothing = 10$  a 11 mm, 0] y **AcOEt** [ $\varnothing = 12, 11$  mm]. *S. typhi* (ac) a **Aqc**, **Aq<sub>AcOEt</sub>**, **Aq<sub>hex</sub>** [ $\varnothing = 7$  a 11 mm] y **CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>**  $\varnothing = 7$  mm]. *S. dysenteriae* fue sensible sólo a **Aqc**. *S. aureus* a **Aqc**, a **Aq<sub>hex</sub>** [ $\varnothing = 10$  a 13 mm], **AcOEt** y **CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>** [ $\varnothing = 9$  a 7 mm] (Tabla 6.13).

Tabla 6.13. Diámetros (mm) de los halos y las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con el extracto acuoso preparado con las hojas de *Larrea tridentata* y sus fracciones orgánicas y acuosas.

Disolvente	Fase	Cepas			
		<i>E. coli</i> (EI)	<i>S. typhi</i> (acc)	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. aureus</i>
Hexano	Orgánica	-	-	-	-
	Acuosa	10, -	<b>9, 8</b>	-	<b>10, 10</b>
Acetato de Etilo	Orgánica	<b>12, 11</b>	<b>10, 9</b>	-	9, 8
	Acuosa	-	-	-	-
Dicloro metano	Orgánica	10, -	<b>7, 7</b>	-	<b>8, 7</b>
	Acuosa	-	-	-	-
Extracto acuoso crudo		11, 10	<b>11, 9</b>	<b>11, 10</b>	<b>13, 10</b>

Leyenda: EI, enteroinvasiva; acc, aislado de caso clínico; números en negritas, diámetros de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; números sin negritas, diámetros de las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos; -, cepa resistente.

### 6.3.2 EFECTO QUE EJERCEN SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS LA TEMPERATURA Y EL TIEMPO DE CONSERVACIÓN

El almacenamiento por 14 días de las muestras de *B. crassifolia* del estudio anterior produjo pérdida de la actividad. Tanto **Aqc** como las fases acuosas y orgánicas mostraron un decremento importante de la actividad. *E. coli* (EI) fue sensible a **Aqc** conservado a 4° C y -70° C [ $\varnothing$  = 10 a 9 mm] y a **Aq<sub>hex</sub>** -70° [ $\varnothing$  = 8 mm, 0]. El crecimiento de la cepa *E. coli* ATCC fue inhibido por **Aqc** guardado a -70° [ $\varnothing$  = 10 mm] y por **Aq<sub>hex</sub>** conservado a temperatura ambiente ( $T_{amb}$ ), a 4° C y -70° C [ $\varnothing$ =9 y 8 mm]. La cepa *E. coli* (EA) fue sensible a **Aq<sub>hex</sub>** guardada a  $T_{amb}$  y a 4° C [ $\varnothing$ =9 mm]. La actividad **Aq<sub>AcOEt</sub>**; **Aq<sub>hex</sub>** anteriormente detectada contra *S. typhimurium* se perdió en las muestras conservadas por 14 días. La mayoría de los extractos mantuvieron el efecto contra *S. aureus*, los diámetros de los halos fueron similares.

Tabla 6.14. Diámetros (mm) de los halos y las zonas disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con el extracto acuoso y las fracciones orgánicas y acuosas del extracto preparado con las hojas de *Byrsonima crassifolia*. Los discos impregnados se guardaron durante 14 días a 3 temperaturas diferentes.

Disolvente	Fase	Temp.	Cepas				
			<i>E. coli</i> (EI)	<i>E. coli</i> (ATCC)	<i>E. coli</i> (EA)	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>
Hexano	Acuosa	Ambiente	-	9, 8	9, -	-	-
		4 °C	-	9, -	9, 9	-	<b>13, 12</b>
		-70 °C	8, -	9, -	-	-	-
Acetato de etilo	Orgánica	Ambiente	Resultados negativos	Resultados negativos	Resultados negativos	Resultados negativos	-
		4 °C	Exp. anterior	Exp. anterior	Exp. anterior	Exp. anterior	<b>8, 8</b>
		-70 °C	Exp. anterior	Exp. anterior	Exp. anterior	Exp. anterior	-
	Acuosa	Ambiente	-	-	-	-	<b>12, 11</b>
		4 °C	-	-	-	-	<b>12, 11</b>
		-70 °C	-	-	-	-	11, 9
Butanol	Orgánica	Ambiente	-	Resultados negativos	-	Resultados negativos	<b>10, 9</b>
		4 °C	-	Exp. anterior	-	Exp. anterior	<b>10, 10</b>
		-70 °C	-	Exp. anterior	-	Exp. anterior	<b>9, 9</b>
	Acuosa	Ambiente	-	Resultados negativos	Resultados negativos	Resultados negativos	-
		4 °C	-	Exp. anterior	Exp. anterior	Exp. anterior	-
		-70 °C	-	Exp. anterior	Exp. anterior	Exp. anterior	-
Extracto acuoso crudo	Ambiente	-	-	Resultados negativos	Resultados negativos	<b>13, 11</b>	
	4 °C	10, -	-	Exp. anterior	Exp. anterior	10, 9	
	-70 °C	10, 9	10, 10	Exp. anterior	Exp. anterior	10, 10	

Leyenda: EI, enteroinvasiva; EA, enteroagregante; números en negritas, diámetros en mm los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; números sin negritas, diámetros en mm de las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos; -, cepa resistente.

En el caso de los extractos de *G. seemanii*, las muestras permanecieron durante 15 días a tres temperaturas diferentes y también se demostró pérdida de la actividad biológica. El crecimiento de *E. coli* (EI) fue inhibido por **Aq**<sub>AcOEt</sub> mantenido a  $t_{amb}$  [ $\varnothing = 8$  mm) por **Aq**<sub>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></sub> a  $t_{amb}$  y a 4° C [ $\varnothing = 10, 7$  mm]. La cepa *S. typhi*, fue sensible sólo a **Aqc** guardada a  $t_{amb}$  [ $\varnothing = 12, 11$  mm]. La actividad contra *S. dysenteriae* anteriormente detectada se perdió completamente. El crecimiento de *S. aureus* solamente fue inhibido por **Aqc** refrigerado a 4° C [ $\varnothing = 13$  mm], por **Aq**<sub>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></sub> y **Aq**<sub>BuOH</sub> a 4° [ $\varnothing = 11$  a mm]. La fase orgánica **BuOH** a 4° C y a -70° C (Tabla 6.15).

Tabla 6.15. Diámetros (mm) de las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con el extracto acuoso y las fracciones orgánicas y acuosas del extracto preparado con la parte aérea de *Geranium seemannii*. Los discos impregnados se guardaron durante 15 días a 3 temperaturas diferentes.

Disolvente	Fase	Temp.	Cepas			
			<i>E. coli</i> (EI)	<i>S. typhi</i> (acc)	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. aureus</i>
Acetato de etilo	Orgánica	Ambiente	-	Resultados negativos	Resultados negativos	-
		4 °C	-	negativos	negativos	-
		-70 °C	-	Exp. Anterior	Exp. Anterior	-
	Acuosa	Ambiente	8, 8	-	-	-
		4 °C	-	-	-	-
		-70 °C	-	-	-	-
Dicloro- metano	Orgánica	Ambiente	-	Resultados negativos	Resultados negativos	Resultados negativos
		4 °C	-	negativos	negativos	negativos
		-70 °C	-	Exp. Anterior	Exp. Anterior	Exp. Anterior
	Acuosa	Ambiente	10, 7	-	Resultados negativos	-
		4 °C	10, 7	-	negativos	14, 12
		-70 °C	-	-	Exp. Anterior	-
Butanol	Orgánica	Ambiente	-	Resultados negativos	Resultados negativos	-
		4 °C	-	negativos	negativos	11, 11
		-70 °C	-	Exp. Anterior	Exp. Anterior	-
	Acuosa	Ambiente	-	Resultados negativos	Resultados negativos	-
		4 °C	-	negativos	negativos	12, 12
		-70 °C	-	Exp. Anterior	Exp. Anterior	14, 13
Extracto acuoso crudo	Ambiente	-	12, 11	-	-	
	4 °C	-	-	-	13, 13	
	-70 °C	-	-	-	-	

Leyenda: EI, enteroinvasiva; números sin negritas, diámetros en mm de la zona de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos; -, cepa resistente.

Los discos impregnados con los extractos de *L. tridentata*, una de las especies que en este estudio mostró mayor actividad, se conservaron durante 7 días a las tres temperaturas. La cepa *S. aureus* continuó siendo sensible al extracto crudo y las fases acuosas y orgánicas, las dimensiones de los halos fueron similares a las del experimento anterior. *S. typhi* (acc) fue otra de las cepas que continuó siendo sensible. En el caso de *E. coli* (EI) la actividad antimicrobiana se perdió en la fase de **CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>** guardada a las tres temperaturas, fue sensible al **Aqc** guardado a temperatura ambiente y a 4° C a **Aq<sub>hex</sub>** a  $t_{amb}$  y a la fase **AcOEt** guardada a  $t_{amb}$  (Tabla 6.16).

La evaluación de la actividad de *L. tridentata* se repitió a los 28 días y se encontró actividad antibacteriana únicamente contra la cepa *S. typhi* (acc) con halos de inhibición del crecimiento bacteriano similares a los que se obtuvieron en el experimento anterior. En el caso de la cepa de *S. aureus* la actividad antibacte-

riana se perdió y solo fue sensible a  $A_{qc}$  conservado a  $t_{amb}$  [ $\varnothing = 11, 9$  mm) y a  $A_{qhex}$  a  $4^{\circ} C$  [ $\varnothing = 10$  mm] (Tabla 6.17).

Tabla 6.16. Diámetros (mm) de los halos y las zonas disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con el extracto acuoso y las fracciones orgánicas y acuosas del extracto preparado con las hojas de *Larrea tridentata*. Los discos impregnados con los extractos se guardaron durante 7 días a 3 temperaturas diferentes.

Disolvente	Fase	Temp.	Cepas			
			<i>E. coli</i> (EI)	<i>S. typhi</i> (acc)	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. aureus</i>
Hexano	Acuosa	Ambiente	<b>10, -</b>	<b>9, 9</b>	Resultados	<b>10, 10</b>
		4 °C	9, 10	<b>9, 10</b>	Negativos	<b>9, 9</b>
		-70 °C	-	<b>10, 8</b>	1º experim.	<b>10, 10</b>
Acetato de etilo	Orgánica	Ambiente	<b>10, 9</b>	<b>10, 9</b>	Resultados	<b>10, 10</b>
		4 °C	-	<b>9, 8</b>	Negativos	<b>9, 8</b>
		-70 °C	-	<b>10, 10</b>	1º experim.	<b>11, 9</b>
Dicloro-metano	Orgánica	Ambiente	-	<b>7, 7.</b>	resultados ne-	<b>8, 7</b>
		4 °C	-	<b>7, 7</b>	gativos	<b>9, 8</b>
		-70 °C	-	<b>8, s.d.</b>	1º experim.	<b>9, 8</b>
Extracto acuoso crudo		Ambiente	<b>10, 11</b>	<b>12, 9</b>	15, 12	<b>11, 12</b>
		4 °C	9, 9	<b>10, 10</b>	11, 9	<b>10, 10</b>
		-70 °C	-	<b>10, 10</b>	11, 11	<b>11, 10</b>

Leyenda: EI, enteroinvasiva; acc, aislado de caso clínico; números en negritas, diámetros en mm de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; números sin negritas, diámetros en mm de las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos; -, cepa resistente; sd, sin dato.

Tabla 6.17. Diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con el extracto acuoso y las fracciones orgánicas y acuosa del extracto preparado con las hojas de *Larrea tridentata*. Los discos impregnados se guardaron durante 28 días a 3 temperaturas diferentes.

Disolvente	Fase	Temp.	Cepas			
			<i>E. coli</i> (EI)	<i>S. typhi</i> (acc)	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. aureus</i>
Hexano	Acuosa	Ambiente	-	<b>11, 10</b>	resultados	-
		4 °C	13, 11	<b>12, 11</b>	negativos	<b>10, 10</b>
		-70 °C	r.n.2ºe.	<b>11, 10</b>	1º experim.	-
Acetato de etilo	Orgánica	Ambiente	-	<b>11, 11</b>	resultados	-
		4 °C	r.n.2ºe.	<b>12, 10</b>	negativos	-
		-70 °C	r.n.2ºe.	<b>12, 11</b>	1º experim.	-
Dicloro-metano	Orgánica	Ambiente	Resultados	<b>7, -</b>	resultados	-
		4 °C	Negativos	<b>9, 9</b>	negativos	-
		-70 °C	2º experim.	<b>8, 8</b>	1º experim.	-
Extracto acuoso crudo		Ambiente	16, 11	<b>11, 11</b>	-	-
		4 °C	13, 13	<b>11, 10</b>	-	<b>11, 9</b>
		-70 °C	r.n.2ºe.	<b>12, 11</b>	-	-

Leyenda: EI, enteroinvasiva; acc, aislado de caso clínico; números en negritas, diámetros en mm de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; -, cepa resistente; r.n.2º e., resultados negativos en el 2º experimento.

### 6.3.3 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LAS FASES OBTENIDAS POR PARTICIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO DEL EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO DE *Geranium seemanii*

Los resultados realizados con el propósito de comparar el procedimiento de partición líquido-líquido de un extracto acuoso sin liofilizar con uno liofilizado, se ilustran con la especie *G. seemanii*. El ensayo biológico de extractos liofilizados de *G. seemanii* a las concentraciones 10.x y 5.x en los cuales se procede a la separaciones por partición líquido-líquido con disolventes orgánicos se realizó utilizando las cepas que fueron sensibles en el párrafo 6.2.4.

En esta serie de pruebas de actividad antibacteriana, las cepas *S. dysenteriae* y *S. aureus* fueron las mas sensibles, el crecimiento de *E. coli* (EI) fue inhibido por la concentracion 10x de las fases acuosas de acetato de etilo y diclorometano y las dos fases de butanol; *E. coli* (ET) fue resistente a todas las fases orgánicas y acuosas, en la Tabla 6.18 se presentan los resultados de la actividad antibacteriana de las fases acuosas y orgánicas.

Tabla 6.18. Diámetros (mm) de los halos y las zonas disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con las fases orgánicas y acuosas de los extractos liofilizados preparados con *Geranium seemanii*.

Disolvente	Fase	<i>E. coli</i> (ET)		<i>E. coli</i> (EI)		Bacterias <i>S. typhi</i> (acc)		<i>S. dysenteriae</i>		<i>S. aureus</i>	
		10x	5x	10x	5x	10x	5x	10x	5x	10x	5x
Acetato de etilo	Orgánica	-	-	-	-	-	-	-	sd	<b>10, 9</b>	9, 9
	Acuosa	-	-	<b>10, 9</b>	-	-	-	<b>12, 11</b>	<b>10, 10</b>	<b>15, 15</b>	<b>14, 14</b>
Diclorometano	Orgánica	-	-	-	-	-	-	<b>10, 9</b>	-	-	-
	Acuosa	-	-	<b>9, 7</b>	-	10, 10	9, 9	<b>12, 10</b>	<b>10, 9</b>	<b>14, 13</b>	<b>14, 13</b>
Butanol	Orgánica	-	-	10, 10	-	-	-	-	-	<b>13, 12</b>	<b>11, 11</b>
	Acuosa	-	-	10, 9	-	10, 10	9, -	<b>12, 11</b>	sd	<b>15, 15</b>	<b>14, 13</b>

Leyenda: ET, enterotoxígena; EI, enteroinvasiva; acc, aislado de caso clínico; números en negritas, diámetros en mm de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; números sin negritas, diámetros en mm de las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos; -, cepa resistente; sd, sin dato.

### 6.3.4 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO LIOFILIZADO DE *Geranium seemanii* DISUELTO DIRECTAMENTE EN DISOLVENTES ORGÁNICOS

El extracto liofilizado fue soluble en agua, pero al tratar los extractos

liofilizados de *G. seemanii* con cuatro disolventes orgánicos se formó un residuo insoluble, cada uno de los residuos insolubles se extrajo y disolvió totalmente en agua. Con cada una de las dos fracciones (la que se extrajo con los disolventes orgánicos y los residuos solubles en agua) y el extracto liofilizado rehidratado, se hicieron pruebas de actividad antibacteriana, empleando las cepas *E. coli* (ET y EI), *S. typhi* (ac) y ATCC, *S. dysenteriae* y *S. aureus*. El extracto hidratado con agua fue el único que inhibió a *E. coli* (ET) [ $\varnothing = 7$  mm] y la actividad demostró ser mayor contra el resto de las cepas [ $\varnothing = 13$  a 10 mm]. Los residuos solubles en agua ejercieron efecto antimicrobiano contra todas las cepas, los halos de inhibición del crecimiento bacteriano mas grandes se obtuvieron con el residuo del butanol [ $\varnothing = 15$  a 11 mm], seguidos por el residuo de la acetona [ $\varnothing = 15, 10$  mm], etanol [ $\varnothing = 14$  a 9 mm] y metanol [ $\varnothing = 12$  a 9 mm]. Las fracciones orgánicas fueron inactivas contra todas las cepas. En la tabla 6.19 se presentan los resultados.

Tabla 6.19. Diámetros (mm) de los halos inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos acuosos liofilizados de *Geranium seemanii* disueltos en agua y disolventes orgánicos.

Bacterias	Disolventes								
	Ag	M	Ma	E	Ea	B	Ba	A	Aa
<i>E. coli</i> (ET)	<b>7, 7</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> (EI)	<b>10, 10</b>	-	<b>12, 11</b>	-	<b>10, 9</b>	-	<b>13, 11</b>	-	<b>12, 10</b>
<i>S. typhi</i> (acc)	<b>11, 10</b>	-	<b>12, 12</b>	-	<b>11, 10</b>	-	<b>13, 11</b>	-	<b>10, 10</b>
<i>S. typhi</i> ATTC	<b>12, 12</b>	-	<b>10, 10</b>	-	<b>14, 13</b>	-	<b>15, 12</b>	-	<b>15, 15</b>
<i>S. dysenteriae</i>	<b>13, 13</b>	-	<b>12, 11</b>	No creció					
<i>S. aureus</i>	<b>12, 12</b>	-	<b>12, 9</b>	-	<b>14, 13</b>	-	<b>15, 15</b>	-	<b>15, 14</b>

Leyenda: ET, enterotoxígena; EI, enteroinvasiva; acc, aislado de caso clínico; Ag, extracto liofilizado rehidratado; M, extracto liofilizado disuelto en metanol; Ma, parte insoluble del extracto anterior disuelta en agua; E, extracto liofilizado disuelto en etanol; Ea, parte insoluble del extracto anterior disuelta en agua; B, extracto liofilizado disuelto en butanol; Ba, parte insoluble del extracto anterior disuelta en agua; A, extracto liofilizado disuelto en acetona; Aa, parte insoluble del extracto anterior disuelta en agua; números en negritas, diámetros de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; -, cepa resistente.

## 6.4 ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE *Piqueria trinervia*

En esta fase del estudio se decidió continuar el trabajo experimental con la evaluación de la actividad antibacteriana de la parte aérea y de la raíz de la *P. trinervia* porque esta especie es una de las plantas medicinales usadas en México desde antes de la conquista y actualmente se emplea para curar diversos padecimientos gastrointestinales; en la literatura científica no se encontraron reportes acerca de actividad antimicrobiana.

### 6.4.1 PARTE AÉREA

Las dos fases obtenidas a partir del extracto acuoso macerado sin liofilizar y sometido a partición líquido-líquido con diclorometano, se sometieron a las pruebas microbiológicas, en cada disco se aplicaron 2 mg del extracto. Los resultados permitieron detectar que la actividad antibacteriana contra las bacterias evaluadas: *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *S. gallinarum*, *S. dublin*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermis*, *Yersinia enterocolitica*, *Enterobacter aerogenes* y *E. agglomerans* se concentra en la fase orgánica, mientras que la fase acuosa es inactiva contra todas las cepas mencionadas.

Como se muestra en la tabla 6.20 todas las cepas fueron sensibles al extracto orgánico, las cepas más sensibles fueron *Y. enterocolitica* [ $\varnothing = 22$  mm] y *S. typhi* [ $\varnothing = 20$  mm], seguidas por las cepas *Salmonella gallinarum*, *S. dublin*, *Bacillus subtilis*, *S. aureus* en las cuales los halos midieron de 15 a 13 mm de diámetro; los halos menores midieron de 12 a 9 mm y se obtuvieron con las cepas *S. epidermis*, *E. coli* y *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter aerogenes* y *E. agglomerans*.

Los valores más bajos de las concentraciones mínimas inhibitoria y letal se obtuvieron con la cepa *S. dublin* [3.0 y 5.0 mg/ml respectivamente], seguidos por *S. aureus*, *S. gallinarum* y *S. typhi*, [CMI = 5.0, CML = 7.5].

Tabla 6.20. Diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos y los valores de concentraciones mínimas inhibitorias y letales en mg/ml de la fase orgánica del extracto preparado con la parte aérea de *Piqueria trinervia*.

Cepas	Diámetros mm	CMI mg/ml	CML mg/ml
<i>B. subtilis</i>	<b>14, 12</b>	7.5	8.0
<i>E. coli</i>	<b>10, 10</b>	7.5	7.5
<i>E. aerogenes</i>	<b>9, 9</b>	8.5	10.5
<i>E. agglomerans</i>	<b>8, 8</b>	8.5	10.5
<i>S. aureus</i>	<b>13, 13</b>	5.0	7.5
<i>S. epidermis</i>	<b>12, 10</b>	7.5	10.5
<i>S. gallinarum</i>	<b>15, 14</b>	5.0	7.5
<i>S. typhi</i>	<b>20, 20</b>	5.0	7.5
<i>S. dublin</i>	<b>15, 13</b>	3.0	5.0
<i>Y. enterocolitica</i>	<b>22, 22</b>	7.5	7.5

Leyenda: CMI, concentración mínima inhibitoria; CML, concentración mínima letal; números en negritas, diámetros en mm de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano.

#### 6.4.2 RAÍZ

Con el propósito de conocer en cual parte de la raíz de la planta se concentra la actividad antibacteriana, la raíz de la *P. trinervia*, se separó en gruesa y delgada (diámetro de 5 mm o menos).

Los extractos orgánicos (**Hex**, **CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>**, **AcOEt** y **MeOH**), preparados con la raíz de *P. trinervia* separada en gruesa y delgada, se evaluaron contra las cepas *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *E. coli* multidrogoresistente, *Salmonella typhi*, *Shigella boydii*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermis*, *Yersinia enterocolitica*, *Enterobacter aerogenes*, *E. agglomerans* y *Vibrio cholerae*; las pruebas microbiológicas se hicieron con discos impregnados con 2 o 3 mg del extracto. Las pruebas biológicas mostraron que los extractos obtenidos con la raíz gruesa fueron más activos que los de la raíz delgada.

Todos los extractos orgánicos (**Hex**, **CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>**, **AcOEt** y **MeOH**) preparados con la raíz gruesa, a la concentración de 2 mg/disco fueron activos contra *B. subtilis* [ $\varnothing$  = 9 a 15 mm]. Los extractos de **Hex**, **CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>** y **AcOEt** inhibieron el crecimiento de *S. aureus* [ $\varnothing$  = 10 a 15 mm], *S. epidermis* [ $\varnothing$  = 15 a 11 mm] y *S. boydii*

[Ø = 13 a 11]. El crecimiento de *E. coli* [Ø = 9 mm] y *S. typhi* [Ø = 11 mm] fue inhibido únicamente por el extracto **Hex**. *E. aerogenes* fue sensible al extracto de **AcOEt** [Ø = 8, 7 mm]. El extracto metanólico fue inactivo con el resto de las cepas.

El extracto hexánico a la concentración de 3 mg/disco fue activo contra todas las cepas, los halos de inhibición del crecimiento bacteriano mas grandes se observaron con las cepas *Yersinia enterocolitica* [Ø = 25, 23] y *Vibrio cholerae* [Ø = 35, 30 mm], los halos de las demás cepas midieron de 18 a 10 mm. La actividad antibacteriana del resto de los extractos fue ligeramente mayor a la que se observó con la concentración de 2 mg/disco (Tabla 6.21).

Tabla 6.21. Diámetros (mm) de los halos y las zonas disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos orgánicos preparados con la raíz gruesa de *Piqueria trinervia*.

Cepas	2 mg/disco Extractos						3 mg/disco Extractos				
	H	DM	DMm	AE	AEm	M	H	DM	DMm	AE	AEm
<i>B. subtilis</i>	<b>13, 13</b>	<b>15, 14</b>	14, 14	<b>14, 11</b>	<b>11, 11</b>	10, 9	<b>13, 11</b>	<b>10, 10</b>	<b>8, 8</b>	<b>12, 12</b>	<b>9, 9</b>
<i>E. coli</i>	9, 9	-	-	-	-	-	<b>13, 10</b>	-	-	-	-
<i>E. coli</i> mdr	-	-	-	-	-	-	<b>11, 10</b>	-	-	-	-
<i>E. aerogenes</i>	-	-	-	<b>8, 7</b>	-	-	<b>13, 12</b>	-	-	<b>8, 7</b>	-
<i>E. agglomerans</i>	-	-	-	-	-	-	<b>11, 10</b>	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	<b>15, 12</b>	<b>12, 10</b>	10, 10	12, 10	9, 9	-	<b>18, 17</b>	<b>18, 15</b>	8, 8	<b>11, 11</b>	8, 8
<i>S. epidermis</i>	<b>15, 13</b>	12, 12	10, 9	<b>15, 11</b>	10, 9	-	<b>12, 11</b>	11, 10	<b>7, 7</b>	<b>8, 8</b>	8, 8
<i>S. boydii</i>	<b>12, 11</b>	13, 11	9, 9	11, 11	9, 9	-	<b>18, 16</b>	<b>17, 16</b>	<b>8, 7</b>	<b>12, 11</b>	<b>9, 8</b>
<i>S. typhi</i>	11, 11	-	-	-	-	-	<b>12, 11</b>	-	-	<b>9, 8</b>	<b>13, 11</b>
<i>Y. enterocolitica</i>	np	np	np	np	np	np	<b>25, 23</b>	<b>14, 13</b>	<b>12, 12</b>	<b>20, 14</b>	<b>17, 10</b>
<i>V. cholerae</i>	np	np	np	np	np	np	<b>35, 30</b>	<b>30, 30</b>	<b>20, 20</b>	<b>27, 26</b>	<b>12, 11</b>

Leyenda: H, hexano; DM, diclorometano; DMm, fracción del diclorometano soluble en metanol; AE, acetato de etilo; AEm, fracción del acetato de etilo soluble en metanol; M, metanol; número en negritas, diámetros en mm de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; número sin negritas, diámetros de las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos; -, cepa resistente; np, no se probó.

En comparación con el estudio anterior, la actividad de los extractos de la raíz delgada fue menor, aunque la cepa *B. subtilis* continuó siendo sensible a las concentraciones 2 y 3 mg/disco [Ø = 9 a 14 mm]. A las dos concentraciones del extracto **Hex**, fueron sensibles *E. agglomerans*, *S. aureus*, *S. epidermis* y *S. boydii*. El extracto de **CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>** a la concentración de 2 mg/disco fue inactivo contra 10 de las 11 cepas y a la concentración de 3 mg/disco inhibió el crecimiento de *E. agglomerans*. A la concentración de 2 mg/disco del extracto de **AcOEt** fueron sensibles *S.*

*aureus*, *S. epidermis* y *S. boydii*, a la concentración de 3 mg/disco la actividad contra las tres cepas mencionadas fue mayor y también fueron sensibles *E. coli*, *E. aerogenes* y *S. typhi* (Tabla 6.22).

Tabla 6.22. Diámetros (mm) de los halos y las zonas disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con los extractos orgánicos preparados con la raíz delgada de *Piqueria trinervia*.

Cepas	2 mg/disco Extractos						3 mg/disco Extractos				
	H	DM	DMm	AE	AEm	M	H	DM	AE	AEm	M
<i>B. subtilis</i>	<b>13, 12</b>	<b>9, 8</b>	<b>8, 8</b>	<b>14, 11</b>	r	9, 9	<b>12, 11</b>	<b>10, 9</b>	<b>10, 10</b>	<b>7, 7</b>	<b>9, 9</b>
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>7, 7</b>	<b>7, 7</b>	-
<i>E. coli mdr</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. aerogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>9, 8</b>	8, 8	-
<i>E. agglomerans</i>	<b>8, 7</b>	-	-	-	-	-	9, 9	8, 8	-	-	-
<i>S. aureus</i>	<b>13, 11</b>	-	-	11, 11	-	-	<b>12, 12</b>	-	<b>10, 9</b>	-	-
<i>S. epidermis</i>	<b>12, 11</b>	-	-	12, 10	-	-	<b>11, 10</b>	-	8, 8	-	-
<i>S. boydii</i>	<b>10, 9</b>	-	-	9, 9	9, 7	-	<b>11, 10</b>	-	<b>10, 8</b>	<b>7, 7</b>	-
<i>S. typhi</i>	10, 9	-	-	-	-	-	-	-	<b>9, 8</b>	<b>9, 9</b>	-
<i>Y. enterocoliti-</i>	np	-	-	np	np	Np	np	np	<b>14, 11</b>	<b>14, 12</b>	np
<i>V. cholerae</i>	np	-	-	np	np	Np	np	np	<b>28, 26</b>	<b>9, 9</b>	np

Leyenda: H, hexano; DM, diclorometano; DMm, fracción del diclorometano soluble en metanol; AE, acetato de etilo; AE fsm, fracción del acetato de etilo soluble en metanol; M, metanol; número en negritas, diámetros en mm de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; número sin negritas, diámetros de las zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos; - cepa resistente; np, no se probó.

#### 6.4.3 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LAS FRACCIONES DEL EXTRACTO HEXÁNICO DE LA RAÍZ GRUESA

Tomando en consideración la actividad presentada por el extracto hexánico de la raíz gruesa de *P. trinervia*, se procedió su fraccionamiento en placa fina preparativa y se obtuvieron 9 fracciones (F1-F9). La banda correspondiente al punto de aplicación y las tres fracciones de menor polaridad fueron activas contra *S. aureus* [Ø de 12 a 10 mm], *S. epidermis* [Ø de 10 a 8 mm], *S. boydii* [Ø de 11 a 8 mm]. La cepa *Y. enterocolitica* fue sensible al punto de aplicación [Ø = 15 mm] y a F1 [Ø = 9 mm]. El crecimiento de *B. subtilis* [Ø de 10 a 8 mm] fue inhibido por el punto de aplicación y las nueve fracciones. La cepa *V. cholerae* [Ø de 30 a 12 mm] fue sensible al punto de aplicación y a las 6 fracciones mas polares (Tabla 6.23).

Tabla 6.23. Diámetros (mm) los halos de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con las fracciones del extracto hexánico preparado con la raíz gruesa de *Piqueria trinervia*.

Raíz	Fracciones									
	Pa	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>B. subtilis</i>	<b>10</b>	<b>13</b>	<b>15</b>	<b>11</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>8</b>	<b>9</b>
<i>E. coli</i>	-	9	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> mdr	-	-	9	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. aerogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. agglomerans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	<b>10</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>10</b>	-	8	-	-	-	-
<i>S. epidermis</i>	<b>8</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	-	-	<b>7</b>	-	-	-
<i>S. boydii</i>	<b>11</b>	<b>11</b>	<b>11</b>	<b>8</b>	-	<b>7</b>	<b>8</b>	-	-	-
<i>S. typhi</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Y. enterocolitica</i>	<b>15</b>	<b>9</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>V. cholerae</i>	<b>30</b>	<b>18</b>	<b>12</b>	<b>15</b>	<b>13</b>	<b>13</b>	<b>13</b>	-	-	-

Leyenda: pa, punto de aplicación; números en negritas, diámetros en mm de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; -, cepa resistente. Se preparó un disco por cada fracción.

## 6.5 IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS DE DOS EXTRACTOS DE *Piqueria trinervia* POR ANÁLISIS DE FRAGMENTACIÓN POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS Y COMPARACIÓN CON LA BASE DE DATOS

Los extractos preparados con la parte aérea (fase orgánica, de diclorometano) y la raíz (hexánico) fueron sometidos al análisis por fragmentación por espectrometría de masas y por comparación con la base de datos.

Los componentes fueron identificados estructuralmente por la memoria electrónica del equipo, un estudio de IE<sup>+</sup> y con base en los compuestos que han sido reportados en la literatura de la parte aérea y la raíz de la planta, se proponen 13 compuestos que se presentan en la figura 6.1. Las cifras indican el por ciento del área bajo la curva, lo que da una idea de la proporción en que se encuentran los compuestos en la mezcla.

En la parte aérea, el compuesto mas abundante fue el carquejol II con un porcentaje de 38.94 % y en la raíz fue el 8-metileno-diespiro [2.1.2.4] undecano, VI, representando 46.22 % del extracto.

Los compuestos que se identificaron en la parte aérea y la raíz fueron el

fenocarquejol o (3-metil-2-(1-metiletenil-fenol,) **I**, tóxico para ratones (Cros y Vigie, 1965). El carquejol o (5-metilen-6-(1-metil etenil)-(1S, 6R)-2-ciclohexen-1-ol) **II**, también fue encontrado en *Baccharis genistelloides* (Naves, 1959 y 1960). El etil-hidroquinona o (2-etil-1,4-bencenodiol) **IV**. Debido a que los monoterpenos como el carquejol (**II**) y el piquerol A tienen un arreglo estructural biogenético que es característico de los componentes de esta planta; es decir, la disustitución de los grupos en el anillo de seis miembros ocurre en las posiciones 5,6 vecinales, por lo que asignamos esta disustitución a los compuestos identificados en estos aceites, como ocurrió con el compuesto **V** el o-isopropil-benzaldeido ó (2-(1-metiletil)-benzaldeido), este compuesto es un componente en los aceites esenciales de *Elsholtzia ianthiana* (Chenxu *et al.*, 2004) y *Eupatorium stoechodosmum* (Van Ha *et al.*, 2004).

Cuatro de los compuestos fueron identificados en la raíz, de los cuales el 8-metileno-diespiro-[2.1.2.4]-undecano **VI**, es el mas abundante, este compuesto también fue identificado en los aceites esenciales de *Dendranthema indicum* var. *aromaticum* (Jun *et al.*, 2000) y *Eucalyptus tereticornis* (Chang *et al.*, 1989). La carquejona o (O-mentha-6,8-dien-3-ona) **X**, es uno de los componentes del aceite esencial de *Baccharis genistelloides* (Naves *et al.*, 1959) y es tóxico para los ratones (Cros y Vigie, 1965). Los estereoisómeros del compuesto 1-metil-2-isopropilene-ciclohexano **XI**, tienen actividad biológica diferente el 1-metil-2-(metiletenil)-trans-ciclohexano es un regulador del crecimiento vegetal (Smirnov *et al.*, 1980) y el 1-metil-2-(metiletenil)-(1R,2S) ciclohexano, tiene actividad antibacteriana y antifúngica (Oumzil *et al.*, 2002). El compuesto **XII** (6,7-dimetoxi-2,2-dimetil-2H-1-benzopirano) también es un componente del aceite esencial de *Ageratum conyzoides* (Lima *et al.*, 2005) con propiedades aleloquímicas (Kong *et al.*, 2004) y actividad antimicrobiana (Martins *et al.*, 2005).

Los compuestos identificados en la parte aérea, son el 2,6-dimetil benzaldeido **III**, el cual es uno de los compuestos volátiles de *Capsicum annuum* (Hae-Roung y Young-Swk, 2002). El 2-metil-3-(1-metiletil)-1,4-bencenodiol **VIII**, puede incrementar la resistencia de la avena a la sequía (Flaig *et al.*, 1975) y el ciclohexano, cis-1-2-dietenil 1-4(1-metil-tilideno).

Finalmente a los fenoles se les podría atribuir el efecto antibacteriano que presenta este extracto, porque como es sabido, este tipo de compuestos tienen efectos bactericidas y bacteriostáticos.

Figura 6.1. Probables estructuras de los compuestos identificados.

No.	Compuestos	Extractos	
		P. aérea CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Raíz hexano
I	 M*148 C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O	2.64	5.34
II	 M*150 C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	38.94	16.92
III	 M*134 C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O	2.89	
IV	 M*138 C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O	2.67	1.66
V	 M*148 C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O	8.13	5.34
VI	 M*148 C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O		46.22
VII	 M*148 C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O	< 1	< 1
VIII	 M*166 C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	6.54	
IX	 M*176 C <sub>13</sub> H <sub>20</sub>	28.31	
X	 M*150 C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O		4.31
XI	 M*138 C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O		3.16
XII	 M*220 C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>		3.03
XIII	 M*166 C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	2.68	

## 6.6 PRUEBA DE SENSIBILIDAD A DOS ANTIBIÓTICOS

### 6.6.1. ENTEROBACTERIAS

Respecto a la susceptibilidad de las cepas utilizadas en este trabajo a los antibióticos ampicilina y estreptomocina, a concentraciones: 20, 10, 5 y 2.5 µg/disco, se encontró que a las cuatro concentraciones de ampicilina valoradas fueron resistentes las cepas *E. coli* (EP), *E. coli* (EA), *E. coli* (ATCC) y *P. aeruginosa*. *E. coli* (EI) fue sensible sólo a la concentración de 20 µg/disco [Ø = 15 mm]. El desarrollo de las cepas *E. coli* (ET) fue inhibido por las tres concentraciones mayores y las cepas *S. typhi* (ac), *S. typhimurium* y *S. aureus* fueron inhibidas por las cuatro concentraciones [Ø = 30 a 7 mm].

La estreptomocina fue mas activa contra las cepas, a la concentración de 20 µg/disco, el crecimiento de todas las cepas fue inhibido [Ø = 25 a 14 mm]. A la concentración de 10 µg/disco, la única cepa resistente fue *E. coli* (ET), los halos de las demás cepas midieron de 23 a 12 mm de diámetro. A la concentración de 5 µg/disco, tres cepas *E. coli* (EP, EI y ATCC) y *S. aureus* fueron sensibles [Ø = 23 a 12 mm]. A la concentración de 2.5 µg/disco fueron sensibles las cepas *E. coli* (EP) y *S. aureus* [Ø = 11 a 8 mm] (Tabla 6.24).

Tabla 6.24. Diámetros (mm) de los halos de inhibición y las zonas disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con ampicilina y estreptomocina.

Bacterias	Ampicilina µg/disco				Estreptomocina µg/disco			
	20	10	5	2.5	20	10	5	2.5
<i>E. coli</i> EP	-	-	-	-	<b>25, 20</b>	<b>21, 20</b>	<b>15, 14</b>	<b>11, -</b>
<i>E. coli</i> ET	<b>23, 2</b>	<b>22, 21</b>	<b>22, 21</b>	-	<b>15, 13</b>	-	-	-
<i>E. coli</i> EI	<b>15, 15</b>	-	-	-	<b>14, 11</b>	<b>16, 16</b>	<b>8, -</b>	-
<i>E. coli</i> ATCC	-	-	-	-	<b>20, 16</b>	<b>20, 18</b>	<b>15, 10</b>	-
<i>E. coli</i> EA	-	-	-	-	<b>21, 18</b>	<b>17, 15</b>	-	-
<i>S. typhi</i> (ac)	<b>30, 25</b>	<b>26, 22</b>	<b>22, 21</b>	<b>9, +</b>	<b>15, 12</b>	<b>17, 15</b>	-	-
<i>S. typhimurium</i>	<b>20, 18</b>	<b>17, 12</b>	<b>20, 19</b>	10, 8	<b>20, 17</b>	<b>19, 18</b>	-	-
<i>S. aureus</i>	<b>15, 13</b>	<b>17, 15</b>	<b>13, 10</b>	<b>10, 10</b>	<b>25, 22</b>	<b>23, 20</b>	<b>15, 12</b>	<b>10, 8</b>
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	<b>15, 14</b>	<b>13, 12</b>	-	-

Leyenda: números en negritas, diámetros en mm de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano; números sin negritas, diámetros de la zona de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos; -, cepa resistente; acc, aislado de caso clínico.

### **6.6.2 CEPAS DE *Staphylococcus aureus* DE AISLADOS CLÍNICOS**

La evaluación de la susceptibilidad de los antibióticos, ampicilina y estreptomina, frente a 33 cepas de *S. aureus*, mostró que dos de las cepas fueron resistentes a las cuatro concentraciones de la ampicilina y estreptomina.

A las cuatro concentraciones de ampicilina, una cepa fue resistente a la concentración de 20 µg/disco; todas las cepas restantes fueron sensibles [Ø = 7 a 40 mm]. Con la concentración de 10 µg/disco se obtuvieron halos de [Ø = 8 a 36 mm] y con la concentración de 5 µg/disco los halos midieron [Ø = 10 a 32 mm]. A la concentración de 2.5 µg/disco, el número de cepas sensibles disminuyó a 10 cepas [Ø = 7 a 25 mm].

La estreptomina inhibió el crecimiento de todas las cepas con las concentraciones de 20 y 10 µg/disco [Ø = 32 a 14 mm] y 5 y 2.5 µg/disco [Ø = 28 a 7 mm] (Tabla 6.25).

Tabla 6.25. Diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos impregnados con ampicilina y estreptomycinina en cepas de *S. aureus* aisladas de casos clínicos.

Cepas	Ampicilina µg/disco				Estreptomycinina µg/disco			
	20	10	5	2.5	20	10	5	2.5
C. R.	<b>36, 28</b>	<b>24, 31</b>	<b>28, 28</b>	-	<b>28, 25</b>	<b>26, 25</b>	<b>22, 22</b>	<b>21, 20</b>
11	Crecimiento aislado				Crecimiento aislado			
12	-	-	-	-	-	-	-	-
13	<b>26, 24</b>	<b>22, 20</b>	<b>18, 16</b>	<b>15, -</b>	<b>26, 24</b>	<b>22, 20</b>	<b>20, 18</b>	<b>18, 16</b>
14	<b>40, 38</b>	<b>34, 32</b>	<b>30, 30</b>	<b>20, 18</b>	<b>32, 29</b>	<b>28, 27</b>	<b>26, 24</b>	<b>23, 23</b>
15	<b>28, 27</b>	<b>24, 23</b>	<b>20, 20</b>	-	<b>30, 30</b>	<b>30, 28</b>	<b>26, 25</b>	<b>24, 22</b>
16	<b>34, 34</b>	<b>32, 30</b>	<b>28, 27</b>	-	<b>28, 25</b>	<b>25, 24</b>	<b>24, 23</b>	<b>20, 20</b>
17	<b>20, 18</b>	<b>17, 17</b>	<b>14, 13</b>	-	<b>30, 28</b>	<b>28, 27</b>	<b>25, 25</b>	<b>23, 22</b>
18	<b>26, 25</b>	<b>24, 24</b>	<b>20, 28</b>	<b>16, 15</b>	Crecimiento aislado			
19	<b>20, 20</b>	<b>20, 28</b>	<b>16, 15</b>	<b>10, 9</b>	<b>22, 22</b>	<b>26, 22</b>	<b>22, 20</b>	<b>20, 18</b>
20	<b>18, 14</b>	<b>15, 14</b>	<b>12, 11</b>	-	<b>30, 30</b>	<b>26, 22</b>	<b>26, 25</b>	<b>22, 22</b>
21	<b>21, 20</b>	<b>19, 19</b>	<b>17, 16</b>	<b>7, -</b>	<b>28, 26</b>	<b>26, 24</b>	<b>20, 18</b>	<b>20, 20</b>
22	<b>11, 11</b>	<b>9, 8</b>	-	-	<b>25, 20</b>	<b>28, 18</b>	<b>14, 9</b>	-
23	<b>8, 7</b>	-	-	-	<b>28, 26</b>	<b>25, 25</b>	<b>23, 22</b>	<b>19, 19</b>
24	<b>19, 19</b>	<b>15, 13</b>	<b>12, 10</b>	-	<b>26, 26</b>	<b>27, 25</b>	<b>22, 22</b>	<b>20, 20</b>
25	<b>18, 17</b>	<b>15, 15</b>	<b>15, 15</b>	<b>8,-</b>	<b>17, 14</b>	<b>21, 20</b>	<b>18, 15</b>	<b>15, 15</b>
26	<b>38, 36</b>	<b>36, 34</b>	<b>32, 30</b>	-	<b>27, 27</b>	<b>23, 20</b>	<b>19, 18</b>	<b>19, 18</b>
27	<b>40, 30</b>	<b>35, 34</b>	<b>30, 28</b>	<b>17, 15</b>	<b>25, 25</b>	<b>23, 23</b>	<b>22, 20</b>	<b>17, 17</b>
28	<b>39, 38</b>	<b>36, 30</b>	<b>31, 31</b>	-	<b>26, 25</b>	<b>24, 23</b>	<b>13, 13</b>	<b>12, 12</b>
29	<b>34, 33</b>	<b>36, 35</b>	<b>28, 27</b>	<b>7, -</b>	<b>28, 28</b>	<b>24, 22</b>	<b>24, 20</b>	<b>20, 18</b>
30	<b>35, 34</b>	<b>32, 30</b>	<b>31, 30</b>	<b>15, 13</b>	<b>25, 23</b>	<b>25, 24</b>	<b>20, 17</b>	<b>7, 7</b>
31	-	-	-	-	-	-	-	-
32	<b>21, 20</b>	<b>16, 15</b>	<b>12, 10</b>	-	<b>30, 30</b>	<b>30, 30</b>	<b>30, 30</b>	<b>30, 30</b>
33	Cepa perdida				Cepa perdida			
34	<b>22, 15</b>	<b>16, 15</b>	<b>12, 12</b>	-	<b>25, 25</b>	<b>25, 22</b>	<b>20, 20</b>	<b>12, 11</b>
35	<b>14, 12</b>	<b>13, 11</b>	<b>12, 9</b>	-	<b>30, 29</b>	<b>32, 24</b>	<b>21, 20</b>	<b>16, 14</b>
36	<b>18, 18</b>	<b>16, 15</b>	<b>15, -</b>	-	<b>26, 25</b>	<b>28, 28</b>	<b>21, 19</b>	<b>11, 10</b>
37	<b>31, 15</b>	<b>31, 30</b>	<b>32, 27</b>	<b>25, 25</b>	<b>27, 26</b>	<b>25, 25</b>	<b>15, 15</b>	<b>15, 7</b>
38	-	-	-	-	<b>28, 26</b>	<b>26, 24</b>	<b>23, 22</b>	<b>20, 20</b>
39	<b>20, 16</b>	<b>15, 15</b>	<b>12, 10</b>	-	<b>26, 25</b>	<b>25, 24</b>	<b>20, 20</b>	<b>18, 17</b>
40	<b>20, 18</b>	<b>15, 15</b>	<b>12, 10</b>	-	<b>25, 25</b>	<b>23, 23</b>	<b>22, 22</b>	-
41	<b>18, 17</b>	<b>16, 15</b>	<b>12, 10</b>	-	<b>30, 30</b>	<b>26, 26</b>	<b>28, 25</b>	<b>23, 23</b>
42	<b>20, 17</b>	<b>14, 14</b>	<b>10, -</b>	-	<b>30, 30</b>	<b>27, 26</b>	<b>24, 22</b>	<b>22, 20</b>
43	<b>20, 18</b>	<b>15, 14</b>	<b>12, 10</b>	-	<b>27, 26</b>	<b>24, 22</b>	<b>18, 14</b>	<b>20, 18</b>
44	<b>20, 20</b>	<b>16, 15</b>	<b>12, 12</b>	-	<b>30, 30</b>	<b>30, 30</b>	<b>28, 26</b>	<b>28, 24</b>

Leyenda: números en negritas, halos sin crecimiento bacteriano; -, cepa resistente; acc, aislado de caso clínico. Diámetros en mm de dos discos.

## VII DISCUSIÓN

De la serie de estudios realizados sobre las variantes que, en la preparación de los extractos pueden alterar la actividad biológica como es el caso de la esterilización, liofilización, temperatura a la que se somete el proceso de extracción y el tiempo de conservación de las muestras vegetales, se desprende que en el proceso de esterilización por filtración, los extractos acuosos muestran una tendencia a la disminución de la actividad antibacteriana de las siete muestras vegetales. Un ejemplo de ello es el extracto acuoso sin esterilizar de las hojas de *L. tridentata* que fue activo contra *S. aureus* [ $\varnothing = 10$  mm] e inactivo después del proceso de esterilización. Con el extracto acuoso de la parte aérea de *B. scordioides* sin esterilizar se obtuvieron zonas de disminución del crecimiento bacteriano alrededor de los discos de 17 y 15 mm de diámetro contra la cepa *E. coli* (EI), el mismo extracto filtrado mostró zonas menores de 13 y 10 mm.

Algunos de los extractos mantuvieron la actividad aún después del proceso de esterilización por filtración como ocurrió también con los extractos preparados con la corteza y hojas de *P. guajava*. Sobre esta especie también se han reportado sus propiedades antibacterianas atribuyendo el efecto a componentes como flavonoides, entre ellos quercetina (Abdelrahim *et al.*, 2002).

Otro parámetro que modificó la actividad antibacteriana de los extractos fue la temperatura del agua empleada durante el proceso de extracción. El extracto de las hojas de *G. ulmifolia* preparado con el agua a punto de ebullición fue activo contra *P. aeruginosa* [ $\varnothing = 11, 10$  mm], en tanto que el extracto preparado con agua a temperatura ambiente fue inactivo contra esta misma cepa. De igual forma, el extracto preparado con la raíz de *P. trinervia* empleando el agua a punto de ebullición fue activo contra *P. aeruginosa* [ $\varnothing = 11$  mm] e inactivo a temperatura ambiente. La temperatura del agua es un factor que influye de manera importante en la solubilidad que alcanzan los compuestos activos, y en este sentido, la información sobre la

forma del preparado en los bancos de datos etnobotánicos, es un punto relevante a considerar. En el caso de *P. trinervia*, se reporta para uso medicinal, una decocción de la raíz para tratar la disentería, las infecciones intestinales y el empacho (Lozano, 1996) o se menciona el empleo de “un té con 4 yemas de la planta, hervidas en ½ l de agua para tratar las diarreas (Linares, 1991). Curiosamente, para el uso de esta especie como antifebrífugo y para combatir el dolor e inflamación del estómago, por lo general se reportan infusiones (Standley, 1924; Soto, 1987) o bien, macerados que se aplican localmente (Chino y Jáquez, 1986; Cedillo, 1990), antecedentes éstos que permiten asumir que se trata de principios activos diferentes.

Para comparar los efectos entre extractos sin liofilizar y liofilizados, se evaluó la actividad de los extractos de 6 especies. La actividad con los extractos acuosos sin liofilizar fue baja, sólo cinco de las once cepas utilizadas en la prueba fueron sensibles a los extractos de las plantas. El crecimiento de *E. coli* (EI) fue inhibido por las partes aéreas de *B. scordioides* [ $\varnothing = 16, 13$  mm] y el de *S. dysenteriae* por la hoja de *G. ulmifolia* [ $\varnothing = 11, 9$  mm]. *S. typhi* (acc) fue susceptible al extracto preparado con las hojas de *L. tridentata* [ $\varnothing = 7$  mm] y la cepa *S. aureus* fue inhibida por los extractos de las 6 especies con  $\varnothing =$  de 8 a 14 mm. Los mismos extractos liofilizados y a una concentración equivalente (1x), mostraron que *B. scordioides* y la parte aérea de *G. seemannii* perdieron la actividad contra *E. coli* (EI). Los resultados en esta serie de estudios permiten asumir, que en caso de existir compuestos susceptibles al proceso de liofilización, este puede alterar la estructura química.

Por otra parte, con el proceso de liofilización fue posible comparar la relación dosis-respuesta. Por ejemplo, el extracto sin liofilizar de la corteza de *B. crassifolia* fue inactivo contra *E. coli* (EP, EI, ET, EA Y ATCC), *S. typhimurium* y *S. dysenteriae*. Al hacer las pruebas con el extracto liofilizado y rehidratado para obtener cuatro concentraciones (10x, 5x, 2x y 1x), la concentración 10x fue activa contra las siete cepas y los halos midieron hasta 16 mm. La disminución de la actividad y los diámetros de los halos fue gradual; a la concentración 5x, 6 de las cepas fueron inhibidas y los diámetros de los halos midieron hasta 15 mm; a la concentración 2x cuatro de las cepas resultaron sensibles, el diámetro mayor midió 14 mm; a la con-

centración 1x el crecimiento de ninguna de las siete cepas fue inhibido. Una vez comprobada la actividad biológica de un extracto acuoso, este puede ser sometido al proceso de liofilización y repetir las pruebas microbiológicas, sí la actividad antibacteriana se conserva, es factible proceder a realizar pruebas con diferentes concentraciones.

Las variables relacionadas con el tiempo y la temperatura a la que se conservaron los extractos mostraron una tendencia respecto a que el tiempo de almacenamiento y la temperatura tanto de las muestras acuosas como orgánicas producen pérdida de la actividad antibacteriana. En el caso de *Byrsonima crassifolia* y *G. seemanii* las cepas más sensibles fueron *E. coli* enteroinvasiva y *S. aureus*, después de guardar los discos durante 14 y 15 días respectivamente, la actividad contra *E. coli* disminuyó con ambos extractos; la susceptibilidad de cepa *S. aureus* al extracto de *B. crassifolia* fue similar a la que se observó en la prueba anterior, sin embargo en el caso de *G. seemanii* la disminución de la actividad fue notoria. Los extractos de *L. tridentata* guardados durante 7 días continuaron siendo activos contra las tres cepas; *S. typhi* y *S. aureus* fueron sensibles a los extractos guardados a las tres temperaturas, *E. coli* enteroinvasiva fue sensible a los extractos que permanecieron a 4° C y a temperatura ambiente. Los extractos que se guardaron durante 28 días disminuyeron notablemente su actividad contra *S. aureus* y *E. coli* enteroinvasiva, pero contra *S. typhi* permaneció igual.

Con respecto a la actividad biológica de los extractos acuosos no liofilizados sometidos a un proceso de separación por partición líquido-líquido, cabe destacar que las fases acuosas, en un buen número de los extractos, tuvieron mayor actividad antibacteriana respecto a los extractos orgánicos, lo que permite vincular dicha actividad con la presencia de compuestos polares. Ejemplo de ello es *B. crassifolia*, las cepas *E. coli* (EI y EA) fueron sensibles a las fases acuosas obtenidas por partición con hexano [ $\varnothing = 10$  a 8 mm] y acetato de etilo [ $\varnothing = 8, 7$  mm] y resistentes a las respectivas fases orgánicas. Otro ejemplo es el del extracto obtenido con las partes aéreas de *G. seemanii*, que después de particionarlo con el acetato de etilo, la fase acuosa fue la activa contra *S. dysenteriae* y *S. typhi* [ $\varnothing = 10, 9$  mm].

En el estudio se determinó la sensibilidad de las cepas a los antibióticos estreptomocina y ampicilina. Si bien, a la concentración mas alta de ampicilina utilizada en el estudio (20 µg/disco), cuatro cepas *E. coli* (EP, EA y ATCC) y *P. aeruginosa* mostraron resistencia, pero estas mismas cepas fueron sensibles a algunos de los extractos vegetales. El crecimiento de *E. coli* (EP) fue inhibido por los extractos liofilizados preparados con la corteza de *B. crassifolia* y las hojas de *G. ulmifolia*. La cepa *E. coli* (EA) fue sensible únicamente a la especie *B. crassifolia*, el crecimiento fue inhibido por el extracto de la corteza liofilizado y a las fases acuosas de hexano y acetato de etilo de las hojas. La cepa *E. coli* (ATCC) fue sensible a los extractos liofilizados de la corteza de *B. crassifolia*, las hojas de *G. ulmifolia* y *L. tridentata*. Los extractos liofilizados de las hojas de *L. tridentata*, la raíz de *P. trinervia* y las hojas de *G. ulmifolia* inhibieron el crecimiento de *P. aeruginosa*.

En el caso de la estreptomocina, las 9 cepas fueron sensibles a la concentración de 20 µg/disco del antibiótico; a la concentración de 10 µg/disco, la única cepa resistente fue *E. coli* (ET), sin embargo, el crecimiento de esta cepa fue inhibido por los extractos liofilizados de las partes aéreas de *G. seemannii*, la corteza de *B. crassifolia* y las hojas de *L. tridentata*.

La resistencia a los antibióticos es uno de los problemas severos con el que se enfrenta en la actualidad en la terapia de las enfermedades infecciosas (Wright, 2005). Los resultados en este estudio muestran que las plantas medicinales, constituyen una fuente importante de nuevos compuestos capaces de inhibir el crecimiento de bacterias resistentes a la ampicilina y estreptomocina, dos de los fármacos de primera línea en el tratamiento de los procesos infecciosos.

El análisis de los resultados en la etapa del rastreo destacan a *B. scordioides*, *L. tridentata*, *G. seemannii* y *G. ulmifolia* como plantas muy activas; sin embargo, la atención se dirigió a *P. trinervia*, una especie que trae una información de uso como antidiarreico desde el pasado (Farías, 1886; Ramírez, 1894; Flores, 1909; Paray, 1953), ha sido ampliamente estudiada desde el punto de vista químico (Romero *et al.*, 1970; Bohlman y Suwita, 1978; Jiménez y González de la Parra, 1983; Jiménez *et al.*, 1996a; Argueta *et al.*, 1994), sin embargo, no se ha establecido has-

ta el momento, una correlación entre los constituyentes en el vegetal y las propiedades antibacterianas que pudieran explicar el uso difundido que ha tenido esta planta de la herbolaria medicinal de México en la terapia de la diarrea. Estos antecedentes motivaron la realización de un estudio más a fondo sobre la planta y se procedió a la evaluación microbiológica de las partes aéreas y de la raíz.

Basados en el rastreo preliminar de los extractos para los ensayos de *P. trivialis* se evaluaron las fases acuosa y orgánica de un extracto acuoso sin liofilizar particionado con diclorometano. La actividad se detectó sólo en la fase orgánica y fue activa contra *Y. enterocolitica* [ $\varnothing = 22$  mm] y *S. typhi* [ $\varnothing = 20$  mm].

Con la fase orgánica del extracto anterior, se determinó la concentración mínima letal (3 mg/ml) y la concentración mínima letal (5 mg/ml) contra *S. dublin*. En esta serie de estudios se incluyó también la cepa de *S. gallinarum* causante de la tifoidea aviar, enfermedad que causa graves pérdidas en la avicultura (Shivaprasad, 2000; Chacana y Terzolo, 2003). *S. gallinarum* resultó susceptible [ $\varnothing = 15, 14$  mm] y los valores de las concentraciones mínimas inhibitoria y letal fueron de 5.0 y 7.5 mg/ml.

El extracto hexánico de la raíz gruesa fue el más activo, a la concentración de 3 mg/disco inhibió el crecimiento de todas las cepas bacterianas evaluadas, siendo *S. aureus* la cepa que presentó mayor sensibilidad [ $\varnothing = 18, 17$  mm]. Los extractos de diclorometano y acetato de etilo inhibieron el crecimiento de 3 y 4 cepas respectivamente. El extracto hexánico fue fraccionado en placa preparativa y tuvieron actividad antibacteriana el punto de la aplicación del extracto y en tres bandas mas polares.

Por espectrometría de masas y comparación con la base de datos, se detectaron 8 compuestos en la fase orgánica de las partes aéreas y 8 en el extracto hexánico de las raíces, lo que da un total de 13 compuestos, de los cuales 4 estuvieron presentes en ambos extractos.

El carquejol fue el compuesto más abundante detectado en el extracto de la parte aérea de la planta constituyendo el 38.94 % en proporción menor fue identificado en el extracto hexánico de las raíces, 16.92 %. El carquejol es un monoterpe-

no del que se ha reportado su toxicidad. Los vapores causan irritación de la garganta y lagrimeo, la dosis letal 50 a las 24 horas en ratones y ratas administrado por vía oral es de 1.8 y 1.3 g/kg, y suministrado por vía intraperitoneal la dosis es de 0.46 y 0.41 respectivamente (Caujole y Meymier 1959; Caujolle *et al.*, 1960).

## CONCLUSIONES

Mediante el proceso de liofilización, fue posible realizar pruebas de actividad antibacteriana a diferentes concentraciones de los extractos acuosos y establecer los valores de dosis actividad.

La actividad antibacteriana de los extractos acuosos es afectada por el tiempo y la temperatura de almacenamiento, la influencia de estos factores varía entre las especies vegetales y las cepas.

La temperatura de extracción también influyó en la actividad antibacteriana de los extractos, por lo que, si se busca validar la actividad antibacteriana de una planta medicinal es necesario preparar el extracto en el laboratorio como se describe en la literatura etnobotánica.

Los extractos vegetales pueden ser una fuente de nuevos agentes antimicrobianos para combatir o inhibir el crecimiento de cepas resistentes a los antibióticos empleados actualmente. En este estudio se determinó que las cepas de *E. coli* (enteropatógena, enteroagregativa y ATCC 25922 y *P. aeruginosa* fueron resistentes a la ampicilina, las pruebas se hicieron con concentraciones de 2.5, 5, 10 y 20 µg/disco; el crecimiento de *E. coli* enteroinvasora fue inhibido únicamente por la concentración mayor. Cabe mencionar el extracto liofilizado de la corteza de *B. crassifolia* inhibió el crecimiento de *E. coli* enteropatógena, enteroagregativa y ATCC 25922 y *P. aeruginosa* fue sensible solamente a los extractos preparados con *L. tridentata* y *P. trinervia*; de estas especies existen reportes de resistencia a los antibióticos (Harlod, 1992; Cuberos *et al.*, 1998).

A través de las pruebas microbiológicas de las plantas estudiadas se proporcionan datos acerca de su actividad antibacteriana y se contribuyó al conoci-

miento de la composición química de *Piqueria trinervia*.

La hipótesis planteada fue comprobada y los objetivos del trabajo se cumplieron.

## IX REFERENCIAS

- Abdelrahim S. I., Almagboul A. Z., Omer M. E. Z. and Elegami A., 2002. Antimicrobial activity of *Psidium guajava* L. *Fitoterapia* 73, 713-715.
- Abe F., Nagafuji S., Okawa M., Kinjo J., Akahane H., Ogura T., Martínez-Alfaro M. A. and Reyes-Chilpa R., 2005. Trypanocidal constituents in plants. Evaluation of some Mexican plants for their trypanocidal activity and active constituents in seeds of *Persea americana*. *Biological Pharmaceutical Bulletin* 28, 1314-1317.
- Abe F., Nagafuji S., Yamauchi Okabe H., Maki J., Higo H., Akahane H., Aguilar A., Jiménez-Estrada M. and Reyes-Chilpa R., 2002. Trypanocidal constituents in plants 1. Evaluation of some Mexican plants for their trypanocidal activity and active constituents in Guaco, roots of *Aristolochia taliscana*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 25, 1188-1191.
- Abou-Gazar H., Bedir E., Takamatsu S., Ferreira D. and Khan I. A., 2004. Antioxidant lignans from *Larrea tridentata*. *Phytochemistry* 65, 2499-2505.
- Acevedo L., Martínez E., Castañeda P., Franzblau S., Timmermann B. N., Linares E., Bye R. and Mata R., 2000. New phenylethanoids from *Buddleja cordata* subsp. *cordata*. *Planta Medica* 66, 257-261.
- Adeyemi O. O., Okpo S. O. and Ogunti O. O., 2002. Analgesic and anti-inflammatory effects of the aqueous extract of leaves of *Persea americana* Mill (Lauraceae). *Fitoterapia* 73, 375-380.
- Aguilar Contreras A., Camacho J. R., Chino S., Jáquez P. y López M. E., 1994. Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social: Información etnobotánica. Instituto Mexicano del Seguro Social, México. 253 p.
- Akdemir Z. Ş., Tatlı İ. İ., Saracoğlu İ., İsmailoğlu U B., Şahin-Erdemli İ. and Çaliş, 2001. Polyphenolic compounds from *Geranium pratense* and their free radical scavenging activities. *Phytochemistry* 56, 189-193.
- Alanís A. D., Calzada F., Cervantes J. A., Torres J. and Ceballos G. M., 2005. Antibacterial properties of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology* 100, 153-157.

- Alarcón-Aguilara F. J., Román-Ramos R., Pérez-Gutiérrez S., Aguilar-Contreras A., Contreras-Weber C. C. and Flores-Saenz J. L., 1998. Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetics. *Journal of Ethnopharmacology* 61 101-110.
- Almeida de A. P., Miranda M. M. F. S., Simoni I. C., Wigg M. D. and Lagrota M. H. C. and Costa S. S., 1998. Flavonol monoglycosides isolated from the antiviral fractions of *Persea americana* (Lauraceae) leaf infusion. *Phytotherapy Research* 12, 562-567.
- Altamirano F., 1894. Resumen de los trabajos efectuados en el Instituto Médico Nacional desde 1º de diciembre de 1892 al 30 de noviembre de 1896. *Anales del Instituto Médico Nacional*. Tomo I, 232.
- Alvárez-Larrauri S., 1998. Las prácticas maternas frente a la enfermedad diarreica infantil y la terapia de rehidratación oral. *Salud Pública de México* 40, 256-264.
- Amarquaye A., Che C., Bejar E., Malone M. H. and Fong H. S. S., 1994. A new glycolipid from *Byrsonima crassifolia*. *Planta Medica* 60, 85-86.
- Ankli A., Sticher O. and Heinrich M. 1999. Medical Ethnobotany of the Yucatec Maya: Healers consensus as a Quantitative Criterion. *Economic Botany* 53, 144-160.
- Antia B. S., Okokon J. E. and Okon P. A., 2005. Hypoglycemic activity of aqueous leaf extracts of *Persea americana* Mill. *Indian Journal of Pharmacology* 37, 325-326.
- Argueta V., A. (Coord. Gral.), Cano Asseleih L. M. (Subcoord.) y Rodarte M. E. (Asist. Coord.), 1994. Atlas de la Medicina Tradicional Mexicana, Vols., I, II y III. Instituto Nacional Indigenista, México, D. F.
- Armendáriz, 1894. Continuación del estudio. *Anales del Instituto Médico Nacional*, Tomo I. México, D. F. pp. 123, 124, 128 y 129.
- Arteaga S., Andrade-Cetto A. and Cárdenas R., 2005. *Larrea tridentata* (Creosote bush) an abundant plant of Mexican and US-American deserts and its metabolite nordhydroguaiaretic acid. *Journal of Ethnopharmacology* 98, 231-239.
- Avila J. G., Castañeda C. M. C., Benítez F. J. C., Durán D. A., Barroso U. R., Martínez C. G., Muñoz L. J. L., Martínez C. A. and Romo de Vivar A., 2005. Photoprotective activity of *Buddleja scordioides*. *Fitoterapia* 76, 301-309.
- Avila J. G. and Romo de Vivar A., 2002. Triterpenoid saponins and other glycosides from *Buddleja scordioides*. *Biochemical Systematics and Ecology* 30, 1003-1005.

- Avila J. G., de Liverant J. G., Martínez A., Martínez G., Muñoz J. L., Arciniegas A. and Romo de Vivar A., 1999. Mode of action of *Buddleja cordata* verbascoside against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology* 66, 75-78.
- Avila Curiel A., Shamah-Levy T., Galindo-Gómez C., Rodríguez-Hernández G. y Barragán-Heredia L., 1998. La desnutrición infantil en el medio rural mexicano. *Salud Pública de México* 40, 150-160.
- Baeza-Herrera C., García Cabello L. M., Nájera Garduño H. M., Domínguez Pérez S. T. y Ortíz Zúñiga A. I., 2002. Hidratación oral y complicaciones abdominales por diarrea. *Acta Pediátrica de México* 23, 281-284.
- Barbosa E., Calzada F. and Campos R., 2007. *In vivo* anti-giardial activity of three flavonoids isolated of some medicinal plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of diarrhea. *Journal of Ethnopharmacology* 109, 552-554.
- Bauer A. M., Kirby W. M. M., Sherris J. C. and Turck M., 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *The American Journal of Clinical Pathology* 36, 493-496.
- Begum S., Hassan S. I., Ali S. N. and Siddiqui B. S., 2004. Chemical constituents from the leaves of *Psidium guajava*. *Natural Product Research* 18, 135-140.
- Begum S., Hassan S. I., Siddiqui B. S., Shaheen F., Ghayur M. N. and Gilani A. H., 2002. Triterpenoids from the leaves of *Psidium guajava*. *Phytochemistry* 61, 399-403.
- Béjar E., Amarquaye A., Che Ch., Malone M. H. and Fong H. H. S., 1995. Constituents of *Byrsonima crassifolia* and their spasmogenic activity. *International Journal of Pharmacognosy* 33, 25-32.
- Béjar E. and Malone M. H., 1993. Pharmacological and chemical screening of *Byrsonima crassifolia*, a medicinal tree from Mexico. Part I. *Journal of Ethnopharmacology* 39, 141-158.
- Berger I., Barrientos A. C., Cáceres A., Hernández M., Rastrelli L., Passreiter C. M. and Kubelka W., 1998. Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infections II. Activity of extracts and fractions of five Guatemalan plants against *Trypanosoma cruzi*. *Journal of Ethnopharmacology* 62, 107-115.
- Bergh B. O., Scora R. W. and Storey W. B., 1973. A comparison of leaf terpenes in *Persea* subgenus *Persea*. *Botanical Gazette* 134, 130-134.
- Bohlmann F. and Suwita A., 1978. New terpene derivatives from *Piqueria trinervia*. *Phytochemistry* 17, 560-561.

- Bohlmann F. and Zdero C., 1968. Isolierung von (-)- $\alpha$ -santalal aus *Piqueria trinervia*. Tetrahedron Letters 12, 1533-1535.
- Bohnsted Ch. F. and Mabry T. J., 1979. The volatile constituents of the genus *Larrea* (Zygophyllaceae). Revista Latinoamericana de Química 10, 128-131.
- Bojalil R. and Calva J. J., 1994. Antibiotic misuse in diarrhea. A household survey in a Mexican community. Journal of Clinical Epidemiology 47, 147-156.
- Bye R., Estrada Lugo E. and Linares Mazari E., 1991. Recursos genéticos en las plantas medicinales de México. In: Ortega Paczka R., Palomino Hasbach G, Castillo González F., González Hernández V. A. y Livera Muñoz M. (Eds.). Avances en el Estudio de los Recursos Fitogenéticos de México. Sociedad Mexicana de Fitogenética (SOMEFI), Chapingo, México. pp. 341-359.
- Cáceres A., Cano O., Samayoa B. and Aguilar L., 1990. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. I. Screening of 84 plants against enterobacteria. Journal of Ethnopharmacology 30, 55-73.
- Calzada F., Cerda-García-Rojas C. M., Meckes M., Cedillo-Rivera R., Bye R. and Mata R., 1999. Geranins A and B, new antiprotozoal a type proanthocyanidins from *Geranium niveum*. Journal of Natural Products 62, 705-709.
- Calzada F., Cervantes-Martínez J. A. and Yépez-Mulia L., 2005. In vitro antiprotozoal activity from the roots of *Geranium mexicanum* and its constituents on *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia*. Journal of Ethnopharmacology 98, 191-193.
- Camporese A., Balick M. J., Arvigo R., Esposito R. G., Morsellino N., De Simone F. and Tubaro A., 2003. Screening of anti-bacterial activity of medicinal plants from Belize (Central America). Journal of Ethnopharmacology 87, 103-107.
- Carman R. M. and Duffield A. R., 1995. The isolation of (*R*)-2-Hydroxy-4-oxohexacosan-1-yl acetate from avocado leaves. Tetrahedron Letters 36, 2119-2110.
- Carman R. M. and Handley P. N., 1999. Antifungal diene in leaves of various avocado cultivars. Phytochemistry 50, 1329-1331.
- Carranza-Montaña M. A., Sánchez-Velásquez L. R., Pineda-López M. R. y Cuevas-Guzmán R., 2003. Calidad y potencial forrajero de especies del bosque tropical caducifolio de la sierra de Manantlán, México. Agrociencia 37, 203-210.
- Castro C., Jiménez M. and González de La Parra M., 1992. Inhibitory effect of Piquerol A on the growth of epimastigotes of *Trypanosoma cruzi*. Planta Medica 58, 281-282.

- Caujole F., Meynier D. and Chana P-H., 1960. The toxicity of carquejol. *Annales Pharmaceutiques Francaises* 18, 715-725.
- Caujole F. and Meynier D. 1959. The pharmacological effect of carquejol. *Comptes Rendus* 249, 585-587.
- Cedillo Portugal E., 1990. Las plantas útiles del municipio de Tepozotlán, Morelos. Tesis Maestría en Ciencias, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, 425 p.
- Chacana P. A. y Terzolo H.R., 2003. Revisión sobre Pullorosis y Tifosis aviar. Nuevos enfoques para viejos conceptos. *Revista de Medicina Veterinaria* 84, 14-20.
- Chah K. F., Eze C. A., Emuelosi C. E. and Esimone C. O., 2006. Antibacterial and wound healing properties of methanolic extracts of some Nigerian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 104, 164–167.
- Chang Z., Wu H. and Zhang G Z. 1989. Study of chemical constituents of the essential oil from *Eucalyptus tereticornis*. *Fénixi* 8, 1-8.
- Chawla U. K., Gupta A. S., Passannanti S. and Paternostro M. P., 1981. Constituents of *Buddleia* species leaves. *Fitoterapia* 52, 235-237.
- Chenxu D., Changxiang Ch., Lanju J., Wenhe J., Yuhua M. and Zhunke Ch., 2004. Study of chemical constituent of essential oil from Tibetan medicine *Elsholtzia ianthiana*. *Xibei Zhuwu Xuebao* 24, 1929-1931.
- Chino Vargas S. y Jáquez Ríos M. P., 1986. Contribución al conocimiento de la flora medicinal de Quimixtlán, Puebla. Tesis de Licenciatura en Biología, Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacata, Universidad Nacional Autónoma de México. 344 p.
- Chuihua K., Wenju L., Fei H., Xiaohua X., Peng W., Yong J. and Baoshan X., 2004. Allelochemicals and their transformations in the *Ageratum conyzoides* intercropped citrus orchard soils. *Plant and Soil* 264, 149–157.
- Coria Lorenzo J. J., Villalpando Carrión S., Gómez Barreto D. y Treviño Mateos A., 2001. Aspectos microbiológicos y epidemiológicos para el uso racional de antibióticos en niños con gastroenteritis bacteriana aguda. *Revista Mexicana de Pediatría* 68, 200-215.
- Cortés A. R., Delgadillo A. J., Hurtado M., Domínguez-Ramírez A. M., Medina J. R. and Aoki K., 2006. The antispasmodic activity of *Buddleja scordioides* and *Buddleja perfoliata* on isolated intestinal preparations. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 29, 1186-1190.

- Cragg G. M., Newman D. J. and Snader K. M., 1997. Natural products in drug discovery and development. *Journal of Natural Products* 60, 52-60.
- Craigmill A. L., Seawright A. A., Mattila T. and Frost A. J., 1989. Pathological changes in the mammary gland and biochemical changes in milk of the goat following oral dosing with leaf of the avocado (*Persea americana*). *Australian Veterinary Journal* 66, 206-211.
- Cros J. And Vigie O., 1965. Toxicity and pharmacological aspect of ketones derived from carquejol. I. Dihydrocarquejone and isodihydrocarquejone. *Bulletin des travaux de la Societe de Pharmacia de Lyon* 205-212.
- Cruz Ortega R., Anaya A. L., Gavilanes-Ruiz M., Sánchez Nieto S. and Jiménez Estrada M., 1990. Effect of diacetyl piquerol on H<sup>+</sup>-ATPase activity of microsomes from *Ipomoea purpurea*. *Journal of Chemical Ecology* 16, 2253-2261.
- Cruz-Reyes A., Chavarin C., Campos Arias M. P., Taboada J. y Jiménez E., M., 1989. Actividad molusquicida del piquerol A aislado de *Piqueria trinervia* (Compositae) sobre ocho especies de caracoles pulmonados. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz* 84, 35-40.
- Cuberos Gómez L., Cordero Matia E., García Curiel A. y Pachón Díaz J., 1998. Infecciones por *Pseudomonas* spp. *Medicine* 7, 3629-33.
- de Almeida A. P., Miranda M. M. F. S., Simoni I. C., Wigg M. D., Lagrota M. H. C. and Costa S. S. 1998. Flavonol monoglycosides isolated from the antiviral fractions of *Persea americana* (Lauraceae) leaf infusion. *Phytotherapy Research* 12, 562-567.
- de León González, Terapia de rehidratación oral en diarreas. Pg. electrónica. [www.conapeme.org.mx/emc/diarreasTRO.htm](http://www.conapeme.org.mx/emc/diarreasTRO.htm)
- Díaz, J. L., 1976a. Índice y Sinonimia de las Plantas Medicinales de México, Monografía Científica. Vol. I. Instituto Mexicano para el estudio de las Plantas Medicinales, México, D. F. 358 p.
- Díaz, J. L., 1976b. Usos de la Plantas Medicinales de México, Monografía Científica, Vol. II. Instituto Mexicano para el estudio de las Plantas Medicinales, México, D. F. 311 p.
- Ding N., Yahara S. and Nohara T., 1992. Structure and mimengosides A and B, new triterpenoid glycosides from *Buddlejae* flos produced in China. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 40, 780-782.
- Duff R. B., Bacon J. S. D., Mundie C. M., Farmer V. C., Russell J. D., and Forrester A. R., 1965. Catalpol and methylcatalpol: Naturally occurring glycosides in *Plantago* and *Buddleia* species. *Biochemical Journal* 96, 1-5.

- Duke J. A., 2001. Handbook of phytochemical constituents of grass herbs and other economic plants. Boca Raton, USA. 654 p.
- España S. M., Velez de Marsicovetere P. and Ceceres A., 1994. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 5. Vibriocidal activity of five american plants used to treat diarrhea. *Fitoterapia* 65, 273-274.
- Esquivel Romero E. A., 1989. Contribución al conocimiento de la flora medicinal del poblado de la Santa Catarina del Monte, Municipio de Texcoco, Estado de México. Tesis de Licenciatura en Biología, Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. 132 p.
- Estrada Lugo E. I. J., 1984. Las plantas medicinales y los sistemas tradicionales de curación del municipio de Dr. Mora, Guanajuato. Tesis de Licenciatura en Biología, Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, 89 p.
- Farías H., 1886. Ligerio estudio sobre la Yerba del Tabardillo. Escuela Nacional de Medicina y Farmacia, Facultad de Medicina de México. Tesis licenciatura 26 pp.
- Felipe M. A., Rincão V. P., Benati F. J., Linhares R. E., Galina K. J., de Toledo C. E., López G. C., de Mello J. C. and Nozawa C., 2006. Antiviral Effect of *Guazuma ulmifolia* and *Stryphnodendron adstringens* on poliovirus and bovine Herpesvirus. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 29, 1092-1095.
- Flaig W., 1975. Model studies on the efecto of organic components of the soil on drought resístanse of plants. *Agrochimica* 19, 160-163.
- Flores y Troncoso F. A. 1982. Historia de la medicina en México desde la época de los indios hasta la presente. Ed. Facsimilar 4 vol. Insitituto Mexicano del Seguro Social. México.
- Frei B., Baltisberger M., Sticher O. and Heinrich M. 1998. Medical ethnobotany of the Zapotecs of the Isthmus Sierra (Oaxaca, Mexico): Documentation and assessment of indigenous uses. *Journal of Ethnopharmacology* 62, 149-165.
- Galina K. J., Sakuragui C. M., Borguezam Rocha J. C., Lorenzetti E. R. e Palazzo de Mello J. C. 2005. Contribuição ao Estudo Farmacognóstico da mutamba (*Guazuma ulmifolia* - Sterculiaceae). *Acta Farmacéutica Bonaerense* 24, 225-233.
- Gálvez J., Duarte J., Sánchez de Medina F., Jiménez J., Zarzuelo A., 1996. Inhibitory effects of quercetin on guinea-pig ileum contractions. *Phytotherapy Research* 10, 66-69.

- Garay Gómez del Villar E. S., 1997. Estudio etnobotánico de plantas medicinales del mercado Sonora, México. Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, 199 p.
- García Barriga H., 1992. Flora Medicinal de Colombia, Botánica Médica, Tomo segundo. Tercer Mundo Editores, Colombia, 537 p.
- García Barriga H., 1974. Flora Medicinal de Colombia, Botánica Médica, Tomo primero. Tercer Mundo Editores, Colombia, pp. 353-361.
- Garg S. C. and Dengre S. L., 1992. Composition of the essential oil from the leaves of *Buddleia asiatica* Lour. Flavour and Fragrance Journal 7, 125-127.
- Geiss F., Heinrich M., Hunkler D. and Rimpler H., 1995. Proanthocyanidins with (+)-epicatechin units from *Byrsonima crassifolia* bark. Phytochemistry 39, 635-643.
- Georgopapadakoü N. H., 2002. Antibiotic resistance in enterobacteria. In Lewis K., Salyers A. A., Taber H. W. and Wax R. G. (Eds.) Bacterial resistance to antimicrobials. Marcel Dekker Inc. New York pp. 405- 406.
- Gómez Salazar L. C. y Chong de la Cruz I., 1985. Conocimiento y usos medicinales de la flora de Amatlán, Municipio de Tepozotlán, Morelos. Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, 185 p.
- Gonçalves J. L. S., Lopez R. C., Oliveira D. B., Costa S. S., Miranda M.M.F.S. Romanos M.T.V., Santos N.S.O. and Wigg M. D., 2005. In vitro anti-rotavirus activity of some medicinal plants used in Brazil against diarrhea. Journal of Ethnopharmacology 99, 403-407.
- Gonzalez de la Parra M., Chávez-Peña D., Jiménez-Estrada M. and Ramos-Mundo C., 1991. Acaricidal potential of Piquerols A and B against *Boophilus microplus*. Pesticide Science 33, 73-80.
- González de la Parra M., Anaya A. L., Espinosa F., Jiménez M., Castillo R. 1981. Allelopathic potential of *Piqueria trinervia* (Compositae) and piquerols A and B. Journal of Chemical Ecology 7, 509-515.
- González Rodrigo J., 1981. Ecología humana y etnobotánica de un pueblo campesino de la Sierra Nevada, Mex.: Santa Catarina del Monte. Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, 259 p.
- Groombridge B. (Ed.), 1992. Global biodiversity . Status of the earth's living resources. A report compiled by the World Conservation Monitoring Centre. Chapman and Hall. pp 585.

- Guerra-Godínez J. C., Larrosa-Haro A., Coello-Ramírez P., Rodríguez Alvarez Tostado H., Rivera-Chávez E., Castillo de León Y. A., Bojórquez Ramos M. C. and Aguilar-Benavides S., 2003. Changing trends in prevalence, morbidity and lethality in persistent diarrhea of infancy during the last decade in Mexico. *Archives of Medical Research* 34, 209-213.
- Guo H., Koike K., Li W., Satou T., Guo D. and Nikaido T., 2004. Saponins from the flower buds of *Buddleja officinalis*. *Journal of Natural Products* 67, 10-13.
- Gutierrez-Camacho C., Mota-Hernández F., Cabrera-Martinez R. G. y Orozco-Peralta F. J., 1997. Antimicrobianos en diarrea aguda. *Boletín Médico del Hospital Infantil* 54, 409-505.
- Hae-Roung J. and Young-Swk Y., 2002. Comparison of volatile compounds in red pepper (*Capsicum annuum* L.) powders from different origins. *Food Science and Biotechnology* 11, 293-302.
- Harbone J. B. and Williams Ch., 1971. 6-hydroxyluteolin and scutellarein as phyletic markers in higher plants. *Phytochemistry* 10, 367-378.
- Harold C. N., 1992. The crisis in antibiotic resistance. *Science* 257, 1064-73.
- Heinrich M., Rimpler H. and Barrera A., 1992. Indigenous phytotherapy of gastrointestinal disorders in a lowland Mixe community (Oaxaca, Mexico): Ethnopharmacologic evaluation. *Journal of Ethnopharmacology* 36, 63-80.
- Hernández F., 1959. *Historia Natural de Nueva España Vols 1 y 2. Obras Completas, Tomo II y III.* México D. F., Universidad Nacional Autónoma de México.
- Henández Muñoz S., 2005. *Flora útil de la comunidad indígena Nuevo San Juan Parangaricutira Michoacan.* Tesis licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 80 pp.
- Herrera Contreras M., 1990. I. 1 Epidemiología de las diarreas. *In* Prevención y control de las diarreas. Memorias del Seminario Internacional de Enfermedades Diarreicas e Hidratación Oral. SSA, OPS, UNICEF.
- Hörr M., Rimpler H. and Heinrich M., 1995. Inhibition of intestinal chloride secretion by proanthocyanidins from *Guazuma ulmifolia*. *Planta Medica* 61, 208-211.
- Hörr M., Heinrich M. and Rimpler H., 1996. Proanthocyanidin polymers with antisecretory activity and proanthocyanidin oligomers from *Guazuma ulmifolia* bark. *Phytochemistry* 42, 109-119
- Houghton P. J., Woldemariam T. Z., Candau M., Barnardo A., Khen-Alafun O. and Shangxiao L., 1996. Buddlejone, a diterpene from *Buddleja albiflora*. *Phytochemistry* 42, 485-488.

- Houghton P. J. and Hikino H., 1989. Anti-hepatotoxic activity of extracts constituents of *Buddleja* species. *Planta Medica* 55, 123-126.
- Houghton P. J., 1985a. Phenylpropanoid glycosides in *Buddleia davidii*. *Journal of Natural Products* 48, 1005-1006.
- Houghton P. J., 1985b. Lignans and neolignan from *Buddleja davidii*. *Phytochemistry* 24, 819-826.
- Houghton P. J., 1985c. Phenylpropanoi glycosides in *Buddleja davidii*. *Journal of Natural Products* 48, 1005-1006.
- Houghton P. J., 1984. Ethnopharmacology of some *Buddleia* sp. *Journal of Ethnopharmacology* 11, 293-308.
- Hyder P. W., Fredrickson E. L., Estell R. E., Tellez M. and Gibbens R.P., 2002. Distribution and concentration of total phenolics condensed tannins and, nordihydroguaiaretic acid (NDGA) in creosotebursh (*Larrea tridentata*). *Biochemical Systematics and Ecology* 30, 905-912.
- Ivancheva S. and Petrova A., 2000. A chemosystematic study of eleven *Geranium* species. *Biochemical Systematics and Ecology* 28, 255-260.
- Jaiarj J., Pranee K., Wongkrajang Y., Peungvicha P., Suriyawong P., Sumal Saraya M. L. and Ruangsomboon O., 1999. Anticough and antimicrobial activities of *Psidium guajava* Linn. leaf extract. *Journal of Ethnopharmacology* 67, 203-212.
- Jianghai L., Guangzhong T., Yuying Z., Yang L., Ying Liu L. and Yunshan W., 2004. Structural determination of novel terpenes from *Buddleia lindleyana*. *Magnetic Resonance in Chemistry* 42, 893-897.
- Jiménez E. M., Díaz E., Van Clasteren M. R. and Jankowski K. 1998. Revised structure of trinervinol (*Piqueria trinervia* Cav.). *Natural Products Letters* 12, 181-190.
- Jiménez M., González de la Parra M., Melendez E., Campos M. P. and Soriano-García M., 1996a. Trinervinol. *Acta Crystallographica Section C* 52, 1458-1460.
- Jiménez-Estrada M., Navarro A., Flores M. V., Reyes Chilpa. R., Hernández B., Anaya A. L. and Lotina-Hennsen B., 1996b. Transformation of terpene Piquerol A to hydroquinone and phenolic derivatives. Effect of these compounds on weeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44, 2839-2841.

- Jiménez Estrada, M. and Rodríguez C., 1990. Toxic effect of Piquerol A (terpene) and its derivative on larvae of *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti* and *Spodoptera frugiperda*. Memories of XXV the Congress of Entomología and II National Symposium on Vegetal and Mineral Substances in Combate de Plagas. Oaxaca, Mexico.
- Jiménez E., M. y González de la Parra M., 1983. Nuevo alcohol diterpénico aislado de *Piqueria trinervia* Cav. Revista Latinoamericana de Química 14, 20-23.
- Jun H., Ping Y. and Guolian W., 2000. Chemical constituents of the oil from dry flowers of *Dendranthema*. Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa 12, 71-73.
- Khadem H. E. and Mohammed Y. S., 1958. Constituents of the leaves of *Psidium guajava* L. Part II. Quercetin, avicularin and guajaverin. Journal of the Chemical Society, 3320-3323.
- King R. M. and Robinson H., 1987. The genera of the Eupatorieae (Asteraceae) Monographs in systematic botany from the Missouri Botanical Garden Vol. 22 USA pp. 1-170.
- Koneman E. W., Allen S. D., Jande W. M., Scheckenberger P. C. and Winn W. C., 2003. Diagnóstico Microbiológico, Texto y Atlas a color. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina pp. 797-804.
- Kong Ch., Liang W., Hu F., Xu X., Wang P., Jiang Y., Xing B., 2002. Allelopathic potential and chemical constituents of volatiles from *Ageratum conyzoides* under stress. Journal of Chemical Ecology 28, 1173-1182.
- Konno Ch., Lu Z.-Z., Xue H.-Z., Erdelmeier C. A. J., MeksuriyenD., Che Ch.-T., Cordell G., Soejarto D. D., Waller D. P. and Fong H. H. S., 1990. Furanoid lignans from *Larrea tridentata*. Journal of Natural Products 53, 396-406.
- Lambert J. D., Sang S., Dougherty A., Caldwell C.G., Meyers R. O., Dorr R. T. and Timmermann B. N., 2005. Cytotoxic lignans from *Larrea tridentata*. Phytochemistry 66, 811-815.
- Larracilla A. J., 2002. México pionero de la hidratación oral voluntaria. Revista Médica IMSS 40, 461-464.
- Larrosa-Haro A., Ruiz-Pérez M., Aguilar-Benavides S., 2002. Utilidad del estudio de las heces para el diagnóstico y manejo de lactantes y prescolares con diarrea aguda. Salvo Pública de México 44, 328-334.
- Lee YJ., Kim KS., Kwon YK. and Tak RB., 2003. Biochemical characteristics and antimicrobials susceptibility of *Salmonella gallinarum* isolated in Korea. Journal of Veterinary Science 4, 161-166.

- Levine M. M. and Edelman R., 1984. Enteropathogenic *Escherichia coli* of classic serotypes associated with infant diarrhea. *Epidemiologic Reviews* 6, 31-51.
- Leonti M., Sticher O. and Heinrich M., 2003. Antiquity of medicinal plants usage in two macro-Mayan ethnic groups (Mexico). *Journal of Ethnopharmacology* 88, 119-124.
- Liao Y.-H., Houghton P. J. and Hoult J. R. S., 1999. Novel and known constituents from *Buddleja* species and their activity against leukocyte eicosanoid generation. *Journal of Natural Products* 62, 1241-1245.
- Liang Q., Quian H and Yao W., 2005. Identification of flavonoids and their glycosides by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization mass spectrometry and with diode array ultraviolet detection. *European Journal of Mass Spectrometry* (Chichester, England) 11, 93-101.
- Lima M. A. S., Barros M. C. P., Pinheiro S. M., Ferreira do Nascimento R., Matos F. J. A., Silveira E. R., 2005. Volatile compositions of two Asteraceae from northeast of Brazil: *Ageratum conyzoides* and *Acritopappus confertus* (Eupatorieae). *Flavour and Fragrance Journal* 20, 559-561.
- Linares Altamirano M. M. E., 1991. Flora útil de dos localidades del municipio de Tecali de Herrera, Puebla". Tesis de licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 187 p.
- Livermore D. M., 2004. The need for new antibiotics. *Clinical Microbiology and Infection* 10, 1-9.
- López J., Sierra J., Vegazono M. E. and Cortéz M., 1979. Chemical constituents of *Buddleja globosa* Lam. *Fitoterapia* 50, 195-198.
- López-Merlin D., Soto-Pinto L., Jiménez-Ferrer G. and Hernández-Daumas S., 2003. Allometric relations for forage and fuel wood prediction in *Acacia pennatula* and *Guazuma ulmifolia* from two localities in Norte Chiapas, Mexico. *Interiencia* 28, 334-339.
- López J., Tejada I., Vásquez C., Garza J. D. and Shimada A., 2004. Condensed tannins in tropical fodder crops and their *in vitro* biological activity Part I. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84, 291-294.
- Lozano Mascarua G. I., 1996. Plantas medicinales utilizadas por los mazahuas del municipio de San Felipe de Progreso, Estado de México. Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 271 p.
- Lozoya X., 1994. Two decades of Mexican Ethnobotany and research in plant drug. In: D., Chadwick, J. Marsh. (eds.). *Ethnobotany and the search for new drugs*. CIBA Foundation Symposium 185. Fortaleza, Brasil.

- Lozoya, X., 1990. An Overview of the System of Traditional Medicine Currently Practised in Mexico. In: Economic and Medicinal Plant Research, Vol. 4, Plants and Traditional Medicine., Ed. by H. Wagner and N. R. Fransworth. Academic Press, pp. 71-93.
- Lozoya X., Reyes-Morales H., Chávez-Soto M. A., Martínez-García M. C., Soto-González Y. and Doubova V. S., 2002. Intestinal anti-spasmodic effect of a phytodrug of *Psidium guajava folia* in the treatment of acute diarrheic disease. *Journal of Ethnopharmacology* 83, 19- 24.
- Lozoya X., Aguilar A., y Camacho J. R. 1987. Encuesta sobre el uso actual de plantas en la Medicina Tradicional Mexicana. *Revista Médica IMSS* 25, 283-291.
- Lozoya, X. y Lozoya M., 1982. Flora Medicinal de México. Primera parte: Plantas Indígenas. Instituto Mexicano del Seguro Social, México. pp. 17-29.
- Mabry T. J. and Bohnstedt Ch., 1981. Larrea: A chemical resource. In Campos López E., Mabry J. J. y Fernández Tavisón S. (Eds.). *Larrea*. CONACYT, México pp 32.
- Maldonado Almanza B. J., 1997. Aprovechamiento de los recursos florísticos de la Sierra de Huautla Morelos, México. Tesis Maestría en Ciencias (Biología), Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 149 p.
- Mansor A., Maktoob A. and Gray M., 1992. Biridoside, a new iridoid from *Buddleja davidii*. *Spectroscopic Letters* 25, 363-374.
- Marín G., Jiménez B., Cortés M., Pardo F., Núñez J. and Naranjo J., 1979. Estudio Fitoquímico de *Buddleja globosa* Lam. (Buddlejaceae). *Revista Latinoamericana de Química* 10, 19-21.
- Martínez M., 1979. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas, 1ª Ed. Fondo de Cultura Económica, México. 1220 p.
- Martínez M., 1959. Las Plantas Medicinales de México. Ediciones Botas, 4ª Edición, México. 657 p.
- Martínez-Vázquez M., González-Esquinca A. R., Cazares Luna L., Moreno Gutiérrez M. N. and García-Argáez A. N., 1999. Antimicrobial activity of *Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K. *Journal of Ethnopharmacology* 66, 79-82.
- Martínez-Vazquez M., Ramírez-Apan T. O., Lastra A. L. and Bye R., 1998. A comparative study of the analgesic and anti-inflammatory activities of pectolinarin isolated from *Cirsium subcoriaceum* and linarin isolated from *Buddleia cordata*. *Planta Medica* 64, 134-137.

- Martinez-Vazquez M., Ramirez Apan T. O., Aguilar H. and Bye R., 1996. Analgesic and antipyretic activities of an aqueous extract and of the flavone linarin of *Buddleia cordata*. *Planta Medica* 62, 137-140.
- Martins A. P., Lígia R. S., Gonçalves M. J.; Roser V., Cañigueral S., Tomi F and Casanova J., 2005. Essential Oil Composition and Antimicrobial Activity of *Ageratum conyzoides* from S. Tomé and Príncipe. *Journal of Essential Oil Research* 17, 239-242.
- Mason Ch. T. and Mason P. B., 1987. A handbook of mexican roadside flora. University of Arizona, Tucson. 380 p.
- Mathewson J. J., Johnson P. C., DuPunt H. L., Morgan D. R., Thornton S. A., Wood L. V. and Ericsson C. D., 1985. A newly recognized cause of traveler's diarrhea: Enteroadherent *Escherichia coli*. *The Journal of Infectious Diseases* 151, 471-475.
- McVaugh, R. 1983. Flora Novo-Galicia, A descriptive account of the vascular plants of western Mexico. Volume 12 Compositae. The University of Michigan Press. pp. 742-747.
- Mensah A. Y., Houghton P. J., Bloomfield S., Vlietinck A. and Berghe D. V., 2000. Known and novel terpenes from *Buddleja globosa* displaying selective antifungal activity against dermatophytes. *Journal of Natural Products* 63, 1210-1213.
- Miranda F., 1952. La vegetación de Chiapas, partes 1 y 2. Ediciones del Gobierno del Estado, Tuxtla Gutierrez, Chis. México. 426 p.
- Miyase T., Akahori Ch., Kohsaka H. and Ueno A., 1991. Acylated iridoid glycosides from *Buddleja japonica* Hemsl. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 39, 2944-2951.
- Mizrachi A., Ramirez-Aviles L., Castillo-Caamal J. and Pool O., 1998. Sheep food assessing the nutrient content of fodder trees in Yucatán, México. *Agroforestry Today* 10, 11-13.
- Mota-Hernández F., 2006. Intoxicación por alimentos. *In Foro Inter-académico en Problemas de Salud Global*. Becerra Posada F., (Ed.) pp. 105-114.
- Mota-Hernández F., 2002. Diarrea aguda e infecciones respiratorias: caras nuevas de viejos conocidos. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM* 45, 103-109.
- Mota-Hernández F., 1990. Prevención y control de las diarreas. *Memorias del Seminario Internacional de Esfermedades Diarreicas e Hidratación Oral*. SSA, OPS, UNICEF.

- Navarro V., Villarreal M. L., Rojas G. and Lozoya X., 1996. Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases, *Journal of Ethnopharmacology* 53, 143-147.
- Naves Y. R., 1960. New types of natural terpenes. *France et ses Parfums* E, 30-43.
- Naves Y. R., Givudan L., Vernier-Geneva S., 1959. Volatile plant substances. CLIX. On the essential oil carqueja from Santa Catarina (Brazil). *Bulletin de la Societe Chimique de France*, 1871-1879.
- Ojewole J. A., 2006. Antiinflammatory and analgesic effects of *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae) leaf aqueous extract in rats and mice. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology* 28, 441-446.
- Okuda T., Yoshida T., Hatano T., Ikeda Y., Shingu T. and Inoue T., 1986. Constituents of *Geranium thunbergii* Sieb. et Zucc. XIII. Isolation of water-soluble tannins by centrifugal partition chromatography and biomimetic synthesis of elaeocarpusin. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 34, 4075-4082.
- Okuda T., Mori K. and Hatano T., 1980. The distribution of geranin and mallotusinic acid in the order Geraniales. *Phytochemistry* 16, 547-551.
- Oldřich L., Klejdus B., Kokoška L., Davidová M., Afandi K., Kubáň V. and Hampl R., 2005. Identification of isoflavones in *Acca sellowiana* and two *Psidium* species (Myrtaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 33, 983-992.
- Oelrichs P. B., Ng J. C., Seawright A. A., Ward A., Schaffeler L. and MacLeod J. K., 1995. Isolation and identification of a compound from avocado (*Persea americana*) leaves which causes necrosis of the acinar epithelium of the lactating mammary gland and the myocardium. *Natural Toxins* 3, 344-349.
- Organización Mundial de la Salud, 2002. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, pp. 1-3.
- Organización Mundial de la Salud, 1994. Manejo y prevención de la diarrea. Pautas prácticas. Tercera Ed., Ginebra Suiza, 50 p.
- Ortega M. E., Carrasco M. E. Mendoza G. and Castro G., 1998. Chemical composition of *Guazuma ulmifolia* Lam and its potential for ruminant feeding. *Cuban Journal of Agricultural Science* 32, 383-386.
- Oumzil H., Ghoulemi S., Rhajaoui M., Ildrissi A., Fkih-Tetouani S., Benjouad A., 2002. Antibacterial and antifungal activity of essential oil of *Kmentha suevicens*. *Phytotherapy Research* 16, 727-731.
- Owolabi M. A., Smith I. J. and Coker H. A. B., 2005. Vasorelaxant action of aqueous extract of the leaves of *Persea americana* on isolated thoracic rat aorta. *Fitoterapia* 76, 567-573.

- Paray L. 1953. Las Compuestas del Valle de México. Boletín de la Sociedad Botánica de México 15, 1-12.
- Pennington T. D y J. Sarukhán, 1998. Árboles Tropicales de México, Manual para la identificación de las principales especies. Universidad Nacional Antónoma de México, Fondo de Cultura Económica, Mexico. 521 p.
- Pérez Gutierrez R. M., Vargas Solis R., Garcia Baez E., Mertinez Martínez F., 2006. Effect on capillary permeability in rabbits of iridoids from *Buddleia scordioides*. Phytotherapy Research 20, 542-545.
- Pollard A. J. and Dobson S. R., 2000. Emerging infectious diseases in the 21st century. Current Opinión in Infectious Diseases 13, 265-275.
- Ponce-Macotela M., Navarro-Alegria I., Martinez-Gordillo N. and Alvarez-Chacón R., 1994. *In vitro* effect against *Giardia* of 14 plant extracts. Revista de Investigación Clínica 46, 343-347.
- Primm S. L., Russell G. J., Gittleman J. L. and Brooks T. M., 1995. The Future of Biodiversity. Science 269, 347-350.
- Quiroga E. N., Sampietro A. R. and Vattuone M. A., 2004. In vitro fungitoxic activity of *Larrea divaricata* Cav. Extracts. Letters in Applied Microbiology 39, 7-12.
- Ramírez J., 1894. Datos para la Materia Médica Mexicana. Primera parte. Secretaría de Fomento, Instituto Médico Nacional. pp 259-267.
- Rastrelli L., De Tommasi N., Berger I., Caceres A., Saravia A. and De Simone F., 1997. Glycolipids from *Byrsonima crassifolia*. Phytochemistry 45, 647-650.
- Reyes H., Tomé P., Gutiérrez G., Rodríguez L., Orozco M. y Guiscafré H. 1998. La mortalidad por enfermedad diarreica en México: ¿Problema de acceso o de calidad de atención?. Salud Pública de México 40, 316-323.
- Rezende C. M. and Fraga S. R. G., 2003. Chemical and aroma determination of the pulpa and seeds of Murici (*Byrsonima crassifolia* L.). Journal of the Brazilian Chemical Society 14, 425-428.
- Robinson B. L., 1906. Studies in the Eupatorieae. Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University, New series, No XXXII. Proceeding of the American Academy 42, 4-16.
- Romo J., Romo de Vivar A., Quijano L., Ríos T. y Díaz E. 1970. Los componentes terpenoides de la *Piqueria trinerva* Cav. Revista Latinoamericana de Química 1, 72-81.
- Ross I. A., 1999. Medicinal Plants of The World Chemical Constituents, Traditional and Modern Medicinal Uses. Human Press, USA. 263-272 p.

- Rubio M., Bunge A. V. y Jiménez E. M., 1985. Estructura electrónica de piquerol A y piquerol B. *Revista Latinoamericana de Química* 16, 69-72.
- Ruiz L. E., 1905, Clasificación y reseña histórica de algunas plantas que el vulgo usa en la República para curar las intermitentes. *Anales del Instituto Médico Nacional Tomo VII*, 114-134.
- Rzedowski J., 1993. Diversity and origins of the phanerogamic flora of Mexico. *In* Ramamorthy T. P., Bye R., Lot A. and Fa J., (Eds.) *Biological Diversity of Mexico: Origins and Distribution*, New York, pp.129-144.
- Rzedowski J. y Rzedowski C. de G., 1995. Flora del Bajío y de Regiones adyacentes, fascículo 40, Instituto de Ecología A. C., México.
- Rzedowski J. y Rzedowski G., 1985. Flora fanerogámica del Valle de México. Vol II Dicotyledoneae (Euphorbiaceae-Compositae). Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional e Instituto de Ecología, México, D. F. pp 212-215.
- Saad I., Díaz E., Chávez I., Reyes-Chilpa R., Rubluo A. and Jiménez-Estrada M., 2000. Antifungal monoterpene production in elicited cell suspension cultures of *Piqueria trinervia*. *Phytochemistry* 55, 51-57.
- Sahagún, B. 1963. Book 11 Earthly Things (General History of the Things of New Spain. C.E. Dibble & A.J.O. Anderson, eds.). OK: University of Oklahoma Press.
- Smirnov P. S., Bazyl'chik V. V., Ryabushkina N. M., Ansimov V. V., Plotnikova Z. A. 1980. Plant growth regulator. (Chuvash Agricultural Institute, USSR; Chuvash State University: Chuvash Republic Agrochemical Laboratory) USSR. Patent written in Russian.
- Sánchez M. V., Agüero R. and Rivera C., 1998. Host plants of the important viruses of melon infection, *Cucumis melo* in Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 46, 13-25.
- Sánchez S., O. 1979. Flora del Valle de México, pp. 402.
- Sangaiah R. and Krishna Rao G. S. 1981. Revision of the structure assigned to a monoterpene isolated from *Piqueria trinervia*. *Tetrahedron Letters* 22, 1843-1844.
- Secretaría de Salud. 2004. Mortalidad, 2003. Secretaría de Salud. Dirección General de Estadística e Informática. Secretaría de Salud. México, D. F.
- Secretaría de Salud. 1999. Información Epidemiológica de Morbilidad, 1998. Dirección General de Epidemiología. Secretaría de Salud. México, D. F.

- Secretaría de Salud. 1998. Mortalidad, 1997. Secretaría de Salud. Dirección General de Estadística e Informática. Secretaría de Salud. México, D. F.
- Secretaría de Salud, 1997. Mortalidad, 1996. Secretaría de Salud. Dirección General de Estadística e Informática. Secretaría de Salud. México, D. F.
- Secretaría de Salud, 1996a. Mortalidad, 1994. Secretaría de Salud. Dirección General de Estadística e Informática. Secretaría de Salud. México, D. F.
- Secretaría de Salud, 1996b. Mortalidad, 1995. Secretaría de Salud. Dirección General de Estadística e Informática. Secretaría de Salud. México, D. F.
- Secretaría de Salud. 1994a. Mortalidad, 1992. Secretaría de Salud. Dirección General de Estadística e Informática. Secretaría de Salud. México, D. F.
- Secretaría de Salud. 1994b. Mortalidad, 1993. Secretaría de Salud. Dirección General de Estadística e Informática. Secretaría de Salud. México, D. F.
- Secretaría de Salud. 1992a. Información Epidemiológica de Morbilidad, 1990. Dirección General de Epidemiología. Secretaría de Salud. México, D. F.
- Secretaría de Salud. 1992b. Mortalidad, 1991. Secretaría de Salud. Dirección General de Estadística e Informática. Secretaría de Salud. México, D. F.
- Secretaría de Salud. 1991. Mortalidad, 1990. Secretaría de Salud. Dirección General de Estadística e Informática. Secretaría de Salud. México, D. F.
- Serkedjieva J. and Ivancheva S., 1999. Antiherpes virus activity of extracts from the medicinal plant *Geranium sanguineum* L. *Journal of Ethnopharmacology* 65, 59-68.
- Seigler D. S., Pauli G. F. Fröhlich R., Wegelius E., Nahrstedt A., Glander K. E. and Ebinger J. E. 2005. Cyanogenic glycosides and menisdaurin from *Guzuma ulmifolia*, *Ostrya virginiana*, *Tiquilia plicata* and *Tiquilia canescens*. *Phytochemistry* 66, 1567-1580.
- Sessé M. y Monciño J. M., 1893. Plantas de Nueva España, 2ª ed.
- Shivaprasad H. I., 2000. Fowl typhoid and pullorum disease. *Revue Scientifique et Technique* 19, 405-424.
- Shu Y.-Z., 1998. Recent natural products based drug development: A pharmaceutical Industry perspective. *Journal of Natural Products* 61, 1053-1071.

- Silva F., 2000. Capítulo 6, La Diarrea: Uno de los Grandes Asesinos de Niños. *In* Warner D. y Sanders D., 2000. Cuestionando la solución. Las Políticas de Atención Primaria de Salud y Supervivencia Infantil. Healthwrights. Libro electrónico <http://www.healthwrights.org/static/cuestionando/inici.htm>.
- Soriano-García M., Jiménez M., González de la Parra M., Navarro A. and Campos M. P., 1996. Acetonide-3-trinervinove. *Acta Crystallographica Section C* 52, 1460-1462.
- Soriano-García M., Jiménez M., González M., Hernández A., Schatz M. and Campana C. 1983. Crystal and molecular structure of piquerol a potent growth-inhibiting factor. *Chemistry Letters* 5, 617-620.
- Soto Nuñez J. C., 1987. Las plantas medicinales y su uso tradicional en la cuenca del Río Balsas Estados de Michoacán y Guerrero, México. Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 231 p.
- Spencer C. F., Koniuszy F. R., Rogers E. F., Shaval J Jr., Easton N. R., Kaczke E. A., Kuhl F. A. Jr., Phillips R. F., Walti A. and Folkers K., 1947. Survey of plants for antimalarian activity. *Lloydia* 10, 145-174.
- Standley P. C., 1926. Trees and shrubs of Mexico (Bignoniaceae-Asteraceae). Smithsonian Institution, contribution from the United States National Herbarium, Volume 23, part 5, United States of America, 1313-1712 p.
- Standley P. C., 1924. Trees and shrubs of Mexico (Passifloraceae-Scrophulariaceae). Smithsonian Institution, contribution from the United States National Herbarium, Volume 23, part 4, United States of America, 849-1312.
- Standley P. C., 1923. Trees and shrubs of Mexico (Oxalidaceae-Turneraceae). Smithsonian Institution, contribution from the United States National Herbarium, Volume 23, part 3, United States of America, 517-848 p.
- Standley P. C., 1922. Trees and shrubs of Mexico (Fagaceae-Fabaceae). Smithsonian Institution, contribution from the United States National Herbarium, Volume 23, part 2, United States of America, 171-515 p.
- Tapia-Conyer R., 1994a. La Salud de los Pueblos Indígenas. Sepúlveda A., J. (Coord.), serie Cuadernos de Salud, Secretaría de Salud. México. 65 p.
- Tapia-Conyer R., 1994b. Diarreas y Cólera: Un reto sanitario del siglo XX. Sepúlveda A., J. (Coord.), serie Cuadernos de Salud, Secretaría de Salud. México. 58 p.

- Tequida-Meneses M., Cortéz-Rocha M., Rosas-Burgos E. C., López-Sandoval S. and Corrales-Maldonado C., 2002. Efecto de extractos alcohólicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae*. *Revista Iberoamericana de Micología* 19, 84-88.
- Terres J., 1894. Informe de Actividades. *Anales del Instituto Médico Nacional* Tomo I.
- Thorne R. F., 1992. An updated phylogenetic classification of the flowering plants. *Aliso* 13, 365-368.
- Tona L., Kambu K., Ngimbi N., Cimanga K. and Vlietinck A. J., 1998. Antiamoebic and phytochemical screening of some Congolese medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 61, 57-65.
- Torres González J., 1984. Etnobotánica mexicana plantas tradicionalmente utilizadas para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales en el estado de Michoacán. Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, 126 p.
- Turner B. L., 1997. The Comps of México. A Systematic Account of the Family Asteraceae. Volume 1 Eupatorieae. *Phytologia Memoirs, United States of America*. pp 165-221.
- UNICEF. <http://www.unicef.org/spanish/ffl/text/07/index.html>
- Van Ha C. L., Van Son N., Ding Thang T. and Xuan Dung N., 2004. Determination of chemical components of essential oil from *Eupatorium stoechodesum* Hance in Thanh Hoa Province. *Tap Chi Duoc Hoc Saigon* 44, 6-7.
- Velázquez C., Calzada F., Torres J., González F. and Ceballos G., 2006. Antisecretory activity of plants used to treat gastrointestinal disorders in Mexico. *Journal of Ethnopharmacology* 103, 66-70.
- Verástegui M. A., Sánchez C. A., Heredia N. L. and García-Alvarado J. S., 1996. Antimicrobial activity of extracts of three major plants from the Chihuahuan desert. *Journal of Ethnopharmacology* 52, 175-177.
- Verpoorte R., 1998. Exploration of nature's chemodiversity: the role of secondary metabolites as leads in drug development. *Drug Discovery Today* 3, 232-238.
- Villaseñor, J. L. 2003. Diversidad y distribución de las Magnoliophyta de México. *Interciencia* 28, 160-167.

- Villaseñor Ríos J. L., 1982. Las Compositae del valle de Tehuacan-Cuicatlan flora genérica. Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 174 p.
- Vinson S. B., Williams H. J., Frankie G. W. and Shrum G., 1997. Floral lipid chemistry of *Byrsonima crassifolia* (Malpigheaceae) and a use of floral lipids by *Centris bees* (Hymenoptera: Apidae). *Biotropica* 29, 76-83.
- Voravuthikunchai S., Lortheeranuwat A., Jeeju W., Sririrak T., Phongpaichit T. and Supawita T., 2004. Effective medicinal plants against enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Ethnopharmacology* 94, 49–54.
- Waller, D. P., 1993. Methods in Ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology* 38, 189-195.
- World Health Organization (WHO), 1998. The World Health Report. Life in the 21st Century: Vision for all. 2. Measuring Health. World Health Organization, Geneva, Switzerland, pp. 39–60.
- Wright G. D., 2005. Bacterial resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and modification. *Advanced Drug Delivery Reviews* 57, 1451-1470.
- Yamamoto A., Nitta S., Miyase T., Ueno A. and Wu L.-J., 1993. Phenylathanoid and lignan-iridoid complex glucosides from roots of *Buddleja davidii*. *Phytochemistry* 32, 421-425.
- Yamamoto A., Miyase T., Ueno A. and Maeda T., 1991. Buddlejasaponins I-IV, four new oleanane-triterpene saponins from the aerial parts of *Buddleja japonica* Hemsl. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 39, 2764-2766
- Yoshida T., Nobuhara J., Uchida M., Okuda T., 1978a. Studies on the constituents of *Buddleja* species I. Structures of buddledin A and B, two new toxic sesquiterpenes from *Buddleja davidii* Franch. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 26, 2535-2542.
- Yoshida T., Nobuhara J., Fuji N. and Okuda T., 1978b. Studies on the constituents of *Buddleja* species II. Buddledin C, D and E. New sesquiterpenes from *Buddleja davidii* Franch. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 26, 2543-2549.
- Yoshida T., Nobuhara J., Uchida M. and Okuda T., 1976. Buddledin A, B and C, piscicidal sesquiterpenes from *Buddleja davidii* Franch. *Tetrahedron Letters* 42, 3717-3720.

## IX PROYECCIONES FUTURAS

En la actualidad, un problema para la industria avícola de gran importancia y con repercusiones económicas muy altas, son las infecciones bacterianas que sufren los pollos, una de estas enfermedades es la tifoidea aviar causada por *S. gallinarum*, que puede causar mortalidad alta durante las dos primeras semanas de vida de los pollitos, trayendo consigo pérdidas económicas elevadas que además de la mortalidad están los costos veterinarios involucrados como son la eliminación de las aves muertas, saneamiento de las instalaciones, etc. (Chacana y Terzolo, 2003) El uso de los antibióticos para tratar la enfermedad ha ocasionado e incremento de la resistencia de las cepas a los antibióticos (Lee, *et al.*, 2003) por lo que es necesario buscar soluciones a este problema de vital importancia.

La fase orgánica del extracto acuoso preparado con *P. trinervia* posee actividad antibacteriana contra cepas de *S. gallinarum* y *S. dublin*, por lo que en un experimento inicial se determinó que la dosis de 178 mg/kg de la fracción orgánica (diclorometano) del extracto acuoso de *Piquería trinervia* es inocua para los pollos de engorda estirpe Cobbs de 4 días de edad. El extracto se administró por vía oral, durante 16 días consecutivos y no produjo daños en los siguientes órganos: hígado, riñón, intestino medio al nivel del divertículo de Meckel y bolsa de Fabricio. Este resultado es alentador para continuar con un proyecto de investigación empleando un modelo animal para evaluar *in vivo* el extracto vegetal y determinar si conserva o pierde sus propiedades antibacterianas.

Entre las ventajas de realizar el estudio con pollos están: se trabajaría con pollitos recién nacidos que son los más susceptibles a las infecciones bacterianas; se obtendrían resultados en un período corto; sería posible determinar si el extracto protege a los pollitos de una infección bacteriana o mata a las bacterias después de la infección. De obtener resultados positivos y después de realizar una evaluación de costo real y cantidad de material necesario para la preparación del extracto sería posible continuar con el proyecto hasta obtener un producto comercial.

## ANEXO

### SINÓNIMOS Y NOMBRES COMUNES EN LENGUAS PREHISPÁNICAS Y ESPAÑOL DE LAS ESPECIES ESTUDIADAS

#### Sinónimos de *Buddleia scordioides*

*Buddleia scordioides capitata* S. Wats (Standley, 1924).

Tabla 1. Nombres comunes de *Buddleia scordioides* en español.

Nombres comunes	Estados	Referencias
Escobilla	S. L. P. y Dgo.	Standley, 1924; Martínez, 1979
Golondrilla	Dgo. y Coah.	Standley, 1924; Martínez, 1979
Hierba de las escobas	S. L. P.	Martínez, 1979.
Salvia	Dgo.	Standley, 1924; Martínez, 1979

#### Sinónimos de *Byrsonima crassifolia*

*Byrsonima cotinifolia* H.B.K. (Standley, 1923), *Byrsonima karwinskiana* Juss. (Standley, 1923), *Byrsonima oaxacana* Juss. (Standley, 1923), *Byrsonima rhopalaefolia* H.B.K. (García, 1992), *Malpighia crassifolia* L. (Standley, 1923) y *Malpighia moureila* Aublet (García, 1992).

Tabla 2. Nombres comunes de *Byrsonima crassifolia* en lenguas prehispánicas.

Nombres comunes	Estados	Referencias
Changungo	Mich.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Chi' (maya)	Yuc. y Q. Roo	Argueta <i>et al.</i> , 1994; Standley, 1923; Martínez, 1979.
Chi (tzeltal/tzotzil)		
Enanchi	Mich.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Huatzi (cora)	Nay.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Huizaa (zapoteco)	Oax.	Martínez, 1979.

Continuación de la Tabla 2.

Nombres comunes	Estados	Referencias
Lantzin te'	Chis.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Nadam aong wean	Oax.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Nanantze	Gro.	Martínez, 1979.
Nanatsin	Gro.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Nanchi	Gro.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Nan-chin	Ver.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Nandzin (zoque)	T. Gtz., Chis y Ver.	Martínez, 1979.
Nantzi' (tzotzil),	Chis.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Natzin (tzeltal)	Chis.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Nantzinquáhuatl (náhuatl)	Mich. y Gro.	Standley, 1923; Martínez, 1959.
Nantzincócotl	Gro. y Tab.	Standley, 1923; Martínez, 1959.
Sokonantsin kiui (totonaco)	Pue.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Sokonanx (tepehua)	Pue.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Xoconance tañiste (náhuatl)	Pue.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.

Tabla 3. Nombres comunes de *Byrsonima crassifolia* en español.

Nombres comunes	Estados	Referencias
Changugo (a)	Mich. y Gro.	Standley, 1923; Martínez, 1979; Argueta <i>et al.</i> , 1994
Chenuga	Mich.	Martínez, 1979.
Flor de kastiya	Chis.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Nananche	Mich. y Gro.	Standley, 1923: Martínez, 1959.
Nance	Chis., Mich. y Gro.	Standley, 1923; Miranda, 1952; Martínez, 1959; Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Nance amarillo	Pue.	Martínez, 1979.
Nance agrio	Gro. y Tab.	Standley, 1923; Martínez, 1979.
Nance dulce	Oax.	Martínez, 1979; Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Nanche	Chis	Miranda, 1952; Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Nanche amarillo	Gro.	Martínez, 1979; Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Nanche de fruto grande	-	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Nanche dulce	-	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Nanchi	Mich. y Gro.	Standley, 1923; Martínez, 1959; Argueta <i>et al.</i> , 1994
Nanche de perro	-	Standley, 1923.

### Sinónimos de *Geranium seemanii*

*Geranium kerberi* Kunth (Rzedowski y Rezedowski, 1995), *Geranium regale* Rydb. Ex Hanks and Small (Rzedowski y Rezedowski, 1995), *Geranium subulato-stipulatum* Kunth (Rzedowski y Rezedowski, 1995) y *Geranium vulcanicola* Small (Rzedowski y Rezedowski, 1995).

Tabla 4. Nombres comunes de *Geranium seemanii* en lenguas prehispánicas.

Nombres comunes	Estados	Referencias
Eoyixite cuani (náhuatl)	Pue.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Erangua	Mich.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Kuriata	Mich.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Pashiute	Mex.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Poxil ch'utul	Chiap.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Pupurhajkura	-	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Ranxhu (otomi)	Mex.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Shu (mazahua)	Mex.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Tlacecehuítl	Mex.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Yea mixi (otomi)	Pue.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.

Tabla 5. Nombres comunes de *Geranium seemanii* en español.

Nombres comunes	Estados	Referencias
Alchimila del país	-	Sánchez, 1979.
Geranio de olor	Méx.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Guía	-	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Malva	-	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Mano de gato	-	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Mano de león	-	Martínez, 1979.
Pata de león	Méx.	Sánchez, 1979.
Pata de oso	-	Argueta <i>et al.</i> , 1994.

### Sinónimos de *Guazuma ulmifolia*

*Guazuma guazuma* Cocker. (Standley, 1923; Argueta *et al.*, 1994), *Guazuma parvifolia* A. Rich. (Argueta *et al.*, 1994), *Guazuma polybotrya* Cav. (Standley, 1923; Argueta *et al.*, 1994), *Guazuma tomentosa* H.B.K. (Standley, 1923), *Persea gratísima* Gaertn. (Pennington y Sarukhán, 1998) y *Theobroma guazuma* L. (Standley, 1923; Argueta *et al.*, 1994).

Tabla 6. Nombres comunes de *Guazuma ulmifolia* en lenguas prehispánicas.

Nombres comunes	Estados	Referencias
Acashti (totonaco)	Ver.	Martínez 1979; Pennington y Sarukhán, 1998.
Ahilla (mayo)	Sin.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Ajillá, (guarijía)	Son. y Sin.	Martínez 1979; Pennington y Sarukhán, 1998.
Ajya (mayo)	Son.	Argueta <i>et al.</i> , 1994; Pennington y Sarukhán, 1998.
Akeichta	Pue.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Alla (cora)	Nay.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Aqayxta (tepehua)	Ver.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Áquich (huasteco)	S. L. P.	Martínez 1979; Pennington y Sarukhán.
Bulin	Q. Roo	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Cashet	Pue.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Cuau-olotl (náhuatl)	-	Standley, 1923.
E-lue	Ver.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Guayacán	Q. Roo	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Hucu	Ver.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Kabal	Q. Roo	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Kabal-pixoy (maya)	Yuc.	Pennington y Sarukhán, 1998
K'olin kakaw (tzeltal)	Chis.	Pennington y Sarukhán, 1998
Nocuana-yana (zapoteco)	Oax.	Martínez 1994; Pennington y Sarukhán, 1998.
Ok	Oax.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Olotcuahuit	Pue.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Parandesicua (Tarasco)	Mich.	Pennington y Sarukhán, 1998
Piixoy (maya)	Q. Roo y Yuc.	Standley, 1923; Martínez, 1959; Argueta <i>et al.</i> , 1994; Pennington y Sarukhán, 1998.
Puklnankiwi (totonaco)	Pue.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Quacholotl	-	Standley, 1923.
Tzumb, Tzúmn	Oax.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Tzuny	Chis. e Hdgo.	Martínez 1979; Argueta 1994; Pennington y Sarukhán 1998.
Tzuyui	Chis.	Miranda 1952; Martínez 1979; Pennington y Sarukhán, 1998.
Uiguie (popoluca)	Ver.	Martínez 1979; Pennington y Sarukhán, 1998.
Xpiixoy (maya)	Q. Roo	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Ya-ana (zapoteco)	Oax.	Martínez 1979; Pennington y Sarukhán, 1998.
Zam-mi (chontal)	Oax.	Martínez 1979; Pennington y Sarukhán, 1998.

Tabla 7. Nombres comunes de *Guazuma ulmifolia* en español.

Nombres comunes	Estados	Referencias
Aquiche	Hdgo. y Tams.	Standley, 1923; Argueta <i>et al.</i> , 1994; Martínez 1979.
Bellota de cuaulote	Chis.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Bulines	-	Standley, 1923.
Caulote prieto	Chis.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Coalote	Oax.	Martínez 1979.
Cuahulote o cuaulote	Mnor., Gro., Oax. y Chiap.	Standley, 1923; Martínez, 1959; Pennington y Sarukhán, 1998; Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Guácima (o)	Area de distribución	Standley, 1923; Martínez, 1959; Argueta <i>et al.</i> , 1994; Pennington y Sarukhán, 1998.
Guajolote	Chis.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Guarijío	Son. Y Sin	Pennington y Sarukhán, 1998
Hierba del taxón	Ver.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Majahua de toro	Sin.	Standley, 1923; Martínez 1979; Pennington y Sarukhán, 1998.
Palo de olote	-	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Palote negro	Chis. y Mich.	Standley, 1923; Miranda, 1952; Martínez, 1979; Argueta <i>et al.</i> , 1994; Pennington y Sarukhán, 1998.
Parandesicua	Mich.	Martínez, 1979.
Uácima	Mich.	Martínez 1979.
Tablote	Chis., Gro. y Mich.	Standley, 1923; Martínez 1979; Pennington y Sarukhán, 1998.
Tapaculo	Chis.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Vácima	Mich.	Standley, 1923.
Yaco de venado	Oax.	Martínez 1979.

#### Sinónimos de *Larrea tridentata*

*Covillea tridentate* (DC.) Vail (Standley, 1923), *Larrea divaricata* (Moric.) Johnst. (Martínez, 1959), *Larrea glutinosa* Engelm. (Standley, 1923), *Larrea mexicana* Moric. (Standley, 1923) y *Zygophyllum tridentatum* DC. (Standley, 1923).

Tabla 8. Nombres comunes de *Larrea tridentata* en lenguas prehispánicas.

Nombres comunes	Estados	Referencias
Háajat (seri)	Son.	Martínez, 1979.
Háaxat (seri)	Son.	Martínez, 1979.
Huamis (seri)	Son.	Martínez, 1979.

Tabla 9. Nombres comunes de *Larrea tridentata* en español.

Nombres comunes	Estados	Referencias
Hediondilla	Son.	Standley, 1923; Martínez, 1959.
Falsa alcaparra	Son. y S. L. P.	Standley, 1923; Martínez, 1959.
Guamis o huamis	S. L. P. y Chih.	Martínez, 1959.
Gobernadora	Norte del País	Standley, 1923; Martínez, 1979.

#### Sinónimos de *Persea americana*

*Laurus gratísima* Maye. (García, 1974), *Laurus persea* L. (Standley, 1922), *Persea gratissima* Gaertn. Fruct. and Sem. (Standley, 1922), *Persea gratissima oblonga* Meissn. (Lozoya y Lozoya, 1982), *Persea gratissima* var. *Macrophylla* Meissn. (Lozoya y Lozoya, 1982), *Persea gratissima* var. *vulgaris* Meissn. (Lozoya y Lozoya, 1982), *Persea persea* Cockerell (Standley, 1922).

Tabla 10. Nombres comunes de *Persea americana* en lenguas prehispánicas.

Nombres comunes	Estados	Referencias
Ahuacacáhuatl (náhuatl)	Mor	Martínez, 1979.
Ahuacuahuatl (náhuatl)	-	Standley, 1922.
Ahuacatl (náhuatl)	Hgo. y Pue	Standley, 1922; Martínez, 1979; Argueta <i>et al.</i> , 1994.
An	Chis.	Miranda, 1952.
Auacatal (náhuatl)	Mex.	Lozoya y Lozoya, 1982; Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Bashlobó (cuicatleca)	Gro.	Martínez, 1979.
Cucataj (totonaco)	Pue	Martínez, 1979.
Cupanda (tarasco)	Mich, Mor.	Martínez, 1959.
Cuut'p (mixe)	Oax.	Martínez, 1979.
Cuytuim (popoluca)	Ver.	Martínez, 1979.

Continuación de la Tabla 10.

Nombres comunes	Estados	Referencias
Kirtum (mixe o maya)	Yuc.	Lozoya y Lozoya, 1982.
Koidium, koitum (mixe)	-	Standley, 1922.
Kuitm (mixe)	-	Standley, 1922.
Kukata o kukuta (totonaco)	Pue.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Lypau, lypuy (totonaco)	Pue.	Martínez, 1979.
Ohuacatl	Mor.	Martínez, 1979.
Ohui (zoque)	Chis.	Miranda, 1952; Martínez, 1979.
On (mayo)	Chis. y Yuc.	Standley, 1922; Miranda, 1952; Martínez, 1979.
Páhuatl (náhuatl)	Mor. y	Standley, 1922; Lozoya y Lozoya, 1982.
S'ö'nü (mazahua)	Mex.	Martínez, 1979.
Shamal (chontal)	Oax.	Martínez, 1979.
Tatzan (otomi)	Hdgo.	Martínez, 1979.
Tichi (mixteco)	Gro.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Tsi'ngu't'p' (mixe)	Oax.	Martínez, 1979.
Tunuá (popoloca)	Pue. Y Oax.	Martínez, 1979.
Tutiti (mixteco)	Oax.	Martínez, 1979.
Tzani (otomi)	Hdgo.	Martínez, 1979.
Tztatzan (otomí)	Pue.	Standley, 1922; Lozoya y Lozoya, 1982.
Tzitzon (tojolobal)	Chis.	Miranda, 1952; Martínez, 1979.
Uj (tenek)	S. L. P.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Uy (huasteco)	S. L.P.	Martínez, 1979.
Xinene (zapoteco)	Oax.	Standley, 1922; Martínez, 1959; Lozoya y Lozoya, 1982.
Yashusa (zapoteco)	Oax.	Martínez, 1979.
Yaujca (cora)	Nay.	Martínez, 1979.
Yaxhu (zapoteco)	Oax.	Martínez, 1979.
Yéuca-te (huichol)	Jal.	Martínez, 1979.

Tabla 11. Nombres comunes de *Persea americana* en español.

Nombres comunes	Estados	Referencias
Aguacate	Área de distribución	Martínez, 1979.
Aguacate criollo	-	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Aguacate castillo	Jal., Mich. Y Ver.	Lozoya y Lozoya, 1982.
Aguacate oloroso	Ver. y Oax	Standley, 1922.
Aguacate xinene	Oax.	Standley, 1961.
Ahuacachile	-	Martínez, 1979
Ahuacate	Área de distribución	Martínez, 1979.
Huerumbo	-	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Pagua	-	Martínez, 1979.
Tonalhuate	-	Standley, 1922.

### Sinónimos de *Psidium guajava*

*Psidium pomiferum* L. (Standley, 1924) y *Psidium pyrifera* L. (Standley, 1924).

Tabla 12. Nombres comunes de *Psidium guajava* en lenguas prehispánicas.

Nombres comunes	Estados	Referencias
A'sihui't (totonaco)	Pue.	Martínez, 1979.
Aci'huit	Pue.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Al-pil-ca (chontal)	Oax.	Martínez, 1979.
Asiuit, asiwit (totonaco)	Pue.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Bek (tenek)	S. L. P.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Biui, bui (zapoteco)	Oax.	Martínez, 1979.
Ca-arú, ca-rú (cora)	Nay	Argueta <i>et al.</i> , 1994
Coloc	Mor.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Cuypatan	Ver.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Chak-pichi (maya)	Yuc.	Standley, 1924; Martínez, 1979.
Enandi, enendi (purepecha)	Mich.	Martínez, 1979.
Jaljocote	Mor.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Jukoin papoxtikis	Oax.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Julú	Q. Roo.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Kolok	Q. Roo.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Lacow (huave)	Oax.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Mo'i (cuicatleca)	Gro.	Martínez, 1979.
Ni-joh (chinanteco)	Oax.	Martínez, 1979.
Pachi'	Q. Roo.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Pata (tzotzil)	Chis.	Martínez, 1979; Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Pehui (zapoteco)	Oax.	Martínez, 1979.
Piichi (maya)	Yuc., Ver. y Q. Roo.	Standley, 1924; Martínez, 1979; Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Pichichi'	S. L. P.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Pitchcuy	Ver.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Poos-cuy (zoque)	Chis.	Standley, 1924; Martínez, 1979; Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Pojosh (popoluca)	Ver.	Martínez, 1979.
Posh-keip (mixe)	Oax.	Standley, 1924; Martínez, 1979.
Potoj, potos	Chis.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Pox (mixe)	Oax.	Martínez, 1979; Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Sakpichi	Q. Roo.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Sumbadán (zoque)	Chis.	Miranda, 1952.

Continuación de la Tabla 12.

Nombres comunes	Estados	Referencias
Tzon t kichi kichi (amuzgo)	Oax.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Tzon t kichi nchjon (amuzgo)	Oax.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Ushca-arú (tepehuano)	Nay.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Vayevavaxi-te (huichol)	Jal.	Martínez, 1979.
Xalxocotl (náhuatl)	Higo. y Mor.	Standley, 1924; Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Xapeni	Pue.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Xaxácotl (náhuatl)	Pue.	Martínez, 1979
Xocoyot	Pue.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Xolxocatl	Gro.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Xoxococuabítl	Mor.	Martínez, 1979.
Xoxokotl (náhuatl)	Pue.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Yarga-huí (zapoteco)	Oax.	Martínez, 1979

Tabla 13. Nombres comunes de *Psidium guajava* en español.

Nombres comunes	Estados	Referencias
Arena agria	-	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Guave	-	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Guayaba dulce	Oax.	Martínez, 1979.
Guayaba manzana	Tab.	Martínez, 1979.
Guayaba perulera	-	Martínez, 1979.
Guayabilla	-	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Guayabilla cimarrona	-	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Guayaba	Area de distribución	Standley, 1924; Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Guayabo	-	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Guayabo de venado	Col.	Standley, 1924; Martínez, 1979.
Guayabo morado	-	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Jalocote	-	Standley, 1924.
Palo de gayabo blanco	-	Argueta <i>et al.</i> , 1994.

### Sinónimos de *Piqueria trinervia*

*Ageratum febrifugum* Sessé y Mociño (Sessé y Mociño, 1893), *Mikania anomala* M. E. Jones (Turner, 1997), *Piqueria orata* G. Don (Robinson, 1906), *Piqueria serrata* var. *angustifolia* Rob. and Greenm. (Turner, 1997), *Piqueria trinervis* J. E. Smith (Robinson, 1906), *Stevia febrifuga* Sessé et Mociño ex D.C. (Ramírez, 1894) Moc. ex DC (Robinson, 1906) y *Stevia serrata* var. *serratifolia* Hort. (Robinson, 1906).

Tabla 14. Nombres comunes de *Piqueria trinervia* en lenguas prehispánicas.

Nombres comunes	Estados	Referencias
Cuapopolchi (náhuatl)	Gro. y Mor.	Paray, 1953; Soto, 1987; Martínez, 1959; Maldonado, 1997.
Cuimic (tarasco)	Mich.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Cumanchikua	Mich.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Empueshte (otomi)	Mex.	Martínez, 1979.
Istactziotzo	Mex.	González, 1981; Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Itaxímíría	Oax.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Jurhi	Mich.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Jurhikumenchicua (puerepeni)	Mich.	Torres, 1984.
K'uin	Mich.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
K'umanchikua (purhepecha)	Mich.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Oxonitsal	Mesa Central	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Phmpa (otomí)	Méx.	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Pe'empa (mazahua)	Méx.	Lozano, 1996; Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Tzaxto (mazahua)	Méx.	Lozano, 1996.
Tzotzoniztale	Mor.	Martínez, 1979; Maldonado, 1997.
Tzonixtalli (náhuatl)	Mor.	Cedillo, 1990; Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Xexenitzal	-	Martínez, 1979.
	-	Paray, 1953.
Xoxonitzal (otomí)	Mesa central	Farias, 1886; Standley, 1926; Martínez, 1979.
Xonitzal	Hdgo. y Gro.	Ramírez, 1894; Robinson, 1906; Ruiz, 1905; Standley, 1926; Martínez, 1959.
Xoxonitztac	Gro.	Ramírez, 1894; Martínez, 1979.
Yalaquiltili (náhuatl)	Mich.	Soto, 1987.
	Mich.	Soto, 1987; Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Yoloquilte (náhuatl)	Hdgo, Valle de México y	Standley, 1926; Martínez,
Yoloxiltic (otomí)	Jal.	1979.
Yuku xímíría	Hdgo., Gro. y Oax.	Farias, 1886; Sessé y Mociño, 1893; Ramírez, 1894; Ruiz, 1905; Martínez 1959; Argueta <i>et al.</i> , 1994.

Tabla 15. Nombres comunes de *Piqueria trinervia* en español.

Nombres comunes	Estados	Referencias
Alta reina	Mor., Hdgo., Gro. y Mor.	Gómez y Chong, 1985; Standley, 1926; Martínez, 1959; Argueta <i>et al.</i> , 1994; Maldonado, 1997.
Cabello blanco de tierra	-	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Empueste	Gro.	Ruiz, 1905.
Flor de San Nicolás	Pue.	Linares, 1991; Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Hierba de San Nicolás	Valle de México, Jal y Gro.	Robinson, 1906; Paray, 1953; Standley, 1926; Martínez, 1959; Chino y Jáquez, 1986.
Hierba del perro	Chis.	Martínez, 1979.
Hierba del tabardillo	Pue. y Jal.	Robinson, 1906; Paray, 1953; Standley, 1926.
Hierba del zopilote	Hdgo.	Standley, 1926; Martínez, 1979.
Raíz de San Nicolás	-	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
San Nicolás	-	Argueta <i>et al.</i> , 1994.
Tabardillo	Zac., Gto., Mich., Méx. y Mor.	Farias, 1886; Standley, 1926; González, 1981; Estrada, 1984; Torres, 1984; Soto, 1987; Esquivel, 1989; Martínez, 1979; Argueta <i>et al.</i> , 1994; Maldonado, 1997.
Yerba de San Nicolás	Méx., Gro. y Mich.	Ramírez, 1894; González, 1981; Soto, 1987; Esquivel, 1989; Lozano, 1996.
Yerba del tabardillo	-	Farias, 1886; Ramírez, 1894.

## Antibacterial Activity of *Piqueria trinervia*, a Mexican Medicinal Plant Used to Treat Diarrhea

R. Ruiz de Esparza<sup>1</sup>, R. Bye<sup>2</sup>, M. Meckes<sup>3</sup>, J. Torres López<sup>4</sup>, and M. Jiménez-Estrada<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Química, UNAM, Mexico; <sup>2</sup>Instituto de Biología, UNAM, Mexico, DF, 04510; <sup>3</sup>Unidad de Investigación Médica en Farmacología de Productos Naturales, Centro Nacional Siglo XXI, IMSS, Mexico, DF, 04510; <sup>4</sup>Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, Centro Nacional Siglo XXI, IMSS, Mexico, DF

### Abstract

Intestinal infectious diseases are among the top 10 causes of mortality in Mexico. Children under 5 years of age and adults over 65 years are the most affected; the incidence is greater in rural and indigenous communities. Traditional remedies based on medicinal plants are commonly used; however, the biological activity of many of them has been poorly studied. Thus, we evaluated the antimicrobial activity of the hexane, dichloromethane, ethyl acetate, and methanol extracts of aerial parts and roots of the *Piqueria trinervia* Cav. (Asteraceae) plant used to treat diarrhea in Mexico. The extracts were tested *in vitro* against 11 strains: *Escherichia coli*, *E. coli* multidrug resistant (MDR), *Salmonella typhi*, *Shigella boydii*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae* not toxic, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter aerogenes*, and *Enterobacter agglomerans*. The hexane extract obtained from the thick roots was active against the 11 strains. The ethyl acetate extract from the thin roots was active against eight of the strains; poor activity was detected in dichloromethane and methanol extracts.

**Keywords:** Antimicrobial activity, mexican medicinal plant, *Piqueria trinervia*.

### Introduction

A significant number of people in developing countries have limited access to modern medical services, including drugs for treatment of common diseases. Thus, medicinal

plants are their only therapeutic resource (Waller, 1993). One study suggests that at least 37% of the Mexican population uses medicinal plants (Baytelman, 1981).

In Mexico, intestinal infectious diseases are the second cause of morbidity, for which children younger than 5 years of age and adults over 65 years are the most affected (Secretaría de Salud, 2005). These diseases are the 18th leading cause of mortality in the general population and, more importantly, the primary cause of death in children (1 to 4 years) and the fourth for infants (1 to 12 months) (Secretaría de Salud, 2005). In addition, certain social groups are more prone to suffer intestinal infections. These diseases are the second cause of mortality among the Mexican rural population (Tapia-Conyer, 1994). From the 3034 plants used as medicine in Mexico, 1024 (34%) are used to treat diseases in the digestive tract (Argueta et al., 1994). The high percentage of species used to treat gastrointestinal diseases may reflect the high level of incidence of these illnesses in rural and indigenous communities where the plants are their principal, if not only, available health resource (Tapia-Conyer, 1994).

Bacteria have shown a remarkable ability to endure and adapt to their environment including the development of different mechanisms of resistance to most old and new antimicrobial agents (Hersh-Martinez et al., 2005). Consequently, many strains of bacteria have become resistant and, in many cases, multi resistant to therapeutic agents (Alanis, 2005). Bacterial adaptation to antibiotics has been very successful, and over the past decade the increase in antibiotic resistance has generated a considerable worldwide public health

Accepted: December 11, 2006.

Address correspondence to: R. Ruiz de Esparza, Circuito Exterior s/n, Cd. Universitaria Mexico, D.F., Coyoacán 04510, Mexico; E-mail: manuelj@servidor.unam.mx