



---

---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA  
CARRERA DE BIOLOGÍA

**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE  
*Echinopterys eglandulosa* (A. Juss.) Small.**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**BIÓLOGA**

PRESENTA:

**KARLA XIMENA CORONADO AGUILAR**

DIRECTORA DE TESIS

M. EN C. JULIETA OROZCO MARTÍNEZ



Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Edo de México, 2019.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

Proyecto realizado en el laboratorio de Farmacognosia de la Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO) de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México.

## **Agradecimientos**

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala por ser un segundo hogar, brindarme tantos momentos inolvidables y permitir mi desarrollo profesional.

A mi tutora Julieta Orozco Martínez, por todo su apoyo, paciencia, tiempo y dedicación durante la realización de este proyecto, además de la confianza y su valiosa amistad.

A mis sinodales:

A la Dra. Claudia Tzasna Hernández Delgado, por la confianza, la motivación, el tiempo, por enseñarnos a trabajar en equipo y por brindarnos su conocimiento.

A la Dra. Roció Serrano Parrales, por su infinita paciencia, por el apoyo, la asesoría, por ser nuestra salvadora en el laboratorio y por contagiarnos el gusto por el trabajo.

A la Dra. Montserrat Espinosa González, por su disposición, contribución y aporte para mejorar este trabajo.

A la M. en C. Erick Nolasco Ontiveros, por la ayuda, los consejos, el tiempo y todas las aportaciones para mejorar el trabajo. También agradezco tu amistad y confianza.

Al profesor Pedro González Julián, por su amistad, apoyo y orientación a lo largo de la carrera.

A mis compañeros y amigos Gaby, Ale y Gelos por la ayuda en laboratorio, las pláticas y todos los momentos divertidos que pasamos juntos. Los quiero mucho.

## Actividad antimicrobiana de *Echinopterys eglandulosa*

---

A mis amigos:

A Cynthia y Facio, por nuestros proyectos chafas de método jajaja, por su apoyo, cariño, las risas infinitas y por compartir tantos momentos increíbles. Los quiero muchísimo y les deseo todo el éxito del mundo.

A Fer, sé que nos hemos distanciado algunas veces, pero ambos sabemos valorar lo que compartimos por encima de nuestras peleas (de las cuales tú eres responsable jaja). Gracias por todo el cariño, el apoyo, la confianza y por los momentos tan divertidos e inolvidables que pasamos juntos. Tu amistad significa mucho para mí. Te quiero.

## Dedicatoria

*A mis padres, Julieta Aguilar Guadarrama  
y Luis Coronado Segura*

*Por todo su amor, comprensión, apoyo y su infinita paciencia, además de los momentos que hemos disfrutado juntos, las veces que me han acompañado y que se han desvelado conmigo, entre muchas otras cosas más. Gracias por alentarme a cumplir mis metas y nunca dejar de formar parte de ellas, este logro es por y para ustedes, el reflejo de todos sus sacrificios y el esfuerzo. No imagino lo orgullosa que estoy de que sean mis padres y no me alcanzaría la vida para agradecerles todo lo que han hecho por mí.*

*Mamá: Eres lo mejor que tengo en la vida. Gracias por no dejarme sola nunca.*

*Papá: Eres el héroe de mi vida y mi mejor amigo. Gracias por confiar tanto en mí.*

*Los amo.*

*A mis hermanos*

*Erika, eres mi compañera de vida y mi persona favorita. Gracias por estar a mi lado, por cuidarme, por apoyarme. Te amo hermana.*

*Daniel y mis bebés, Pedro y Leo, son la alegría de mi vida. Gracias por compartir conmigo tanto amor.*

*“Los que contemplan la belleza del mundo encuentran reservas de fortaleza que los acompañarán durante toda la vida.”*

Rachel Carson

## ÍNDICE GENERAL

<b>Resumen</b> .....	<b>1</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>2</b>
<b>Antecedentes</b> .....	<b>4</b>
<b>Justificación</b> .....	<b>6</b>
<b>Objetivo general</b> .....	<b>6</b>
<b>Objetivos particulares</b> .....	<b>6</b>
<b>Metodología</b> .....	<b>7</b>
Colecta del material vegetal.....	7
Obtención de los extractos .....	7
Evaluación de la actividad antibacteriana .....	7
Curvas de supervivencia .....	8
Evaluación de la actividad antifúngica.....	9
Composición química de los extractos .....	10
Análisis estadísticos .....	10
<b>Resultados y análisis</b> .....	<b>11</b>
<b>Discusión</b> .....	<b>16</b>
<b>Conclusiones</b> .....	<b>22</b>
<b>Apéndices</b> .....	<b>23</b>
Apéndice 1. Área de colecta .....	23
Apéndice 2. Caracterización de la planta .....	25
Apéndice 3. Extracción .....	29
Apéndice 4. Destilación .....	30
Apéndice 5. Método de difusión en agar de Kirby-Baüer .....	31
Apéndice 6. Método cualitativo de inhibición del crecimiento radial .....	33
Apéndice 7. Método de dilución en agar .....	34
Apéndice 8. Método cuantitativo de inhibición de crecimiento radial .....	36
Apéndice 9. Curvas de supervivencia .....	38
Apéndice 10. Determinación cualitativa de metabolitos secundarios .....	40
<b>Literatura citada</b> .....	<b>42</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Antecedentes de la familia Malpighiaceae .....	4
Tabla 2. Pruebas cualitativas para la identificación de metabolitos secundarios .	10
Tabla 3. Datos etnobotánicos de <i>E. eglandulosa</i> .....	11
Tabla 4. Rendimiento de los extractos de <i>E. eglandulosa</i> .....	12
Tabla 5. Concentraciones Mínimas Inhibitorias y Concentraciones Bactericidas Mínimas de los extractos de <i>E. eglandulosa</i> .....	13
Tabla 6. Composición química de los extractos de <i>E. eglandulosa</i> .....	16

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Echinopterys eglandulosa</i> (A. Juss.) Small .....	5
Figura 2. Actividad antibacteriana de los extractos de <i>E. eglandulosa</i> .....	12
Figura 3. Efecto del extracto hexánico de <i>E. eglandulosa</i> sobre la curva de sobrevivencia de <i>S. aureus</i> .....	14
Figura 4. Efecto del extracto metanólico de <i>E. eglandulosa</i> sobre la curva de sobrevivencia de <i>K. pneumoniae</i> .....	15
Figura 5. Ubicación de Santiago Quiotepec .....	24
Figura 6. Partes características de <i>Echinopterys eglandulosa</i> (A. Juss.) Small ....	28

## Resumen

La medicina tradicional ha determinado históricamente el desarrollo de la cultura nacional, definiéndose como un legado de recursos y prácticas curativas, generando conocimientos sobre el uso de plantas y permitiendo el aprovechamiento de numerosos recursos vegetales. De manera particular en la reserva de Tehuacán-Cuicatlán, el uso de plantas cumple un papel muy importante en el tratamiento de enfermedades infecciosas, tal es el caso de *Echinopterys eglandulosa* también conocida como “mal de ojo” o “bejuco margarita”, una especie endémica de México, cuyas flores son empleadas tradicionalmente en el tratamiento de infecciones oftalmológicas. Sin embargo, no hay estudios de la especie o género que validen su uso. Por ello el objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos de *E. eglandulosa*. La planta fue colectada en la localidad de Santiago Quiotepec, se obtuvieron los extractos hexánico, de acetato de etilo y metanólico mediante el método de maceración y destilación a presión reducida. La actividad antimicrobiana se evaluó sobre 20 cepas bacterianas, tres cepas de hongos levaduriformes y cuatro hongos miceliados. En el caso de las bacterias y hongos levaduriformes se utilizó el método de difusión en agar, dilución en agar y se determinó el efecto de los extractos sobre la curva de sobrevivencia bacteriana; en cuanto a la actividad antifúngica, se evaluó con el método de inhibición de crecimiento radial. Se determinó que la mayor inhibición bacteriana la presentó el extracto hexánico, sin embargo, los extractos no presentaron actividad en hongos filamentosos y levaduriformes. Las CMI y CBM fueron mayores a 3.0 mg/mL. En cuanto a la composición química de los tres extractos se pudo detectar la presencia de terpenos, mientras que la presencia de fenoles correspondió únicamente a los extractos de acetato de etilo y metanólico. Estos resultados validan el uso de *E. eglandulosa* y sugieren su utilización como terapia alternativa sobre posibles infecciones de origen bacteriano.

## Introducción

México posee un rico mosaico cultural, las culturas que existen y han existido en nuestro territorio han desarrollado una estrecha relación con la diversidad biológica de su entorno, tanto en su cosmovisión como en la manera en que han aprovechado los recursos naturales disponibles (Sarukhán et al., 2009). De esta manera, el ser humano a través del tiempo ha podido conocer y hacer uso de las propiedades de un sinnúmero de plantas (Hoogesteger, 1994), colocando a la medicina tradicional como un fenómeno vigente de la cultura nacional y como un legado de recursos y prácticas curativas (Ocegueda et al., 2005).

En la actualidad, México se encuentra en el quinto lugar entre los países con mayor número de plantas vasculares. Se han descrito hasta ahora poco más de 25,000 especies de un total aproximado entre 27,000 a 30,000, de las cuales una alta proporción pertenece a especies endémicas del país (Sarukhán et al., 2009). Del total estimado, 4,000 especies (el 15% de la flora total) tienen atributos medicinales, es decir, que más o menos una de cada siete especies posee alguna propiedad curativa. Sin embargo, la actividad biológica, la validación química, farmacológica y biomédica de los principios activos que contienen se ha llevado a cabo sólo en el 5% de estas especies (Ocegueda et al., 2005). Dicho porcentaje adquiere importancia cuando se considera el amplio potencial de principios activos contenidos en la naturaleza que aún no han sido identificados (Mendoza, 2008).

Los principios activos son conocidos como metabolitos secundarios, moléculas orgánicas que se caracterizan por no tener una función directa en procesos vitales (fotosíntesis, respiración, asimilación de nutrientes, transporte de solutos, síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos) y suelen presentar una distribución restringida en el reino vegetal, ya sea a nivel de género, familia o incluso especie (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

Actualmente, se conocen cientos de miles de metabolitos secundarios. Los podemos clasificar desde un punto de vista biosintético en fenilpropanos, acetogeninas, terpenoides y alcaloides (Anaya, 2003). Es importante destacar que también reciben la denominación de productos naturales y tienen un importante y

significativo valor. Un gran número de estos productos naturales, que ya se utilizaban en la medicina antigua como remedios para combatir enfermedades, se usan en la actualidad como medicamentos, resinas, gomas, potenciadores de sabor, aromatizantes, colorantes, etc. (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

En contribución, el avance de la ciencia y la tecnología han permitido el desarrollo del conocimiento de la medicina tradicional y el uso de plantas medicinales ha recuperado un lugar importante como fuente de información (Ponz et al., 2005). Esto ha llevado a la fase inicial del aprovechamiento de especies que han sido poco estudiadas o cuyo potencial es desconocido (Martínez et al., 2001), tal es el caso de *Echinopterys eglandulosa*, conocida comúnmente como “mal de ojo” o “bejuco margarita”, una planta silvestre endémica de México, perteneciente a la familia Malpighiaceae (León, 2014), de la cual no se tienen antecedentes. Sin embargo, a partir de un estudio etnobotánico en proceso (Orozco, 2017) se determinó que las flores de *E. eglandulosa* son utilizadas dentro de la medicina tradicional en el municipio de Santiago Quiotepec (Oaxaca) como tratamiento en infecciones oftalmológicas. Por ende, debido a que *E. eglandulosa* no cuenta con estudios que validen su uso medicinal, a su aprovechamiento en la comunidad de Santiago Quiotepec (Oaxaca) y a los antecedentes de las especies de la familia Malpighiaceae, el presente estudio evaluó la actividad antimicrobiana de la especie.

## Antecedentes

Dentro de la familia, se han realizado diversos estudios entre los cuales destacan aquellos que han evaluado su actividad como antimicrobianos (Tabla 1).

Tabla 1. Antecedentes de especies de la familia Malpighiaceae

<b>Autor (es)</b>	<b>Año</b>	<b>Especie(s)</b>	<b>Estudio realizado</b>
Michellin et al.,	2008	<i>B. fagifolia</i> <i>B. basiloba</i> <i>B. intermedia</i>	Evaluación antimicrobiana de extractos obtenidos de hojas sobre <i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>Shigella spp.</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Salmonella spp.</i> <i>Enterococcus faecalis</i> y <i>Candida albicans</i> .
Bonacorsi et al.,	2009	<i>Byrsonima crassa</i>	Evaluación antimicrobiana sobre <i>Helicobacter pylori</i> .
Padúa et al.,	2013	<i>Banisteriopsis anisandra</i>	Evaluación antimicrobiana in vitro de extractos etanólicos sobre <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>C. albicans</i> y <i>S. aureus</i> .
Queiroz et al.,	2015	<i>Bunchosia armeniaca</i>	Evaluación antimicrobiana del extracto etanólico sobre <i>S.aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
Andrade et al.,	2018	<i>B. crassifolia</i>	Análisis fitoquímico, potencial antioxidante y antifúngico en el control de fitopatógenos del suelo ( <i>Fusarium solani</i> y <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ).



Figura 1. *Echinopterys eglandulosa* (A. Juss.) Small (Imágenes tomadas de la Red de herbarios del Noreste de México, [www.herbanwmex.net](http://www.herbanwmex.net). 2014).

## Justificación

La medicina tradicional sigue cumpliendo un papel fundamental en la atención primaria de salud, por ello es necesarios realizar estudios que validen científicamente el uso de las plantas. Actualmente existen especies cuyas propiedades medicinales no han sido comprobadas, tal es el caso de *E. eglandulosa*, una planta utilizada tradicionalmente en la comunidad de Santiago Quiotepec (Oaxaca) en el tratamiento de infecciones oftalmológicas. Sabiendo que las infecciones son causadas comúnmente por bacterias y hongos y a la cercanía taxonómica que comparte con especies de la familia Malpighiaceae es importante evaluar la actividad biológica de la especie como posible agente antimicrobiano.

## Hipótesis

La especie *E. eglandulosa* es utilizada tradicionalmente en problemas de salud asociados a infecciones oftalmológicas, además se han reportado especies de la misma familia (Malpighiaceae) que han presentado actividad antimicrobiana, entonces, es probable que los extractos de esta especie presenten actividad sobre diferentes microorganismos patógenos.

## Objetivo general

- ✿ Evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos de *E. eglandulosa*.

## Objetivos particulares

- ✿ Obtener el extracto hexánico, acetato de etilo y metanólico de *E. eglandulosa*.
- ✿ Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), la Concentración Bactericida Mínima (CBM) y la Concentración Fungicida Media (CF<sub>50</sub>) de los extractos.
- ✿ Determinar el efecto de los extractos activos sobre curvas de supervivencia bacteriana.
- ✿ Identificar los principales grupos de metabolitos secundarios presentes en *E. eglandulosa*.

## Metodología

### 1. Colecta de material vegetal

La colecta se realizó el 1 de Julio del 2017 en la localidad de Santiago Quiotepec, perteneciente a la Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán en el estado de Oaxaca; el ejemplar se colectó por duplicado y fue identificado en el herbario IZTA con el número de colecta JOM042 [Apéndices 1 y 2].

### 2. Obtención de los extractos

El material vegetal se secó, trituró y peso, posteriormente, los extractos se obtuvieron por el método de maceración (Sharapin et al., 2000) utilizando tres solventes de diferente polaridad (hexano, acetato de etilo y metanol) los cuales se filtraron y destilaron a presión reducida (Fieser, 1967). Una vez destilados se colocaron en envases de vidrio hasta la evaporación total del solvente y se determinó el rendimiento de los extractos con relación al peso seco de la planta [Apéndices 3 y 4].

### 3. Evaluación de la actividad antibacteriana

#### Microorganismos utilizados en los bioensayos

Cepas Gram positivas: *Enterococcus faecalis* ATCC 14506; *Micrococcus luteus* ATCC 10240; *S. aureus* 23MR, *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* cc; *S. aureus* CUSI; *S. aureus* FES-C; *S. epidermidis* ATCC 12228; *S. epidermidis* FES-C.

Cepas Gram negativas: *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048; *E. gergoviae* ATCC 33028; *Escherichia coli* 82MR; *E. coli* CUSI; *Klebsiella oxytoca* ATCC 8724; *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27835; *Salmonella enterica* ATCC 7251; *Salmonella typhi* ATCC 19430; *Serratia marcescens* ATCC 14756; *Vibrio cholerae* ATCC 39540.

### **Determinación cualitativa de la actividad antibacteriana**

Para evaluar la actividad antibacteriana de los extractos, se utilizó el método de difusión en agar de Kirby-Bauer (Rodríguez et al., 2005). Se emplearon sensidiscos impregnados con 2 mg del extracto correspondiente. Como control positivo se utilizaron 25 µg/disco de cloranfenicol y como control negativo 10 µL/disco de los solventes empleados. Cada bioensayo se realizó por triplicado y los halos de inhibición se reportaron en mm [Apéndice 5].

### **Determinación cuantitativa de la actividad antibacteriana**

La determinación cuantitativa de la actividad antibacteriana se realizó mediante la técnica de dilución en agar (Koneman et al., 2008) utilizando diferentes concentraciones de los extractos (0.25 a 3.0 mg/mL), empleadas para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Bactericida Mínima (CBM). Como control positivo se utilizaron diferentes concentraciones de cloranfenicol (1 a 15 µg/mL) y como control negativo el solvente empleado para cada extracto [Apéndice 7].

## **4. Curvas de supervivencia**

Se determinó el efecto de los extractos sobre los microorganismos más sensibles, contabilizando el crecimiento de las UFC/mL en un total de 24 horas divididos en 6 tiempos, utilizando diferentes concentraciones del antibacteriano: 3.0, 6.0 y 9.0 mg/mL y un grupo testigo (Ávila, 1996) [Apéndice 9].

## 5. Evaluación de la actividad antifúngica

### ☼ Microorganismos utilizados en los bioensayos

Hongos levaduriformes: *Candida albicans* 17MR; *C. glabrata*; *C. tropicalis*.

Hongos miceliados: *Trichophyton mentagrophytes* CDBB-H-1112; *Aspergillus niger*, *Fusarium moniliforme* CBB-H-265 y *F. sporotrichum*.

### ☼ Determinación cualitativa de la actividad antifúngica

Para evaluar la actividad antifúngica de los extractos en hongos levaduriformes se empleó el método de difusión en agar de Kirby-Bauer (Rodríguez *et al.*, 2005), utilizando sensidiscos impregnados con 2 mg del extracto correspondiente. Como control positivo 30 µg/disco de Nistatina y como control negativo 10 µL/disco del solvente empleado [Apéndice 5].

En el caso de hongos filamentosos, se utilizó el método de inhibición de crecimiento radial (Fisher y Cook, 2001), empleando sensidiscos impregnados con 2 mg del extracto correspondiente. Como control positivo 60 µg/disco de ketoconazol y como control negativo 10 µL/disco del solvente empleado [Apéndice 6].

### ☼ Determinación cuantitativa de la actividad antifúngica

Para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Fungicida Mínima (CFM) de los extractos en hongos levaduriformes, se empleó el método de dilución en agar (Koneman *et al.*, 2008) mediante concentraciones crecientes de los extractos (0.25 a 4.0 mg/mL) [Apéndice 7].

Respecto a la Concentración Fungicida Mínima (CFM) y a la Concentración Fungicida Media (CF<sub>50</sub>) de los extractos en hongos miceliados, se empleó el método de inhibición del crecimiento radial (Wang y Bun, 2002), utilizando diferentes concentraciones de los extractos (0.25 a 4.0 mg/ml). Como grupo testigo se

utilizaron placas sin los extractos y como control negativo placas con los solventes empleados. Cada bioensayo se realizó por triplicado [Apéndice 8].

## 6. Composición química de los extractos

Se realizaron pruebas cualitativas de acuerdo con los criterios descritos por Domínguez (1985), para identificación de fenoles, glucósidos, alcaloides, saponinas, taninos y terpenos [Apéndice 10].

Tabla 2. Pruebas cualitativas para la identificación de metabolitos secundarios

<b>Grupo</b>	<b>Reactivo</b>	<b>Prueba positiva</b>
Fenoles	Cloruro férrico	Coloración azul o verde
Taninos	Gelatina	Presencia de precipitado
Alcaloides	Dragendorff	Precipitado color rojizo
	Mayer	Precipitado lechoso
Glucósidos	$\alpha$ -naftol y HCl	Anillo morado
Terpenos	Vainillina-ácido sulfúrico	Cromatografía en placa (halo coloreado)

Fuente: Plant drug analysis (Wagner y Bladt, 1996).

## 7. Análisis estadísticos

Para analizar los resultados de los bioensayos se utilizó el análisis estadístico ANOVA.

## Resultados y análisis

### 1. Colecta e identificación

La determinación del ejemplar se realizó en el Herbario IZTA, fue identificada con el nombre de *Echinopterys eglandulosa* e integrada en la colección etnobotánica del herbario.

Los datos generales de la especie se enlistan en la siguiente tabla (Tabla 3).

Tabla 3. Datos etnobotánicos de *E. eglandulosa*

<b>Nombre científico:</b> <i>Echinopterys eglandulosa</i>	
Nombre común	mal de ojo, bejuco margarita
Uso tradicional	Infecciones oftalmológicas
Parte utilizada	Flores
Forma de uso	Infusión, se lava el ojo por ocho días
Colector	Julieta Orozco Martínez
Zona de colecta	Santiago Quiotepec, Oaxaca
Fecha de colecta	1/07/2017
N° de colecta	JOM042

### 2. Rendimiento de los extractos

Los extractos de *E. eglandulosa* se obtuvieron a partir de 100 g de la planta seca y el rendimiento se determinó en porcentaje. El extracto con el rendimiento más alto corresponde al extracto metanólico con 6.30%, respecto al extracto hexánico y de acetato de etilo con 1.09% y 1.66% respectivamente (Tabla 4).

Tabla 4. Rendimiento de los extractos de *E. eglandulosa*

Extracto	Peso (g)	%
Hexánico	1.09	1.09
Acetato de etilo	1.66	1.66
Metanólico	6.33	6.33

El rendimiento se obtuvo por diferencia de peso entre el material vegetal inicial (peso seco) y el peso de los extractos obtenidos.

### 3. Actividad antibacteriana

Los tres extractos presentaron actividad sobre cinco cepas de las veinte evaluadas. El extracto hexánico presentó actividad sobre *K. pneumoniae* ATCC 13883, *P. aeruginosa* ATCC 27853 y *S. aureus* (23 MR, ATCC 29213, cc.), el extracto de acetato de etilo presentó actividad sobre *K. pneumoniae* ATCC 13883 y *P. aeruginosa* ATCC 27853 y el extracto metanólico únicamente en *K. pneumoniae* ATCC 13883. Sin embargo, el extracto hexánico fue el que presentó mayores halos de inhibición ( $7.30 \pm 10.0$  mm).

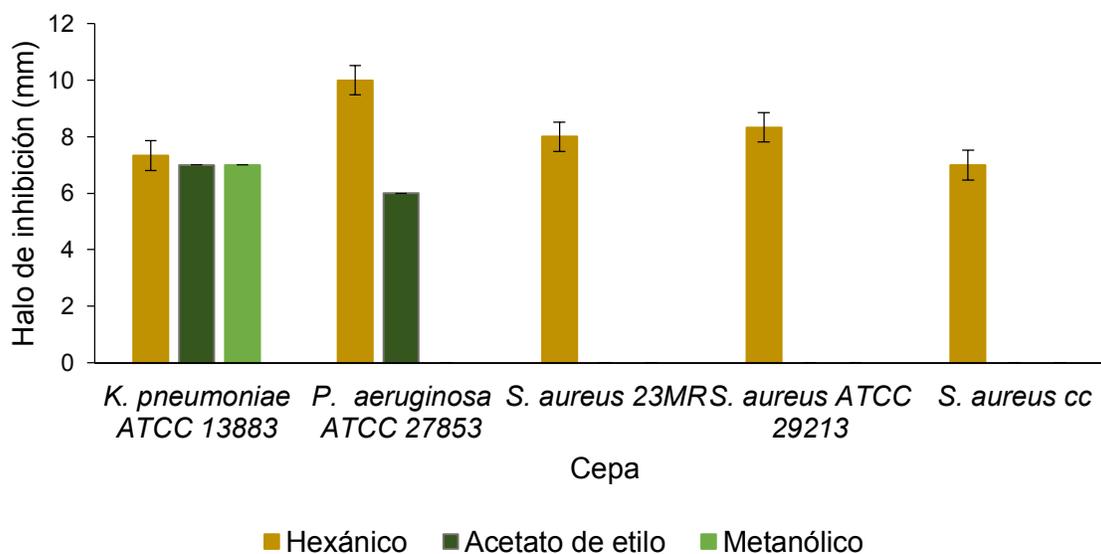


Figura 2. Actividad antibacteriana de los extractos de *E. eglandulosa*. Halos de inhibición en mm: Valores promedio de tres repeticiones  $\pm$  DE.

✿ **Concentración Mínima Inhibitoria(CMI) y Concentración Bactericida Mínima (CBM)**

Los valores de la CMI y CBM fueron mayores a 3 mg/ml en la mayoría de las cepas, a excepción de *P. aeruginosa*, con una CMI de 0.25 mg/mL (Tabla 5).

Tabla 5. Concentraciones Mínimas Inhibitorias y Concentraciones Bactericidas Mínimas de los extractos de *E. eglandulosa* sobre cinco cepas bacterianas.

Cepa	Extracto (mg/mL)					
	Hexánico		Acetato de etilo		Metanólico	
	CMI	CBM	CMI	CBM	CMI	CBM
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	>3	>3	>3	>3	>3	>3
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	0.25	>3	>3	>3	>3	>3
<i>S. aureus</i> 23MR	>3	>3	>3	>3	>3	>3
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	>3	>3	>3	>3	>3	>3
<i>S. aureus</i> cc	>3	>3	>3	>3	>3	>3

#### 4. Curvas de supervivencia

El efecto del extracto hexánico sobre el crecimiento de *S. aureus* fue bacteriostático, tal como se observa en la figura 3, ya que conforme aumentan las concentraciones del extracto, se reduce la población bacteriana en comparación con el testigo (colonias bacterianas sin extracto), sin inhibir completamente su crecimiento.

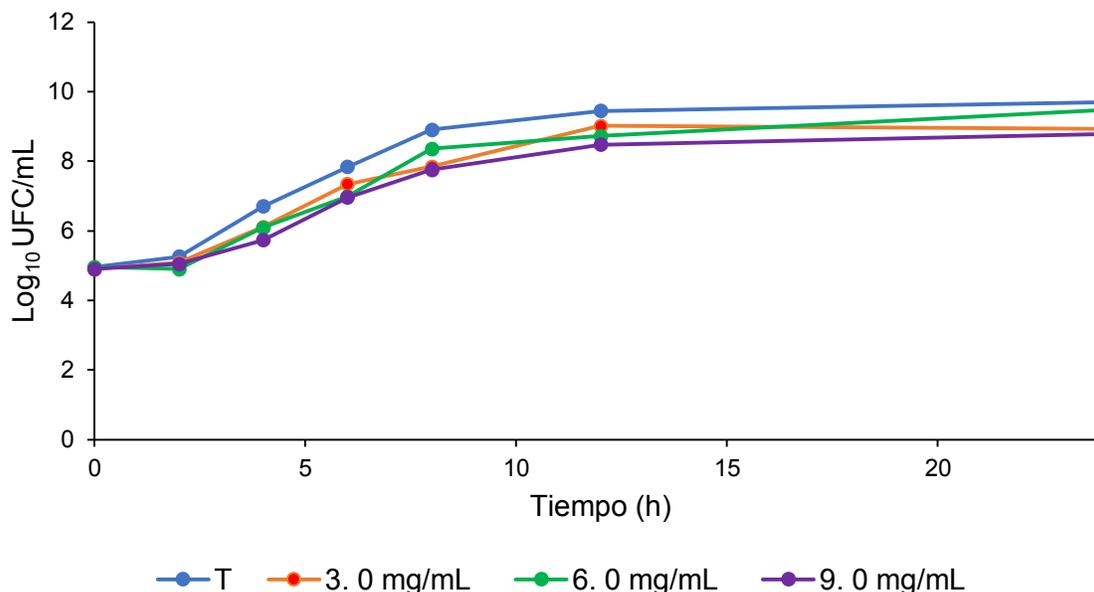


Figura 3. Efecto del extracto hexánico de *E. eglandulosa* sobre la curva de supervivencia de *S. aureus* 23MR. Los valores se expresan de forma logarítmica.

Respecto al efecto del extracto metanólico sobre el crecimiento de *K. pneumoniae*, en la figura 4, se observa que durante las primeras horas de exposición del microorganismo a las concentraciones del extracto no hay cambios significativos en el número de unidades formadoras de colonias de la población bacteriana, pero a partir de las 8 horas en todas las concentraciones (3.0, 6.0, 9.0 mg/mL) hay un descenso notable en la población respecto al testigo, por lo que el efecto es bacteriostático, sin embargo, también se observa una disminución drástica que llega a producir la muerte del 99.9% de la población bacteriana, correspondiente a la CBM, por lo que el efecto de dicho extracto también es bactericida a partir de los 9 mg/mL.

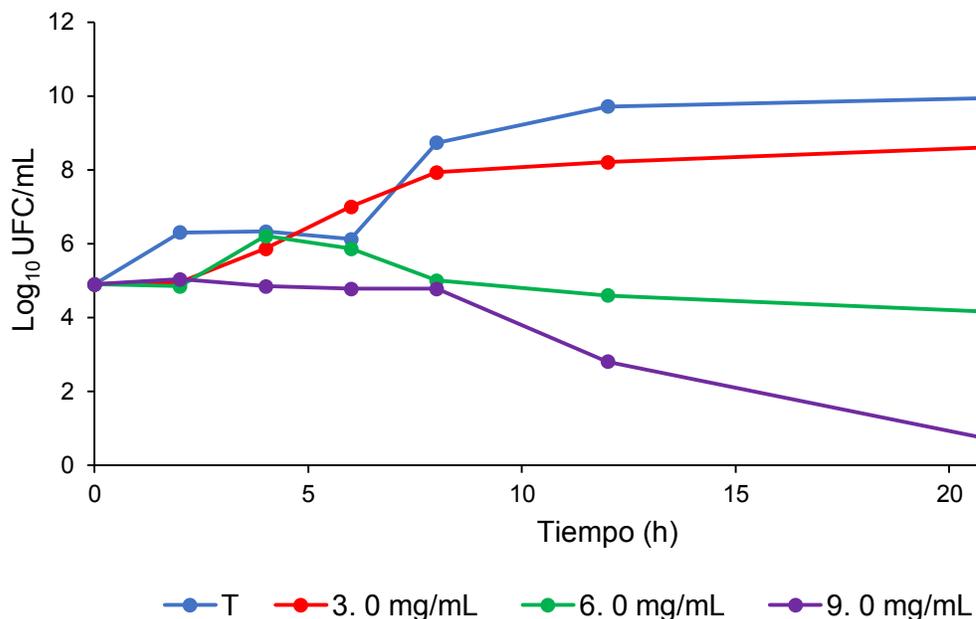


Figura 4. Efecto del extracto metanólico de *E. eglandulosa* sobre la curva de supervivencia de *K. pneumoniae*.

## 5. Actividad antifúngica

Ninguno de los extractos presentó actividad en hongos levaduriformes y en hongos miceliados.

## 6. Composición química de los extractos

En las pruebas cualitativas para la identificación de metabolitos secundarios se observaron similitudes entre el extracto de acetato de etilo y metanólico, ambos presentaron fenoles y terpenos, mientras que el extracto hexánico únicamente dio positivo a la presencia de terpenos.

Tabla 6. Composición química de los extractos de *E. eglandulosa*

Prueba	Extracto		
	Hexánico	Acetato de etilo	Metanólico
Fenoles	-	+	+
Taninos	-	-	-
Alcaloides	-	-	-
Glucósidos	-	-	-
Terpenos	+	+	+

(+ respuesta positiva, - respuesta negativa)

## Discusión

*E. eglandulosa* es una planta endémica de México, utilizada tradicionalmente en la comunidad de Santiago Quiotepec (Oaxaca) como tratamiento en infecciones oftalmológicas, por esta razón, la importancia del presente estudio radica en validar científicamente el uso de la especie en la medicina tradicional de la región.

Referente al rendimiento de los extractos, el mayor porcentaje lo presentó el extracto metanólico con 6.30%, respecto al extracto hexánico y el de acetato de etilo (Tabla 4), esta diferencia se debe a que la mayor parte de los compuestos en la planta son polares. De acuerdo con Anaya (2003), existen diversos factores físicos, químicos y biológicos, externos e internos, que pueden afectar la variación en la cantidad de metabolitos secundarios, al igual que las técnicas de secado, extracción o procesamiento de la planta. Sin embargo, también se debe tomar en cuenta la variación de metabolitos secundarios desde el punto de vista quimiotaxonómico. Cada especie está caracterizada por la presencia de un espectro característico de metabolitos secundarios distintos, originados por rutas bioquímicas con reacciones catalizadas por enzimas específicas, razón por la cual los metabolitos secundarios

tienen un sentido filogenético y coinciden con la distribución de las familias que los contienen (Cañada-Cano et al., 2014). Tal como lo demuestran estudios realizados en especies de la familia Malpighiaceae, los cuales reportan mayor cantidad de compuestos polares; Queiroz et al., (2015) identificaron compuestos de *B. armeniaca*, encontrando una alta concentración de flavonoides, principalmente quercetina (87.0%), en contribución, Saldanha y Soares (2015) recopilaron información sobre la composición química de *B. verbascifolia*, demostrando la presencia de fenoles (catequinas), flavonoides (quercetina), y triterpenos. De igual manera, Andrade et al., (2018) analizaron los compuestos de la especie *B. crassifolia* identificando en mayor proporción fenoles, flavonoides, triterpenos, taninos y glucósidos. No obstante, se recomienda hacer un análisis fitoquímico específico, pues aún no se han documentado muchos de los compuestos presentes en las especies de la familia Malpighiaceae y con ello su potencial terapéutico (Queiroz et al., 2015).

La importancia fundamental de los metabolitos secundarios es que constituyen una de las principales fuentes de agentes antimicrobianos. De acuerdo con los resultados, el extracto hexánico inhibió el crecimiento de cinco cepas bacterianas, incluyendo a *S. aureus* 23MR, *S. aureus* ATCC 29213 y *S. aureus* cc (Figura 2). La importancia de estas cepas es que son microorganismos patógenos y oportunistas adaptables, que tienen la capacidad de invadir, persistir y replicarse en cualquier tejido humano. Como resultado de la adaptación a tejidos específicos, causan síndromes patológicos tales como abscesos, bacteriemias, osteomielitis, endocarditis y conjuntivitis (García, 2006).

En lo que respecta al extracto de acetato de etilo, presentó actividad sobre *K. pneumoniae* ATCC 13883 y *P. aeruginosa* ATCC 27853, mientras que el extracto metanólico sólo presentó actividad en *K. pneumoniae* (Figura 2). *P. aeruginosa*, es un bacilo Gram negativo móvil y muy ubicuo con sencillas necesidades de crecimiento y versatilidad nutricional, que constituye en muchos casos un auténtico reto clínico, ya que este microorganismo posee mecanismos de resistencia intrínseca a diversos antibióticos. Además, su principal importancia radica en los

padecimientos que genera, tales como foliculitis, artritis séptica, otitis externa, bacteriemias, neumonía, infecciones en tracto urinario e infección ocular (Díez, 2016). Dentro de las infecciones oculares, esta cepa bacteriana puede generar conjuntivitis y queratitis (Esteve, 2006). En el caso de *K. pneumoniae* de acuerdo con Romero (2007), los microorganismos se encuentran principalmente en el aparato respiratorio y se asocia con infecciones en tejidos blandos, vías urinarias, quemaduras o heridas quirúrgicas y llega a producir abscesos pulmonares o neumonía. El principal problema de este patógeno, al igual que en los microorganismos antes mencionados, es la resistencia que presentan a la primera línea de antibióticos como la ampicilina con el 100% (Ferreira et al., 2005).

Es importante mencionar que la actividad antibacteriana que presentó *E. eglandulosa* sobre *S. aureus* y *P. aeruginosa* se relaciona con el uso de la especie por los habitantes de Santiago Quiotepec, puesto que estos dos microorganismos son causantes de las principales infecciones oculares y las más frecuentes (Noya, 2010). Sin embargo, su uso no se restringe a estas infecciones, puesto que también puede ser una alternativa en el tratamiento de diversas infecciones bacterianas asociadas a estos microorganismos incluyendo a *K. pneumoniae*.

Con relación a las infecciones oculares, además de *S. aureus* y *P. aeruginosa*, existen diversas bacterias oportunistas involucradas en estas infecciones, tales como *S. epidermidis*, *Corynebacterium sp.*, *Propionibacterium sp.*, *Micrococcus*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Sphingomonas*, *Bradyrhizobium*, *Aquabacterium*, *Brevundimonas* y *Bacillus* (Tavera et al., 2015). De acuerdo con Garg et al., (2010) el cloranfenicol es el tratamiento generalmente más utilizado en infecciones oculares, ya que su mecanismo de acción es bacteriostático, a pesar de que los microorganismos no han presentado un porcentaje muy alto de resistencia a este antibiótico, cada vez es menos utilizado debido a su potencial tóxico, además, se ha descrito que su administración como tratamiento para la conjuntivitis infecciosa presenta efectos adversos, como edema facial y de párpado, bronquiolitis, queratitis y celulitis orbitaria (Rose, 2005), por lo que en la actualidad la importancia de la utilización de sustancias naturales en el

tratamiento de enfermedades infecciosas constituye un desafío y ofrece una alternativa frente a la resistencia de muchos microorganismos a los antibióticos convencionales (Mesa, 2004).

Referente a los grupos de metabolitos secundarios presentes en los extractos, el extracto hexánico dio positivo a la presencia de terpenos, y se observaron similitudes entre el extracto de acetato de etilo y metanólico, ya que ambos presentaron fenoles y terpenos (Tabla 6).

En el caso del extracto hexánico la presencia de terpenos explica la actividad antibacteriana que presentó en cepas de *S. aureus*. Se considera que el grupo hidroxilo presente en algunas estructuras de este grupo es clave para la actividad antimicrobiana y en caso particular la actividad antibacteriana de este tipo de compuestos se debe a la perturbación de la bicapa lipídica en la membrana plasmática, que conduce a una alteración de la permeabilidad en la misma (Bueno-Sánchez, 2019). Esta afirmación es apoyada por Maguna et al., (2006), quienes fundamentan la actividad de los terpenos a partir de los principales mecanismos de acción consistentes en la disrupción de la membrana celular bacteriana mediante tres posibles vías: aumentan la permeabilidad de la membrana a iones pequeños, afectan la estabilidad estructural de la membrana o desestabilizan el empaquetamiento de la bicapa lipídica.

En cuanto al extracto de acetato de etilo y al extracto metanólico, la actividad antibacteriana esta reportada principalmente para los fenoles, lo cual se explica por la naturaleza ácida del grupo hidroxil tan característico en estos compuestos, ya que forman puentes de hidrógeno con centros enzimáticos activos de las bacterias, lo que conlleva a la alteración de su metabolismo (García, 2006).

Al evaluar la CMI y CBM, los valores para *K. pneumoniae* ATCC 13883, *S. aureus* 23MR, *S. aureus* ATCC 29213 y *S. aureus* cc, fueron mayores a 3.0 mg/mL, a excepción de *P. aeruginosa* ATCC 27853, con una CMI de 0.25 mg/mL (Tabla 5). Estos valores suelen ser altos en relación con los fármacos convencionales cuyas CMIs oscilan entre 1 a 8 µg/mL (Beltrán, 2004), sin embargo, se debe considerar que los extractos son una mezcla de metabolitos, tal como lo indica Morales (1997),

constan de una combinación de elementos activos como producto del metabolismo vegetal, por ende, no son compuestos puros.

En lo que respecta a las curvas de supervivencia (Figura 3 y 4), el efecto del extracto hexánico sobre el crecimiento de *S. aureus* fue bacteriostático puesto que generó un descenso en la población bacteriana, este hecho permite considerar su función durante el desarrollo de una infección, ya que permitiría al sistema inmune actuar a la par del antimicrobiano ayudándole a reducir o eliminar el número de sobrevivientes, tomando en cuenta que en diversas comunidades el uso de plantas medicinales constituye la fuente primaria en el tratamiento de diversas afecciones (Ingraham e Ingraham, 1998). De igual manera puede ser utilizado en sinergia o adición con antibióticos que funcionen a diferentes niveles en la estructura bacteriana y así generar un efecto eficaz que conduzca a la muerte de la población (Cordíes et al., 1998). No obstante, un agente bacteriostático también puede comportarse como bactericida de acuerdo a la concentración del antimicrobiano, tal es el caso del extracto metanólico en el crecimiento de *K. pneumoniae* (Figura 4), al pasar de un descenso en la población bacteriana a inhibir el 99.9% del crecimiento bacteriano a partir de los 9 mg/mL.

Acerca de la actividad antifúngica, se ha explorado el uso de productos naturales como fuente de nuevos y variados antifúngicos, algunos de ellos asociados a las plantas mediante la síntesis de metabolitos secundarios (Mesa, 2004). Sin embargo, en el presente estudio ninguno de los extractos tuvo actividad en hongos filamentosos y levaduriformes.

De acuerdo con Gregorí (2005) los antifúngicos tienen diversos mecanismos de acción, algunos de los más comunes inhiben la síntesis de ergosterol en la membrana celular, la síntesis de glucanos en la pared celular, la síntesis de proteínas, sistemas enzimáticos o afectan la división celular. No obstante, Cowan (1999) plantea que el mecanismo de acción de estos compuestos es variable sobre los microorganismos. Nychas (1995) ha reportado que existen compuestos dentro del grupo de los terpenos a los cuales se les ha atribuido actividad antifúngica, debido a que interactúan con sitios enzimáticos y con la membrana celular del

## Actividad antimicrobiana de *Echinopterys eglandulosa*

---

microorganismo alterando su capacidad selectiva y permitiendo el escape de componentes intracelulares. Otro ejemplo es el grupo de los fenoles, los cuales suelen producir inhibición enzimática por oxidación de compuestos (Cowan, 1999). A pesar de que en los extractos de *E. eglandulosa* se identificó la presencia estos dos grupos de metabolitos, el hecho de que no presenten actividad antifúngica se debe a que los hongos pueden generar diversos mecanismos de resistencia, entre los cuales se encuentran la sobreproducción de blancos enzimáticos, la modificación de la enzima blanco, la incapacidad de alcanzar concentraciones adecuadas del antifúngico debido a barreras de permeabilidad, la implementación de vías metabólicas alternas o sistemas de bombeo activo (Mesa, 2004; Gómez, 2010).

Finalmente, respecto al aprovechamiento de la planta, se demostró el potencial terapéutico de la parte aérea de *E. eglandulosa* y de manera particular su acción como agente antibacteriano en microorganismos asociados a infecciones oculares, lo cual comprueba la actividad biológica que se le atribuye a esta especie.

## Conclusiones

- ✿ Los extractos de *E. eglandulosa* poseen actividad antibacteriana.
- ✿ El efecto del extracto hexánico sobre el crecimiento de *S. aureus* fue bacteriostático, mientras que el efecto del extracto metanólico sobre el crecimiento de *K. pneumoniae* fue bactericida a la concentración de 9 mg/mL.
- ✿ *E. eglandulosa* no presentó actividad antifúngica.
- ✿ En los tres extractos se identificaron cualitativamente terpenos, en el caso de fenoles únicamente se identificaron en el extracto metanólico y en el de acetato de etilo.
- ✿ Se validó científicamente el uso medicinal de *E. eglandulosa* en el tratamiento de infecciones bacterianas.

## Apéndices

### Apéndice 1

#### Área de colecta

**(Rzedowski, 1978; Valiente- Banuet et al., 1998; Dávila et al., 1993; IUCN, 1990; Smith, 1965; García, 1981; SEMARNAT y CONANP, 2013)**

#### Tehuacan-Cuicatlan

El Valle de Tehuacán-Cuicatlán está comprendido dentro de la provincia florística que recibe el mismo nombre, localizada entre los 17° 48'-18° 58' de latitud N. y 96° 40'-97° 43' de longitud W. Se caracteriza por la abundancia de matorrales xerófilos en la parte poblana, en tanto que hacia el sur en los estados de Puebla y Oaxaca son comunes las comunidades dominadas por arbustos y árboles que constituyen bosques espinosos y selvas bajas caducifolias. En todas las variantes de vegetación las cactáceas columnares constituyen elementos dominantes de gran importancia (Rzedowski, 1978; Valiente- Banuet et al., 1998). El Valle es un área situada en la porción centro-sur de México, entre los estados de Puebla y Oaxaca, es considerado como el desierto más meridional de México, debido a que se encuentra situado al sur de los 20° de latitud Norte (Rzedowski, 1978). Esta zona árida ha sido reiteradamente reconocida por su sorprendente riqueza vegetal, en la que predominan especies de afinidad neotropical y que incluye un gran número de endemismos (Dávila et al., 1993; IUCN, 1990; Smith, 1965).

#### Santiago Quiotepec

La comunidad de Santiago Quiotepec está ubicada al noreste del estado de Oaxaca, entre los 17° 54' latitud norte y los 96° 59' longitud oeste, a una altitud de 545 msnm. Se encuentra en la depresión denominada "Cañada Poblano-Oaxaqueña", colindando al norte y oeste con la comunidad de Tecomavaca, al noreste con

## Actividad antimicrobiana de *Echinopterys eglandulosa*

Coyula, al este con Concepción Pápalo, y al sur con Cuicatlán, formando parte de este último municipio (García, 1981).

De acuerdo con SEMARNAT y CONANP (2013) esta comunidad se encuentra dentro de la Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán, la cual es un Área Natural Protegida (ANP) ocupando una superficie de 4110.277 ha., el tipo de clima en esta zona es semiárido, el más seco de los BS. Presenta un régimen de lluvias de verano, con una precipitación media anual de 508.4 mm, y una temperatura media anual de 25.1 °C. De manera particular, el municipio de Santiago Quiotepec se beneficia de un clima semiárido muy seco ya que recibe una precipitación anual de sólo 500 mm, mientras que su temperatura promedio supera los 25°C, las lluvias se concentran entre junio y septiembre principalmente. Entre los ríos más importantes se encuentran el río Grande, Salado, el Cacahuatal, y el río Chico (García, 1981).

La vegetación de Quiotepec es predominantemente bosque tropical decido, jiotillal, tetechera, cardonales dominados por *Pachycereus weberi* y bosque de galería (Valiente-Banuet *et al.* 1998).

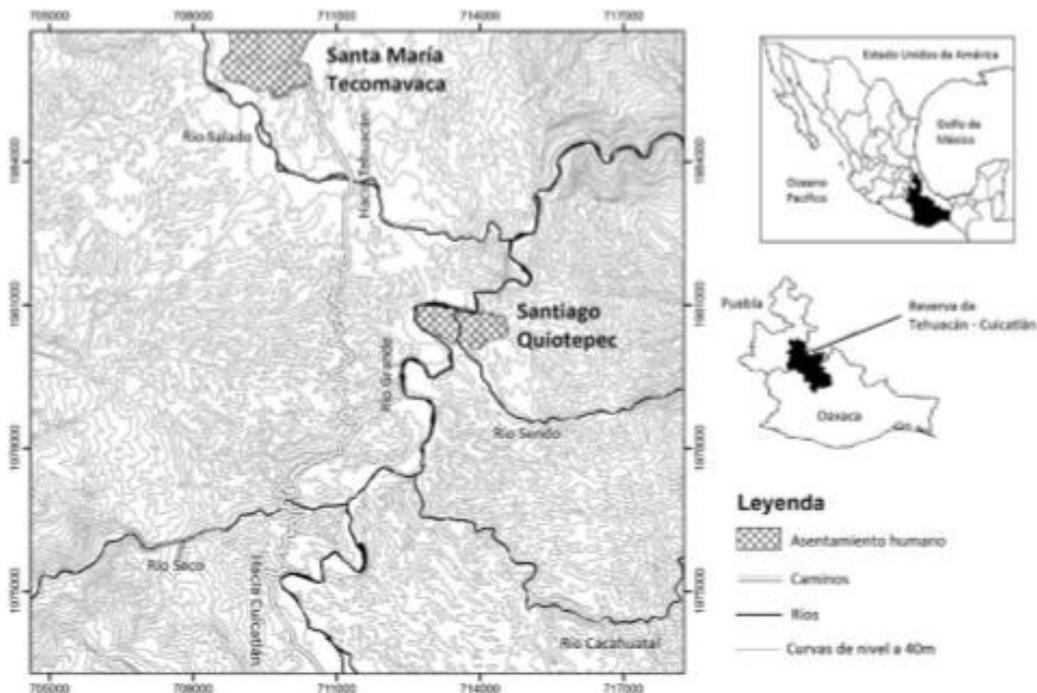


Figura 5. Ubicación de Santiago Quiotepec

## Apéndice 2

### Caracterización de la planta

(León, 2014; Anderson, 1981; Cuatrecasas, 1981; León, 2005)

#### Familia Malpighiaceae

Malpighiaceae es una familia de bejucos, arbustos o pequeños árboles de amplia distribución en los trópicos del mundo. En México se han registrado 23 géneros y 150 especies. Muchas de estas especies se desarrollan en los bosques tropicales caducifolios y otras en bosque mesófilo de montaña o en vegetación secundaria y matorral.

Uno de los caracteres diagnósticos más importantes de la familia Malpighiaceae es su peculiar vestidura o indumento que consiste de tricomas unicelulares, bifurcados, generalmente en forma de T o Y, llamados tricomas malpighiáceos, estos pueden ser sésiles o estipitados (Anderson, 1981; Cuatrecasas, 1981). Los tricomas pueden variar de color, generalmente en casi todos los géneros son de color blanquecino; en especies del género *Guadichaudia* son de color crema o amarillo y en especies de los géneros *Heteropterys* y *Galphimia* son principalmente ferrugíneos. Los tricomas malpighiáceos se localizan generalmente en los tallos, hojas, peciolo, inflorescencias, ovario, excepto en el ovario de algunos géneros (*Bunchosia*, *Byrsonima*, *Echinopterys*, *Galphimia*, *Lasiocarpus* y *Malpighia*) que presentan únicamente tricomas simples o cerdosos y principalmente en los frutos esquizocárpicos.

#### *Echinopterys eglandulosa*

Reino: Plantae

Division: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Malpighiales

## Actividad antimicrobiana de *Echinopterys eglandulosa*

---

Familia: Malpighiaceae

Género: *Echinopterys*

Especie: *Echinopterys eglandulosa*

### Sinónimos

*Bunchosia eglandulosa* Adr. Juss.

*Echinopterys lappula* Adr. Juss.

### Nombre común

Mal de ojo

Bejuco de margarita (Morelos)

### Descripción

**Arbustos** con ramas escandentes, de 0.50 a 2.5 m de alto. **Tallos** gruesos, pardo-rojizos, glabros, ramas jóvenes verdes, seríceas. **Hojas** alternas, con pecíolos de 5 a 13 mm de largo, acanalados, seríceo-tomentosos; estípulas triangulares de 0.5 mm de largo, 0.4 mm de ancho; láminas ovadas, de 2 a 4.5 cm de largo, 0.6 a 2.2 cm de ancho, ápice agudo, apiculado, base aguda u obtusa, vena media prominente en el envés, 3 o 4 venas laterales arqueadas inconspicuas en haz y envés, haz y envés seríceo-tomentosos, envés glabrescente. **Inflorescencias** de 10 a 15 cm de largo, pedúnculos de 0.8 a 1.5 cm de largo, seríceos; brácteas ovadas, de 1.8 a 2.2 mm de largo, 0.4 mm de ancho, ápice acuminado, margen escarioso, glabrescentes. **Flores** de 1.3 cm de diámetro en anthesis; bractéolas opuestas o subopuestas y apicales, ovadas, de 1 a 1.2 mm de largo, 0.4 mm de ancho, ápice agudo, glabrescentes; pedicelos de 6 a 8 mm de largo, por arriba de la articulación, seríceos; sépalos elípticos, de 2 a 2.2 mm de largo y 1 a 1.2 mm de ancho, ápice obtuso, margen escarioso, seríceos; los 4 pétalos laterales, ovados a elípticos, de 4.5 mm de largo y 3.8 mm de ancho, ápice redondeado, margen ligeramente crenado y sinuado, base aguda u obtusa, con uña recta, de 1 a 1.6 mm de largo, 0.5 a 0.6 mm de ancho, pétalo posterior con limbo anchamente obovado, de aproximadamente 4.5 mm, 4.8 mm de ancho, ápice redondeado, margen crenado,

## Actividad antimicrobiana de *Echinopterys eglandulosa*

---

base decurrente con uña recurvada y acanalada de 3.4 mm de largo, 1 a 1.5 mm de ancho; filamentos de 1.5 a 2 mm de largo, tomentosos, anteras de 1.5 mm de largo y 0.7 mm de ancho; ovario 2 mm de diámetro, piloso; estilos de 2.7 a 2.9 mm de largo. **Frutos** pardo-rojizos, de 1.8 a 2 mm de largo, ásperos, pilosos con tricomas blanquecinos y con cerdas rojizas, de 0.1 a 0.2 mm de largo e hirsutas. Semillas de 1.5 a 1.8 mm de largo y 1 mm de ancho (León, 2014).

### Fenología

Florece y fructifica de agosto y noviembre (León, 2005).

### Hábitat

Bosque tropical caducifolio y matorral xerófilo (León, 2005).

### Altitud

800 a 1450 m.

### Distribución

México (Chihuahua, Durango, Guerrero, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Sinaloa, Sonora, Zacatecas) (León, 2014).

### Usos

En el estado de Morelos el tallo del Bejuco de margarita sirve para contrarrestar la rabia. La cocción del tallo se usa para bañar a la persona que recibió el piquete de alacrán (León, 2005).

### Propiedades químicas

No existe información sobre aspectos fitoquímicos ni farmacológicos (León, 2005).



Figura 6. *Echinopterys eglandulosa* (Adr. Juss.) Small. A) Rama con hojas e inflorescencia, B) Flor mostrando el pétalo posterior, C) Gineceo, D) Fruto.

## **Apéndice 3**

### **Extracción**

**(Sharapin et al., 2000)**

El proceso de maceración consiste en poner el material vegetal seco y pulverizado en contacto con el solvente durante varios días para obtener el máximo rendimiento. Se trata de un proceso que da como resultado un equilibrio de concentración entre la planta y el solvente y depende de factores como su naturaleza, el tamaño de la partícula, su contenido de humedad, cantidad y factores que están relacionados con el solvente, como la selectividad y cantidad. La superficie de contacto es un factor importante, porque aumenta la permeabilidad de la pared celular y la difusión del solvente. En relación con la polaridad, se sugiere realizar el proceso de maceración a partir de solventes que vayan en polaridad ascendente para aumentar el aprovechamiento, posteriormente el extracto se debe filtrar y destilar. La extracción se realiza cuantas veces sea necesario, hasta que el solvente ya no adquiera coloración.

## **Apéndice 4**

### **Destilación (Fieser, 1967)**

Esta técnica permite separar la fracción más volátil de un producto. Se emplea un rota vapor, que permite condensar las pequeñas gotas que se generan al aplicar calor; trabajando a presiones reducidas se consigue evaporar los líquidos a bajas temperaturas (entre los 30 y 60° aproximadamente en función de la potencia de la bomba de vacío y el punto de ebullición del solvente) con lo que se respeta al máximo el producto original.

## Apéndice 5

### Método de difusión en agar de Kirby-Bauer

(Rodríguez et al., 2005; Koneman et al., 2008)

Este método se utiliza para evaluar cualitativamente la actividad antimicrobiana (bacterias y hongos levaduriformes) de los extractos.

#### Medio de cultivo

Para los bioensayos en bacterias se utiliza como medio de cultivo agar Muller Hinton y para los bioensayos en hongos levaduriformes se utiliza PDA. Es importante que el medio alcance en la placa un espesor uniforme de 4 mm, si es más delgado las sustancias a evaluar tienden a difundir más en dirección lateral aumentando el tamaño de las zonas de inhibición; por el contrario, un agar de más de 4mm de espesor producen una mayor difusión del antibiótico hacia abajo, con tendencia a estrechar artificialmente las zonas de inhibición.

#### Inóculo

El inóculo se prepara tocando con un asa de siembra las superficies convexas de 4 o 5 colonias, posteriormente, se sumerge en 10 mL de caldo Mueller Hinton y se enjuaga bien en el líquido para descargar todo el material. Se incuba el tubo a 37° C de 18 a 24 horas o hasta que la turbidez del medio sea equivalente al estándar 0.5 de McFarland. Esto equivale a una concentración de aproximadamente  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL.

El estándar 0.5 de Mc Farland se prepara añadiendo 0.5 mL de  $\text{BaCl}_2$  a 99.5 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.36 N. La comparación de turbidez entre el estándar y el caldo con los microorganismos se pueden efectuar observándolos contra una cartulina blanca con líneas negras horizontales o en su efecto con un espectrofotómetro a 660 nm. Si la suspensión de organismos es menos turbia que el estándar, se vuelve a incubar el tubo; si, por el contrario, la suspensión de organismos es más turbia que el estándar, se añade solución salina al 0.9% hasta igualarlas. Una vez igualada la

## Actividad antimicrobiana de *Echinopterys eglandulosa*

---

concentración del tubo a la turbidez del estándar, se sumerge un hisopo estéril en el tubo con la suspensión bacteriana y se retira, eliminando el exceso de líquido rotándolo en la pared interna del tubo. Con el hisopo se inocula la superficie de una placa con agar Mueller Hinton y se siembra mediante estrías en por lo menos tres direcciones, dando vueltas a la placa en ángulos de aproximadamente 60° luego de cada estría.

### Aplicación de extractos

Se emplean discos de papel absorbente de 5 mm de diámetro, impregnados con una concentración conocida del antimicrobiano. Estos discos se colocan en la superficie de las placas de agar, utilizando 2 mg de los extractos disueltos en 10 µl del disolvente correspondiente a cada extracto. Cuando el disco se humedece el antimicrobiano difunde de manera radial hacia afuera y crea un gradiente de concentración por disco, por lo que cada sensidisco debe colocarse 22 mm separado uno del otro y a 14 mm del borde de la placa para evitar que las zonas de inhibición se superpongan o se extiendan hasta el margen de la caja. El diámetro del anillo de inhibición dependerá de la sensibilidad o resistencia del microorganismo por probar, así como también la solubilidad del antibiótico y de la tasa de difusión a través del agar. Si presentan zonas de inhibición alrededor de los discos, se deben medir los diámetros.

### Control negativo

Sensidiscos con 10 µL del solvente correspondiente al extracto que se va a evaluar.

### Control positivo

Sensidiscos impregnados con 25 µg de cloranfenicol en el caso de bacterias y 25 µg de nistatina para hongos levaduriformes.

## Apéndice 6

### Método cualitativo de inhibición del crecimiento radial

(Fisher y Cook, 2001)

Este método se utiliza para evaluar cualitativamente la actividad antifúngica de los extractos en hongos miceliados mediante la difusión de los extractos en el agar, comprobando si existen zonas de inhibición o deformación en el crecimiento de los microorganismos.

#### Medio de cultivo e inóculo

Se utilizan cajas Petri con 20 mL de PDA, en las cuales se inocula un botón de micelio del hongo de aproximadamente 5 mm.

#### Aplicación de extractos

Se utilizan sensidiscos de 5 mm de diámetro impregnados con 2 mg de los extractos disueltos en 10  $\mu$ L del disolvente correspondiente a cada extracto. Estos se colocan alrededor del botón de micelio. Posteriormente las cajas se incuban durante 72 a 96 horas. La interpretación se realiza midiendo las zonas de inhibición de crecimiento micelial o la deformación del mismo.

#### Control negativo

Sensidiscos con 10  $\mu$ L del solvente correspondiente al extracto que se va a evaluar.

#### Control positivo

Como control positivo se utilizan sensidiscos impregnados con 60  $\mu$ g de ketokonazol.

## Apéndice 7

### Método de dilución en agar (Koneman et al., 2008)

Esta técnica permite determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Bactericida Mínima (CBM).

Para este bioensayo se evalúan diferentes concentraciones de los extractos que resultan con actividad antimicrobiana (0.0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0 y 3.0 mg/mL). Para ello se prepara una solución patrón y con base en esta se toman las alícuotas con las diferentes concentraciones de extracto, posteriormente estas se agregan a 20 mL de agar Mueller Hinton con la finalidad de obtener las concentraciones señaladas. Una vez agregada cada concentración del extracto, la mezcla se agita para obtener una dispersión homogénea y se toman 50 µL para cada pozo en placas de 96 pozos con caldo Muller Hinton. Las placas se incuban a 37°C durante 24 horas.

#### Inóculo

El inóculo consiste en una suspensión bacteriana con una concentración de  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL. Se toma el inóculo con la ayuda de una micropipeta tomando 50 µL, los cuales se colocan sobre las placas con los extractos a diferentes concentraciones

#### Control negativo

Pozos con diferentes solventes de acuerdo con el volumen de las alícuotas utilizadas.

#### Control positivo

Pozos sin extracto.

#### Interpretación

## Actividad antimicrobiana de *Echinopterys eglandulosa*

---

Se considera CMI a la mínima concentración en la que se observa una disminución drástica del crecimiento bacteriano, mientras que la CBM es aquella que inhibe el 99.9% del crecimiento bacteriano.

## Apéndice 8

### Método cuantitativo de inhibición de crecimiento radial

(Wang y Bun, 2002)

Este método permite evaluar cuantitativamente la actividad antifúngica de los extractos sobre hongos miceliados.

Se lleva a cabo en placas de 12 pozos con agar PDA, en las cuales se evalúan concentraciones del antibiótico, en este caso las concentraciones fueron: 0.0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 2.0, 3.0 y 4.0 mg/mL.

#### Inóculo

Las placas de 12 pozos tendrán 1.5 mL de agar PDA y las diferentes concentraciones de los extractos. Después se coloca un 1 mm de diámetro del micelio del hongo en el centro de los pozos. Posteriormente las cajas son incubadas de 24 a 72 horas a 28°C (o hasta que hay crecido el micelio). Todos los bioensayos se realizan por triplicado.

#### Control negativo

Como control negativo se utilizan placas con el solvente correspondiente a cada extracto.

Para interpretar los resultados se mide el crecimiento del hongo y se realiza una gráfica dosis-respuesta, en la que la respuesta es el porcentaje de inhibición, tomando en cuenta que el grupo testigo es el 0% de inhibición; se reporta en porcentaje de inhibición la CFM, la cual es la que presenta 100% de inhibición del hongo y la CF<sub>50</sub> representa el 50% inhibición. Lo anterior se realiza con un modelo matemático.

#### Testigo

Placas sin extractos para comparar la velocidad de crecimiento

### Interpretación

Los resultados se representan en porcentajes de inhibición, teniendo en cuenta que la concentración que representa el 100% de inhibición es aquella en la que ya no se observa crecimiento, la cual corresponde a la Concentración Fungicida Mínima (CFM), mientras que la concentración que representa el 50% de inhibición corresponde a la Concentración Fungicida Media (CF<sub>50</sub>) y estas se determinan respecto al grupo testigo, el cual representa el 0% de inhibición. De lo anterior se debe realizar una gráfica dosis-respuesta a través de un modelo matemático.

## Apéndice 9

### Curvas de supervivencia

(Ávila, 1996)

Este método permite determinar el efecto de los extractos sobre la curva de crecimiento bacteriano en base a la CMI y a la CBM.

Se debe preparar y rotular un tubo con el extracto problema (stock), a partir del cual se realizarán las concentraciones del antimicrobiano, que en este caso fueron de 3, 6 y 9 mg/mL. Una vez establecidas las concentraciones serán colocadas en cuatro tubos de con 1.5 mL de caldo cerebro corazón.

#### Inóculo

El inóculo se prepara en un tubo de ensayo con 10 mL de caldo Muller Hinton, a partir de una colonia bacteriana tomada directamente de la población original, que equivale aproximadamente a  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL (12-18 h de incubación).

A partir del inóculo se deben colocar 10  $\mu$ L en un tubo de 10 mL con solución salina equivalente a  $1.5 \times 10^5$  UFC/mL; de este último, se colocan 12  $\mu$ L en cada uno de los cuatro tubos que contienen el caldo cerebro corazón con las concentraciones del extracto. Los tubos se deben incubar durante todo el experimento en una estufa sin presión de CO<sub>2</sub> a 37° C.

#### Tiempo de muestreo

Se muestrea cada dos horas (T<sub>0</sub>-0, T<sub>1</sub>-2, T<sub>2</sub>-4, T<sub>3</sub>-6, T<sub>4</sub>-8, T<sub>5</sub>-12, T<sub>6</sub>-24) (tiempo-horas transcurridas). De acuerdo al tubo correspondiente a cada concentración se deben tomar 50  $\mu$ L y colocarlos en viales con 5mL de solución salina, dependiendo de la turbidez y el crecimiento del microorganismo. Posteriormente se deben colocar 50  $\mu$ L del mismo vial en cada septo correspondiente a la concentración dentro de las cajas y se deberá extender en el agar por estría. Las cajas se deben incubar a 37°C.

## Actividad antimicrobiana de *Echinopterys eglandulosa*

---

### ✿ Diluciones

Para determinar las UFC/mL en cada tiempo, se realizan dos diluciones de cada concentración en solución salina estéril y se siembran en placas con agar para permitir su crecimiento. Estas se incuban durante 24 horas a 37°C.

### ✿ Interpretación de resultados

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

## Apéndice 10

### Determinación cualitativa de metabolitos secundarios

(Domínguez, 1985)

#### Fenoles

Para esta prueba, se requiere 1 mL de la solución patrón a la cual se le agregan 3 gotas de cloruro férrico al 1%, esta se debe mezclar uniformemente. La prueba es positiva si presenta una coloración azul o verde.

#### Taninos

Para esta prueba se requiere que solución patrón sea positiva de fenoles, es necesario adicionar 3 gotas de reactivo de gelatina al 1% y mezclar uniformemente. La prueba es positiva si presenta un precipitado azul o verde oscuro.

#### Alcaloides

Para afirmar la presencia de estos metabolitos es necesario realizar la prueba con el reactivo Mayer y Dragendorf.

Se requiere 1 mL de la solución patrón para cada caso, al cual se le adicionaran 3 gotas de reactivo Dragendorf o Mayer, posteriormente se mezclan y se interpretan. La prueba es positiva si genera un precipitado color rojizo o un precipitado lechoso.

#### Glucósidos

A 1 mL de solución patrón, se le adicionan 3 gotas de  $\alpha$ -naftol y HCl. La prueba es positiva si genera un anillo morado.

#### Terpenos

Se emplean placas de sílica gel 60 F<sub>254</sub> de 2 cm de ancho por 5 cm de largo, a las cuales se coloca una gota de solución patrón (extracto con el solvente

## Actividad antimicrobiana de *Echinopterys eglandulosa*

---

correspondiente) en el centro y se deja saturar en una cámara cromatográfica, se mantiene ahí hasta que avanza aproximadamente 3 cm, posteriormente se adiciona 1 gota de vainillina y una gota de ácido sulfúrico al 5%, se deja secar y se calienta en una parrilla a temperatura baja. La prueba es positiva si presenta un halo azul verdoso, morado o naranja rojizo.

## Literatura citada

- ✿ Anaya, L. A. 2003. Ecología Química. Ed. Plaza y Valdés, S.A. de C.V. México. 39-63 p.
- ✿ Anderson, W. R. 1981. Malpighiaceae. Botany of the Guiana Highland - Part XI. Memoirs of the New York Botanical Garden. 32: 21-305.
- ✿ Andrade, B. S., R. Matías, B. O. Corrêa, A. K. M.Oliveira, D. G. F. Guidolin y A. R. Roel. 2018. Phytochemistry, antioxidant potential and antifungal of *Byrsonima crassifolia* on soil phytopathogen control. Brazilian. Journal of. Biology. Epub July 10, 2017. [https://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.166532.78\(1\):140-146](https://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.166532.78(1):140-146).
- ✿ Ávalos, G. A., C. E. Pérez-Urria. 2009. Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2(3): 119-145.
- ✿ Ávila, J. G. 1996. Actividad anti-*Vibrio Cholerae* de dos plantas utilizadas en la medicina tradicional purépecha. Tesis de maestría. FES-Cuautitlán. UNAM. México. 234 p.
- ✿ Beltrán, C. 2004. Farmacocinética y farmacodinamia de antimicrobianos: Utilidad práctica. Revista chilena de Infectología. 21(1): 39-44.
- ✿ Bonacorsi, C., M. S. G. Raddi, I. Z. Carlos, M. Sannomiya, W. Vilegas. 2009. Anti *Helicobacter pylory* activity and immunostimulatory effect of extracts from *Byrsonima crassa Nied.* (Malpighiaceae). BMC Complement Altern Med. 9: 2. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-9-2>.
- ✿ Bueno-Sánchez, J., J. Martínez-Morales y E. Stashenko. 2009. Actividad antimicrobiana de terpenos. Salud UIS. 41: 231-235.
- ✿ Cañada-Cano, B., J. Vicente-Orellana, A. Galán-de Mera. 2014. Filogenia de las angiospermas y fitoquímica. Perspectiva. 15(17): 15-25.
- ✿ Cordés, J., R. Machado y C. Hamilton. 1998. Principios generales de la terapéutica antimicrobiana. Acta Medica. 8(1): 13-27.
- ✿ Cowan, M. 1999. Plant products as an antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews. 10: 564-582.
- ✿ Cuatrecasas, J. 1958. Prima flora colombiana 2. Malpighiaceae. Biotrópica 11(3): 219-223.

- ✿ Dávila, P. A., J. L., Villaseñor., R., Medina., A., Ramírez., A., Salinas., J., Sánchez-Ken y P. Tenorio. 1993. Listado florístico de México. X. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. UNAM. Instituto de biología. 195 p.
- ✿ Díez, A. 2016. Nuevas aportaciones de fosfomicina frente a *Pseudomonas aeruginosa*: caracterización fenotípica y molecular de la resistencia, asociaciones antibióticas y modelos de biopelículas. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid, España.
- ✿ Domínguez, X. A. 1985. *Métodos de Investigación Fotoquímica*. 3ª ed. Limusa. México. 281 p.
- ✿ Esteva, E. 2006. Infecciones oculares: Tipos, tratamiento y consejo farmacéuticos. OFFARM. 25(4): 58-62.
- ✿ Ferreira, F., S. Olaya, P. Zúñiga, M. Angulo. 2005. Infección urinaria durante el embarazo, perfil de resistencia bacteriana al tratamiento en el Hospital General de Neiva, Colombia. Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología. 56 (3): 239-243.
- ✿ Fieser, F. L. 1967. Experimentos de Química Orgánica. Reverte, S.A. España. 466 p.
- ✿ Fisher, F. y N. B. Cook. 2001. Micología: Fundamentos y diagnóstico. Revinter. 337 p.
- ✿ García, E. 1981. Modificaciones al Sistema de clasificación climática de Koppen. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México.
- ✿ García, L. 2006. Actividad antibacteriana de extractos vegetales en cepas hospitalarias de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple. Tesis doctoral. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Torreón, Coahuila, México. 124 p.
- ✿ Garg, A., J. Sheppard, E. Donnenfeld, M. Friedlaender. 2010. Tratamiento Antibiótico y Antiinflamatorio en Oftalmología. Editorial Médica Panamericana. España. 616 p.
- ✿ Gómez, Q. 2010. Resistencia de levaduras del género *Cándida* al fluconazol. Infectio. 14(52): S172-S180.

## Actividad antimicrobiana de *Echinopterys eglandulosa*

---

- ✿ Gregorí, V. 2005. Estructura y actividad de los anti fúngicos. *Revista Cubana de Farmacia*. 39(2): 1-15.
- ✿ Hoogesteger, C. 1994. Uso de plantas medicinales. *Árbol*, S.A. de C.V. México. 55 p.
- ✿ Ingraham, L., A. Ingraham. 1998. *Introducción a la microbiología*. Ed. Reverte, S.A. pp. 495.
- ✿ IUCN. 1990. *Centres of plant diversity. An introduction to the Project with guidelines for collaborators*. Parchment (Oxford) Ltd., Kew, Inglaterra. 31 p.
- ✿ Koneman, E. W., S. D. Allen, M. W. Janda, W. G. Procop, C. P. Schreckenberger y L. G. Woods. 2008. *Koneman: Diagnóstico microbiológico, texto y atlas en color*. Editorial Médica panamericana. España. 1691 p.
- ✿ León, V. M. 2005. *Catálogo de las especies útiles de la familia Malpighiaceae en el Estado de México y zonas aledañas*. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. México. 61-62 p.
- ✿ León, V. 2014. *Flora de Guerrero: Malpighiaceae*. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias. México. 128 p.
- ✿ Maguna, F., Romero, A., Garro, O., Okulik, N. 2006. *Actividad Antimicrobiana de un grupo de Terpenoides*. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas.
- ✿ Martínez, A. M., O. V. Evangelista, C. M. Mendoza, G. G. Morales, O. G. Toledo y L. A. Wong. 2001. *Catálogo de planta útiles de la Sierra Norte de Puebla, México*. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. 299 p.
- ✿ Mendoza, P. N. 2008. *Farmacología Médica*. Editorial Médica Panamericana, S.A. de C.V. México. 928 p.
- ✿ Mesa, A. C., J.G. Bueno, L. A. Betancur. 2004. Productos naturales con actividad antimicótica. *Revista Española de Quimioterapia*. 17(4): 326-327.
- ✿ Michelin, C. D., M. Sannomiya, E. M. Figueiredo, D. Rinaldo, C. L. dos Santos, M. A. Souza-Brito, W. Vilegas, y N. H. Salgado. 2008. *Antimicrobial*

## Actividad antimicrobiana de *Echinopterys eglandulosa*

---

- activity of *Byrsonima* species (Malpighiaceae). *Revista brasileira de farmacognosia*. 18: 690-695.
- ✿ Morales, L. 1997. Evaluación del potencial insecticida de cinco especies forestales. Tesis maestría. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. 34-36 p.
  - ✿ Nychas, G. J. 1995. Natural antimicrobials from plants. En *New Methods of food preservation*. Editorial Gould G. W., Chapman & Hall. London. 58-59 p.
  - ✿ Noya, C., D. Llamas, A. Rodríguez, H. Rojas, S. Castro, D. Méndez. 2010. Incidencia y fármaco-resistencia de cepas de *Staphylococcus spp.* Aisladas de exudados conjuntivales. *Revista Cubana de Oftalmología*. 23: 568-579.
  - ✿ Ocegueda, S., E. Moreno y P. Koleff. 2005. Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica. *CONABIO. Biodiversitas*. 62: 12-15.
  - ✿ Orozco, M.J. 2017. Plantas medicinales utilizadas en Santiago Quioitepec, Oaxaca. Artículo pendiente.
  - ✿ Padua, M. S., Mendes-Costa, M. C., Ferreira, J. M., Magalhaes, J. C., Castro, A. H. 2013. Assessment of antimicrobial activity in vitro of ethanolic extracts of *Banisteriopsis anisandra* (A. Juss.) B. Gates (Malpighiaceae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 15(3): 431-437.
  - ✿ Ponz, S. E., T. G. Carpio y C. S. Meo. 2005. Medicina tradicional de los Tacana y Machineri. *PIEB (Programa de Investigación Estratégica en Bolivia)*. Bolivia. 185 p.
  - ✿ Queiroz, S., M. Heller, F. Arruda-Silva, S. Nascimento, A. Micke, M. Dalmarco, G. Pizzolatti, C. Brighente. 2015. Antibacterial and Anti-Inflammatory activities of *Bunchosia armeniaca* (Cav.) DC. (Malpighiaceae). *Records of Natural Products* . 9(3): 419-431.
  - ✿ Red de herbarios del Noreste de México. 2014. *Echinopterys eglandulosa*. *SEINet*. <http://herbanwmex.net/portal/index.php>. Fecha de consulta: 18 de octubre de 2018.

- ✿ Rodríguez, C. E., C.M. Gamboa, C. F. Hernández y H. J. García, 2005. Bacteriología general: Principios y prácticas de laboratorio. Universidad de Costa Rica. 339 p.
- ✿ Romero, C. 2007. Microbiología y Parasitología Humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. 3°ed. Editorial Medica Panamericana. España. 746 p.
- ✿ Rose, P., A. Harnden, A. Brueggemann, R. Perera, A. Sheikh, D. Crook, D. Mant. 2005. Chloramphenicol treatment for acute infective conjunctivitis in children in primary care: a randomised double-blind placebo-controlled trial. Lancet. 336: 37-43.
- ✿ Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Editorial Limusa. México, D.F.
- ✿ Saldanha, A. y A. Soares. 2015. Composición química, aspectos botánicos, etnobotánicos y farmacológicos de *Byrsonima verbascifolia* Rich ex. A. Juss. Revista Brasileira de Plantas Medicinaiis. Campinas. 17(4): 1000-1006.
- ✿ Sarukhán, J., P. Koleff, J. Carabias, J. Soberon, R. Dirzo, J. Llorente-Bousquets, G. Halffter, R. Gonzales, I. March, A. Mohar, S. Anta y, J. de la Maza. 2009. Capital natural de México. Síntesis: conocimiento actual, evaluación y perspectivas de sustentabilidad. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. 102 p.
- ✿ Sharapin, N., R. Machado, C. Souza, L. Rocha de Albuquerque., S. Macedo y A. López. 2000. Fundamentos de tecnología de productos fito terapéuticos. Área de Ciencia y Tecnología del Convenio Andrés Bello & Red Iberoamericana de Productos Fitofarmacéuticos (RIPROFITO) del Subprograma X del CYTED. Colombia. 41-45 p.
- ✿ SEMARNAT y CONANP .2013. Programa de manejo: Reserva de la biosfera Tehuacan- Cuicatlan. 336 p.
- ✿ Smith, C.E. 1965. Flora, Tehuacan Valley. Fieldiana Botany, 31: 101-143.
- ✿ Tavera, M., L. Acosta, M.F. Rodríguez. 2015. Bacterias oportunistas involucradas en infecciones oculares. Ciencia & Tecnología para la Salud Visual y Ocular. 13(2): 73-84.

## Actividad antimicrobiana de *Echinopterys eglandulosa*

---

- ✿ Valiente-Banuet, A., N. Flores-Hernández, M. Verdum, P. Davila, 1998. The chaparral vegetation in Mexico under a non-mediterranean climate: The convergence and madreantethyan hyphoteses reconsidered. *American Journal of Botany*. 85: 1398-1408.
- ✿ Wang, H. y T.N. Bun. 2002. Insolation of an Antifungal Thaumatin-like protein from kiwin fruits. *Phytochemistry*. 61: 1-6.
- ✿ Wagner, H., S. Bladt. 1996. *Plant drug analysis*. Editorial Springer, Germany. 368 p.