UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

"PLANTAS UTILIZADAS EN LA MEDICINA TRADICIONAL MEXICANA COMO FUENTES DE COMPUESTOS PROTOTIPO PARA EL DESARROLLO DE FÁRMACOS CON ACTIVIDAD LEISHMANICIDA."

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

PRESENTA

QFB RONNA DELGADO ALTAMIRANO

DIRIGIDO POR

Dra. ALEJANDRA ROJAS MOLINA

QUERÉTARO
CENTRO UNIVERSITARIO
SEPTIEMBRE 2015
MÉXICO

REPOSITORIO INSTITUCIONAL DGBSDI-UAQ

La presente obra está bajo la licencia:
https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es

CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:

Atribución — Usted debe dar crédito de manera adecuada , brindar un enlace a la licencia, e indicar si se han realizado cambios . Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.

NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con propósitos comerciales .

SinDerivadas — Si remezcla, transforma o crea a partir del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una excepción o limitación aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como publicidad, privacidad, o derechos morales pueden limitar la forma en que utilice el material.

Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

Maestría en Ciencias Químico Biológicas

PLANTAS UTILIZADAS EN LA MEDICINA TRADICIONAL MEXICANA COMO FUENTES DE COMPUESTOS PROTOTIPO PARA EL DESARROLLO DE FÁRMACOS CON ACTIVIDAD LEISHMANICIDA.

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el título de

Maestría en Ciencias Químico Biológicas

Presenta:

QFB Ronna Delgado Altamirano

Dirigido por:

Dra. Alejandra Rojas Molina

SINODALES

Dra. Alejandra Rojas Molina Presidente	Alejandra Rojas M. Firma
Dr. César Ibarra Alvarado Secretario	Firma
Dra. Laura Cristina Berumen Segura Vocal	Firma
Dra. Lianet Monzote Fidalgo Suplente	Firma
Dr. Ramón Marcos Soto Hernández Suplente	Firma

MSP Sergio Pacheco Hernández
Director de la Facultad

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado

Para mi mamá, por estar ahí siempre.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la asignación de la beca de maestría (Julio 2013-Julio 2015) y por el apoyo en el programa de becas mixtas de movilidad en el extranjero (Mayo-Junio, 2014).

Al Fondo de Proyectos Especiales de Rectoría (FOPER) de la Universidad Autónoma de Querétaro por el apoyo económico brindado a este proyecto de maestría (Febrero-Noviembre, 2015).

Al Fondo Mixto de Fomento a la Investigación Científica (FOMIX M0016-2014-03 250289).

A mis sinodales, por darme su conocimiento y sus recomendaciones para la realización de esta tesis.

A la Dra. Heike Vibrans por la identificación botánica de las plantas utilizadas en este proyecto.

Al Dr. Pedro Vázquez, por su ayuda en la caracterización de las muestras por CG-EM.

A la Dra. Alejandra, por confiar una vez más en mí e impulsarme en el camino de la ciencia. Por ser una excelente guía en mi formación profesional.

A mi mamá y a mi hermano, por estar conmigo en todo momento y superar juntos las adversidades del último año.

A Jesús, por darme ánimos para seguir adelante, por tenerme paciencia y por no dejarme caer cuando me sentí perdida; por el tiempo compartido, el crecimiento personal y la confianza que me brindas. Por hacerme muy feliz.

A Ana, mi amiga y confidente de más de media vida. Gracias por darme palabras de aliento; cariño, entendimiento, compañía, por prestarme tu hombro para llorar cuando lo necesité, por ser tú y por estar siempre para mí.

A Ricky, Barbie, Dalia, Roberto, Ani, Lianet, Mabel, Hildi y Abel; por hacer de mi estancia en Cuba, una de mis mejores experiencias hasta ahora, por ser mi familia adoptiva en la bella Isla y ser, sobre todo, mis amigos y darme un pedacito de sí. Los llevo en mi corazón.

A Lalo por ser mi compañero de cromatografías, de molino, de ñoñerías, pero sobre todo, por convertirte en uno de mis mejores amigos en esta etapa. Gracias por profundizar nuestra amistad.

A Peyo, por sus consejos tan atinados siempre y las risas que me hicieron sentir mejor.

A mis compañeros del Laboratorio de Productos Naturales: Rosy, Lety, Alma, Alex, Dany, Víctor, Marianita, Luis, Héctor, con quienes he compartido conocimiento y amistad, por ser más que compañeros de trabajo.

A mis amigos de la licenciatura, que a pesar de la distancia, el tiempo y las dificultades, no dejan de preocuparse y siempre tienen lindas palabras para mí.

A Dios, por los desafíos que me pone enfrente y darme las armas para superarlos. Por hacer esto posible y permitirme continuar.

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	I
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN	
SUMMARY	
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Enfermedades tropicales desatendidas	3
2.2 Descripción de la enfermedad	5
2.3 Antecedentes históricos	7
2.4 Clasificación taxonómica de *Leishmania* spp.	11
2.5 Morfología de la familia *Leishmania* spp.	11
2.6 El género *Leishmania*	14
2.7 Transmisión de la leishmaniasis	15
2.7.1 Vectores	15
2.7.2 Ciclo de vida de *Leishmania* spp.	15
2.8 Distribución geográfica	18
2.9 Leishmaniasis en México	20
2.10 Manifestaciones clínicas	22
2.10.1 Leishmaniasis cutánea (LC)	23
2.10.2 Leishmaniasis mucocutánea (LMC)	24
2.10.3 Leishmaniasis cutánea recidivante (LCR)	25
2.10.4 Leishmaniasis visceral (LV)	26
2.10.5 Leishmaniasis dérmica post—Kala azar (LDPK)	27
2.10.6 Leishmaniasis veterinaria (LVet)	27
2.11 Diagnóstico	30
2.11.1 Aspectos clínicos útiles para la orientación del	30

diagnóstico de las leishmaniasis
2.11.2 Diagnóstico de laboratorio 31
2.12 Control y profilaxis 33
2.13 Tratamiento 34
2.14 Nuevas perspectivas en el tratamiento de la leishmaniasis 41
2.15 Productos naturales con actividad leishmanicida 43
2.16 Plantas de la medicina tradicional mexicana con potencial para combatir a *Leishmania* spp. 46
3. JUSTIFICACIÓN 70
4. HIPÓTESIS 72
5. OBJETIVOS 73
5.1 General 73
5.2 Específicos 73
6. MATERIALES Y MÉTODOS 74
6.1 Protozoarios 74
6.2 Material vegetal 74
6.3 Preparación de los extractos vegetales 74
6.3.1 Extractos orgánicos y acuosos 74
6.3.2 Obtención del aceite esencial de *Lantana camara* L. 75
6.4 Cultivos celulares 75
6.4.1 Macrófagos para ensayo de citotoxicidad 75
6.4.2 Promastigotes de *L. amazonensis* 75
6.4.3 Amastigotes de *L. amazonensis* 76
6.5 Actividad biológica 76
6.5.1 Ensayo de toxicidad en *Artemia salina* 76
6.5.2 Actividad anti-promastigote 77
6.5.3 Actividad citotóxica 77
6.5.4 Índice de selectividad 78
6.5.5 Actividad anti-amastigote 78
6.6 Determinación cualitativa del perfil fitoquímico del extracto de 79

diclorometano de *Lantana camara* L.
6.7 Fraccionamiento del extracto de diclorometano de *Lantana camara* L. 79
6.8 Identificación de los compuestos presentes en las fracciones activas mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas 80
7. DISEÑO EXPERIMENTAL 82
8. RESULTADOS Y DISCUSIONES 83
9. CONCLUSIONES 109
10. ANEXO I 111
11. BIBLIOGRAFÍA 117
12. ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS 130

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Enfermedades tropicales desatendidas.	3
2	Clasificación taxonómica de *Leishmania* spp.	11
3	Localización de las distintas especies de *Leishmania* en el mundo.	18
4	Información parasitológica de la leishmaniasis en México.	22
5	Principales formas de diagnóstico recomendadas en relación a la forma clínica de la leishmaniasis.	32
6	Fármacos utilizados actualmente en el tratamiento de la leishmaniasis.	36
7	Metabolitos con actividad leishmanicida	44
8	*Acacia farnesiana* (L.) Willd. Descripción, información etnomédica y científica.	47
9	*Bauhinia variegata* L. Descripción, información etnomédica y científica.	51
10	*Bouvardia ternifolia* (Cav.) Schltdl. Descripción, información etnomédica y científica.	52
11	*Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw. Descripción, información etnomédica y científica.	53
12	*Conyza filaginoides* (D.C.) Hieron. Descripción, información etnomédica y científica.	56
13	*Lantana camara* L. Descripción, información etnomédica y científica.	58
14	*Portulaca oleracea* L. Descripción, información etnomédica y científica.	61
15	*Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) M.C. Johnst. Descripción, información etnomédica y científica.	63
16	*Psidium guajava* L. Descripción, información etnomédica y científica.	65

17	*Schinus molle*. Descripción, información etnomédica y científica.	67
18	Actividad leishmanicida y citotóxica de los extractos preparados a partir de plantas utilizadas en México como antiparasitarias.	84
19	Actividad de los extractos activos sobre amastigotes intracelulares de *Leishmania amazonensis.*	87
20	Composición porcentual relativa por familia química de LcD y AELc.	96
21	Composición mayoritaria del aceite esencial de *Lantana camara.*	97
22	Actividad biológica de las fracciones obtenidas a partir del extracto de diclorometano de *Lantana camara* sobre *A. salina* (CI_{50}), macrófagos peritoneales de ratón BALB/c (CC_{50}) y amastigotes de *L. amazonensis* (CI_{50}).	99
23	Composición porcentual relativa por familia química de LcD, AELc, XIV y XV.	102
24	Composición del aceite esencial y el extracto de DCM de *Lantana camara*, así como de las fracciones con mayor actividad en *A. salina.*	111

ÍNDICE DE FIGURAS

1	Las 10 causas principales de disminución de años de vida por discapacidad y muerte prematura.	4
2	Diseminación de la leishmaniasis en el mundo.	8
3	Huacos encontrados en Perú y Ecuador.	9
4	Morfología de la familia Trypanosomatidae.	12
5	A) Promastigotes y B) Amastigotes de *Leishmania* spp.	12
6	Metaciclogénesis de *Leishmania* spp.	13
7	Clasificación taxonómica de *Leishmania* spp.	14
8	Ciclo de vida de *Leishmania* spp.	16
9	Distribución de los diferentes tipos de leishmaniasis en México.	20
10	Evolución de la picadura de un mosca transmisora de leishmaniasis.	24
11	Leishmaniasis mucocutánea.	25
12	Hepatoesplenomegalia causada por leishmaniasis visceral	27
13	Cánido doméstico afectado por leishmaniasis.	30
14	Placa cromatográfica sin revelar.	90
15	Placa cromatográfica revelada con cloruro férrico al 10%.	90
16	Placa cromatográfica revelada con reactivo de Dragendorff.	91
17	Placa cromatográfica revelada con cloruro de antimonio (III) al 20%.	92
18	Placa cromatográfica revelada con p-anisaldehído/ácido sulfúrico.	92
19	Placa cromatográfica revelada con reactivo de Liebermann-Burchard.	93
20	Comparación del perfil cromatográfico, mediante cromatografía en capa fina del extracto de diclorometano (LcD) y el aceite esencial (AE) de *Lantana camara.*	94
21	Cromatograma de gases del aceite esencial y el extracto de diclorometano de *Lantana camara*.	95

22	Placa cromatográfica revelada con p-anisaldehído de las fracciones obtenidas a partir del extracto de diclorometano de *Lantana camara* y su aceite esencial.	98
23	Cromatograma de gases de los fracciones XIV y XV obtenidos del fraccionamiento del extracto de diclorometano de *Lantana camara*.	102
24	Principales familias de triterpenos identificados en *Lantana camara.*	103
25	Lantadenos	104
26	Probable presencia de lantadenos reducidos en el extracto de DCM de *L. camara* y en las fracciones XIV y XV. Placa revelada con reactivo de Liebermann-Burchard. A) Luz ambiental, B) Luz UV 366 nm.	105
27	Derivatización del extracto de diclorometano de *L. camara* y las fracciones XIV y XV. Placa revelada con reactivo de Liebermann-Burchard. A) Luz ambiental, B) Luz UV 366 nm.	106

RESUMEN

La leishmaniasis es una enfermedad parasitaria ocasionada por protozoarios del género *Leishmania* y es transmitida por la picadura de las moscas de los géneros *Phlebotomus* y *Lutzomyia*. Afecta alrededor de 15 millones de personas en 98 países, incluido México. Por esta razón, la industria farmacéutica no se ha interesado por desarrollar nuevos fármacos que sean menos tóxicos y más efectivos que los ya existentes. La investigación en el tratamiento de la leishmaniasis se ha apoyado en diversos recursos, siendo los productos naturales uno de los más importantes. México posee una extensa variedad de plantas que han sido utilizadas como antiparasitarias desde tiempos prehispánicos; sin embargo, existe muy poca información con respecto a la actividad leishmanicida que pudieran tener. En este contexto, se planteó el presente proyecto de tesis, cuyo objetivo general fue determinar la actividad leishmanicida de 10 plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana como antiparasitarias e identificar los metabolitos responsables de dicha actividad a partir de la especie más potente. Se prepararon los extractos de diclorometano, diclorometano:metanol 1:1 y acuosos, a partir de las especies seleccionadas y se determinó su actividad leishmanicida. El extracto de diclorometano de *Lantana camara* L. fue el más potente y selectivo (CI_{50} = 21.8 $\pm$ 2.4 μg/mL, IS > 9), por lo que se realizó su estudio químico con el fin de identificar los metabolitos responsables de la actividad. El análisis por cromatografía de gases del extracto mostró que los principales componentes volátiles son: fitol (13.2%), ácido n-hexadecanoico (8.47%), β-cariofileno (4.48%), ácido 2-metil-(E)-2-butenoico o ácido angélico (4.14%) y α-curcumeno (3.55%). Por otra parte, a partir del fraccionamiento en cromatografía en columna del extracto, se obtuvieron 18 fracciones, de las cuales 15 resultaron activas. Estos resultados indican que la actividad leishmanicida era provocada por metabolitos, volátiles y no volátiles, de baja polaridad con un amplio rango de pesos moleculares. Las fracciones que contenían los metabolitos más pesados y menos volátiles fueron las que presentaron mejores índices de selectividad. Los resultados derivados de la presente tesis ponen en evidencia que *L. camara* representa una fuente valiosa de compuestos prototipo para el desarrollo de fármacos útiles para tratar la leishmaniasis.

Palabras clave: plantas antiparasitarias, medicina tradicional Mexicana, actividad leishmanicida, *Lantana camara* L., terpenoides.

SUMMARY

Leishmaniasis is a parasitic disease caused by protozoans of the genus *Leishmania* and it is transmitted by the bite of sandflies of the genus *Phlebotomus* and *Lutzomyia*. It affects about 15 million people in 98 countries, included Mexico. For this reason, pharmaceutical industry is not interested in the development of less toxic and more potent new drugs. Research in the treatment of leishmaniasis has been supported by several resources. One of the most important is the natural products. Mexico has a wide variety of plants, which have been used as anti-parasitics since pre-Hispanic times. Nevertheless, there is scarce information about the leishmanicidal activity that these plants might elicit. In this context, we designed the current thesis project, whose general objective was to determine the leishmanicidal activity of 10 plants used in Mexican traditional medicine as antiparasitics and, to identify the metabolites responsible for such activity from the most potent species. The dichloromethane, the dichloromethane:methanol 1:1 and the aqueous extracts from the selected plants were prepared and their leishmanicidal activity was tested. The dichloromethane extract of *Lantana camara* L. was the most potent and selective against *Leishmania* (IC_{50} = 21.8 $\pm$ 2.4 μg/mL, SI > 9). Thus, a chemical analysis of the extract was performed to identify the metabolites responsible for the activity. The gas-chromatography analysis of the extract showed that phytol (13.2%), n-hexadecanoic acid (8.47%), β-caryophyllene (4.48%), 2-methyl-(E)-2-butenoic acid or angelic acid (4.14%), and α-curcumene (3.55%) were the main volatile. On the other hand, the column chromatography fractionation of the extract afforded 18 fractions, from which 15 were active. These results indicate that the leishmanicidal activity is induced by volatile and non-volatile non-polar metabolites with a wide range of molecular weights. Fractions containing the heaviest and less volatile metabolites presented the best selectivity indexes. The results derived from the present work highlight that *L. camara* is a very valuable source of lead compounds for the development of drugs useful to treat leishmaniasis.

Key words: antiparasitic plants, Mexican traditional medicine, anti-leishmanial activity, *Lantana camara* L., terpenoids.

1. INTRODUCCIÓN

Las Enfermedades Tropicales Desatendidas (ETD) conforman un grupo de 17 padecimientos que se caracterizan por ser infecciosas, crónicas e incapacitantes que atacan a personas de escasos recursos. Dentro de éstas se encuentran algunas enfermedades causadas por bacterias, como la lepra; por virus, como el dengue y, por parásitos como la enfermedad de Chagas y la leishmaniasis, que es ocasionada por más de 30 especies del género *Leishmania*. Ésta es una parasitosis endémica de alrededor de 70 países, sin embargo, se encuentra ampliamente distribuida alrededor de todo el mundo, incluido México. Se estima que existen alrededor de 13 millones de personas afectadas con el surgimiento de 1.5 millones de casos nuevos por año y 350 millones de personas en riesgo de contagio. De la misma forma, la leishmaniasis se encuentra calificada como la tercera causa que disminuye la esperanza de vida por discapacidad ocasionada por una enfermedad tropical desatendida y es la segunda causa de muerte por enfermedades parasitarias, después de la malaria. Las manifestaciones de esta afección pueden ser de 4 tipos: leishmaniasis cutánea, mucocutánea, visceral y veterinaria; esta última afecta sólo a animales, especialmente a cánidos tanto salvajes como domésticos. Estudios epidemiológicos revelan que la leishmaniasis cutánea es la que muestra mayor incidencia, sin embargo, la leishmaniasis visceral presenta una morbilidad más alta. En México, se presenta leishmaniasis cutánea ocasionada por *L. mexicana* y leishmaniasis visceral originada por *L. chagasi.*

Debido a que esta enfermedad afecta a un pequeño número de personas a nivel mundial, la industria farmacéutica no ha mostrado suficiente interés en desarrollar investigaciones que permitan encontrar un fármaco eficaz capaz de curar la leishmaniasis sin los efectos adversos que presentan los tratamientos actuales. No obstante, diferentes grupos de investigación en todo el mundo, se han dedicado a buscar y crear moléculas que resulten activas contra esta parasitosis.

México, por su parte, se ha caracterizado por ser un país rico en biodiversidad tanto en fauna como en flora, por lo que el potencial de nuestro país como fuente de

productos naturales útiles para combatir la leishmaniasis, es vasto. En la bibliografía especializada en etnomedicina mexicana, no existen reportes de plantas utilizadas específicamente contra *Leishmania*, no obstante, sí existen reportes de algunas otras para combatir a otros parásitos, sobre todo de tipo intestinal. Ejemplos de estas especies vegetales son: *Acacia farnesiana* (L.) Willd*, Bauhinia variegata L., Bouvardia ternifolia* (Cav.) Schltdl*., Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw*., Conyza filaginoides* (D.C.) Hieron*., Lantana camara* L*., Portulaca oleracea* L*., Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) M.C. Johnst*., Psidium guajava* L. *y Schinus molle.*

2. ANTECEDENTES

2.1 Enfermedades tropicales desatendidas

Las enfermedades tropicales desatendidas constituyen un grupo de 17 padecimientos (Cuadro 1), que se caracterizan por ser infecciosos, crónicos e incapacitantes (Figura 1); los cuales afectan a la población económicamente más desprotegida (Hotez y col., 2007; WHO, 2013).

Cuadro 1. Enfermedades tropicales desatendidas (Hotez y col., 2007)

Enfermedad	Agente causal
Úlcera de Buruli	*Mycobacterium ulcerans*
Enfermedad de Chagas	*Trypanosoma cruzi*
Dengue	Virus del dengue
Dracunculiasis	*Dracunculus* sp.
Equinococosis	*Echinococcus granulosus*
Anquilostomiasis	*Ancylostoma* sp.
Enfermedad del sueño	*Trypanosoma brucei rhodesiense*
	Trypanosoma brucei gambiense
Leishmaniasis	*Leishmania* sp.
Lepra	*Mycobacterium leprae*
Filariasis linfática	*Wurchereria bancrofti*
	Brugia malayi
	Brugia timori
Oncocercosis	*Onchocerca volvulus*
Rabia	Virus de la rabia
Esquistosomiasis	*Schistosoma* sp.
Geohelmintiasis	*Áscaris lumbricoides*
	Trichuris trichiura
	Necator americanus
Teniasis / Cisticercosis	*Taenia saginata*
	Taenia solium
Tracoma	*Chlamydia trachomatis*
Pian	*Treponema pertenue*

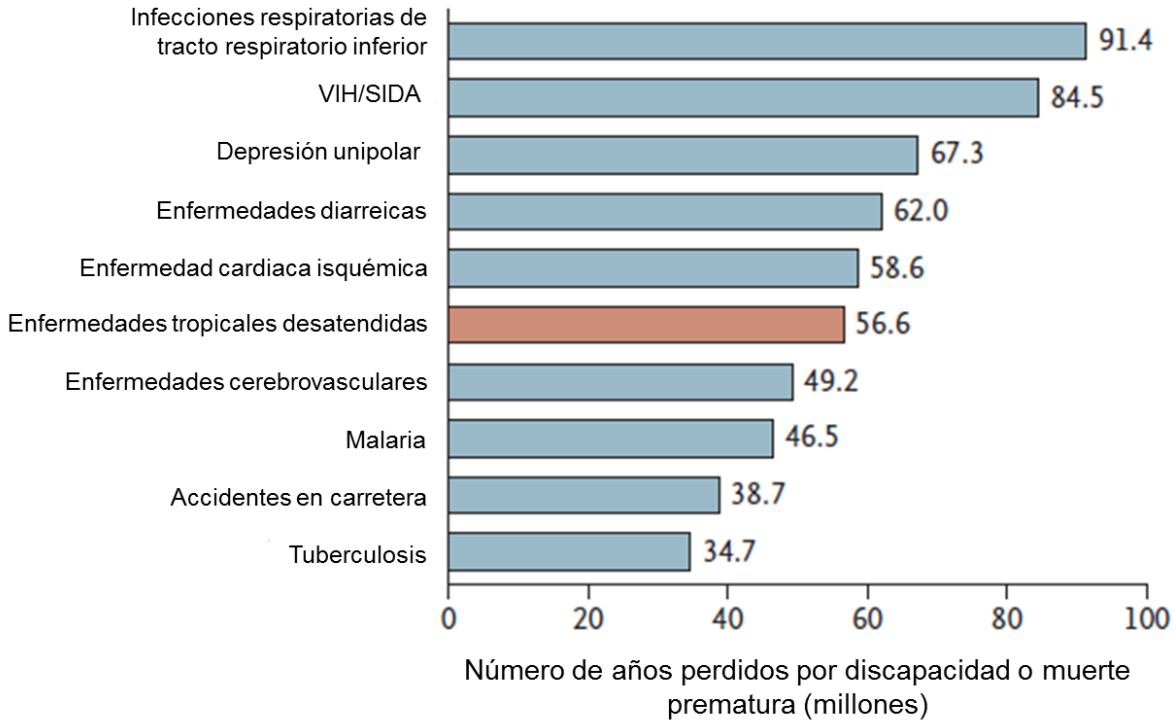


Figura 1. Las 10 causas principales de disminución de años de vida por discapacidad y muerte prematura (Hotez y col., 2007).

Se considera que estas enfermedades infecciosas afectan a 2,900 millones de personas en el mundo, que viven con menos de dos dólares por día. Estas enfermedades tienen mayor incidencia en áreas rurales y algunas zonas urbanas pobres en países de bajos ingresos en África del sub–Sahara, Asia y América Latina. Desafortunadamente, la población más vulnerable son los niños en las etapas de desarrollo y crecimiento, así como mujeres embarazadas. Se estima que las enfermedades tropicales desatendidas causan 534,000 muertes por año. Adicionalmente, la presencia de estas enfermedades en la población económicamente activa ocasiona una pérdida anual de miles de millones de dólares (Hotez y col., 2007).

En el año 2000, el grupo de los ocho (G8) países líderes a nivel mundial: Canadá, Francia, Alemania, Italia, Japón, Rusia, Reino Unido y Estados Unidos, se plantearon combatir el VIH/SIDA y otras enfermedades infecciosas, con el fin de

mejorar para el año de 2015, la salud, la calidad de vida y la economía de los países más afectados (Hotez y col., 2007). Sin embargo, los esfuerzos realizados por estos países y por algunas industrias farmacéuticas (Merck y Glaxo–SmithKline) no han sido suficientes y el problema de las enfermedades infecciosas, entre ellas las enfermedades tropicales desatendidas, permanece latente.

2.2 Descripción de la enfermedad

La leishmaniasis o leishmaniosis es una enfermedad infecciosa antropozoonótica causada por parásitos protistas del género *Leishmania* de la familia Trypanosomatidae. Esta enfermedad es transmitida por la picadura de la hembra de la mosca arenera (familia Psychodidae) infectada con el protozoario. Se estima que afecta a entre 12 y 15 millones de personas en todo el mundo, con 1.5 a 2 millones de casos nuevos por año de leishmaniasis cutánea y mucocutánea (LC y LMC) y 500,000, de leishmaniasis visceral (LV). Esta última ocasiona 60,000 muertes al año, en tanto que 350 millones están en riesgo de adquirirla (den Boer y col., 2011). Sin embargo, Alvar y col. (2012) sugieren que estos números están subestimados hasta 4 veces. A la fecha, se calcula la población mundial en 7,000 millones de personas, por lo que el número de personas con leishmaniasis representa el tan sólo 0.2% de la población total (Census, 2015). No obstante, la prevalencia global de leishmaniasis se ha incrementado en los últimos tiempos debido a un aumento en los viajes internacionales (Mosimann y col., 2013), la alteración humana de los vectores y los hábitats de los huéspedes (Ghatee y col., 2013), además de factores concomitantes que incrementan la susceptibilidad, tal como la infección con el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) (Monge-Maillo y col., 2014) y la desnutrición (den Boer y col., 2011; Singh y col., 2014). Recientes conflictos internacionales, incluso, han contribuido a la acentuación y expansión de leishmaniasis en países que previamente no eran afectados (Alasaad, 2013).

La leishmaniasis es una enfermedad endémica de más de 70 países de las regiones tropicales y subtropicales del mundo, teniendo mayor incidencia en países pobres y en vías de desarrollo; a pesar de esto, se encuentra distribuida en

alrededor de 98 países, incluidos países industrializados o considerados de primer mundo (Alvar y col., 2012; Mosimann y col., 2013; Martinez y Petersen, 2014). Investigaciones revelan que el 90% de los casos de LC ocurren en Afganistán, Algeria, Brasil, Paquistán, Perú, Arabia Saudita y Siria. La LV se encuentra en 65 países; la mayoría (90%) de los casos está localizada en áreas agrícolas y surburbios pobres de 5 países: Bangladesh, India, Nepal, Sudán y Brasil, lo cual confirma que esta enfermedad tiene fuertes vínculos con la pobreza y dificulta aún más su control (Tiuman y col., 2011). Por otra parte, aspectos relacionados con la conducta humana, como la urbanización y destrucción de los bosques, la ocurrencia de conflictos armados, y el incremento del turismo, provocan la migración de población susceptible hacia áreas endémicas y favorecen la dispersión de *Leishmania* (Desjeux, 2004). Es muy probable que como consecuencia del calentamiento global, la leishmaniasis se disperse hacia zonas actualmente templadas, donde los incrementos de la temperatura pudieran favorecer la extensión de las estaciones en las cuales se alimentan los vectores que transmiten el parásito, o que la baja temperatura provoque una extensión de su periodo larval. También eventos naturales que en los últimos años se han hecho cada vez más frecuentes, como terremotos, han provocado nuevos focos de la enfermedad en áreas que, con anterioridad, permanecían libres de esta infección. Además de la transmisión natural, es importante conocer que existe transmisión del parásito a partir de personas infectadas con *Leishmania* que utilizan drogas endovenosas, cuando existe uso de jeringuillas compartidas, lo que ha conllevado a la coinfección *Leishmania*—VIH, aunque este fenómeno es raro. De manera general, se acepta que la incidencia global reportada para esta coinfección está subestimada, debido en parte a que la forma visceral de la enfermedad ocurre en “poblaciones olvidadas” y también al hecho de que al no estar la leishmaniasis dentro de la lista de enfermedades oportunistas, esta coinfección se notifica raramente (Montalvo y col., 2012).

La leishmaniasis, en cualquiera de sus manifestaciones, está considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una de las enfermedades tropicales

desatendidas, debido a que es causa de una morbilidad y mortalidad considerable entre la población mundial (Chávez, 2012).

Algunos autores indican que el número de casos se incrementó, particularmente en Brasil, Bolivia, Perú, Colombia y Afganistán. Tal incremento puede ser el resultado del inadecuado control de vectores y reservorios en las zonas endémicas, de la mayor detección de leishmaniasis cutánea asociada a infecciones oportunistas (VIH/SIDA), de la emergencia a la resistencia al tratamiento y del impacto reciente de los cambios climáticos, que inciden en la distribución y el comportamiento de los vectores implicados en la transmisión de la leishmaniasis (Montalvo y col., 2012).

La leishmaniasis se manifiesta en humanos en 3 formas principales: cutánea (LC) o americana, mucocutánea (LMC) y visceral (LV) (Tay y col., 2007). No obstante, éstas no son categorías absolutas y se debe considerar la coincidencia de las manifestaciones clínicas causadas por las distintas especies de *Lesihmania*. Prueba de ello es el reporte de leishmaniasis visceral causada por *L. amazonensis* y *L. tropica*. De manera similar, ha sido observada una forma de leishmaniasis diseminada por la infección de *L. guyanensis* en la Guyana Francesa (Martínez y Petersen, 2014).

2.3 Antecedentes históricos

Si el género *Leishmania* apareció primero en el Viejo Mundo o en el Nuevo Mundo, aún es controversial. Una hipótesis sugiere que la primera asociación con vertebrados ocurrió en el Paleártico (Viejo Mundo; Figura 2) con los reptiles del Cretáceo. La infección afectó a los roedores del Viejo Mundo en el Paleoceno (hace 55.8-65.6 millones de años) y fue llevada por los huéspedes vertebrados y vectores (mosca arenera) a través de Beringia hacia el Neártico en el Eoceno. Durante el Plioceno (hace 1.8-5.3 millones de años), roedores infectados de la subfamilia Sigmodontinae llevaron los parásitos al Neotrópico por el puente de Panamá. Allí, los vectores endémicos introdujeron los parásitos a roedores *Caviomorpha*, perezosos, armadillos y osos hormigueros. Recientemente, aparecieron los primeros fósiles de un aparente miembro del género *Leishmania: Paleoleishmania*

proterus, identificado en el cuerpo de una mosca arenera ya extinta, *Paleomyia burmitis*, en ámbar birmano del Cretáceo temprano. El fósil de esta mosca estaba lleno con células rojas (eritrocitos) que fueron identificados como reptilianos. Estos hallazgos sugieren que las asociaciones vector-protozoario fueron establecidas en el Cretáceo temprano (hace 100-110 millones de años) y que los reptiles fueron los primeros huéspedes de parásitos tipo *Leishmania*. Desafortunadamente, no han sido posibles los estudios basados en ADN de los fósiles de *Leishmania*, y otros parásitos relacionados tienen una morfología similar. Con base en el análisis de los fósiles, se puede decir que *Leishmania* evolucionó en el viejo mundo, pero el número de fósiles de moscas areneras y, especialmente, de fósiles de moscas areneras infectadas con *Leishmania,* es muy limitado (Schöninan y col., 2013).

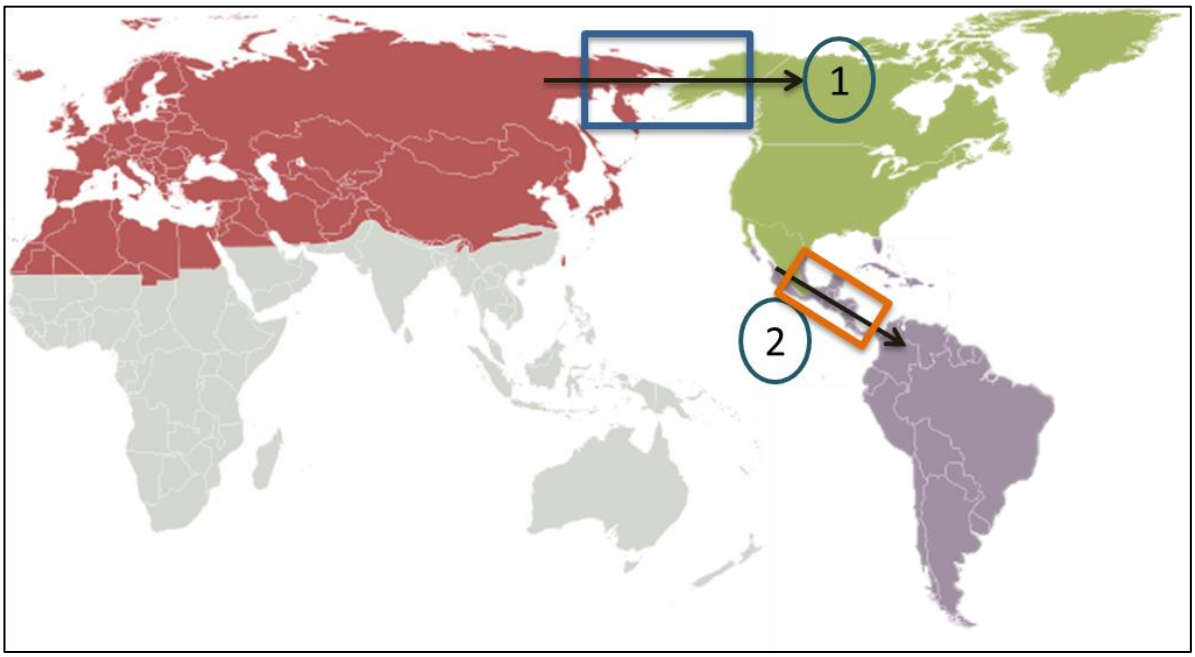


Figura 2. Diseminación de la leishmaniasis en el mundo. Región del Paleártico rojo), Neártico (verde), Neotrópico (morado), Beringia (marco azul) y puente de Panamá (marco naranja).

Debido a esto, existe otra teoría sobre el origen de *Leishmania*, que sustenta que el parásito tuvo su origen en el Nuevo Mundo. Esto es respaldado por la alta diversidad de especies de *Leishmania,* encontradas en el Nuevo Mundo. La

hipótesis del origen Neotropical es, entonces, discordante con la cercanía de *Sauroleishmania* (Viejo Mundo) con *L. (Leishmania)* que con *L. (Viannia),* pero que se bifurca en los taxones del Nuevo Mundo. Se ha sugerido que los ancestros del clado de las especies de lagarto se han dirigido hacia un grupo externo de taxones a través de un ritmo más rápido de evolución o, tal vez menos probable, que surgieron por primera vez en el Nuevo mundo, desde donde emigró al Viejo Mundo antes de convertirse en extinto en el Nuevo Mundo (Schönian y col., 2013).

La leishmaniasis cutánea americana pudo haber aparecido como una antigua enfermedad que afligía a humanos en áreas tropicales y subtropicales del Nuevo Mundo. Así lo sugieren algunas figurillas cerámicas halladas en Perú y Ecuador, llamados huacos, los cuales, a menudo, muestran rostros humanos con grotescas desfiguraciones (Figura 3), muy similares a las causadas por leishmaniasis mucocutánea. También esto se sabe gracias a crónicas transmitidas de generación en generación y a relatos hechos por historiadores de la época de la colonización, donde a menudo se describen a habitantes indígenas con lesiones cutáneas. Incluso, en 1571, Pedro Pizarro refiere la destrucción de las mucosas labiales y nasales de cultivadores de coca que trabajaban en las más bajas pendientes del este de Los Andes. Debido a que no se ha determinado de manera clara el área endémica de la leishmaniasis mucocutánea, es altamente probable que estas narraciones sean las primeras descripciones de la enfermedad (Tay y col., 2007).

Figura 3. Huacos encontrados en Perú y Ecuador.

Lentamente se hizo evidente que las lesiones cutáneas nombradas por los indígenas peruanos como uta y la enfermedad mucocutánea conocida como espundia, estaban ampliamente distribuidas por la mayor parte de Latinoamérica, donde se les han dado diversos nombres. Para las lesiones cutáneas menos destructivas (correspondientes a leishmaniasis cutánea): uta seco, úlcera de Vélez, úlcera de los chicleros, buba, úlcera de Baurú, herida brava, botón de Oriente, pian del bosque, llaga de la bahía y pian de madera. Para la leishmaniasis mucocuánea altamente destructiva: espundia, llaga corrosiva, chancro espúndico, nariz de tapir, tiacaraña, gangosa y herida esponjosa. La etiología de estas lesiones, a menudo, permanece desconocida (Lainson, 2010).

La leishmaniasis visceral americana es, quizá, igualmente antigua en la historia de Latinoamérica, pero ofrecía una menor evidencia de su existencia. Asimismo, la condición conocida en Brasil como barriga de agua (un abdomen anormalmente distendido), a la cual se asocia fiebre y malestar general, debió de haber sido tratada como leishmaniasis visceral no diagnosticada (Lainson, 2010).

Por muchos años, la uta peruana y las lesiones cutáneas similares que se presentaban en otros países de Latinoamérica fueron consideradas idénticas con la úlcera oriental padecida en países de Asia y el Mediterráneo, la etiología de las cuales era, en ese tiempo, también desconocida (Lainson, 2010).

En 1500 dC en Iraq, El–Razi hace la primera descripción de la leishmaniasis cutánea (Tay y col., 2007).

En 1898, Browosky (Rusia) descubre el agente etiológico, pero no es ligado al padecimiento (Tay y col., 2007).

En 1903, el Dr. Leishman descubre a los parásitos causantes del Kala–azar (o leishmaniasis visceral). Dos meses más tarde el Dr. Donovan hace lo mismo por su cuenta. Más tarde Wright re-describe al parásito y le llama *Leishmania tropica*, género creado por Ross en honor al Dr. Leishman (Tay y col., 2007).

En 1904 Rogers cultiva al agente causal del Kala–azar en sangre humana citratada, procedimiento por el cual descubre el estadio de promastigote de *L. donovani* (Tay y col., 2007).

En 1911 Wenyon sugiere que un díptero del género *Phlebotomus* era el transmisor de la leishmaniosis cutánea. En 1921 Sergent, Parrot y col., lo comprueban en el botón de oriente (uno de los nombres de la leishmaniosis cutánea) causado por *L. tropica* (Tay y col., 2007).

2.4 Clasificación taxonómica de *Leishmania* spp.

Los parásitos pertenecientes al género *Leishmania* forman un grupo muy diverso, sin embargo, su clasificación taxonómica general se describe a continuación (Tay y col., 2007):

Cuadro 2. Clasificación taxonómica de *Leishmania* spp. (Tay y col., 2007)

Dominio:	Eucariota
Reino:	Protozoa
Phylum:	Sarcomastigophora
Subphylum:	Mastigophora
Clase:	Zoomastigophora
Orden:	Kinetoplastida
Familia:	Trypanosomatidae
Género:	*Leishmania*
Subgénero:	*Leishmania*
	Viannia
Especie:	*Leishmania sp.*

2.5 Morfología de *Leishmania* spp.

La familia Trypanosomatidae se caracteriza por incluir a parásitos uniflagelados (Figura 4) de diversas morfologías (Tay y col., 2007).

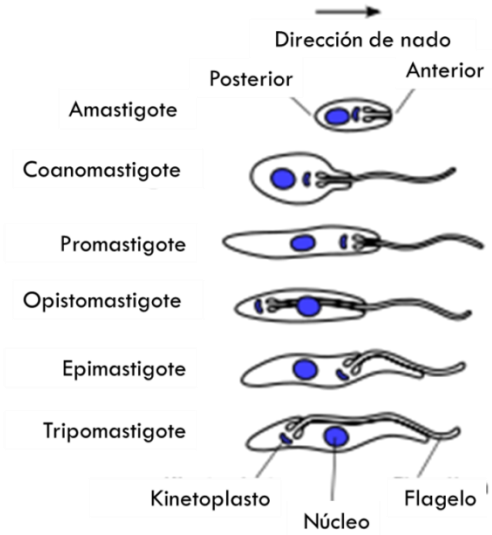


Figura 4. Morfología de la familia Trypanosomatidae.

Para el caso de las especies del género *Leishmania*, las 2 morfologías que presentan son promastigote y amastigote (Figuras 5 y 6).

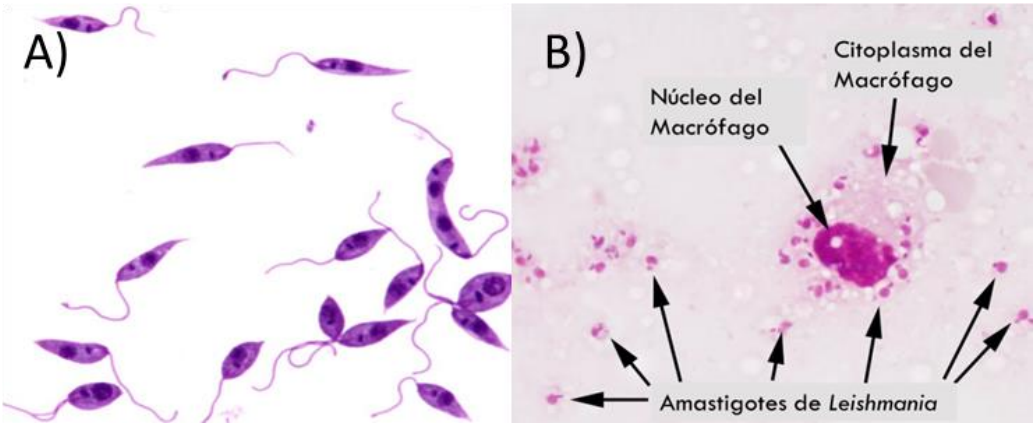


Figura 5. A) Promastigotes y B) Amastigotes de *Leishmania* spp.

- Promastigote: forma que adquiere mientras se encuentra en el insecto vector. Son organismos delgados y móviles, que miden de 10-15 μm de largo, presentando un flagelo anterior, un núcleo y kinetoplasto. Se conocen dos estadios del promastigote: el promastigote procíclico que es la forma no infectante del parásito que se aloja en los intestinos de la mosca, posee baja

movilidad, un flagelo corto y alta capacidad replicativa. Por otro lado, está el promastigote metacíclico que, a través de diversos cambios bioquímicos y morfológicos (metaciclogénesis: nectomónado, leptomónado y haptomónado), adquiere virulencia y es la forma infectante del parásito, que se aloja en la válvula estomodea del insecto vector (Figura 6). Se caracteriza por observarse después de 6 a 9 días de infectar a la mosca, no poseer capacidad replicativa, tener un flagelo elongado y alta movilidad (Kamhawi, 2006).

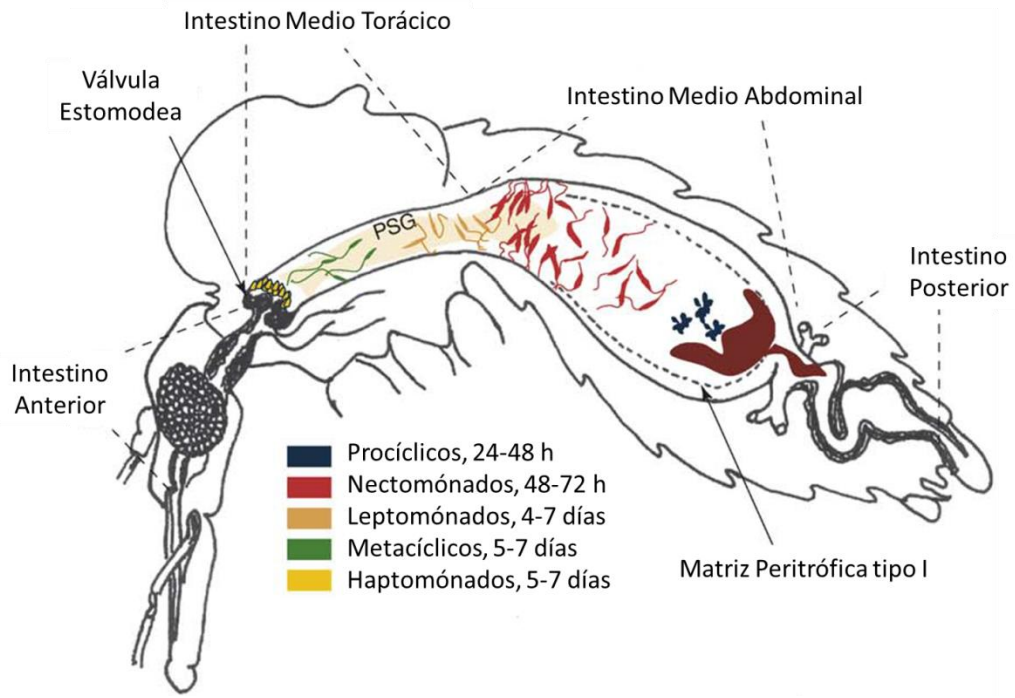


Figura 6. Metaciclogénesis de *Leishmania* spp. (Kamhawi, 2006).

- Amastigote: al ser fagocitados por macrófagos y células dendríticas, los promastigotes metacíclicos se diferencian, debido al cambio de pH y temperatura, a amastigotes, que es la forma intracelular del parásito. Pierden el flagelo y adquieren una forma redonda u ovalada de 3-5 μm. En ellos es posible observar un núcleo redondo y grande y el kinetoplasto en forma de barra; sólo visible con tinción de Giemsa o de Wright. Es la única forma presente en los mamíferos (Beattie y Kaye, 2011).

2.6 El Género *Leishmania*

La leishmaniasis es producida por varias especies de *Leishmania.* Aproximadamente, 30 especies han sido identificadas, de las cuales 23 de son patógenas para los mamíferos (Bañuls y col., 2007). El género *Leishmania* incluye dos subgéneros, *Leishmania* (parásitos suprapilóricos) y *Viannia* (parásitos peripilóricos), que se diferencian por el lugar en el que se multiplican, dentro del tracto digestivo del insecto vector (Kamhawi, 2006). La clasificación de *Leishmania* es compleja y en algunos casos, controvertida; se puede utilizar más de un nombre de especie para un organismo y algunos nombres pueden ser finalmente invalidados (IICA, 2010); sin embargo, para facilitar la clasificación del género *Leishmania*, se han agrupado a distintas especies en subgéneros, y éstos, a su vez, en complejos (Figura 7).

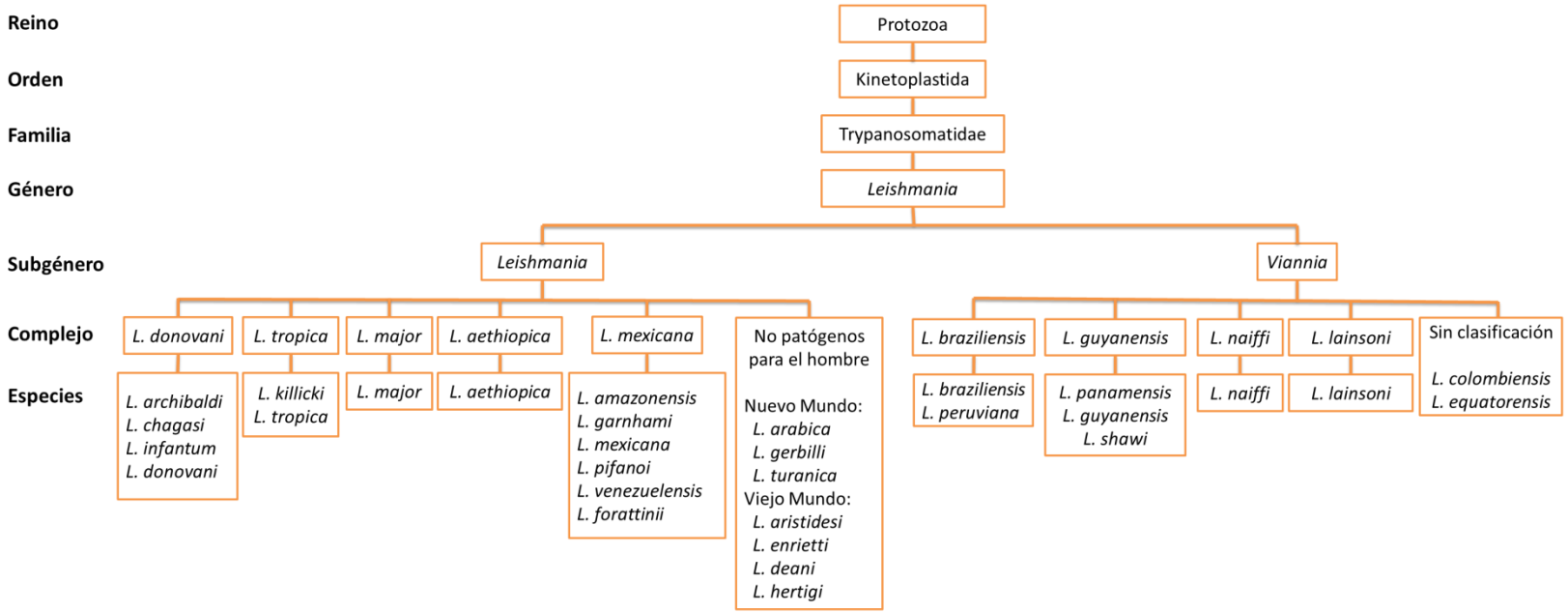


Figura 7. Clasificación taxonómica de *Leishmania*

2.7 Transmisión de la leishmaniasis

Los reservorios naturales de *Leishmania* spp. son roedores, marsupiales, edentados, cánidos salvajes y domesticados (perros), entre otros mamíferos variantes dependiendo del tipo de región (Singh y col., 2014). *Leishmania* sp. se desarrolla normalmente en ambientes húmedos y cálidos a altitudes menores de 1,900 msnm.

La enfermedad es transmitida por medio de vectores, a los que se les conoce de manera coloquial como moscas areneras, debido a la baja altura a la que vuelan. La especie vector depende del lugar en donde se encuentre. Para el viejo mundo (África, Europa y Asia) el vector pertenece al género *Phlebotomus*, mientras que para el nuevo mundo (América) la transmisión de la enfermedad está dada por especies del género *Lutzomyia* (Killick-Kendrick, 1990).

2.7.1 Vectores

Las hembras hematófagas de las moscas areneras (Diptera:Psychodidae: Phlebotominae) son usualmente consideradas como los únicos vectores de las especies de *Leishmania*, agentes causales de la leishmaniasis. Sin embargo, los mosquitos ceratopogónidos pueden ser vectores entre marsupiales en el norte de Australia, donde se encontraron infecciones naturales y los vectores putativos *Phlebotomus* eran escasos o estaban ausentes, pero no de manera demostrable, en la temporada de transmisión. De las aproximadamente 900 especies de moscas areneras, no más de 70 están implicadas en la transmisión de la leishmaniasis (Ready, 2013).

2.7.2 Ciclo de vida de *Leishmania* spp.

La manera de reproducción del parásito dentro del macrófago es asexual por fisión binaria (CDC, 2013).

Después de una picadura por un mosca infectada (Figura 8; 1), los promastigotes metacíclicos de *Leishmania* son fagocitados por los macrófagos y las células dendríticas en el huésped humano ((Figura 8; 2). Es así como la replicación de los

amastigotes ocurre exclusivamente en los macrófagos (Figura 8; 3). La opsonización de los parásitos con la molécula C3b del complemento, la cual se une a los receptores CR1 y CR3 del macrófago, provee el principal mecanismo por el cual los promastigotes se unen y entran en el macrófago huésped. Algunos otros receptores en el macrófago han sido identificados en la ingesta del promastigote, incluyendo el receptor de fucosa–manosa, el receptor de la fracción cristalizable (Fc), el receptor a fibronectina y el receptor CR4. De esta manera, los promastigotes de *Leishmania* utilizan múltiples receptores en los macrófagos para facilitar su fagocitosis por los macrófagos. Además, la saliva de la mosca contiene un péptido llamado maxadilano, el cual juega un rol importante en el proceso de infección, ya que suprime la actividad leishmanicida del macrófago (Matlashewski, 2001; Beattie y Kaye, 2011).

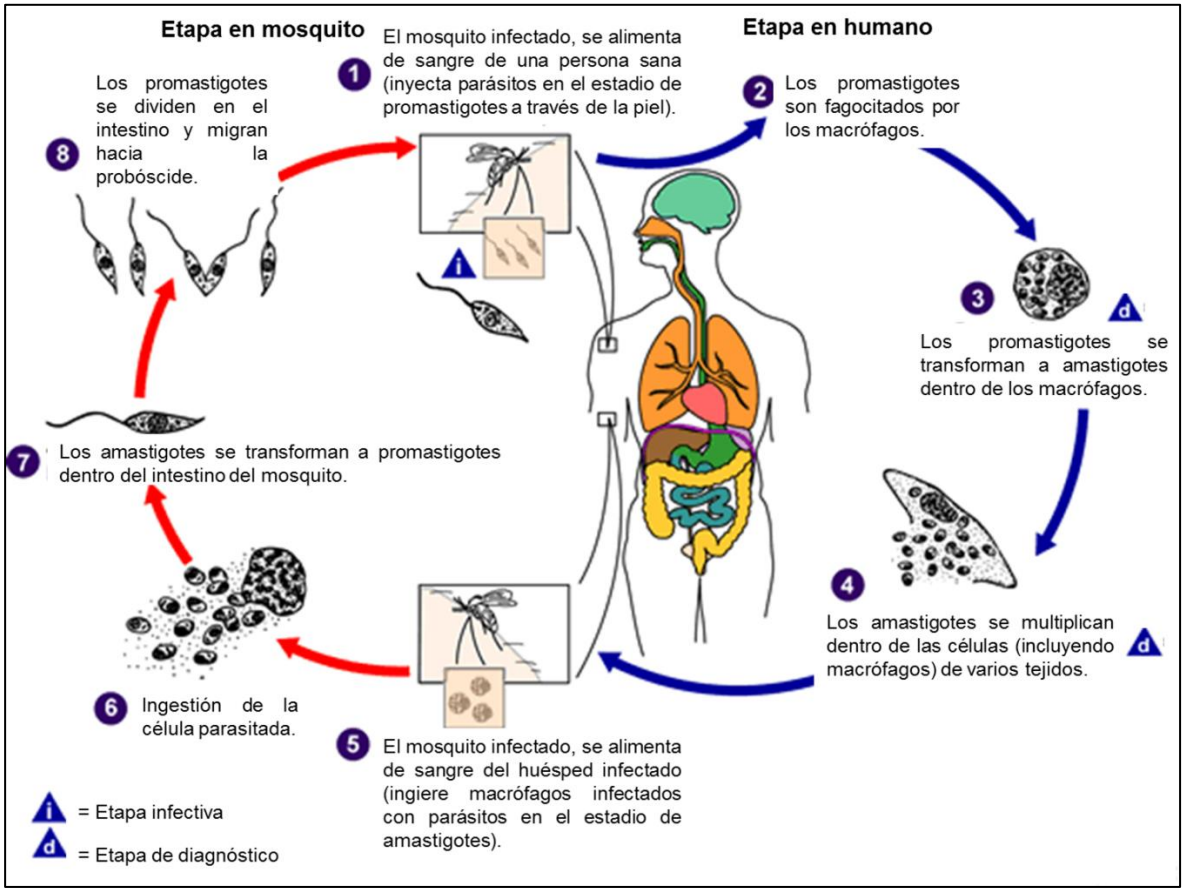


Figura 8. Ciclo de vida de *Leishmania* spp.

Una vez dentro del macrófago, los promastigotes son engullidos en el fagosoma, que, subsecuentemente, se fusiona con los endosomas y los lisosomas, formando así, el fagolisosoma. Dentro del fagolisosoma, los promastigotes son transformados en amastigotes no flagelados, que se multiplican y provocan la lisis del macrófago infectado. Los amastigotes libres infectan a los macrófagos circundantes de los órganos reticuloendoteliales (médula ósea, hígado y bazo), además de la piel; donde continúan multiplicándose (Figura 8; 4). Los amastigotes también usan diferentes estrategias para lograr entrar en los macrófagos, tal como lo hacen los promastigotes. Por ejemplo, la opsonización con inmunoglobulinas y la unión al receptor Fc, pueden ser las principales rutas de entrada de los amastigotes (Matlashewski, 2001; Beattie y Kaye, 2011).

Tras entrar en el fagolisosoma, los amastigotes quedan expuestos a una gran variedad de agentes tóxicos incluyendo especies reactivas de oxígeno, especies reactivas de nitrógeno, óxido nítrico y enzimas lisosomales, todas potencialmente letales para *Leishmania*. Por lo tanto, la defensa de evasión del macrófago representa un importante prerrequisito para la supervivencia de los amastigotes en el huésped mamífero. Hay numerosos estudios que tratan este tema y describen los efectos pleiotrópicos que causa la infección en la biología del macrófago. Algunos de estos efectos incluyen lo siguiente: inhibición de las Moléculas de Histocompatibilidad de clase II (MHC-II), disminución de la producción de IL-1, disminución de la liberación de la IL-12, reducción de la actividad de la proteíncinasa C, supresión de la expresión del gen c-fos, fallo del metabolismo oxidativo, daño a la respuesta a IFN-γ, inhibición de la apoptosis de los macrófagos e inhibición transitoria de la fusión del fagosoma y el endosoma. La significancia total de estas observaciones, requerirá una verificación futura usando sistemas de modelos lo más parecidos posible a lo que sucede *in vivo* (Matlashewski, 2001; Beattie y Kaye, 2011).

Posteriormente, los amastigotes intracelulares son ingeridos por la mosca tras alimentarse de sangre de un individuo enfermo. Los amastigotes entran en el intestino medio de la mosca, después de ser digeridos los macrófagos (Figura 9; 5

y 6), y se transforman en promastigotes procíclicos (Figura 9; 7). Los promastigotes procíclicos no son infectivos y se dividen rápidamente en el tracto gastrointestinal de la mosca arenera. Posteriormente, son transformados en promastigotes metacíclicos, los cuales ya son infectivos; y migran a la válvula estomodeal de la mosca (Figura 9; 8) (Matlashewski, 2001; Beattie y Kaye, 2011).

2.8 Distribución geográfica

Como se mencionó anteriormente, la leishmaniasis se encuentra distribuida en 98 países. En el Cuadro 3 se agrupan algunas especies de *Leishmania*, el tipo de leishmaniasis que ocasionan y su distribución en el mundo.

Cuadro 3. Localización de las distintas especies de *Leishmania* en el mundo.

VM: Viejo Mundo (Sur de Europa, África, Asia, India y Medio Oriente), NM: Nuevo Mundo (América Central y del Sur), LC: Leishmaniasis Cutánea, LMC: Leishmaniasis Mucocutánea, LV: Leishmaniasis Visceral, LD: Leishmaniasis Difusa (Ivens y col., 2005; Bañuls y col., 2007; Montalvo y col., 2012; ILN, 2013; Schönian y col, 2013).

Especie	Región	País	Tipo de leishmaniasis
L. donovani	VM	Cerca de 98 países, entre ellos: China, Subcontinente Indio, Etiopía, Sudán, Kenya, Irán, Arabia Saudita, Yemen	LV
L. major	VM	Cerca de 88 países, entre ellos: Medio Oriente, Afganistán, Argelia, Chad, Irán, Iraq, Israel, Marruecos, Siria, Sudán, Rusia, Turquía, Sur de Yemen	LC
L. tropica	VM	Medio Oriente, Argelia, Chad, Irán, Iraq, Israel, Marruecos, Túnez, Azerbaiyán, Yemen, Afganistán, Rusia, Turquía, Siria	LC
L. archibaldi	VM	Este de África: Sudán, Kenia y Somalia, principalmente; India, Etiopía, Líbano, Israel	LV
L. killicki	VM	Algeria, Túnez	LC
L. infantum	VM	Mediterráneo (islas y costas), Argelia, Francia, Grecia, Italia,	LC/LV y leishmaniasis

		Marruecos, Portugal, España, Siria, Túnez, Turquía, Yemen y Latinoamérica	canina
L. aethiopica	VM	Etiopía y Kenia	LC, LD
L. gerbelli	VM	Asia, principalmente China y Mongolia	LC/LV
L. turanica	VM	Asia Central	LC
L. garnhami	NM	Venezuela	LC
L. mexicana	NM	Belice, Colombia, Costa Rica, República Dominicana, Ecuador, EUA (frontera México-Texas), Guatemala, Honduras, México, Panamá, Venezuela	LC/LD
L. braziliensis	NM	Argentina, Belice, Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, Guyana Francesa, Guatemala, Nicaragua, Perú, Venezuela, Honduras	LC/LMC
L. amazonensis	NM	Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, Panamá, Venezuela, Guyana Francesa, Nicaragua, Paraguay,	LC/LMC/LD
L. chagasi	NM	Argentina, Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, El Salvador, Martinica, Surinam, Guadalupe, Guatemala, Honduras, México, Nicaragua, Paraguay, Perú, Venezuela	LV/LC
L. pifanoi	NM	Venezuela	LC/LD
L. aristidesi	NM	Panamá	LC
L. venezuelensis	NM	Venezuela	LC
L. forattini	NM	Brasil	LC
L. panamensis	NM	Belice, Ecuador, Panamá, Venezuela, Colombia, Costa Rica, Honduras, Nicaragua	LC
L. shawi	NM	Brasil	LC
L. naiffi	NM	Brasil, Guyana Francesa, Ecuador, Perú	LC
L. peruviana	NM	Perú	LC/LMC
L. guyanensis	NM	Brasil, Colombia, Ecuador, Perú, Surinam, Guyana Francesa, Guatemala, Guyana, Venezuela	LC/LMC

L. lainsoni	NM	Brasil, Bolivia, Perú	LC
L. colombiensis	NM	Colombia, Venezuela	LC

2.9 Leishmaniasis en México

En México, han sido reportados casos de LC, LMC, LD y LV (Figura 9). La LC localizada o úlcera del chiclero, se presenta principalmente en los estados del sur de México, en la Península de Yucatán, mientras que la LD se reporta principalmente en Tabasco y Veracruz; la LMC es muy rara, pero ha sido reportada con mayor incidencia en Chiapas y Veracruz (Alvar y col., 2012; Chávez, 2012).

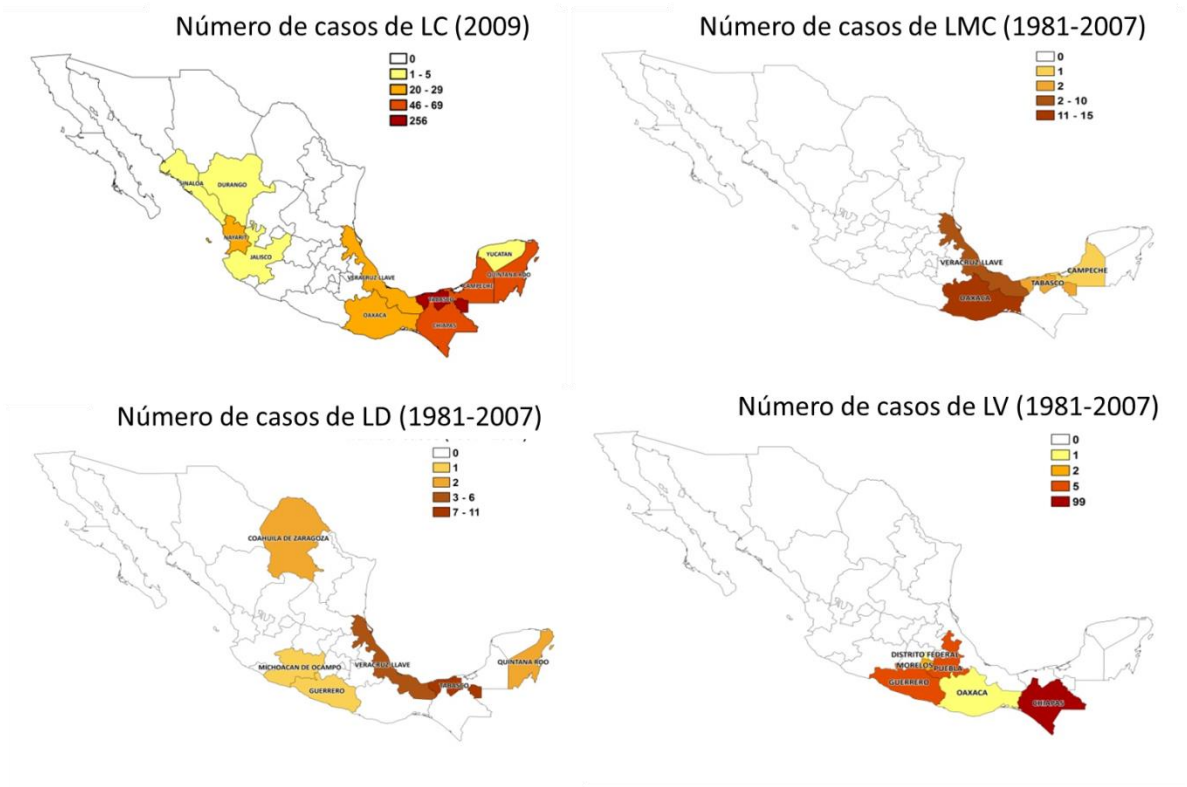


Figura 9. Distribución de los diferentes tipos de leishmaniasis en México (Alvar y col., 2012).

El término de *L. tropica mexicana* fue usada por primera vez en 1953, en Campeche, debido a la similitud de las lesiones ocasionadas por esta especie en el VM. A partir de entonces, *L. mexicana* fue reportada en muchos estados y se creía

que era la única especie causante de LC en el país. Sin embargo, en un estudio realizado en Nayarit en 1987, se encontraron parásitos pertenecientes al complejo de *L. braziliensis*; no obstante, se descartó la reciente introducción de esta especie debido a que no había inmigración en esta área. El principal factor de riesgo para adquirir la enfermedad, fue trabajar en las plantaciones de café (Alvar y col., 2012).

La población en riesgo para LC es de 7, 613, 221 personas en 11 estados, principalmente localizados en el sureste de México. Hasta 1986, la transimisión de LC estaba limitada a la Península de Yucatán (Belunchén en el suroeste de la península con 17% de pruebas cutáneas positivas, pero en comunidades en el bosque eran mayor al 90%), Tabasco (con 37% del número total de casos), Veracruz, Coahuila, Oaxaca, Guerrero, Michoacán, Morelos (muy baja endemicidad, 2 casos reportados en Cuernavaca en 1958) y Puebla. Después de 1987, un nuevo foco fue confirmado en Nayarit, donde se identificó a *L. braziliensis*, y subsecuentemente Jalisco y Sinaloa, donde probablemente ya existía la enfermedad pero no había sido registrada. Entre 1990 y 2007, un total de 16,992 casos fueron reportados, 99% de ellos eran de LC. En 2006, ocurrió un brote de LC en el estado de Veracruz, afectando a 76 personas, principalmente en las plantaciones de cacao (Alvar y col., 2012; Chávez, 2012; Pastor-Santiago y col., 2012).

Otras especies de *Leishmania* importadas, pueden ser encontradas en México. Los estados de Quintana Roo y Chiapas comparten frontera con Guatemala, de donde son endémicas *L. panamensis* y *L. guyanensis*. Mucha gente migra de Guatemala a México, con lo cual podrían aparecer casos importados de LC en estos estados (Alvar y col., 2012).

Por otro lado, la LV fue reportada por primera vez en el estado de Guerrero en 1952. Aproximadamente, se considera que 921,273 personas están en riesgo de adquirir LV. La LV se reporta principalmente en el estado de Chiapas, con 141 casos entre 1981 y 2010, con un promedio de 8 a 15 casos por año, concentrando un 90% de todos los casos de LV de México. La LV se presenta en la zona árida

centro-sur del estado, concentrándose en 4-5 municipios cercanos al río Grijalva, y está asociada con la desnutrición y la baja respuesta inmune de los grupos étnicos (tzotziles, principalmente) que viven en las zonas endémicas. El estado de Guerrero reporta casos muy esporádicamente; sospechando un subregistro alto (Alvar y col., 2012).

Asimismo, han sido reportados casos esporádicos de coinfección de *Leishmania*-VIH (Rossiere-Echazarreta y col., 2013; Alvar y col, 2012).

En el cuadro 4 se resume la información parasitológica de la leishmaniasis en México.

Cuadro 4. Información parasitológica de la leishmaniasis en México (Alvar y col., 2012).

Especie	Tipo de leishmaniasis que ocasiona	Especies vector	Reservorios
L. braziliensis	LC, LMC	*Lutzomyia ovallesi* *Lutzomyia cruciata*	Desconocido
L. mexicana	LC, LMC, LD	*Lutzomyia olmeca olmeca* *Lutzomyia cruciata* *Lutzomyia shannoni*	Ratón silvestre Rata de monte Rata orejona Rata algodonera Ratón venado
L. infantum	LV	*Lutzomyia longipalpis* *Lutzomyia evansi*	Perros

2.10 Manifestaciones clínicas

Las personas pueden ser portadoras de algunas especies de *Leishmania* sin presentar síntomas durante largos periodos de tiempo y sin enfermarse. En los humanos el periodo de incubación informado para leishmaniasis cutánea, puede ser tan breve como de 1 a 2 semanas o tan prolongado como de varios meses cuando es causada por las especies del Nuevo Mundo y de hasta 3 años en el

caso de las especies del Viejo Mundo. El periodo de incubación para leishmaniasis visceral es de 10 días a varios años; la mayoría de los casos se hacen evidentes en 2 a 6 meses. La forma de la enfermedad y los signos clínicos típicos varían con las especies de *Leishmania*. Algunas infecciones permanecen asintomáticas (IICA, 2010).

2.10.1 Leishmaniasis cutánea (LC)

Es el tipo más común de leishmaniasis; sólo involucra la piel y puede estar caracterizada por la presencia de una a una docena de lesiones. Existen tres tipos de leishmaniasis cutánea; la localizada, la difusa y la diseminada. La primera se caracteriza por una o varias lesiones localizadas en la superficie corporal, con predominio de las zonas expuestas. La segunda es una forma crónica y progresiva que se manifiesta con lesiones dérmicas no ulcerativas extendidas, en forma de pápulas blancas o nódulos con un alto número de amastigotes, que pueden persistir indefinidamente. Representa un polo anérgico de la enfermedad. No hay cura espontánea y es resistente a tratamiento. Es producida por parásitos del subgénero *Leishmania*, fundamentalmente del complejo *mexicana.* En el tercer tipo se presentan lesiones múltiples, generalmente ulceradas o eritematosas, distribuidas por todo el cuerpo en áreas distantes del sitio de inoculación primaria. Es producida por *L. braziliensis* o *L. amazonensis* en occidente (Montalvo, 2010). Puede presentarse en oriente, con frecuencia en personas que padecen infecciones concurrentes por VIH (IICA, 2010).

La aparición de la lesión comienza con la picadura de la hembra de la mosca, en algunos días posteriores aparece un grano o roncha, que tras unas semanas se convierte en un pápula, si esta lesión permanece sin tratamiento, la pápula se convierte a una úlcera indolora de 1 a 2 cm de diámetro con bordes bien definidos, elevados, hiperémicos e indurados, donde se presenta, por lo general, la mayor carga parasitaria. Éstas terminan en un exudado seroso al cabo de unos meses (Figura 10). Las lesiones en forma de placas planas, pápulas o nódulos predominan en el Viejo Mundo. Muchas lesiones permanecen localizadas, pero en algunos

casos, los parásitos pueden propagarse a través de los vasos linfáticos y producir lesiones secundarias en piel o, en ocasiones, en la mucosa de otras partes del cuerpo. Puede curar espontáneamente (Montalvo, 2010); sin embargo, la velocidad de cicatrización varía según las especies de *Leishmania* y el estado inmune del paciente. En algunos casos, puede llevar varios meses a un año o más. Algunas formas dejan cicatrices permanentes. Las personas infectadas con VIH pueden presentar casos excepcionalmente graves y la enfermedad es más difícil de curar. El tratamiento con esteroides u otras formas de inmunosupresión también puede producir una enfermedad excepcionalmente grave (IICA, 2010).

Figura 10. Evolución de la picadura de una mosca transmisora de leishmaniasis (Villagrán, 2011).

La leishmaniasis cutánea es, generalmente, indolora a menos que haya infecciones secundarias en las lesiones y, a excepción de las orejas, las úlceras permanecen limitadas a la piel y no afectan los tejidos subcutáneos (IICA, 2010).

2.10.2 Leishmaniasis mucocutánea (LMC)

Generalmente está presente en Latinoamérica. Es la manifestación más severa de la enfermedad cutánea. Es causada por parásitos del subgénero *Viannia*, en la mayoría de los casos (*L. braziliensis*, en mayor proporción, y *L. guyanensis* y *L. panamensis* en menor proporción); fuera de América Latina sólo existen reportes escasos, relacionados sólo con la especie *L. aethiopica*. Este tipo de leishmaniasis tiende a ocurrir, 1 a 5 años después de que se ha curado la leishmaniasis cutánea causada por las especies antes mencionadas, aunque también puede observarse cuando la lesión cutánea aún está presente. Si el parásito, sobre todo en las leishmaniasis americanas, se disemina o extiende por la piel del paciente, las

lesiones cutáneas serán más grandes y pueden, incluso, invadir mucosas (nariz, boca, ojos) causando la destrucción y malformación del tejido (Figura 11).

Figura 11. Leishmaniasis mucocutánea.

Los signos iniciales son eritema y ulceraciones en los orificios nasales, seguidos por una inflamación destructiva que puede extenderse hasta el septo nasal y, en algunos casos, la faringe o la laringe. Un signo temprano puede ser el sangrado nasal. La inflamación puede perforar el septo nasal, desfigurar gravemente el rostro y la boca o bloquear la faringe o la laringe. En algunos casos, es posible que estén involucrados los genitales. Esta variante es también conocida como espundia y es típica de Brasil y países colindantes, aunque ya se ha encontrado también en África. No hay cura espontánea, es difícil de tratar y potencialmente fatal (Montalvo, 2010; IICA, 2010).

2.10.3 Leishmaniasis cutánea recidivante (LCR)

También llamada leishmaniasis lupoide. Es una forma poco común de la leishmaniasis. Se manifiesta a manera de lesión papular en la cara, no ulcerativa, que persiste por muchos años. Se caracteriza por una repetición alrededor del borde de una lesión previamente curada. Es causada, en lo fundamental por *L. (L) tropica* en Irán, Iraq y sus áreas colindantes; además de *L. tropica* y *L. braziliensis*, y no se cura sin tratamiento (Montalvo, 2010; IICA, 2010).

2.10.4 Leishmaniasis visceral (LV)

La leishmaniasis visceral es, generalmente, una enfermedad insidiosa y de aparición crónica entre los habitantes de áreas endémicas; sin embargo, el comienzo puede ser agudo en los viajeros que provienen de áreas libres de *Leishmania.* Es la forma más severa de leishmaniasis debido a que el parásito migra a órganos vitales: hígado, bazo, pulmones, médula ósea, riñones, entre otros. En algunos casos (especialmente en África), aparece un granuloma primario sobre la piel antes de que aparezcan los signos sistémicos. Los síntomas más comunes de la leishmaniasis visceral son fiebre ondulante prolongada, caquexia severa, disminución del apetito, signos de anemia y distensión abdominal con hepatoesplenomegalia (Figura 12); además de daños al hígado, bazo, médula ósea y ganglios linfáticos. Pueden verse afectados los pulmones y la mucosa intestinal. La trombocitopenia puede producir una tendencia al sangrado como petequias o hemorragias en las membranas mucosas, y la leucopenia puede producir un aumento de la susceptibilidad a otras infecciones. Otros síntomas pueden ser tos, diarrea crónica, oscurecimiento de la piel, linfadenopatía y, en muchos casos, signos de enfermedad renal crónica. Los casos leves, que presentan pocos síntomas pueden resolverse espontáneamente. A menos que sean tratados, la mayoría de los otros casos son, eventualmente, mortales; con frecuencia debidos a infecciones secundarias y a otras complicaciones. En pacientes coinfectados con VIH puede ocurrir una enfermedad fulminante o casos atípicos. Las personas que sufren infecciones tratadas exitosamente continúan siendo portadoras del parásito y la enfermedad puede volver si se inmunodeprimen. De manera similar, las personas infectadas de forma asintomática pueden desarrollar signos clínicos más tarde (IICA, 2010). Este tipo de leishmaniasis presenta una resistencia marcada al tratamiento de primera línea (compuestos antimoniales). Si no se trata, del 75 al 95% de los casos resultan letales. Una vez diagnosticada la enfermedad se estima que el paciente tendrá cerca de 1 año de vida (Montalvo, 2010).

Existen 3 especies de Leishmania que son las principales causantes de este tipo de afección:

Leishmania donovani: en India con afección sólo de humanos.

Leishmania chagasi: con distribución en América.

Leishmania infantum: en España, donde además de afectar a humanos, ataca a perros y roedores.

Figura 12. Hepatoesplenomegalia causada por leishmaniasis visceral.

2.10.5 Leishmaniasis dérmica post-kala azar (LDPK)

Se presenta después de la recuperación en algunos casos de leishmaniasis visceral, causada por *L. donovani*. Este síndrome se caracteriza por una erupción máculopapular, macular o nodular alrededor de la boca que luego se propaga. En África la LDPK es común. Generalmente ocurre dentro de los 6 meses después de presentarse leishmaniasis visceral y, de manera típica, desaparece dentro de un año sin tratamiento. En el sur de Asia este síndrome es poco frecuente, se presenta varios años después de que la leishmaniasis visceral se ha curado y requiere un tratamiento prolongado. En la India, la LDPK se observa en 1 a 3% de los casos de leishmaniasis visceral tratados con éxito (IICA, 2010).

2.10.6 Leishmaniasis veterinaria (LVet)

Entre los animales domésticos, los perros son la especie más afectada. La mayoría de los casos de leishmaniasis canina son causados por *L. infantum*, aunque otras especies también pueden encontrarse. Además, en ocasiones, se observan casos clínicos en gatos, caballos, burros y mulas infectados por diferentes especies de

Leishmania. La leishmaniasis no es una enfermedad significativa en el ganado salvo en los équidos, aunque se han observado casos aislados y poco frecuentes de leishmaniasis cutánea en ovejas, cabras y ganado vacuno en África, y se ha documentado un caso de infección por *Leishmania* en un cerdo en Sudamérica. También se ha informado la presencia de anticuerpos para *Leishmania* sp. en burros, vacas y cabras en África y cerdos en Brasil. Las ovejas y cerdos infectados en forma experimental no se enfermaron (IICA, 2010).

En ocasiones se ha informado la existencia de casos clínicos en animales salvajes o en especies salvajes cautivas como los primates, perros venaderos, zorros grises, lobos grises y los lobos de crin. Algunos zorros de monte y zorros rojos infectados en forma experimental también se enfermaron. En Australia, se ha informado que *Leishmania* sp. causa lesiones cutáneas en canguros, ualarús y wallabies cautivos (IICA, 2010).

Cada especie de *Leishmania* tiene uno o más reservorios primarios, aunque también pueden infectar y producir enfermedad en otras especies. Los cánidos parecen ser los reservorios para *L. infantum*, y los perros son la especie más importante en la permanencia de este parásito en ciclos domésticos. También ocurre en varios cánidos silvestres, tales como los lobos, zorros, chacales, zorros grises y los perros venaderos. Se han informado casos de infección con *L. infantum* en una amplia variedad de animales domésticos y silvestres como los gatos, équidos, agutíes silvestres, zariqüeya de orejas blancas, mangostas egipcias, ginetas, linces ibéricos, roedores, una foca y al menos una especie de murciélago. Algunas de estas especies como también los gatos, podrían actuar como reservorios secundarios en algunas áreas (IICA, 2010).

Los reservorios para las especies del Viejo Mundo que causan leishmaniasis cutánea incluyen los gerbillos, los gerbillos de Mongolia y otros roedores para *L. major*, y miembros de Hyracoideas (hyraxes) para *L. aethiopica*. Las especies del Nuevo Mundo que causan leishmaniasis cutánea con frecuencia permanecen entre animales que viven en bosques. Se desconocen los reservorios primarios para *L.*

braziliensis; sin embargo, se ha reportado que una gran variedad de especies, tales como carnívoros, roedores y los perisodáctilos, además de los perros, gatos y équidos, se han infectado con esta especie. Es posible que diferentes reservorios y vectores sean importantes en diferentes áreas. Los reservorios importantes para otras especies del Nuevo Mundo incluyen los perezosos para *L. guyanensis* y *L. panamensis,* los armadillos para *L. naiffi* y los roedores para *L. mexicana, L. amazonensis* y *L. lainsoni*. Los marsupiales y el zorro de monte, también se pueden infectar con *L. amazonensis*, aunque se cree que los roedores son los reservorios primarios. Los perros son el único reservorio conocido para *L. peruviana*, que causa leishmaniasis cutánea humana en los Andes Peruanos. Se sospecha que los mamíferos arbóreos son el reservorio para *L. shawi*, que se ha encontrado en monos (el sakí de barba negra, *Chiropotes satanas*), los perezosos y los coatíes. Se desconocen los reservorios para *L. venezuelensis*, que se ha encontrado en humanos y en gatos. (IICA, 2010).

Los animales generalmente se infectan de forma asintomática con *Leishmania* sp. El periodo de incubación reportado para *L. infantum* en perros varía de 3 meses a 7 años; los signos clínicos graves se presentan poco después de infectarse. Otros perros permanecen infectados sin presentar síntomas, en algunos casos durante toda la vida. Estos animales se pueden enfermar en cualquier momento, especialmente cuando se inmunodeprimen (IICA, 2010).

Figura 13. Cánido doméstico afectado por leishmaniasis.

2.11 Diagnóstico

El diagnóstico por lo general depende de la forma clínica de presentación y de las posibilidades tecnológicas existentes en el servicio médico que recibe el paciente. Una vez que se presenta un paciente con las características clínicas o epidemiológicas que hagan sospechar una leishmaniasis, pueden realizarse una serie de exámenes que se describirán a continuación, en relación con la forma de presentación de la enfermedad (Montalvo y col., 2012).

2.11.1 Aspectos clínicos útiles para la orientación del diagnóstico de las leishmaniasis

Al existir diversas formas de presentación de la leishmaniasis cutánea y mucocutánea, los aspectos clínicos que pudieran hacer pensar en la presencia de alguna de estas son diversos. En algunas ocasiones, la lesión evoluciona hacia una enfermedad de diversas características clínicas (IICA, 2010).

La diferenciación de las infecciones cutáneas es imprescindible, porque otras enfermedades como la lepra, el cáncer de piel, la tuberculosis, las micosis cutáneas, así como las picaduras de insectos infectadas, el impétigo, la sarcoidosis

y los neoplasmas pueden producir lesiones similares. Entre los hongos patógenos que producen daños semejantes a los de la leishmaniasis pueden encontrarse *Paracoccidioides braziliensis, Histoplasma capsulatum* y *Sporothrix schenkii*, así como bacterias piogénicas tipo *Staphylococcus* o también *Mycobacterium* (IICA, 2010).

En relación a los casos de leishmaniasis visceral, los pacientes presentan síntomas y signos de una infección sistémica persistente como fiebre, debilidad, pérdida de apetito y de peso. La invasión de parásitos a la sangre y el sistema retículo endotelial, provoca inflamación de nódulos, bazo e hígado. La hiperpigmentación de la piel que se presenta en pacientes del subcontinente Indio y antes dio nombre a la enfermedad, es un síntoma poco común, el cual se produce por una insuficiencia suprarrenal y, al parecer, guardaba relación con la duración prolongada de la enfermedad en el tiempo en que el tratamiento efectivo no era posible (IICA, 2010).

Esta forma clínica debe diferenciarse de la malaria, el síndrome de esplenomegalia tropical, esquistosomiasis, cirrosis, tripanosomiasis africana, tuberculosis, brucelosis, fiebre tifoidea, endocarditis bacteriana, histoplasmosis, malnutrición, linfoma y leucemia. Sin embargo, en la mayoría de las ocasiones no existen condiciones o recursos en las zonas endémicas para discriminar estas enfermedades (Montalvo y col., 2012).

2.11.2 Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico de la leishmaniasis se obtiene con base en los resultados de las pruebas de laboratorio, en conjunto con los datos clínicos y epidemiológicos. En los casos crónicos de LC y LMC, el diagnóstico es difícil por la escasez de parásitos en la lesión. El diagnóstico de la LV es complicado por el hecho de que los signos clínicos y los síntomas de la enfermedad son parecidos a los de otras enfermedades infecciosas tales como: histoplasmosis, tuberculosis, paludismo, toxoplasmosis, hepatitis, linfoma, entre otros. La naturaleza insidiosa e inespecífica de la LV, así como la reactividad cruzada con la Enfermedad de Chagas, pueden

confundir el diagnóstico. Por lo tanto, un diagnóstico definitivo de LV depende también de la detección de parásitos por examen de extendidos de médula ósea, ganglio linfático o aspirados de bazo (Chávez, 2012). En el cuadro 5 se presentan las principales formas de diagnóstico (Montalvo y col., 2012).

Cuadro 5. Principales formas de diagnóstico recomendadas en relación a la forma clínica de la leishmaniasis (Montalvo y col., 2012).

Método Diagnóstico	Forma clínica relacionada	Características distintivas
Prueba cutánea de Montenegro (Prueba de la leishmanina)	Leishmaniasis cutánea Leishmaniasis mucocutánea	No diferencia infecciones pasadas o recientes Método complementario utilizado en áreas endémicas Aplicable a estudios epidemiológicos e inmunológicos
Examen parasitológico de muestras clínicas (Examen microscópico, histopatológico y cultivo)	Leishmaniasis cutánea Leishmaniasis mucocutánea Leishmaniasis visceral	Aplicable en raspados, aspirados, biopsia Son específicos Requieren experiencia técnica Frecuentes contaminaciones de cultivo Características anatopatológicas difíciles de identificar Riesgoso para el paciente Requiere de alta pericia en la toma de muestra Complicaciones derivadas de hemorragias
Detección de anticuerpos (IFI, ELISA, rK39, electroinmuno-transferencia) Detección de anticuerpos por ensayo de aglutinación directa (DAT)	Leishmaniasis visceral	Gran variedad de antígenos Buena sensibilidad y especificidad en zonas endémicas Ensayo semicuantitativo Requiere incubaciones y equipamiento
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	Aplicable a todas las formas clínicas	Alta sensibilidad y especificidad Aplicable a muestras diversas Numerosos blancos genéticos y cebadores empleados

2.12 Control y profilaxis

La elección de la estrategia de control de vectores está principalmente dictada por la conducta de la mosca arenera. El procedimiento tradicional basado en el rociado residual de insecticida en las casas (RIHS, por sus siglas en inglés) de piretroides sigue siendo costoso y, frecuentemente, difícil de mantener debido a que hay que repetirlo cada año, la dificultad para la provisión de insecticidas, además de las dificultades de manejo y logística. Sin embargo, combinar el control de la malaria y la leishmaniasis hace que el RIHS tenga una mejor relación costo-efectividad. Es difícil establecer un promedio de costo del RIHS por casa, debido a que depende de varios parámetros (costo del insecticida, tamaño de la casa, periodicidad del rociado, etc.). Las redes para camas impregnadas con insecticida, representan una alternativa interesante (5 dólares por una cama grande, 5 años de duración). Esta herramienta ha sido recientemente mejorada con la disponibilidad en el mercado de redes de larga duración. Esto ha permitido un incremento en la eficacia debido a la eliminación del riesgo por no re-impregnar las redes y reduce el impacto negativo de un lavado constante (Desjeux, 2004).

Por otro lado, la disminución de la incidencia de *L. infantum* en perros puede ayudar a proteger a las personas del parásito. Algunos estudios han demostrado que los collares impregnados con insecticida protegieron tanto a los perros como a los niños en las áreas donde fueron utilizados. Los perros infectados han sido sacrificados en algunos países; sin embargo, existen dudas en relación con la eficacia de estos programas y en algunos países se consideran inaceptables. Para muchas especies de *Leishmania*, en particular las especies que causan leishmaniasis cutánea, los reservorios son los animales silvestres. La única manera práctica de reducir la incidencia de estas enfermedades es mediante la protección personal con repelentes para insectos, además de otras medidas (IICA, 2010).

En cuanto a la inmunización contra la leishmaniasis, hasta este momento no ha sido posible desarrollar una vacuna con una eficacia clínica importante. Esto se debe a los retos que implican la complejidad bioquímica propia del parásito, la gran

variedad de especies causantes de la leishmaniasis, los agentes sinérgicos presentes en la saliva del vector y el estado inmunológico del paciente. Sin embargo, la investigación de vacunas muestra varios factores clave que permiten tener un panorama positivo a este respecto (Alvar y col., 2013).

2.13 Tratamiento

Debido a que la leishmaniasis afecta, principalmente, a personas pobres en países en vías de desarrollo, el interés comercial de la industria farmacéutica en el desarrollo de nuevos fármacos para su tratamiento es limitado. Por otra parte, los avances en nuestro entendimiento de la biología de *Leishmania* sp. no han podido ser trasladados a efectivos compuestos quimioterapéuticos (Perrone y col., 2015).

Desde 1915, los compuestos de antimonio trivalente fueron utilizados para el tratamiento de la leishmaniasis. A pesar de que el tartar emético o tartrato antimónico de potasio era extremadamente efectivo, fue abandonado debido a su alta toxicidad. Posteriormente, alrededor de 1925, éste fue sustituido por el estibogluconato de sodio que tenía menos efectos tóxicos y hasta la fecha continúa siendo uno de los fármacos de primera línea en el tratamiento de la parasitosis. No obstante, algunos de los efectos adversos que presenta éste y otros fármacos de antimonio pentavalente son artralgia, mialgia, elevación transitoria de enzimas hepáticas y cambios en el electrocardiograma. Se muestra una diminución en la altura de la onda T y puede observarse una inversión de la misma en el 50% de los casos. Aunque la cardiotoxicidad severa no es común (alrededor del 9%), puede ocasionar la muerte en estos pacientes. Las características de cardiotoxicidad peligrosa incluyen un segmento QT cóncavo y una prolongación del intervalo corregido QT (QTc). Los valores normales de QTc son menos de 0.37 y 0.44 para hombres y mujeres, respectivamente, mientras que un incremento de 0.03 s o un valor absoluto de 0.50 s son considerados fatales (Sundar y Chakravarty, 2010).

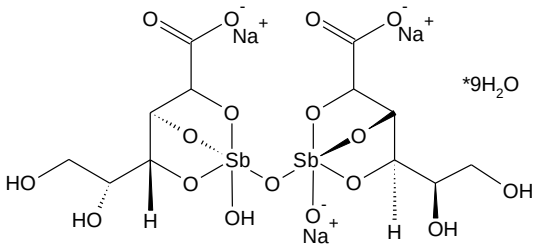
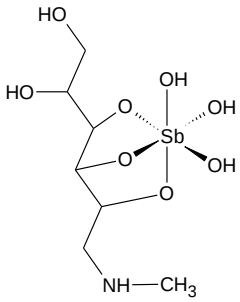
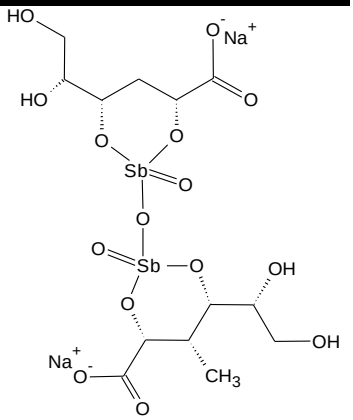
Otro fármaco que es utilizado es la anfotericina B, que resulta ser un poco más efectivo que las sales antimoniales. Está indicado para las lesiones mucocutáneas o leishmaniasis grave. De la misma manera, se ha empleado pentamidina, sin

embargo, ambos medicamentos resultan no ser efectivos por administración oral. Además, a menudo, cuando son utilizados por largos periodos de tiempo causan serios efectos secundarios, los cuales incluyen intoxicación cardiaca, hepática y renal (Murray, 2001; Akendengue y col., 2002). Esto ha impulsado a la OMS a enfatizar sobre la necesidad de descubrir y desarrollar nuevos fármacos en el tratamiento de la leishmaniasis (WHO, 2013).

Se ha demostrado que las especies de *Leishmania*, tienen diferentes sensibilidades a los fármacos antileishmaniales. La amplia disponibilidad de herramientas de genotipificación por PCR han permitido una rápida determinación de las especies, lo que es una precondición para el tratamiento de especies adaptadas o resistentes. Los consorcios nacionales y las redes internacionales (Alemania, Francia, Reino Unido, la OMS) y diversos autores han publicado guías para el tratamiento de leishmaniasis. La mayoría de estas guías se concentran en el tratamiento orientado a la especie. Las guías armonizan muchos puntos, pero aún permanecen algunas diferencias. Las recomendaciones están usualmente basadas en los datos de regiones endémicas, sin embargo, los viajeros pueden tener diferentes respuestas al tratamiento de las que tendría la población endémica, que ha tenido, probablemente, repetidos contactos con los parásitos. En este sentido, se han utilizado fármacos antifúngicos como el fluconazol, ketoconazol, ungüentos de paromomicina y metilbencetonio, e incluso nifurtimox y alopurinol; sin embargo, los resultados no muestran una mejora sustancial en la eficacia del tratamiento (Mosimann y col., 2013).

En el Cuadro 6 se enlistan los fármacos actualmente utilizados para el tratamiento de la leishmaniasis, su vía de administración, dosis, precio por mes y efectos secundarios.

Cuadro 6. Fármacos utilizados actualmente en el tratamiento de la leishmaniasis.

Estructura Química, Nombre, Mecanismo de Acción	Descripción
 Pentostam® (Estibogluconato de Sodio)	 Glucantime® (Antimoniato de Meglumina)  Gluconato Antimonial de Sodio

Mecanismo de Acción: El antimonio pentavalente (Sb^{V}) es considerado un pro-fármaco que es convertido a Sb^{III}. Se ha reportado que tanto el Sb^{V} como Sb^{III} causan la muerte de las especies de *Leishmania* por fragmentación del ADN, sugiriendo su rol en la apoptosis, aunque su mecanismo exacto de acción sigue sin ser explorado. Adicionalmente, los pentamoniales inhiben las vías de tripanotión-reductasa, glucólisis y otras vías metabólicas.

Uso: Para todas las formas de leishmaniasis.

Vía de administración: Intramuscular, intravascular o intralesional.

Dosis: 20 mg/kg/día (28-30 días).

Eficacia: 35-95% dependiendo del área.

Efectos adversos: Severa cardiotoxicidad, pancreatitis, nefrotoxicidad, hepatotoxicidad.

Precio: 50 a 198 dólares.

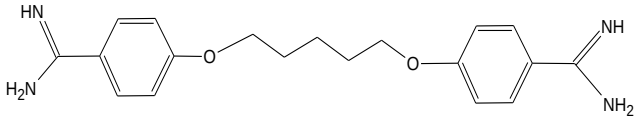
Resistencia: Común (> 65% en Bihar, India).

Ventajas: Fácilmente disponible y bajo costo.

Desventajas: Control de calidad, duración del tratamiento, administración dolorosa,

respuesta variable en diferentes especies que causan LC, toxicidad y resistencia en India.

Fuentes: Singh y col., 2014; Perrone y col., 2015.



Pentacarinat®

(Pentamidina)

Mecanismo de Acción: El mecanismo preciso no se conoce, pero se ha reportado que el fármaco entra en el promastigote por medio de transportadores de arginina y poliaminas y se acumula en mitocondria donde inhibe a la topoisomerasa mitocondrial II.

Uso: Fármaco de segunda línea cuyas formas de isetionato y metanosulfonato son utilizadas para LV. Es utilizado principalmente para leishmaniasis resistente a antimoniales y en pacientes inmunocomprometidos.

Vía de administración: Intramuscular.

Dosis: 3 mg/kg/día (4 inyecciones).

Eficacia: 35-96% dependiendo de la especie de *Leishmania*.

Efectos adversos: Hiperglicemia, como resultado de daño pancreático; hipotensión, taquicardia y cambios electrocardiográficos.

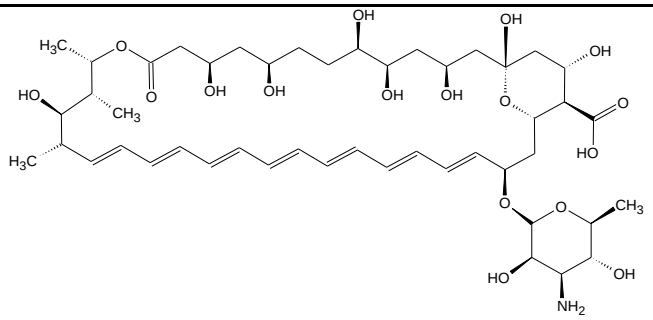
Precio: No disponible.

Resistencia: No documentada.

Ventajas: Tratamiento por un periodo corto de tiempo.

Desventajas: Eficacia depende de la especie de *Leishmania*. Sólo para formas específicas de LC en Sudamérica (tratamiento de primera línea de LC en la Guyana Francesa).

Fuentes: Singh y col., 2014; Perrone y col., 2015.



Anfotericina B

Mecanismo de Acción: La anfotericina B muestra una alta afinidad por el ergosterol, el esterol más abundante en la membrana celular de leishmania. Una vez incorporada, forma poros acuosos, lo que incrementa la permeabilidad de la membrana y ocasiona la muerte del parásito.

Uso: Fármaco de primera elección en regiones endémicas donde la resistencia a antimoniales es común.

Vía de administración: Intravenosa.

Dosis: 0.75 a 1 mg/kg/día (15-20 días, diario o alternado). Forma liposomal: 10 a 30 mg/kg total (una sola dosis o 3-5 mg/kg/dosis)

Eficacia: > 90%. Forma liposomal: > 97%.

Efectos adversos: Nefrotoxicidad severa, reacciones relacionadas a la infusión, hipocalemia, fiebre. Forma liposomal: rigidez muscular, escalofríos durante la administración, nefrotoxicidad.

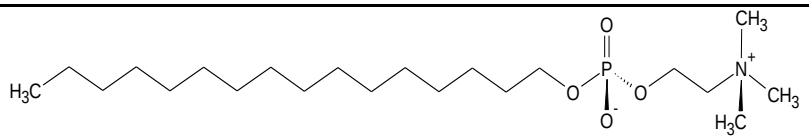
Precio: 21 a 100 dólares. Forma liposomal: 280 a 3000 dólares.

Resistencia: Cepas de laboratorio. Forma liposomal: no documentada.

Ventajas: Resistencia primaria no conocida. Forma liposomal: Altamente efectiva, baja toxicidad.

Desventajas: Administración intravenosa lenta, dosis limitada por nefrotoxicidad, inestable al calor (requiere refrigeración). Forma liposomal: costo elevado, administración lenta, inestable al calor (requiere temperatura < 25 °C).

Fuentes: Singh y col., 2014; Perrone y col., 2015.



Impavido®

(Miltefosina, hexadecilfosfocolina)

Mecanismo de Acción: La actividad de la miltefosina se debe a su acumulación intracelular, la cual es regulada por transportadores de fármacos. Aunque el mecanismo exacto de la acción antileishmanial no es claro, se ha encontrado que ocasiona un proceso tipo apoptosis en *L. donovani*.

Uso: Único fármaco de administración oral para el tratamiento de LV, utilizado originalmente como agente anticancerígeno.

Vía de administración: Oral.

Dosis: 100 a 150 mg/día (28 días).

Eficacia: Asia: > 94% (India); África: 60-93%.

Efectos adversos: Vómito, diarrea, nefrotoxicidad, hepatotoxicidad, teratogenicidad.

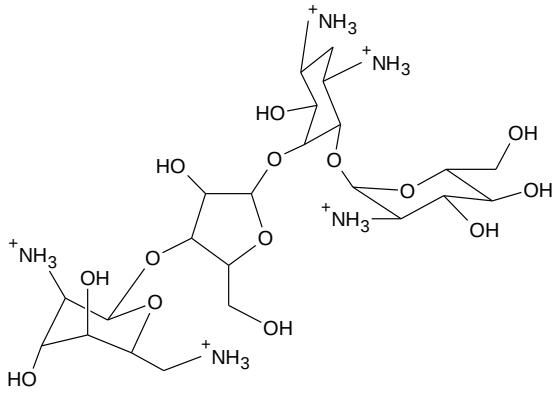
Precio: 70 a 150 dólares.

Resistencia: Cepas de laboratorio. Su vida media en el cuerpo es de 152 h, lo que potencia el potencial desarrollo de resistencia clínica.

Ventajas: Efectivo y fácil administración.

Desventajas: Precio, posible teratogénico, desarrollo potencial de resistencia, falta de adhesión al tratamiento por parte del paciente.

Fuentes: Singh y col., 2014; Perrone y col., 2015.



Paromomicina

<u>Mecanismo de Acción</u>: No está claro, pero se ha descubierto recientemente que en *L. donovani* promueve la asociación de las subunidades 50S y 30S de ribosomas citoplasmáticos y mitocondriales y detiene su reciclaje lo que, eventualmente, inhibe la síntesis de proteínas.

<u>Uso:</u> Para ambos tipos de leishmaniasis, aunque resulta más efectivo para LC.

<u>Vía de administración</u>: Intramuscular (LV) y tópica (LC).

<u>Dosis</u>: 15 mg/día (21 días,) o 20 mg/día (17 días).

<u>Eficacia</u>: 94% (India); África: 46-85%.

<u>Efectos adversos</u>: Nefrotoxicidad severa, citotoxicidad, hepatotoxicidad.

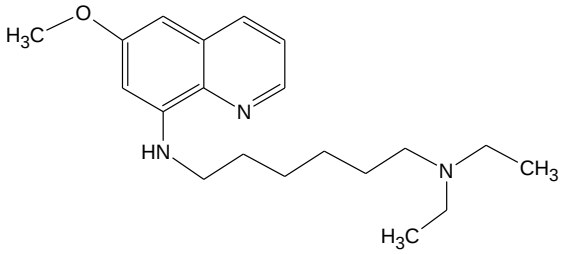
<u>Precio</u>: 10 a 15 dólares.

<u>Resistencia:</u> Cepas de laboratorio (*L. donovani* y *L. tropica*).

<u>Ventajas</u>: Efectivo, bien tolerado y relativamente barato.

<u>Desventajas</u>: La eficacia varía entre y dentro de las regiones, potencial para desarrollar resistencia, limitada disponibilidad en zonas endémicas.

<u>Fuentes:</u> Singh y col., 2014; Perrone y col., 2015.



Sitamaquina

Mecanismo de Acción: A altas concentraciones, afecta la motilidad, la morfología y el crecimiento del parásito. Se acumula en los compartimientos ácidos del citosol, sin embargo, su acumulación en el acidocalcisoma no es clara.

Uso: No se encuentra aprobado por la FDA como medicamento antileishmanial, se encuentra en fase III.

Vía de administración: Oral.

Dosis: A dosis entre 1.5 y 3.0 mg/kg/día por 28 días ha mostrado una cura del 87 al 100% de los pacientes.

Efectos adversos: No disponibles.

Precio: No disponible.

Resistencia: Cepas de laboratorio (*L. donovani* y *L. tropica*).

Ventajas: Fácil administración.

Desventajas: Se requieren más estudios para comprender su eficacia, mecanismo de acción y toxicidad.

Fuentes: Singh y col., 2014; Perrone y col., 2015.

2.14 Nuevas perspectivas en el tratamiento de la leishmaniasis

A pesar del significante progreso durante los últimos años en la quimioterapia contra *Leishmania*, aún se espera encontrar el medicamento ideal. El actual régimen de tratamiento está comprometido debido al precio, la factibilidad, seguridad, eficacia, toxicidad, efectos secundarios y la probabilidad de desarrollo de resistencia; siendo éste último el mayor inconveniente, sobre todo en países donde la leishmaniasis contituye un problema importante de salud pública, como sucede en India. En los años recientes, se ha utilizado la combinación de dos o más fármacos con el fin de reducir el tiempo de tratamiento, las dosis y, consecuentemente, la toxicidad; sin embargo, la probabilidad de desarrollo de resistencia permanece latente; además de que la mayoría de los agentes

terapéuticos no elimina completamente al parásito del huésped infectado (Singh y col., 2014; Perrone y col., 2015).

Además de proponer nuevos protocolos de tratamiento para esta parasitosis, también se han desarrollado sistemas farmacéuticos de liberación controlada, como son liposomas y nanopartículas. Se ha demostrado que estas nuevas formas farmacéuticas proveen una mayor eficacia y seguridad una vez que los fármacos se han adsorbido o encapsulado en estos acarreadores, reduciendo con ello la dosis y las reacciones adversas de las formulaciones convencionales, incluso en un estudio hecho por Roychoudhury y col. (2011), se encontró que ratones BALB/c infectados con *L. donovani* resistente a gluconato antimonial de sodio mostraban una respuesta positiva frente a la infección cuando fueron tratados con estibogluconato de sodio en formulación liposomal de estearilamina. Asimismo, la anfotericina B funcionalizada a nanotubos de carbono o conjugada a nanopartículas de quitosán y condroitina, es significativamente más activa y menos tóxica que en la formulación convencional (Perrone y col., 2015).

Otras estrategias para mejorar el tratamiento antileishmanial es la identificación de nuevos blancos terapéuticos ubicados tanto en el parásito como en el huésped. Los estudios para comprender mejor la biología de las interacciones huésped-parásito permitirán facilitar el diseño de fármacos más efectivos contra la infección (Perrone y col., 2015). Algunas de las rutas del metabolismo de *Leishmania* que poseen enzimas como blancos potenciales para fármacos son: la vía de las poliaminas, la ruta de las purinas, la vía glicolítica, el metabolismo de los tioles, la vía de los esteroles y otras enzimas como las peptidasas y las que se ven involucradas en la maquinaria celular como la dihidrofolato reductasa, la metacaspasa, la topoisomerasa y las proteíncinasas activadas por mitógeno y dependientes de ciclinas (Singh y col., 2014).

A pesar de los avances tecnológicos que se han dado en la investigación sobre la quimioterapia contra leishmania, sigue existiendo la tendencia de los grupos de científicos a regresar a la exploración de plantas medicinales para la búsqueda de

metabolitos activos. Los productos naturales son una fuente potencial de nuevos y selectivos agentes para el tratamiento de las enfermedades tropicales desatendidas, especialmente para aquéllas de origen parasitario ocasionadas por protozoarios. La utilidad de los productos herbales en el descubrimiento y desarrollo de fármacos no es sorprendente, ya que los seres humanos los han utilizado desde hace siglos. Se considera que las plantas empleadas en la medicina tradicional se consideran una fuente muy valiosa para la obtención de nuevos y mejores agentes farmacológicos (Singh y col., 2014). Cerca de dos tercios de la población mundial siguen utilizando los remedios médicos tradicionales, principalmente plantas, debido a la limitada disponibilidad y capacidad para comprar los medicamentos farmacéuticos. Esto explica porqué muchos investigadores se enfocan en moléculas naturales y productos derivados de plantas que pueden ser obtenidos fácilmente, están disponibles localmente y pueden ser seleccionados por su uso etnomedicinal (Al-Musayeib y col., 2012). Para obtener una medicina herbal, o un compuesto activo aislado, diferentes estrategias pueden ser usadas: investigación del uso tradicional, composición química y toxicidad de las plantas; o una combinación de diversos criterios (Tiuman y col., 2011).

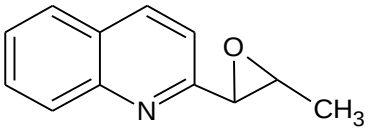
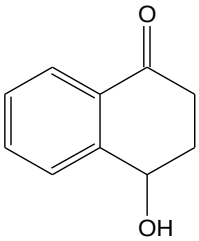
2.15 Productos naturales con actividad leishmanicida

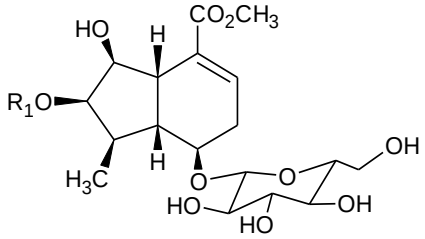
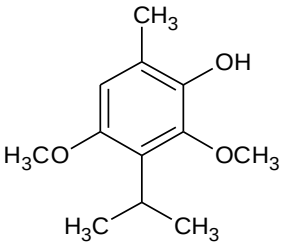
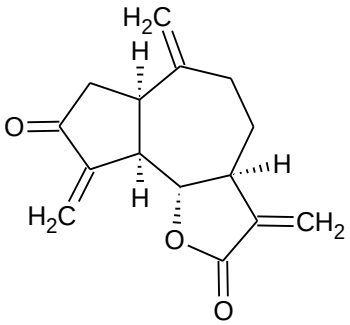
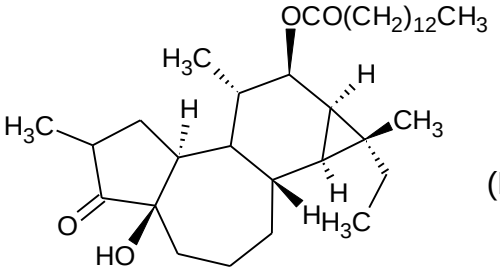
Los productos naturales obtenidos de plantas, animales, organismos marinos o microorganismos han tomado forma gracias a la evolución. A través del tiempo evolucionario, la máquina biosintética de la naturaleza ha producido un extenso número de productos naturales con una amplia diversidad química y distintas propiedades biológicas. Tales productos naturales, a menudo, son moléculas complejas estereoquímicamente con diversos grupos funcionales que interactúan con alta especificidad con los blancos biológicos. Estas características los hacen valiosos como productos de salud o como base para el desarrollo de fármacos (Khazir y col., 2013). Por esto, la investigación con respecto a la búsqueda de nuevos prototipos estructurales para el desarrollo de fármacos útiles para el tratamiento de la leishmaniasis ha sido más exhaustiva en la última década.

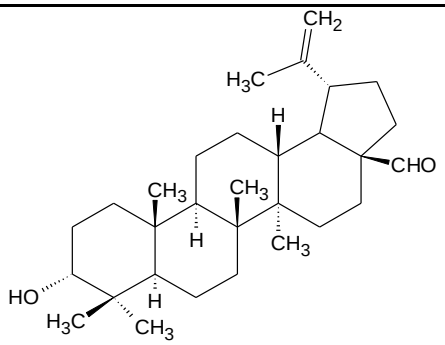
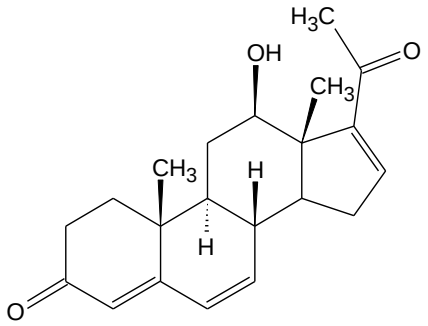
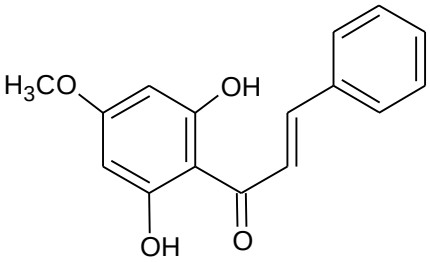
Los metabolitos secundarios de plantas poseen actividad contra diversos grupos de patógenos, tales como virus, bacterias y hongos. Incluso le confieren a la planta protección contra hebívoros como artrópodos y vertebrados, además de características alelopáticas, que inhiben el crecimiento cercano de otras especies vegetales (Sharma y col., 2007; Singh y col., 2014).

La diversidad estructural de los metabolitos secundarios de origen natural a los cuales se les ha demostrado actividad anti-leishmanial, es muy amplia, entre los que se encuentran: alcaloides, terpenoides, compuestos fenólicos, quinonas, iridoides, esteroles e incluso algunos péptidos (Singh y col., 2014). En el Cuadro 7 se presentan algunos ejemplos. Se indica su origen y el tipo de ensayo en el que fueron probados.

Cuadro 7. Metabolitos secundarios con actividad leishmanicida (Mishra y col., 2011; Singh y col., 2014).

Estructura y Nombre	Tipo de metabolito/ Aislado de	Actividad leishmanicida
 Chimanina D	Alcaloide *Galipea longiflora* (Rutaceae)	CI_{90} para promastigotes de *L. braziliensis* de 25 μg/mL. Tratamiento oral (0.54 mmol/kg) por 5 días logró eliminar el 73% de los parásitos.
 4-hidroxi-1-tetralona	Quinona *Ampelocera edentula* (Ulmaceae)	Actividad contra promastigotes de *L. braziliensis, L. amazonensis* y *L. donovani* con una CI_{50} = 10, 61 y 65 μM. En tratamiento subcutáneo de LC en ratones BALB/c infectados con *L. amazonensis* se logró un buen resultado a una dosis de 25 mg/kg/día.

 R_1= p-metoxicinamoilo, cafeoilo, cumaroilo o H. Arbortristósidos	Iridoide *Nycanthes arbortristis* (Oleaceae)	Los ensayos *in vivo* por vía intraperitoneal y oral en hámsters infectados con amastigotes de *L. donovani* a dosis de 10 y 100 mg/kg, mostraron actividad leishmanicida significativa.
 Espintanol	Monoterpeno *Oxandra espintana* (Annonaceae)	Presenta actividad contra 12 especies de *Leishmania*, aunque no para *L. donovani.*
 Dehidrozaluzanina C	Sesquiterpeno *Munnozia maronii* (Asteraceae)	Muestra actividad contra promastigotes de 11 especies de *Leishmania*, a concentraciones entre 2.5 y 10 μg/mL. En ensayos *in vivo*, disminuye las lesiones ocasionadas por *L. amazonensis.*
 12–o–tetradecanoilforbol–13–acetato (TPA)	Diterpeno *Codiaeum variegatum* (Euphorbiaceae)	A concentración de 32.42 nM presenta la habilidad de producir una gran variedad de cambios estructurales en los parásitos de *L. amazonensis*, por activación de la proteíncinasa C.

 Betulinaldehído	Triterpeno *Jacaranda copaia* (Dilleniaceae)	Actividad *in vitro* contra amastigotes de *L. amazonensis*.
 Neridienona	Esterol *Pentalinon andrieuxii* (Apocynaceae)	Actividad*in vitro* contra promastigotes y amastigotes de *L. mexicana* con una CI_{50} entre 1.4 y 14.5 μM.
 2’,6’–dihidroxi–4’–metoxichalcona	Chalcona *Piper aduncum* (Piperaceae)	Muestra actividad contra promastigotes de *L. amazonesis*, a una concentración de 0.5 μg/mL; sin embargo se necesita una CI_{50} = 24 μg/mL para la forma de amastigotes. Afecta la ultra estructura de la mitocondria del parásito sin causar daño o inducción de la producción de óxido nítrico en el macrófago.

2.16 Plantas de la medicina tradicional mexicana con potencial para combatir a *Leishmania* spp.

México es reconocido a nivel mundial por poseer una rica e inexplorada biodiversidad, la cual incluye a más de 20,000 especies de plantas. De estas, 7,000

son comúnmente utilizadas en la práctica de la medicina tradicional (Getti y col., 2009).

Desde tiempos ancestrales las culturas precolombinas aprovecharon estos recursos y transmitieron de generación en generación, el conocimiento de las propiedades medicinales de las plantas distribuidas en su zona geográfica. En México, el tercer uso que se le da a las plantas medicinales, es como antiparasitarias, sobre todo para el tratamiento de parasitosis intestinales, cuyos agentes causales pueden ser protozoarios o helmintos (UNAM, 2013). De manera más reducida, también existen reportes del uso de remedios herbolarios para el tratamiento del paludismo o malaria, enfermedad causada por protozoarios del género *Plasmodium.* De la bibliografía consultada, sólo *Cecropia obtusifolia* (conocida comúnmente como guarumbo) está reportada para el tratamiento de la leishmaniasis. Esta planta no fue estudiada, debido a la dificultad del acceso a ella. De este gran acervo sobre plantas antiparasitarias reportado en bibliografía dedicada a este tema, se seleccionaron 10 especies (Cuadro 8 a Cuadro 17) por su potencial uso para combatir la leishmaniasis. Asimismo, se describen los usos tradicionales, sus características botánicas, perfil fitoquímico y los reportes encontrados en cuanto a su actividad biológica en algunos ensayos realizados.

Cuadro 8. *Acacia farnesiana* (L.) Willd. Descripción, información etnomédica y científica (UNAM, 2013).

Nombre Popular: Huizache.

Otros Nombres: Huisache, huechachin, wichachin.

Nombre Científico: *Acacia farnesiana* (L.) Willd.

Familia: Leguminosae.

Descripción: Arbusto o árbol hasta de 7 m de altura, muy ramificados de tallos

lisos con muchas espinas blancas o blanquecinas de 1 a 5 cm de largo. Las hojas son pequeñas y divididas en hojitas más chiquitas que dan la apariencia de plumas, tiene flores como motitas amarillas muy perfumadas. Los frutos son vainas, que pueden estar solas o agrupadas, un poco alargadas, con las puntas redondeadas, gruesas y aplanadas, con semillas numerosas en forma de riñón de color pardo-amarillo. Originario de los trópicos y subtrópicos de América. Habita en climas cálido, semicálido y templado, desde el nivel del mar hasta los 2,000 m. Crece silvestre a orilla de caminos, de ríos o riachuelos, presente en vegetación perturbada de sabana, manglar, bosque tropical caducifolio, subcaducifolio, subperennifolio y perennifolio, matorral xerófilo, bosque espinoso, pastizal, bosque mesófilo de montaña, de encino y de pino. En México se encuentra en los estados de Baja California Sur, Sonora, Sinaloa, Jalisco, Michoacán, Estado de México, Guerrero, Oaxaca, Chiapas, Morelos, Quintana Roo, Veracruz, Tabasco, Hidalgo, Puebla y Guanajuato.

Usos Medicinales: Diarrea, tifoidea, bazo crecido, faringitis, heridas, dolor de cabeza, contra las nubes de los ojos, empacho, herpes bucal, para afianzar la dentadura, como antiespasmódico, astringente y antituberculoso.

Formas de Preparación: El cocimiento de la corteza abre el apetito y cura el dolor de estómago. Como tintura se usa para curar piquetes de alacrán e insectos. La infusión de flores se usa contra disentería, dispepsia, inflamaciones de la piel y mucosas. La raíz hervida se toma como agua de tiempo para combatir hemorragias vaginales. La resina es antitusígena.

Planta/Referencia	Reportes científicos
Acacia farnesiana (hojas y tallos) Márquez y col., 1999.	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** Ácido m-digálico, galato de etilo, galato de metilo, ácido gálico, ácido elágico, canferol, quercetina, miricetina, rutina, naringina, formononetina, 7-glucósido de canferol. **Actividad biológica:** NR.

Acacia farnesiana (vainas) Márquez y col., 1999.	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** 7-glucósido de galoilglucosa, naringenina, 7-glucósido de naringenina, 7-diglucósido de naringenina acetilado con ácido gálico, 7-ramnoglucósido de naringina. **Actividad biológica:** NR.
Acacia farnesiana (semillas) Márquez y col., 1999.	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** Colesterol, campesterol, estigmasterol, sitosterol, ácido djenkólico, ácido N-acetildjenkólico, sulfóxido del ácido N-acetildjenkólico, ácido γ--glutamildjenkólico, ácido pipecólico, ácido 4-hidroxipipecólico, S-alquil-L-cisteína, farnesiásido. **Actividad biológica:** NR.
Acacia farnesiana (hojas) Márquez y col., 1999.	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** Linamarina o lotaustralina. **Actividad biológica:** NR.
Acacia farnesiana (flores) Márquez y col., 1999.	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** Pinitol (5-O-metil-D-inositol), glucosa, ramnetina, isoramnetina, 3,7-diglucoramnósido de isoramnetina, salicilato de metilo, alcohol bencílico, aldehído benzoico, acetato de bencilo, benzoato de metilo, caproato de etilo, hexanal, octanal, nonanal, decanal, 2-metoxibenzoato de metilo, geraniol, anisaldehído, acetato de geranilo, 2,6-dihidroxibenzoato de metilo, β-ionona, α-ionona, cis-metil-3-decen-3-ol, acetato de anisilo, eugenol, alcohol anísico, aldehído verátrico, dihidro-β-ionona, nonadecano, ácido *cis*-metil-3-decen-3-oico, 6,10,15-trimetilmetil-2-pentadecanona, palmitato de etilo, linoleato de etilo, linolenato de etilo, vainillato de metilo, ácido palmítico, ácido *trans*-metil-3-decen-4-oico, ácido anísico,

	ácido salicílico, veratrato de metilo, dihidroactinidiolida, heptadecano, 2,6-dimetoxi-3-benzoato de metilo, ácido mirístico, benzoato de bencilo. **Actividad biológica:** NR.
Acacia farnesiana Márquez y col., 1999.	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Planta completa, extracto etanólico: antibacteriano, fungicida (*Candida albicans*), estimulante uterino en rata, hipoglicémico. Fracción glicosídica extraída de la planta completa: cronotrópico positivo, inotrópico positivo, inhibidor de la actividad de tripsina, broncodilatadora, antiinflamatoria, relajante de músculo liso, potenciadora de barbitúricos. Partes aéreas, extracto etanólico: antimicrobiano.
Acacia farnesiana Gallego y col., 2006.	**Lugar de colecta:** Santa Fe de Antioquia, Colombia, 2006. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** extracto de las hojas en Hexano:Diclorometano:Metanol (2:1:1): CC_{50} (μg/mL) en células U937: 40.8; *L. panamensis* amastigotes, 80.8% de inhibición.
Acacia nilotica Eldeen y col., 2010.	**Lugar de colecta:** Jardín botánico de la Universidad de KwaZulu-Natal Pietermaritzburg, Sudáfrica. **Perfil fitoquímico:** Niloticano. **Actividad biológica:** CMI (μg/mL): *Bacillus subtilis:* 4.0 ± 0.7; *Staphylococcus aureus:* 8.0 ± 0.5; *Escherichia coli:* 33.0 ± 1.2; *Klebsiella pneumoniae:* 16.0 ± 0.8.
Acacia sp. Heil y col., 2000; Heil y col., 2002; González-Teuber y	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Defensa contra fitopatógenos.

col., 2010.	
Acacia pennata Dongmo y col., 2005.	**Lugar de colecta:** Lamto, Costa de Marfil, 1997. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Antinociceptivo y antiinflamatorio.
Acacia farnesiana Alanís-Garza y col., 2007.	**Lugar de colecta:** El Potrero, Villaldama, Nuevo León, México. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Antifúngico (Negativo).
Acacia farnesiana García y col., 2006.	**Lugar de colecta:** Mercados del área metropolitana de Monterrey, Nuevo León, México, 2006. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Extracto etanólico: *Vibrio cholerae* ATCC 25870*:* CMB (μg/mL): 4.0 ± 0.1.

*NR= No Reportado

Cuadro 9. *Bauhinia variegata L.*. Descripción, información etnomédica y científica (UNAM, 2013).

Nombre Popular: Pata de vaca

Otros Nombres: Pata de cabra, pata de puerco.

Nombre Científico: *Bauhinia variegata L.*

Familia: Leguminosae

Localización: Puebla, Quintana Roo, Veracruz, Yucatán, San Luis Potosí, Querétaro.

Descripción: Arbusto o árbol de 1 a 8 m de altura. Las hojas son más anchas que largas y a veces, partidas en dos, parecidas a una pata de vaca, de color verde pálido. Las flores son blancas con unos hilos largos, con el tiempo se tornan color rosa, pueden ser pocas o numerosas. Los frutos son vainas de 5 a 12 cm de largo, con 5 a 10 semillas. Especie originaria de América austral y América tropical. Habita en clima cálido desde los 4 hasta los 900 msnm. Crece a orillas de caminos, asociada a bosque tropical caducifolio, subcaducifolio, subperennifolio y

perennifolio y bosque de encino.

Usos Medicinales: En té se utiliza para curar la disentería y la diarrea. También es útil para enfermedades respiratorias como catarro, afecciones pulmonares y asma. Se usa, además, como cicatrizante, desinfectante, revitalizante y vigorizante, antiinflamatorio, en casos de espanto y en el sobreparto.

Información científica: Contiene lactonas, flavonoides, terpenoides, glicolípidos, esteroides glucosilados, esteroides, taninos, quininas.

Planta/Referencia	Reportes científicos
Bauhinia forficata *Bauhinia monandra* De Sousa y col., 2007.	**Lugar de colecta:** Río de Janeiro, Brasil. **Perfil fitoquímico:** 3,7-di-O-α-ramnopiranosilkampferol, 3,7-di-O-α-ramnopiranosilquercetina. **Actividad biológica:** Actividad hipoglicémica (0.1 mL (10% de extracto)/10g de peso).

Cuadro 10. *Bouvardia ternifolia* (Cav.) Schltdl. Descripción, información etnomédica y científica (Márquez y col., 1999).

Nombre Popular: Campanilla

Otros Nombres: Cerillito, lengua de víbora, trompetilla.

Nombre Científico: *Bouvardia ternifolia* (Cav.) Schltdl.

Familia: Rubiaceae

Descripción: Hierba o arbusto de 50 cm hasta 3 m de altura, con los tallos frondosos. Tiene las hojas agrupadas de 3 a 4 que parecen salir de un mismo punto, son alargadas como la punta de una lanza y con pelos. Los agrupamientos de las flores crecen en la parte terminal de la planta, con la corola roja en forma de trompeta y vistosas. Los frutos son unas capsulitas y las semillas son de color café-rojizo. Especie originaria de Texas y México, está presente en sitios con clima

cálido, semicálido, semiseco y templado, desde el nivel del mar hasta 3900 msnm. Asociada a bosques tropicales caducifolio y perennifolio, matorral xerófilo, bosque de encino, de pino, mixto de encino-pino y de juníperos.

Usos Medicinales: Parásitos intestinales, mordeduras de víbora, picadura de animales ponzoñosos, erisipela, dolores, fatiga, inflamación, calentura, moretones.

Formas de Preparación: Se cortan de 3 a 5 hojas del arbusto se hierven por cinco minutos y el té se toma caliente por 3 días seguidos. Puede tomarse como agua de tiempo.

Planta/Referencia	Reportes científicos
Bouvardia ternifolia Jolad y col., 1977.	**Lugar de colecta:** NR **Perfil fitoquímico:** bouvardina, desoxibourvardina. **Actividad biológica:** actividad antitumoral.
Bouvardia ternifolia Cornejo-Garrido y col., 2012.	**Lugar de colecta:** Miahuatlán, Oaxaca, noviembre de 2008. **Perfil fitoquímico:** ácido ursólico, ácido oleanólico. **Actividad biológica:** Toxicidad aguda y subaguda (no la presenta).

*NR= No Reportado

Cuadro 11. *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw. Descripción, información etnomédica y científica (Riojas y González, 1994).

Nombre Popular: Espuela de Caballero

Otros Nombres: Flamboyán, Tabachín

Nombre Científico: *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw.

Familia: Leguminosae

Descripción: Es un arbusto o árbol pequeño de 3 a 6 m de altura, muchas veces espinoso, de corteza parda, delgada y lisa. Las hojas son de color verde, más

claras por la parte de atrás. Las flores son grandes y vistosas, de color amarillo anaranjado o rojo con partes amarillas. Están en racimos. El fruto es una vaina aplanada de 10 cm de largo. Florece en primavera y otoño. Se cultiva en zonas cálidas.

Usos Medicinales: Fiebre, anginas, parásitos, purgante.

Formas de Preparación: Se utiliza en infusión de un puño de flores en 1 L de agua.

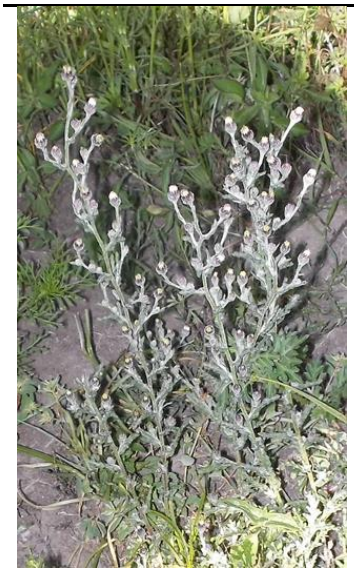
Información Científica: Su toxicidad se debe principalmente a su acción purgante y emética, aunque se afirma también que el cocimiento de las hojas es abortivo, se le usa en bajas dosis para provocar la menstruación. Las flores contienen un principio amargo. Las raíces son consideradas venenosas. Estudios químicos han detectado una resina amarga, taninos, hidratos de carbono, saponinas y un alcaloide denominado natina, cuya acción no se ha establecido. Los peligros principales resultan de la ingestión de la hoja y la raíz. En razón de que pueden provocar gastroenteritis severa, aunque no mortales. No deben usarse las hojas, sólo las flores.

Planta/Referencia	Reportes científicos
Caesalpinia pulcherrima Calzada y col., 2006; Calzada y col., 2007.	**Lugar de colecta:** DF, Hidalgo, Edo de México, Guanajuato, Sinaloa, Yucatán. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** CI_{50} *Entamoeba histolytica* 182.4 μg/mL, CI_{50} *Giardia lamblia* 49.9 μg/mL, CI_{50} *Trichomonas vaginalis* 137.7 μg/mL.
Caesalpinia gilliesi Manjili y col., 2012.	**Lugar de colecta:** Irán, 2008. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** CI_{50} *L. major* 9.76 μg/mL; CC_{50} Macrófagos J774 45.13 μg/mL.

Caesalpinia echinata Cota y col., 2011.	**Lugar de colecta:** Minas Gerais, Brasil, 2007. **Perfil fitoquímico:** 6 terpenoides tipo casano. **Actividad biológica**: Amastigotes de *L. amazonensis* %actividad leishmanicida con 20 μg/ml de cada compuesto: 1→ 56; 2→ 69; 3→ 26; 4→ 43; 5→ 27; 6→ 6; Control de anfotericina b (0.2 μg/mL)→ 70.
Caesalpinia sp. Baldim y col., 2012.	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** Compuestos fenólicos, triterpenos, naftoquinonas, protosapaninas. **Actividad biológica:** Efecto antioxidante, inhibidor enzimático, antiviral, antiinflamatorio, antimicrobiano, antioxidante, antitumoral, citoprotector.
Caesalpinia pulcherrima Chiang y col, 2003.	**Lugar de colecta:** Taiwán. **Perfil fitoquímico:** Lupeol, acetato de lupeol, miricetina, quercetina, rutina. **Actividad biológica:** Actividad sobre HSV y células de carcinoma cutáneo.
Caesalpinia pulcherrima Srinivas y col., 2003.	**Lugar de colecta:** NR **Perfil fitoquímico:** 5,7-dimetoxi-30,40-metilendioxiflavanona, isobonducelina, 20-hidroxi-2,3,40,60-tetrametoxichalcona, 5,7-dimetoxiflavona, bonducelina. **Actividad biológica:** Antibacterial y antifúngica.

*NR= No Reportado

Cuadro 12. *Conyza filaginoides* (D.C.) Hieron. Descripción, información etnomédica y científica (UNAM, 2013).



Nombre Popular: Simonillo

Otros Nombres: Falso scalechinchi, hierba de las ánimas, rosilla.

Nombre Científico: *Conyza filaginoides* (D.C.) Hieron.

Familia: Compositae

Descripción: Planta anual, de 30 a 60 cm de altura, con abundantes pelos y aspecto lanoso. Tiene hojas angostas, de 1 a 3 cm de largo, con uno a cinco dientes en cada lado de la hoja. Las flores están agrupadas en espigas alargadas de color blanco-verdosas, a veces ligeramente rojizas. De origen desconocido, está presente en climas semicálido y templado, entre los 1900-2240 y 2700-3100 msnm. Asociada a matorral xerófilo, pastizal, bosques de encino, de pino y bosque de junípero.

Usos Medicinales: Problemas digestivos, bilis, coraje, cólicos, diarrea, disentería, dolor de estómago, empacho, dolor de hígado, empacho.

Formas de Preparación: Cocimiento de la planta por vía oral.

Planta/Referencia	Reportes científicos
Conyza filaginoides Mata y col., 1997.	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** De una fracción de cloroformo:metanol (1:1) se obtuvieron: glucósido de 3-quercetina, rutina, pinostrobina, α-pi-nasterol, 4,5-α-óxido-β-cariofileno, eritrodiol, 3-β-tridecanoiloxi-28-hidroxilean-12-eno. **Actividad biológica:** Contracción en íleon de rata:

	dependiente de la concentración.
Conyza filaginoides Calzada y col., 2000.	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** Canferol 3-O-(6''-O-E-cafeoil)-β-D-glucopiranósido, isoramnetina 3-O-(6''-O-E-cafeoil)-β-D-glucopiranósido, quercetina 3-O-(6''-O-E-cafeoil)-β-D-glucopiranósido, astragalina, isoquercitrina, nicotiflorin, narcisina, rutina. **Actividad biológica:** Efecto antiprotozoario contra *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia.*
Conyza filaginoides Andrade-Cetto y Heinrich, 2005.	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** Alcaloides, lenecina. **Actividad biológica:** Reporte de uso para el tratamiento de diabetes.
Conyza gnaphaloides Andrade-Cetto y Heinrich, 2005.	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** Terpenos. **Actividad biológica:** Reporte de uso para el tratamiento de diabetes.
Conyza floribunda Manguro y col., 2010.	**Lugar de colecta:** NR **Perfil fitoquímico:** Extracto metanólico: (24S)-etilcolesta-5,22E,25-dien-3-O-β-glucósido. Extracto de CH_2Cl_2: 3-oxofriedooleanano, ácido betulínico, ciasterona. **Actividad biológica:** antibacteriana y antifúngica.
Conyza filaginoides Márquez y col., 1999.	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** α-epinasterol, β-amirina, triacontano, 4,5-α-óxido de β-cariofileno, eritrodiol, 3-β-tridecanoiloxi-28-hidroxilean-12-eno, 3-glucósido de quercetina, rutina, pinostrobina. **Actividad biológica:** NR.
Conyza filaginoides	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** NR.

Márquez y col., 1999.	**Actividad biológica:** Tallos cloroformo:metanol (1:1): contracción en íleon aislado de rata. Extracto clorofórmico tallos: antimalárica en pollo. Extracto metanólico tallos: citotóxico débil de células HT-29 e inactivo en células SC-6 y MCF-7.

*NR= No Reportado

Cuadro 13. *Lantana camara* L. Descripción, información etnomédica y científica (Márquez y col., 1999).

Nombre Popular: Cinco negritos

Otros Nombres: Orosus, ororuz, siete negritos, siete colores, alfombrilla hedionda, alfombrillo, confiturría, confiturilla, corona, frutilla, gobernadora, hierba de Cristo, Hierba de Pedro Antonio, hierba de San Pedro, hierba negra, laurel, ojo de pescado.

Nombre Científico: *Lantana camara* L.

Familia: Verbenácea

Localización: DF, Michoacán, Morelos, Puebla, Veracruz, Guerrero, Chiapas, Quintana Roo, Oaxaca, Nayarit, San Luis Potosí.

Descripción: Arbusto pequeño erecto, semitrepador de 1 a 3 m de altura, con pelillos y espinas, sus hojas son alargadas o redondeadas, ásperas, rugosas por el anverso y presenta pelos por el reverso.

Usos Medicinales: El té de hojas y ramas o raíces se emplea contra las amibas, la disentería, diarrea y diarrea con sangre, vómito, dolor estomacal, dolor hepático y

dolor de muelas. Las flores fermentadas en alcohol se aplican para curar el reumatismo. Las flores, tallos y hojas guisadas en aceite se colocan en el oído para quitar el dolor y aliviar la sordera. También se emplea para curar epilepsia, calambres, erupciones de la piel, úlceras, tumores, piquetes de alacrán, víbora e insectos en general. Se emplea como diurético.

Información Científica: Posee compuestos de tipo triterpenoide, quinona, furanonaftoquinonas, fenilpropanoide, flavonoides, oligosacáridos, aromáticos, fitotoxinas, monoterpenos, sesquiterpenos, esteroides y agliconas flavonoides.

Planta/Referencia	Reportes científicos
Lantana camara Braga y col., 2007.	**Lugar de colecta:** Minas Gerais, Brasil, Mayo 2004. **Perfil fitoquímico:** Alcaloides, esteroles, saponinas, flavonoides. **Actividad biológica:** CI_{50} *L. amazonensis* 14 μg/mL, *L. chagasi* CI_{50}> 250 μg/mL.
Lantana camara Machado y col., 2012.	**Lugar de colecta:** Minas de Gerais, Brasil, febrero 2007. **Perfil fitoquímico:** Aceite esencial: α-pineno, β-pineno, mirceno, heptan-2,2,4,6,6-pentametil, linalool, α-terpineol, 1,5-heptadien, 2,5-dimetil-3-metileno, 1,5-heptadien, 2,5-dimetil-3-metileno, longicicleno, β-cubebeno, β-elemeno, (Z)-cariofileno, (E)-cariofileno, cis-thujopseno, γ-elemeno, (Z)-β-farneseno, α-cariofileno, (E)-β-farneseno, germacren-D, (Z,E)-α-farneseno, (E,E)-farneseno , (Z)-γ-bisaboleno, β-sesquifelandreno, (E)-γ-bisaboleno, spatulenol, 2-pentadecin-1-ol, davanona, (E)-diidro-apofarnesol, eudesmol, diidromirceno,1,6-diol-Z. **Actividad biológica:** CI_{50} *L. amazonensis* 0.25 μg/mL, *L. chagasi* CI_{50}> 18 μg/mL.
Lantana camara	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** Monoterpenos, sesquiterpenos,

Ghisalberti, 2000.	triterpenos, glicósidos iridoides, furanonaftoquinonas, flavonoides, glicósidos feniletanoides, β-sitosterol, campesterol, stigmasterol, ajugosa, staquiosa, varbascotetralosa, verbascosa, lantanosa. **Actividad biológica:** NR.
Lantana camara Dash y col., 2001.	**Lugar de colecta:** Ravenshaw College, inicios del verano, 2000. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Efecto hipoglicemiante.
Lantana camara Siddiqui y col., 1995.	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** Ácido 22-β-acetoxi-3,25-epoxi-3-α-hidroxi-12-ursen-28-oico; ácido 3,25-epoxi-3-α-hidroxi-22-β-(2-metil-2Z-butenoiloxi)-12oleanen-28-oico **Actividad biológica:** NR.
Lantana camara Mello y col., 2005.	**Lugar de colecta:** Viamao, Brasil. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Efecto en la reproducción y teratología en ratas.
Lantana camara Mahato y col, 1994.	Lugar de colecta: India. **Perfil fitoquímico:** Pectolinaringenina-7-O-glucósido, camarasida; 3,5,7-trihidroxi-4',6-dimetoxiflavonol. **Actividad biológica:** Antitumoral.
Lantana camara Begum y col, 2014.	Lugar de colecta: Paquistán. **Perfil fitoquímico:** triterpenos; ácido lantaninílico, ácido lantóico, lantadeno A, ácido ursólico, ácido oleanólico, ácido betulínico, ácido lantanólico y ácido camárico. **Actividad biológica:** Actividad sobre promastigotes de *L. major*.

*NR= No Reportado

Cuadro 14. *Portulaca oleracea* L. Descripción, información etnomédica y científica (UNAM, 2013).

Nombre Popular: Verdolaga

Otros Nombres: Faginera, seda, verdolaga de agua.

Nombre Científico: *Portulaca oleracea* L.

Familia: Portulacaceae

Descripción: Hierba tendida en el suelo, de tallos rojizos y jugosos. Las hojas son carnosas y rojizas con forma ovada. Las flores son de color amarillo, parecen estrellitas. Los frutos tienen forma de cápsula y contienen semillas cafés abundantes. Origen desconocido. Habita en climas cálido, semicálido, semiseco y templado desde el nivel del mar hasta los 2240 m. Planta silvestre asociada a bosques tropicales de tipo caducifolio, subcaducifolio y perennifolio, matorral xerófilo, pastizal, bosque mesófilo de montaña, bosques de encino, de pino y mixto de pino-encino.

Usos Medicinales: Problemas digestivos: infecciones intestinales, calor en el estómago, estreñimiento, parasitosis, lombrices, diabetes e inflamaciones.

Formas de Preparación: Cocimiento de la planta completa por 9 días.

Planta/Referencia	Reportes científicos
Portulaca oleracea Dkhil y col., 2011.	**Lugar de colecta:** Delta del río Nilo, Agosto 2010. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Efecto antioxidante en hígado y riñones de ratas.
Portulaca oleracea Rashed y col., 2003.	**Lugar de colecta:** Mercado de Amman, Jordania, Enero 2000. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Emplastos de las partes aéreas de la

	planta fresca molida: cierre de heridas/lesiones cutáneas.
Portulaca hirsutissima Oliveira y col., 2007.	**Lugar de colecta:** Sento Sé, Bahia, Brasil. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Extracto clorofórmico: CI_{50} *L. amazonensis* cepa (MHOM/BR88/BA-125 Leila): 7.6 μg/mL.
Portulaca oleracea Chan y col., 2000.	**Lugar de colecta:** Al Ain, Emiratos Árabes Unidos. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica** Extracto etanol 10% en agua por reflujo: efecto analgésico y antiinflamatorio.
Portulaca oleracea Xiang y col., 2005.	**Lugar de colecta:** Beijing Songlan Drug Co., Septiembre 2002. **Perfil fitoquímico:** Hojas secas, reflujo 3h etanol-agua (7:3): alcaloides: Oleraceína A, B, C, D y E. **Actividad biológica:** NR.
Portulaca oleracea Youngwan y col., 2003.	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** Extracto metanólico: (3S)-3-O-(β-D-glucopiranosil)-3,7-dimetilocta-1,5-dien-3-ol; (3S)-3-O-(β-D-glucopiranosil)-3,7-dimetilocta-1,5-dien-3,7-diol; Portulósido B **Actividad biológica:** NR.
Portulaca oleracea Sakai y col., 1996.	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** Portulósido A. **Actividad biológica:** NR.

*NR= No Reportado

Cuadro 15. *Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) M.C. Johnst. Descripción, información etnomédica y científica (UNAM, 2013).

Nombre Popular: Mezquite

Nombre Científico: *Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) M.C. Johnst.

Familia: Leguminosae

Descripción: Son árboles o arbustos de 12 m de altura y tiene espinas en el tronco. Las hojas están divididas, con apariencia de plumas. Presenta espigas largas de flores blanco-amarillentas. Sus frutos miden hasta 20cm de largo, se ven aplanados y son de color café-amarillento. Origen desconocido. Habita en climas semiseco y templado entre los 1000 y los 1800 msnm. Planta silvestre, crece a orilla de caminos, asociada a matorral xerófilo, pastizal, bosques de encino y pino.

Usos Medicinales: Afecciones oculares, conjuntivitis, sarpullido (baño de infusión de flores), tos (resina), disentería, males estomacales, gastritis, tos ferina, fiebre, dolor de muelas, ronquera y faringitis.

Formas de Preparación: Infusión y emplastos.

Planta	Reportes científicos
Prosopis laevigata Arash y col., 2013.	**Lugar de colecta:** Afueras del distrito de Zabol en la provincia balochestana de Sistán Irán (31°1'47 "de latitud norte, 61°29'52" de longitud a unos 478 m sobre el nivel del mar), durante el verano de 2011. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Incremento de colesterol HDL y disminución de colesterol LDL en ostras (*Struthio camelus*).

Prosopis glandulosa var. g*landulosa* Rahman y col., 2011.	**Lugar de colecta:** Nevada, Estados Unidos. Mayo 2006. **Perfil fitoquímico:** Extracto etanólico hojas: alcaloides: $\Delta^{1,6}$-juliprosopina, 5 análogos de indolizidina, juliprosopina, juliprosina. **Actividad biológica:** Leishmanicida en promastigotes de *L. donovani* CI_{90}= 44.2±7.3 μg/mL
Prosopis laevigata García-Andrade y col., 2013.	**Lugar de colecta:** Guadalupe Victoria, Durango, México. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Extracto en acetona de hojas pulverizadas y desengrasadas con hexano: antioxidante y cardioprotector.
Prosopis laevigata Salinas-Sánchez y col., 2009.	**Lugar de colecta:** Reserva de la biosfera de la Sierra de Huautla, Morelos, México. Mayo a Junio de 2005. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Extracto hexánico: antibacteriana.
Prosopis farcta Ranjbar-Heidari y col., 2011.	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Extracto acuoso: cicatrización de heridas cutáneas en ratas diabéticas.
Prosopis juliflora Gachet y col., 2010.	**Lugar de colecta:** Cantón, Quito, Ecuador. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Extracto de corteza en CH_2Cl_2: IC_{50} para *P. falciparum*= 2.1 μg/mL, IS= 9.3.
Prosopis juliflora Al-Musayeib y col., 2012.	**Lugar de colecta:** Arabia Saudita, Mayo a Junio 2008. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Extracto metanólico por Soxhlet: CI_{50} en amastigotes de *L.infantum* MHOM/MA(BE)/67= 35.3±2.6 μg/mL, IS=1.4. Además de actividad antiparasitaria contra *P. falciparum, T. cruzi* y *T. brucei.*

*NR= No Reportado

Cuadro 16. *Psidium guajava* L. Descripción, información etnomédica y científica (UNAM, 2013).

Nombre Popular: Guayaba

Otros Nombres: Guayabilla, guayabo

Nombre Científico: *Psidium guajava* L.

Familia: Myrtaceae

Descripción: Es un arbusto o árbol de 4 a l0m de altura, con la corteza lisa y de color café. Tiene las hojas duras, ovadas, con el reverso velloso y las nervaduras realzadas. Las flores son solitarias, blancas o crema, olorosas y con muchos estambres. Sus frutos son globosos, con olor fragante y la pulpa es de color amarillo o rosa, con numerosas semillas. La guayaba es originaria de los trópicos del Viejo Mundo y se encuentra en climas cálido, semicálido, semiseco, seco y templado, desde el nivel del mar hasta los 2500 m. Cultivada en huertos familiares, presente a orillas de caminos o de riachuelos, asociada a vegetación perturbada en dunas costeras, bosques tropicales caducifolio, subcaducifolio, perennifolio y subperennifolio, bosque espinoso, matorral xerófilo de tipo subtropical, pastizal, bosque mesófilo de montaña, bosques de encino, de pino y mixto de encino-pino.

Usos Medicinales: Diarrea, dolor de estómago, vómito, debilidad, disentería, lombrices, amibas, empacho, alopecia, acné, sarpullido, escarlatina, sarna, colagogo.

Formas de Preparación: Infusión de las hojas y/o los frutos.

Planta/Referencia	Reportes científicos
Psidium guajava	**Lugar de colecta:** Cantón, Quito, Ecuador.
Gachet y col., 2010.	**Perfil fitoquímico:** NR.
	Actividad biológica: Extracto de corteza en CH_2Cl_2: CI_{50} *P. falciparum*= 2.7 μg/mL, IS= 18.3.
Psidium guajava	**Lugar de colecta:** Lui Kotale, Parque Nacional de Salonga,

Musuyu y col., 2012.	distrito Mai-Ndombe, Provincia de Bandundu, República Democrática del Congo. Julio a Agosto, 2008. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Extracto acuoso por decocción 10 min de hojas: actividad vs *T. brucei, T. cruzi, L. infantum y P. falciparum* CI_{50} = 4.58, 33.45, 32.46, 5.46 μg/mL, respectivamente. SI *Leishmania* = 1, SI *Plasmodium* > 5.9.
Psidium guajava Luize y col., 2005.	**Lugar de colecta:** Maringá, Paraná, Brasil. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Extracto de hojas en etanol:agua (9:1), 48h: actividad a 100 μg/mL contra *T. cruzi* (epimastigote)=15.6 %inhibición, *L. amazonensis* (promastigote)= 65.4 %inhibición, *L. amazonensis* (amastigote)= 52 %inhibición.
Psidium guajava Zahir y col., 2009.	**Lugar de colecta:** Melvisharam, Distrito de Vellore, Tamil Nadu, India. 12°56′23″ N, 79°14′23″ E **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Extractos de las hojas en cloroformo, acetato de etilo, hexano, metanol; por Soxhlet: antiparasitaria contra *Paramphistomum cervi*.
Psidium guajava Atawodi y col., 2002.	**Lugar de colecta:** Kaduna, Nigeria. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Decocción de las hojas: reporte de uso tradicional contra *Trypanosoma* sp.
Psidium guajava Gutiérrez y col., 2008.	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** reporte de actividad para el tratamiento de diarrea, bacterias, acné, inflamación, placa dental, malaria, tos, distrofia muscular. Efecto hepatoprotector, antigenotóxico, antimutagénico, antialérgico, anticancerígeno,

	antitumor, efecto hipotensor, cardioprotector, hipoglucémico, analgésico, antinociceptivo, recuperación de heridas.
Psidium guajava Xiao-Long y col., 2008.	**Lugar de colecta:** Sur de Vietnam, Marzo 2007. **Perfil fitoquímico:** Diguajadial, aislado de las hojas del guayabo. Ácido ursólico, ácido 2α-hidroxiursólico, ácido neriucumárico, ácido 23-hidroxiursólico, clovandiol, guajadial. **Actividad biológica:** NR.
Psidium guajava Abukabar, 2009.	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Extracto acuoso de las hojas: Actividad antimicrobiana contra *Proteus mirabilis, Streptococcus pyogenes, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomona aeruginosa.*

*NR= No Reportado

Cuadro 17. *Schinus molle*. Descripción, información etnomédica y científica (UNAM, 2013).

Nombre Popular: Pirul

Otros Nombres: Pirú, perú, pelonquáhuitl.

Nombre Científico: *Schinus molle* L.

Familia: Anacardiacea

Descripción: Árbol de 15m de altura, siempre verde con ramas colgantes, aromático resinoso, con tronco grueso. Las hojas están divididas en hojitas como plumitas, las flores son pequeñas de color crema parecen encaje, con los frutos

globosos y de color rojo rosa. Planta originaria de Perú, que está presente en climas cálido, semicálido, semiseco y templado desde los 900 hasta los 3900msnm. Planta silvestre que crece a orilla de caminos, adaptada a distintos habitats, en matorral xerófilo, pastizal, zona de transición entre bosque mesófilo de montaña y bosque de encino, bosque de pino, mixto de pino-encino y bosque de juníperos.

Usos Medicinales: Reumas, dolor de articulaciones y entuertos. Cólico, dolor de estómago, estreñimiento, bilis, dolor de muelas, cicatrizar heridas (látex), tos, tuberculosis, asma, purga, blenorragia (gonorrea), várices, esterilidad femenina, enfermedades genitourinarias, hongos, paludismo.

Formas de Preparación: Infusión.

Planta/Referencia	Reportes científicos
Schinus molle Abdel-Sattar y col., 2010.	**Lugar de colecta:** Arabia Saudita, Marzo y Abril 2006. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** CI_{50} amastigotes de *L. infantum* MHOM/MA(BE)/67= 32.46 μg/mL, SI=1.2. Actividad contra *P. falciparum, T. cruzi* y *T. brucei*
Schinus molle Márquez y col., 1999.	**Lugar de colecta:** NR. **Perfil fitoquímico:** Hojas: cis-ment-2-en-1-ol, trans-piperitol, preisocalamenediol, angiotensina. Semillas: ácido β-elemólico, cardanol, ácido dihidromalválico, ácido linolénico. Frutos: canfeno, mirceno, α-felandreno, limoneno, γ-cimeno, α-pineno, β-pineno, ácido 3-epiisomasticadienolálico, ácido masticadienónico, ácido 3-epiisomasticadienólico, ácido isomasticadienónico, isomasticadienoato de metilo, β-espatuleno, éster metílico del ácido 13a-14-β-17α-20S,24Z-3-oxolanosta-8,24-dien-26-oico, 3-galactósido de cianidina, 3-rutenósido de cianidina, 3-glucósido de peonidina. Corteza: ácido linoleico, ácido erúcico, ácido lignocérico, ácido linolénico, ácido behénico, laccase.

	Actividad biológica: NR.
Schinus molle Calzada y col., 2006.	**Lugar de colecta:** Diversos mercados de México. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** IC_{50} para *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica* (μg/mL) = 154.7 y 82.4, respectivamente.
Schinus terebinthifolius Salinas-Sánchez y col., 2009.	**Lugar de colecta:** Reserva indígena en Rio das Cobras, entre las ciudades de Nova Laranjeiras y Espigão Alto do Iguaçu, Brasil. **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** cocimiento durante 10 min de las plantas: antibacteriana y antifúngica.
Schinus molle Robles-Zepeda y col., 2013.	**Lugar de colecta:** Alrededores de Hermosillo, Sonora, México. **Perfil fitoquímico:** Extracto etanólico **Actividad biológica:** Inactivo *in vitro* contra *M. tuberculosis*
Schinus molle Giday y col., 2007.	**Lugar de colecta:** Noroeste de Etiopía **Perfil fitoquímico:** NR. **Actividad biológica:** Reporte de uso tradicional contra malaria.

*NR= No Reportado

3. JUSTIFICACIÓN

Se estima que cerca de 90 países, poseen cepas endémicas de *Leishmania* donde la leishmaniasis afecta a alrededor de 13 millones de personas. Sin embargo, considerando que la población mundial actual es de aproximadamente de 7,000 millones de personas, el número de personas con esta parasitosis representa tan sólo el 0.19% del total. Este bajo porcentaje de población es la principal razón por la cual la industria farmacéutica no se preocupa por desarrollar investigaciones para encontrar compuestos que puedan atacar a *Leishmania* sp. Uno de los principales problemas involucrados en esta parasitosis consiste en que la mayoría de los países en los que este padecimiento es endémico, tienen una economía escasa o en vías de desarrollo, incluido México. Por tal motivo, la atención de esta enfermedad es deficiente, pues la mayoría de las personas que padecen esta parasitosis no tiene acceso adecuado a buenos servicios de salud y a tratamientos efectivos. Desde hace mucho tiempo, se han utilizado sales antimoniales para tratar los cuatro tipos de leishmaniasis. Sin embargo, estos compuestos son altamente tóxicos ya que se acumulan en el organismo y a menudo no ofrecen una cura definitiva para este padecimiento. Actualmente se han propuesto algunos nuevos fármacos para el tratamiento de la leishmaniasis, tales como la anfotericina B, no obstante, algunas cepas de *Leishmania* han creado resistencia; disminuyendo, con ello, las opciones de fármacos aprobados para tratar la parasitosis. Existen pocas referencias sobre plantas medicinales u otros organismos utilizados para tratar la leishmaniasis en los diferentes sistemas de medicina tradicional del mundo. Pese a esto, investigadores pertenecientes a diferentes grupos académicos distribuidos en todo el mundo, se han dedicado a la búsqueda de organismos que tengan la capacidad de sintetizar metabolitos con actividad leishmanicida y así lograr purificarlos y obtener moléculas prototipo que puedan contribuir al desarrollo de nuevos fármacos que ofrezcan mejores opciones de tratamiento para los pacientes con leishmaniasis.

México es un país reconocido a nivel mundial por su gran biodiversidad así como por su amplia tradición en el empleo de plantas medicinales, la cual se remonta

hasta la época prehispánica. De tal manera, en nuestro país existe una gran variedad de plantas que pueden representar fuentes valiosas de compuestos prototipo para el desarrollo de fármacos útiles para el tratamiento de diversas enfermedades. Sin embargo, son relativamente pocas las especies que han sido estudiadas científicamente para determinar los metabolitos primarios o secundarios responsables de la actividad biológica. Si bien no hay reportes específicos de plantas utilizadas para el tratamiento de la leishmaniasis, salvo por *Cecropia obtusifolia*, existe un vasto número de especies utilizadas para el tratamiento de diversas parasitosis que incluyen, principalmente, amebiasis, helmintiasis y, en menor medida, paludismo. Algunas de estas especies han sido evaluadas para conocer su actividad antiparasitaria y han mostrado buenos resultados. Es por eso que, en el presente proyecto de tesis, se planteó la hipótesis de que plantas utilizadas tradicionalmente para el tratamiento de parasitosis intestinales o hematológicas, pueden sintetizar compuestos que posean actividad anti-leishmania. El objetivo general de esta investigación fue determinar el efecto leishmanicida de 10 especies vegetales utilizadas en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de parasitosis y obtener los metabolitos secundarios responsables de dicho efecto a partir de la especie más potente. Las 10 especies seleccionadas son empleadas en la medicina tradicional mexicana y algunas de ellas, recolectadas en regiones geográficas de otros países, han presentado actividad contra *Leishmania* o contra otros parásitos.

4. HIPÓTESIS

Algunas de las plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de parasitosis contienen metabolitos secundarios que poseen actividad leishmanicida.

5. OBJETIVOS

5.1 General

-Determinar el efecto leishmanicida de 10 especies vegetales utilizadas en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de parasitosis y realizar el estudio químico de la especie más potente.

5.2 Específicos

-Seleccionar 10 especies vegetales utilizadas en la medicina tradicional mexicana como antiparasitarios a partir del análisis de la información etnomédica reportada en la bibliografía especializada.

-Determinar el efecto *in vitro* de los extractos de diclorometano, de diclorometano/metanol (1:1) y acuosos, preparados a partir de las especies seleccionadas, sobre promastigotes y amastigotes intracelulares de *L. amazonensis.*

-Analizar el perfil químico del extracto más potente, mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas y cromatografía en columna abierta.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Protozoarios

Se utilizaron los promastigotes y amastigotes de *Leishmania amazonensis* cepa (MHOM/77BR/LTB0016). Los parásitos fueron manejados en campanas de flujo laminar vertical.

6.2 Material vegetal

Bauhinia variegata L., *Bouvardia ternifolia* (Cav.) Schltdl. y *Lantana camara* L. fueron colectadas en el Estado de Querétaro en los meses de noviembre y diciembre del año 2013; mientras que *Acacia farnesiana* (L.) Willd*, Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw.*, Conyza filaginoides* (D.C.) Hieron.*, Portulaca oleracea* L.*, Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) M.C. Johnst.*, Psidium guajava* L*. y Schinus molle*. fueron colectadas en los meses de marzo y abril de 2014. La identificación botánica fue realizada por la Dra. Dora Marie Heike Vibrans Lindemann. Los *vouchers* de cada uno de los especímenes, fueron depositados en el Herbario Nacional de México (MEXU) del Instituto de Biología de la UNAM.

6.3 Preparación de los extractos vegetales

6.3.1 Extractos orgánicos y acuosos

El material vegetal fue secado a temperatura ambiente a la sombra y posteriormente, triturado en un molino eléctrico IKA MF 10 con una malla de 0.5 mm de diámetro de poro. Para la preparación de los extractos de diclorometano (DCM) y de diclorometano—metanol (DCM:MeOH) 1:1, 250 g de material vegetal seco y molido se sometieron a maceración a temperatura ambiente durante una semana, dos veces, con 800 mL de solvente orgánico. Una vez terminada la maceración, los extractos orgánicos fueron filtrados al vacío para eliminar el material vegetal y el solvente fue evaporado a presión reducida en un rotaevaporador BÜCHI R—124 para obtener el extracto seco de cada una de las plantas. Por otra parte, los extractos acuosos fueron obtenidos por infusión de la

misma cantidad de material vegetal en 1L de agua desionizada (pH=7) a 95°C. Una vez fríos y congelados, los extractos acuosos fueron liofilizados en una liofilizadora LABCONCO 777530-00.

Para evaluar la actividad citotóxica y leishmanicida, los extractos fueron disueltos en dimetilsulfóxido (DMSO) a una concentración de 20 mg/mL; y almacenados a 4 °C (García y col., 2012). La concentración final en el medio de DMSO no excedió 0.1%, concentración a la cual no se afecta el crecimiento de los parásitos (Camacho y col., 2003).

6.3.2 Obtención del aceite esencial de *Lantana camara* L.

Las partes aéreas secas de *Lantana camara* L. fueron fragmentadas y sometidas a hidrodestilación en un aparato Clevenger. A partir de la mezcla acuosa del destilado, se extrajo el aceite esencial con diclorometano por el método de partición. El extracto orgánico obtenido fue secado con sulfato de sodio anhidro. Posteriormente, se filtró y se eliminó el solvente a presión reducida a 35 °C, a fin de obtener el aceite esencial. El producto obtenido se almacenó en un vial ámbar a 4 °C.

6.4 Cultivos celulares

6.4.1 Macrófagos para ensayo de citotoxicidad

Se colectaron macrófagos peritoneales de ratones hembra sanos de 20-30 g, cepa BALB/c. Éstos fueron sembrados en medio RPMI-1640 (Sigma, St. Louis, Mo, USA) suplementado con antibióticos (penicilina 200 UI, estreptomicina 200 μg/mL), en placas de 96 pozos con 10^6 células/mL. Se permitió la adhesión de las células durante 2 horas a 37 °C con 5% de CO_2. Las células no adherentes fueron removidas mediante lavados con solución salina, después del periodo de incubación (García y col., 2012).

6.4.2 Promastigotes de *L. amazonensis*

Los promastigotes de *L. amazonensis* fueron aislados por aspiración con aguja, a partir de lesiones cutáneas en ratón y mantenidos como promastigotes a 26 °C en medio de Schneider para insectos (Sigma Aldrich Co.), pH = 4.5, suplementado con 10% de suero fetal bovino inactivado por calor, 100 μg de estreptomicina/mL, y 100 U de penicilina/mL, con pasos de cultivo cada 3 o 4 días. Los parásitos no fueron utilizados cuando fueron transferidos más de 10 pasos (García y col., 2012).

6.4.3 Amastigotes de *L. amazonensis*

Se colectaron macrófagos peritoneales de ratón sanos cepa BALB/c. Éstos fueron sembrados en medio RPMI-1640 (Sigma, St. Louis, Mo, USA) suplementado con antibióticos (penicilina 200 UI, estreptomicina 200 μg/mL), en placas de 96 pozos con 10^6 células/mL. Se permitió la adhesión de las células durante 2 horas a 37 °C con 5% de CO_2. Las células no adherentes fueron removidas mediante lavados con solución salina, después del periodo de incubación. A la fase estacionaria celular se añadieron promastigotes de *L. amazonensis*, en una proporción de 4 parásitos por macrófago. Se incubaron por 4 horas y, una vez finalizado este proceso, el cultivo monocapa fue lavado para remover los parásitos libres (García y col., 2012).

6.5 Actividad biológica

6.5.1 Ensayo de toxicidad en *Artemia salina*

Se incubaron 0.5 g de quistes de *Artemia salina* en 500 mL de agua de mar artificial a temperatura ambiente bajo luz blanca durante 48 h. Por otro lado, en tubos de ensayo, se colocaron 5, 50 y 500 μL de una solución de 20 mg/mL del extracto/fracción/aceite esencial en diclorometano y se dejó evaporar el solvente a temperatura ambiente. Posteriormente, se añadieron 2.5 mL de agua de mar artificial y las muestras a evaluar se disolvieron por sonicación. Una vez eclosionadas, se colocaron 10 larvas fototrópicas de *A. salina* de 48 h de edad en los tubos de ensayo y se completó el volumen a 5 mL con agua de mar, para lograr

concentraciones de 10, 100 y 1000 μg/mL. Los tubos de ensayo se incubaron a temperatura ambiente por 24 h y se contó el número de larvas vivas para calcular la CL_{50}.

6.5.2 Actividad anti-promastigote

Promastigotes en crecimiento exponencial (10^5 promastigotes/mL, 198 μL) fueron sembrados en placas de 96 pozos. Dos microlitros de extracto/fracciones/aceite esencial o 2 μL de DMSO para el control, fueron añadidos a los pozos a una concentración final de 6.25 a 200 μg/mL. Para los cultivos de control negativo, se utilizó DMSO en lugar de las muestras a evaluar. Las placas fueron incubadas a 26 °C por 72 horas. Posteriormente, 15 μL de una solución en solución salina de 5 mg/mL de bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio (MTT) fueron adicionados a cada pozo. Después de la incubación por 4 horas más, el medio fue removido y los cristales formados fueron disueltos por la adición de 100 μL de DMSO. La absorbancia fue determinada en un lector de placas EMS MF versión 2.4-0; a una longitud de onda de 560 y 630 nm. Los valores de la concentración inhibitoria media (CI_{50} en promastigotes) fueron determinados a partir de las curvas lineales de concentración-respuesta. Las evaluaciones fueron realizadas por triplicado y los resultados se expresan como la media ± desviación estándar (García y col., 2012).

6.5.3 Actividad citotóxica

A los cultivos adheridos de macrófagos peritoneales de ratón se adicionaron 198 μL de medio completo RPMI suplementado con 10% de suero fetal bovino inactivado por calor, 200 UI de penicilia y 200 μg/mL de estreptomicina y, posteriormente, 2 μL de cada uno de los extractos/fracción/aceite esencial disueltos en DMSO, preparando diluciones seriales 1:2 de concentraciones de 12.5 a 200 μg/mL por 72 horas. Se incluyeron cultivos con DMSO como control negativo. La citotoxicidad fue evaluada por medio del ensayo colorimétrico con MTT, como se indicó anteriormente.

Los valores de la concentración inhibitoria media (CI_{50} en amastigotes) fueron determinados a partir de las curvas lineales de concentración-respuesta. Las evaluaciones fueron realizadas por triplicado y los resultados se expresan como la media ± desviación estándar (García y col., 2012).

6.5.4 Índice de selectividad

El índice de selectividad (IS) se define como el cociente de la siguiente división:

$$IS = \frac{CC_{50}\ en\ macrófagos}{CI_{50}\ en\ promastigotes}$$

Este parámetro es utilizado para comparar la toxicidad de los extractos contra los macrófagos murinos y su actividad contra *Leishmania*. Un extracto es considerado como inactivo cuando su CI_{50} para promastigotes es mayor a 200 μg/mL; tóxico cuando su IS es menor a 0; no específico si el IS está entre 0 y 5 y selectivo cuando el IS es mayor o igual a 5. Los extractos con un IS ≥ 5 fueron seleccionados para evaluar la actividad anti-amastigote.

6.5.5 Actividad anti-amastigote

Al cultivo de amastigotes sin parásitos libres se agregaron 1990 μL de medio RPMI completo y 10 μL de cada uno de los extractos/fracciones/aceite esencial fueron adicionados, siguiendo diluciones seriales 1:2, para obtener concentraciones finales de las muestras a evaluar entre 12.5 y 100 μg/mL. Para los cultivos de control negativo, se utilizó DMSO en lugar del extracto vegetal. Las placas fueron incubadas a 37 °C con 5% de CO_2 durante 48 horas.

Los cultivos fueron fijados con metanol absoluto, teñidos con Giemsa, y examinados por microscopía de luz. El número de amastigotes intracelulares fue determinado por el conteo de amastigotes residentes en 25 macrófagos, por cada muestra. Los resultados fueron expresados como el porcentaje de reducción del índice de infección (%II), en comparación con los valores obtenidos para los controles.

$$\%II = (\%\, macrófagos\ infectados) * (\#\ amastigotes\ por\ macrófago\ infectado)$$

Los valores de la concentración inhibitoria media (CI_{50} en amastigotes) fueron determinados a partir de las curvas lineales de concentración-respuesta. Las evaluaciones fueron realizadas por triplicado y los resultados se expresan como la media ± desviación estándar (García y col., 2012).

6.6 Determinación cualitativa del perfil fitoquímico del extracto de diclorometano de *Lantana camara* L.

Se prepararon diluciones del extracto crudo de diclorometano de las dos cosechas (Diciembre 2013 y Marzo-Abril 2014), así como del extracto de DCM:MeOH (1:1) de *Lantana camara* L. a una concentración de 40 mg/mL en etanol absoluto, con el fin de verificar la similitud de los componentes de *L. camara* en diferentes cosechas, así como para identificar las manchas diferenciales que pudieran ser responsables del efecto leishmanicida. Para la identificación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en los extractos: terpenos, flavonoides, alcaloides y glicósidos cardiotónicos, se corrieron los siguientes estándares a una concentración de 10 mg/mL en etanol absoluto: ácido ursólico, lupeol, ácido betulínico, uvaol, ácido oleanólico, colesterol, quercetina, naringenina, atropina, procaína, pirilamina y ouabaína. Tanto las muestras como los estándares fueron analizados en placas de 10 x 20 cm de sílica gel (Kieselgel 60 Machery-Nagel, grosor 0.2 mm). Las placas fueron eluídas con una fase móvil de hexano:acetato de etilo en una proporción 3:2. Asimismo, el revelado de las placas se hizo con p-anisaldehído/ácido sulfúrico, reactivo de Liebermann-Burchard, vainillina/ácido sulfúrico, cloruro férrico 10%, reactivo de Dragendorff y cloruro de antimonio. Posteriormente, las placas se calentaron y los perfiles cromatográficos se visualizaron a la luz ambiental y bajo luz UV a 260 y 366 nm (Wagner y Bladt, 2001).

6.7 Fraccionamiento del extracto de diclorometano de *Lantana camara* L.

De 6.5 kg de partes aéreas secas de *L. camara*, se obtuvieron 100 g de extracto de diclorometano. Esta cantidad de extracto fue adsorbida en 50 g de gel de sílice

(Kieselgel 60 Machery-Nagel, tamaño de partícula 0.0063-0.2 mm) y posteriormente colocada en la columna previamente empacada con 950 g gel de sílice y hexano. El volumen muerto fue de 2 L. La secuencia de fase móvil utilizada para la elución de la columna consistió en hexano 100% y, posteriormente, hexano:acetato de etilo en las siguientes proporciones: 98:2, 95:5, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 1:1 y 100% de acetato de etilo. Para extraer los compuestos más polares se utilizaron 4 volúmenes muertos de metanol.

Las fracciones obtenidas fueron reunidas de acuerdo a su similitud cromatográfica al ser evaluadas por cromatografía en capa fina (placas de sílica gel 60, fase móvil hexano:acetato de etilo 3:2) y reveladas con p-anisaldehído/ácido sulfúrico.

Las fracciones resultantes se sometieron a la evaluación de actividad biológica para identificar las fracciones bioactivas.

6.8 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

El análisis mediante cromatografía de gases se llevó acabo utilizando un instrumento Agilent GC serie 7890A (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, EUA) equipado con un detector de ionización por flama (GC-FID). La temperatura del puerto de inyección y del detector fue de 230 °C. El inyector fue operado en modo “splitless”. Se utilizó una columna capilar HP-5MS 60 m x 0.25 mm d.i., 0.25 μm de espesor (Agilent Technologies, Inc.). La temperatura del horno fue programada a una temperatura inicial de 40 °C por 5 minutos, posteriormente fue elevada a una razón de 5 °C/min hasta 230 °C y mantenida por 15 minutos. Se utilizó helio como gas acarreador a un flujo constante de 1 mL/min. El porcentaje de abundancia relativo de cada uno de los compuestos fue determinado por su área bajo la curva. La espectrometría de masas fue realizada en un instrumento Agilent GC serie 7890A equipado con un espectrómetro de masas 5975C de impacto electrónico (EI) y un analizador de cuadrupolo. Las temperaturas de la fuente de iones y el cuadrupolo fueron de 230 y 250 °C, respectivamente. La línea de transferencia fue fijada en 280 °C. Se utilizó un escaneo completo en un rango de 33 a 300 uma, con una proporción de escaneo de 5.2/s, con un voltaje de

ionización de 70 eV. Se empleó el software MSD ChemStation E.01.00.237 para el análisis de los datos.

La identificación de los compuestos volátiles fue hecha por la comparación de sus espectros de masas con los encontrados en la biblioteca de espectros de masas del NIST (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, EUA). Los índices de retención de todos los compuestos volátiles fueron determinados por el método modificado de Kovats, reportado por Van den Dool y Kratz (1963). La identificación de los compuestos mediante espectrometría de masas fue confirmada, comparado los índices de retención de Van den Dool y Kratz y los índices de retención reportados en la literatura.

7. DISEÑO EXPERIMENTAL

8. RESULTADOS Y DISCUSIONES

La leishmaniasis se encuentra extendida en alrededor de 98 países en el mundo. Cada año se reporta el surgimiento de 0.2 a 0.4 millones de nuevos casos de LV y de 0.7 a 1.2 millones de casos de LC. La propagación de la leishmaniasis en áreas endémicas y no endémicas es multifactorial y, desafortunadamente, existe una falta de tratamientos efectivos para el control tanto del parásito como de sus vectores. Las nuevas tendencias en la investigación de productos naturales han abierto una amplia posibilidad para encontrar novedosas moléculas con capacidad de combatir a la leishmaniasis. En este contexto, la flora medicinal Mexicana representa una valiosa fuente para el descubrimiento de moléculas prototipo para el desarrollo de nuevos fármacos anti-leishmaniales.

En este estudio, se evaluó la actividad leishmanicida contra promastigotes y amastigotes intracelulares de *Leishmania amazonensis* de 30 extractos obtenidos de 10 plantas utilizadas en la medicina tradicional Mexicana como antiparasitarias. En el Cuadro 20 se presenta el resumen de la actividad de los extractos orgánicos y acuosos sobre promastigotes de *Leishmania amazonensis* (concentración inhibitoria media, CI_{50}), la citotoxicidad sobre macrófagos de ratones BALB/c (concentración citotóxica media, CC_{50}), la toxicidad en *Artemia salina* y su clasificación de acuerdo a su índice de selectividad (IS). De acuerdo a este valor, se encontraron 16 extractos inactivos, 3 extractos tóxicos, 7 inespecíficos y 4 activos.

Existen algunos estudios que reportan la correlación de la toxicidad sobre *Artemia salina* y la actividad leishmanicida (Machado y col., 2012; Shah y col., 2014). Por esta razón, se evaluó la toxicidad sobre larvas de *A. salina* como un análisis preliminar para detectar la actividad leishmanicida.

Para clasificar los extractos de acuerdo a su toxicidad sobre *A. salina*, se consideraron los mismos criterios que para la actividad leishmanicida. Por otro lado, para establecer la correlación de la actividad leishmanicida con la toxicidad sobre *A. salina*, se consideraron como indistintos los extractos inespecíficos e inactivos;

por lo que se concluyó que 6 extractos no mostraban correlación en ambas actividades y 24 sí (indicados en negritas en el cuadro 18).

Cuadro 18. Actividad leishmanicida y citotóxica de los extractos preparados a partir de plantas utilizadas en México como antiparasitarias.

Familia, especie con autor (es)	Partes usadas	Extracto	$CI_{50} \pm$ DE (µg/mL) Promastigotes *L. amazonensis*	$CC_{50} \pm$ DE (µg/mL) Macrófagos peritoneales de ratones BALB/c	CL_{50} en *Artemia salina*	IS	Clasificación en *Leishmania*	Clasificación en *A. salina*
Acacia farnesiana (L.) Willd	Hojas, tallos y frutos	DCM	> 200	132.8 ± 4.4	2413 ± 799.8	-	Inactivo	**Inactivo**
		DCM/MeOH (1:1)	> 200	> 200	> 1000	-	Inactivo	**Inactivo**
		Acuoso	> 200	> 100	194.6 ± 1.3	-	Inactivo	**Inactivo**
Bauhinia variegata L.	Hojas y tallos	DCM	> 200	138.8 ± 1.8	> 1000	-	Inactivo	**Inactivo**
		DCM/MeOH (1:1)	173.1 ± 6.7	157.0 ± 6.1	> 1000	1	Inespecífico	**Inactivo**
		Acuoso	> 200	> 100	275.5 ± 2.3	-	Inactivo	**Inactivo**
Bouvardia ternifolia (Cav.) Schltdl.	Hojas y tallos	DCM	71.7 ± 8.5	18.9 ± 3.0	> 1000	< 0	Tóxico	**Tóxico**
		DCM/MeOH (1:1)	93.8 ± 6.8	108.5 ± 7.3	> 1000	1	Inespecífico	**Inactivo**
		Acuoso	> 200	104.2 ± 2.0	128.1 ± 2.5	-	Inactivo	**Activo**
Caesalpinia pulcherrima	Hojas y	DCM	173.1 ± 4.5	119.0 ± 9.5	125.0 ±	1	Inespecífico	Tóxico

(L.) Sw.	tallos				1.6			
		DCM/MeOH (1:1)	> 200	137.9 ± 1.8	126.2 ± 2.1	-	Inactivo	Tóxico
		Acuoso	> 200	117.8 ± 9.6	> 1000	-	Inactivo	**Inactivo**
Conyza filaginoides (D.C.) Hieron	Planta completa	DCM	> 200	62.6 ± 0.4	225.0 ± 5.2	-	Inactivo	**Inactivo**
		DCM/MeOH (1:1)	51.1 ± 2.8	53.5 ± 3.4	274.9 ± 1.7	1	Inespecífico	**Inactivo**
		Acuoso	51.9 ± 5.4	45.3 ± 2.6	340.1 ± 1.4	1	Inespecífico	**Inactivo**
Lantana camara L.	Hojas y tallos	DCM	11.7 ± 4.4	> 100	20.7 ± 1.3	> 9	Activo	**Activo**
		DCM/MeOH (1:1)	> 200	> 200	44.9 ± 1.1	-	Inactivo	Activo
		Acuoso	> 200	125.9 ± 3.1	> 1000	-	Inactivo	**Inactivo**
Portulaca oleracea L.	Planta completa	DCM	> 200	170.5 ± 9.6	123.6 ± 2.1	-	Inactivo	**Inespecífico**
		DCM/MeOH (1:1)	72.0 ± 3.2	166.8 ± 4.4	128.5 ± 1.4	2	Inespecífico	**Inespecífico**
		Acuoso	83.0 ± 9.1	17.7 ± 1.4	10.3 ± 3.5	< 0	Tóxico	Inespecífico
Prosopis laevigata (Humb. & Bonpl. ex Willd.) M.C. Johnst.	Hojas y tallos	DCM	195.5 ± 1.8	57.0 ± 3.5	4.7 ± 2.0	< 0	Tóxico	**Activo**
		DCM/MeOH (1:1)	> 200	76.5 ± 5.7	176.9 ± 1.6	-	Inactivo	Tóxico
		Acuoso	22.8 ± 2.9	160.7 ± 2.9	> 1000	7	Activo	**Activo**
Psidium guajava L.	Hojas y tallos	DCM	61.2 ± 8.1	> 200	81.72 ± 2.8	> 3	Inespecífico	**Inespecífico**
		DCM/MeOH (1:1)	89.0 ± 4.1	> 200	> 1000	> 2	Inespecífico	**Inactivo**
		Acuoso	> 200	96.2 ± 0.6	271.3 ±	-	Inactivo	**Inactivo**

					2.9			
Schinus molle L.	Hojas y tallos	DCM	15.4 ± 5.5	69.7 ± 0.3	226.4 ± 1.3	5	Activo	Inactivo
		DCM/MeOH (1:1)	29.4 ± 6.0	186.8 ± 5.5	43.3 ± 1.3	6	Activo	**Activo**
		Acuoso	> 200	> 100	> 1000	-	Inactivo	**Inactivo**

DCM: Diclorometano, DCM/MeOH: Diclorometano/metanol, -: No Determinado

Los extractos identificados como tóxicos de acuerdo a su IS fueron el extracto acuoso de *Portulaca oleracea* (verdolaga) y los extractos de diclorometano de *Prosopis laevigata* (mezquite) y *Bouvardia ternifolia* (trompetilla). Estos resultados indican que *P. laevigata* y *B. ternifolia* contienen compuestos tóxicos de naturaleza apolar, los cuales no son extraídos o son extraídos en bajas concentraciones en las infusiones preparadas a partir de estas plantas. En el caso de *P. oleracea*, es importante resaltar que el extracto acuoso fue tóxico contra macrófagos peritoneales de ratón BALB/c. Estos resultados son relevantes considerando que en la medicina tradicional mexicana se consume la infusión o decocción de esta planta durante 9 días para tratar parasitosis intestinales (UNAM, 2013); además de que es consumida como vegetal en algunas comidas. Estos datos muestran la importancia de los estudios biológicos para garantizar la seguridad de los remedios herbales tradicionales.

Por otro lado, los resultados indican que los dos extractos orgánicos de *Schinus molle* (pirul), el extracto de diclorometano de *Lantana camara* y el extracto acuoso de *Prosopis laevigata* son activos y selectivos contra promastigotes, por lo que se procedió a evaluar su actividad sobre amastigotes intracelulares de *Leishmania amazonensis*, el estadio de importancia clínica en la enfermedad; siendo también activos todos los extractos, con una CI_{50} menor a 50 μg/mL (Cuadro 19).

Cuadro 19. Actividad de los extractos activos sobre amastigotes intracelulares de *Leishmania amazonensis.*

Familia, especie con autor (es)	Extracto	IS	$CI_{50} \pm$ DE (μg/mL) Amastigotes *L. amazonensis*
Anacardiaceae			
Schinus molle L.	DCM	5	25.9 ± 4.9
	DCM/MeOH (1:1)	6	21.8 ± 4.5
Fabaceae/Leguminosae			
Prosopis laevigata (Willd.) M. Johnson	Acuoso	7	35.2 ± 4.7
Myrtaceae			
Lantana camara L.	DCM	> 9	21.8 ± 2.4

Comparando la actividad anti-leishmanial mostrada por los extractos orgánicos de *S. molle*, el más selectivo fue el de mediana polaridad (CI_{50} para amastigotes = 21.8 ± 4.5 μg/mL; IS = 6); resultados que se aproximan a los encontrados por Abdel-Sattar y col. (2010), quienes hallaron que un extracto metanólico obtenido por reflujo de las hojas de un espécimen Árabe de *S. molle*, tenía una CI_{50} de 32.46 μg/mL para amastigotes intracelulares de *L. infantum.* Estos hallazgos muestran que la actividad antiparasitaria está influenciada tanto por el origen geográfico de las plantas de estudio y por la especie de parásito. Resulta interesante que en ese mismo estudio se encontró que el extracto metanólico de *S. molle* fue también activo contra *Trypanosoma cruzi*, *T. brucei* y *Plasmodium falciparum.* Por otro lado, Molina-Garza y col. (2014) recientemente mostraron que un extracto metanólico obtenido de las partes aéreas de *S. molle* era efectivo contra epimastigotes de *T. cruzi* con una CI_{50} de 16.31 ± 3.33 μg/mL. Todos estos estudios demuestran que *S. molle* produce metabolitos que exhiben un amplio espectro de actividad antiparasitaria. En otro estudio, se encontró que los principales componentes presentes en el aceite esencial obtenido de las hojas de este árbol son terpenos (Simionato y col., 2011; Atti dos Santos y col., 2009). El análisis cromatográfico en capa fina llevado a cabo durante el presente trabajo de tesis, reveló que los dos extractos orgánicos de *S. molle* contienen terpenoides,

los cuales pueden ser los responsables de la actividad observada contra ambos estadios de *L. amazonensis.*

Por otra parte, las especies del género *Prosopis* son reconocidas ampliamente por producir alcaloides, los cuales son extraídos en solventes polares tales como el etanol y el metanol (Tapia y col., 2000; Nakano y col., 2004; Samoylenko y col., 2009; Rahman y col., 2011; Ibrahim y col., 2013); así como flavonoides (Bragg y col., 1978). Los alcaloides de tipo 8-indolizidina contenidos en estas especies, exhiben significativa actividad antiparasitaria *in vitro* contra *Plasmodium falciparum* y *Leishmania donovani*, comparable a los fármacos control. Estos alcaloides también presentaron efecto antimalárico *in vivo* contra *Plasmodium berghei* (Samoylenko y col., 2009). Asimismo, De Jesús-Gabino y col. (2010) encontraron que un extracto hexánico, obtenido a partir de las hojas de *P. laevigata* (mezquite), tenía efecto antihelmíntico en un modelo de jerbos infectados con *Haemonchus contortus*. Estos descubrimientos indican que las especies de *Prosopis* producen compuestos polares y no polares que poseen potencial actividad antiparasitaria contra protozoarios y helmintos. En el presente estudio, el análisis cromatográfico cualitativo con reveladores de Dragendorff y $FeCl_3$ mostró que el extracto acuoso preparado de las hojas y las ramas de *P. laevigata* contiene alcaloides y flavonoides, por lo que el efecto antileishmanial observado puede ser atribuido a este tipo de metabolitos.

El extracto de diclorometano preparado de las hojas y tallos de *L. camara* fue el más selectivo (IS > 9), con una CI_{50} en amastigotes de 21.8 $\pm$ 2.4 μg/mL. Por esta razón, este extracto fue seleccionado para continuar con su estudio fitoquímico a fin de identificar los metabolitos responsables de la actividad leishmanicida. En el caso del análisis por cromatografía en capa fina, se emplearon reveladores específicos para detectar diferentes grupos de metabolitos secundarios. Para la detección de terpenoides se utilizaron p-anisaldehído/ácido sulfúrico (resultado positivo: manchas moradas y azules) y el reactivo de Liebermann-Burchard (manchas rojizas, moradas y azules), para flavonoides se utilizó cloruro férrico al 10% (manchas negras); la detección de alcaloides se realizó, empleando el

reactivo de Dragendorff (manchas anaranjadas y rojizas) y para la detección de glicósidos cardiotónicos cloruro de antimonio (III) al 20% (manchas grises o cafés). Se empleó este último método de identificación de metabolitos, ya que se ha reportado la presencia de glicósidos cardiotónicos, responsables de muerte de ganado (Ghisalberti, 2000; Sharma y col., 2007). En las Figuras 14 a 19 se muestran las placas cromatográficas reveladas con diferentes reactivos para determinar de manera cualitativa los tipos de metabolitos presentes en este extracto. Debido a que se colectó más muestra de *L. camara*, se corrieron las 2 muestras en cromatografía en capa fina, con el fin de verificar que la composición química del extracto no variara, al menos cualitativamente, por el cambio de temporada; encontrando que el perfil cromatográfico de ambas colectas eran similares. Asimismo, se analizó el extracto de diclorometano:metanol 1:1 para comparar su perfil cromatográfico con el del extracto de diclorometano a fin de identificar, de manera preliminar, los componentes que pudieran ser responsables de la actividad leishmanicida. En este último análisis no se encontraron resultados concluyentes.

Las muestras que se presentan numeradas en las Figuras 14 a 19, corresponden a:

1. Extracto de diclorometano de *L. camara* colectada en Diciembre de 2013.
2. Extracto de diclorometano de *L. camara* colectada en Marzo-Abril de 2014.
3. Extracto de diclorometano:metanol (1:1) de *L. camara* colectada en Diciembre de 2013.
4. Ácido ursólico
5. Lupeol
6. Ácido betulínico
7. Uvaol
8. Ácido oleanólico
9. Colesterol
10. Quercetina
11. Naringenina
12. Hesperidina
13. Atropina
14. Procaína
15. Pirilamina
16. Ouabaína

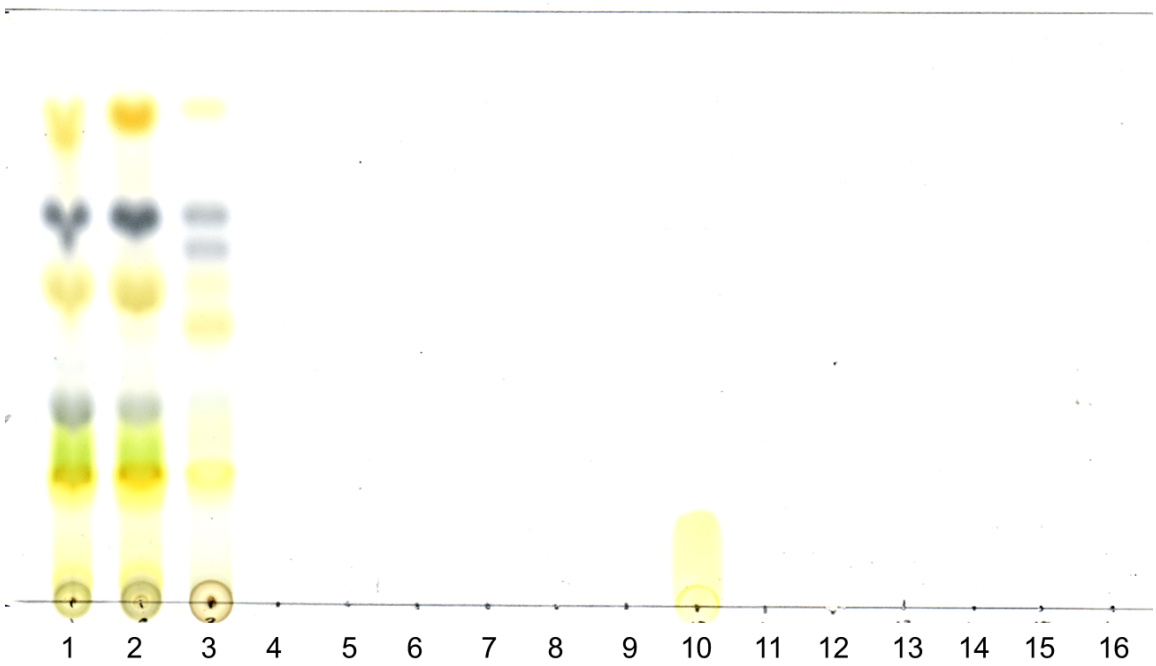


Figura 14. Placa cromatográfica sin revelar.

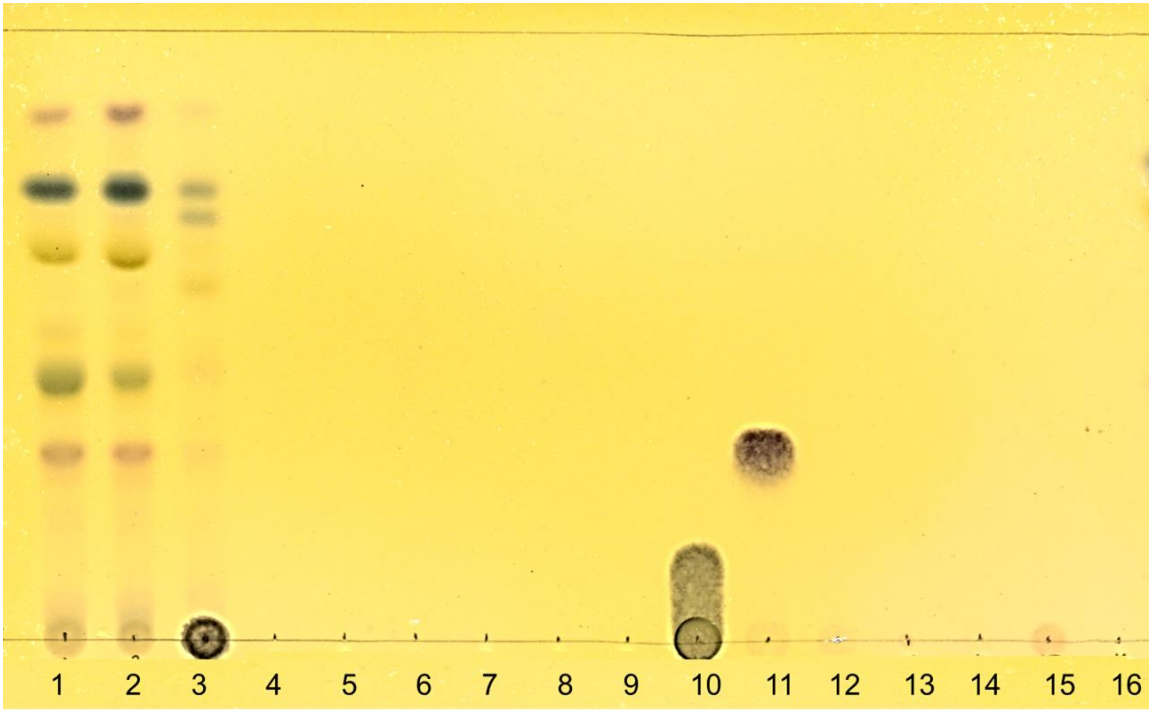


Figura 15. Placa cromatográfica revelada con cloruro férrico al 10%.

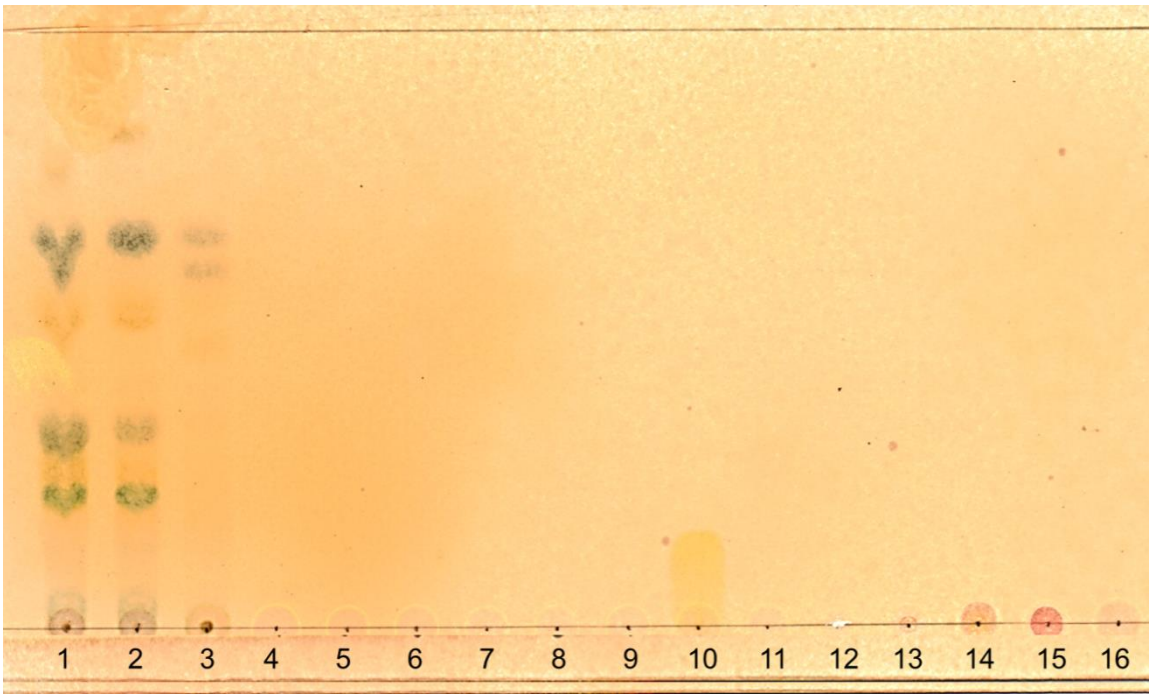


Figura 16. Placa cromatográfica revelada con reactivo de Dragendorff.

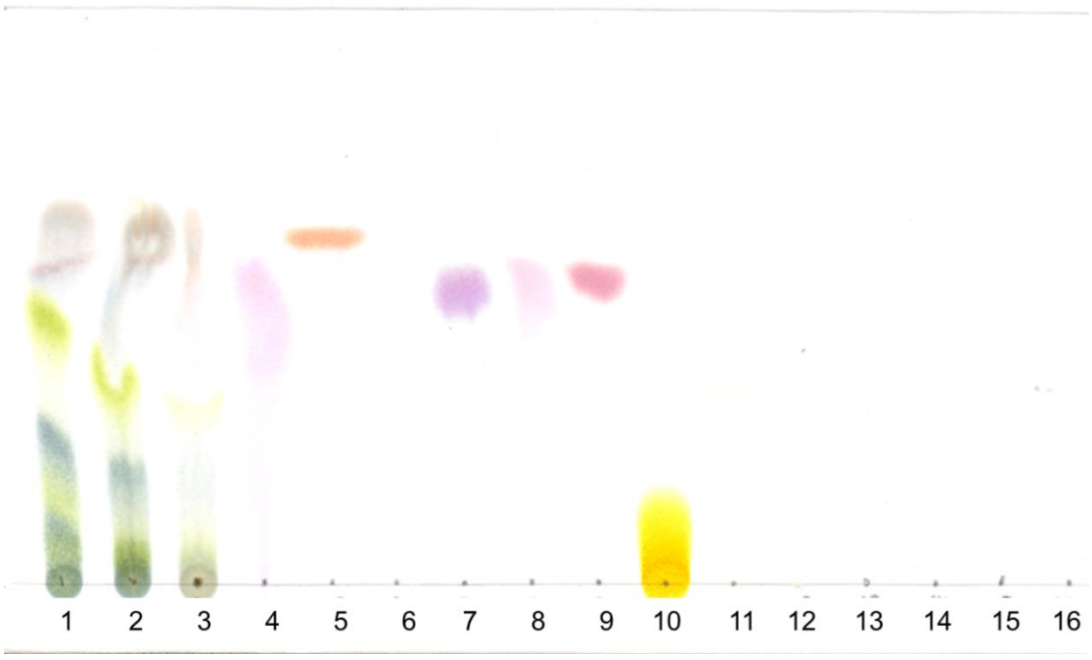


Figura 17. Placa cromatográfica revelada con cloruro de antimonio (III) al 20%.

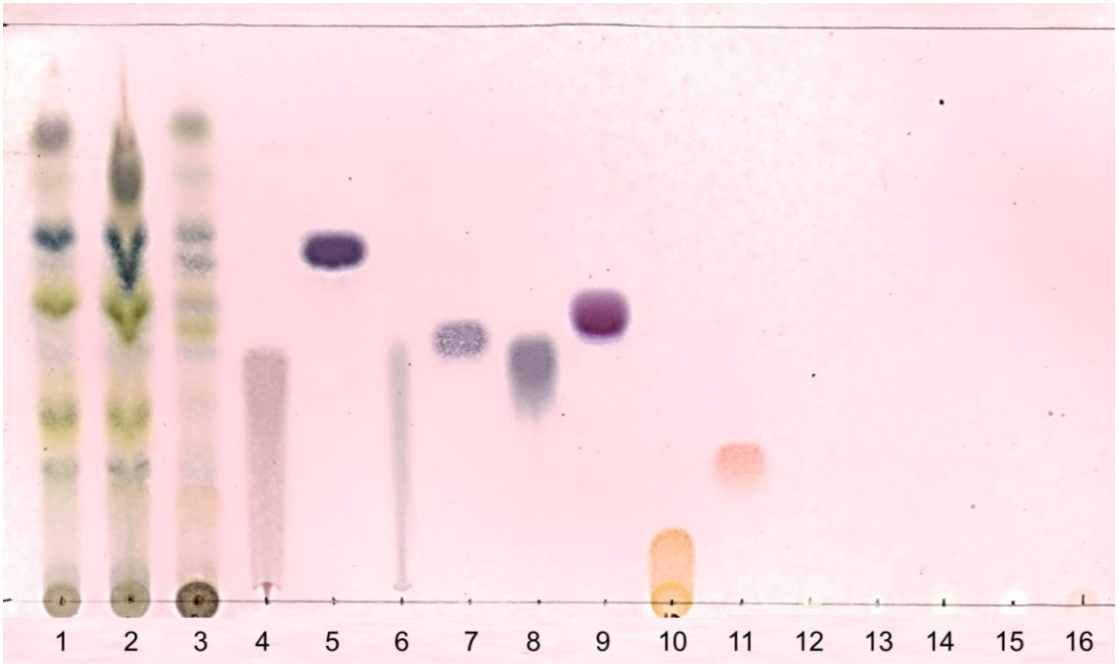


Figura 18. Placa cromatográfica revelada con p-anisaldehído/ácido sulfúrico.

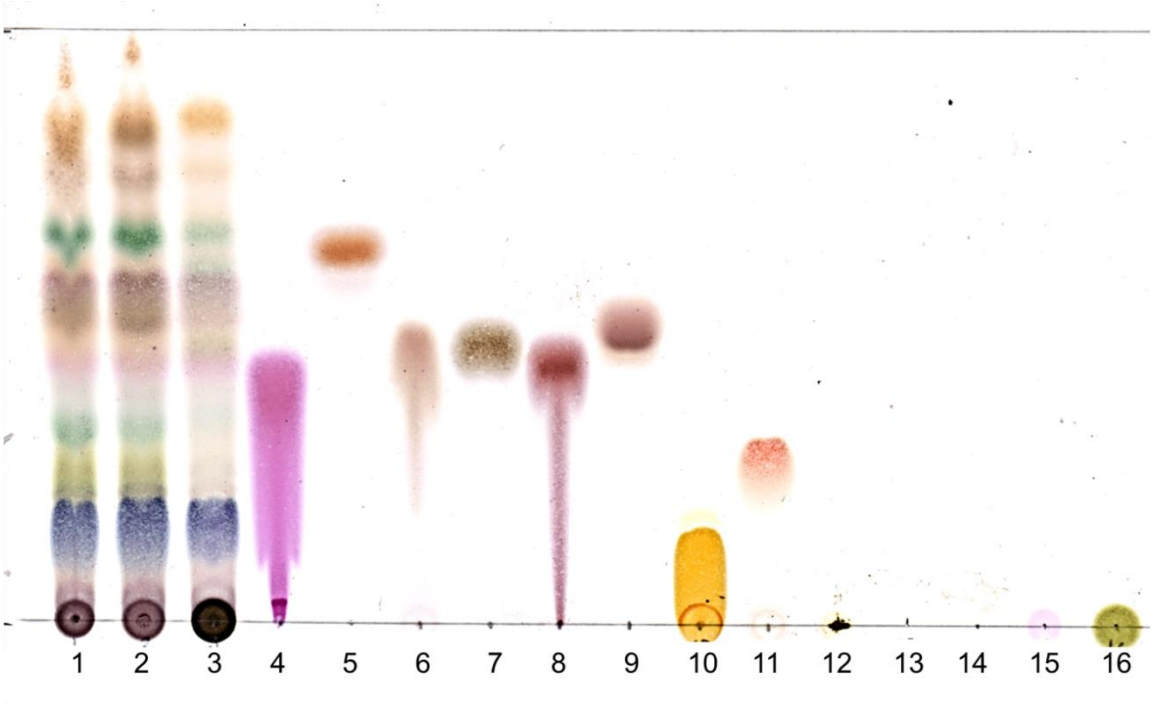


Figura 19. Placa cromatográfica revelada con reactivo de Liebermann-Burchard.

Los resultados de estas placas cromatográficas muestran que el extracto de diclorometano de *L. camara* no contiene flavonoides, alcaloides ni glicósidos cardiotónicos (Figuras 15 a 17). El análisis cromatográfico mostró que los

principales componentes del extracto son terpenoides (Figuras 18 y 19). En contraste, este análisis mostró que el extracto de diclorometano:metanol 1:1 de esta planta sí contiene compuestos de tipo flavonoide.

El análisis por cromatografía en capa fina indicó que el extracto de diclorometano de *L. camara* contiene metabolitos de baja polaridad, mayoritariamente terpenos, los cuales pueden ser clasificados de acuerdo a su factor de retención (Rf), forma y peso molecular; en compuestos volátiles (Rf > 0.5 y PM < 200 g/mol), semi-volátiles (Rf > 0.5 y 200 < PM < 300 g/mol) y no volátiles (Rf <0.5 y PM > 300 g/mol y de estructura compleja) (Durst y Gokel, 2007).

Los compuestos volátiles y semi-volátiles pueden ser fácilmente analizados mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, mientras que los compuestos no volátiles son analizados por cromatografía en columna, en placa fina o por HPLC (IBT, 2015).

Se obtuvo el aceite esencial de *L. camara* (AELc), el cual contiene los principales componentes volátiles contenidos en esta especie y se comparó su perfil cromatográfico con el del extracto de diclorometano (LcD). Como se observa en la Figura 20, el perfil cromatográfico, de ambos extractos es diferente, ya que el aceite esencial sólo posee compuestos con un Rf > 0.5, es decir, sólo compuestos volátiles, mientras que el extracto de diclorometano posee, también metabolitos de volatilidad más baja y mayor peso molecular.

Figura 20. Comparación del perfil cromatográfico, mediante cromatografía en capa fina del extracto de diclorometano (LcD) y el aceite esencial (AE) de *Lantana camara.*

Estos resultados fueron confirmados mediante la cromatografía de gases (Figura 21). El cromatograma obtenido a partir del extracto de diclorometano resultó ser menos complejo que el del aceite esencial, ya que éste es un concentrado de compuestos volátiles; mientras que en el extracto si bien algunos de éstos se encuentran presentes, predominan compuestos poco polares con menor volatilidad. En el aceite esencial se lograron identificar, de manera inequívoca, 115 compuestos, mientras que en el extracto solamente se identificaron 98. Como era de esperarse, el cromatograma de gases indicó que algunos componentes se encuentran tanto en el aceite esencial como en el extracto de diclorometano. Algunos de estos metabolitos comunes son el cariofileno y el fitol, entre otros (ver Anexo I).

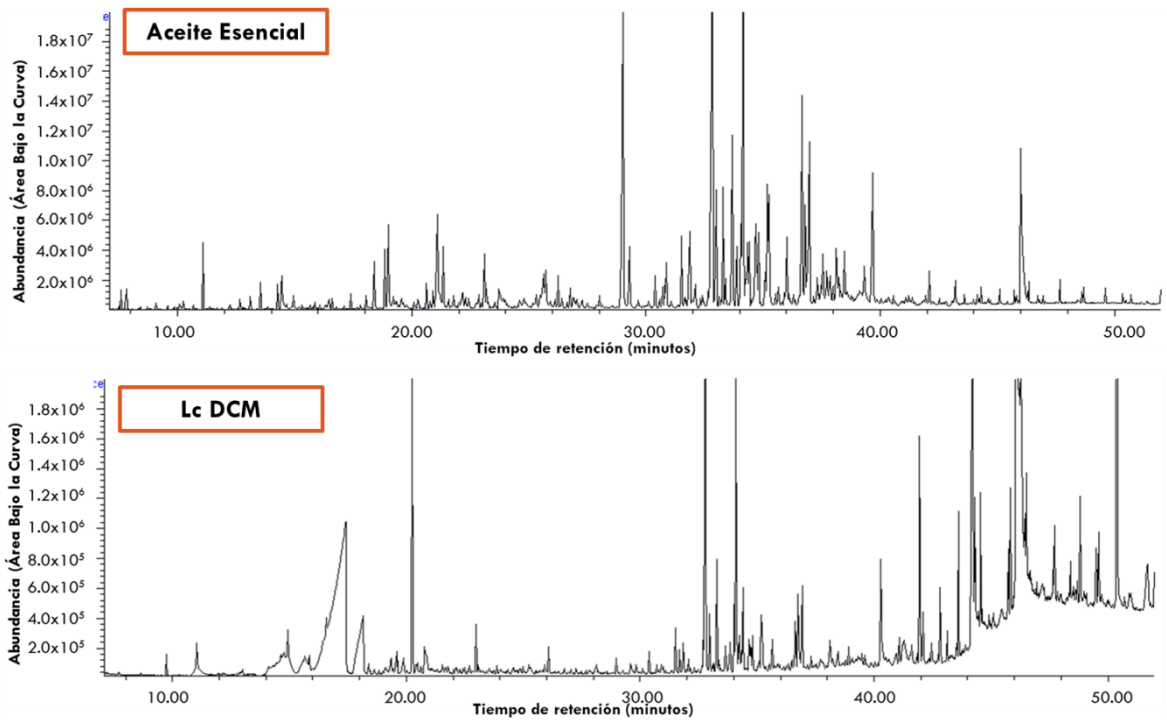


Figura 21. Cromatograma de gases del aceite esencial y el extracto de diclorometano de *Lantana camara*.

El análisis cromatográfico completo de la composición química relativa muestra que en el aceite esencial predominan los sesquiterpenos 60.04%, los monoterpenos y los alcoholes. Este tipo de compuestos, resultan ser componentes mayoritarios de los aceites esenciales, los cuales les confieren sus propiedades aromáticas y biológicas (Holum y col., 2009). En cuanto al extracto de diclorometano, los componentes mayoritarios fueron ésteres, sesquiterpenos y ácidos carboxílicos, los cuales se encontraron en proporciones semejantes (aproximadamente 25% de cada grupo) (Cuadro 20). Es importante mencionar que en el extracto no se encontraron compuestos de alta volatilidad, tales como alcoholes y aldehídos.

Cuadro 20. Composición porcentual relativa por familia química de LcD y AELc.

Familia Química	Composición porcentual relativa LcD	AELc
Ácidos Carboxílicos	**22.32**	0.92
Alcoholes	0.00	**7.89**
Aldehídos	0.00	4.25
Cetonas	1.02	1.89
Ésteres	**28.17**	2.20
Fenilpropanoides	0.00	0.99
Hidrocarburos	8.24	1.02
Monoterpenos	1.03	**14.83**
Sesquiterpenos	**22.43**	**60.04**
Diterpenos	16.85	6.14
Triterpenos	0.00	0.00
Total	100.00	100.00

Los análisis realizados, mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, sobre los aceites esenciales obtenidos a partir de especímenes de *L. camara*, recolectados en diferentes fechas y países, muestra que el β y α-cariofileno se encuentran presentes en casi todas las muestras analizadas (Cuadro 21). Sin embargo, de manera general se aprecia que la composición de las esencias es diferente (Cuadro 21), lo cual indica que la fecha y el lugar de colecta influyen significativamente en la biosíntesis de metabolitos secundarios por parte de la planta y esto determina la potencial actividad biológica que presenten los aceites. Este hecho ya había sido observado previamente por Randrianalijaona y col. (2005), cuando ellos hicieron un estudio comparativo de la composición del aceite esencial de *L. camara* obtenida en la temporada seca y lluviosa en Madagascar, así como la variación debida a la coloración de las flores de las plantas.

A la fecha, no se ha reportado ningún estudio metabolómico sobre el aceite esencial, o algún otro tipo de extracto de *L.camara*, que relacione el perfil fitoquímico y su actividad leishmanicida, por lo que este análisis representa una de las perspectivas del presente trabajo.

Cuadro 21. Composición mayoritaria del aceite esencial de *Lantana camara.*

México Muestra	Egipto (El-Baroty y col., 2014)	Brasil (Machado y col., 2012)	Benín (Alitonouu y col., 2004)	Irán (Sefidkon, 2002)	India (Misra y Laatsch, 2000)
β-cariofileno (11.88%)	Davanona (23.37%)	Germacreno D (24.90%)	β-cariofileno (18.50%)	Sabineno (16.50%)	α-selineno (8.11%)
Carvacrol (7.11%)	β-cariofileno (22.96%)	β-cariofileno (14.31%)	Sabineno (18.10%)	β-cariofileno (14.00%)	Isolongifeno (7.79%)
α-curcumeno (6.33%)	α-cariofileno (14.32%)	(E,E)-farneseno (11.58%)	α-cariofileno (10.00%)	1.8-cineol (10.00%)	Eudesma-3,11-dieno (7.12%)
Fitol (5.12%)	Z-cariofileno (8.18%)	α-cariofileno (8.34%)	1.8-cineol (9.00%)	Biciclogermacreno (8.1%)	β-gurjuneno (6.73%)
α-muuroleno (4.95%)	α-curcumeno (6.33%)	No Identificado (5.78%)	δ-Guaieno (5.00%)	α-cariofileno (6.00%)	δ-cadineno (6.47%)
Davanona (4.25%)	β-copaeno (4.43%)	(Z,E)-α-farneseno (5.03%)	Trans-neridol (4.0%)	Germacreno D (3.60%)	γ-cadineno (5.59%)
Óxido de cariofileno (3.55%)	β-elemeno (3.51%)	(E)-β-farneseno (4.04%)	τ-murool (2.30%)	α-pineno (3.50%)	Sabineno (4.51%)
α-cariofileno (3.38%)	β-patabuleno (2.3%)	β-sesquifelandreno (3.35%)	Germacreno D (2.00%)	(E)-neridol (3.10%)	Guaieno (4.15%)
Alcohol bencílico (2.69%)	α-elemeno (1.99%)	β-elemeno (2.27%)	Davanona (1.60%)	β-pineno (2.30%)	Alcohol sesquiterpénico (4.03%)
(+)-epi-biciclo-sesquifelandreno (2.26%)	Sabineno (1.33%)	2-pentadecinol (1.38%)	β-pineno (1.60%)	δ-3-careno (2.1%)	α-felandreno (3.52%)

Por otra parte, con el objeto de complementar el análisis del extracto de diclorometano de *L. camara* a fin de purificar e identificar los componentes menos volátiles y de mayor peso molecular que no pudieron ser detectados mediante el análisis por cromatografía de gases, se realizó su fraccionamiento por cromatografía en columna abierta. A partir de este fraccionamiento se obtuvieron 320 fracciones de 250 mL cada una, las cuales fueron agrupadas en 18 fracciones finales, de acuerdo a su similitud cromatográfica (Figura 22).

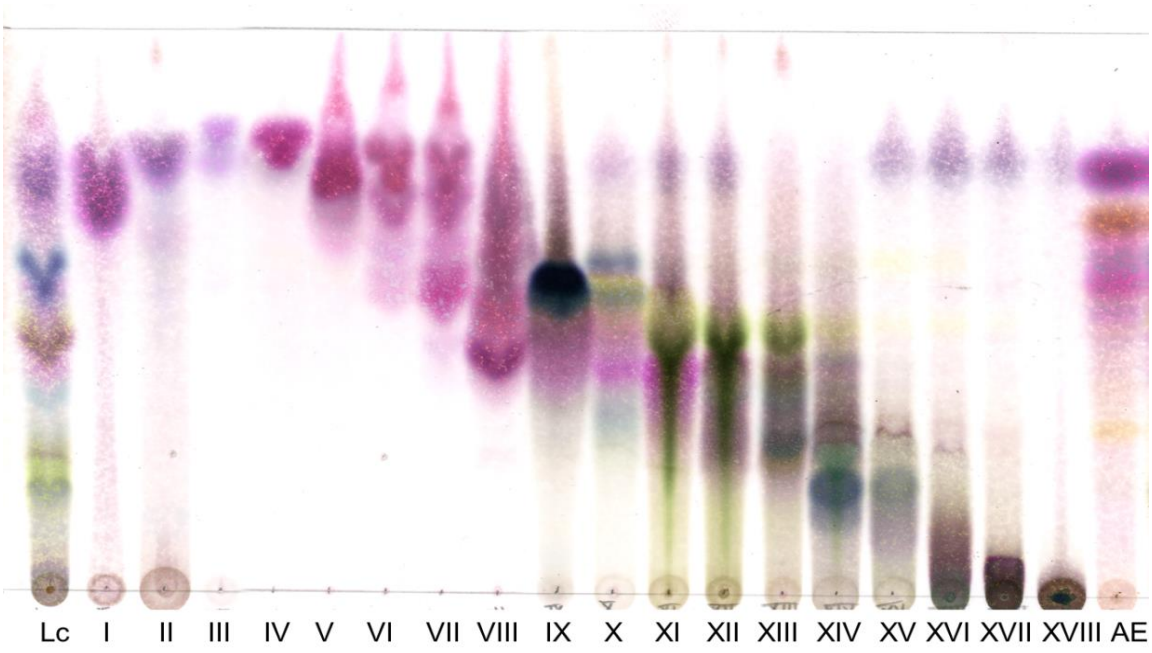


Figura 22. Placa cromatográfica revelada con p-anisaldehído de las fracciones obtenidas a partir del extracto de diclorometano de *Lantana camara* y su aceite esencial. Lc (extracto completo), I-XVIII (fracciones) y AE (aceite esencial).

El análisis por cromatografía en capa fina de las fracciones cromatográficas obtenidas a partir del extracto de diclorometano de *L. camara* indicó que las fracciones I a X están compuestas exclusivamente por compuestos volátiles (Rf ≥ 0.5); mientras que las fracciones XI a XVIII poseen compuestos poco polares no volátiles, de mayor peso molecular. Posiblemente, estos compuestos sean triterpenos con grupos funcionales polares, que no volatilizan y por lo tanto no

pueden ser detectados por la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

Las 18 fracciones obtenidas a partir de fraccionamiento cromatográfico del extracto de *L. camara* se evaluaron, mediante los ensayos de toxicidad para *A. salina*, citotoxicidad sobre macrófagos y actividad anti-amastigotes de *L. amazonensis*. Los resultados de estas evaluaciones se presentan en el Cuadro 22.

Cuadro 22. Actividad biológica de las fracciones obtenidas a partir del extracto de diclorometano de *Lantana camara* sobre *A. salina* (CI_{50}), macrófagos peritoneales de ratón BALB/c (CC_{50}) y amastigotes de *L. amazonensis* (CI_{50}).

Fracción/ Extracto	$CL_{50} \pm$ DE (μg/mL)	$CC_{50} \pm$ DE (μg/mL)	$CI_{50} \pm$ DE (μg/mL)	IS
Extracto de DCM	20.70 ± 1.30	> 100	21.8 ± 2.4	> 9
Aceite esencial	125.0 ± 1.35			
I	530.8 ± 1.99	65.2 ± 2.3	12.2 ± 1.8	> 5
II	91.5 ± 1.43	> 100	9.1 ± 3.4	> 11
III	> 1000	> 100	18.3 ± 1.5	> 5
IV	> 1000	> 100	30.2 ± 3.5	> 3
V	> 1000	> 100	17.9 ± 3.8	> 6
VI	> 1000	> 100	21.5 ± 4.3	> 5
VII	> 1000	96.8 ± 2.2	17.9 ± 2.5	> 5
VIII	> 1000	92.3 ± 3.1	24.7 ± 2.9	> 4
IX	> 1000	> 100	18.6 ± 1.5	> 5
X	679.6 ± 6.03	> 100	7.9 ± 0.3	> 13
XI	735.6 ± 4.35	> 100	8.0 ± 1.1	> 12
XII	> 1000	> 100	16.7 ± 3.7	> 6
XIII	> 1000	82.2 ± 2.6	12.1 ± 0.7	> 7
XIV	4.22 ± 1.21	> 100	10.1 ± 1.9	> 10
XV	1.06 ± 1.49	> 100	15.0 ± 2.1	> 7
XVI	21.8 ± 1.44	> 100	8.5 ± 1.7	> 12
XVII	831.0 ± 4.25	> 100	19.8 ± 3.9	> 5

En este punto es importante mencionar que se realizó la evaluación de la toxicidad sobre *A. salina* del extracto de diclorometano, el aceite esencial y las fracciones obtenidas a partir de *L. camara* a fin de determinar si existía una correlación positiva entre la toxicidad para el crustáceo y la actividad leishmanicida. Esto, con

el objeto de proponer al ensayo de toxicidad para *A. salina* como una prueba preliminar para la detección de un efecto leishmanicida. Este experimento se planteó con base en los resultados reportados previamente por Machado y col., (2012); quienes encontraron que para el aceite esencial de *L. camara* de Brasil la la CI_{50} en promastigotes de *L. chagasi* era de 18.0 ± 4.0 μg/mL, mientras que la CC_{50} en *A. salina* era de 12.0 ± 3.0 μg/mL, por lo que sí existía una correlación entre la toxicidad para *A. salina* y la actividad anti-leishmania.

En el caso del presente trabajo, se encontró que el ensayo de toxicidad para *A. salina* solamente correlaciona con la actividad anti-promastigote presentada por el extracto de diclorometano. Por otra parte, las 18 fracciones obtenidas a partir del fraccionamiento del extracto de *L. camara* presentaron actividad contra amastigotes de *L. amazonensis* con una CI_{50} menor a menor a 50 μg/mL y sólo las fracciones IV y VIII fueron inespecíficas. Estos resultados indican que la actividad leishmanicida presentada por el extracto de diclorometano de esta especie vegetal es producida por metabolitos secundarios no polares, tanto volátiles como no volátiles, con un rango amplio de pesos moleculares. Sin embargo, como se observa en Cuadro 22, los IS más altos tienden a concentrarse en las fracciones que contienen los metabolitos de mayor peso molecular y menor volatilidad. Resulta interesante el hecho de que el aceite esencial de *L. camara,* aunque resultó ser tóxico para *A. salina,* presentó una toxicidad aproximadamente 6 veces menor que la del extracto de diclorometano (Cuadro 22), lo cual indica que, de manera semejante a lo que sucede con la actividad leishmanicida, los componentes volátiles no son los principales responsables del efecto tóxico contra el crustáceo (Cuadro 21 y Anexo I).

Se ha reportado que algunos componentes volátiles presentes en los aceites esenciales de algunas plantas, entre las que se encuentra *L. camara*, poseen actividad leishmanicida. Tal es el caso del carvacrol y el óxido de cariofileno, componentes que fueron identificados en el aceite esencial del epazote (*Chenopodium ambrosioides*) (Monzote y col. 2014). Ambos compuestos presentaron actividad leishmanicida sobre *L. amazonensis* MHOM/77BR/LTB0016

(la misma cepa utilizada en nuestro estudio) con una CI_{50} para amastigotes para cada uno de estos compuestos era 13.6 ± 1.8 y 4.4 ± 0.4 μg/mL, y un IS de 2 y 1 para el carvacrol y el óxido de cariofileno, respectivamente.

En otro estudio realizado por Soares y col. (2013) se encontró que el aceite de copaiba (*Copaifera officinalis*) presentaba una importante actividad contra amastigotes intracelulares de *L. amazonensis* (WHOM/BR/75/Josefa), ya que presentó un IS de 40.1. El análisis por CG-EM mostró que uno de los componentes mayoritarios de la esencia era el β-trans-cariofileno, compuesto identificado en el presente estudio en el aceite esencial y en el extracto de diclorometano de *L. camara*. Se reportó también que este compuesto exhibe actividad leishmanicida, con índice de selectividad de 48.9.

Con base en esta información es posible afirmar que el óxido de cariofileno y el β-cariofileno contribuyen, al menos en parte, al efecto lesihmanicida presentado por el aceite esencial y el extracto de diclorometano de *L. camara*. Asimismo, es muy probable que el carvacrol también contribuya al efecto anti-leishmania del aceite esencial de esta planta.

Con el objeto de aislar e identificar algunos de los principales compuestos responsables del efecto leishmanicida, se decidió analizar, mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, las fracciones activas XIV y XV, las cuales también resultaron ser las que presentaban la mayor toxicidad para *A. salina.* Los resultados de estos análisis se muestran en la Figura 23 y en el Cuadro 23.

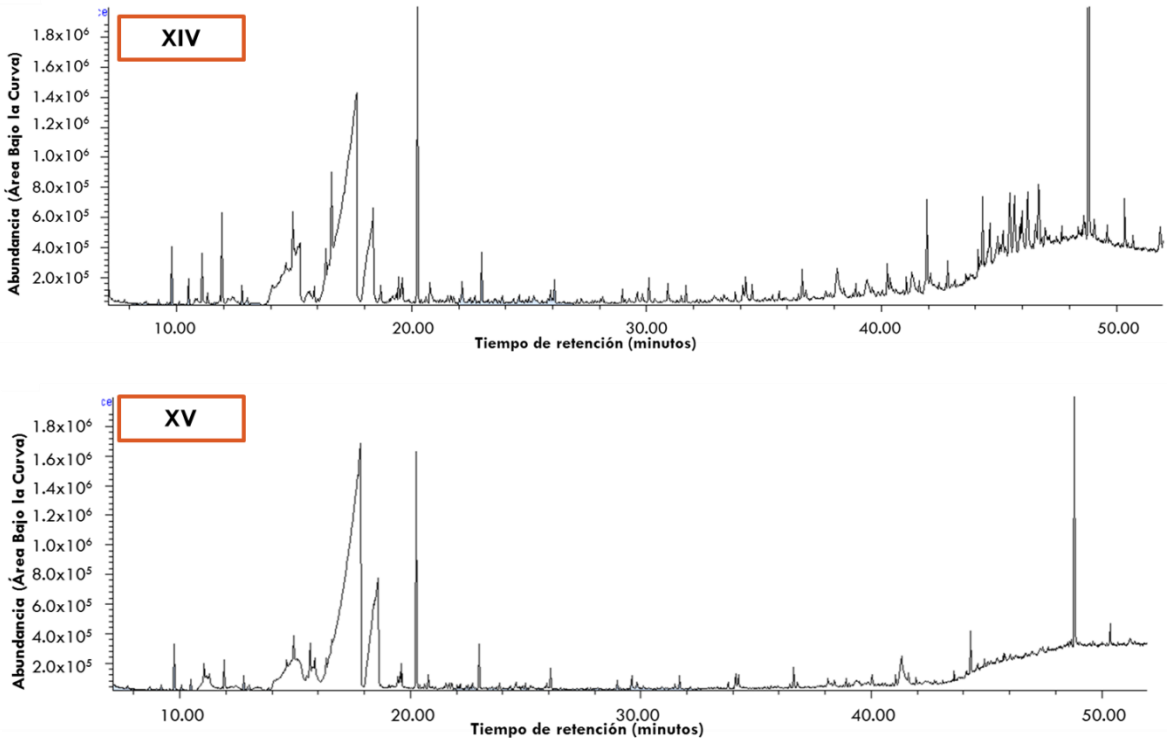


Figura 23. Cromatograma de gases de los fracciones XIV y XV obtenidos del fraccionamiento del extracto de diclorometano de *Lantana camara*.

Cuadro 23. Composición porcentual relativa por familia química de LcD, AELc, XIV y XV.

Familia Química	Composición porcentual relativa	
	XIV	XV
Ácidos Carboxílicos	**61.78**	**87.09**
Alcoholes	2.17	1.30
Aldehídos	0.00	0.00
Cetonas	0.68	0.35
Ésteres	**7.10**	**3.87**
Fenilpropanoides	0.00	0.00
Hidrocarburos	**20.57**	**6.26**
Monoterpenos	2.00	0.50
Sesquiterpenos	0.56	0.54
Diterpenos	0.58	0.00
Triterpenos	4.57	0.00
Total	100.00	100.00

Como se puede observar en los cromatogramas obtenidos, las fracciones XIV y XV presentan un perfil muy similar, en cuanto a la composición y la proporción de

sus componentes volátiles, siendo los ácidos carboxílicos los metabolitos mayoritarios. Evidentemente, de acuerdo a la información obtenida a partir del análisis de las fracciones XIV y XV por cromatografía en capa fina, ambas fracciones contienen componentes no volátiles (Rf $\leq$ 0.5), los cuales no pudieron ser detectados por el sistema acoplado de cromatografía de gases-espectrometría de masas.

En una revisión de los metabolitos activos de *L. camara* realizada por Sharma y col. en 2007, se menciona que ésta posee triterpenos funcionalizados con núcleos ursano, oleanano y lupano. Adicionalmente, Sousa y Costa (2012) reportan que se han identificado alrededor de 74 triterpenos de *L. camara*. De estos metabolitos secundarios, 5 son tetracíclicos y 69 pentacíclicos. Estos últimos se agrupan por su núcleo estructural en: 39 de tipo oleanano, 25 tipo ursano y 4 tipo lupano (Figura 24).

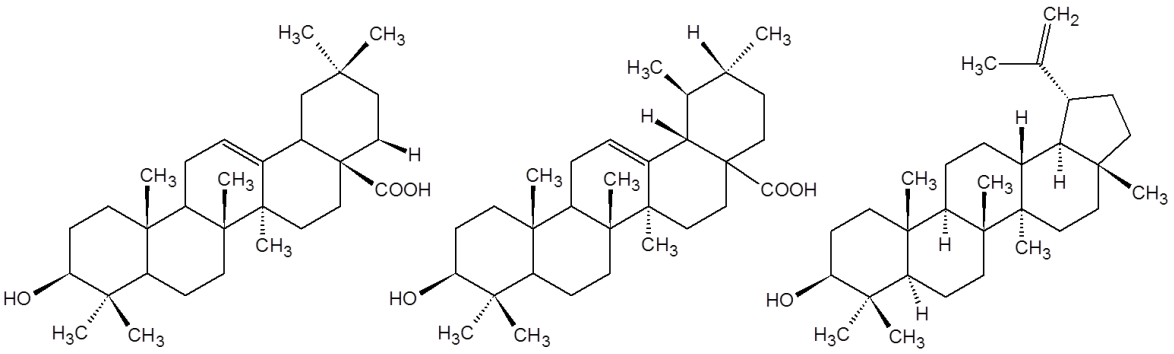
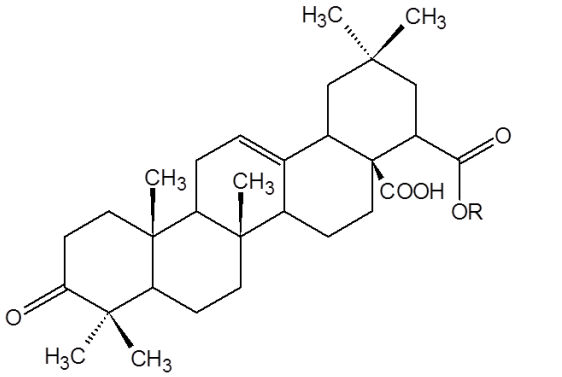


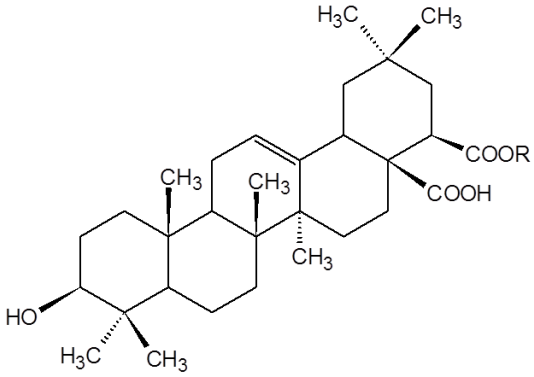
Figura 24. Principales familias de triterpenos identificados en *Lantana camara.*

Tomando en cuenta esta información, es muy probable que los componentes no volátiles contenidos en las fracciones XIV y XV sean triterpenos con grupos funcionales polares. Esta hipótesis está apoyada por el hecho de que el análisis por cromatografía de gases mostró que la fracción XIV contiene escualeno, principal precursor biosintético de los triterpenos (Dewick, 2002).

Un grupo de triterpenos, previamente purificados a paritr del extracto clorofórmico de las partes aéreas de *L. camara,* son los lantadenos (Barre y col., 1997), los cuales poseen un núcleo similar al del ácido oleanólico (Figura 25).



Lantadeno A; R= $-C(CH_3)=CH(CH_3)$
Lantadeno B; R= $-CH=C(CH_3)_2$
Lantadeno C; R= $-CH(CH_3)CH_2CH_3$
Lantadeno D; R= $-CH(CH_3)_2$



Lantadeno A Reducido;
R= $-C(CH_3)=CH(CH_3)$
Lantadeno B Reducido;
R= $-CH=C(CH_3)_2$

Figura 25. Lantadenos

Se ha reportado que los lantadenos reducidos, al analizarse por cromatografía en capa fina, revelados con el reactivo de Liebermann-Burchard y observarse bajo luz UV a 366 nm, aparecen como una mancha café rojiza con un halo fluorescente amarillo rosado (Sharma y Dawra, 1991). Este comportamiento fue observado en la cromatografía en capa fina del extracto de diclorometano de *L. camara* y en la fracciones XIV y XV, pero no en la cromatografía del aceite esencial (Figura 26), lo que indica que este tipo de compuestos no son volátiles. Asimismo, se sembraron en la placa cromatográfica estándares de compuestos pertenecientes a las familias de triterpenos de tipo oleanano, ursano y lupano. Se encontró que los compuestos contenidos en las fracciones XIV y XV no eran ni ácido ursólico, ni lupeol, ni ácido oleanólico.

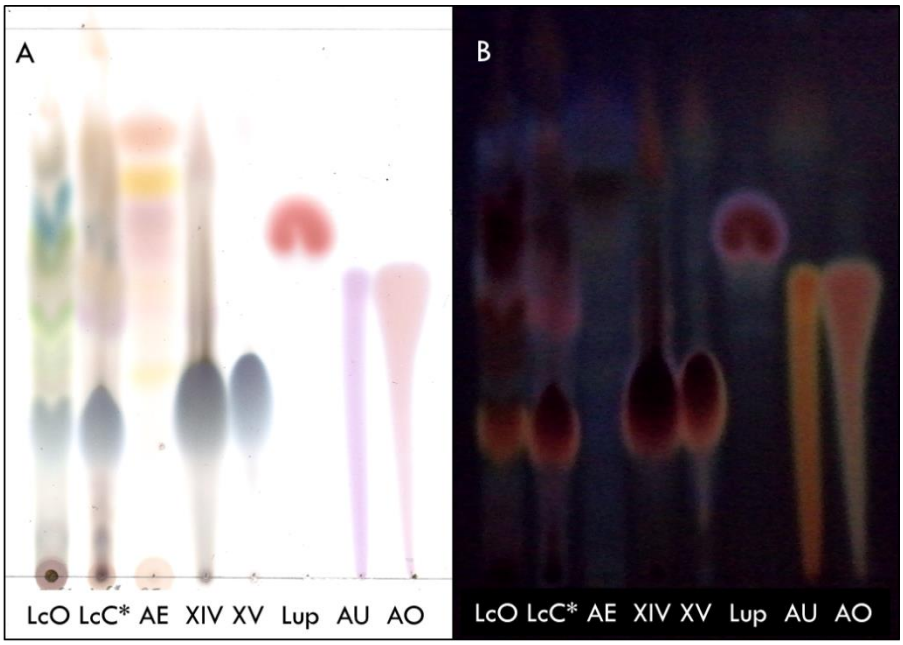


Figura 26. Probable presencia de lantadenos reducidos en el extracto de DCM de *L. camara* y en las fracciones XIV y XV. Placa revelada con reactivo de Liebermann-Burchard. A) Luz ambiental, B) Luz UV 366 nm. LcO: extracto de DCM original, LcC*: extracto de DCM pasado por carbón activado, AE: aceite esencial, Lup: lupeol, AU: ácido ursólico, AO: ácido oleanólico

Con base en la evidencia cromatográfica, es posible proponer que el extracto de diclorometano de *L. camara* y las fracciones contienen triterpenos reducidos de tipo lantadeno. En el análisis por cromatografía de gases de estas fracciones se encontró que el componente mayoritario (56.85 y 68.39%, respectivamente) era el ácido 2-metil-2-butenoico, conocido comúnmente como ácido angélico. Resulta interesante el hecho de que el grupo angeloxi sea un sustituyente previamente encontrado en el lantadeno A y el lantadeno A reducido. A fin de corroborar inequívocamente la identidad de los compuestos presentes en las fracciones XIV y XV, se procedió a derivatizarlas, mediante metilación, con el objeto de hacer más volátiles los componentes de estas fracciones y posibilitar su análisis por cromatografía de gases (Figura 27). Actualmente, los derivados metilados se encuentran en análisis espectroscópico (RMN) y espectrométrico (EM) para lograr su identificación.

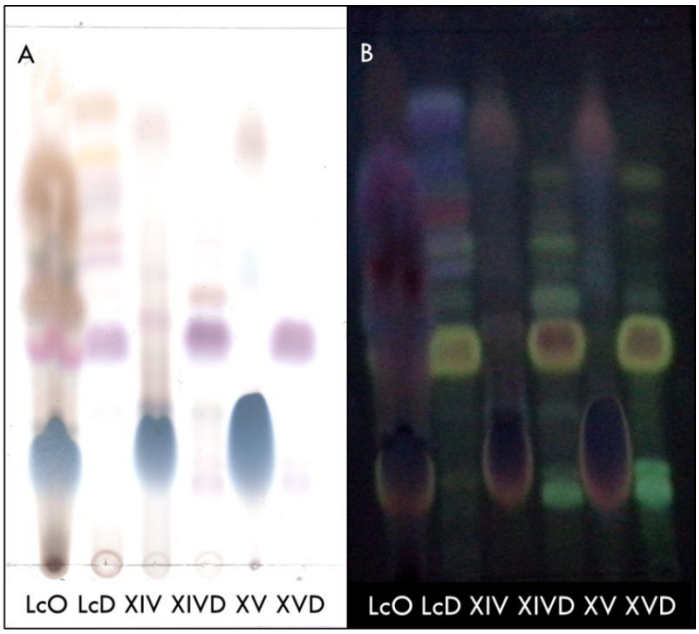


Figura 27. Derivatización del extracto de diclorometano de *L. camara* y las fracciones XIV y XV. Placa revelada con reactivo de Liebermann-Burchard. A) Luz ambiental, B) Luz UV 366 nm. LcO, XIV y XV: extracto y fracciones originales; LcD, XIVD y XVD: extracto y fracciones derivatizadas.

Se ha reportado que el ácido angélico presente en la raíz de *Levisticum officinale*, le confiere características como diurético. En tanto que la petasina (un éster formado del sesquiterpeno petasol y ácido angélico) aislada de *Petasites hybridus*) presenta propiedades espasmolíticas y calmantes (Weiss, 2001).

Sharma y col. (2007) reportaron que *L. camara* presenta metabolitos que ocasionan la muerte en rumiantes y se ha observado efectos tóxicos variables en modelos murinos. Estudios realizados por otros grupos de investigación han revelado que estos metabolitos tóxicos son los lantadenos A, B, C y el lantadeno A reducido (Sharma y col., 2007). No obstante, también se ha encontrado que estos metabolitos poseen otras actividades biológicas dentro de las que se destacan efectos: antimicrobiano, antiviral, antitumoral, antituberculoso e incluso alelopático, siendo este último potencialmente útil para el desarrollo de herbicidas. Por lo que es importante no descartar el estudio de estas moléculas como compuestos prototipo para el desarrollo de fármacos. En 2010, García y col. estudiaron el mecanismo por el cual estos lantadenos ocasionan hepatotoxicidad, concluyendo

que generan perturbaciones en la bioenergética mitocondrial por diferentes mecanismos, siendo el lantadeno A reducido más potente que el lantadeno A. En particular el lantadeno A reducido disminuye los niveles de ATP por el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, lo cual altera a su vez el potencial de membrana. Un proceso similar se observó cuando se estudió el mecanismo por el cual actúa el aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* (Monzote y col., 2014), por lo que se especula que éste sea el probable mecanismo por el cual actúan los lantadenos presentes en las fracciones XIV y XV en *L. amazonensis.*

Recientemente, Begum y col. (2014) aislaron 8 triterpenos (ácido lantaninílico, ácido lantoico, ácido oleanólico, ácido ursólico, lantadeno A, ácido betulínico, ácido lantanílico y ácido camarínico) de un extracto metanólico de las partes aéreas de un espécimen de *L. camara* colectado en Paquistán. Ellos probaron la actividad anti-leishmanial de estos triterpenos contra promastigotes de *Leishmania major*; encontrando que el ácido ursólico era la molécula leishmanicida más potente con una CI_{50} de 12.4 $\pm$ 0.03 μM, concluyendo que este triterpeno poseía un gran potencial como un agente anti-leishmanial; mientras que el lantadeno A y el ácido lantanílico poseían una actividad importante por la presencia de un éster α,β insaturado en la posición C22 del esqueleto oleanano. Sin embargo, concluyen que el núcleo ursano posee mayor actividad. En contraste, nuestros resultados indican que el ácido ursólico, si bien está presente, no es uno de los componentes mayoritarios en el extracto activo y selectivo de *L. camara* colectada en México.

Los resultados derivados del presente trabajo indicaron que la potencia y selectividad del efecto leishmanicida presentadas por le extracto de diclorometano de *L. camara* recolectada en Querétaro, México, no se puede atribuir a un solo componente o a un grupo específico de compuestos, sino que más bien, es el resultado de la acción conjunta de diversos metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, de baja polaridad, cuya identidad a la fecha todavía no se conoce, de manera inequívoca. Por esta razón, resulta necesario continuar con el estudio químico y farmacológico de esta especie, la cual indudablemente representa una

fuente muy valiosa de compuestos prototipo para el desarrollo de fármacos útiles para tratar la leishmaniasis.

9. CONCLUSIONES

- Algunas de las plantas utilizadas como antiparasitarias en la medicina tradicional mexicana poseen actividad leishmanicida.
- De las 10 plantas estudiadas, sólo *Lantana camara, Prosopis laevigata* y *Schinus molle* mostraron actividad contra *Leishmania amazonensis*
- El extracto de diclorometano de *L. camara* fue el que mostró mayor potencia y selectividad en el efecto anti-leishmania (CI_{50} amastigotes 21.8 $\pm$ 2.4 μg/mL, IS > 9). El aceite esencial obtenido de esta planta, también presentó un efecto leishmanicida, aunque menor que el del extracto de diclorometano.
- El análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas indicó que el extracto de diclorometano de *L. camara* contiene 98 compuestos volátiles, en tanto que el aceite esencial contiene 115 componentes.
- Los principales componentes volátiles del extracto son: fitol (13.2%), ácido n-hexadecanoico (8.47%), β-cariofileno (4.48%), ácido 2-metil-(E)-2-butenoico o ácido angélico (4.14%) y α-curcumeno (3.55%); mientras que los compuestos volátiles mayoritarios del aceite esencial son: β-cariofileno (11.88%), carvacrol (7.11%), α-curcumeno (6.33%), fitol (5.12%) y α-muuroleno (4.95%).
- Es muy probable que el óxido de cariofileno y el β-cariofileno contribuyan, al menos en parte, al efecto leishmanicida presentado por el aceite esencial y el extracto de diclorometano de *L. camara*. Posiblemente, el carvacrol también contribuye al efecto anti-leishmania del aceite esencial. Sin embargo, estos compuestos no son los principales responsables del efecto leishmanicida.
- De las 18 fracciones obtenidas a partir del fraccionamiento del extracto de diclorometano de *L. camara*, 16 poseen actividad leishmanicida, lo que indica que la actividad leishmanicida presentada por el extracto de diclorometano es producida por metabolitos secundarios no polares, tanto volátiles como no volátiles, con un rango amplio de pesos moleculares.

- Los índices de selectividad más altos se concentraron en fracciones que contienen los metabolitos de mayor peso molecular y menor volatilidad.
- Las fracciones XIV y XV fueron las que mostraron mayor actividad leishmanicida y toxicidad en *A. salina*.
- La actividad leishmanicida de las fracciones XIV y XV puede atribuirse a la presencia de triterpenos que poseen grupos funcionales polares, cuyo comportamiento en el análisis cromatográfico en capa fina indicó que pueden ser triterpenos reducidos de tipo lantadeno.
- Es importante continuar con el estudio químico y farmacológico de *L. camara* ya que, indudablemente, representa una fuente muy valiosa de compuestos prototipo para el desarrollo de fármacos útiles para tratar la leishmaniasis.

10. ANEXO I

Cuadro 24. Composición del aceite esencial y el extracto de DCM de *Lantana camara*, así como de las fracciones con mayor actividad en *A. salina.*

Match EM	Índice de Kovats calculado	Índice de Kovats teórico	Compuesto	Abundancia (%)			
				LcD	AELc	XIV	XV
			Ácidos Carboxílicos				
86	705.62		Ácido propanoico			0.14	0.13
87	853.29	875.00	Ácido 3-metilbutanoico	0.24			
87	891.28		Ácido 3-metil-3-butenoico			0.64	
87	914.67	953.00	Ácido 3-metil-2-butenoico	2.06			
95	960.91		Ácido 2-metil-2-(E)-butenoico	4.14		56.85	68.39
83	993.05	977	Ácido hexanoico			0.34	
83	993.02		Ácido propilpropanedioico	0.35			
95	1008.30		Ácido (E)-3-hexenoico	0.44			
90	1274.41	1272.1	Ácido nonanoico	0.11			
99	1763.25	1769	Ácido tetradecanoico	1.50	0.14	0.83	
91	1920.02	2158.9	Ácido (Z,Z,Z)-9,12,15-octadecatrienoico	1.35	0.49		
99	1973.15	1975	Ácido n-hexadecanoico	8.47	0.17	1.13	
			Alcoholes				
86	741.32		3-metilbutanol		0.05		
91	795.84		1-metilciclopentanol			2.10	0.89
87	861.19	859.8	(Z)-3-hexenol		0.85		
90	960.28	966	5-metil-2-furanmetanol		0.04		
98	1044.12	1025	Alcohol bencílico		2.69		
86	1079.34	1080	5-eteniltetrahidro-a,a,5-trimetil-cis-2-furanmetanol		0.27		
95	1103.76	1103	3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol		0.94		
90	1123.74	1118.4	Alcohol feniletílico		0.84		
80	1179.99	1163	6-eteniltetrahidro-2,2,6-trimetil-2H-piran-3-ol		0.27		
94	1188.36	1175	4-metil-1-(1-metiletil)-(R)-3-ciclohexen-1-ol		0.88		
91	1912.52		(Z,Z)-11,13-hexadecandienol		0.08		
83	1299.93	1883.9	Hexadecanol				0.13
			Aldehídos				
94			2-butenal		0.04		
95			3-metilbutenal		0.21		
83			2-metilbutenal		0.26		
86	706.09	702	Pentanal		0.04		
94	838.01	840	Furfural		0.39		

97	856.77	853	2-hexenal		0.34		
83	880.49		4-metilhexanal		0.08		
93	903.68	902	Heptanal		0.06		
96	966.71	964.9	Benzaldehído		0.80		
95	1014.05	1012.3	(E,E)-2,4-heptadienal		0.15		
91	1256.41		2-metil-3-fenilpropanal		0.03		
94	1271.11	1270	4-metoxibenzaldehído		0.23		
94	1281.63		3,7-dimetil-2,6-octadienal		0.03		
80	1721.08	1715.2	Pentadecanal		1.02		
90	2197.55		Biciclo[6.1.0]non-4-en-9-carbaldehído		0.04		
			Cetonas				
90			3-penten-2-ona		0.01		
86	716.37		3-hidroxi-2-butanona		0.11		
80	744.06		Metilisobutilcetona				0.11
87	794.05		2-hexanona			0.16	
80	811.64	804	dihidro-2-metil-3(2H)-furanona		0.00		
91	957.42	960	5,5-dimetil-2(5H)-furanona		0.23		
80	1060.90	1056	5-etildihidro-2(3H)-furanona		0.06		
80	1068.28	1063.2	1-(1H-pirrol-2-il-)etanona		0.06		
81	1194.44	1190	1-(4-metilfenil)-etanona	0.19			
81	1259.41		2-metil-5-(1-metiletenil)-(R)-2-ciclohexen-1-ona	0.04			
93	1264.07	1260	2-metil-5-(1-metiletil)-2,5-ciclohexadien-1,4-diona	0.10			
97	1374.59	1345	4'-metoxi-acetofenona		0.35		
94	1406.06		1-(2,6,6-trimetil-1,3-ciclohexadien-1-il)-2-butenona		0.14		
96	1491.61	1472	2,6-bis(1,1-dimetiletil)-2,5-ciclohexadien-1,4-diona	0.12		0.25	0.17
98	1599.88		5,6,7,7a-tetrahidro-4,4,7a-trimetil-2(4H)-benzofuranona	0.41		0.25	
98	1857.81	1846	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona		0.56		
91	1977.27		12-azabiciclo[9.2.2]pentadecan-13-ona		0.14		
			Ésteres				
91	719.39		Metiléster del ácido 2-metil-2-propenoico		0.02		
83	818.53	812	Butiléster del ácido acético			0.36	
80	917.99	916	Butirolactona		0.22		
93	1083.46	1081	Fenilmetiléster del ácido fórmico		0.24		
94	1170.15	1172	Fenilmetiléster del ácido acético		0.10		
96	1205.85	1200.7	Salicilato de metilo		0.53		
96	1734.07	1726	Tetradecanoato de metilo	0.23			
83	1764.96		Monometiléster del ácido	0.07			

			metilquinolínico				
91	1788.50	1780	Benzoato de bencilo		0.05		
98	1942.64		Metiléster del ácido hexadecanoico	1.23	0.16	0.31	0.22
94	1982.29		Butil 2-metilpropiléster del ácido 1,2-bencendicarboxílico			1.88	1.00
86	2029.32		Hexadecanoato de isopropilo			0.87	0.50
97	2120.39		Metiléster del ácido (Z,Z,Z)-9,12,15-octadecatrienoico	1.71	0.16		
80	2135.60		Dinoniléster del ácido 1,2-bencendicarboxílico			3.47	
87	2241.88		Bis(2-etilhexil)éster del ácido (E)-2-butenodioico		0.06		
95	2406.30		Bis(2-etilhexil)éster del ácido hexanedioico	0.58	0.22		
91	2574.53		Diisooctiléster del ácido 1,2-bencendicarboxílico	9.24	0.17		
97			Miristato de isopropilo	0.42			
98			Etiléster del ácido hexadecanoico	1.45			
98			Metiléster del ácido 9,12-octadecadienoico	1.58			
90	1805.47		9-cis,11-trans-octadecadienoato de metilo				0.59
93			Etiléster del ácido linoleico	1.43			
99			9,12,15-octadecatrienoato de etilo	2.44			
96			Etiléster del ácido octadecanoico	0.80			
90			18-metildecanoato de metilo	0.38			
87			Butiléster de ácido octadecanoico	0.62			
83	1930.75		Mono(2-etilhexil)éster del ácido 1,2-bencendicarboxílico				0.74
92			9,12-octadecadienoato de butilo	1.36			
Fenilpropanoides							
98	1376.93	1370	Eugenol		0.73		
89	1418.14	1410	Metileugenol		0.13		
Hidrocarburos							
91	1000.33		Decano	0.25		0.60	0.60
81	1023.78	1059	4-metildecano				0.12
87	1071.89		3-metildecano	0.06		0.12	
96	1100.00		Undecano	0.55		1.10	0.95
96	1199.94		Dodecano	0.33			0.49
98	1307.00		Tridecano	0.18		0.32	0.20
81	1384.96	1811	2,6,10,14-tetrametilhexadecano	0.04			
93	1399.59		(E)-5-tetradeceno			0.20	
96	1407.53		Tetradecano	0.24		0.37	1.26

96	1509.90		Pentadecano	0.58	0.02	0.80	0.46
96	1592.11	1587	1-Hexadeceno			0.14	
97	1604.96		Hexadecano	0.66		0.73	0.46
91			2-metilhexadecano	0.84		1.25	
98	1708.77		Heptadecano	0.26	0.14	2.93	0.21
83	1737.00		(Z)-3-tetradeceno	0.16			
96	1793.51		(Z)-8-hexadeceno			0.11	0.10
94			Octadecano	0.35		0.35	
99	2110.78		Nonadecano	0.28	0.19	0.32	0.07
94	2210.76		Heneicosano	0.91	0.14	1.76	
98	2399.70		10-metileicosano		0.16		
95	2499.47		Eicosano	0.47	0.24		
83			(E,Z)-1,3,12-nonadecatrieno	0.73			
80	2110.48		Octacosano			2.22	
97	2207.16		Tetracosano			3.98	
93			Triacontano			2.65	
Monoterpenos							
97	939.59	938	1S-α-pineno		0.21		
80	979.03		(1S,3S,6R)-(-)-4-careno	0.06			
91	979.14		β-thujeno		0.82		
97	1030.30	1030	p-cimeno		0.38		
94	1034.63		D-limoneno	0.53	0.17	1.01	0.39
99	1038.60	1035.3	Eucaliptol		0.32		
96	1051.32	1040	β-cis-ocimeno		1.08		
96	1064.66	1061.4	γ-terpineno		0.29		
80	1075.36	1058	Mircenol			0.64	
90	1085.53	1021	o-cimeno	0.10			
86	1200.85	1198	α-terpineol		0.18		
94	1212.00	1207.6	Safranal		0.18		
98	1224.93	1204	Levoverbenona		0.35		
89	1235.07	1214	β-ciclocitral			0.11	
94	1251.624	1257	D-carvona	0.05			
91	1275.93	1261.3	β-ciclohomocitral	0.12		0.18	
94	1308.33	1304	Carvacrol		7.11		
94	1318.52	1332.2	p-timol		1.36		
94	1359.11	1338	1,5,5,trimetil-6-metilenciclohexeno		0.51		
Sesquiterpenos							
91	1358.96		Elixeno	0.25			
86	1371.07		Cadin-1,4-dieno	0.10			
95	1378.15	1355	Dehidro-ar-ioneno			0.54	

99	1396.26	1391	Ylangeno		0.09		
98	1400.74	1394	Copaeno	0.52			
98	1401.11	1400	α-cubebeno	0.43	1.10		
83	1432.47	1491	β-himachaleno	0.09			
91	1437.79	1434.2	α-gurjuneno	0.07	0.10		
94	1445.13	1444	(-)-α-cedreno	0.09	0.33		
99	1452.82	1451	β-cariofileno	4.48	11.88		
94	1458.72	1498.7	(+)-Epi-biciclosesquifelandreno	0.66	2.26		
91	1463.38	1519	β-sesquifelandreno		0.18		
97	1470.10	1471	(E)- β-farneseno	1.18	1.83		
94	1473.55	1476	Germacreno D	0.15	0.42		
97	1485.36	1488	α-cariofileno		3.38		
99	1492.23	1468	Aloaromadendreno		1.04		
99	1503.22	1485	α-curcumeno	3.55	6.33		
97	1489.40		1,5,9,9-tetrametil-(Z,Z,Z)-1,4,7,-Cicloundecatrieno	0.42			
94	1501.40	1473	Aloaromadendreno	0.37			
92	1510.91	1419	β-cubebeno	0.23	1.14		
94	1513.44	1495	δ-curcumeno	0.86	0.91		
99	1517.17	1517	α-selineno		0.13		
90	1526.02	1533	β-bisaboleno	0.27	0.69		
97	1539.92		α-muuroleno	0.51	4.96		
91	1539.38	1410	α-cedreno	0.38			
81	1543.15	1440	β-gurjuneno	0.12			
94	1546.02	1541	δ-cadineno	1.33			
92	1556.74	1410	di-epi-α-cedreno		0.24		
83	1561.24		1,2,4a,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-, [1R-(1a,4aa,8aa)]Naphthalene,		0.51		
90	1575.38	1570	β-neridol		1.15		
93	1601.22	1592	Davanona		4.25		
95	1607.13	1605	(+)-Espatulenol	1.08	1.83		
89	1611.32	1613	Óxido de cariofileno	0.91	3.55		
90	1637.79	1477	g-muuroleno		0.75		
83	1648.88	1473	(+)-g-gurjuneno		0.39		
83	1666.61	1504	β-guaieno	0.09			
89	1667.15	1502	Epizonareno		1.62		
91	1671.75		α-elemeno	0.63			
95	1672.20	1524	Cadin-1,4-dieno		1.46		
90	1676.415	1619	(-)-Espatulenol				0.43
Diterpenos							
98	1199.74		Bacchotricuneatina c			0.56	

93	1728.39	1811	2,6,10,14-tetrametil-hexadecano	0.21		
91			3,7,11,15-tetrametil-[R-[R*,R*-(E)]]-2-hexadeceno	0.14		
93			(E,E)-7,11,15-trimetil-3-metilen-hexadeca-1,6,10,14-tetraeno	0.58		
89	2047.84	2201.2	trans-geranilgeraniol		0.24	
94	2136.60	2128	Fitol	13.2	5.13	
Triterpenos						
89	2084.26	2847.1	Escualeno			4.44

11. BIBLIOGRAFÍA

Abdel—Sattar E, Maes L, Mahmoud SM. *In vitro* activities of plant extracts from Saudi Arabia against Malaria, Leishmaniasis, Sleeping Sickness and Chagas Disease. Phytother Res **2010**; 24: 1322—1328.

Abukabar EM. The use of *Psidium guajava* Linn. in treating wound, skin and soft tissue infections. Sci Res Essays **2009**; 4: 605—611.

Akendengue B, Roblot F, Loiseau PM, Bories C, Ngou–Milama E, Laurens A, Hocquemiller R. Klaivanolide antiprotozoal lactone form *Uvaria Klaineana*. Phytochemistry **2002**; 59: 191–194.

Alasaad S. War diseases revealed by social media: massive leishmaniasis outbreak in the Syrian Spring. Parasites & Vectors **2013**; 6: 1–3.

Alitonouu G, Avlessi F, Bokossa I, Ahoussi E, Dangou J, Sohounhloué CKD. Composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle de *Lantana camara* Linn. C. R. Chimie **2004**; 7: 1101–1105.

Al—Musayeib NM, Mothana RA, Al—Massarani S, Matheeussen A, Cos P, Maes L. Study of the *in vitro* amtiplasmodial, antileishmanial and antitrypanosomal activities of medicinal plants from Saudi Arabia. Molecules **2012**; 17: 11379—11390.

Alanís—Garza BA, González—González GM, Salazar—Arana R, Waksman de Torres N, Rivas—Galindo VM. Screening of antifungal activity of plants from the northeast of Mexico. J Ethnopharmacol **2007**; 114: 468—471.

Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, Jannin J, den Boer M, the WHO leishmaniaisi control team. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PLoS ONE **2012**; 7: e35671.

Alvar J, Croft S, Kaye P, Khamesipour A, Sundar S, Reed SG. Case study for a vaccine against leishmaniasis. Vaccine 31S **2013**; B244—B249.

Andrade—Cetto A y Heinrich M. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. J Ethnopharmacol **2005**; 99: 325–348.

Arash O, Hossein AN, Mahmood G. *Prosopis farcta* beans increase HDL colesterol and decrease LDL colesterol in ostriches (*Struthio camelus*). Trop Anim Health Prod **2013**; 45: 431—434.

Atawodi SE, Ameh DA, Ibrahim S, Andrew JN, Nzelibe HC, Onyike EO, Anigo KM, Abu EA, James DB, Njoku GC, Sallau AB. Indigenous knowledge system from treatment of tripanosomiasis in Kaduna state of Nigeria. J Ethnopharmacol **2002**; 79: 279—282.

Atti dos Santos AC, Rossato M, Agostini F, Atti Serafini L, dos Santos PL, Molon R, Dellacassa E, Moyna P. Chemical composition of the essential oils from leaves and fruits of *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi from Southern Brazil. Journal of Essential Oil Bearing Plants **2009**; 12: 16—25.

Baldim ZJL, de Carvalho BA, Salles MP, dos Santos MH, Lago JHG, Sartorelli P, Viegas C, Soares MG. The genus *Caesalpinia* L. (Caesalpiniaceae): Phytochemical and pharmacological characteristics. Molecules **2012**; 17: 7887—7902.

Barre JT, Bowden BF, Coll JC, De Jesus J, De la Fuente VE, Janairo GC, Ragasa CY. A bioactive triterpene from *Lantana camara*. Phytochemistry **1997**; 45: 321–324.

Bañuls AL, Hide M y Prugnolle F. *Leishmania* and the leishmaniases: A parasite genetic update and advances in taxonomy, epidemiology and pathogenicity in humans. Adv Parasitol **2007**; 1–113.

Beattie L **y Kaye** PM. *Leishmania*-host interactions: what has imaging taugh us?. Cellular Microbiology **2011**; 13: 1659—1667.

Begum S, Ayub A, Zehra SQ, Siddiqui BS, Choudhary MI, Samreen. Leishmanicidal triterpenes from *Lantana camara*. Chemistry & Biodiversity **2014**; 11: 709—718.

Braga FG, Bouzada MLM, Fabri RL, de O. Matos M, Moreira FO, Scio E, Coimbra ES. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. J Ethnopharmacol **2007**; 111: 396—402.

Bragg LH, Bacon JD, McMillan C, Mabry TJ. Flavonoid patterns in the *Prosopis juliflora* complex. Biochemical Systematics Ecology **1978**; 6: 113—116.

Calzada F, Cedillo—Rivera R, Mata R. Antiprotozoal activity of the constituents of *Conyza filaginoides*. J Nat Prod **2000**; 64: 671—673.

Calzada F, Yépez—Mulia L, Aguilar A. *In vitro* susceptibility of *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* to plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. J Ethnopharmacol **2006**; 108: 367—370.

Calzada F, Yépez—Mulia L, Tapia—Contreras A. Effect of Mexican medicinal plants used to treat trichomoniasis on *Trichomonas vaginalis* trophozoites. J Ethnopharmacol **2007**; 113: 248—251.

Camacho MdR, Phillipson JD, Croft SL, Solis PN, Marshall SJ, Ghazanfar SA. Screening of plant extracts for antiprotozoal and cytotoxic activities. J Ethnopharmacol **2003**; 89: 185—191.

CDC (Control Diseases Center). Leishmaniasis. **2013** [Consultado el 9 de Julio de 2013]. Disponible en línea en: http://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/index.html

Census. Leishmaniasis. **2015** [Consultado el 9 de Julio de 2013]. Disponible en línea en: http://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/index.html

Chan K, Islam MW, Kamil M, Radhakrishnan R, Zakaria MNM, Habibullah M, Attas A. The analgesic and anti—inflammatory effects of *Portulaca oleracea* L. subp. *sativa* (Haw.) Celak. J Ethnopharmacol **2000**; 73: 445—451.

Chávez LS. Leishmaniasis en México. Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades (CENAVECE), **2012** [Consultado el 9 de Julio de 2013]. Disponible en línea en: http://www.cenavece.salud.gob.mx/indre/interior/leishmaniasis_en_mexico.html

Chiang LC, Chiang W, Liu MC, Lin CC. *In vitro* antiviral activities of *Caesalpinia pulcherrima* and its related flavonoids. J Antimicrob Chemother **2003**; 52: 194—198.

Cornejo—Garrido J, Chamorro—Cevallos GA, Garduño—Siciliano L, Hernández—Pando R, Jiménez—Arellanes MA. Acute and subacute toxicity (28 days) of a mixture of ursolic acid and oleanolic acid obtained from *Bouvardia ternifolia* in mice. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas **2012**; 11: 91—102.

Cota BB, Menezes DOD, Pessoa DSE, Souza—Fagundes EM, Pimenta AMC, Santos DM, Rabello A, Zani CL. New cassanes diterpenes from *Caesalpinia echinata*. Fitoterapia **2011**; 82: 969—975.

Dash GK, Suresh P, Ganapaty S. Studies on hypoglycaemic and wound healing activities of *Lantana camara* Linn. Journal of Natural Remedies, **2001**; 1: 105—110.

De Jesús—Gabino AF, Mendoza—de Gives P, Salinas—Sánchez DO, López—Arellano ME, Liébano—Hernández E, Hernández—Velázquez VM, Valladares—Cisneros G. Anthelmintic effects of *Prosopis laevigata* n-hexanic extract against *Haemonchus contortus* in artificially infected gerbils (*Meriones unguiculatus*). J Helminthol **2010**; 84: 71—75.

De Sousa MF, Mattos MAB, Siqueira RH, Machado KR, Sheridan H, Frankish N. Hypoglycemic activity of two Brazilian *Bauhinia* species *Bauhinia forficate* L. and *Bauhinia monandra* Kurz. Braz J Pharmacogn **2007**; 17: 08—13.

den Boer M, Argaw D, Alvar J. Leishmaniasis impact and treatment access. Clinical Microbiology and Infection **2011**; 17: 1471—1477.

Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. CIMID, **2004**; 27: 305—318.

Dewick PM. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. 2ª Edición. John Wiley & Sons. Gran Bretaña. **2002**: 167.

Dkhil MA, Abdel MAE, Al—Quraishy S, Awadallah SR. Antioxidant effects of purslane (*Portulaca oleracea)* and its mechanism of action. J Med Plant Res **2011**; 5: 1589—1593.

Dongmo AB, Nguelefack T, Lcaille—Dubois MA. Antinociceptive and anti—inflammatory activities of *Acacia pennata* wild (Mimosaceae). J Ethnopharmacol **2005**; 98: 201—206.

Durst HD **y Gokel** GW. Química Orgánica Experimental. 1ª Edición. Editorial Reverté, España. **2007**: 110.

El-Baroty GS, Goda HM, Khalifa EA, Abd El Baky HH. Antimicrobial and antioxidant activities of leaves and flowers essential oils of Egyptian *Lantana camara* L. Der Pharma Chemica **2014**; 6: 246—255.

Eldeen IMS, Van Heerden FR, Van Staden J. *In vitro* biological activities of niloticane, a new bioactive cassane diterpene from the bark of *Acacia nilotica* susp. *kraussiana*. J Ethnopharmacol **2010**; 128: 555—560.

Gachet MS, Salazar LJ, Kaiser M, Brun R, Navarrete H, Muñoz RA, Bauer R, Schüly W. Assessment of anti—protozoal activity of plants traditionally used in the treatment of leishmaniasis. J Ethnopharmacol **2010**; 128: 184—197.

Gallego A, Torres F, Robledo S, Vélez ID, Carrillo L, Muñoz DL, Quiñones W, Fonnegra R, Roldán J, Valencia L, Triana O, Echeverri F. Actividad leishmanicida y tripanocida de *Acacia farnesiana, Piper arieianum, P. subpedale, Sphangum recurvum* y *Vismia baccifera ferruginea.* Actual Biol **2006**; 84: 39—49.

García S, Alarcón G, Rodríguez C, Heredia N. Extracts of *Acacia farnesiana* and *Artemisia ludoviciana* inhibit growth, enterotoxin production and adhesion of *Vibrio cholerae.* World Journal of Microbiology & Biotechnology **2006**; 22: 669—674.

García AF, Medeiros CDH, Maioli MA, Lima MC, Rocha BA, da Costa FV, Curti C, Groppo M, Mingatto FE. Comparative effects of lantadene A and its reduced metabolite on mitochondrial bioenergetics. Toxicon **2010**; 55: 1331–1337.

García M, Monzote L, Scull R, Herrera P. Activty of Cuban plants against *Leishmania amazonensis*. ISRN Pharmacology **2012**: 1–7.

García—Andrade M, González—Laredo RF, Rocha—Guzmán NE, Gallego—Infante JA, Rosales—Castro M, Medina—Torre L. Mesquite leaves *(Prosopis laevigata)*, a natural source with antioxidant and cardioprotection potential. Industrial Crops and Products **2013**; 44: 336—342.

Ghatee MA, Sharifi I, Haghdoost AA, Kanannejad Z, Taavody Z, Hatam G, Abdollahipanah A. Spatial correlations of population and ecological factors with distribution of visceral leishmaniasis cases in southwestern Iran. J Vector Borne Dis **2013**; 50: 179–187.

Getti G, Durgadoss P, Domínguez CD, Martín QZ, Peraza SS, Peña RLM, Humber D. Leishmanicidal activity of Yucatecan medicinal plants on *Leishmania* species responsible for cutaneous leishmaniasis. J Parasitol **2009**; 95: 456–460.

Ghisalberti EL. *Lantana camara* L. (Verbenaceae). Fitoterapia **2000**; 71: 467—486.

Giday M, Teklehaymanot T, Animut A, Mekonnen Y. Medicinal plants of the Shinasha, Agew—awi and Amhara peoples in northwest Ethiopia. J Ethnopharmacol **2007**;110: 516—525.

González—Teuber M, Pozo MJm Muck A, Svatos A, Adame—Álvarez RM y Heil M. Glucanases and chitinases as causal agents in the protection of *Acacia* extrafloral nectar from infestation by phytopathogenes. Plant Physiol **2010**; 152: 1705—1715.

Gutiérrez PRM, Mitchell S, Vargas SR. *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. J Ethnopharmacol **2008**; 117: 1—27.

Heil M, Staehelin C y McKey D. Low chitinase activity in *Acacia mymercophytes*: a potential trade—off between biotic and chemical defences. Naturwissenschaften **2000**; 87: 555—558.

Heil M, Delsinne T, Hilpert A, Schürkens S, Andary C, Linsenmair E, Sousa M, McKey D. Reduced chemical defence in ant—plants? A critical re—evaluation of a widely accepted hypothesis. OIKOS **2002**; 99: 457—468.

Holum JR. Fundamentos de química general, orgánica y bioquímica para ciencias de la salud. 2ª Edición. Limusa Wiley. México. **2009**.

Hotez PJ, Molyneux DH, Fenwick A, Kumaresan J, Ehrlich SS, Sachs JD, Savioli L. Control of Neglected Tropical Diseases. N Engl J Med **2007**; 357: 1018—1027.

IBT (Instituto de Biotecnología, UNAM). Cromatografía de gases. **2015** [Consultado el 15 de junio de 2015]. Disponible en línea en: http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/cromatografia_de_gases.pdf

IICA, Institute for International Cooperation in Animal Biologics. Leishmaniasis (cutánea y visceral). The Center for Food Security & Public Health **2010**; 1–13.

ILN (International Leishmania Network). Leishmania Taxonomy. **2013** [Consultado el 26 de Septiembre de 2013]. Disponible en línea en: http://leishnet.net/site/

Ibrahim M, Nadir M, Ali A, Ahmad VU, Rasheed M. Phytochemical analyses of *Prosopis juliflora* Swartz DC. Pak J Bot **2013**; 45: 2101–2104.

Ivens AC *et al*. The genome of kinetoplastid parasite *Leishmania major*. Science **2005**; 309: 436–442.

Jolad SD, Hoffmann JJ, Torrance SJ, Wiedhopf RM, Cole JR, Arora SK, Bates RB, Gargiulo RL, Kriek GR. Bouvardin and Deoxybouvardin, antitumor cyclic hexapeptides from *Bouvardia ternifolia* (Rubiaceae). J Am Chem Soc **1977**; 99: 8040—8044.

Kamhawi S. Phlebotomine sand flies and *Leishmania* parasites: friends or foes?. TRENDS in Parsitology **2006**; 22: 439—445.

Khazir J, Ahmad MB, Ahmad MS, Cowan D. Natural products as lead compounds in drug discovery. Journal of Asian Natural Products Research **2013**; 15: 764—788.

Killick—Kendrick R. Phlebotomine vectors of the leishmaniases: a review. Medical and Veterinary Entomology **1990**; 4: 1—24.

Lainson R. The Neotropical *Leishmania* species: a brief historical review of their discovery, ecology and taxonomy. Rev Pan—Amaz Saude **2010**; 1: 13—32.

Luize PS, Tiuman TS, Morello LG, Maza PK, Ueda—Nakamura T, Dias FBP, Garcia CDA, Palazzo de Mello JC, Nakamura CV. Effects of medicinal plant extracts on growth of *Leishmania (L.) amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. Braz J Pharmaceutical Sci **2005**; 41: 85—94.

Machado R, Júnior WV, Lesche B, Coimbra ES, de Souza NB, Abramo C, Soares GLG, Kaplan MAC. Essential oil from leaves of *Lantana camara* a potential source of medicine against leishmaniasis. Braz J Pharmacogn **2012**; 22: 1011—1017.

Mahato SB, Sahu N, Roy SK, Sharma OP. Potential antitumor agents from *Lantana camara*: Structures of flavonoid, and phenylpropanoid glycosides. Tetrahedron **1994**; 50: 9439—9446.

Manguro L, Ogur J, Opiyo S. Antimicrobial activity of constituents of *Conyza floribunda*. WebMed Central **2010**; 1:1—11.

Manjili HK, Jafari H, Ramazani A, Davoudi N. Anti—leishmanial and toxicity activities of some selected Iranian medicinal plants. Parasitol Res **2012**; 111: 2115—2121.

Márquez AC, Lara OF, Esquivel RB y Mata ER. Plantas medicinales de México II: Composición, Usos y Actividad Biológica. UNAM. **1999**: 29—30.

Martínez PA **y Petersen** CA. Chronic infection by *Leishmania amazonensis* mediated through MAPK ERK mechanisms . Immunol Res **2014**; 59: 153—165.

Mata R, Rojas A, Acevedo L, Estrada S, Calzada F, Rojas I, Bye R, Linares E. Smooth muscle relaxing flavonoids and terpenoids from *Conyza filaginoides*. Planta Med **1997**; 63: 31—35.

Matlashewski G. Leishmania infection and virulence. Med Microbiol Immunol **2001**; 190: 37—42.

Mello FB, Jacobus D, Carvalho, Mello JRB. Effects of *Lantana camara* (Verbenaceae) on general reproductive performance and teratology in rats. Toxicon **2005**; 45: 459—466.

Mishra BB, Kale RR, Prasad V, Tiwari VK, Singh RK. Scope of natural products in fighting against leishmaniasis. Res Signpost **2011**; 37: 121–154.

Misra L **y Laatsch** H. Triterpenoids, essential oil and photo-oxidative 28→13-lactonization of oleanolic acid from *Lantana camara*. Phytochemistry **2000**; 54: 969–974.

Molina—Garza JZ, Bazaldúa—Rodríguez AF, Quintanilla—Licea R, Galaviz—Silva. Anti—*Trypanosoma cruzi* activity of 10 medicinal plants used in northeast Mexico. Acta Tropica **2014**; 136: 14–18.

Monge—Maillo B, Norman FF, Cruz I, Alvar J, López—Vélez R. Visceral leishmaniasis and HIV coinfection in the Mediterranean Region. PLoS Neglected Tropical Diseases **2014**; 8: e3021.

Montalvo AAM. Leishmaniasis: Aspectos de interés sobre un parasitismo exótico para Cuba. Rev Cubana Hig Epidemiol **2010**; 48: 78—81.

Montalvo AAM, Fraga, J, Monzote L, García M, Fonseca L. Diagnóstico de la leishmaniasis: de la observación microscópica del parásito a la detección del ADN. Rev Cubana Med Trop **2012**; 64: 108—131.

Monzote L, García M, Pastor J, Gil L, Scull R, Maes L, Cos P, Gille L. Essiential oil from *Chenopodium ambrosioides* and main components: Activity against *Leishmania*, their mitochondria and other microorganisms. Infection **2014**; 136: 20–26.

Mosimann V, Neumayr A, Hatz C, Blum JA. Cutaneous leishmaniasis in Switzerland: first experience with species-specific treatment. Infection **2013**; 41: 1177–1182.

Murray HW. Clinical and experimental advances in treatment of visceral leishmaniasis. Antimicrob Agents Chemother **2001**; 45: 2185–2197.

Musuyu MD, Fruth BI, Nzuzu LJ, Mesia GK, Kambu OK, Tona GL, Cimanga KR, Cos P, Maes L, Apers S, Pieters L. *In vitro* antiprotozoal an cytotoxic activity of 33 ethnopharmacologically selected medicinal plants from Democratic Republic of Congo. J Ethnopharmacol **2012**; 14: 301—308.

Nakano H, Nakajima E, Hiradate S, Fujii Y, Yamada K, Shigemori H. Anti—leishmanial and immunomodulatory activities of extracts from *Portulaca hirsutissima* and *Portulaca werdermannii*. Fitoterapia **2004**; 78: 510—514.

Oliveira CJF, Costa KA, Pereira dLDJ, Maurício DJ, Giulietti AM, Paganucci dQL, Riveiro dSR, Botelho PSM. Anti—leishmanial and immunomodulatory activities of extracts from *Portulaca hirsutissima* and *Portulaca werdermannii*. Fitoterapia **2007**; 78: 510—514.

Pastor—Santiago JA, Chávez—López S, Guzmán—Bracho C, Flisser A, Olivo—Díaz A. American Visceral Leishmaniasis in Chiapas, Mexico. Am J Trop Med Hyg **2012**; 66: 108—114.

Perrone BMJ, Sampaio GCE, de Oliveira APAL, Bittencourt MFD, Sampaio TVP. Advances in development of new treatment for leishmaniasis. BioMEd Research International **2015**: 1—11.

Rahman AA, Samoylenko V, Jacob MR, Sahu R, Jain SK, Khan SI, Tekwani B, Muahammad I. Antiparasitic and antimicrobial indolizidines from the leaves of *Prosopis glandulosa* var. *glandulosa*. Planta Med **2011**; 77: 1639—1643.

Ranjbar—Heidari A, Khaiatzadeh J, Mahdavi—Shahri N, Tehranipoor M. The effect of fruit pod powder and aquatic extract of *Prosopis farcta* on healing cutaneous wounds in diabetic rat. Zahedan J Res Med Sci **2011**; 14: 16—20.

Randrianalijaona JA, Ramanoelina PAR, Rasorahona JRE, Gaydou EM. Seasonal and chemotype influences on the chemical composition of *Lantana*

camara L. Essential oils from Madagascar. Analytica Chimica Acta **2005**; 545: 46—52.

Rashed AN, Afifi FU, Disi AM. Simple evaluation of the wound healing activity of a crude extract of *Portulaca oleracea* L. (growing in Jordan) in *Mus musculus* JV—1. J Ethnopharmacol **2003**; 88: 131—136.

Ready PD. Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents. Annu Rev Entomol **2013**; 58: 227—250.

Riojas RH y **González** CL. El que a buen árbol se arrima… Uso popular de plantas medicinales en 6 regiones de México. PRODUSSEP, A. C. (Promoción De Servicios de Salud y Educación Popular), **1994**: 64.

Robles—Zepeda RE, Coronado—Aceves EW, Velázquez—Contreras CA, Ruiz—Bustos E, Navarro—Navarro M, Garibay—Escobar A. *In vitro* anti—mycobacterial activity of nine medicinal plants used by ethnic groups in Sonora, Mexico. BMC Complementary & Alternative Medicine **2013**; 13: 329—334.

Rossiere—Echazarreta NL, Rodríguez—Campos EA, Morales—Esponda M, Domínguez—Moreno R, Cruz—Ortiz M, Rodríguez—Guzmán LM. Leishmaniasis visceral en un paciente VIH positivo. Rev Med Inst Mex Seguro Soc **2013**; 51: 222—227.

Roychoudhury J, Sinha R, Ali N. Therapy with sodium stibogluconate in stearylamine-bearing liposomes confer cure against SSG-resistant *Leishmania donovani* in BALB/c mice. PLoS ONE **2011**; 6: e17376.

Sakai N, Inada K, Okamoto M, Shizuri Y, Fukuyama Y. Portuloside A, a monoterpene glucoside from *Portulaca oleracea*. Phytochemistry **1996**; 42: 1625—1628.

Salinas—Sánchez DO, Arteaga—Nájera GL, León—Rivera I, Dorado—Ramírez O, Valladares—Cisneros MG, Navarro—García VM. Antimicrobial activity of medicinal plants from the Huautla Sierra Biosphere Reserve in Morelos (México). Polibotánica **2013**; 28: 213—225.

Samoylenko V, Ashfaq MK, Jacob MR, Tekwani BL, Khan SI, Manly SP, Joshi VC, Walker LA, Muhammad I. Indolizidine, antiinfective and antiparasitic

compounds from *Prosopis glandulosa* var. *glandulosa*. J Nat Prod **2009**; 72: 92—98.

Schönian G, Cupolillo E, Mauricio I. Molecular evolution and phylogeny of *Leishmania*. En: Ponte—Sucre A *et al,* Springer—Verlag: Drug Resistance in Leishmania Parasites **2013**; 15–44.

Sefidkon F. Essential oil of *Lantana camara* L. occurring in Iran. Flavour Fragr J **2002**; 17: 78—80.

Shah NA, Khan MR, Madhman A. Antileishmanial, toxicity and phytochemical evaluation of medicinal plants collected from Pakistan. BioMEd Research International **2014**: 1—7.

Sharma OP, Sharma S, Pattabhi V, Mahato SB, Sharma PD. A review of the hepatotoxic plant *Lantana camara*. Critical Reviews in Toxicology **2007**; 37: 313—352.

Sharma OP **y Dawra** RK. Thin—layer chromatographic separations of lantadenes, the pentacyclic triterpenoids from (*Lantana camara*) plant. Journal of Chromatography **1991**; 587: 351—354.

Siddiqui BS, Raza SM, Begum S, Siddiqui S, Firdous S. Pentacyclic triterpenoids from *Lantana camara*. Journal of Natural Remedies. Phytochemistry **1995**; 38: 681—685.

Simionato E, Chagas MO, Peres MTL, Hess SC, da Silva CB, Ré-Poppi N, Gebara SS, Corsino J, Farias—Morel A, Stuker CZ, Matos MFC, de Carvalho JE. Chemical composition and biological activities of leaves essential oil from *Schinus molle* (Anacardiaceae). Journal of Essential Oil Bearing Plants **2011**; 14: 590—599.

Singh N, Mishra BB, Bajpai S, Singh RK, Tiwari VK. Natural products based leads to fight leishmaniasis. Bioorganic & Medicinal Chemistry **2014**; 22: 18—45.

Soares DC, Portella NA, Freiman dSRM, Siani AC, Saraiva EM. Trans-β-caryophyllene: An effective antileishmanial compound found in commercial copaiba oil (*Copaifera* spp.). Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine **2013**: 1—14.

Sousa EO **y Costa** JGM. Genus *Lantana*: Chemical aspects and biological activities. Braz J Pharmacogn **2012**; 22: 1155—1180.

Srinivas KVNS, Koteswara RY, Mahender I, Biswanath D, Rama KKVS, Hara KK, Murty USN. Flavonoids from *Caesalpinia pulcherrima*. Phytochemistry **2003**; 63: 789—793.

Sundar S **y Chakravarty** J. Antimony toxicity. Int J Environ Res Public Health **2010**; 7: 4267—4277.

Tapia A, Egly—Feresin G, Bustos D, Astudillo L, Theoduloz C, Schmeda—Hirschmann G. Biologically active alkaloids and a free radical scavenger from *Prosopis* species. J Ethnopharmacol **2000**; 71: 241–246.

Tay ZJ, Velasco CO, Lara AR, Gutiérrez QM. Parasitología Médica. 7ª Edición. Méndez Editores. DF, México. **2007**: 147—166.

Tiuman TS, Santos AO, Ueda–Nakamura T, Dias FBP, Nakamura CV. Recent advances in leishmaniasis treatment. Int J Infect Dis **2011**; 15: e525–e532.

UNAM, Universidad Nacional Autónoma de México: Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/ **2013**.

Van Den Dool H y Kratz PD. A generalization of retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. J Chromatogr **1963**; 11: 463–471.

Villagrán ME. Manual de Parasitología.Querétaro, México. **2011**: 30.

Wagner H **y Bladt** S. Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas. 2nd Edition. Springer. Germany. **2001**: 359—364.

Weiss Fritz R. Weiss's Herbal Medicine. 1ª Edición. Georg Thieme Verlag. Stuttgart, Alemania. **2001**: 46, 91, 236.

WHO, World Health Organization. Leishmaniasis: Burden of disease, **2013** [consultado 2013 julio 10]. Disponible en: http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/.

Xiang L, Xing D, Wang W, Wang R, Ding Y, Du L. Alkaloids from *Portulaca oleracea* L. Phytochemistry **2005**; 10: 2595—2601.

Xiao—Long Y, Kun—Lung H, J—Kai L. Diguajadial: A dimer of the meroterpenoid from the leaves of *Psidium guajava* (Guava). Chinese Journal of Natural Medicine **2008**; 6: 0333—0335.

Youngwan S, Jongheon s, Hyo JC, You—Ah K, Jong—Woong A, Burm—Jong Lee, Dong SL. A new monoterpene glucoside from *Portulaca oleracea*. Bull Korean Chem Soc **2003**; 10: 1475—1477.

Zahir AA, Rahuman AA, Kamaraj C, Bagavan A, Elango G, Sangaran A, Kumar BS. Laboratory determination of efficacy of indigenous plant extracts for parasites control. Parasitol Res **2009**; 105: 453—461.

12. ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AELc	Aceite esencial de *Lantana camara*
ARN	Ácido Ribonucleico
ATP	Adenín Trifosfato

CDC	Centro de Control de Enfermedades
CC_{50}	Concentración Citotóxica Media
CI_{50}	Concentración Inhibitoria Media
CI_{90}	Concentración Inhibitoria 90
CL_{50}	Concentración Letal Media
CMI	Concentración Mínima Inhibitoria
CMB	Concentración Mínima Bactericida
DAT	Test de Aglutinación Directa
DCM	Diclorometano
DCM/MeOH	Diclorometano/Metanol
DEET	N,N-dietilmetatoluamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
EI	Impacto Electrónico
ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
ETD	Enfermedades Tropicales Desatendidas
G8	Grupo de los ocho
gp63	Glicoproteína 63
GTP	Guanosín Trifosfato
HSV	Virus del Herpes Simple
IFI	Inmunofluorescencia indirecta
IFN-γ	Interferón gamma
IL	Interleucina
IS	Índice de Selectividad
LC	Leishmaniasis cutánea
LCR	Leishmaniasis cutánea recidivante
LD	Leishmaniasis difusa
LDPK	Leishmaniasis dérmica post-Kala-azar
LMC	Leishmaniasis mucocutánea
LPG	Lipoproteoglicanos

Lvet	Leishmaniasis veterinaria
MEXU	Herbario Nacional del Instituto de Biología de la UNAM
MHC-II	Complejo mayor de histocompatibilidad clase II
msnm	metros sobre el nivel del mar
MTT	Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio
NM	Nuevo mundo
NR	No Reportado
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
PPGs	Proteofosfoglicanos
PSG	Gel Secretorio de Promastigotes
rK39	Antígeno rK39
RIHS	Rociado Residual de Insecticida en Casas
SIDA	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
spp.	*Species pluralis*
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
VIH	Virus de Inmunodeficiencia Humana
VM	Viejo Mundo