

Universidad Autónoma de Querétaro

---

---

Facultad de Química

*Evaluación Cualitativa de  
la actividad antimicrobiana  
de veinte especies vegetales  
utilizadas en la medicina  
tradicional mexicana*

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
Químico Farmacéutico Biólogo

PRESENTA

*Adriana Alejandra Ardisson Quijano*

Querétaro, Qro. 1993

No. Reg. H53673

TS

Clas. 576.163

A676e

ESTA TESIS ESTA DEDICADA:

A DIOS.

Por ser la torre fuerte en la cual está apoyada mi vida, por permitirme llegar al logro de esta meta.

A MIS PADRES.

EDUARDO ARDISSON HERRERA Y RAQUEL QUIJANO SIERRA  
Por motivarme siempre hacia la superación, por ser siempre un firme apoyo, porque han dado su mayor esfuerzo a fin de ver culminada esta meta.

A MIS HERMANAS.

VERO, LIZ Y DEBY.

Por tener siempre palabras de aliento; porque más que hermanas, somos amigas.

A ARMANDO.

Por su gran paciencia, respaldo y amor.

A MIS ABUELOS Y TIOS.

Porque de una u otra forma han tenido parte en  
mi formación.

A MIS AMIGOS.

ADRIANA, MELINA, FRESIA, CARLOS Y FILIBERTO.

Por estar conscientes de que " La amistad es una  
dulce responsabilidad, nunca una oportunidad ".

A MIS MAESTROS.

Los que desde mi infancia me inculcaron que la  
dedicación y el amor al estudio siempre producen  
frutos.

AGRADECIMIENTOS:

A LA M.C. ALEJANDRA ROJAS MOLINA.

Por su asesoría y apoyo en la realización de mi tesis.

A LA M.C. VALENTINA SERRANO.

Coordinadora del Herbario de Querétaro.

AL Q.B. SERGIO PACHECO.

Cóordinador del Area de Biología de la Facultad de Química de la U.A.Q.

A MIS SINODALES.

Q.F.B. CONCEPCION GARCIA DE PEREZ.

M.C. GUADALUPE GARCIA ALCOCER.

## RESUMEN

En este estudio se realizó la selección de veinte plantas utilizadas como agentes antisépticos en la medicina tradicional de la República Mexicana; estos especímenes fueron el objeto de estudio de un Análisis Preliminar para determinar cualitativamente su capacidad antibiótica; se obtuvieron tres extractos de cada una de las plantas por el método de extracción continua en Soxhlet, se utilizó el método de difusión en agar empleando como reservorios de muestra los pozos. Los microorganismos de prueba fueron representativos Gram positivos (*Staphylóoccus aureus*, *Bacillus subtilis*), Gram negativos (*Pseudomona aeruginosa*, *Escherichia coli*) y una levadura (*Candida albicans*). El control positivo utilizado para las bacterias, fue la Estreptomina (1 mg/ml) y para la levadura fue la Nistatina (3 mg/ml).

Los resultados obtenidos fueron en gran manera satisfactorios, ya que el 73.3% de los extractos presentaron actividad biológica inhibitoria contra los microorganismos de prueba; con base en la información obtenida de bibliografía en relación con los estudios químicos realizados a algunas de las plantas evaluadas, fue posible proponer hipótesis que sugirieran el tipo de metabolitos secundarios responsables de la capacidad antimicrobiana de esas plantas.

## INDICE GENERAL

	Pág.
Introducción . . . . .	1
Antecedentes . . . . .	8
Justificación. . . . .	.23
Objetivo General . . . . .	.25
Objetivos Particulares . . . . .	.25
Metodología . . . . .	.26
1. Selección de Plantas. . . . .	.26
2. Recolección de las plantas y clasificación botánica. . . . .	.26
3. Obtención de los extractos. . . . .	.26
4. Preparación de muestras controles . . . . .	.27
5. Preparación de microorganismos de prueba. . . . .	.27
6. Siembra de microorganismos. . . . .	.29
7. Colocación de las muestras a evaluar en placas de agar previamente inoculadas con los microorganismos de prueba. . . . .	.30
8. Evaluación de la actividad antimicrobiana. . . . .	.30
Resultados. . . . .	.31
Discusión . . . . .	.36

Conclusiones . . . . .	.58
Recomendaciones . . . . .	.58
Bibliografía . . . . .	.59



## INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Pág.

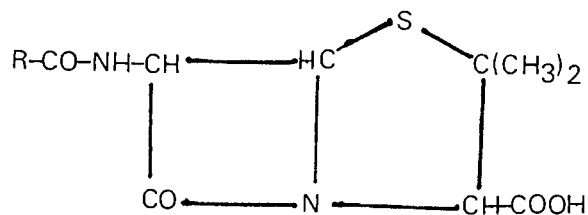
Cuadro #1. Antibióticos de origen bacteriano y fúngico de mayor uso clínico. . . . .	.1
Figura #1. Patrón de descubrimiento de nuevos antibióticos en 1952. . . . .	.5
Figura #2. Patrón de descubrimientos de nuevos antibióticos en 1982. . . . .	.6
Cuadro #2. Especies vegetales utilizadas en la medicina tradicional como agentes antiinfecciosos . . . . .	.9
Cuadro #3. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos de ocho plantas mexicanas. . . . .	.15
Cuadro #4. Estructuras químicas de los compuestos que resultaron activos en la evaluación para la actividad antimicrobiana. .16	
Cuadro #5. Especies vegetales seleccionadas para la evaluación antimicrobiana. . . . .	.24
Cuadro #6. Microorganismos de prueba empleados en la evaluación cualitativa de la actividad antimicrobiana . . . . .	.27
Cuadro #7. Preparación de Patrones de Mc Farland . . . . .	.28

Cuadro #8. Extractos activos contra	
<i>Pseudomona aeruginosa</i> . . . . .	.31
Cuadro #9. Extractos activos contra	
<i>Staphylococcus aureus</i> . . . . .	.32
Cuadro #10. Extractos activos contra	
<i>Bacillus subtilis</i> . . . . .	.33
Cuadro #11. Extractos activos contra	
<i>Candida albicans</i> . . . . .	.35
Cuadro #12. Especies vegetales estudiadas	
fitoquímicamente . . . . .	.40
Cuadro #13. Metabolitos secundarios aisla-	
dos de plantas . . . . .	.45

## INTRODUCCION

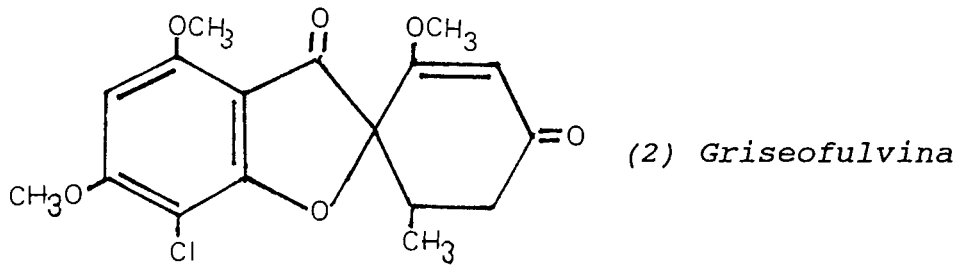
Actualmente el género de medicamentos más empleados en la terapéutica es el de los antibióticos. La gran demanda que estos fármacos tienen así como los problemas de resistencia y toxicidad que presentan, ha propiciado que se busquen rutas alternativas para la obtención de nuevas sustancias con acción antimicrobiana. Hoy en día, la gran mayoría de los antibióticos empleados en la clínica son de origen bacteriano o fúngico. Los ejemplos clásicos de antibióticos de origen fúngico son la (1) Penicilina y (2) Griseofulvina, producidas por el género *Penicillium*. Entre las bacterias productoras de antibióticos es especialmente importante el género **Streptomyces**, pues da origen a compuestos como la (3) tetraciclina, (4) eritromicina, (5) estreptomina, y (6) cloranfenicol (Ver cuadro #1).

**CUADRO #1. Antibióticos de origen fúngico y bacteriano de mayor uso clínico.**

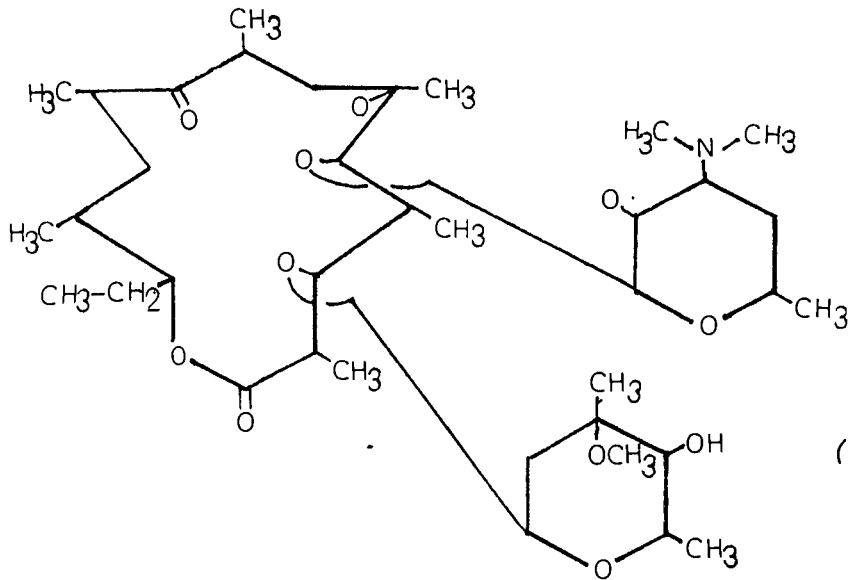
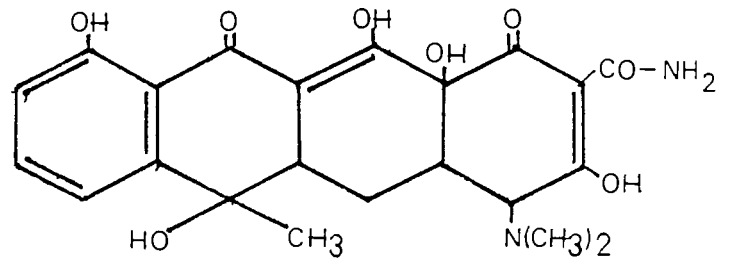


(1) Penicilina

Continuación Cuadro #1



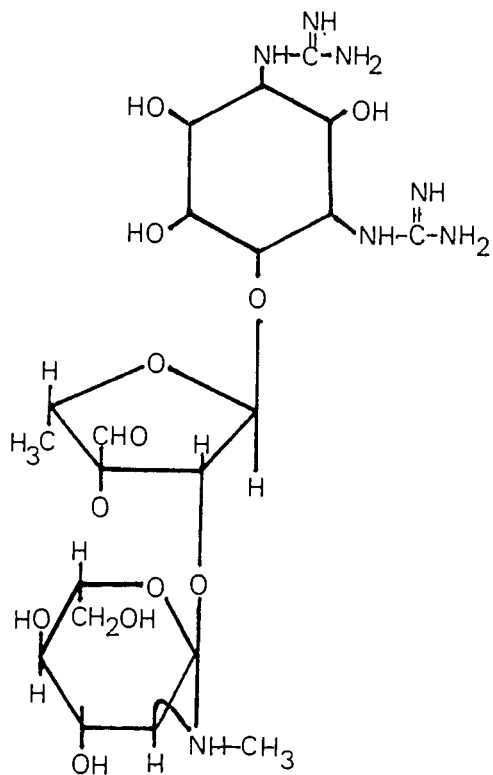
(3) *Tetraciclina*



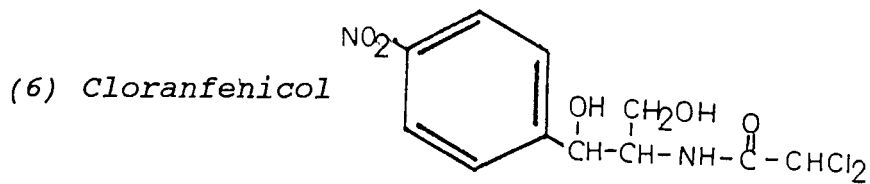
(4) *Eritromicina*

Continuacion cuadro #1

---



(5) *Estreptomicina*



Los antibióticos se han definido clásicamente como compuestos químicos derivados de organismos vivos o producidos por ellos, que son capaces a pequeñas concentraciones, de inhibir los procesos vitales de los microorganismos. Esta definición hecha por Waksman en 1951 (Trease-Evans; 1991) se limitaba a las sustancias producidas por microorganismos, pero en la actualidad debe ampliarse la definición para poder incluir sustancias similares preparadas sintéticamente o producidas por algunas plantas superiores. La tecnología microbiológica actual permite comprobar que los metabolitos secundarios o extractos de plantas superiores de diversos géneros y familias, tienen actividad significativa contra una gran cantidad de microorganismos patógenos inclusive hongos (Trease-Evans, 1991).

Los principios activos de origen vegetal responsables de la actividad antimicrobiana, pertenecen a diversas categorías de metabolitos secundarios tales como alcaloides, cumarinas, bifenilos, cromanos, dehidrofenantrenos, flavonoides, quinonas y saponinas (Mitscher, et al., 1987). Los espectros antimicrobianos de estos productos son más reducidos que los espectros de antibióticos derivados de microorganismos, pero en general sus potencias son bastante buenas (Trease-Evans, 1991).

El aumento del interés de científicos e investigadores por encontrar rutas alternativas para la obtención de

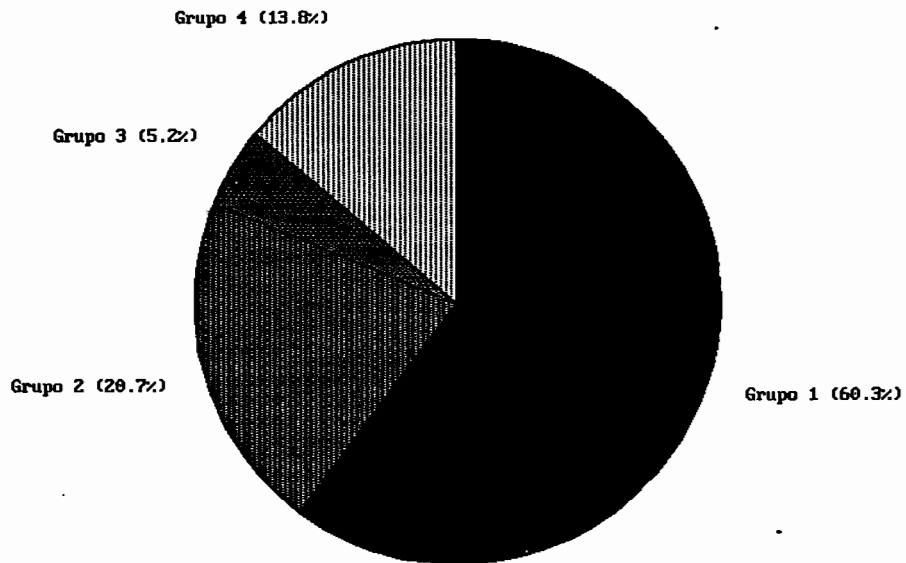
principios activos antimicrobianos, se hace patente en las figuras #1 y #2, en donde resulta notorio el cambio que se presenta en un periodo de 30 años (desde 1952 hasta 1982), respecto a las fuentes de obtención de principios activos antimicrobianos.

**FIGURA #1 Patrón de descubrimiento de nuevos antibióticos en 1952.**

---

---

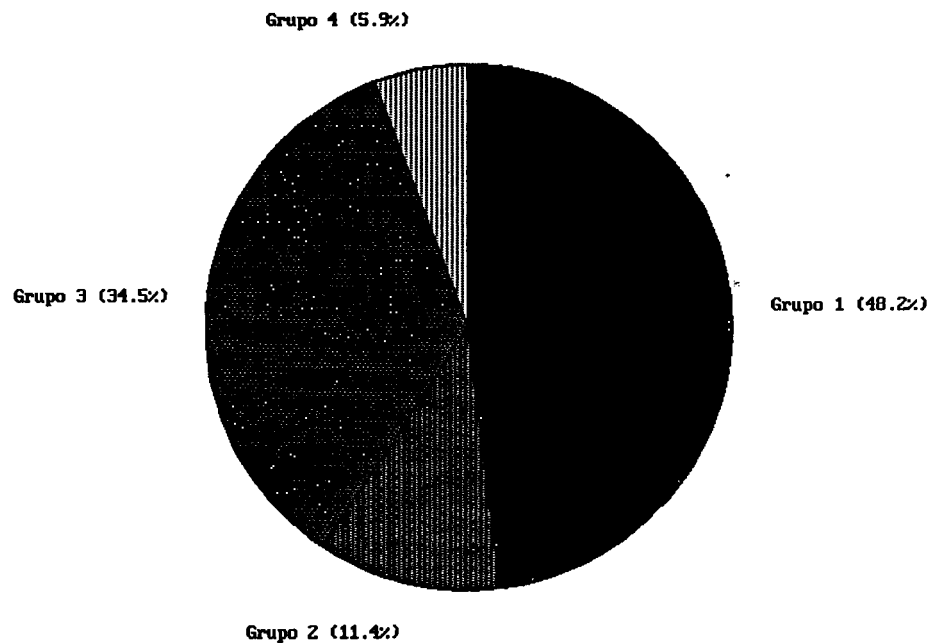
### Porcentaje de descubrimientos 1952



**FIGURA #2 Patrón de descubrimiento de nuevos antibióticos en 1982.**

---

**Porcentaje de descubrimientos 1982**



*Grupo 1: Antibióticos derivados de Streptomyces.*

*Grupo 2: Antibióticos derivados de hongos.*

*Grupo 3: Otras fuentes.*

*Grupo 4: Antibióticos derivados de otras bacterias.*



Se puede observar que en ambas gráficas, los antibióticos pertenecen a las mismas familias, pero los porcentajes de cada una de ellas cambian notablemente. Lo más relevante es que la proporción correspondiente a "otras fuentes", aumenta de un 5.2% en 1952, a un 34.5% en 1982, lo cual acentúa la importancia del descubrimiento de rutas alternativas, para la obtención de nuevos principios activos con potencia antimicrobiana (Mitscher, et al., 1987). Entre estas rutas se encuentran:

a) Métodos basados en Ingeniería Genética.

b) Métodos microbiológicos en los que se producen inhibiciones enzimáticas contra cepas resistentes y supersensibles, mediante adición de enzimas a los medios de cultivo.

c) Biosíntesis dirigidas (mutasíntesis).

d) Búsqueda de antibióticos de fuentes naturales procedentes de organismos marinos y de plantas superiores.

En este último caso se han encontrado antibióticos muy novedosos que, aunque hasta hoy no han alcanzado éxito comercial, son potencialmente fuentes de sustancias que parecen ser promisorias (Mistcher, et al., 1987).

## ANTECEDENTES

México es un país que posee una gran variedad de especies vegetales, las cuales a lo largo de muchos años se han utilizado para el tratamiento de diversos padecimientos, entre ellos los infecciosos (Ver cuadro #2). En la República Mexicana son realmente escasas las investigaciones realizadas con el objeto de comprobar científicamente, la efectividad de éstas plantas como antibióticos.

En un estudio realizado en la Universidad Autónoma de Querétaro y en la UNAM (Rojas A., et al., 1991), se evaluaron los extractos metanólicos de ocho plantas medicinales mexicanas y 44 compuestos puros de origen natural, que se destacan por sus propiedades antibióticas. El resultado de ésta investigación fue en gran manera satisfactorio, pues de los ocho extractos analizados, siete mostraron efectividad contra los microorganismos de prueba a concentraciones menores de 100  $\mu\text{g/ml}$  (MIC  $\mu$  100  $\mu\text{g/ml}$ ) (Ver cuadro #3). Adicionalmente de los 44 compuestos puros estudiados, 23 resultaron con actividad antimicrobiana significativa. Los compuestos aislados en este estudio, pertenecen a las familias químicas de: (1) cucurbitacinas, (2) fenilcumarinas, (3) flavonoides, (4) diterpenos, (5) triterpenos, y (6) Á-pironas (Ver cuadro #4).

**CUADRO #2. Especies vegetales utilizadas en la medicina tradicional como agentes antiinfecciosos.**

<i>Nombre científico</i>	<i>Nombre común</i>
<i>Acalypha phleoides</i>	Hierba del cáncer
<i>Acalypha sp.</i>	Hierba del cáncer
<i>Artemisia mexicana</i>	Istafiate
<i>Buddleia sessiliflora</i>	Hierba del perro
<i>Bursera simaruba</i>	Palo colorado
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	Epazote
<i>Conyza filaginoides</i>	Simonillo
<i>Croton ciliato-glandulosum</i>	Picosilla
<i>Datura candida</i>	Floripondio
<i>Equisetum robustum</i>	Cola de caballo
<i>Euphorbia prostrata</i>	Hierba de la golondrina
<i>Gnaphalium stramineum</i>	Gordolobo
<i>Heterotheca inuloides</i>	Arnica
<i>Jatropha dioica</i>	Sangregado
<i>Juliana adstringens</i>	Cuachalalate
<i>Larrea divaricata</i>	Gobernadora
<i>Marrubium vulgare</i>	Marrubio
<i>Mentha piperita</i>	Hierbabuena
<i>Mentzelia hispida</i>	Pegarropa
<i>Picrammia pistaciaefolia</i>	Cáscara amarga

Continuación cuadro #2

<i>Nombre científico</i>	<i>Nombre común</i>
<i>Piqueria trinervia</i>	Hierba del tabardillo
<i>Plantago major</i>	Lantén
<i>Prunus persica</i>	Hojas de durazno
<i>Salvia limeantha</i>	Salvia real
<i>Senecio salignus</i>	Jara de río
<i>Solanum nigrum</i>	Hierbamora
<i>Spharalcea angustifolia</i>	Hierba del negro
<i>Stevia eupatoria</i>	Hierba del borrego
<i>Trifis sp.</i>	Candelilla
<i>Trigonella foenum-graecum</i>	Semilla de fenogreco
<i>Triumfetta semitriloba</i>	Cadillo
*	Cancerina
*	Cuapinole
*	Hierbamora
*	Pata de león

\* Especies en proceso de identificación.

Por otra parte, en la Universidad Autónoma de Baja California Sur (UABCS) (Encarnación, R.; 1984), se realizó un estudio con el fin de aislar y caracterizar compuestos extraídos de plantas medicinales y de organismos marinos, a los que se atribuyen propiedades antibióticas. Se analizaron 53 plantas y 87 organismos marinos, obteniéndose 11 sustancias con potencial actividad antimicrobiana. También en la UABCS (Encarnación, R.; et al.; 1991), se evaluó la actividad de la especie vegetal *Lepechinia hastata*, conocida comunmente como Chicura de la Sierra, que en la medicina tradicional se emplea como tratamiento contra las infecciones uterinas. Investigaciones subsecuentes del extracto de la planta seca, revelaron actividad antiséptica contra los microorganismos de prueba. El estudio fitoquímico biodirigido permitió el aislamiento y purificación de un compuesto activo identificado como carnosol (30), cuya fórmula molecular es  $C_{20}H_{26}O_4$  (Ver cuadro #4).

Existe otro trabajo, realizado en Xochitepec (Morelos) (Lozoya, X.; et al.; 1992) en el Instituto Mexicano del Seguro Social. En este estudio se evaluó la actividad fungicida de la especie botánica *Solanum chrysotrichum*, conocida comunmente como "Sosa". En el estado de Chiapas, esta planta es frecuentemente utilizada y particularmente recomendada para el tratamiento de micosis tópicas, tales como el "Pié de atleta" (Tinae pedis). El estudio clínico condujo a determinar la

eficacia del extracto metanólico de las hojas de *Solanum chrysotrichum* como curación de esta enfermedad; y en la evaluación microbiológica, el extracto no presentó actividad contra las bacterias *Bacillus subtilis*, *Pseudomona aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*; pero sí contra *Candida albicans* (a una concentración de 20 mg/ml) y los dermatofitos de prueba, *Trychophyton mentagrophytes*, *Trychophyton rubrum* y *Microsporum gypseum* (a concentraciones de 15 mg/ml o menores).

Fué posible obtener información acerca de una investigación realizada en el Instituto Politécnico Nacional (Pérez, R.; et al.; 1990), se trata de un ensayo preliminar con el fin de determinar la actividad antimicrobiana de algunas especies de algas marinas y continentales americanas. La recolección del material se realizó en el Golfo de México (Veracruz), Océano Pacífico (Zihuatanejo, Ixtapa, Michoacán y Perú), Golfo de Cortes (La Paz) y el Mar del Caribe (Venezuela). Las algas continentales fueron colectadas en el Lago de Cuitzeo (Michoacán), Lago Media Luna (San Luis Potosí), Río Las Estacas (Morelos) y el Lago Titicaca (Perú); obteniendo en total 65 especies vegetales para evaluar. El resultado de esta investigación fué muy satisfactorio, pues nueve especies vegetales mostraron actividad contra *S. aureus*, nueve contra *S. pyogenes*, cuatro contra *Ps. aeruginosa*, una contra *Pr. vulgaris*, tres contra *E. coli*, tres contra *A. fumigatus* y dos

contra *C. albicans*. Los resultados sugieren que en la producción de sustancias antimicrobianas en las algas (probablemente: hidroquinonas, sesquiterpenos, fenóles, fenoles bromados, polifenoles, etc. (Faulkner, 1978)), ha influido en gran manera el grado de contaminación de su medio ambiente, de tal forma que necesitan producir antibióticos como medio de defensa (Trease-Evans; 1991).

En el extranjero también es conocida la gran cantidad de especies vegetales con propiedades medicinales que posee la República Mexicana, tanto así, que en Inglaterra y Alemania se realizó un estudio preliminar de 29 plantas medicinales, utilizadas en las comunidades indígenas del estado de Oaxaca (México), previo estudio etnobotánico (Heinrich, M.; et al.; 1992). El interés en esta investigación surge de la necesidad de tratamiento de los padecimientos gastrointestinales, que cada vez son más frecuentes en los países en desarrollo como México, en los cuales la diarrea y la disentería son los mayores problemas de la salud; frecuentemente estas enfermedades se asocian con la infección con *Entamoeba histolytica* o con varias bacterias.

El material a evaluar se colectó en la región del Istmo de Tehuantepec (Oaxaca). De las 29 plantas colectadas, 20 son utilizadas para problemas gastrointestinales, incluyendo disentería, dolor estomacal, diarrea, vómito, úlceras gástricas, infecciones parasitarias, etc.; cinco plantas son

empleadas contra infecciones de la piel, y las cuatro restantes lo son en ambos grupos de indicaciones. Dentro de los resultados, se observó la actividad de los extractos de muchas de las plantas contra tres bacterias (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Micrococcus luteus*), y dos hongos (*Cladosporium cucumerinum* y *Penicillium oxalicum*). De particular interés resultaron dos plantas, *Castela texana* y *Annona muricata*, las cuales mostraron actividad contra *E. histolytica* a concentraciones de 63  $\mu\text{g/ml}$  y 31-63  $\mu\text{g/ml}$ , respectivamente. De nueva cuenta se muestra la importancia del estudio de la medicina tradicional de la República Mexicana, al comprobarse las actividades biológicas de especies vegetales, que se han utilizado como remedios para enfermedades infecciosas desde tiempos prehispánicos.



**Cuadro # 3 Evaluación de actividad antimicrobiana de los extractos de ocho plantas mexicanas.**

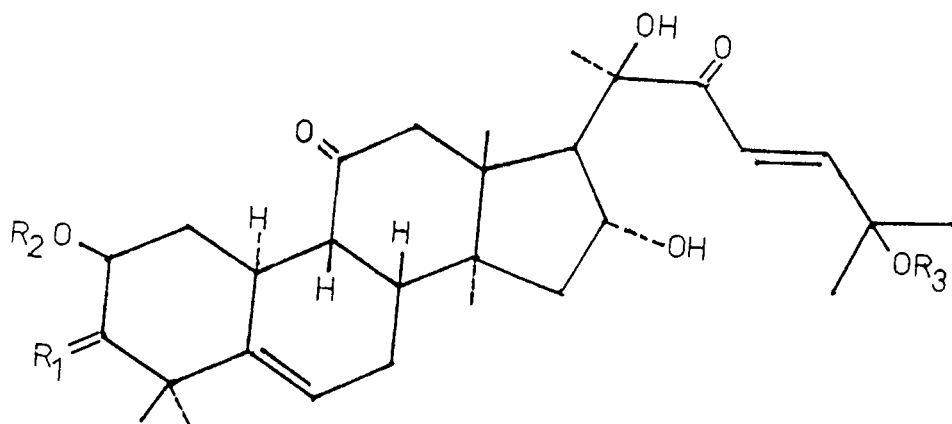
Nombre científico	Nombre vulgar	Usos	Zona de inhibición (mm) por microorganismo <sup>a</sup>				
			1	2	3	4	5
<i>Ratibida latipalearis</i>	Chipunuwa	Curación de heridas, dolor de cabeza.	5	9	3	5	7
<i>Teloxys graveolens</i>	Epazote de zorrillo	Infecciones estomacales, antihelmíntico, enfermedades intestinales.	-	7	-	4	4
<i>Hyptis albida</i>	Salvia blanca	Curación de heridas, antihelmíntico.	6	8	5	5	4
<i>Hyptis pectinata</i>	Hierba del burro	Infecciones de la piel, congestión pulmonar.	6	10	-	-	-
<i>Hyptis suaveolens</i>	Hierba del burro	Curación de heridas, infecciones de la piel.	6	9	-	-	-
<i>Hyptis verticillata</i>	Hierba martina	Curación de heridas, dolor de cabeza.	6	10	6	7	7
<i>Dodonea viscosa</i>	Chapulizte	Curación de heridas, infecciones de la piel.	6	8	5	5	5
<i>Hintonia latiflora</i>	Copalchi	Antimalaria, infecciones estomacales, heridas infectadas.	-	-	-	-	-
Standard <sup>b</sup>	---	-----	7	12	7	9	9
Vehículo control	---	-----	-	-	-	-	-

<sup>a</sup> Microorganismos: (1) *Staphylococcus aureus*; (2) *Bacillus subtilis*; (3) *Escherichia coli*; (4) *Pseudomonas aeruginosa*; (5) *Candida albicans*.

<sup>b</sup> Antibióticos standard: Sulfato de estreptomocina para bacterias y nistatina para *C. albicans*.

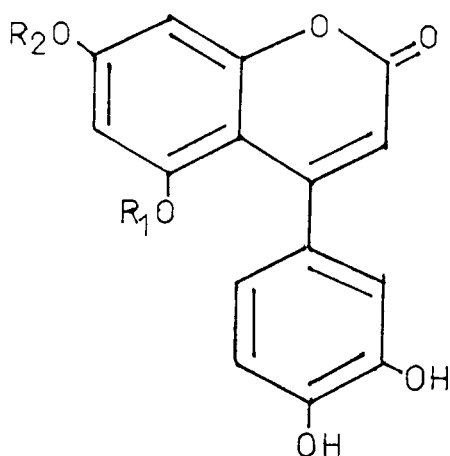
CUADRO #4. Estructuras químicas de los compuestos obtenidos a partir de plantas mexicanas que resultaron activos en la evaluación para la actividad antimicrobiana (Rojas, A.; et al.; 1992) (Encarnación, R.; et al.; 1991).

1. Cucurbitacinas.



(7)  $R_1 = \text{Á-OH } \beta\text{-H}$ ;  $R_2 = \text{H}$ ;  $R_3 = \text{Ac}$

2. Fenilcumarinas.

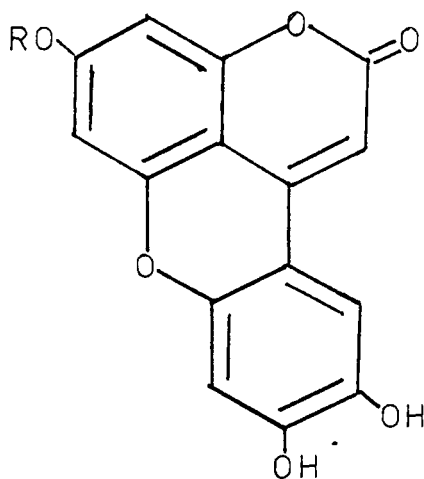


(8)  $R_1 = 6\text{-Acetil-}\beta\text{-D-glucosa}$

$R_2 = H$

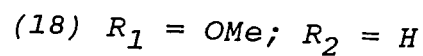
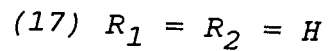
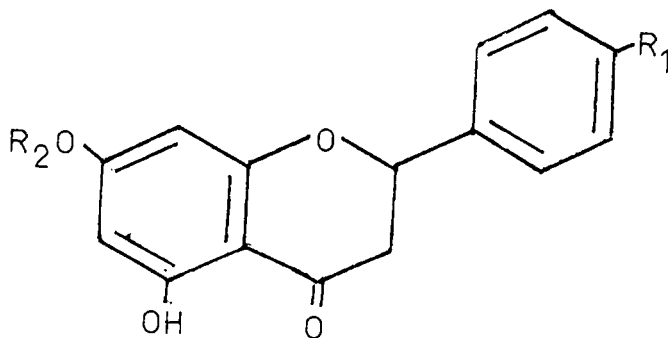
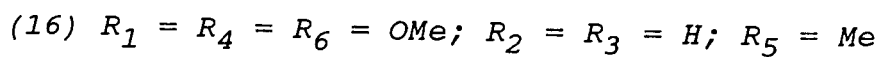
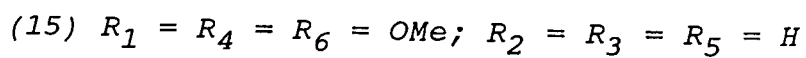
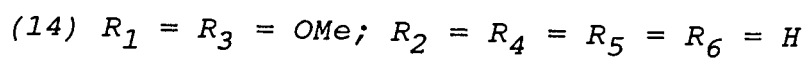
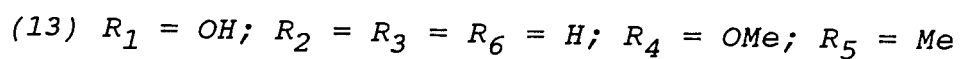
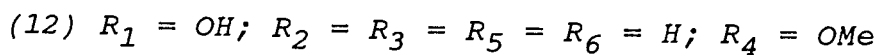
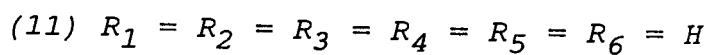
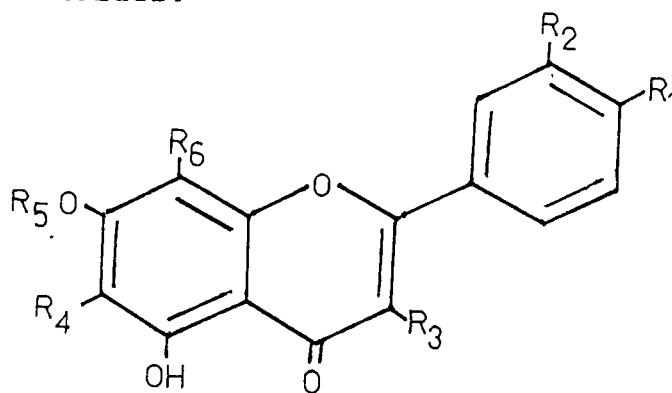
(9)  $R_1 = \beta\text{-D-Galactosa}$

$R_2 = Me$

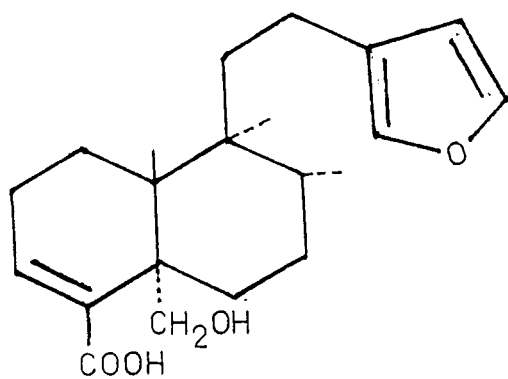


(10)  $R = H$

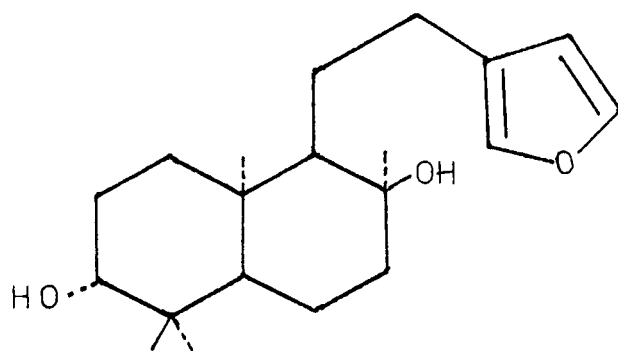
3. Flavonoides.



4. Diterpenos.



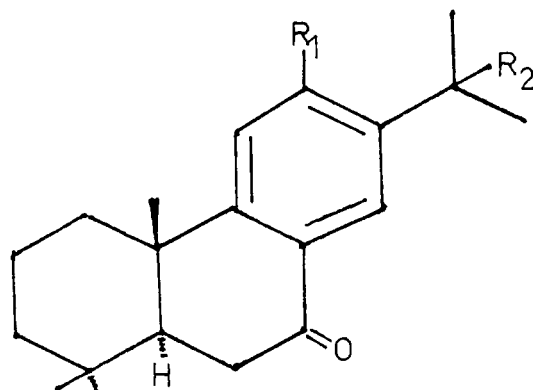
(19)



(20)

Continuación cuadro #4

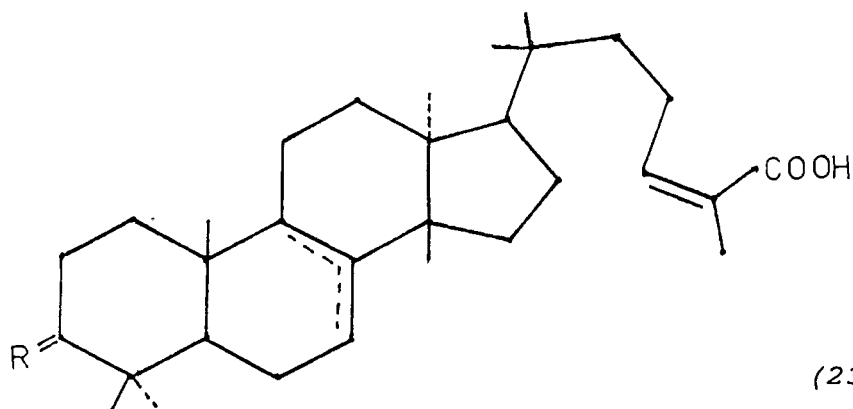
---



(21)  $R_1 = OH$ ;  $R_2 = H$

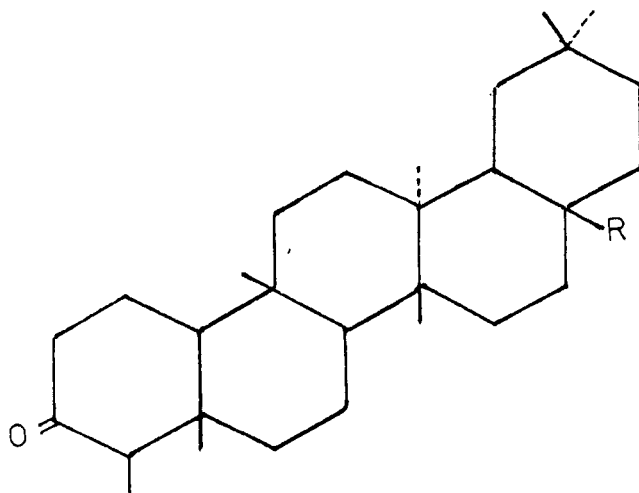
(22)  $R_1 = H$ ;  $R_2 = OH$

5. Triterpenos.



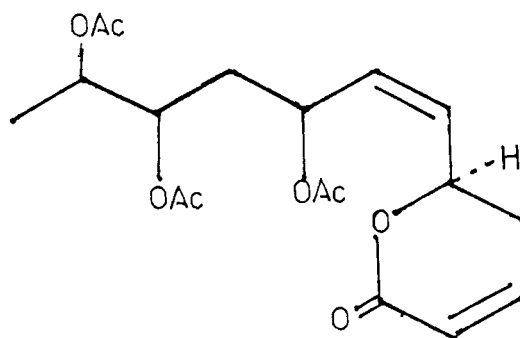
(23)  $R = CHO$

Continuación cuadro #4



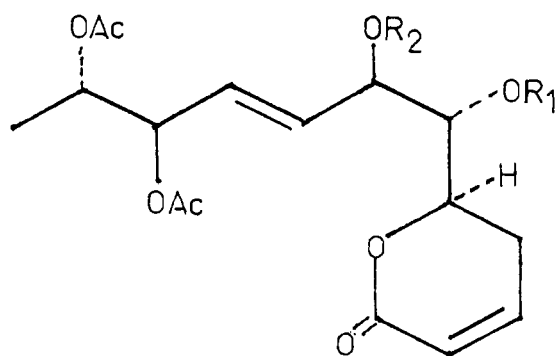
(24) R =  $\dot{A}$ -OH; B-H;  $\Delta^7$

6.  $\dot{A}$ -Pironas.



(25)

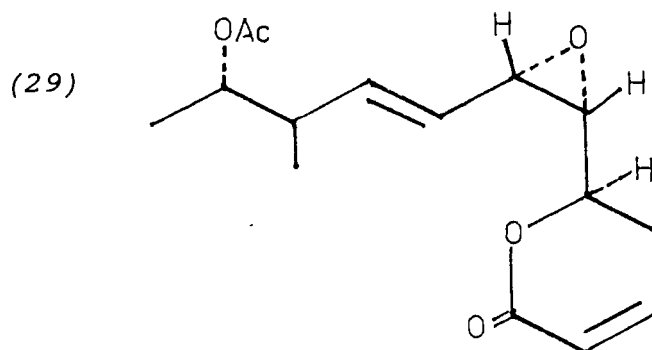
Continuación cuadro #4



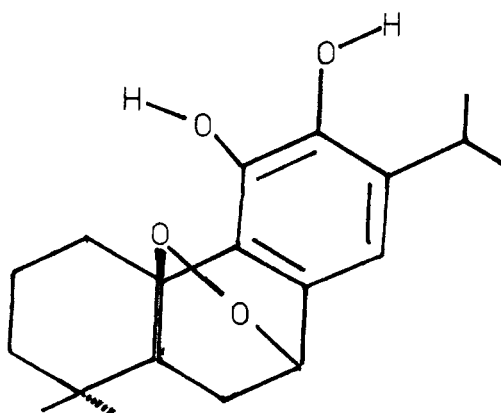
(26)  $R_1 = R_2 = H$

(27)  $R_1 = H; R_2 = Me$

(28)  $R_1 = R_2 = Ac$



7. Diterpeno



(30)



## JUSTIFICACION

México es un país que posee una gran variedad de especies vegetales con reputación como agentes antimicrobianos. Sin embargo, a la fecha son muy escasos los estudios realizados con el objeto de comprobar científicamente, las propiedades que se les atribuyen a estas plantas. Por otra parte, existe la apremiante necesidad de encontrar fuentes alternativas de nuevos compuestos con actividad antimicrobiana.

Por estas razones se consideró adecuado realizar un proyecto de investigación, cuyo fin fuera comprobar científicamente y de manera preliminar la actividad antimicrobiana de 20 plantas, empleadas en la medicina tradicional de México como agentes antisépticos. Las especies vegetales objeto de estudio, fueron seleccionadas con base en su incidencia de uso (Ver cuadro #5) y una revisión bibliográfica permitió comprobar que ninguna de estas plantas ha sido previamente evaluada.

**CUADRO #5. Especies vegetales seleccionadas para la  
evaluación de la actividad antimicrobiana.**

<i>Nombre científico</i>	<i>Nombre común</i>
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	Epazote
<i>Datura candida</i>	Floripondio
Especie no identificada	Pata de león
<i>Prunus persica</i>	Hojas de durazno
<i>Acalypha sp.</i>	Hierba del cáncer
<i>Mentha piperita</i>	Hierbabuena
<i>Buddleia sessiliflora</i>	Hierba del perro
<i>Artemisia mexicana</i>	Istafiate
<i>Stevia eupatoria</i>	Hierba del borrego
Especie no identificada	Hierbamora
<i>Piqueria trinervia</i>	Hierba del tabardillo
<i>Euphorbia prostrata</i>	Hierba de la golondrina
<i>Trifis sp.</i>	Candelilla
<i>Larrea divaricata</i>	Gobernadora
Especie no identificada	Cuapinole
<i>Equisetum robustum</i>	Cola de caballo
<i>Bursera simaruba</i>	Palo colorado
<i>Picramnia pistaciaefolia</i>	Cáscara amarga
<i>Trigonella foenum-graecum</i>	Semilla de fenogreco
<i>Triumfetta semitriloba</i>	Cadillo

### **OBJETIVO GENERAL**

El objetivo general de la presente tesis, es determinar cualitativamente la actividad antimicrobiana de los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico, obtenidos de 20 plantas mexicanas utilizadas en la medicina tradicional como agentes antiinfecciosos.

### **OBJETIVOS PARTICULARES**

- A) Selección de las especies vegetales.
- B) Recolección de las plantas seleccionadas.
- C) Clasificación botánica de las plantas seleccionadas.
- D) Obtención de los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico, por el método de extracción continua en Soxhlet.
- E) Realización del ensayo preliminar por el método de difusión en agar con microorganismos representativos: Gram positivos, Gram negativos y levaduras.
- F) Determinación de la actividad antimicrobiana de los extractos por medición de los halos de inhibición.
- G) Correlacionar los resultados obtenidos con la información previamente descrita en la literatura en cuanto a la composición química y la actividad biológica de las plantas estudiadas y especies relacionadas.

## METODOLOGIA

### 1) Selección de plantas.

El criterio utilizado para la selección de las plantas, fue por medio de encuestas realizadas a médicos tradicionales y hierberos de la región, a quienes se les solicitó información sobre las plantas utilizadas para el tratamiento de infecciones. Conforme a lo anterior se seleccionaron las plantas enlistadas en el cuadro #5.

### 2) Recolección de las plantas y clasificación botánica.

Las plantas fueron adquiridas con hierberos en el mercado, y sólo algunas de ellas como el *Chenopodium ambrosioides*, *Prunus persica*, *Datura candida* y *Mentha piperita*, fueron colectadas de su medio ambiente natural.

En lo que se refiere a la clasificación botánica de las especies vegetales, ésta fue realizada por la M.C. Valentina Serrano, coordinadora del Herbario de Querétaro; y por el Sr. Rafael González del Jardín Botánico de Cadereyta; Se depositaron muestras de referencia para la colección etnobotánica del Herbario Local.

### 3) Obtención de los extractos.

Las operaciones preliminares que recibieron las plantas utilizadas, fueron secado y molienda. Posteriormente se prepararon los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico de cada una de las plantas, empleando el método de extracción

continua por Soxhlet. Finalmente los extractos fueron concentrados hasta sequedad en un rotavaporador.

#### 4) Preparación de muestras y controles.

Se prepararon soluciones de cada uno de los extractos a concentraciones de 40 mg/ml; para lo cual se emplearon solventes inocuos para los microorganismos de prueba; tales como soluciones acuosas de Tween 80 al 20% (V/V), y Dimetilsulfóxido (DMSO) al 50% (V/V) (Almagboul; 1985). Los controles positivos fueron preparados con estreptomycin, 1 mg/ml para bacterias y nistatina, 3 mg/ml para levaduras (Ríos, Recio, Villar; 1988).

#### 5) Preparación de los microorganismos de prueba.

Los microorganismos usados en el ensayo incluyen bacterias Gram positivas, Gram negativas y levaduras (Ver cuadro #6).

#### CUADRO #6. Microorganismos de prueba empleados en la evaluación cualitativa de la actividad antimicrobiana.

---

Gram positivos:	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)
	<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)
Gram negativos:	<i>Pseudomona aeruginosa</i> (ATCC 9027)
	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739)
Levadura:	<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)

---

Para el desarrollo de las bacterias se utilizó caldo nutritivo (Bioxon), e incubación de 24 horas a 35°C. Para la levadura, se empleó caldo dextrosa Sabouraud al 2% e incubación de 48 horas a 28°C.

Una vez desarrollados los microorganismos, se estandarizaron todos los cultivos turbidimétricamente (comparación visual), con los patrones de Mc Farland (estándares de comparación). La estandarización de los cultivos se realiza según la metodología descrita por Bailey (Bailey, 1986), por dilución del caldo inoculado con solución salina isotónica (SSI 0.9%), hasta obtener una turbidez equivalente a la mitad del patrón #1, que aproximadamente contiene  $1.5 \times 10^6$  microorganismos/ml. La preparación de los patrones y el número de células por ml se muestra en el cuadro #7.

**CUADRO #7. Preparación de los patrones de Mc Farland**

	Número de estándar					
	1	2	3	4	5	6
BaCl <sub>2</sub> 1% (ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1% (ml)	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9.4
# aproximado de cel. (x 10 <sup>6</sup> )	3	6	9	12	15	18

#### 6) Siembra de los microorganismos.

Antes de inocular los microorganismos en las placas, éstas fueron objeto de una prueba de esterilidad, cuyo fin fue comprobar la inexistencia de contaminantes e indicar la calidad del trabajo. La prueba consistió en incubar las placas con agar sin inóculo durante un periodo de:

a) 24 horas a 35°C con agar de Mueller-Hinton, para las bacterias.

b) 24 a 48 horas a 28°C, con agar de Dextrosa Sabouraud al 2%, para levaduras.

Después de la incubación, se observaron cuidadosamente cada una de las placas en busca de alguna contaminación, descartando las cajas con resultado positivo y/o dudoso.

Para que la distribución de los microorganismos fuera completamente homogénea, se utilizó el método de siembra en estría cerrada con asa calibrada a 0.1 ml. Este método consistió en realizar con el asa 5 descargas del microorganismo en suspensión; tras cada descarga, se distribuyó el inóculo en la superficie de la gelatina, por estría cerrada; teniendo la precaución de girar la caja Petri (aproximadamente 60°) después de cada distribución, de tal manera que en cada caja quedaron inoculados aproximadamente 750,000 microorganismos.

7) Colocación de las muestras a evaluar en las placas de agar previamente inoculadas con los microorganismos de prueba.

Una vez sembradas las placas de agar, se hicieron tres horadaciones convenientemente distribuídas, utilizando un horador cilíndrico de 10 mm de diámetro. Haciendo uso de una micropipeta, se colocaron en cada pozo 50 y 100  $\mu$ l del extracto solubilizado y 100  $\mu$ l del correspondiente control positivo. Las placas así preparadas se incubaron:

- a) Placas de Mueller-Hinton, 24 horas a 35°C
- b) Placas de Dextrosa Sabouraud 2%, 48 horas a 28°C
- 8) Evaluación de la actividad antimicrobiana.

Una vez transcurrido el tiempo de incubación de las placas, se evaluó la actividad antimicrobiana de cada extracto, midiendo los halos de inhibición alrededor de las horadaciones.

Por razones de seguridad, cada placa se realizó por duplicado, en campana de flujo laminar y bajo condiciones de esterilidad.



## RESULTADOS

En los cuadros #8, #9, #10 y #11, se muestran los extractos que resultaron activos contra los microorganismos de prueba así como las medidas de los halos de inhibición en las placas de agar.

**CUADRO #8. Extractos activos contra Pseudomona aeruginosa.\***

Extracto	Halo de inhibición (mm)	
	50μl	100μl
H. del Perro (H)	----	16
Cadillo (M)	13	15
H. del Tabardillo (M)	----	16
Cola de Caballo (M)	----	13
Gobernadora (M)	22	31
Gobernadora (C)	15	18
Palo Colorado (H)	21	24
Hierbamora (M)	11	13
Cuapinole (M)	----	14
Estreptomicina 1mg/ml	----	28

\*(H) Hexánico, (C) Clorofórmico, (M) Metanólico

**CUADRO #9. Extractos activos contra *Staphylococcus aureus*.**

Extracto	Halo de inhibición (mm)	
	50 $\mu$ l	100 $\mu$ l
Hojas de Durazno (H)	14	18
Hojas de Durazno (C)	13	17
H. del Cáncer (H)	16	20
H. del Cáncer (C)	20	26
H. del Cáncer (M)	23	25
Hierbabuena (M)	13	24
H. del Perro (H)	19	21
H. del Perro (C)	14	18
Istafiate (H)	16	18
Istafiate (C)	16	20
H. del Borrego (H)	11	16
Cadillo (M)	13	16
H. del Tabardillo (C)	11	13
Palo Colorado (H)	26	30
Palo Colorado (C)	----	13
Palo Colorado (M)	12	14
Gobernadora (C)	24	28
Gobernadora (M)	23	25
Cáscara Amarga (C)	----	13

Continuación cuadro #9

Extracto	Halo de inhibición (mm)	
	50 $\mu$ l	100 $\mu$ l
Pata de León (M)	18	22
Epazote (H)	13	16
Epazote (C)	15	18
Estreptomycin 1mg/ml	----	25

CUADRO #10. Extractos activos contra *Bacillus subtilis*.

Extracto	Halo de inhibición (mm)	
	50 $\mu$ l	100 $\mu$ l
Hojas de Durazno (H)	24	30
Hojas de Durazno (C)	15	17
Hojas de Durazno (M)	----	13
H. del Cáncer (C)	20	23
H. del Cáncer (M)	21	23
H. del Perro (H)	16	17
H. del Perro (C)	12	15

Continuación cuadro #10

Extracto	Halo de inhibición (mm)	
	50 $\mu$ l	100 $\mu$ l
Istafiate (H)	14	19
Istafiate (C)	----	16
Istafiate (M)	18	22
H. del Borrego (H)	35	38
Cadillo (H)	----	11
Cadillo (C)	----	14
Cadillo (M)	14	16
Cola de Caballo (M)	14	15
Gobernadora (H)	23	28
Gobernadora (C)	12	14
Gobernadora (M)	21	24
Cáscara Amarga (H)	----	13
Cáscara Amarga (C)	12	18
Palo Colorado (H)	18	23
Candelilla (H)	----	11
Candelilla (M)	11	13
Hierbamora (H)	15	17
H. de la Golondrina (H)	----	11
H. de la Golondrina (C)	----	13
H. de la Golondrina (M)	11	16

Continuación cuadro #10

Extracto	Halo de inhibición (mm)	
	50 $\mu$ l	100 $\mu$ l
Semillas de Fenogreco (H)	----	12
Cuapinole (H)	11	15
Cuapinole (M)	12	14
H. del tabardillo (H)	12	16
Estreptomicina 1mg/ml	----	30

CUADRO #11. Extractos activos contra *Candida albicans*

Extracto	Halo de inhibición (mm)	
	50 $\mu$ l	100 $\mu$ l
Gobernadora (H)	----	13
Epazote (M)	18	23
Nistatina 3mg/ml	----	25

## DISCUSION DE RESULTADOS

El objetivo general de la presente tesis, fue realizar la evaluación cualitativa de la actividad antimicrobiana de 20 de las plantas más utilizadas en la medicina tradicional de México, como agentes antisépticos. La selección de las plantas a estudiar fue realmente difícil, debido a que en este país existe una gran variedad de especies vegetales que son empleadas para el tratamiento de diversos padecimientos infecciosos. El criterio que se empleó fue por medio de encuestas realizadas a los médicos tradicionales y hierberos de los mercados, tomando en cuenta las plantas con mayor incidencia de uso para el tratamiento de: heridas, infecciones de la piel, infecciones gastrointestinales, infecciones de vías respiratorias, etc.

La recopilación de esta información presentó algunos problemas, debido a que se prescindió de un estudio etnobotánico previo o realizado a la par, con el cual habría sido más sencillo manejar la información y obtener los ejemplares botánicos adecuados. Los problemas enfrentados que más destacan fueron, la poca disponibilidad por parte de los médicos tradicionales para proporcionar información; además la dificultad para obtener especímenes vegetales adecuados para su correcta identificación botánica, esto se debe a que los médicos tradicionales utilizan en muchos casos mezclas de plantas, o bien, las obtienen de otros proveedores, lo cual

implica que no conozcan su verdadero origen. Lo anterior presentó un gran inconveniente y como consecuencia de ello, tres de las especies estudiadas (Cuapinole, Hierbamora y Pata de león) no han podido ser identificadas inequívocamente.

La evaluación cualitativa preliminar *in vitro* de las plantas, se realizó mediante la técnica de difusión en agar. Este método es indudablemente el de mayor aplicación en los ensayos preliminares para la detección de agentes antimicrobianos (Mistcher, et al., 1984; Clark, et al., 1981; Puyvelde, et al., 1989; *inter alia*). La técnica mencionada ofrece la ventaja de ser rápida, sencilla y además requiere poca cantidad de muestra. En este método, la muestra solubilizada adecuadamente (Almagboul; 1985), se coloca en el agar utilizando como reservorios discos de papel filtro, cilindros o pozos. Una vez que el microorganismo se ha inoculado en la superficie, se procede a la incubación y transcurrido el tiempo necesario, se mide el diámetro del halo de inhibición del crecimiento microbiano en milímetros. Este método presenta poca sensibilidad para muestras difíciles de difundir en el medio, pero como ventaja, tenemos la evaluación de cantidades pequeñas de sustancia y la posibilidad de probar 5 o 6 compuestos con un microorganismo. Esta técnica es cualitativa, para evaluaciones preliminares de extractos, fracciones y sustancias puras.

En cuanto a la técnica de sembrado de los microorganismos, después de realizar varias pruebas (sembrado por vaciado en caja, sembrado con hisopo y sembrado en estría cerrada), se llegó a la conclusión de que el método más adecuado, para el caso particular de este estudio, era la siembra en estría cerrada, ya que permite una distribución homogénea y crecimiento adecuado de los microorganismos, además de halos de inhibición fácilmente visibles y bien definidos.

En lo que se refiere a los reservorios de muestra, para este trabajo se seleccionaron los pozos, debido a que no presentan las desventajas que tienen por ejemplo, los discos de papel filtro, en los que la concentración del extracto a evaluar se puede ver afectada por variantes relacionadas con el tipo de papel empleado, su grosor y capacidad de absorción además de su capacidad para permitir la difusión del extracto en el agar (Ríos, Recio, Villar; 1988).

En este punto, vale la pena mencionar que el método de difusión en agar no es el único que permite detectar cualitativamente la actividad antimicrobiana, ya que en la actualidad existen modificaciones del mismo, que destacan por su mayor rapidez y su gran poder de resolución. Entre estas variantes se encuentran los denominados métodos autobiográficos, los cuales consisten en sembrar el extracto a evaluar en una placa cromatográfica que se eluye en un solvente adecuado. Posteriormente, se coloca la placa en una



caja Petri con agar, previamente inoculada con el microorganismo de prueba, de modo que la fracción del extracto que posee la actividad antimicrobiana, provoca la formación de un halo de inhibición en el medio; finalmente se revela la placa cromatográfica empleando reactivos específicos (Begit, et al., 1972).

Con relación a los microorganismos de prueba empleados, cabe mencionar que su selección se hizo de acuerdo a criterios previamente establecidos para la homogeneización de este tipo de estudios, con miras a facilitar la comparación de resultados entre los diferentes grupos de investigadores (Mistcher, et al., 1972). Todos los microorganismos empleados son huéspedes comunes del hombre, aunque bajo ciertas condiciones pueden llegar a presentar patogenicidad (Burdon, Williams; 1985).

En cuanto a los resultados obtenidos (se pueden observar en los cuadros #8, #9, #10 y #11), los antibiogramas demostraron que todas las plantas evaluadas presentan actividad antimicrobiana. En lo referente a los extractos, se encontró que de los 60 extractos estudiados, 44 resultaron activos, de tal forma que por lo menos un extracto de cada planta posee actividad antiséptica. A continuación, se intentará especulativamente dar explicación de la actividad biológica de los extractos de algunas de las plantas, con fundamento en los estudios químicos de que han sido objeto. En el cuadro #12, se

CUADRO #12. Especies vegetales estudiadas  
fitoquímicamente.

Espece vegetal	Composición	Referencia
<i>Ch. ambrosioides</i>	2.1% Aceites esencia-	Wahid, Samiwillah; 1960.
	les, 46% Ascaridol	
	2% Aceites esenciales,	Dusinsky, Tylova; 1962.
	40% Ascaridol	
4-dimetilesteroles,	Salt, <u>et al.</u> ; 1985	
24-Á-etilesteroles,		
Spinasterol, $\Delta^7$ y $\Delta^5$ -esteroles		
<i>A. mexicana</i>	Estafiatina, Lactonas	Sánchez-Viesca; 1963.
	sesquiterpénicas,	
	Ludovicina A, B y C;	Romo, Tello; 1972.
	Douglanina	
Armexina, Artemorin		
<i>P. trinervia</i>	Acetato de carquejol,	Romo, Quijano,
	Piquerol A y B	Ríos, Díaz; 1970.

Continuación cuadro #12.

Especie vegetal	Composición	Referencia
<i>L. divaricata</i>	Mezclas de ésteres al- quílicos (C <sub>48</sub> -C <sub>56</sub> ) con ácidos grasos (C <sub>24</sub> -C <sub>30</sub> ) Colesterol, campeste- rol, stigmasterol, sitosterol; Larreaína A y 4 glicósidos. 9 flavonol-agliconas, kaempferol, quercetina éteres metílicos, tres flavonoides-O-glicósi- dos de quercetina y miricetina; un C-gli- cóside de apigenina.	Seigler, <u>et al.</u> ; 1974. Habermehl, <u>et al.</u> ; 1974. Timmermann, <u>et al.</u> ; 1979.
<i>Buddleia sp.</i>	Sesquiterpenos, fenil- propanoides, glicósidos lignanos y neoligninas	Houghton; 1986.

Continuación cuadro # 12.

Especie vegetal	Composición	Referencia
<i>E. prostrata</i>	Prostratinas A, B y C (elagitaninas), Rugosi- nas D, E y G (oligóme- ros de taninas hidroli- zables); once polifenoles. β-Sitosterol, stigmas- terol, ésteres metíli- cos de ácidos grasos - C <sub>30</sub> y C <sub>32</sub> ; aminoácidos.	Yashida, <u>et al.</u> ; 1990. Singla, <u>et al.</u> ; 1991.
<i>D. candida</i>	6,7-epoxilitorina	Griffin; 1992.

muestran los resultados de los estudios fitoquímicos de algunas de las plantas evaluadas.

En los cuadros de resultados. #9 y #11, se observa que el *Chenopodium ambrosioides* presenta actividad contra el *Staphylococcus aureus* y contra la *Candida albicans*. Estudios químicos previos hechos al *Ch. ambrosioides* (Dusinsky, G., Tyllova, M., 1962), revelan que contiene del 1.7% al 2% de aceites esenciales de los cuales del 40% al 46% es ascaridol. Además, en las hojas de esta planta, se han encontrado 4-dimetilesteroles, de los que predominan los 24-Á-etilesteroles, de tal forma que el *Chenopodium* puede caracterizarse entre los dos principales géneros de plantas productoras de esteroles,  $\Delta^7$ -esteroles, los  $\Delta^5$ - esteroles y mixtos (Salt, Tomas A., et. al.; 1985). Otro metabolito secundario importante en el *Ch. ambrosioides* es el spinasterol. Es muy posible que los metabolitos secundarios responsables de la actividad antimicrobiana presentada por esta especie vegetal, sean aceites esenciales entre los que destaca el (31) ascaridol (ver cuadro #13), muy conocido por sus propiedades antihelmínticas (Trease, Evans; 1991).

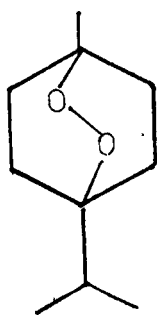
En relación a la *Artemisia mexicana*, esta especie presentó actividad significativa contra el *Bacillus subtilis*. Respecto a su composición química, se ha aislado de ella la (32) estafiatina (ver cuadro #13), que es una epoxilactona sesquiterpénica de la serie de los guayanólidos (Sánchez-

Viesca, Romo, J., 1963); además se aisló de la *A. mexicana*, un grupo de cinco lactonas sesquiterpénicas incluidos tres xantanólidos (ludovicina (33)A, (34)B y (35)C) y la conocida (36) douglanina (ver cuadro #13). En 1973 se aísla un nuevo xantanólido cis-fusionado con una 5-lactona; (37) la armexina (ver cuadro #13) y un diacetato. Se aisló también el precursor biogénico de los xantanólidos y de los guayanólidos en la *A. mexicana*, (38) el artemorín (ver cuadro #13) (Romo, J., Tello, H.; 1972). Dada la composición de la *A. mexicana*, se puede sugerir que la actividad antimicrobiana que posee, se debe a la presencia de las lactonas sesquiterpénicas; esta especulación se hace sobre el fundamento de que se ha comprobado en estudios anteriores, que las lactonas sesquiterpénicas poseen capacidad antiséptica (Rojas, A., 1991).

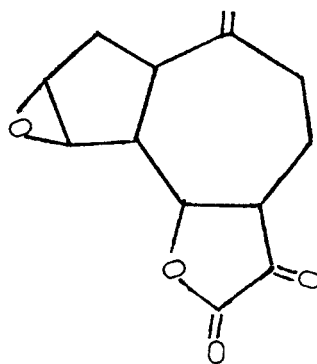
Otra especie vegetal con actividad biológica como antimicrobiano es la *Piqueria trinervia*, cuyo estudio químico reveló la presencia de acetato de carquejol y dos terpenoides: el piquerol A y el piquerol B (Romo, J.; Quijano, L.; Ríos, T.; Díaz, E.; 1970). Tal vez la actividad de esta planta se debe a los terpenoides, metabolitos secundarios cuya actividad antimicrobiana ha podido comprobarse con anterioridad. Además otro tipo de ensayos han demostrado que en los extractos de hojas y raíces de *P. trinervia*, poseen sustancias con potencial alelopático (González de la Parra, et al.; 1981).

CUADRO #13. Metabolitos secundarios aislados de plantas.

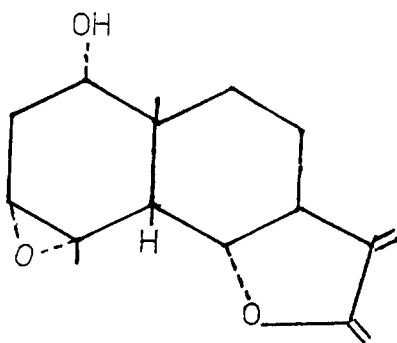
---



(31)



(32)

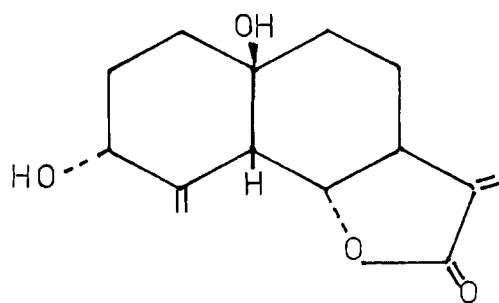


(33)

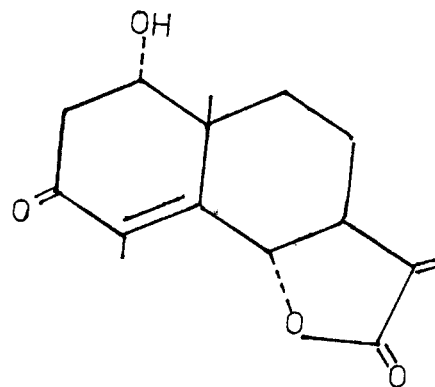
Continuación cuadro #13

---

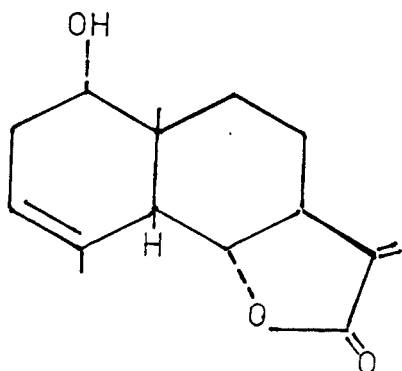
---



(35)

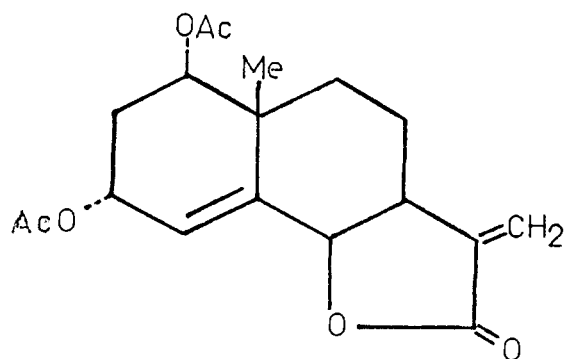


(36)

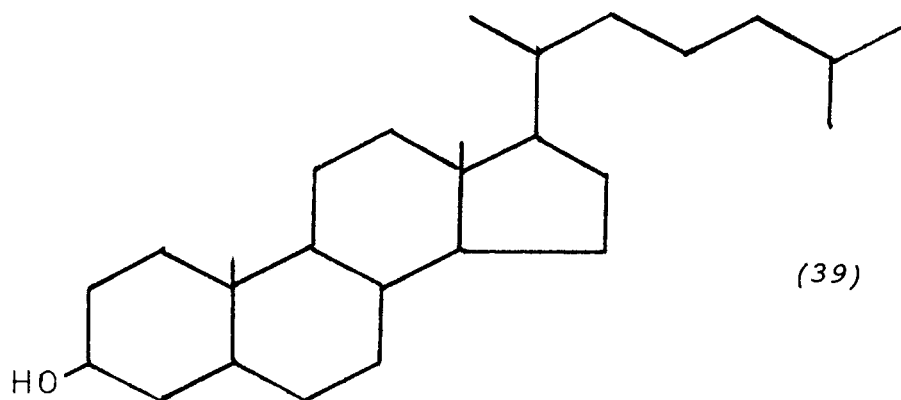
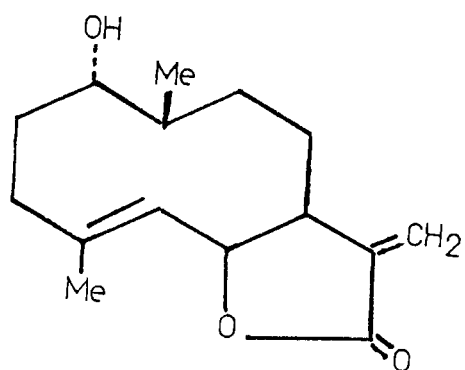




Continuación cuadro #13



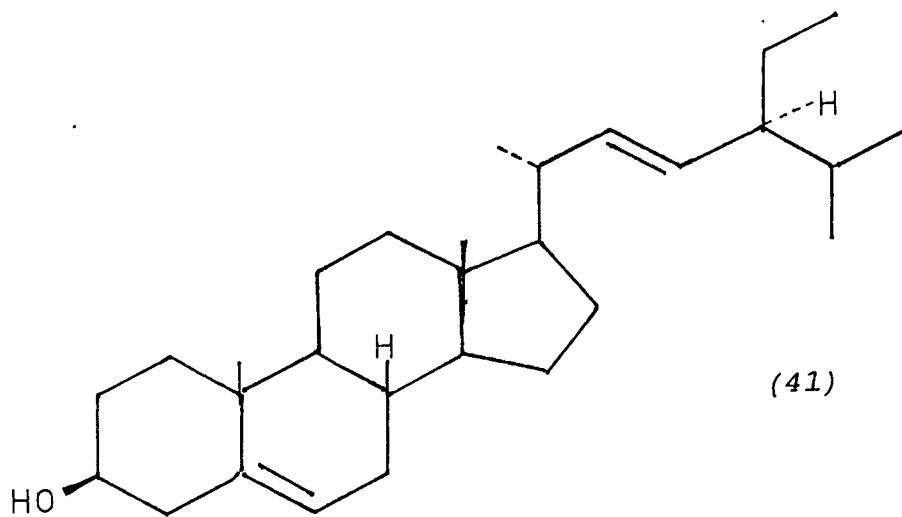
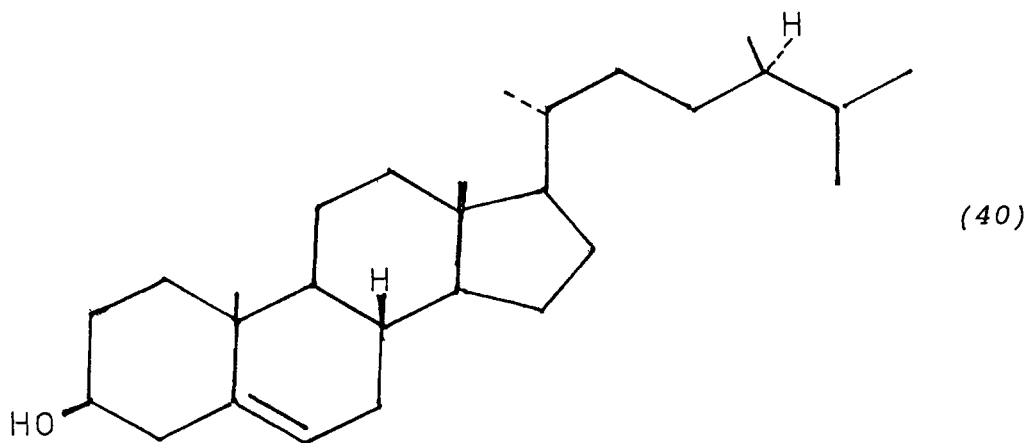
(38)



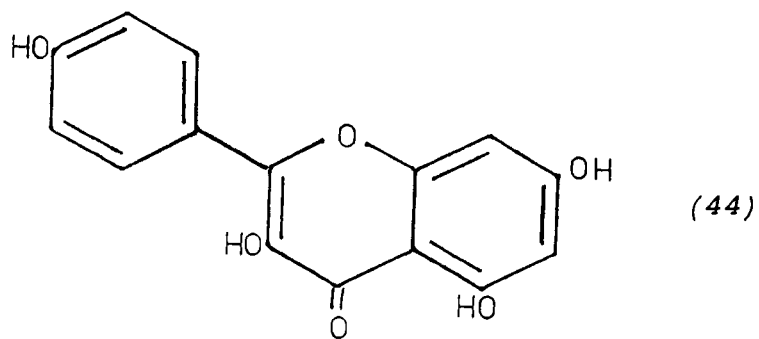
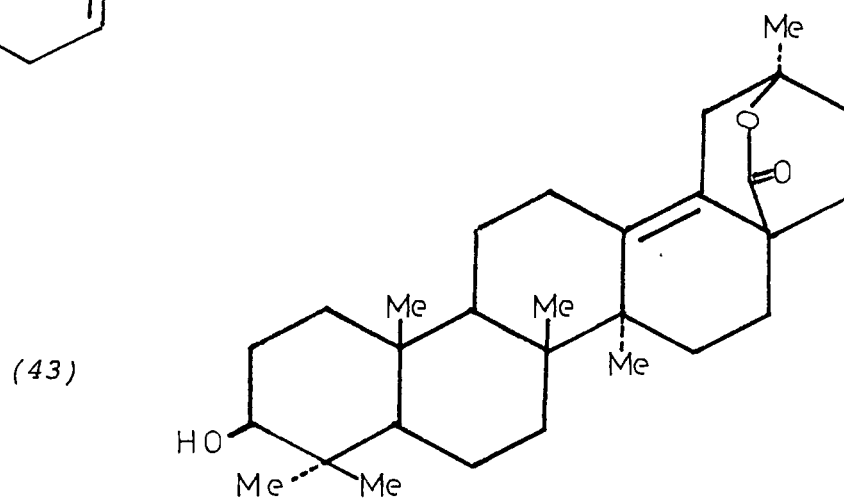
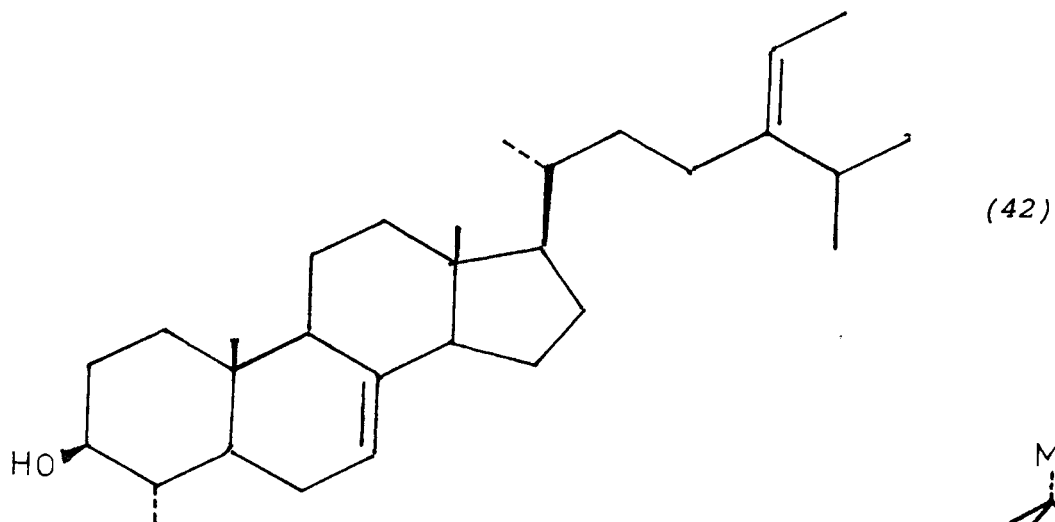
Continuación cuadro #13

---

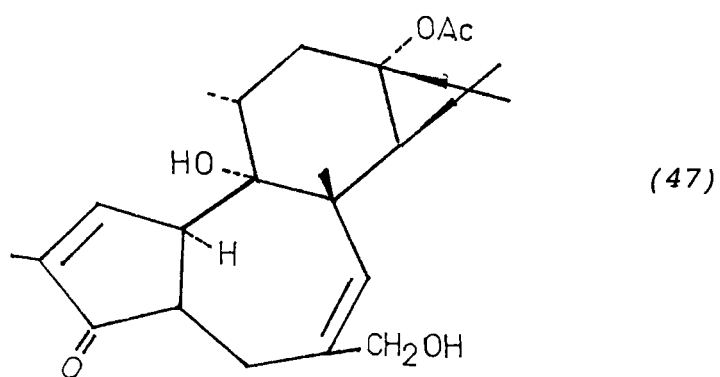
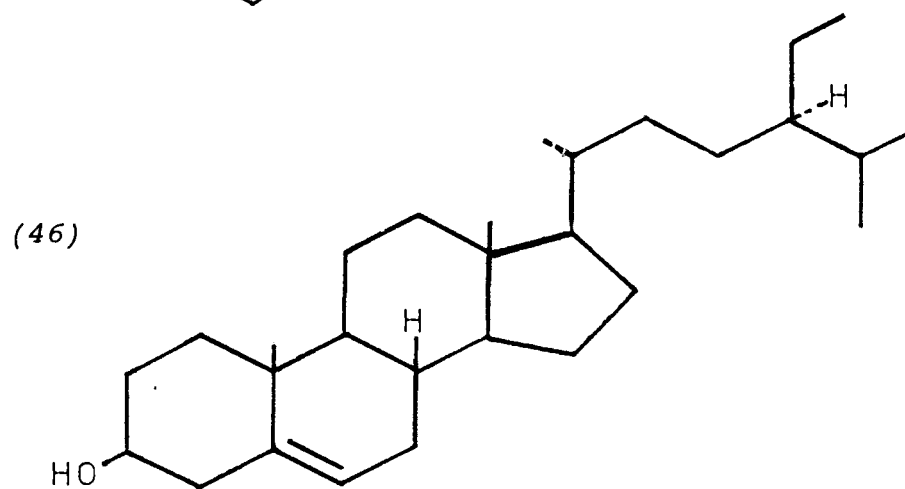
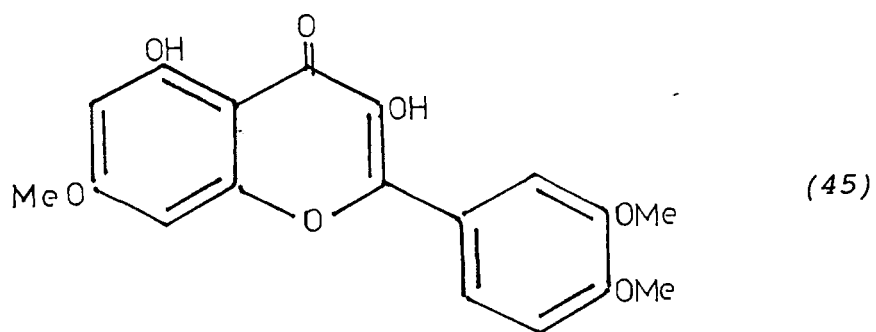
---



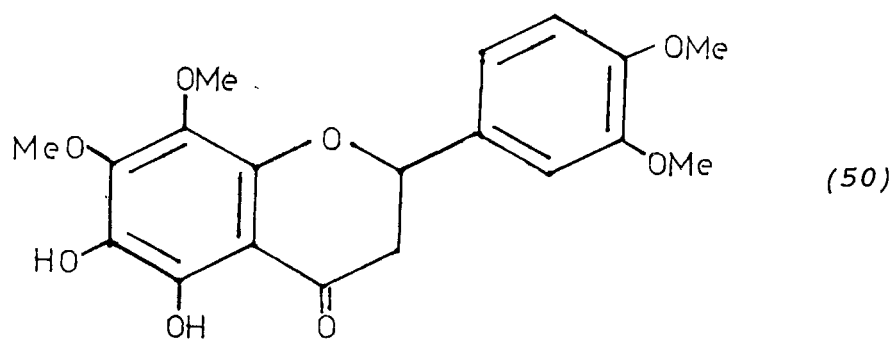
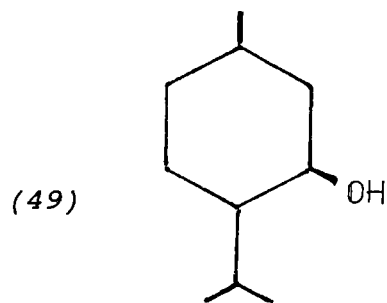
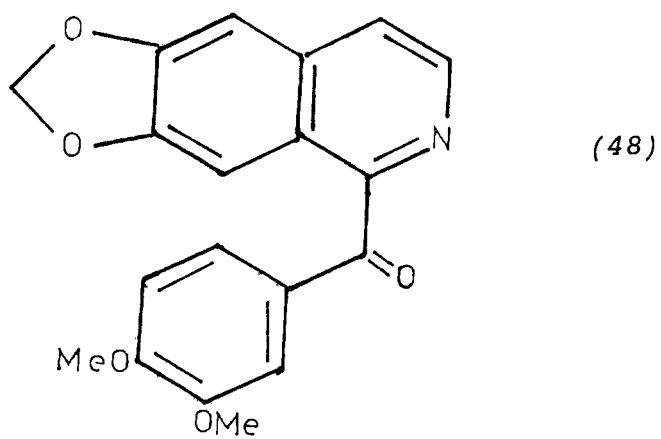
Continuación cuadro #13



Continuación cuadro #13



Continuación cuadro #13



Respecto a la *Larrea divaricata*, los extractos de tallos y hojas contienen una mezcla de ésteres alquílicos ( $C_{48}-C_{56}$ ), constituida por ácidos grasos ( $C_{22}-C_{32}$ ) y alcoholes primarios ( $C_{24}-C_{30}$ ) (Seigler, D.S.; et al.; 1974). También se encontraron esteroides libres como el (39) colesterol, (40) campesterol, (41) stigmasterol, (42) sitosterol (ver cuadro #13) y otros dos esteroides no identificados; además se aislaron 4 glicósidos, la estructura de una de las agliconas, (43) larreageanina A (ver cuadro #13) puede ser isomerizada a ácido larreico (Habermehl, G.; et al.; 1974). En el extracto de *L. divaricata* se detectó un grupo de 9-flavonol agliconas (Timmermann, B.N.; et al.; 1979), incluidos (44) el kaempferol, (45) quercetina (ver cuadro #13) y éteres metílicos, además tres flavonoides-O-glicósidos de quercetina y miricetina, y un C-glicósido de apigenina. Quizá podríamos asociar la actividad biológica de los extractos de esta planta a su contenido de flavonoides. En el caso de la flavona quercetina, a este compuesto ya se le ha demostrado actividad antimicrobiana (Afifi, et al.; 1991), lo mismo que a la miricetina (Aumente, et al.; 1988).

Otra de las especies que ha sido estudiada químicamente es la *Datura candida*, de la cual se han aislado alcaloides tropánicos como la 6,7 epoxilitorina (Griffin, W.J.; 1992); debido a que no se ha comprobado actividad antimicrobiana para este tipo de metabolitos secundarios, no es posible especular

que estos compuestos sean los responsables del efecto encontrado para la planta, y lo más probable es que los principios activos antimicrobianos sean de otra naturaleza química.

Por otra parte la *Euphorbia prostrata* contiene (46)  $\beta$ -sitosterol (ver cuadro #13), trazas de stigmasterol, cicloart-3 $\beta$ , 25-diol, ésteres metílicos de ácidos grasos C<sub>30</sub> y C<sub>32</sub>, además de algunos aminoácidos (Singla, A.K.; et al.; 1991). Contiene también tres elagitaninas, (47) prostratinas A (I), B(II) y C(III), con once polifenoles incluídos tres oligómeros de (48) taninas hidrolizables (rugosinas D, E y G) (Yashida Takashi; et al.; 1990). Tomando como base el hecho de que los fenoles o derivados fenólicos poseen capacidad antiséptica, tentativamente se asocia la actividad biológica de esta especie a su contenido de polifenoles y taninas hidrolizables.

Respecto a las especies del género *Buddleia*, se aislaron compuestos de diferentes grupos tales como sesquiterpenos, fenilpropanoides, glicósidos, lignanos y neoligninas (Houghton, Peter J.; 1986), que pueden ser los responsables de la actividad antibiótica de la *Buddleia sessiliflora*.

En cuanto a la *Mentha piperita*, se han aislado aceites esenciales de los cuales es muy importante el (49) mentol (ver cuadro #13); también algunos flavonoides altamente oxigenados como el grupo de seis flavonas de las cuales cinco

son conocidas, la 5-hidroxi-6,7,8,4'-tetrametoxiflavona, 5,4'-dihidroxi-6,7,8-trimetoxiflavona, 5,3'-dihidroxi-6,7,8,4'-tetrametoxiflavona, 5-hidroxi-6,7,8,3',4'-pentametoxiflavona, 5,3',4'-trihidroxi-6,7,8-trimetoxiflavona y la sexta flavona que se identificó como (50) 5,6-dihidroxi-7,8,3',4'-tetrametoxiflavona (Jullien F., Voirin Bernard; 1984) (ver cuadro #13). Se aislaron también dos flavonoides llamados eriodictiol 7-O-rutinosida y luteolina 7-O-rutinosida (Hoffmann, Virgit G.; Lunder, Lidio T.; 1984); cabe mencionar que tanto al mentol (aceite esencial) como a algunos de los flavonoides, se les ha comprobado actividad antibiótica (Dikshit, A.; Hussain, A.; 1984).

Las especies restantes *Prunus persica* (Durazno), *Acalipha* sp. (Hierba del cáncer), *Stevia eupatoria* (Hierba del borrego), *Trifis* sp. (Candelilla), *Equisetum robustum* (Cola de caballo), *Bursera simaruba* (Cáscara amarga), *Trigonella foenum-graecum* (Fenogreco) y *Triumfetta semitriloba* (Cadillo), hasta la fecha no han sido objeto de estudios fitoquímicos, razón por la cual no es posible proponer hipótesis alguna con relación a la naturaleza química de los principios activos.

Finalmente, resulta conveniente presentar algunas consideraciones con relación a la susceptibilidad de los microorganismos empleados en el estudio:

\* Los microorganismos más susceptibles fueron *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*, ya que todas las



especies evaluadas inhibieron su crecimiento en mayor o menor grado.

\* Es interesante observar que sí hubo susceptibilidad mayor por parte de los microorganismos Gram positivos, como en el caso de los antibióticos de uso clínico. Si se toma en cuenta que los estafilococos son los responsables de más del 80% de las enfermedades supurativas que se encuentran en la práctica médica, y que provocan la mayoría de las enfermedades de la piel, pudiendo también invadir y producir infecciones severas en otras partes del cuerpo (Zinsser, 1989); se justifica el uso tópico de los extractos de plantas activas contra este microorganismo para el tratamiento de estas enfermedades. Respecto al *Bacillus subtilis*, este se encuentra en el aire, polvo, agua salada e infusión de material vegetal (Zinsser, 1989); también se encuentra en los niveles inferiores del intestino delgado (Burdon, Williams; 1985) y habitualmente es un contaminante común de laboratorio, siendo capaz de producir infección en huéspedes comprometidos; también se ha visto en bacteremias importantes e infecciones oculares en adictos a la heroína (Zinsser, 1989); al observar la actividad que presentan los extractos de las plantas contra este microorganismo, se justifica su uso oral contra las enfermedades mencionadas.

\* En cuanto a la *Pseudomonas aeruginosa*, las especies *Buddleia sessiliflora*, *Triumfetta semitriloba*, *Piqueria*

*trinervia*, *Equisetum robustum*, *Larrea divaricata*, *Bursera simaruba* y las especies no identificadas Hierbamora y Cuapinole, presentaron actividad; debido a que este microorganismo es causante del 10 al 20% de las infecciones hospitalarias, y ha reemplazado al *Staphylococcus aureus* como el principal patógeno en pacientes con fibrosis quística, además de que frecuentemente se ha aislado de individuos con enfermedad neoplásica (por estar inmunodeprimidos) o con quemaduras severas (Zinsser, 1989); se recomendaría su uso para este tipo de infecciones intrahospitalarias.

\* Es notorio observar que ningún extracto inhibió el desarrollo de la *Escherichia coli*, se recomendaría estudiar otras especies vegetales, puesto que la *Escherichia coli* es el microorganismo facultativo predominantemente encontrado en el intestino grueso del hombre, y es el bacilo entérico más frecuentemente aislado en laboratorio. Es único entre otros patógenos oportunistas que se asocia con enfermedad gastrointestinal humana, particularmente en niños, y viajeros a naciones en desarrollo, donde la higiene y la salud pública son deficientes. La *Escherichia coli* enteropatógena puede producir diarrea por un tercer método además de la invasión y producción de enterotoxinas; recientemente estudios hechos han demostrado que es capaz de producir diarrea caracterizada por la destrucción de microvellosidades. La *Escherichia coli* es la causa más común de infección en las vías urinarias en el

hombre, puede causar neumonía, meningitis neonatal (rara vez en poblaciones de mayor edad), y es la causa más frecuente de sepsis por Gram negativos, es también el principal microorganismo aislado de hemocultivos en muchos hospitales (Zinsser, 1989).

\* La *Larrea divaricata* y el *Chenopodium ambrosioides* fueron las únicas especies que presentaron efectos contra la *Candida albicans*, el uso tópico de estos extractos se justifica por ser este microorganismo miembro de la flora normal de la piel, mucosas y tracto gastrointestinal; además de que durante el nacimiento o poco después de él, todos los humanos adquieren o son colonizados por diversas especies de *Candida*, y de esta manera claramente el riesgo de infección endógena está siempre presente; este tipo de infecciones de la piel ha tomado mayor relevancia en la actualidad por ser una infección comunmente asociada al SIDA; de hecho la candidiasis es la micosis sistémica más común y de incidencia mundial (Zinsser, 1989).

59

### CONCLUSIONES

1. Los resultados encontrados fueron altamente satisfactorios ya que todas las plantas evaluadas presentaron actividad antimicrobiana; lo cual tiende a apoyar el uso etnomédico que como agentes antimicrobianos, se les da a las especies objeto de este estudio.

### RECOMENDACIONES

1. Aún cuando estos resultados no son definitivos, se pueden considerar como punto de partida para investigaciones posteriores avocadas a la evaluación antimicrobiana en su fase cuantitativa. También se recomienda realizar evaluaciones con otro tipo de microorganismos y con cepas patógenas.

2. Se sugiere el estudio de otras plantas medicinales con fines antisépticos y que al igual que las especies vegetales que se estudiaron, pueden constituir fuentes potenciales valiosas de principios activos antimicrobianos.

## BIBLIOGRAFIA

- \* Afifi, F. U.; Al-Khalil, S.; Abdul-Haq, K.; Mahasneh, A.; Al-Eisawi, D. M.; Sharaf, M.; Schiff, P.; Antifungal flavonoids from *Varthemia iphionoides*; Phytotherapy Research 5, 173-175 (1991).
- \* Almagboul, A. Z.; et al.; Antimicrobial activity of certain Sudanese plants used in folckloric medicine. Screening for antibacterial activity (II); Fitoterapia, 56; 103-109 (1988).
- \* Aumente, M.; Ayuso, M.; García, M.; Toro, M.; Les flavonols isoles d'Erica andevalensis cabezudo rivera: Contribution a l'etude de l'activite antimicrobienne de l'espece; Plant. Med. Phytothér 22; 113-118 (1988).
- \* Begit, W. J.; Kline, R. M.; Journal of Chromatography 64; 182-3 (1972).
- \* Burdon, K.; Williams, R.; Microbiología; Publicaciones Cultural, S. A. México pp. 514, 521-524, 563, 574, 603-604 (1986).
- \* Dikshit, A.; Hussain, A.; Fitoterapia 55 (3); 171-176 (1984).

\* Dusinsky, G.; Tyllova, M.; Phytotherapy 6; 57  
(1962).

\* Encarnación Dimayuga, R.; Avances de la investigación farmacognóstica de los recursos naturales de Baja California; Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas; 11-15 (1984).

\* Encarnación Dimayuga, R.; Keer García, S.; Halfdan Nielsen; Carsten Christophersen; Traditional medicine of Baja California Sur (México) III. Carnosol: A diterpene antibiotic from *Lepechinia hastata*. Journal of Ethnopharmacology 31, 43-48 (1991).

\* Godinez C., S.; Tesina Profesional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. México (1992).

\* González de la Parra, M.; et al.; Journal Chemistry Ecology 7 (3); 509-15 (1981).

\* Griffin, W. J.; Phytochemistry 31 (1); 367-8 (1992).

\* Habermehl, G.; et al.; Phytochemistry 13 (7); 1293-4 (1974).

- \* Habermehl, G.; et al.; Phytochemistry 2; 169-75 (1974).
- \* Heinrich, M.; Kuhnt, M.; Wright, C.; Rimpler, H.; Phillipson, J.D.; Schandelmaier, A.; Warhurst, D.; Parasitological and microbiological evaluation of Mixe Indians medicinal plants; Journal of Ethnopharmacology 36, 81-85 (1992).
- \* Hoffmann, Virgit G.; Lunder, Lidio T.; Plant. Med. 50 (4); 361 (1984).
- \* Houghton, P. J.; Dev. Drugs Mod. Med.; 95-9 (1986).
- \* Jullien, F.; Voirin, B.; Bernillon, J.; Favre-Bonvin, J.; Plant. Med. Phytothér 3; 15-23 (1980).
- \* Lemos, T.L.; Matos, F.J.; Alencar, J.W.; Craveiro, A. A.; Clark, A.M.; McChesney, J.D.; Antimicrobial activity of essential oils of brazilian plants; Phytotherapy Research 4, 82-84 (1990).

\* Lozoya, X.; Navarro, V.; García, M.; Zurita, M.; *Solanum chrysotrichum* (Schldl.) a plant used in Mexico for the treatment of skin mycosis; Journal of Ethnopharmacology 36, 127-132 (1992).

\* Martínez, M.; Las Plantas Medicinales de México. Ed. Botas. México, pp. 110, 127, 133, 139, 143, 163, 164, 167, 179, 229, 244, 324, 385, 392, 393, 406, 410, 429, 433, 470 (1990).

\* Mitscher, L.; Drake, S.; Gollapudi, S.; Okwute; A modern look at folcloric use of anti-infective agents; Journal of Natural Products 50, 1025-1040 (1987).

\* Mitscher, L.; Rao, R.; The search for new antimicrobial agents: Unusual sources; Natural Products and Drugs Development 20, 195-207 (1984).

\* Mitscher, L.; Ruey-ping, L.; Mohindar, S.; Wu-nan, W.; Beal, J.L.; Antimicrobial agents from higher plants. I.; Lloydia 35, 157-165 (1972).

\* Mitscher, L.; Wu-nan W.; Doskotch, R.; Beal, J.; Antimicrobial agents from higher plants. II. Alkaloids from *Thalictrum rugosum*; Lloydia 35, 167-175 (1972).



\* Pelczar, M.; Reid, R.; Chan, E.; Microbiología, Mc Graw Hill. México pp. 408-432 (1982)..

\* Pérez, G.; Avila, A.; Pérez G.; Martínez, C.; Martínez, C.; Antimicrobial activity of some american algae; Journal of Ethnopharmacology 29, 111-116 (1990).

\* Recio, M.; Ríos, J.; Villar, A.; Antimicrobial activity of selected plants employed in the Spanish Mediterranean area. Part II; Phytotherapy Research 3, 77-80 (1989).

\* Ríos, J.; Recio, M.; Villar, A.; Screening methods for natural products with antimicrobial activity: A review of the literature; Journal of Ethnopharmacology 23, 127-149 (1988).

\* Rojas M., A.; Constituyentes bioactivos de la *Ratibida latipalearis* y evaluación de la actividad antimicrobiana potencial de varios metabolitos secundarios aislados de plantas mexicanas usadas en la medicina tradicional. Tesis de Maestría; Facultad de Química, UNAM, México (1990).

\* Rojas, A.; Hernández, L.; Pereda-Miranda, R.; Mata, R.; Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants; Journal of Ethnopharmacology 35, 275-285 (1992).

\* Romo, J.; Romo de Vivar, A.; Quijano, L.; Ríos, T.; Díaz, E.; Revista Química Latinoamericana 1 (2); 78-81 (1970).

\* Romo, J.; Tello, H.; Revista Química Latinoamericana 3 (3); 122-6 (1972).

\* Salt, T. A.; et al.; Lipids 13 (3); 313-17 (1985).

\* Sánchez Viesca, F.; Romo, J.; Estafiatina, nueva lactona sesquiterpénica aislada de *Artemisia mexicana*. Lloydia 9; 203 (1963).

\* Seigler, D. S.; et al.; Phytochemistry 13 (6); 983-6 (1974).

\* Singla, A. K.; et al.; Fitoterapia 62 (5); 453-4 (1991).

\* Timmermann, B. N.; et al.; Revista Química Latinoamericana 10 (2); 81-3 (1979).

\* Trease, E.; Evans, W.; Farmacognosia; Interamericana Mc Graw Hill, México pp. 458, 694, 695, 728, 729, 730 (1991).

\* Wolfgang, K.; Willett, H.; Amos, D.; Zinsser Microbiología; Editorial Médica Panamericana; Argentina pp. 519-521, 697-700, 728-733, 777-778, 1334-1338 (1989).

\* Yashida, Takashi; et al.; Chem. Pharm. Bull 38 (12); 3296-302 (1990).