

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO



ANÁLISIS DEL EFECTO ANTIFÚNGICO DE 20 EXTRACTOS DE
PLANTAS

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGÍA

POR

MARIA DE LOS ANGELES VERASTEGUI MONTEMAYOR

MONTERREY, N. L. MEXICO

MARZO DE 1995

TM

Z5320

FCB

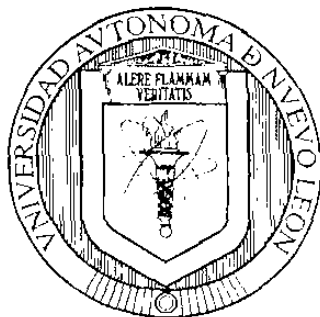
1995

V4



1020091523

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO



**ANÁLISIS DEL EFECTO ANTIFÚNGICO DE 20 EXTRACTOS DE
PLANTAS**

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGÍA

POR

MARIA DE LOS ANGELES VERASTEGUI MONTEMAYOR

MONTERREY, N. L. MEXICO

MARZO DE 1995

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

ANÁLISIS DEL EFECTO ANTIFÚNGICO DE 20 EXTRACTOS DE PLANTAS

TESIS
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER DEL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGÍA

POR

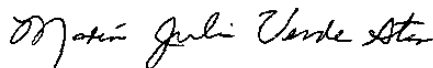
MARIA DE LOS ANGELES VERASTEGUI MONTEMAYOR

APROBADA

COMISION DE TESIS



DR. JOSÉ SANTOS GARCÍA ALVARADO
PRESIDENTE

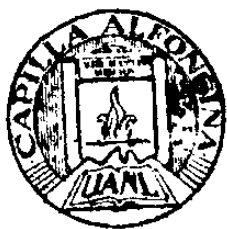


DRA. MARÍA JULIA VERDE STAR
SECRETARIO



M.C. LICET VILLARREAL TREVINO
VOCAL

TM
Z5320
FCB
1995
V4



FONDO TESIS

167087

ANALISIS DEL EFECTO ANTIFUNGICO DE 20 EXTRACTOS DE PLANTAS

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZO BAJO LA DIRECCION DEL DR. JOSE SANTOS GARCIA ALVARADO Y LA ASESORIA DE LA M.C. NORMA LAURA HEREDIA ROJAS Y DE LA M.C. GRACIELA GARCIA DIAZ. EN EL LABORATORIO DE BIOQUIMICA Y GENETICA DE MICROORGANISMOS DEL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA U.A.N.L.

DEDICATORIA

**A MI ESPOSO ENRIQUE. MIS HIJAS VANESSA Y MARIANA
CON TODO MI AMOR POR SU APOYO EN MI SUPERACION PERSONAL**

**A MI MADRE LILA MONTEMAYOR DE VERASTEGUI Y HERMANOS.
ESPECIALMENTE A MYRNA CON MUCHO CARIÑO POR AYUDARME EN MIS
MOMENTOS DIFICILES.**

**A MIS ASESORES
DR. JOSÉ SANTOS GARCIA Y M.C. NORMA L. HEREDIA POR SU PACIENCIA,
ENTREGA Y AMISTAD.**

**A MIS AMIGOS
POR PROPORCIONARME EL ESTIMULO NECESARIO PARA LOGRAR MI META.**

AGRADECIMIENTOS

Mi eterno agradecimiento a mis asesores Sr. José Santos García y M.C. Norma L. Heredia por demostrarme que con disciplina, tenacidad y buena voluntad se puede lograr todo.

Agradezo sinceramente a la M.C. Graciela García Díaz por su excelente asesoría y a mis compañeros de laboratorio: Licet Villareal, Cesar Sánchez, Susan García, Luis Rodríguez, Mely Vela, Ramiro Luevanos, Gerardo García, Ma. del Carmen Higareda por su comprensión y ayuda prestada en todo momento.

A la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo Leon por abrirme sus puertas.

INDICE DE CONTENIDO

Página

| | |
|-----------------------------|-----|
| Dedicatoria ----- | I |
| Agradecimientos ----- | II |
| Indice de Contenido ----- | III |
| Lista de Figuras ----- | IV |
| Lista de Tablas ----- | V |
| Lista de Abreviaturas ----- | VI |
| Resumen ----- | 1 |
| Introducción ----- | 2 |
| Hipótesis ----- | 4 |
| Objetivo ----- | 4 |
| Antecedentes ----- | 5 |
| Material y Métodos ----- | 16 |
| Resultados ----- | 22 |
| Discusión ----- | 36 |
| Conclusiones ----- | 38 |
| Literatura Citada ----- | 39 |

LISTA DE FIGURAS

| | Página |
|--|--------|
| 1.- Efecto de <i>Agave lechuguilla</i> Torr. (raíz) sobre el crecimiento de hongos levaduriformes.----- | 25 |
| 2.- Efecto de <i>Agave lechuguilla</i> Torr. (raíz) sobre el crecimiento hongos filamentosos y actinomicetos ----- | 25 |
| 3.- Efecto de <i>Agave lechuguilla</i> Torr. (hojas) sobre el crecimiento de hongos levaduriformes ----- | 26 |
| 4.- Efecto de <i>Agave lechuguilla</i> Torr. (hojas) sobre el crecimiento de hongos filamentosos y actinomicetos ----- | 26 |
| 5.- Efecto de <i>Baccharis glutinosa</i> Pers. sobre el crecimiento de hongos filamentosos y actinomicetos ----- | 27 |
| 6.- Efecto de <i>Larrea tridentata</i> D.C. sobre el crecimiento de hongos filamentosos y actinomicetos ----- | 27 |
| 7.- Cromatograma del extracto de <i>Agave lechuguilla</i> (hojas) observada con luz ultravioleta ----- | 30 |
| 8.- Cromatograma del extracto de <i>Baccharis glutinosa</i> observadas con luz ultravioleta ----- | 31 |
| 9.- Cromatograma del extracto de <i>Larrea tridentata</i> observada con luz ultravioleta ----- | 32 |

LISTA DE TABLAS

| | Página |
|--|--------|
| 1.- Plantas analizadas ----- | 17 |
| 2.- Efecto de extractos de plantas sobre el crecimiento de levaduras ----- | 23 |
| 3.- Efecto de extractos de plantas sobre el crecimiento de hongos filamentosos y actinomicetos ----- | 24 |
| 4.- CMI de los extractos de plantas sobre los microorganismos probados-- | 28 |
| 5.- Separación preliminar mediante cromatografía en capa fina con extractos de plantas ----- | 29 |
| 6.- Separación por cromatografía en capa fina del extracto de Agave lechuguilla (raíz) usando como eluente una mezcla de cloroformo y metanol 9:1 ----- | 33 |
| 7.- Separación por cromatografía en capa fina del extracto de Agave lechuguilla (hojas) usando como eluente una mezcla de cloroformo y metanol 9:1 ----- | 33 |
| 8.- Separación por cromatografía en capa fina del extracto de Baccharis glutinosa usando como eluente una mezcla de cloroformo y metanol 9:1----- | 34 |
| 9.- Separación por cromatografía en capa fina del extracto de Larrea tridentata usando como eluente una mezcla de cloroformo y metanol ----- | 35 |

ABREVIATURAS

| | |
|-----------|----------------------------------|
| A_{600} | Absorbancia a 600 nm. |
| CMI | Concentración mínima inhibitoria |
| °C | Grados centígrados |
| h | Hora |
| m | Metro |
| mg | Miligramos |
| min | Minutos |
| ml | Mililitros |
| mm | Milímetros |
| μ l | Microlitros |
| μ m | Micrómetros |
| P/V | Peso por volúmen |
| % | Por ciento |
| Rf | Relación de frentes |
| rpm | Revoluciones por minuto |

RESUMEN

Muchos de los medicamentos antifúngicos actuales aunque efectivos han mostrado toxicidad, registrado alérgias y además han provocado resistencia en los organismos blanco. lo que reduce las alternativas existentes. El objetivo de este trabajo fué analizar la actividad antifúngica de 20 extractos de plantas utilizadas tradicionalmente en enfermedades que pueden ser causadas por hongos. Se determinó por varios métodos el efecto inhibitorio de los extractos sobre 6 especies de hongos levaduriformes, 5 especies de hongos filamentosos y 2 actinomicetos. Además se estableció la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos con actividad antifúngica.

De los 20 extractos examinados, los de *Agave lechuguilla*, *Baccharis glutinosa* y *Larrea tridentata* mostraron tener efecto inhibitorio contra varios de los microorganismos estudiados en las concentraciones analizadas. El de mayor efecto fue el de la raíz de *A. lechuguilla* que inhibió a todos los organismos estudiados excepto *C. krusei* y mostró un promedio de las CMI de $4.5\text{mg/ml} \pm 1.0$. Con efecto menor pero con el mismo espectro de organismos fue el de las hojas de la misma planta que mostró un promedio de CMI de $9.7\text{ mg/ml} \pm 1.4$. El de *B. glutinosa* inhibió a todos los microorganismos con excepción de las levaduras y presentó un promedio de CMI de $14.0\text{ mg/ml} \pm 2.0$. Un espectro similar mostró el extracto de *L. tridentata* con un promedio de CMI de $17.1\text{ mg/ml} \pm 2.6$. Por cromatografía en capa fina se aislaron las fracciones con actividad antifúngica de los 3 extractos. Consideramos que este trabajo y estudios posteriores propondrán más opciones para que en un futuro cercano sean utilizados más fármacos de origen vegetal, extraídos de plantas regionales, con acción eficaz y menor toxicidad y efectos secundarios que los actualmente conocidos.

INTRODUCCION.

A partir de 1980 la incidencia de las infecciones fúngicas se ha incrementado paralelamente al desarrollo de la medicina moderna. Esta tendencia se atribuye en parte, a las nuevas estrategias terapéuticas que se aplican en diferentes situaciones clínicas; por ejemplo los tratamientos inmunosupresores previos a trasplantes, la quimioterapia en cáncer y los tratamientos con medicamentos como antibióticos, corticosteroides y citotóxicos (45). Añadiendo a lo anterior, el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) que se proyecta en forma logarítmica nos revela un panorama preocupante que exige nuevas y mejores demandas terapéuticas (12).

Los actuales medicamentos antifúngicos aunque efectivos, presentan problemas o desventajas tales como el que algunos son muy tóxicos, otros producen alergias y algunos más han provocado resistencia en los organismos blanco (33). Esto reduce el número de alternativas terapéuticas existentes, lo que nos motiva a buscar nuevas opciones en el campo micológico.

La raza humana ha dependido de las plantas ya que desde hace mucho tiempo han servido como fuente de agentes medicinales debido a que contienen una gran cantidad de diversos metabolitos que varían en complejidad química y actividad biológica. Actualmente los productos naturales incluyendo sus derivados y análogos representan más del 50% de todas las drogas de uso clínico (6).

En numerosas ocasiones los registros folklóricos de muchas culturas han proporcionado gran ayuda en la búsqueda de plantas con propiedades medicinales (27,54,56). Nuestros antepasados nativos usaron plantas como venenos, medicinas etc., y actualmente esos extractos se utilizan para producir numerosos compuestos purificados que son indispensables en la medicina moderna. Un ejemplo son los alcaloides del "curare" obtenidos de parras sudamericanas que eran usados por los nativos para fabricar flechas envenenadas. Una utilidad similar se obtenía de la especie de *Strophantus africanus*, sin embargo esta planta posteriormente proporcionó glucósidos cardíacos que se usan en medicina. Las raíces de *Rawolfia serpentina*, una planta de la india, se usaron por siglos como planta medicinal por los nativos y su principal principio activo el reserpina es actualmente empleado en medicina como tranquilizador y antihipertensivo. Similarmente otras plantas bioactivas y venenosas con historia folklórica han proporcionado una

gran diversidad de medicamentos por ejemplo: codeína, morfina, quinina, atropina, escopolamina, efedrina, cocaína, teofilina, vincristina, etc.

Las plantas continúan siendo importante fuente de nuevas drogas y como evidencia reciente tenemos el metabolito secundario "taxol", un derivado diterpenoide anticanceroso extraído del casi extinto árbol *Taxus brevifolia*. Este compuesto ha sido aprobado recientemente en E.U. A. para el tratamiento del cáncer ovárico.

También recientemente, en E. U. A., se aprobó el uso de varios derivados de la marihuana (*Cannabis sativa*) para el tratamiento de la náusea provocada por la terapia cancerosa. Los cannabinoides también se usan en el tratamiento de glaucomas y desórdenes neurológicos como la epilepsia, además como antihipertensivos, antiasmáticos (broncodilatadores) y analgésicos (31).

El 85% de las especies de plantas en el mundo han sido pobremente estudiadas en cuanto a su actividad biológica, dando margen a un enorme campo por investigar (56). La flora de México es una de las más variadas de la Tierra, pues en su territorio están representados todos los grandes biomas que se han descrito de la superficie de nuestro planeta, desde los desiertos hasta las densas y frondosas selvas pasando por páramos de altas montañas, pastizales, bosques de coníferas, etc. La ubicación y la forma del territorio de México tienen características notables, sus dos millones de kilómetros cuadrados de extensión se hallan distribuidos en ambos lados del trópico de Cáncer. Sin ser una isla, el mar baña sus costas por el oeste, sur, este y en algunos sitios también en el norte. Su relieve se encuentra entre los más accidentados del planeta, donde más del 50% tiene altitudes mayores de 1000 m sobre el nivel del mar (43).

El resurgimiento de la terapia a base de plantas constituye una vía alternativa para evitar los efectos adversos de los compuestos sintéticos tanto en plano médico como en el económico, ya que la ventaja de la medicina natural nos proporciona una sustancia química activa que presenta un equilibrio fisiológico más asimilable por el organismo que aquellos obtenidos por quimiosíntesis (23). La diversidad de flora en México ofrece un gran campo de investigación de la actividad antimicrobiana de plantas que debe ser aprovechado.

HIPOTESIS

Los extractos de 20 plantas de diferentes especies muestran actividad antimicrobiana

OBJETIVOS

- 1) Analizar el efecto antimicrobiano de 20 extractos de plantas, usadas tradicionalmente como tratamiento contra enfermedades causadas por hongos.
- 2) Determinar la concentración mínima inhibitoria de los extractos con potencial antimicrobiano.
- 3) Separar los principales compuestos de los extractos y determinar su efecto antimicrobiano.

ANTECEDENTES

Se puede afirmar que el uso general de las plantas se remonta a 60.000 años y de esto hay evidencia en restos arqueológicos en la cueva del hombre de Neanderthal. donde se encontraron fósiles de 8 especies de plantas. También hay pruebas de que hace mucho tiempo los chinos, sumerios, asirios, griegos y egipcios entre otros, usaban plantas medicinales.

Nuestros antepasados nos legaron libros con información recabada por muchos años sobre las propiedades medicinales de las plantas. entre ellos tenemos: La Biblia que describe 200 plantas medicinales, el papiro de Eber incluye 3,500 plantas, Teofrasto nos heredó "La historia de las plantas", Discórides escribió "De materia Médica". Plinio publicó "Historia Natural" con 47 volúmenes cubriendo la descripción de más de 1000 plantas y Galeno escribió "Medicina y Farmacia" que consiste en 20 libros (18).

Los aztecas mantenían sus jardines botánicos donde cultivaban plantas no solo con fines ornamentales sino terapéuticos, ellos creían poseer una planta para el tratamiento de cada enfermedad que existía en aquellos tiempos.

Durante muchos años, las plantas se usaron empíricamente contra muchos padecimientos y a medida que se implementaron técnicas microbiológicas y fitoquímicas su estudio se volvió más profundo y serio.

Una de las plantas más estudiadas es el ajo (*Allium sativum*) que tiene una larga historia en el uso medicinal, ya que desde hace 2.000 años aparecía en la literatura china. Varios siglos después, en Egipto se usó contra muchos padecimientos. Aristóteles e Hipócrates lo mencionaban como altamente potente contra varios padecimientos.

Moore y Atkins en 1977 analizaron el efecto antifúngico de esta planta contra cepas levaduriformes del género *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Torulosis* y *Trichosporum*. Las técnicas analíticas utilizadas fueron las de dilución y difusión y se comprobaron las propiedades fungistáticas y fungicidas del compuesto (39).

Más recientemente Davis y su equipo estudiaron el efecto terapéutico antifúngico del ajo en pacientes con meningitis. Ellos demostraron una actividad positiva del compuesto en 4 de las 5 muestras de líquido cefalorraquídeo provenientes de los pacientes. Sin embargo, los efectos

adversos que se observaron fueron dolor e incomodidad abdominal, náusea y tromboflebitis en 25% de los pacientes (17).

Daniels en 1965 estudió plantas de la familia de las Compuestas confirmó su acción antibiótica contra *Candida albicans* debido a la presencia de poliacetilenos y sus derivados tiofenos. Se determinó que la acción antibiótica del primero aumentó al aplicarse luz ultravioleta ya que ese era convertido en el correspondiente tiofeno (15).

En un estudio de compuestos activos con actividad antibacteriana, El-Gammal y Mansour estudiaron 6 flavonoides (sustancias producidas por plantas en respuesta a un estrés o infección), a los cuales se les determinó su estructura química y su actividad antimicrobiana. Estos fueron probados en 14 organismos bacterianos y fúngicos. Fue evidente que todos los hongos examinados fueron sensibles, no así las bacterias ya que algunas demostraron resistencia hacia alguno de los compuestos probados (20).

Por otro lado Martino (1988) estudió compuestos polifenólicos de *Achyrocline tomentosa*; él aisló flavonoides y derivados del ácido cafeico a partir de extractos metanólicos y cetónicos, utilizando técnicas de espectroscopía y cromatografía (36).

Así también se han realizado estudios mediante métodos analíticos y espectrométricos de los componentes de *Artemisia arborescens*. Estos han originado el aislamiento de 40 fracciones, de los cuales 4 son lignanos y uno es un flavonoide (artemetina). Se demostró que la planta tenía actividad biológica por sus lactonas sesquiterpénicas con actividad citotóxica y antitumoral (8).

También se ha demostrado que las fitoalexinas de la zanahoria alteran la permeabilidad de la membrana de *C. albicans* y de liposomas multilaminares. Mediante la incorporación de timidina y leucina radioactiva, se observaron los efectos tóxicos sobre las células susceptibles debido a la inhibición del transporte electrónico en la mitocondria (2).

Recientemente Elías (1991) aisló 4 nuevas saponinas triterpenoides de las hojas de *Hedera helix*, a esos compuestos se les probó su efecto microbicida y mostraron actividad antifúngica, antihelmínticas y antileishmánica. Se estableció que estos compuestos están relacionados a la hederagenina y ácido oleanólico (21).

Se ha establecido la metodología para la detección directa de compuestos antibacterianos en placas de cromatografía de capa fina, lo cual fue demostrado por Hamburger y Cordell en 1987. En este caso, la placa con los productos naturales separados, fue cubierta con una

suspensión de microorganismos. Esta se incubó en ambiente húmedo permitiendo el desarrollo del microbio. Las zonas de inhibición fueron visualizadas detectando la actividad antimicrobiana mediante el uso de un reactivo (26).

Ríos y su equipo en 1988 efectuaron una revisión de la literatura para determinar los métodos usados para probar la actividad antimicrobiana de productos naturales. El resultado indicó, que los métodos básicamente son tres: difusión, dilución y autobiográficos. Cada uno tiene variantes o modificaciones que los hace adecuados dependiendo de las características de la sustancia o microorganismo a analizar (46).

Morris y colaboradores (1978) determinaron la actividad antimicrobiana de fragancias de jabón demostrando que actúan de una manera similar o aun mejor que los agentes bacteriostáticos conocidos. Este estudio se hizo *in vitro* utilizando cepas bacterianas y fúngicas, y se utilizó el método de difusión con discos impregnados de la fragancia. De 521 fragancias probadas el 44% de ellas presentaron efecto inhibitorio contra uno de los organismos probados. (40)

Por otro lado en 1980 Van Hoof y su equipo investigaron la actividad antibacteriana, antifúngica y antiviral del extracto de las hojas de álamos del género *Populus*. Los hongos probados fueron: *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium canis* y *Candida albicans*, los cuales se inhibieron en diferentes grados de acuerdo a las hibridaciones sufridas por el extracto. En estos experimentos se utilizaron métodos de dilución y difusión con orificios en el agar (55).

En 1982 Azzouz y Bulleman publicaron los resultados de un análisis antimicrobiano de 16 hierbas y especias, usadas comunmente en los alimentos. Su actividad fué comparada con el de agentes antifúngicos comerciales. Las especies que han mostrado actividad antimicrobiana fueron el clavo y la canela entre otros (3).

También Conner y Beuchat en 1984 determinaron el efecto de 32 aceites de hierbas y especias sobre el crecimiento de 13 levaduras de uso industrial. Ellos utilizaron métodos de difusión con discos impregnados de las muestras. De entre los productos que mostraron un efecto inhibitorio más fuerte fueron el ajo y el orégano. Se llegó a la conclusión, que algunos aceites esenciales pueden inhibir el crecimiento, sin embargo otros lo pueden estimular (14).

Por otro lado en una revisión de la literatura realizada sobre la actividad antimicrobiana de aceites esenciales, Janssen determinó que la volatilidad, solubilidad y complejidad son factores

que dificultan su utilización. El afirmó que existen 4 factores especialmente importantes, que se deben tomar en cuenta para el análisis con aceites: la técnica de ensayo, el medio de cultivo, el microorganismo y el aceite esencial. En forma particular, sugiere que la técnica no debe requerir dispersión homogénea, el medio de cultivo no debe tener componentes que reaccionen con el aceite y se debe tomar en cuenta la influencia que tiene la solubilidad de la muestra, ya que pueden producir zonas de inhibición pequeñas (30).

Recientemente Briozzo en 1988 determinó la actividad antimicrobiana del aceite de clavo en soluciones concentradas de azúcares. Encontró que cuando las células de *C. albicans* eran colocadas en caldo suplementado con 63% (p/v) de azúcar y 0.4 % (p/v) del aceite esencial, estas morían en un período de 2 a 7 min. Se estableció que el azúcar se agregó como vehículo para obtener dispersión del aceite (11).

Así también se ha demostrado que la mostaza negra (*Brassica juncea*) presenta actividad antimicrobiana contra 9 bacterias y 16 hongos (6 levaduras y 10 mohos). El compuesto activo fue aislado por destilación y cromatografía de gases y fue identificado como isotiocianato de alilo. Esta sustancia actualmente se produce sintéticamente en Japón y es utilizado como aditivo en alimentos (29).

Recientemente Davidson (1993) realizó una revisión de las especies y saborizantes de alimentos con actividad antimicrobiana. De entre las que demostraron actividad antifúngica están la canela, el clavo, el orégano, el ajo y la cebolla. Se estudió su mecanismo de acción y se encontró que produce alteraciones en el metabolismo microbiano particularmente en la respiración y la esporulación y se estableció que esto es debido a la disminución de la energía celular (16).

Otro grupo de investigadores ha trabajado con el arbusto enano del desierto (*Artemisa herba-alba*), ellos usaron métodos de dilución y difusión y probaron el extracto de las partes aéreas de la planta contra 5 bacterias gram positivas. El principio activo fue separado por cromatografía en columna y fue identificado como alcohol santolina (47).

Los líquenes han sido evaluados *in vitro* para determinar la actividad antimicrobiana de sus metabolitos contra bacterias y hongos (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*). En este trabajo se usaron los métodos

dilución y difusión con disco. Se demostró un efecto inhibitorio para los microorganismos gram positivos, sin embargo no todos los líquenes inhibieron los gram negativos y los hongos (28).

Polacheck y su equipo aislaron un compuesto llamado G2 de las raíces de la alfalfa (*Medicago sativa*, Gilboa) con propiedades fungicidas, ellos determinaron su actividad utilizando métodos de dilución, conteo en hematocitómetro y espectrofotometría. El compuesto se aisló mediante cromatografía en columna y se demostró la carencia de toxicidad en un modelo animal (42). Posteriormente este compuesto, se aplicó tópicamente en cobayos infectados experimentalmente con el dermatofito *T. mentagrophytes* var. *granulare*. Después de 12 a 15 aplicaciones, el 80% de las lesiones fueron curadas mientras que de las no tratadas solo el 20% se curaron espontáneamente. El compuesto activo es un derivado del ácido medicagénico (saponina), esta sustancia es fuertemente afín al ergosterol y su efecto fungicida es probablemente porque altera la permeabilidad de la pared celular (22).

En un estudio 115 especies de plantas fotosintetizadoras o con actividad fototóxica pertenecientes a zonas áridas y semiáridas de Norteamérica. La Subtribu *Pectimidae* mostró con mayor frecuencia una acción biocida que era activada por la luz. Entre las plantas que demostraron este mecanismo de acción se encuentra *Larrea tridentata*, en cuyas hojas se detectó la acción antimicrobiana. En ese trabajo las muestras se analizaron en la oscuridad así como en la luz para hacer comparaciones de la actividad antimicrobiana en ambas condiciones (19).

Por otra parte, Ríos y su equipo (1987) analizaron 81 plantas del área española mediterránea, las cuales se usan en la medicina popular como agentes antimicrobianos. Para el estudio ellos usaron 6 especies microbianas entre las cuales se encontraba *C. albicans*. Se detectó que 30 extractos tenían actividad contra alguno de los microorganismos probados (46).

Continuando con el análisis de las plantas de esta región, March en 1991 estudió 22 especies y determinó su actividad contra 9 hongos y 6 bacterias contaminadoras de alimentos almacenados. Se estableció que los extractos pudieron inhibir un total de 7 hongos y 3 bacterias (37).

Se estudiaron también otras plantas, tal fue el caso de Nicoletti quien trabajó con una gramínea (*Echinoloma inflexa*) colectada en el estado de Pernambuco, Brazil. Se demostró su actividad antimicrobiana y antineoplásica. Así mismo se reportó un nuevo diterpeno aislado del

extracto etanólico de las raíces de la planta, el cual es el responsable de la actividad antes mencionada (41).

Lopes en 1988 estudió arbustos trepadores de la familia *Aristolochiaceae* que son nativos de regiones tropicales y subtropicales. De ellos fueron analizados 11 géneros (600 especies) para determinar su actividad antitumoral, antifúngica, antibacteriana e insecticida. Estos arbustos son reconocidos por su producción de lignanos y neolignanos, en este caso fueron aislados 6 lignanos (34).

Carson en 1992 estudió el efecto antimicrobiano del extracto de *Maleleuca alternifolia* (té de árbol), el cual ha sido utilizado en Australia con propósitos médicos desde 1788. En este estudio se determinó su actividad bactericida y fungicida. Los hongos estudiados fueron *Aspergillus niger*, *C. albicans* y *T. mentagrophytes* los cuales fueron inhibidos por el extracto. La toxicidad del extracto se determinó en conejos, mostrando ser nula.

La barreta (*Helietta parvifolia*) es una planta que forma parte del matorral submontano del semidesierto del noreste de México, ésta es de utilidad forrajera silvestre para ganado bovino y caprino sin toxicidad reportada. Basándose en su resistencia a la putrefacción por hongos, se sospechó de su acción fungicida así como de su potencial insecticida. Así se demostró su potencial fungicida sobre hongos de importancia agrícola como *Penicillium*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Aspergillus niger*, *A. flavus* y *A. ochraceus* (47).

En la República Mexicana se han utilizado en forma empírica muchas plantas para el tratamiento de diferentes micosis. Entre estas principales plantas tenemos las siguientes:

Agave lechuguilla Torr.- Pertenece a la familia *Amarilidaceae*. Esta planta es nombrada a nivel popular como lechuguilla, maguey de cerro, pita, tzeth y tzuta. Es una de las plantas mejor conocidas en el norte de la República Mexicana por su uso a nivel textil. Crece en las zonas desérticas del país como Coahuila, Chihuahua, Durango, Nuevo León, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas. Esta planta mide de 60 a 70 cm de altura. Las hojas están dispuestas en rosetas en forma ascendente, son poco numerosas, de color verde claro a verde azulado, además presentan una faja pálida en la cara superior y líneas oscuras en el dorso y miden de 40 a 60 cm. de largo por 3 a 4 cm de ancho, tiene una espina terminal acanalada de 4 a 5 cm de largo y en la base presenta dientes marginales longitudinales de 5 a 6 mm de largo que se desprenden con la edad. Esta planta contiene sustancias tales como saponinas esteroidales.

glucosidos, etc. El hombre le ha dado diversos usos a las diferentes partes de la planta: de las hojas se extrae una fibra usada en la industria textil. El tallo se utiliza para disminuir los dolores de costado, como tratamiento de toda clase de golpes y para combatir la diabetes. La raíz es utilizada para combatir dermatitis causada por algunos hongos. Del cogollo se fabrican bebidas alcohólicas. Actualmente también se usa como agente de control biológico contra insectos (38,48,50,52,53,54).

Aloe vulgaris L.- Es una planta de la familia *Liliaceae*; la cual se conoce popularmente como sábila, zabila o aloe. Esta es originaria de las zonas áridas de Africa pero fue traída a México por los españoles en la época de la conquista y se cultivó con facilidad en las zonas desérticas y semidesérticas del país. Esta planta presenta hojas largas, carnosas y con bordes espinosos; por lo regular produce flores de color blanco, rojizo o amarillento de forma tubular. El fruto de la planta es de forma capsular y en el interior de las hojas se encuentra un jugo mucilaginoso de sabor amargo. Algunos estudios han mostrado que la planta contiene ácido oleico, ácido crisámico y aloina. Esta planta se recomienda en la medicina tradicional como un purgante ligero, estimulador del flujo menstrual, así como aperitivo, digestivo y colagogo (54).

Artemisia absinthium L.- Pertenece a la familia *Compositae*, es también conocida como ajeno o absenta. Esta planta es originaria de Europa, Asia y Africa; crece en lugares secos y entre malezas. La planta presenta un tallo erguido, herbáceo. Las hojas son alternas, pinadas y están cubiertas de una pelusilla plateada o grisácea. Las flores se presentan en cabezuelas de color amarillo en agrupaciones de 30 a 40 cm. Algunos estudios han revelado que presenta un aceite esencial llamado tuyona, un jugo amargo, absentina, ácidos orgánicos y taninos. La medicina tradicional marca su uso contra trastornos estomacales, para la eliminación de parásitos intestinales, como estimulador del apetito, de los jugos gástricos de la bilis y además se recomienda para eliminar cólicos (27).

Artemisia mexicana.- Planta perteneciente a la familia *Compositae* conocida por los nombres comunes de altemisa o artemisa. Crece en las zonas templadas de México como adventicia de los jardines y como mala hierba en las superficies sembradas con césped. Es una planta vivaz de porte cespitoso, posee un tallo anguloso de color rojizo recubierto de hojas alternas muy recortadas grises y muy tomentosas en la cara inferior. Sus flores son de color amarillo. Al parecer, esta planta contiene un aceite esencial, así como taninos y jugos amargos. La

medicina tradicional la usa contra el insomnio, los trastornos nerviosos y el tratamiento de las enfermedades de la mujer. Esta planta también es usada como desinfectante del tracto digestivo y antiparasítica (54).

Artemisia ludoviciana.- Conocida comúnmente como estafiate o estafiate, pertenece a la familia *Compositae*, crece en climas húmedos de la República Mexicana incluyendo a los estados de México, Veracruz y San Luis Potosí. Esta planta es de tipo herbáceo, mide hasta 1 m de altura, es de color gris, presenta hojas de color verde en posición alternada. Las flores se disponen en cabezuelas y a su vez en racimos. Se ha encontrado que esta planta presenta un aceite esencial de olor penetrante, una resina neutra, sales de potasio, abstinina y vitaminas B y C. La medicina tradicional la recomienda como vermífugo y contra toda clase de parásitos intestinales, ayuda en casos de dispepsia, estimula la producción de jugos gástricos y de bilis; y se utiliza en casos de amenorrea y problemas de irritación vaginal (56).

Baccharis glutinosa .D.C.- Es un arbusto que pertenece a la familia *Compositae*, es conocido popularmente como jarilla mide 1.5 a 2.0 m. de altura, tiene tallo ramificado, presenta hojas sésiles lanceoladas de 3 a 12 cm de largo, enteras o denticuladas. Crece en riveras de ríos, arroyos, canales, acequias etc. En medicina popular se utiliza contra fiebres intermitentes, dolores reumáticos, como contraceptivo y para detener las hemorragias en los partos y contra afecciones en la piel (48,50,56).

Buddleia scordioides HBK.- pertenece a la familia de las *Loganiaceae*, conocida como escobilla, crece en los estados de Durango, Coahuila y San Luis Potosí. Es un arbusto que mide hasta 1 m de alto, muy ramificado con hojas sésiles oblongas y rugosas de 1 a 3 cm. Sus flores en forma de cabezuelas son amarillas. Se usa contra diarreas y como antiparasitario (27).

Cedronella mexicana Benth.- Su nombre común es toronjil y pertenece a la familia *Labiatae*. Esta planta es originaria las zonas frías, templadas y húmedas de México como Xochimilco, Iztapalapa, Chalco y el valle de México. El vegetal presenta un tallo erguido, hojas opuestas en forma de corazón. Las flores de la planta crecen en grupo y son de color morado-rojizo. Algunos estudios han demostrado que esta planta contiene aceite volátil, taninos, una resina amarga y sustancias mucilaginosas. La literatura de medicina floklórica nos indica que esta planta es usada para aumentar la función digestiva, ayuda a sanar golpes, granos y dolores reumáticos (54).

Chenopodium ambrosioides L. - Conocida popularmente como epazote y esta incluida en la familia *Chenopodiaceae*, es originaria de las regiones tropicales americanas. Esta es una planta anual de tallo rojizo ramificado, con hojas alternas alargadas lanceoladas y las flores se agrupan en glomérulos. Contiene un aceite esencial cuyos principales componentes son el ascaridol, las saponinas, taninos y jugos amargos. Se utiliza en medicina popular para estimular las funciones digestivas, es eficaz contra parásitos intestinales, dismenorrea, asma y trastornos nerviosos (50).

Flourensia cernua DC.- Conocida comúnmente como hojaseñ, hoja de sé, hoja-se u hoja de sen. Esta planta pertenece a la familia *Compositae*, crece principalmente en el norte de México; es un arbusto de tallos erectos, que alcanza de 1 a 2 m de altura, presenta abundante follaje, sus hojas son ovales de bordes enteros de 1.7 a 2.5 cm de largo por 6.5 a 11.5 mm de ancho. Las flores se dan en agrupaciones discoideas colgantes y solitarias entre las hojas. La planta en sí presenta un olor característico parecido a lúpulo y tiene un sabor amargo. La medicina tradicional nos indica que ésta es usada contra úlceras de la piel, dolor de estómago, diarrea, cólicos y otros desarreglos estomacales (56).

Jatropha dioica H.B.K. Mc Vaugh.- Esta planta pertenece a la familia *Euforbiaceae*, su nombre común es sangre de drago, sangredrigo, sangre de draco, sangregrado, etc. El vegetal crece en los estados del norte y centro de la República Mexicana. Es un arbusto de tallos lisos, obscuro rojizos, gruesos, succulentos, correosos, duros y flexibles que pueden medir desde 0.5 a 5 m de altura. Las hojas son fasciculadas lineales o espatuladas, enteras o triboladas con una longitud de hasta 7 cm, las flores son pequeñas sésiles o pedunculadas. Produce un fruto de color negro que contiene un líquido rojizo en el interior. Presenta taninos y la literatura tradicional nos indica que sirve contra la caída del cabello, erupciones en la piel, disentería, hemorroides, enfermedades venéreas e irritaciones de la garganta (48).

Juliana adstringens Schl.- Es conocida popularmente por el nombre de cuachalalate o Cuachalalá, pertenece a la familia *Julianaceae*. Este es un árbol de 6 m o más de altura, de corteza astringente y hojas dentadas, alternas, amontonadas, compuestas y abovadas. Presenta flores unisexuales; el pedúnculo del fruto tiene forma de ala con una sola semilla. Esta planta se utiliza en casos de cáncer de estómago y de intestinos, además en casos de tifoidea (27).

Larrea tridentata (DC.) Cov.- Su nombre común es gobernadora, es una planta perteneciente a la familia *Zygophyllaceae*. Esta se encuentra en el norte de la República Mexicana teniendo variantes en su cantidad cromosómica, siendo diploides, tetraploides y hexaploides. Se encuentra en los desiertos de Chihuahua y Sonora en México y en el desierto de Mojave en los Estados Unidos de América. Esta planta requiere de climas desérticos para su desarrollo. Varios estudios han revelado que el vegetal contiene una de las mayores diversidades químicas encontradas en alguna especie, se han encontrado ceras complejas, cientos de compuestos volátiles, saponinas y otros triterpenos, ácido nordihidroguaiéico, así como un gran número de compuestos fenólicos y glicósidos. La literatura folklórica nos dice que esta planta se usa en el tratamiento de diversos padecimientos como: reumatismo, problemas renales, dolor de cabeza, gastritis, diarrea, parásitos, enfermedades venéreas, calosfrio, tos, indigestión, tuberculosis, calambres intestinales, resfriados, caries, mal olor, problemas hepáticos y de la piel, hinchazones, dolor de garganta y como vasodepresiva (17).

Malva silvestris L. También conocida como malva, es una planta herbácea bianual o perenne, ornamental, hojas palmeadas alternas con largos pecíolos, sus flores son de color rojo-violeta. Toda la planta es rica en mucílagos, taninos, aceites esenciales y pigmentos entre otros productos. Las hojas se utilizan como tizanas contra catarrros, como expectorante, contra trastornos gástricos, en heridas purulentas y en gargarismos para enjuagues de la boca (56).

Prosopis juliflora (Swartz) DC.- Cuyo nombre común es mezquite, es un árbol que crece en las regiones áridas y semiáridas de la República Mexicana, presenta ramas espinosas, hojas bipinadas de color amarillo-verdoso colocadas en espigas. El fruto es una vaina de 10 a 12 cm de largo por 1 de ancho. Estudios de la planta han demostrado que contiene materia mucilaginoso, ácido arábigo (arabina) y sales de calcio, potasio y magnesio. Esta planta se usa para bajar la inflamación del tubo digestivo, contra infecciones y diarreas (54).

Rosmarinus officinalis L.- Conocida por el nombre común de romero; es una planta perteneciente a la familia *Labiatae*. Es originaria de Europa y se cultiva fácilmente en jardines y huertos. El vegetal presenta un tallo semileñoso de hasta 2 m de altura. Las hojas son opuestas gruesas, de olor agradable, de color verde por encima y en el revés presenta una pelucilla plateada. Las flores son de color lila-azulado. Se ha demostrado que esta contiene un aceite esencial, pineno, canfeno, cineol, borreol, un principio balsámico amargo, taninos y una resina

esencial. La literatura folklórica la recomienda como estimulante, antidepresivo, antirreumático, digestivo, colagogo, vermífugo y emenagogo (56).

Schinus molle L.- Esta planta también llamada pirul, es perteneciente a la familia *Anacardiaceae*. Es originaria de Sudamérica pero está aclimatada a México desde la época de la colonia. Su presencia es común en la parte central y en los lugares secos del país. Presenta un tronco tortuoso de ramillas colgantes, flores pequeñas de color amarillento, sexos separados y un fruto de color rosado-rojizo seco con semilla sabor a pimienta. Es usada en contra de las úlceras, llagas, tuberculosis, sangrado de las encías y nubes en los ojos (27).

Senecio candidissimum Greenm.- Es una planta conocida por el nombre común de té milagro o hierba del fuego, que pertenece a la familia *Compositae*; herbácea con hojas afelpadas de 7 a 8 cm. Las flores se disponen en cabezuelas abombadas colocadas en corimbos amarillos y con vilanto blanco sedoso. Es utilizado empíricamente contra infecciones de la piel y enfermedades del riñón (54)

Tagetes filifolia Lag.- La planta también conocida como hierbanis o yerbanis es perteneciente a la familia *Compositae*. Esta se localiza en los Estados de Jalisco, Sonora, Chihuahua, México y Puebla. El vegetal es herbáceo de 10 a 30 cm de altura. Las hojas están partidas con segmentos lineales de 10 mm; las flores se presentan en cabezuelas con el involucreo alargado, además presenta un olor a anís al frotarse. La planta según literatura de medicina tradicional nos dice que es usada para casos de irritación de los intestinos y de las vías urinarias (27).

Verbena carolina L.- Conocida como verbena es una planta que pertenece a la familia *Verbenaceae*. Esta es originaria de México y puede ser encontrada con facilidad en los Estados de México, Oaxaca, Morelia, Jalisco, Sonora y Nuevo León; presenta una altura de 60 a 80 cm con hojas opuestas, aserradas y elípticas de 4 cm. En su parte superior presenta flores monopétalas en espigas. Esta planta se usa en contra de la caída del cabello (posible infección por hongos), y contra las paperas (54).

MATERIAL Y METODOS

MICROORGANISMOS ANALIZADOS:

En este trabajo se incluyeron 13 microorganismos.

6 hongos levaduriformes: *Candida krusei*

Candida albicans

Candida rugosa

Criptococcus neoformans

Criptococcus laurentii

Criptococcus albidus

5 hongos filamentosos : *Microsporum canis*

Microsporun gypseum

Trichophyton tonsurans

Epidermophyton floccosum

Sporothrix schenckii

2 actinomicetos: *Nocardia asteroides*

Nocardia Braisliensis

Las cepas fueron proporcionadas por Ma. Blanca Ortíz Saldívar de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de San Luis Potosí. Estas se conservaron a 5°C en medio de cultivo de Papa-Dextrosa-Agar y se hicieron resiembras cada 2 meses (9).

PLANTAS ANALIZADAS

Se analizaron 20 extractos los cuales se obtuvieron de plantas que forman parte de la flora de nuestro país, la mayoría de las cuales se utilizan en medicina popular desde hace mucho tiempo contra diversas enfermedades tales como dermatomicosis, vaginitis, granos, tiñas etc. Estas fueron clasificadas y se agrupan a continuación (tabla 1):

TABLA 1
PLANTAS ANALIZADAS

| NOMBRE CIENTIFICO | NOMBRE COMUN | PARTE UTILIZADA |
|--|---------------------|------------------------|
| 1.- <i>Agave lechuguilla</i> DC. | lechuguilla y amole | hoja y raíz |
| 2.- <i>Aloe vulgaris</i> L. | sábila | hoja |
| 3.- <i>Atemissia absinthium</i> L. | ajenjo | hoja y tallo |
| 4.- <i>Artemisia mexicana</i> L. | artemisa | hoja y tallo |
| 5.- <i>Artemisia ludoviciana</i> Willd | estafiate | hoja y tallo |
| 6.- <i>Baccharis glutinosa</i> Pers. | jarilla | hoja y tallo |
| 7.- <i>Buddelia scordioides</i> HBK. | escobilla | hoja |
| 8.- <i>Cedronella mexicana</i> Benth | toronjil | hoja y tallo |
| 9.- <i>Chenopodium graveolens</i> L. | epazote | hoja y tallo |
| 10.- <i>Fluorencia cernva</i> D.C. | hojasen | hoja |
| 11.- <i>Jatropha dioica</i> HBK. | sangregrado | tallo |
| 12.- <i>Juliana astringens</i> Sch. | cuachalalate | hoja |
| 13.- <i>Larrea tridentata</i> DC. | gobernadora | hoja y tallo |
| 14.- <i>Malva silvestris</i> L. | malva | hoja |
| 15.- <i>Prosopis juliflora</i> Zwartz | mezquite | hoja y tallo |
| 16.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L. | romero | hoja, tallo y flores |
| 17.- <i>Schinus molle</i> L. | pirul | hoja y tallo |
| 18.- <i>Senecio candidissimum</i> Gr | te milagro | hoja y tallo |
| 19.- <i>Tagetes filifolia</i> Lag. | yerbanis | hoja |
| 20.- <i>Verbena carolina</i> L. | verbena | hoja |

OBTENCION DE LOS EXTRACTOS

La planta fresca se fragmentó en licuadora y posteriormente se trituró en mortero por 15 min utilizando como solvente etanol al 80%. La suspensión se maceró 2 a 3 h y posteriormente se centrifugó a 3.000 rpm por 10 min. El sobrenadante se filtró en papel Whatman No. 1 y se secó a 50°C por una semana. Este se almacenó en lugar fresco, seco y oscuro hasta su análisis posterior. Para su estudio el extracto fué rehidratado con agua destilada para dar una solución al 10%, y se esterilizó por filtración utilizando una membrana de

nitrocelulosa con un poro de 0.45 μm . El extracto estéril se recolectó en tubos eppendorf y fue almacenado a 5°C.

ANALISIS DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

Los métodos usados en los bioensayos fueron de difusión y dilución (45,51), los cuales se describen a continuación.

a) Método de difusión: Se utilizaron 2 variantes de este método: 1) Para el estudio de hongos levaduriformes los cultivos de reserva se activaron exponiéndolos 24 h a temperatura ambiente. se inocularon por estría en cajas de petri las cuales contenían PDA, posteriormente se hicieron orificios en la capa de agar y en ellos se agregaron 100 μl de los extractos a probar. Los cultivos se incubaron a temperatura ambiente por 24 h al cabo del cual se determinó, el radio de inhibición desde el borde del pozo hasta el límite del crecimiento (Fig.No.1).

2) - Para el análisis de la actividad antimicrobiana sobre hongos filamentosos, se usó el método de microcultivo con la técnica de Ridell (4,9,33) modificada de la manera siguiente: Se colocaron una o dos portaobjetos de vidrio sobre un tubo de vidrio en forma de V ó de U dentro de una caja de Petri. En los extremos de la laminillas, se colocaron cuadros de PDA de 1 cm de lado mas o menos por 5 mm de alto. Con ayuda de una asa bacteriológica, se inoculó por picadura el hongo filamentosos en las 4 esquinas de cada cuadro de agar. En uno de dichos cuadros se hizo un orificio en la parte central donde se colocó el extracto, en tanto que otro funcionó como control (sin extracto). Se colocó una porción de algodón húmedo en la caja de Petri para evitar la deshidratación del agar. Se incubó 5 a 8 días a temperatura ambiente. La inhibición se midió comparando con el crecimiento del cuadro control.

b) Método de dilución: también se utilizó con dos variantes. Para cepas levaduriformes: Debido a la facilidad de dispersarse homogéneamente se colocaron 5 ml. de caldo nutritivo en tubos de vidrio. El extracto a probar se agregó en un volumen de 100 μl quedando una concentración de 2mg/ ml , posteriormente se inoculó una suspensión de levaduras la cual estaba ajustada a una absorbancia (A_{600}) de 0.150. Los cultivos fueron incubados a temperatura ambiente durante 24 h, posteriormente se midió la absorbancia utilizando un espectrofotómetro Coleman Junior mod. 340.

2)- Para los hongos filamentosos el extracto se mezcló con el agar (PDA) previamente esterilizado y se colocó en dos compartimentos de una caja petri con 3 divisiones. El otro compartimento fungió como control al agregarse medio sin extracto. El medio se inoculó por picadura con los hongos a probar. Se incubaron a temperatura ambiente durante 10 días, después de lo cual, se midió el área de crecimiento, tomándose como 100% al crecimiento del control.

CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA (CMI)

Esto se determinó por 2 métodos:

1) Se utilizó el método de dilución en agar solidificado (30). Se utilizaron cajas de Petri con 3 compartimentos en los cuales se agregó concentraciones ascendentes del extracto (iniciando con 1 mg/ml) mezclado con el agar. Se dejó solidificar el medio de cultivo y se procedió a sembrar por estría o picadura dependiendo del hongo a estudiar. Se utilizó también la técnica de microcultivo en donde se mezcló el extracto con el agar a diferentes concentraciones. La incubación varió de acuerdo a las técnicas utilizadas y a las especies fúngicas en estudio. Cada siembra se llevó a cabo con su respectivo control. La CMI se definió como la concentración del extracto más baja que inhibió el crecimiento de los microorganismos.

CROMATOGRAFIA PRELIMINAR

Se utilizaron los extractos alcohólicos al 10% para llevar a cabo las técnicas de separación por cromatografía en capa fina. Esta última fue escogida por su sensibilidad, versatilidad y rapidez para separar los componentes químicos de muchos extractos de plantas (25,49,51).

La separación y aislamiento cromatográfico de las mezclas, se llevó a cabo usando como soporte sólido e inerte placas de 5 x 10 cm de vidrio las cuales fueron cubiertas con una capa adsorbente de Kieselgel 60 G (Merck) como fase estacionaria. Se realizó una cromatografía preliminar a fin de determinar los eluentes ideales. Los eluentes probados fueron de diferente polaridad y son los siguientes:

No polares:

Hexano, éter de petróleo, dicloroetano, tetracloruro de carbono y benceno.

Intermedios:

Diclorometano, cloroformo y acetato de etilo.

Polares:

Acetona, metanol, ácido acético y agua.

La muestra fué aplicada en la placa con un tubo capilar y se corrió la cromatografía utilizando diferentes eluentes, después la placa se dejó secar y fué observada bajo luz ultravioleta. Se registró la cantidad de manchas desarrolladas y se midió la distancia de migración a fin de determinar su Rf (relación de frentes) característico.

Sabemos que el efecto de la elución depende de la constante dieléctrica o polaridad de el o los eluentes y que el cloroformo tiene una constante dieléctrica de 4.81 y el metanol de 32.80.

El Rf fué calculado en porciento, considerando como 100% el máximo corrimiento posible (solo el eluente). Este valor está en función de la adsorción del soporte, la polaridad del eluente y la solubilidad de los compuestos por separar. Se sabe que este proceso puede ser modificado por: a) la presión de vapor ejercido por el eluente, b) la humedad relativa, c) la temperatura del medio ambiente y d) cantidad de la muestra aplicada. Este valor se obtuvo aplicando la siguiente fórmula.

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida por la mancha}}{\text{Distancia recorrida por el eluente}}$$

CROMATOGRAFIA PREPARATIVA.

Para el análisis se utilizó como fase estacionaria Kieselgel 60 G (Merck); y como soporte se usaron hojas de vidrio de 20 x 20 cm de lado y 6 a 8 mm de espesor. Para la preparación de las placas se pesaron 10 g de Kieselgel y se mezclaron con 25 ml de agua destilada. La hoja de vidrio

se cubrió con esta mezcla mediante un aplicador de compuerta intercambiable. La placa se secó a temperatura ambiente y se obtuvo una placa uniforme con un espesor de fase estacionaria de 0.3 a 0.4 mm. Antes de usarse, la placa se activó colocándola en un horno a 120°C por 1 h. posteriormente se colocó la muestra en la parte inferior de la placa utilizando un tubo capilar y procediendo en dos formas: 1) En línea continua para obtener mayor cantidad de los compuestos separados, y 2) en una pequeña región a fin de medir el área desarrollada por la mancha (Fig.No.4) y determinar su Rf. Los eluentes se depositaron en la cámara de desarrollo 15 min antes del corrimiento para saturarla con los vapores (24).

Después del corrimiento la placa se escurrió y secó, y se determinó: a) el número de manchas formadas b) la distancia recorrida por cada una, c) el color desarrollado por cada banda con exposición a luz UV y luz visible, d) el área de la mancha y e) el Rf (en porciento).

Para aislar los componentes del extracto, se delimitaron todas las fracciones visibles con luz UV y fueron raspadas y depositadas en tubos de ensayo. Se agregaron 2 ml de alcohol etílico para disolver el o los compuestos y se centrifugó a 2,500 rpm por 5 min. El sobrenadante se depositó en viales previamente pesados y se secaron en una estufa. Ya secos fueron pesados nuevamente a fin de calcular el peso real del compuesto aislado. Las muestras se rehidrataron en agua a un concentración de 20 mg/ml y fueron probadas contra las cepas estudiadas a fin de determinar si tenían efectos antifúngicos, mediante los métodos anteriormente descritos .

RESULTADOS

ACTIVIDAD ANTIFUNGICA DE LOS EXTRACTOS

De las 20 plantas analizadas tres demostraron tener efecto inhibitorio sobre una o varias especies de hongos. La de mayor efecto antimicrobiano fue *A. lechuguilla* (Tablas 2 y 3) de la cual se analizaron los extractos de las hojas (lechuguilla) y de la raíz (amole), observándose que este último tiene una mayor actividad tóxica sobre la mayoría de los hongos analizados tanto levaduriformes, y filamentosos así como con los actinomicetos probados (Tablas 2 y 3). El extracto de *B. glutinosa* fué hecho utilizando las hojas y tallos y mostró un efecto sobre los hongos filamentosos y los actinomicetos, pero no contra los hongos levaduriformes (Tabla 3). Las hojas y tallos de *L. tridentata* presentaron un efecto solo contra hongos filamentosos y los actinomicetos estudiados (Tabla 3).

DETERMINACION DE LA CMI

Aunque los organismos estudiados mostraron diferente susceptibilidades a los extractos probados (Fig. 1-6), nuestros resultados indican que los extractos de *A. lechuguilla* mostraron ser los más potentes (raíz: 3.3 a 7.6 mg/ml, hojas: 8.0 a 12.0 mg/ml), y fueron seguidos de *B. glutinosa* (10 a 14.6 mg/ml) y *L. tridentata* (14 a 16.6 mg/ml). Estos resultados se encuentran resumidos en la Tabla 4.

CROMATOGRAFIA.

a) Cromatografía preliminar.

Los resultados de la cromatografía en capa fina preliminar nos permitió elegir los mejores eluentes para separar los componentes de los extractos. Probamos tres grupos de solventes con diferentes polaridades (no polares, intermedios y polares) contra los 4 extractos que mostraron actividad antimicrobiana (Tabla 5). Los eluentes que dieron mejores resultados fueron el cloroformo y el metanol en una proporción de 9:1.

TABLA 2. EFECTO DE EXTRACTOS DE PLANTAS SOBRE EL CRECIMIENTO DE LEVADURAS

HALO DE INHIBICION

| EXTRACTO | <i>C. krusei</i> | <i>C. albican</i> | <i>C. rugosa</i> | <i>C. laurentii</i> | <i>C. albidus</i> | <i>C. neoformans</i> |
|------------------------------|------------------|-------------------|------------------|---------------------|-------------------|----------------------|
| <i>A. lechuguilla</i> (raiz) | 0 | 19 ± 2 | 17 ± 1 | 17 ± 2 | 15 ± 2 | 16 ± 3 |
| <i>A. lechuguilla</i> (hoja) | 0 | 14 ± 2 | 15 ± 2 | 12 ± 3 | 14 ± 3 | 13 ± 2 |
| <i>A. vulgaris</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>A. absinthium</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>A. mexicana</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>A. ludoviciana</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>B. glutinosa</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>B. scordioides</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>C. mexicana</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>C. graveolens</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>F. cernva</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>J. dioica</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>J. astringens</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>L. tridentata</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>M. silvestris</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>P. juliflora</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>R. officinalis</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>S. molle</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>S. candidissimum</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>T. filifolia</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>V. carolina</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

* Radio de inhibición en mm.

TABLA 3. EFECTO DE EXTRACTOS DE PLANTAS SOBRE EL CRECIMIENTO DE HONGOS FILAMENTOSOS Y ACTINOMICETOS

INHIBICION

| EXTRACTO | M. canis | M. gypseum | T. tonsurans | E. floccosum | S. schenckii | N asteroides | N brasiliensis |
|--------------------------|-------------|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------|
| <i>A. lechug. (raiz)</i> | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| <i>A. lechug. (hoja)</i> | +++ | ++ | +++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| <i>A. vulgaris</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>A. absinthium</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>A. mexicana</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>A. ludoviciana</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>B. glutinosa</i> | +++ | ++ | ++ | ++ | + | ++ | ++ |
| <i>B. scordiodides</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>C. mexicana</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>C. graveolens</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>F. cernva</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>J. dioica</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>J. astringens</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>L. tridentata</i> | + | ++ | ++ | + | + | + | + |
| <i>M. silvestris</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>P. juliflora</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>R. officinalis</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>S. molle</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>S. candidissim.</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>T. filifolia</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>U. carolina</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

* Porcentaje de la inhibición micelial comparada con el control. 100% = +++, 90-60% = ++, 60-40% = +, 40-25% = 0.

60-40% = ++, 40-25% = +.

0 = Efecto inhibitorio ausente.

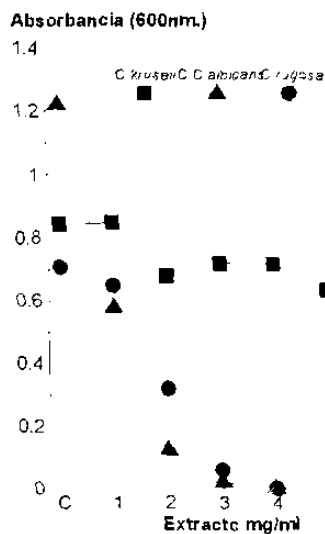
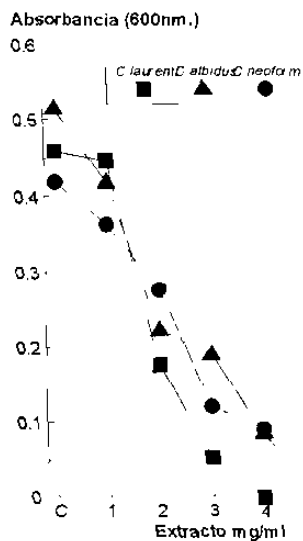


Fig. 1. EFECTO DE Agave lechuguilla Torr. (RAIZ) SOBRE EL CRECIMIENTO DE HONGOS LEVADURIFORMES

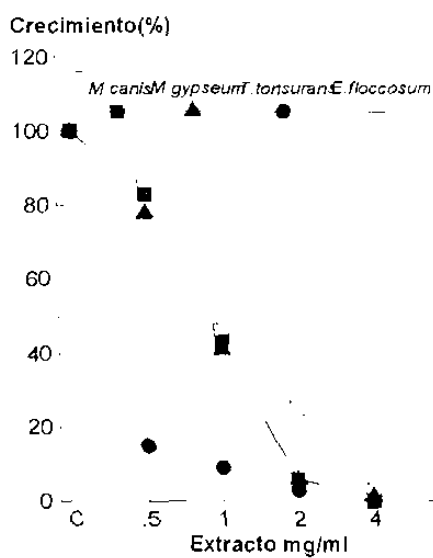
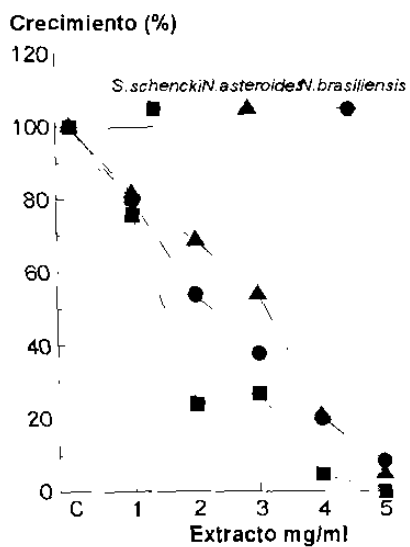


Fig. 2. EFECTO DE Agave lechuguilla Torr. (RAIZ) SOBRE EL CRECIMIENTO DE HONGOS FILAMENTOSOS Y ACTINOMICETOS

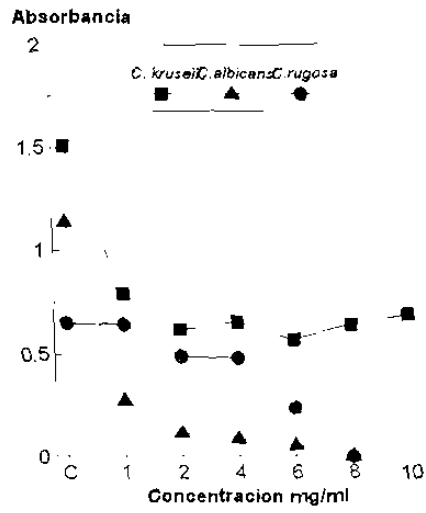
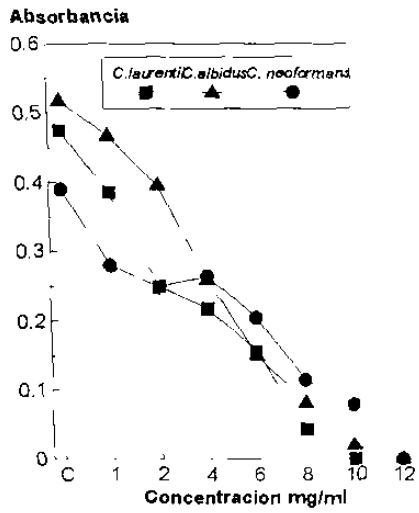


Fig. 3. EFECTO DE Agave lechuguilla (HOJAS) SOBRE EL CRECIMIENTO DE HONGOS LEVADURIFORMES.

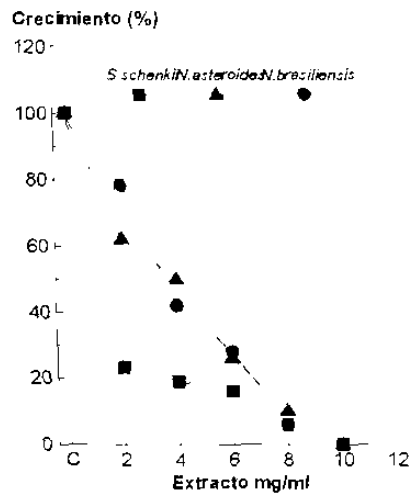
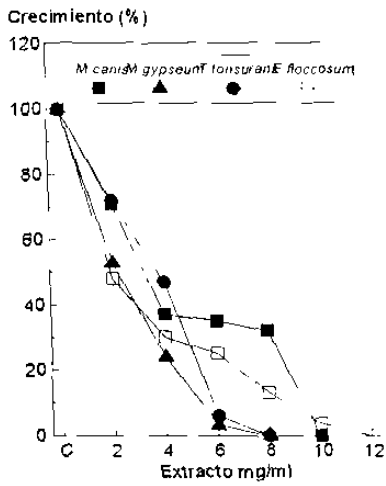


Fig. 4. EFECTO DE Agave lechuguilla Torr. (HOJAS) SOBRE EL CRECIMIENTO DE HONGOS FILAMENTOSOS Y ACTINOMICETOS

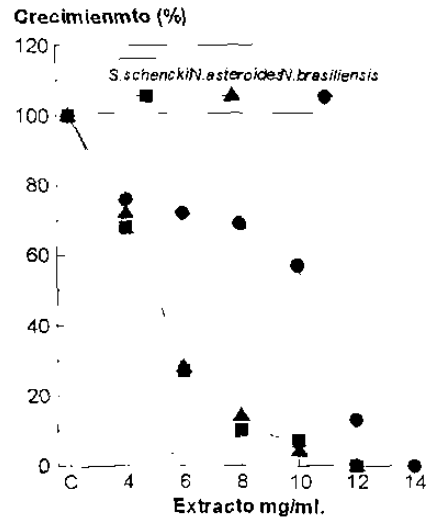
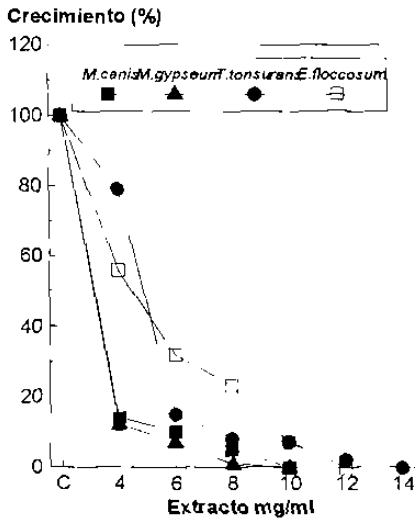


Fig. 5. EFECTO DE *Baccharis glutinosa* Pers. SOBRE EL CRECIMIENTO DE HONGOS FILAMENTOSOS Y ACTINOMICETOS

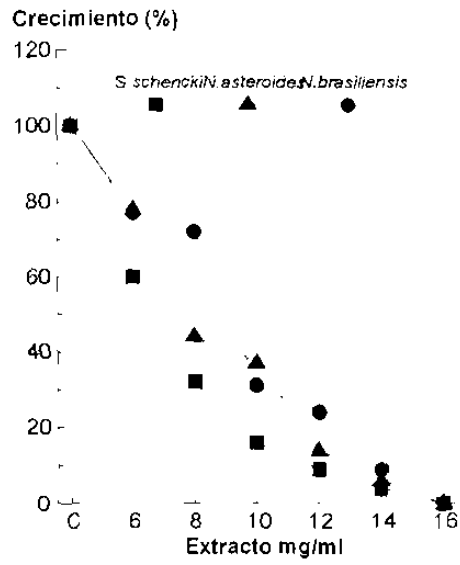
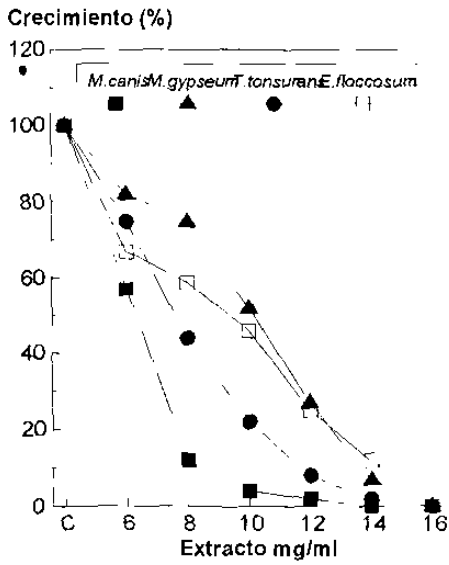


Fig. 6. EFECTO DE *Larrea tridentata* D.C. SOBRE EL CRECIMIENTO DE HONGOS FILAMENTOSOS Y ACTINOMICETOS

TABLA 4. CMI DE LOS EXTRACTOS DE PLANTAS SOBRE LOS MICROORGANISMOS PROBADOS

| MICROORGANISMO | <i>A. lechug. raíz</i> | <i>A. lechug. hoja</i> | <i>B. glutinosa</i> | <i>L. tridentata</i> |
|---------------------------------|------------------------|------------------------|---------------------|----------------------|
| <i>Candida krusei</i> | NI | NI | NI | NI |
| <i>Candida albicans</i> | 4.0 ± 1.0 | 8.0 ± 0.5 | NI | NI |
| <i>Candida rugosa</i> | 4.0 ± 0.7 | 8.0 ± 1.0 | NI | NI |
| <i>Criptococcus neoformans</i> | 6.0 ± 0.7 | 12.0 ± 1.1 | NI | NI |
| <i>Criptococcus laurenti</i> | 5.3 ± 1.1 | 9.3 ± 1.6 | NI | NI |
| <i>Criptococcus albidus</i> | 4.0 ± 1.0 | 11.0 ± 1.4 | NI | NI |
| <i>Microsporium canis</i> | 3.3 ± 1.2 | 10.0 ± 1.0 | 10.0 ± 1.4 | 14.0 ± 3.0 |
| <i>Microsporium gypseum</i> | 6.0 ± 1.2 | 8.0 ± 1.5 | 10.6 ± 1.2 | 14.0 ± 1.2 |
| <i>Trichophyton tonsurans</i> | 4.5 ± 1.1 | 9.3 ± 2.3 | 13.3 ± 2.3 | 14.3 ± 2.5 |
| <i>Epidermophyton floccosum</i> | 4.6 ± 1.2 | 12.0 ± 1.4 | 12.3 ± 3.1 | 16.6 ± 2.3 |
| <i>Sporothrix schenckii</i> | 5.0 ± 2.3 | 10.3 ± 1.2 | 12.0 ± 3.4 | 16.0 ± 2.0 |
| <i>Nocardia asteroides</i> | 7.3 ± 0.5 | 10.6 ± 3.1 | 12.0 ± 2.0 | 16.3 ± 3.0 |
| <i>Nocardia brasiliensis</i> | 7.6 ± 0.7 | 10.0 ± 1.7 | 14.6 ± 1.2 | 16.6 ± 4.3 |

MIC = Concentración mínima inhibitoria en mg/ml.

NI = No inhibición

b) Cromatografía preparativa.

El extracto de la raíz de *A. lechugilla* mostró 6 bandas de las cuales la primera (No. 0) fue la que mostró tener efecto inhibitorio contra hongos y actinomicetos (Tabla 6). Se estableció que esta banda tiene un Rf de 0 % con los eluentes utilizados.

De las hojas de esta misma planta se separaron 4 bandas (Fig. 7) y al igual que en el caso anterior la primera (No. 0) poseía el efecto inhibitorio contra los organismos probados, esta fracción tuvo un Rf de 0%. (Tabla 7).

El extracto de *B. glutinosa* mostró 10 bandas (Fig. 8), de ellas la No. 9 fue la causante de la acción antimicrobiana, esta banda tiene un Rf de 90 % (Tabla 8). En cuanto al extracto de *L. tridentata* la separación cromatográfica que produjo fue de 11 bandas (Fig. 9). siendo la No. 2 la que mostró el efecto inhibitorio sobre hongos y actinomicetos. El Rf establecido para esta banda fue de 42 % (Tabla 9).

TABLA No.5
SEPARACION PRELIMINAR MEDIANTE CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA
CON EXTRACTOS DE PLANTAS

Rf(%) DE MANCHAS DESARROLLADAS

SOLVENTES USADOS -----

A. lechug. (raiz) A. lechug (hojas) B. glutinosa L. tridentata

| NO POLARES | | | | |
|-------------------------|--------------|--------------|----------------------|----------------------|
| HEXANO | 0 | 0 | 21.1 74.6 | 0 |
| ETER DE PETROLEO | 0 | 0 | 0 | 0 |
| DICLORETANO | 27.9 | 67.6 | 63.3 71.8 | 27.6 36.9 |
| TETRACLORURO DE CARBONO | 0 | 24.6 | 0 | 13.8 |
| BENCENO | 26.4 | 0 | 28.1 | 13.8 |
| INTERMEDIOS | | | | |
| DICLOROMETANO | 0 | 36.9 | 29.0 40.8 | 38.4 |
| CLOROFORMO | 27.9 60.2 | 26.1 61.5 | 35.2 49.0 63.3 | 40.0 47.6 53.0 |
| ACETATO DE ETILO | 0 | 0 | 53.5 | 58.4 |
| POLARES | | | | |
| ACETONA | 0 | 0 | 78.8 | 76.9 |
| METANOL | 51.4 | 58.4 | 80.2 | 63.0 |
| ACIDO ACETICO | 0 | 0 | 0 | 80.0 |
| AGUA | 45.5 | 36.9 | 0 | 0 |

0 = No hubo corrimiento

Fig 7. Cromatograma del extracto de *Agave lechugilla* (hojas) observada con luz ultravioleta.

Fig. 8. Cromatograma del extracto de *Baccharis glutinosa* observada con luz ultravioleta.

Fig. 9. Cromatograma del extracto de *Larrea tridentata* observada con luz ultravioleta.

TABLA 6. SEPARACION POR CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA DEL EXTRACTO DE *A. lechuguilla* (RAIZ) USANDO COMO ELUENTE UNA MEZCLA DE CLOROFORMO-METANOL 9:1

| FRACCION | 1 | 2 | Rf(%) | AREA (mm ²) | INHIBICION* |
|----------|-------------|------------|-------|-------------------------|-------------|
| 0 | blanco | café claro | 0 | 12.0 | - |
| 1 | lila | blanco | 24 | 6.0 | 0 |
| 2 | rojo | blanco | 28 | 7.0 | 0 |
| 3 | café claro | blanco | 46 | 8.0 | 0 |
| 4 | verde claro | blanco | 63 | 7.0 | 0 |
| 5 | anaranjado | café claro | 94 | 6.0 | 0 |

1: Color observado con luz ultravioleta.

2.- Color observado con luz visible.

*Ensayos de inhibición contra los microorganismos en estudio

TABLA 7. SEPARACION POR CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA DE EXTRACTO DE *A. lechuguilla* (HOJAS) USANDO COMO ELUENTE UNA MEZCLA DE CLOROFORMO -METANOL 9 : 1

| FRACCION | 1 | 2 | Rf(%) | AREA (mm ²) | INHIBICION* |
|----------|------------|----------------|-------|-------------------------|-------------|
| 0 | blanco | café | 0 | 7.0 | + |
| 1 | rojo | blanco | 24 | 8.0 | 0 |
| 2 | verde | amarillo claro | 77 | 7.0 | 0 |
| 3 | anaranjado | amarillo | 96 | 9.0 | 0 |

1: Color observado con luz ultravioleta.

2: Color observado con luz visible.

* Ensayos de inhibición contra los microorganismos en este estudio.

TABLA 8. SEPARACION POR CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA DEL EXTRACTO DE *B. glutinosa* USANDO COMO ELUENTE UNA MEZCLA DE CLOROFORMO - METANOL 9 : 1

| FRACCION | 1 | 2 | Rf(%) | AREA (mm ²) | INHIBICION* |
|----------|--------------|----------------|-------|-------------------------|-------------|
| 0 | Verde oscuro | café claro | 0 | 7.0 | 0 |
| 1 | amarillo | crema | 7 | 8.0 | 0 |
| 2 | rosa | crema | 22 | 7.0 | 0 |
| 3 | lila | rosa | 39 | 6.0 | 0 |
| 4 | amarillo | crema | 44 | 5.0 | 0 |
| 5 | rojo | café claro | 51 | 5.0 | 0 |
| 6 | café oscuro | café claro | 66 | 6.0 | 0 |
| 7 | amarillo | amarillo | 77 | 7.0 | 0 |
| 8 | café oscuro | amarillo claro | 81 | 5.0 | 0 |
| 9 | azul | crema | 90 | 8.0 | - |
| 10 | anaranjado | verde claro | 96 | 9.0 | 0 |

Cantidad de extracto = 0.5 ml/ placa

1: Color observado con luz ultravioleta.

2 : Color observado con luz visible

* Ensayos de inhibición contra los microorganismos en este estudio.

TABLA No.9 SEPARACION POR CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA DEL EXTRACTO DE *L. tridentata* USANDO COMO ELUENTE UNA MEZCLA DE CLOROFORMO-METANOL 9:1

| FRACCION | 1 | 2 | Rf(%) | AREA (mm ²) | INHIBICION* |
|----------|--------------|-------------|-------|-------------------------|-------------|
| 0 | verde oscuro | verde | 0 | 7.0 | 0 |
| 1 | rosa | crema | 25 | 7.0 | 0 |
| 2 | rojo | amarillo | 42 | 5.0 | - |
| 3 | café oscuro | mostaza | 43 | 8.0 | 0 |
| 4 | café claro | café | 53 | 9.0 | 0 |
| 5 | café | amarollo | 59 | 7.0 | 0 |
| 6 | verde claro | café claro | 65 | 6.0 | 0 |
| 7 | café oscuro | rosa | 73 | 9.0 | 0 |
| 8 | amarillo | café claro | 80 | 7.0 | 0 |
| 9 | café oscuro | mostaza | 84 | 10.0 | 0 |
| 10 | azul | café | 90 | 8.0 | 0 |
| 11 | anaranjado | café oscuro | 96 | 8.0 | 0 |

1: Color observado con luz ultravioleta.

2 : Color observado con luz visible.

* Ensayos de inhibición contra los microorganismos en estudio.

DISCUSION

Las plantas han sido, son y continuarán siendo, una importante fuente de antimicrobianos. Podemos decir que las encontradas en el presente trabajo con actividad antifúngica, se desarrollan o crecen en nuestro ambiente. Tal es el caso de *A. lechuguilla* cuyo extracto acuoso es considerado tóxico por algunos autores. Sin embargo se ha podido establecer en modelos animales, que a ciertas dosis no producen efectos nefro o hepatotóxico, como se confirmó en el trabajo desarrollado por Velázquez (1993). Ella reportó que el extracto acuoso de la raíz de esta planta en dosis hasta de 6 g/kg de peso administrado por vía oral no ocasionó efecto letal en ratas machos y hembras adultas del género Wistar.

Existen informes publicados referentes a la composición química de *A. lechuguilla* en donde sugieren la posibilidad que las saponinas esteroidales sean tal vez las portadoras de la actividad antifúngica (13).

Otro punto valorable de esta planta es la alta solubilidad del extracto en agua, por lo que se considera que tal requerimiento es fundamental para el desarrollo de una posible aplicación humana.

En el presente estudio se observaron resultados similares al trabajo de Disalvo que también estudió la actividad antimicrobiana de *B. glutinosa* y registró efectos inhibitorios sobre dermatofitos, pero no con levaduras. Aunque por otro lado ellos reportaron resistencia en *S. schenkii* y nosotros pudimos observar sensibilidad en ese hongo. Tal vez el método de extracción o las partes de la planta utilizada establecieron esta diferencia. Los resultados obtenidos en este trabajo con *L. tridentata* difieren de los de Campos, quien reporta mayor sensibilidad sobre dermatofito. Los compuestos responsables de la actividad antifúngica ya han caracterizados y la mayoría son derivados fenólicos del ácido nordihidroguayaretico (13).

De las tres plantas, el extracto de *A. lechuguilla* fué el más activo ya que por comparación de la CMI como se observa en la Tabla 4, necesitó menor concentración y además presentó un espectro más amplio; le sigue en orden decreciente el extracto de *B. glutinosa* que presentó actividad solo con organismos filamentosos, por último *L. tridentata* presentó actividad a concentraciones muy altas.

En la cromatografía desarrollada para cada extracto se detectó mejor separación con los extractos de *B. glutinosa* y *L. tridentata* (Fig. 8 y 9) por contener compuestos no polares, en cambio con *A. lechugilla* la separación fué muy pobre (Fig. 7) ya que la fracción 0 fué donde se encontraba el efecto antifúngico.

La separación de extractos fue preliminar y no excluye que las bandas estén compuestas de dos o más componentes. Sin embargo se ofrece una base para el análisis preparativo de los compuestos de donde se deberá continuar con los análisis apropiados hasta la caracterización de los compuestos activos.

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos afirmar que sí existen posibles opciones o alternativas terapéuticas contra algunas de las enfermedades producidas por los microorganismos que probamos. Además de que éstas serían accesibles ya que las 3 plantas cuyos extractos demostraron tener efectos antifúngicos, forman parte de nuestra flora regional.

Consideramos que este trabajo y estudios posteriores abrirán más opciones para que en un futuro cercano sean utilizados fármacos de origen vegetal, extraídos de plantas regionales, con acción eficaz y menor toxicidad y efectos secundarios que los que actualmente existen.

CONCLUSIONES

En este trabajo se estudió el efecto antimicrobiano de 20 extractos de plantas comúnmente usadas en la medicina tradicional para curar varias enfermedades causadas por hongos.

De los 20 extractos analizados fueron 3 los que mostraron tener efecto inhibitorio a las concentraciones usadas contra varios de los microorganismos estudiados. El de mayor efecto fue el extracto de la raíz de *A. lechuguilla* que produjo inhibición de todos los microorganismos estudiados excepto *C. krusei*. De efecto menos potente pero con el mismo patrón, fue el que presentaron las hojas de la misma planta. *B. glutinosa* y *L. tridentata* presentaron un efecto inhibitorio contra todos los organismos filamentosos, sin embargo las especies levaduriformes fueron resistentes.

La cromatografía en este trabajo nos permitió la separación de los compuestos que integraban los extractos y que fueron probados nuevamente con los organismos antes mencionados detectando como a la fracción responsable de la inhibición. Se determinó la actividad antimicrobiana de las fracciones de los extractos, en el caso del de la raíz de *A. lechuguilla* fue la No.0, la cual no emitía coloración con luz ultravioleta y con luz visible se observó café claro, su Rf fue de 0%. Las fracciones de las hojas de la misma planta mostraron un resultado similar. En el caso de *B. glutinosa* la fracción inhibidora fue la No. 9, que presentó un color azul al observarse con luz ultravioleta y un color crema con luz visible, su Rf fue de 90%. En el extracto de *L. tridentata* se observó que la fracción No. 2 fue la inhibidora; el color desarrollado con luz ultravioleta fue rojo (Fig. 9) y color amarillo con luz visible, con un Rf de 42%.

LITERATURA CITADA

- 1.- Ahmed W. 1979. Classification of solvents according to interaction mechanisms. *Science*. **56**:795-798.
- 2.- Amin M., Kurosaki F., Nishi A. 1988. Carrot phytoalexin alters the membrane permeability of *Candida albicans* and multilamellar liposomes. *Journal of Microbiology*. **134**:241-246.
- 3.- Azzovz M., Bullerman L. 1982. Comparative antimycotic effects of selected herbs, spices, plant components and commercial antifungal agents. *Journal of Food Protection*. **45**:1298-1302.
- 4.- Arenas R. 1993. *Micología médica*. 1er. ed. Interamericana Mc. Graw-Hill. México p.128-250.
- 5.- Babic I., Nguyen A. 1994. Antimicrobial activity of shredded carrot extracts on food borne bacteria and yeast. *Journal of Applied Bacteriology*. **76**:135-141.
- 6.- Balandrin M., Klocke J., Wertele E. y Bollinger H. 1994. Natural plant chemicals: Sources of industrial and medicinal materials. *Science*. **228**:1154-1160.
- 7.- Barton D., Ollis W.D.. 1986. Methodology of research on medicinal plants. *Advances in Medicinal Phytochemistry*.
- 8.- Betto P., Casinova C.G. y Gabrielle R. 1988. Estudio sistemático de los componentes menores de *Artemisia arborescens* L. (*Compositae*) de Calabria. *Revista Latinoamericana. Química*. **19**:40-42
- 9.- Bonifaz A. 1990. *Micología Médica*. 1er. ed. Mendez Cervantes. México. p. 32-38.
- 10.- Boonchird C. y Flegel W. 1982. *In vitro* antifungal activity of eugenol and vainillin against *Candida albicans* and *Criptococcus neoformans*. *Canadian Journal of Microbiology*. **28**:92-95
- Briozzo J., Golden D., Chirife J. y Herszage L. 1988. Antimicrobial activity of clove dispersed in a concentrated sugar solution. *Journal of Applied Bacteriology* **66**:69-75.
- 11.- Bullock W., Kozel T., Scherer S. y Dixon S. 1993. Medial Mycology in the 1990s: Involvement of NIH and the Wider Community. *ASM News*. **59**:182-185

12. Campos E., Marby T. y Fernandez T. 1979. Larrea. CIQA. Saltillo, Méx. p. 48-55.
- 13.- Conner D.E. y Beuchat L.R. 1984. Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeast. *Journal of Food Science*. **49**:49-429.
- 14.- Correll D y Johuston J. 1970 *Manual of The Vascular Plants of Texas*. Reseach Foundation.
- 15.- Daniels F.J. 1965. *Invest. Dermat.* **44**:259
- 16.- Davidson M y Branen L. 1993. Antimicrobials in foods. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **35**:441-468.
- 17.- Davis L.E., Jin-Kun S. y Yan C. 1990. Antifungal activity in human cerebro espinal fluid and plasma after intravenous administration of *Allium sativum*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **34**:651-653.
- 18.- Dominguez X.A. 1988. *Métodos de investigación Fitoquímica*. 4a. ed. LIMUSA México.
- 19.- Downum K.J., Villegas S., Rodriguez E. y Keil D.R. 1987. Plant photosensitizers: A survey of their occurrence in arid and semiarid plants from North America. *Journal of Chemical Ecology*. **15**:345-355.
- 20.- El-Gammal A. y Mansour R.M. 1986. Antimicrobial activities of some flavonoid compounds. *Zentralbl. Mikrobiol.* **141**:561-565.
- 21.- Elias R., Diaz A.M., Vidal E. y Balansard. 1991. Triterpenoide saponins from the leaves of *Hedera helix*. *Journal of Natural Products*. **54**:83-103.
- 22.- Evron R., Guizie M., Zehavi U. y Polacheck I. 1990. Activity of compound G2 isolated from alfalfa roots in experimental dermatophyte infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **34**:1600-1601.
- 23.- Fox J.L. 1993. Fungal infection rates are increasing. *ASM News*. **59**:515-518.
- 24.- García G. 1978. *Determinación de plagicidas organoclorados y organoflorados en cromatografía en capa fina en frutos de cítricos Tesis.UANL. México.*
- 25.- Gunter Z. y Sherma G. 1993. *Thin layer Chromatography Handbook*. CRC Press. p.89-101

- 26.- Hamburger M., Cordell G. 1987. A direct bioautografic TLC assay for compounds possessing antibacterial activity. *Journal of Natural Products*. **50**:19-22
- 27.- Hernandez. R. y Gally M. 1991. *Plantas Medicinales* 5a. ed.. Arbol. México
- 28.- Ingolfssdottir K., Bloomfield S, y Hylands P.J. 1985. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of lichen metabolites as potential preservatives. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **28**:289-292.
- 29.- Isshiki K., Tokuoka K., Mori R. y Chiba S. 1992. Preliminary examination of allyl isothiocyanate vapor for food preservation. *Biosci. Biolech. Biochem*. **56**:14776-14777.
- 30.- Janssen A.M., Scheffer J.J y Baerheim A. 1986. Antimicrobial activity of essential oils: a 1976- 1986. Literature review. Aspects of the test methods. *Reviews.Plants Medical* Nov. 395-398.
- 31.- Kinghorn A.D. y Balandrin MT. 1992. Human medicinal agents from plants. *American Chemical Society*. p. 5-10.
- 32.- Kobashi G. and Medoff G. 1977. Antifungal agents recent. *Ann. Rev. Microbiology*. **31**: 291-308.
- 33.- Larone D:H: 1987. *Medically important fungi*. 2a. ed. American Society for Microbiology. E.U.A.
- 34.- Lopes L., Bolzani S. y Trevizan M:V: 1988. Lignans from *Brazilian arisrolochiaceae*. *Revista Latinoamericana de Química*. **19**:113-117.
- 35.- Martínez M. 1979. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Mex.
- 36.- Martino V., Villar S. 1988. Compuestos polifenólicos aislados de *Achyroeline tomentosa* Rusby (Compuestas). *Revista Latinoamericana de Química*. **19**:111-113.
- 37.- Marsh C., Sanz I., Primo E.1991. Antimicrobial activities of Mediterranean plants. *Zentralbl Mikrobiol*. **146**:291-295.
- 38.- Monroe E. Wall., Barton. 1962. Steroidal sapogenins then occurrence in *Agave lechuguilla*. *Econ. Botany*. **16**:266-269.
- 39.- Moore G.S., Atkins R. 1976. The fungicidal fungistatic effects of an aqueous garlic extract on medicallly important yeast-like fungi. *Mycología*. **56**:84-89.

- 40.- Morris R., Khetry A., y Sitz E.E. 1976. Antimicrobial activity of aroma chemical and essential oil. *Journal of the American Oil Chemist Society. Journal of the American oil Chemists society* **56**:595-603.
- 41.- Nicolatti M., Sarafini M., Albuquerque J. 1988. A new diterpene from *Echinulena inflexa*. *Revista Latinoamericana de Química*. **19**:13 -14.
- 42.- Polachek I., Zehavi U., Naim M. y Evron R. 1986. Activity of compound G2 isolated from alfalfa roots against medically important yeast. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **30**:290-294.
- 43.- Rzedowski J. 1988. *Vegetación de México*. Instituto Politecnico Nacional. Esc. Ciencias Biológicas. Mexico.
- 44.- Recio M.C. y Rios J.L. 1989. A review of some antimicrobial compounds isolates from medical plants reported in the literature 1978-1989. *Phytotherapy Research*. **3**:117-125.
- 45.- Rex J., Pfaaller S.M. y Rinaldi M.G. 1993. Antifungal susceptibility testing. *Clinical Microbiology Reviews*. **16**:367-381.
- 46.- Rios J.L., Recio M.C. y Villar A. 1987. Antimicrobial activity of selected plants employed in the spanish mediterranean area. *Journal of Ethnopharmacology*. **21**:139-152
- 47.- Rovalo M., Grove B. y González. Ma. E. 1983. La Barreta o Barreto *Helietta parvifolia*. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. México..
- 48.- Sanchez O. 1980. *La flora de México*. 1er. ed. México.
- 49.- Springer R y Verlag S. 1994. *Preparative Chromatography Techniques. Applications in natural product isolation*. New York, E.U. A.
- 50.- Stewart D. Conring M. 1970. *Manual of the vascular plants of Texas*. 1er. ed. E.U.A
- 51.- Touchone J. C. 1992. *Practice of thin chromatography*. 3a. ed. Wiley- Interscience E.U.A.
- 52.- Vazques C. 1962. *Saponinas Esteroidales en Agave lechugilla*. Tesis. UAP. SLP, Mex. .

- 53.- Velazquez C. 1993. Estudio de la Toxicidad Aguda del Agave lechuguilla en ratas Wistar. CIBN. Mty, Mex.
- 54.- Villacis L. 1978. Plantas Medicinales de México. 1a. ed. Méndez Cervantes. México.
- 55.- Van Hoof L., Vanden D.A. y Ulietinck A.J. 1980. Screening of poplar trees for antibacterial, antifungal an antiviral activity. *Biology Plantarum*. **22**:265-273.
- 56.- Volak J., Stodola J. 1990. Plantas Medicinales 3a. ed. Susaeta. S. A. Checslovaquia.
- 57.- Yashpe J., Segal R., Brever A. 1979. Animicrobial activity of *Artemisia herba-alba*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **68**:924-925.

