

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y ANTIMICÓTICA DE LOS EXTRACTOS DE CINCO ESPECIES DE PLANTAS DEL GÉNERO VERNONIA NATIVAS DEL SUR-OCCIDENTE DE GUATEMALA”

LIDIA YASMIN CANEL MONTERROSO

INDICE

1. RESUMEN	3
2. INTRODUCCIÓN	4
3. ANTECEDENTES	5
3.1 Área de colecta	5
3.2 Taxonomía del género: <i>Vernonia</i>	6
3.3 Generalidades e importancia medicinal de las asteráceas	7
3.4 Generalidades y estudios realizados en plantas del género <i>Vernonia</i>	9
3.5 Composición química de <i>Vernonia</i>	10
3.6 Etnobotánica y Etnofarmacología de las plantas en estudio	11
3.6.1 <i>V. deppeana</i> Less.	11
3.6.2 <i>V. patens</i> Kunth	13
3.6.3 <i>V. scorpioides</i> (Lam) Pers.	14
3.6.4 <i>V. tortuosa</i> (L.) Blake.	16
3.6.5 <i>V. triflosculosa</i> Kunth	17
3.7 Bacterias patógenas en estudio	18

3.7.1	<i>Escherichia coli</i>	18
3.7.2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
3.7.3	<i>Salmonella typhi</i>	19
3.7.4	<i>Shigella flexneri</i>	20
3.7.5	<i>Staphylococcus aureus</i>	20
3.8	Hongos patógenos en estudio	21
3.8.1	<i>Aspergillus flavus</i>	21
3.8.2	<i>Candida albicans</i>	22
3.8.3	<i>Epidermophyton floccosum</i>	22
3.8.4	<i>Mycrosporium gypseum</i>	23
3.8.5	<i>Trichophyton rubrum</i>	23
3.9	Evaluación de la actividad antimicrobiana <i>in vitro</i>	24
3.9.1	Método de difusión	24
3.9.2	Método de dilución	25
4.	JUSTIFICACIONES	27
5.	OBJETIVOS	28
6.	HIPÓTESIS	29
7.	MATERIALES Y MÉTODOS	30
7.1	Universo	30
7.1.1	Bacterias en estudio	30
7.1.2	Hongos en estudio	30
7.2	Materiales	30
7.2.1	Recursos humanos	30
7.2.2	Equipo	30
7.2.3	Materiales	31
7.2.4	Instituciones	31
7.3	Metodología	32
7.3.1	Colecta del material botánico	32
7.3.2	Preparación de la materia seca vegetal	33
7.3.3	Obtención del extracto	33
7.3.4	Preparación del agar planta para bacterias y levaduras	34
7.3.5	Preparación del inóculo bacteriano y de levaduras en placa	34

7.3.6	Demostración de la actividad antibacteriana	34
7.3.7	Demostración de la actividad antilevadura	35
7.3.8	Interpretación de resultados para bacterias y levaduras	35
7.3.9	Preparación agar-planta para hongos	35
7.3.10	Preparación del inóculo micótico	36
7.3.11	Demostración de la actividad antimicótica	36
7.3.12	Interpretación de resultados para hongos	36
7.3.13	Determinación de la CIM	37
7.4	Diseño experimental	38
8.	RESULTADOS	41
9.	DISCUSION	44
10.	CONCLUSIONES	49
11.	RECOMENDACIONES	50
12.	REFERENCIAS	51
13.	ANEXOS	61

1 RESUMEN

En nuestro país las plantas son utilizadas en la medicina tradicional para el tratamiento de diversas enfermedades. Las enfermedades infecciosas, la falta de acceso a la atención médica y los antibióticos es un problema común, que ha abierto las puertas al uso de las plantas medicinales como una alternativa. Con el fin de garantizar la seguridad y eficacia de las plantas nativas de Guatemala, la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala ha estado realizando estudios que evalúen estos aspectos, así como la actividad microbiológica de las mismas. El propósito de la presente investigación fue evaluar la actividad inhibitoria *in vitro* de cinco especies del género *Vernonia* de uso popular en Guatemala contra cinco bacterias, una levadura y tres hongos para comprobar su actividad antibacteriana y antimicótica.

Se recolectaron las hojas de *Vernonia deppeana*, *V. patens*, *V. escorpioides*, *V. tortuosa* y *V. triflosculosa*, nativas del Sur-Occidente de Guatemala, se prepararon los extractos etanólicos por medio de percolación seguida de concentración, siendo el extracto de *V.*

triflosculosa el que presentó mayor rendimiento (16.5%). La actividad antibacteriana de los extractos etanólicos se evaluó por el método de Mitscher en agar Mueller-Hinton con una concentración del extracto de 1 mg/ml utilizando las cepas de bacterias *Escherichia coli* ATCC® 9637, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853, *Salmonella typhi* ATCC® 6538, *Shigella flexneri* ATCC® 3845, *Staphylococcus aureus* ATCC® 6538 y la levadura *Candida albicans* ATCC® 10231. Para los dermatofitos se utilizó el método de Brancato y Golding modificado por Mac Rae en agar Sabouraud con una concentración de 1 mg/ml para las cepas *Aspergillus flavus* ATCC 204304, *Microsporum gypseum* ATCC® 115200 y *Trichopyton rubrum* ATCC® 113200. Se realizó un total de cuatro repeticiones para un nivel $\alpha=0.10$ en bacterias y hongos. Se encontró actividad inhibitoria significativa ($p=0.0625$) en los extractos etanólicos de *V. deppeana* a una concentración de 0.25 mg/ml, y en el extracto etanólico de *V. scorpioides* que mostró actividad inhibitoria a una concentración de 1 mg/ml frente a *M. gypseum*. Esto confirma que el extracto etanólico de *V. deppeana* tiene potencial para el tratamiento de afecciones de la piel, principal uso popularmente atribuido, por lo que deben seguir en estudio para determinar los compuestos activos.

2 INTRODUCCIÓN

Asteraceae es la familia con mayor riqueza y diversidad biológica, es el grupo más evolucionado de las dicotiledóneas. La distribución de esta la familia es cosmopolita y se considera la más abundante de las angiospermas en el mundo. Las asteráceas representan una considerable importancia ecológica y económica al integrar un alto porcentaje de la flora vernácula en muchas regiones del mundo. El uso de plantas medicinales para el tratamiento de ciertas enfermedades se ha desarrollado desde tiempos inmemorables. A través de análisis clínicos se ha conseguido validar la actividad antibacteriana y antimicótica de varias especies de plantas medicinales de la familia asteraceae, utilizadas por la población guatemalteca para el tratamiento de problemas de la piel como; alergias, heridas, hemorragias, contusiones, golpes, úlceras crónicas de la piel, procesos inflamatorios cutáneos, picaduras, etc.

La tribu Vernonieae Cass constituye uno de los grupos más grandes de la familia Asteraceae, con alrededor de 1700 especies distribuidas en las regiones tropicales de Asia,

África y América. La mayoría de las especies pertenecen al extenso género *Vernonia* Schreb., que comprende alrededor de 1000 especies, de las cuales el 50% crecen en el Nuevo Mundo (Jones, 1977, p. 503). Las especies de este género presentan una gran variación en el hábito y la morfología, conocido como el género de hierbas del nuevo mundo tropical o arbustos con ápices de cabezas cimosas de flores tubulares. El género *Vernonia* es utilizado comúnmente para el tratamiento de diarreas, cólicos, constipado, empacho, dolor de estómago, aire, hemorragias, inflamaciones vaginales, gripes, fiebre, reumatismo, asma, infecciones por trematodos, pero principalmente inhibe bacterias que causan afecciones de la piel y dermatofitos, por lo que es utilizado en baños para alergias, lavar heridas, ulceraciones y cortaduras (Cáceres, 1991, p. 504; House, Lagos-Witte, Ochoa, Torres, Mejía, y Rivas, 1995, p. 407; Palacios, 2004, p.29).

En este estudio se pretendió evaluar científicamente la actividad antibacteriana y antimicótica de extractos vegetales de hojas, obtenidos de cinco especies de plantas pertenecientes al género *Vernonia*. Estas plantas utilizadas comúnmente en la medicina tradicional y popular, son conocidas como suquinay (*Vernonia deppeana*, *V. patens*, *V. escorpioides*, *V. tortuosa* y *V. triflosculosa*).

3 ANTECEDENTES

3.1 Área de colecta

La región sur-occidente está conformada por los departamentos de Totonicapán, Quetzaltenango, San Marcos, Sololá, Suchitepéquez y Retalhuleu. La extensión territorial es de 12,230 km², equivalente al 11% del total del territorio nacional. Esta región colinda al norte con los departamentos de Chimaltenango y Escuintla, al oeste con la República de México y al sur con el Océano Pacífico. Las temperaturas oscilan entre 10-28° C y la precipitación promedio es de 900 mm a 4500 mm anuales. El rango de altitud oscila entre 200-2800 msnm en los volcanes Tacaná y Tajumulco. La región central y la metropolitana están conformadas por Chimaltenango, Escuintla, Sacatepéquez y Guatemala. Tiene una extensión de 5.494 km² hasta el sitio de la represa de Pueblo Viejo, y 382 km² la capital constituye el 5% de la superficie del país. La precipitación media es de 1.200 mm y los

valores extremos varían de 824 mm en Sacapulas y 5.222 mm en Quixal. Los valores promedio de temperatura fluctúan entre los 12°C y 24°C con pequeñas variaciones anuales, se ubica en las coordenadas geográficas (ver figura 1):

Paralelos:

N 14°31'59.88"

N 14°44'34.56"

Meridianos:

O 91°35'51.08"

O 90°29'14.62"



Figura 1. Mapa del área de colecta la región sur-occidental y centro de la República de Guatemala (Art Map).

La región presenta siete de las catorce zonas de vida reportadas para Guatemala. El bosque húmedo sub-tropical cálido es la zona de vida más extensa y cubre el 40% de la región. Se distribuye la mayor parte en el departamento de Suchitepéquez. El bosque muy húmedo montano cubre el 24% de la región y se localiza en las tierras altas de San Marcos y Quetzaltenango. Otras zonas de vida en la región son el bosque húmedo montano bajo, el bosque húmedo sub-tropical cálido, el bosque muy húmedo montano, el bosque seco sub-tropical y el bosque húmedo sub-tropical templado (De la Cruz, 1982, pp. 5-35). La región central y metropolitana presenta siete zonas de vida: Bosque muy Húmedo Montano Bajo Subtropical, Bosque Húmedo Montano Bajo Subtropical, Bosque muy Húmedo Subtropical Frió, Bosque Húmedo Subtropical Templado, Bosque muy Húmedo Montano Subtropical, Bosque Seco Subtropical, Bosque Húmedo Montano Subtropical y Bosque Pluvial Montano Bajo Subtropical (García, 2002)

3.2 Taxonomía del género *Vernonia*

Reino: Plantae

Subreino: Traqueobionta (plantas vasculares)

Superdivisión: Spermatophyta (plantas con semilla)

División: Magnoliophyta Cronquist, Takht. & W. Zimm. Revela ex

Clase: Magnoliopsida Brongn. (Dicotiledóneas)

Subclase: Asteridae Takht.

Orden: Asterales Lindl.

Familia: Asteraceae Bercht & J. Presl

Subfamilia: Cichorioideae

Tribu: Vernonieae

3.3 Generalidades e importancia medicinal de las asteráceas

Las asteráceas son la familia con mayor riqueza y diversidad en el mundo, es el grupo más evolucionado de las dicotiledóneas. Con una amplia distribución y es considerada la más abundante de las angiospermas en el mundo, con aproximadamente 1,100 géneros y unas 20,000 especies. Debido a esto, tiene una gran importancia ecológica al integrar un alto porcentaje de la flora nativa en muchos países del mundo. Así mismo la composición química de las asteráceas también es diversa, algunas plantas contienen absintol (*Ambrosia* sp, *Artemisia* sp, *Artemisia* sp y *Matricaria chamomilla*), poseen un glucósido denominado azuleno, también contienen ácido angélico y antémico. Son empleados como tónicos amargos, antiespasmódicos y estomáquicos el manzanillón y la misma manzanilla (Restrepo de Fraume, 2005, pp. 16, 122). Además poseen otros compuestos como los alcaloides, monoterpenos y varios fenoles semejantes a los flavonoides. Otro compuesto presente en las asteráceas son los poliacetilenos que son

compuestos muy potentes como citotóxicos con propiedades antifúngicas, lo cual explica su actividad antiséptica (Heinrich, Robles, West, Ortiz, & Rodriguez, 1998, pp. 56-62).

La familia de las asteráceas es una de las más empleadas en la medicina tradicional para tratamientos en diversas dolencias. Se realizó una revisión bibliográfica de las asteráceas con actividad antimicótica y antibacteriana los cuales se mencionan a continuación. En Pampa, Argentina el extracto metanólico de capítulos secos de *Centaurea calcitrapa* presentó actividad antimicrobiana frente a *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *S. typhimurium*, mientras que *Centaurea solstitialis* inhibió las cepas de *S. agalactiae* y *S. aureus* (Toribio, Oriani, y Skliar, 2004, pp. 335-341). En Bogotá, Colombia los extractos etanólicos de *Ageratum Conyzoides*, *Austroeupatorium inulaefolium* y *Heliopsis oppositifolia* mostraron actividad frente *S. aureus* y *Bacillus subtilis*. *Chromolaena odorata* además de los mencionados anteriormente también mostró actividad frente *Mucor sp* (Sanabria-Galindo, Mendoza, y Moreno, 1998, pp. 47-51). El extracto diclometánico de *Senecio desiderabilis* inhibió el crecimiento de las cepas de *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*, *C. neoformans* var. *gatti*, *Sacharomyces cerevisiae* y *Microsporum canis* (Deuschle, Camargo, Francescato, Alves, y Heinzmann, 2006, pp. 356-359). Se utilizaron las hojas de *Pluchea carolinensis* para obtener el extracto clorofórmico el cual presentó actividad frente a *B. subtilis* mientras que los extractos de acetato de etilo y N-butanol mostraron actividad frente *S. aureus* y *B. subtilis* (Perera, Gonzales y Payo, 2006). El extracto metanólico de las flores de *Helichrysum compactum* (planta autóctona de Turquía) presentó actividad frente a *S. aureus*, *E. coli*, *Yersinia enterocolitica* (Özcan, Sagdiç, Karahan, y Musa Özcan, 2003, pp. 353-358). Los extractos de las hojas de *Tagetes nelsonii* obtenidos con hexano, diclometano y etanol mostraron actividad frente a *Proteus mirabilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *C. albicans* (Espinoza, Palomeque, Salazar, Domínguez, y Canseco, 2009). Se realizaron extractos metanolicos de *Baccharis articulata*, *B. soliafolia*, y *B. pingraea* los cuales presentaron halo de inhibición frente a *S. aureus*, *Streptococcus spartioides*, *S. epidermidis* (Toribio, Oriani, Fernández, y Tortone, 2007; pp. 44-48). La evaluación de la actividad antibacteriana y antimicótica de los extractos acuosos de las hojas, tallo, flor y fruto de *Conyza sumatrensis* (conocida en Argentina como “carnicera” o “vira-vira”) mostraron actividad frente a *Micrococcus luteus*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *C. albicans* (Luján, y Pérez, 2008).

Los extractos etanólicos de las hojas de *Baccharis trinervis* presentaron actividad frente a *T. rubrum* y *T. mentagrophytes* (Ospina, Aragón, Vergel, Isaza, y Pérez, 2011, pp. 49-55). Los aceites obtenidos de *Achyrocline alata* y *Baccharis latifolia* fueron activos contra *A. fumigatus* (Zapata, Durán, Stashenko, Betancur, y Mesa-Arango, 2010, pp. 101-103). El extracto etanólico de *Baccharis latifolia* presentó actividad inhibitoria frente *Aspergillus niger* y *Phytophthora palmirova* (Martínez, Terrazas, Alvarez, Mamani, Vila, Mollinedo, 2010, pp. 13-18). Los extractos etanólicos de *Gnaphalium gaudichaudianum* y *Baccharis trimera* inhibieron el crecimiento de *Saccharomyces cereviceae* y *C. albicans* (Davicino, Mattar, Casali, Correa, Pettenati y Micalizzi, 2007, pp. 247-251). El extracto alcohólico (90%) con hojas adultas de *Conyza bonariensis*, manifestó actividad sobre *Malassezia fufur* a bajas concentraciones (Santana, Miranda, Gutiérrez, García, Orellana, y Orellana-Manzano, 2011, pp. 13-23).

El 13.1% de los estudios de las asteráceas en Argentina son utilizadas para enfermedades dermatológicas, de la actividad citotoprotectora de las lactonas sesquiterpenicas (SQLs) en úlceras y heridas de la piel. También se ha demostrado que varios SQLs pueden causar dermatitis de contacto (Arrázola Rivero, Atahuachi, Saravia, y Lopez, 2002 pp. 53-85).

3.4 Generalidades y estudios realizados en plantas del género *Vernonia*

El género *Vernonia* es uno de los más grandes, comprende 1000 especies de las cuales 24 están presentes en Guatemala (Nash, y Williams, 1976, pp. 19-21), las cuales presentan una morfología externa similar y se distinguen principalmente por el tipo de polen, número de flores, composición química y número cromosómico (Robinson, 1999, pp. 1-116). Se realizó una revisión bibliográfica para conocer la actividad del género frente a patógenos, los estudios más importantes se mencionan a continuación, Los extractos de *V. amygdalina* Delile mostraron actividad frente *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* *Shigella dysentriae* y *Salmonella typhimurium* aunque a altas concentraciones (Oshodi, Amoo & Eleyinmi, 2004, pp. 398-402). El extracto etanólico de las hojas de *V. deppeana* Less. presentó actividad para *S. aureus* (Cáceres, Girón, Alvarado, & Torres, 1987, p. 223). Los extractos metanólicos y clorofórmicos de *V. polyanthes* Less. y *V.*

ferruginea Less., redujeron significativamente las lesiones gástricas y demostraron actividad analgésica reduciendo el número de contorsiones abdominales. Los resultados demostraron la actividad antiulcerogénica y analgésica de los extractos (Barbastefano, Cola, Ferrerira, Hiruma-Lima, Camargo, Vilegas & Brito, 2004, p. 1; Ibrahim, Ajala, Adetuyi, & Jude-Ojei, 2009, p. 214). El extracto de *Vernonia sp* presentó actividad contra las formas sanguíneas de la malaria humana, *in vitro* y en animales experimentalmente infectados (Carvalho, Rocha, Raslan, Oliveira, & Krettli, 1988, pp. 485-487). *V. baccharoides* (conocido en Ecuador como Linchic) posee propiedades analgésicas, anti-ictéricas, es utilizada para el tratamiento de ulceraciones y cortaduras (Naranjo, 1995, pp. 65-86). En el 2005, Blair realizó una revisión de los estudios realizados del género "El extracto acuoso de las hojas de este género resultó activo contra *Plasmodium falciparum* cepa ITG-2 (Grupo Malaria, U. de A., 2002). El extracto hexánico de hojas de *V. brasiliana* presentó actividad contra *P. falciparum* en los ensayos *in vitro* y contra *P. berguei* en ensayos *in vivos* de ratones infectados (Alves, et al., 1997). *Vernonia acutiangula* reportó actividad frente a *Mycobacterium sinematis* (Andrade, De Mello & Medeiros, 1982). *V. malabárica* presentó actividad diurética y *V. volkameriifolia*, hipotérmica (Dhawan, et al., 1977). En *V. arbórea* se conoció el efecto sobre el tejido aislado de íleon y sobre el sistema nervioso central, mientras que *V. divergens* actuó sobre la respiración y la función cardiovascular (Dhar. et al., 1973)." (pp. 86-87).

3.5 Composición química de *Vernonia*

Vernonia colorata (Willd.) Drake, mostró la presencia de tres lactonas sesquiterpénicas: 1) vernolido, 2) 11beta, 13-dihidrovernolido y 3) vernodalina, los compuestos 1 y 3 con concentraciones inhibitorias mínimas contra bacterias Gram-positivas (Rabe, Mullholland, & Van Staden, 2002, p. 91). Las lactonas sesquiterpénicas se han estudiado en este género y se encontraron varios tipos de, lactonas sesquiterpénicas con grupos alénicos, hirsutinolidos y glaucólidos (Bohlmann, Wallmeyer, & Jakupovic, 1982^a, pp. 1445-1447; Bohlmann, Zdero, King, & Robinson, 1982^b, pp. 695-699). Se identificó la presencia del lupeol compuesto presente en este género al cual se le atribuyó

la actividad inhibitoria de *P. falciparum*, sin embargo este triterpeno resultó inactivo cuando *in vivo* se administro a los ratones infectados con *P. berguei* (Blair, 2005, p. 86).

Bohm, y Stuessy, (2001) afirman

Otros compuestos encontrados en el género *Vernonia* fueron las flavonas O-metiladas y flavonoides (p. 366). Ha sido reportado para el género implicaciones sistemáticas de los flavonoides y lactonas sesquiterpénicas en los patrones de oxigenación y flavonoides simples en los patrones de hidrogenación como 3,4,5-trioxin (p. 396). Se ha determinado en *Vernonia* el grupo de compuestos 4-metoxi que se encuentra en la A-conformación de flavan-3,4-dioles.

Las partes aéreas de *Vernonia nudiflora* mostrarón la presencia un nuevo glaucolide derivado, 3 nuevos derivados de hirsutolides, 2 nuevos cadinanolides así como varios flavonoides (Bardón, Kamiya, De Ponce De León, Catalán, Díaz, & Herz, 1992, 606). De un extracto de cloroformo de las hojas de *Vernonia fasciculata* Michx. Se han aislado (4,5-dihidroxi-7-metoxiisoflavona) y un disacárido flavona nuevo llamado 4-O-(2-O-rhamnosylglucósido) (Narain, 1979, pp. 33-35). En *Vernonia amygdalina* se encontrarón 3 flavonas las cuales fueron identificadas como luteolina, luteolina 7-O-B-glucuronosido y luteolina 7-O-B- glucósido. La actividad antioxidante de las tres flavonas fue determinada midiendo la oxidación junto a B-caroteno y al ácido linoleico. Se demostró que la luteína fue un antioxidante mucho más potente que los antioxidantes sintéticos butilhidroxitolueno (BHT) a una misma concentración (15 mg/L). Los otros dos glucósidos demostraron similar actividad pero significativamente menor a la actividad de la luteína (Igile, Oleszek, Jurzysta, Burda, Fafunso, & Fasanmade, 1994, 2445). B-amirina, lupeol, y sus acetatos, B-sitosterol, estigmasterol, alfa-espinaesterol, resina fenólica, y KCl han sido aisladas de toda la planta de *Vernonia cinerea* (Misra, Singh, Upadhyay, & Srivastava, 1984, p. 865). En el extracto alcohólico de las partes secas aéreas de *Vernonia lasiopus* se aislaron dos nuevos elemanolides, epivernodalol y lasiopulide, nuevos epímeros C-10 de la vernodalol lactonas sesquiterpénicas y vernodalol demethylacroylated aislados de otras especies de *Vernonia*. Ambos elemanolides mostrarón citotoxicidad *in vitro* contra líneas

celulares de cáncer humano en la “Cultura” (Koul, Koul, Singh, Taneja, Shanmugavel, Kampasi, Saxena, Qazi, 2003, p. 164).

3.6 Etnobotánica y etnofarmacología de las plantas en estudio

3.6.1 Especie: *Vernonia deppeana* Less.



Sinónimos: *Cacalia deppeana* (Less.) Kuntze *Vernonanthura deppeana* (Less.) H. Rob. (Tropicos, 2009)

Nombres comunes: Suquinay, suquinái (Alta Verapaz, Chiquimula, Sacatepéquez, Suchitepéquez), suquinay hembra (Alta Verapaz), semén (Alta Verapaz, Quecchí), sukunang (El Salvador), tzitit (tseltal), sitit, zi-tit (México), sucunán, flor de cuaresma, rosa blanca, cihuapatli, rajate-luego, tuete (Nash, y Williams, 1976, p. 24; United States Department of Agriculture (USDA), 2009).

Descripción botánica: Arbusto o árbol pequeño, algunas veces de 9 m de alto, tallos pubescentes, hojas alternas oblongas, corona redondeada, ramas gruesas, hojas pecioladas pequeñas, con láminas gruesas, oblongas o elípticas, de 8-15 cm de largo y de 2-7 cm ancho, obtuso o agudo, redondeada en la base, los márgenes enteros serrulados, haz pubescente y envés blanco tomentoso (Anexo 1). Sus flores son tubulares de 10-30 cm de ancho, blancas o rosadas de 18-21, involucros campanulados, 3 mm de alto dispuestas en una panícula grande y el fruto es una semilla de 2 mm de largo (De Marzi, 2006, p. 46; Heywood, 1985, pp. 190-210; USDA, 2009; Nash, y Williams, 1976, p. 24).

Distribución y hábitat: Se encuentra en México, El Salvador, Honduras y Costa Rica. En Guatemala crece en los departamentos de Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Huehuetenango, Guatemala, Jalapa, Quetzaltenango, Retalhuleu, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa, Sololá, Suchitepéquez. Se desarrolla en bosques de 300-2000 msnm con precipitación pluvial de 1100-4000 mm al año. Crece principalmente en lugares húmedos, en matorrales y bosques de encino y pino-encino. Regularmente se encuentra en selva mediana sub-perennifolia. Árbol codominante de Bosques latifoliados. (Arellano-Rodríguez, Flores Guido, Tun Garrido y Cruz Bojórquez, 2003, pp. 117-151; Nash, y Williams, 1976, p. 24; USDA, 2009).

Especímenes en herbarios de Guatemala: En una encuesta en cuatro herbarios de la ciudad de Guatemala se encontraron muestras provenientes de Sacatepéquez (Alotenango Astillero Municipal), San Marcos, Huehuetenango (Municipalidad Barillas), Guatemala (zona 12 Ciudad Universitaria, Finca el Recuerdo Yepocapa), Retalhuleu (San Felipe Las Victorias).

Usos medicinales populares: Se utiliza las hojas tiernas en emplastos para el tratamiento de cólicos, constipado, empacho, diarreas, dolor de estómago, aire y es utilizada principalmente para tratamiento de piodermias, en baños para alergias, lavar heridas, también para hemorragias e inflamaciones vaginales, hemorragias nasales, gripes, fiebre, cefaleas, reumatismo y para tratar el asma (House, y otros, 1995, p. 407).

Actividad farmacológica y biológica: En 1987 su tintura presentó actividad antibacteriana contra *S. aureus*, fue inactivo contra *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans* (Cáceres, y otros, 1987, p. 223). En otros estudios inhibió el crecimiento de bacterias que causan afecciones de la piel y dermatofitos (Cáceres, 1991, pp. 1-16), además demostró actividad antigardnerella a una concentración de 1mg/ml (Palacios, 2004, p. 1).

Otros usos: Planta melífera utilizada para colecta de polen y néctar. El arbusto se utiliza para la realización de cercos vivos en Suchitepéquez (Arellano-Rodríguez, y otros, 2003, pp. 117-151).

3.6.2 Especie: *Vernonia patens* Kunth



Sinónimos: *Vernonia lanceolaris* A. *V. aschenborniana* Schauer, *V. salamana* Gleason (Nash, y otros, 1976, p. 28).

Nombres comunes: Suquinay, xuqunán, xuquinái, tuete, tuete blanco.

Descripción botánica: Arbustos, erecto de 2-3 m o a veces pequeños árboles de 6 m de alto, ramas tomentulosa o glabra, hojas cortas pecioladas, hojas oblonga a lanceolada, mayoría de 6-15 cm de largo, y 1.5-3 cm de ancho, agudo o acuminado obtuso o agudo en la base, márgenes enteros a veces denticulados, inflorescencia usualmente de 20-30 cm, cimas escorpioides, corolas rosadas a blancas (Nash, y Williams, 1976, p. 28).

Distribución y hábitat: Se encuentra en Alta Verapaz, Chiquimula, Escuintla, Guatemala, Izabal, Jalapa, Petén, El Progreso, Retalhuleu, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez, y al Sur de México, Honduras, del El Salvador a Panamá, Sur América tropical. Se encuentra en matorrales secos o húmedos y secos, en bosques. En Guatemala crece en altitudes desde el nivel del mar a 1700 msnm o rara vez más con precipitación pluvial desde 100-2500 mm al año (Nash, y Williams, 1976, p. 28).

Especímenes en herbarios de Guatemala: En una encuesta en cuatro herbarios de la ciudad de Guatemala se encontraron muestras provenientes de Chiquimula (Esquipulas, Residenciales Valle), El Progreso (Sanarate, Finca San Miguel y El rancho), Petén (Municipio Melchor de Mencos, sitio Arqueológico el Naranjo), Retalhuleu (Finca San Pablo), Santa Rosa (Pueblo nuevo Viñas, Finca Santa Isabel) y Sololá (Municipio Panajachel).

Usos medicinales populares: Se utiliza principalmente para el tratamiento de piodermias. *V. patens* y *V. baccharoides* Kunth (conocida en el Litoral como Yasmiande) son utilizadas

para afecciones de la piel, contusiones, heridas, golpes (Inca, Corrales, Tupiza, Yazán, y Imbaquingo, 1995, pp. 87-101).

Actividad farmacológica y biológica: Se estableció la presencia de actividad fototóxica frente a *Bacillus subtilis* (ATCC-6633) en tallos de plantas jóvenes de *V. patens*. Los tallos y hojas de también mostraron actividad antiinflamatoria y potencial bactericida (Pérez-Amador, Muñoz Ocotero, Pérez Benitez, & García Jiménez, 2008). El extracto acuoso de las hojas produjo disminución, aunque no significativa de la actividad antihemorrágica (Badilla, Chaves, Poveda, Jiménez, y Rodríguez, 2006).

3.6.3 Especie: *Vernonia scorpioides* (Lam.) Pers.



Sinónimos: *Lepidaploa scorpioides* (Lam.) Cass; *Cacalia scorpioides* (Lam.) Kuntze, *Vernonia scorpioides* var. *scorpioides* (Lam.) Pers; *Cyrtocymura scorpioides* (Lam.) H. Rob (Tropicos, 2009).

Nombres comunes: Suquinay hembra, de hoja fina, escoba dura, matacampo, piracá, hierba de san simón o yerba san simón (Argentina) (Marino, y Pensiero, 2006, p. 13).

Descripción botánica: Arbusto, mide de 2-3 m de altura a veces arboles pequeños de 6 m , hojas simples cortas con forma ovada peciolada poco oblongas miden de 6-15 cm de largo y 1.5-3 cm de ancho, base aguda o acuminada, obtuso, márgenes enteros algunas veces denticulados o serrados. Inflorescencias agrupado en capítulos, usualmente bifurcado comúnmente de 20-30 cm de ancho, cimas espiraladas escorpioides, involucros ampliamente campanulados, de 3-5 mm de alto, ciliado, de color verde pálido con centro café, agudo o sub-agudo a veces obtuso, corolas rosadas o blancas Frutos: aquenios muy pequeños de 1mm provistos de pappus (De Marzi, 2006, p. 46; Nash, y Williams, 1976, p. 29).

Distribución y hábitat: En suelos húmedos a media sombra, crecimiento rápido y puede utilizarse como cubre suelos gracias a sus tallos rastreros. Florece desde primavera hasta verano, fructifica a principios de otoño. Crece en bordes de selvas y caminos, lugares abiertos regularmente en altitudes a nivel del mar con precipitación pluvial desde 1700-3200 mm al año (Aizpuru, Aseginolaza, Catalán y Uribe-Echebarría, 1993, pp. 131-140; De Marzi, 2006, p. 46; Nash, y Williams, 1976, p. 29).

Especímenes en herbarios de Guatemala: En una encuesta en cuatro herbarios de la ciudad de Guatemala no se encontró muestras proveniente de Guatemala (Tropicos, 2009).

Usos medicinales populares: Tratamiento para úlceras crónicas de la piel, alergias, parásitos de la piel, cicatrizante, procesos inflamatorios cutáneos, irritaciones, heridas, picaduras, hemorroides, disentería (Leite, Palhano, Almeida, & Biavatti, 2002, p. 496).

Actividad farmacológica y biológica: Tiene actividad inmunomoduladora, debido a la inhibición de la proliferación celular (ZandonáI, 2007, p. 6).

Otros usos: Ornamental, cubre suelos.

3.6.4 Especie: *Vernonia tortuosa* (L.) Blake.



Sinónimos: *Conyza tortuosa* L, *V. shiedeana* Less (Nash, y Williams, 1976, p. 31).

Nombres comunes: Suquinay, rash kam (Quecchi, Alta Verapaz)

Descripción botánica: Arbusto, de 1-3 m de alto, hojas cortas, con pecíolos de 0.3-1.5 cm de largo, alongado se reclinan en otras plantas, hojas regularmente gruesas y duras, mayoría de 8-15 cm de largo y 2-5 cm de ancho. Comúnmente lustroso oblongo-elíptico a oblongo-

lanceolado, pequeño, acuminado, obtuso o redondeado, la base redondeado o cuneado, margen entero, mas o menos piloso escabroso, venación prominente, inflorescencia larga y libre de branquias, cimas elongadas escorpioides, 30-40 flores, corolas blancas a rosas (De Marzi, 2006, p. 46; Nash, y Williams, 1976, p. 31).

Distribución y hábitat: Se encuentra en Alta Verapaz, Chiquimula, Escuintla, Guatemala, Izabal, El progreso, Petén, Quetzaltenango, Tetalhuleu, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez y al sur de México, El Salvador, Costa Rica. En Guatemala crece en bosques abiertos y en bosque de pino de 100-1500 msnm con precipitación pluvial desde 600-1800 mm al año (De Marzi, 2006, p. 46; Nash, y Williams, 1976, p. 31).

Especímenes en herbarios de Guatemala: En una encuesta en cuatro herbarios de la ciudad de Guatemala se encontraron muestras provenientes de Alta Verapaz (Senahu, Finca trece aguas), Petén (San Andrés, Parque Laguna del Tigre), Escuintla, Guatemala (La Pedrera), Sacatepéquez (San Pedro), Retalhuleu (San Felipe), Amatitlán (Pacaya).

Usos medicinales populares: Se utiliza la decocción en Alta Verapaz principalmente para el tratamiento de enfermedades del sistema digestivo.

3.6.5 Especie: *Vernonia triflosculosa* Kunth



Sinónimos: *Eremosis triflosculosa* (Kunth) Gleason, *Cacalia triflosculosa* (Kunth) Kuntze, *Critoniopsis triflosculosa* (Kunth) H. Rob.; *Cacalia triantha* (Schauer) Kuntze, *Vernonia chacalana* S.F. Blake, *Vernonia dumeta* Klatt, *Vernonia luxensis* J.M. Coult, *Vernonia triantha* Schauer (Nash, y Williams, 1976, p. 31).

Nombres comunes: Suquinay, palo de paloma, barreto.

Descripción botánica: Árboles pequeños o arbustos, a veces llegan a medir 8 m. de alto, corona densa y redonda con ramas pubescentes, hojas cortas pecioladas, láminas finas, ovaladas a elíptica, regularmente de 6-13 cm de largo y 1.5-3 cm de ancho, de agudo a ancho-acuminado, atenuada en la base y más o menos decurrente en el pecíolo, márgenes enteros a toscamente serrado o dentado, papiloso en ambas caras, de abajo glandular-puntuado, Las inflorescencias son largas, cónicas o hemisféricas, regularmente densas y frondosas, cabezuelas comúnmente trifoliado, sésiles o con pedicelo muy corto, por lo general de 2-5 en un solo pedúnculo, involucro cilíndrico, de color marrón o verdoso pálido, de 4-5 mm de alto, filamentos poco imbricados, externos redondeados u ovados, subagudo, los de adentro oblongos, agudo o subacuminado, con hojas. Las flores son pequeñas y blancuzcas (Nash, y Williams, 1976, p. 32).

Distribución y hábitat: Se encuentra en Escuintla, Guatemala, Jalapa, Quetzaltenango, Retalhuleu, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez, y al Sur de México, Honduras, del El Salvador a Panamá. Se encuentra en lugares húmedos y secos, cerca de matorrales sobre llanos o laderas rocosas. En Guatemala crece en altitudes de 120-1250 msnm o rara vez más. Regularmente en Selva baja caducifolia con precipitación pluvial de 600-1800 mm al año (Nash, y Williams, 1976, pp. 31-32).

Especímenes en herbarios de Guatemala: En una encuesta en cuatro herbarios de la ciudad de Guatemala se encontraron muestras provenientes de Chimaltenango, Guatemala (Colonia Villa Linda, Zona 7), Sacatepéquez (Alotenango, Astillero municipal), Jutiapa (Moyuta, Finca los Ausoles), Retalhuleu.

Usos medicinales populares: Se utiliza principalmente para el tratamiento de piодermias.

Actividad farmacológica y biológica: Presencia de di-terpenos en las partes aéreas de *V. triflosculosa*. Dos hirsutinolides fueron estudiados para su ADN de NF-Kilobyte la actividad obligatoria en células HaCaT (una línea de célula humana similar a keratinocytes) y para su inhibición sobre la producción IL-8 en células HeLa (ZandonáI, 2007, p. 6).

3.7 Bacterias patógenas en estudio

3.7.1 *Escherichia coli*

Es un bacilo Gram-negativo, aerobios o anaerobios, produce endotoxinas, fermenta la lactosa y la glucosa, positivos al indol en rojo de metileno, no tienen cápsula, cepas son móviles por flagelos. Las cepas lisas (L) forman colonias incoloras, convexas y brillantes, pero al ser sub-cultivadas se convierten en cepas rugosas (R) que forman colonias granuladas y opacas. Patología: se encuentra en el intestino grueso, causan enfermedad intestinal primaria, infección extra-intestinal. Es un microorganismo que puede desplazarse del conducto intestinal al tracto urinario y a los riñones por vía hematológica o linfática presentando con mayor frecuencia procesos patológicos en el tracto urinario. Tratamiento: para el tratamiento de diarrea se usa el manejo del equilibrio líquido y electrolítico. La diarrea infantil se controla con antibióticos como: sulfamidas, ampicilina, cefalosporina, tetraciclinas, carbencelinas, colistina, gentamicina, kanamicina y aminoglucósidos; para infecciones urinarias, se utiliza nitrofurantoina, ácido nalidíxico y sus derivados (Kaper, Nataro, & Mobley, 2004, pp. 123-140; Levy, 2002, pp. 65-71; Winfield, & Groisman, 2003, pp. 3687-3694).

3.7.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Es bacilo Gram-negativo, móvil por la presencia de flagelos polares, es aerobio, produce endotoxinas, fermenta la glucosa produciendo ácido, es negativo al indol y generalmente no tiene cápsula pero las cepas encapsuladas producen colonias mucoides, no forma esporas. En un medio de agar sangre, las colonias son grandes, irregulares con pigmento verde o azul-verde difusible llamado piocianina. Patología: Tiene por lo menos dos tipos de proteasas que pueden ser responsables de las lesiones cutáneas hemorrágicas observadas en algunas infecciones. La elastasa produce los rasgos patológicos observados en las infecciones de la córnea, además produce una enterotoxina que puede ser responsable de la diarrea asociada en infecciones intestinales, también da lugar a como infecciones del tracto urinario, infecciones de quemaduras y heridas, abscesos, meningitis, bronconeumonía y la endocarditis bacteriana sub-aguda. Tratamiento: con antibióticos

como polimixina B, colistina y gentamicina, en casos graves se utiliza la carbenicilina en combinación con la gentamicina. En pacientes quemados se ha empezado a emplear la inmunoterapia (Esnard, y Díaz, 1997, pp. 30-37; Zuazo, 2001, pp. 569-574).

3.7.3 *Salmonella typhi*

Es un bacilo Gram-negativo, móvil anaerobio facultativo no esporulado, utiliza la glucosa y la manosa para producción de ácido sulfhídrico. En medio de Mac Conkey, las colonias miden de 2-3 mm de diámetro, son circulares, convexas, lisas e incoloras. Son capaces de tolerar concentraciones altas de bilis, característica que ayuda en su aislamiento e identificación. Patología: la infección por *S. typhi* es causante de la fiebre tifoidea; produce malestar general, fiebre, cefalea, letargo, anorexia, molestias abdominales, erupción transitoria, esplenomegalia y leucopenia; a veces diarrea de consistencia líquida con gran número de leucocitos polimorfonucleares. Las complicaciones más importantes son hemorragia intestinal y perforación. Tratamiento: el cloranfenicol se utiliza para el tratamiento de la fiebre tifoidea y septicemias, algunas cepas presentan resistencia, por lo que se utiliza: trimetoprim-sulfametoxazol ampicilina, amoxicilina, y furazolidona que resultan efectivas en un 60-80% pero en tratamiento largo y dosis elevadas; en caso de diarrea grave es necesario la restitución de líquidos y electrolitos (Durango, Arrieta, y Máttar, 2002, pp. 89-96 ; Ekinci, Coban, Birinci, Durupinar, & Erturc, 2002, pp. 810-813).

3.7.4 *Shigella flexneri*

Es un bacilo entérico Gram-negativo, inmóvil, aerobio, produce endotoxinas, fermenta el manitol, no tienen cápsulas y carecen de esporas. En medio de Mac Conkey, las colonias son convexas circulares, lisas e incoloras. No pueden soportar altas concentraciones de ácido y de bilis. Patología: produce la disentería bacilar (shigelosis) y se transmite por contaminación fecal. Produce infección asintomática, diarrea con sangre, moco y pus, calambres en la parte baja del vientre y tenesmo. Esto es causado debido a que las bacterias penetran en las células epiteliales de la mucosa del íleon terminal y colon,

produciendo una disentería bacilar. Tratamiento: se usa el manejo del equilibrio de líquidos y electrolitos; la hidratación por vía parental y oral y la corrección de acidosis y de los trastornos electrolíticos. Los antibióticos utilizados para el tratamiento son, la ampicilina, trimetoprim-sulfametoxazol, estreptomicina, cloranfenicol, tetraciclina y colistina (Esnard, y Díaz, 1997, pp. 30-37; Zuazo, 2001, pp. 569-574).

3.7.5 *Staphylococcus aureus*

Son cocos Gram-positivo en racimos irregulares, inmóviles no formadores de esporas, sin cápsula, catalasa positiva y aerobios facultativos, poseen alta tolerancia a la sal, fermenta el manitol. Los antígenos constituyen la proteína A específico. *S. aureus* produce enzimas extracelulares como la coagulasa, estafilocinasa, nucleasa, lipasa y hialuronidasa. Crece con facilidad en tripticasa soya y agar sangre de carnero. Las colonias de *S. aureus* son redondas de 1-4 mm, de diámetro lisas, elevadas y resplandecientes de color gris o amarillo dorado intenso. Patología: *S. aureus* causa infecciones piógenas en lactantes y niños, en la piel, celulitis, furúnculos, pústulas, impétigo e infecciones post-operatorios. Si la lesión es severa las bacterias pasan las barreras locales de la lesión llegando a los ganglios linfáticos y al torrente sanguíneo en donde se multiplica causando necrosis. Produce intoxicación alimenticia: náuseas, vómitos, diarrea y a menudo shock. Se asocia con enteritis, osteomielitis, pioartritis, bacteremia y endocarditis. Tratamiento: con derivados semisintéticos de penicilina, el tratamiento quimioterapéutico con administración simultánea de dos o más medicamentos. En las infecciones estafilocócicas supurativas, el tratamiento adecuado es el drenaje (Murray, 1995, pp. 97-100; Paganini, 2007, pp. 292-296).

3.8 Hongos patógenos en estudio

3.8.1 *Aspergillus flavus*

Son colonias de crecimiento rápido con formaciones filamentosas blancas aéreas y a medida que producen esporas, se vuelve pulverulento y pigmentado el color cambia a verde. Poseen conidióforos que se expanden en grandes vesículas y están cubiertas por fiálides que producen cadenas de conidios. Los conidios son de color amarillo a verde de un diámetro de 10-20 μm . Las fiálides pueden ser uniseriadas o biseriadas. Patología: produce oncomicosis, y uñas engrosadas, quebradizas, con estrías y depresiones en su porción distal. Produce lesiones granulomatosas inflamatorias en la piel, oído externo, senos nasales, bronquios y pulmones; ocasionalmente en la vagina, útero, válvulas cardíacas, hueso y meninges. (Kennedy, & Sigler, pp. 765-799; Kwon-Chung & Bennett, 1992, pp. 201-247). Tratamiento: para la aspergilosis pulmonar, se utiliza yoduro, en la aspergilosis invasiva se ha utilizado la anfotericina B, fluconazol ó difulcan. La nistatina que es muy eficaz en áreas locales pero demasiada tóxica por vía parenteral. Otros anti fúngicos son ketoconazol, fluorocitocina, miconazol, actinomivina B. En el caso de aspergiloma en pacientes sintomáticos, generalmente se requiere intervención quirúrgica.

3.8.2 *Candida albicans*

Son levaduras que pueden producir pseudohifas e hifas verdaderas, colonias elevadas de coloración cremosa y opaca, de 1-2 mm de diámetro aproximadamente. Las levaduras macroscópicas son elipsoides o esféricas con brotes de 3-6 μm de tamaño; en medios sin carbohidrato fermentable *C. albicans* crece como levadura por gemación mientras que en medios sin carbohidrato fermentable y en condiciones semi-anaerobias la levadura se alarga formando un pseudo-micelio. Patología: causa infecciones en la piel, mucosas y uñas. La candidosis de la mucosa presenta lesiones únicas y una pseudo-membrana blanquecina que puede cubrir la lengua, paladar blando y mucosa oral. La candidosis cutánea ataca los pliegues inter-triginosos de la piel, la región vulvo-vaginal y los genitales. Tratamiento: el ácido propiónico saturado y sus sales de sodio y zinc se usan para tratar micosis de la ingle y uñas el tratamiento más indicado para la infección por *C.*

albicans es la nistatina y la anfotericina B, antibióticos poliénicos e imidazoles, ketoconazol, fluconazole por vía oral y miconazol por vía intravenosa (Ripon, 1990, p. 33-56).

3.8.3 *Epidermophyton floccosum*

Hongo de crecimiento lento, su colonia es regular, abultada en el centro, algodonosa de aspecto pulverulento de color amarillo verdoso, con surcos en el centro, micelio aéreo, al reverso de la colonia se observa un pigmento beige con una mancha café en el centro. Con macro-conidias grandes, largas, de pared lisa y delgada, multitabuada y redondeada en la punta y adheridas a las hifas individualmente o en grupos de 2 ó 3. Patología: es el agente común de la tinea pedis, tinea cruris y de la tinea unguinum es un hongo antropofílico. Afecta solo la epidermis, pliegues de la ingle e interdigitales de los pies. En fases mas severas pueden aparecer vesículas. Tratamiento: el ácido propiónico saturado y sus sales de sodio y zinc son fungistáticos y fungicidas y se usa en las tineas de pies, cuerpo y uñas (Ripon, 1990, p. 33-56).

3.8.4 *Microsporum gypseum*

Colonia de crecimiento rápido, aplanada, de bordes irregulares y aspecto pulverulento, la superficie granulosa por el conglomerado de macro-conidias, color marrón canela El reverso de la colonia de color pardo rojizo anaranjado, microscópicamente presenta macro-conidias en cadena, de pared delgada elipsoide con varios tabiques (Ralph Daniel, 1991, p. 1566-1567; Ripon, 1990, p. 351-380). Patología: *M. gypseum* es un hongo zoofílico; causante de la *tinea capitis*, con pápulas eritematosas y escamosas alrededor de la lesión y con alopecia severa. Las lesiones son húmedas con cambios inflamatorios ulcerosos y solo invaden la piel y raras veces tejidos sub-cutáneos. Tratamiento: consiste en proteger la piel formando una capa que impida la irritación con un tratamiento tópico no antimicótico, y con soluciones con ácido benzoico y salicílico. También se utilizan derivados de azólicos, bifonazol, fluconazol e itroconazol (Ralph Daniel, 1991, p. 1566-1567).

3.8.5 *Trichophyton rubrum*

Es un hongo antropofílico, sus colonias son de crecimiento lento, planas o abultadas en el centro, superficie blanca algodonosa que se torna rosada; con mucho o poco micelio. En el reverso algunas tienen pigmento rojo tinto. Con micro-conidias piriformes, hifas ubicadas lateralmente, pocas macro-conidias y multiceptadas de pared lisa (Elewski, y otros, p. 810-813, 1994; Ripon, 1990, p. 351-380). Patología: parasita animales y es el dermatofito del hombre más frecuente y más ampliamente distribuido, es el agente más abundante de la tinea de la piel y uñas; infecciones del cuero cabelludo. Produce infecciones en las uñas afecta el espesor y en algunas casos pueden quedar destruidas, en algunos casos ocasiona lesiones granulomatosas profundas. Tratamiento: el ácido propiónico saturado y sus sales de sodio y zinc son fungistáticos y fungicidas para los géneros *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton* y se usa en las tinea de pies, cuerpo y uñas (Ripon, 1990, p. 33-56).

3.9 Evaluación de la actividad antimicrobiana y antimicótica in vitro

Actualmente existen varios métodos para la evaluación de la actividad antimicrobiana y antimicótica de las plantas medicinales, pero los más utilizados son los métodos de difusión y dilución. Estos dos métodos pueden variar dependiendo de varios factores tales como: composición del medio de cultivo, microorganismos de prueba, método de extracción, pH, y otros, que afectan los resultados obtenidos. Se han minimizado estas variaciones, realizando ambos métodos en condiciones estándar. Se han propuesto modificaciones de los métodos, con el fin de mejorar los resultados, tomando en cuenta que los principios básicos son los mismos (Programa Iberoamericano de Ciencias y tecnología para el desarrollo (CYTED) 1995, p. 70; Mitscher, Leu, Bathala, Wu, & Beal, 1972, pp. 157-166; Ríos, & Recio, 1988, pp. 127-148).

3.9.1 Método de difusión

Se da por la observación de que un agente antimicrobiano que es difundido a partir de un material o de un pozo excavado sobre la superficie de una placa de agar, era capaz de inhibir el crecimiento de un microorganismo susceptible.

Es un método estandarizado de difusión con discos de papel filtro impregnados con las soluciones antimicrobianas a ensayar, para determinar la susceptibilidad antibacteriana. Éstos se aplican sobre placas de agar inoculadas con el microorganismo de prueba. Al estar en contacto los discos con el agar, absorben agua del medio, con lo cual se disuelve la solución y comienza a difundirse a través de la capa de agar. Mientras se realiza la difusión del agente antimicrobiano; después de la fase inicial de crecimiento, se da la fase de crecimiento logarítmico, en la que la multiplicación bacteriana se realiza más rápidamente que la difusión del agente antimicrobiano, y las células bacterianas que no son inhibidas continuarán multiplicándose hasta que un halo de inhibición alrededor del disco se pueda visualizar. Ningún crecimiento aparecerá en el área donde el agente antimicrobiano esté presente en concentraciones inhibitorias; mientras más susceptible sea el microorganismo, mayor será la zona de inhibición (Ríos, y Recio, 1988, pp. 127-148).

Este método ha sido diseñado para organismos de crecimiento rápido de un período de 18-24 horas. Para estas pruebas se han utilizado diferentes medios, cepas, papel filtro con diámetro de poro diferente, pero se ha concluido que las variables que influyen en el resultado son: la concentración y tipo de agente antibacteriano, el medio, el tiempo de preparación de la placa, la profundidad del agar, la conservación y manipulación de los discos y la metodología utilizada. Para disminuir el porcentaje de error se da la estandarización de las variables como el inóculo y la utilización de cepas control (Mitscher, y otros 1972, pp. 157-166).

3.9.2 Método de dilución

Es utilizado para determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de un extracto, se puede realizar en caldo o agar. En este método al cultivo de microorganismo en estudio se le inoculan cantidades específicas del antibiótico, que se encuentra en concentraciones decrecientes en caldo o agar utilizando la técnica de dilución seriada. La CIM del antibiótico es la medida del efecto bacteriostático que tiene sobre el microorganismo (CYTED, 1995, pp. 1-140).

El método de dilución en líquido tiene como indicador de inhibición la turbidez del medio; si no hay crecimiento, el medio permanece claro por la inhibición del microorganismo; y cuando hay crecimiento y el medio aparece turbio, el antibiótico no inhibe el crecimiento del microorganismo. Por lo tanto el grado de inhibición está relacionado con la turbidez, que es medida por espectrofotometría (Ríos, y Recio, 1988, pp. 127-148).

El método de dilución en agar, es preparado realizando diluciones de antibiótico y mezclados con un determinado volumen de agar, para obtener las concentraciones deseadas. Posteriormente son inoculados los microorganismos a estudiar en los diferentes puntos de la placa utilizando asa o aplicador. Se incuban las placas y se toma como límite la CIM del antibiótico que produzca inhibición completa del crecimiento. Este método es para probar muchas cepas simultáneamente, permite detectar heterogeneidad o contaminación microbiana; la contaminación se detecta mezclando el extracto antimicrobiano con el agar nutritivo y se deja reposar (Brancato, & Golding, 1983, pp. 848-863; Burlingame, & Reddish, 1973, pp. 649-653; Tegos, Stermitz, Lomovskaya, & Lewis, 2002, pp. 3133-3141).

El método de dilución en agar es el indicado para realizarlo en pequeños laboratorios ya que los extractos de las plantas no deben ser estériles ya que los microorganismos aeróbicos no pueden desarrollarse debajo del agar solidificado.

El método de Mitscher establece la cantidad de muestra necesaria que no puede ser mayor de 1 mg de muestra en 1 ml de agar. Las muestras que presenten inhibición deber realizarse a una concentración de 0.1 mg de extracto en 1 ml de agar, los extractos con pequeñas cantidades de agente antimicrobiano no serán activadas y deberán eliminarse. El método de dilución en agar se considera el más favorable para ensayos de

rutina con muestras como extractos de plantas (CYTED, 1995, pp. 1-70; Mitscher, y otros, 1972, pp.1025-1040; Ríos, y Recio, 1988, pp. 127-148).

El método de Brancato & Golding modificado por MacRae establece la misma cantidad necesaria no mayor a 1 mg de muestra en 1 ml de agar. En el que se mide el diámetro de la colonia para conocer el porcentaje de inhibición de el agente antimicótico. Es más favorable el método en agar con los extractos de plantas (Cáceres, 1999, pp. 1-17; Janssen, Scheffer, & Svendsen, 1998; pp. 427-430).

4 JUSTIFICACION

Guatemala es uno de los países que posee mayor abundancia de flora nativa en todas las regiones pero principalmente en el norte, centro y sur-occidente. Desde la civilización maya se han utilizado estos recursos para satisfacer las necesidades básicas y desarrollar conocimientos empíricos sobre el valor medicinal de las plantas, que han sido transmitidos de generación en generación hasta nuestros días (Marino, 2005, p. 26).

Actualmente estas poblaciones han sido marginadas y perjudicadas por los problemas sociales, económicos y políticos que ha sufrido nuestro país. El acceso a la salud y los medicamentos, es un problema latente que no tiene solución a corto o mediano plazo. El aumento de enfermedades infecciosas (que representan la principal causa de morbi-mortalidad en países como el nuestro), la alta toxicidad de los antibióticos y la poca atención médica, han dejado como principal recurso de las poblaciones, el sustituir

antibióticos por plantas medicinales, que son recursos locales a los que recurren sin tener evidencia científica de su actividad, pero que son de fácil acceso y bajo costo.

En Guatemala hay reportadas veinte y cuatro especies nativas del género *Vernonia*, utilizadas para el tratamiento de enfermedades (cólicos, diarrea, dolor de estomago, dolor de cabeza, tratamiento de piodermias, asma, etc). Los nombres comunes varían entre: Suquinay, suquinai, suquinay hembra, suquinay hembra de hojas finas, etc. El género *Vernonia* presenta características morfológicas similares entre sus especies, por lo que los pobladores utilizan varias especies indistintamente, sin conocer realmente sus propiedades que pueden variar de una especie a otra.

Por esta razón es necesario realizar estudios que permitan conocer en mejor forma las propiedades y limitaciones de productos naturales como las especies en estudio del género *Vernonia*, con el fin de utilizarlos confiablemente o en sustitución de los antibióticos, por su baja toxicidad y que son accesibles a la mayoría de poblaciones por su bajo costo y disponibilidad en el país. Así mismo se pretende preservar el conocimiento que nuestros antepasados tuvieron sobre las propiedades útiles de las plantas, comprobándolo de manera científica, desarrollando de esta forma el conocimiento que nuestra cultura posee sobre el tema para fortalecer la identidad nacional.

5 OBJETIVOS

5.1 General.

- 5.1.1** Evaluar las propiedades antibacterianas y antimicóticas de cinco especies del género *Vernonia* utilizadas popularmente en el Suroccidente de Guatemala.

5.2 Específicos.

- 5.2.1 Evaluar la acción inhibitoria *in vitro* de los extractos etanólicos obtenidos de las hojas de cinco especies de *Vernonia* contra las bacterias: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri* y *Staphylococcus aureus*
- 5.2.2 Evaluar la acción inhibitoria *in vitro* de los extractos etanólicos obtenidos de las hojas de cinco especies de *Vernonia* contra los hongos: *Aspergillus flavus*, *Candida albicans*, *Microsporum gypseum* y *Trichopyton rubrum*.
- 5.2.3 Encontrar la CIM *in vitro* de los extractos vegetales que presenten actividad inhibitoria positiva frente a las bacterias y hongos en estudio.

6 HIPÓTESIS

Por lo menos uno de los extractos hidroalcohólicos del género *Vernonia* tiene actividad antimicótica y/o antibacteriana.

7 MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Universo

7.1.1 Bacterias en estudio

- *Escherichia coli* ATCC 9637
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Salmonella typhi* ATCC 6538
- *Shigella flexneri* ATCC 3845
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

7.1.2 Hongos en estudio

- *Aspergillus flavus* ATCC 204304

- | | |
|------------------------------|-------------|
| ➤ <i>Candida albicans</i> | ATCC 10231 |
| ➤ <i>Microsporum gypseum</i> | ATCC 115200 |
| ➤ <i>Trichopyton rubrum</i> | ATCC 113200 |

7.2 Materiales

7.2.1 Recursos humanos

Investigador principal
Colector
Identificador del material vegetal

7.2.2 Equipo

GPS
Percolador
Rotaevaporador
Bomba de vacío
Desecadora
Incubadora
Estufa
Refrigeradora
Campana bacteriológica
Secadora
Balanza analítica
Computadora personal con:
Office®, Microsoft™ Corporation Ltd.

7.2.3 Materiales

Material vegetal (100 gr de material seco de las cinco especies de *Vernonia*)
Guantes de latex
Papel filtro Whatman No. 1
Etanol al 50 y 70%
Vasos de precipitar
Frascos color ámbar
Cernidor
Varillas de vidrio
Embudos
Cajas de petri descartables

Cajas de petri “cuadriplate
Asa bacteriológica
Algodón
Gasa
Erlenmeyer
Beacker
Agar Muller-Hinton
Agar Saboraud
Agar tripticasa soya
Caldo tripticasa soya
Jeringas descartables
Pipetas
Probetas
Agua desmineralizada estéril
Campanillas de Durham

7.2.4 Instituciones

-LIPRONAT- Laboratorio de Investigación de Productos Naturales Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.
Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.
Laboratorio de Productos Naturales Farmaya S.A.
Biblioteca de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
Facultad de Agronomía.
Universidad del Valle de Guatemala

7.3 Metodología

7.3.1 Colecta del material botánico

Se realizó una revisión bibliográfica en los herbarios para determinar la distribución de las plantas del género *Vernonia* (Ver Figura 2). En la parte Centro y Sur-Occidente de Guatemala se realizaron las colectas de las especies a utilizar en este estudio. Las muestras fueron herborizadas y secadas para su identificación, una muestra se depositó en el Herbario de la Escuela de Biología de la Universidad de San Carlos de Guatemala (BIGU) o en el Herbario del Laboratorio de Farmaya (CFEH) (Anexo 2).

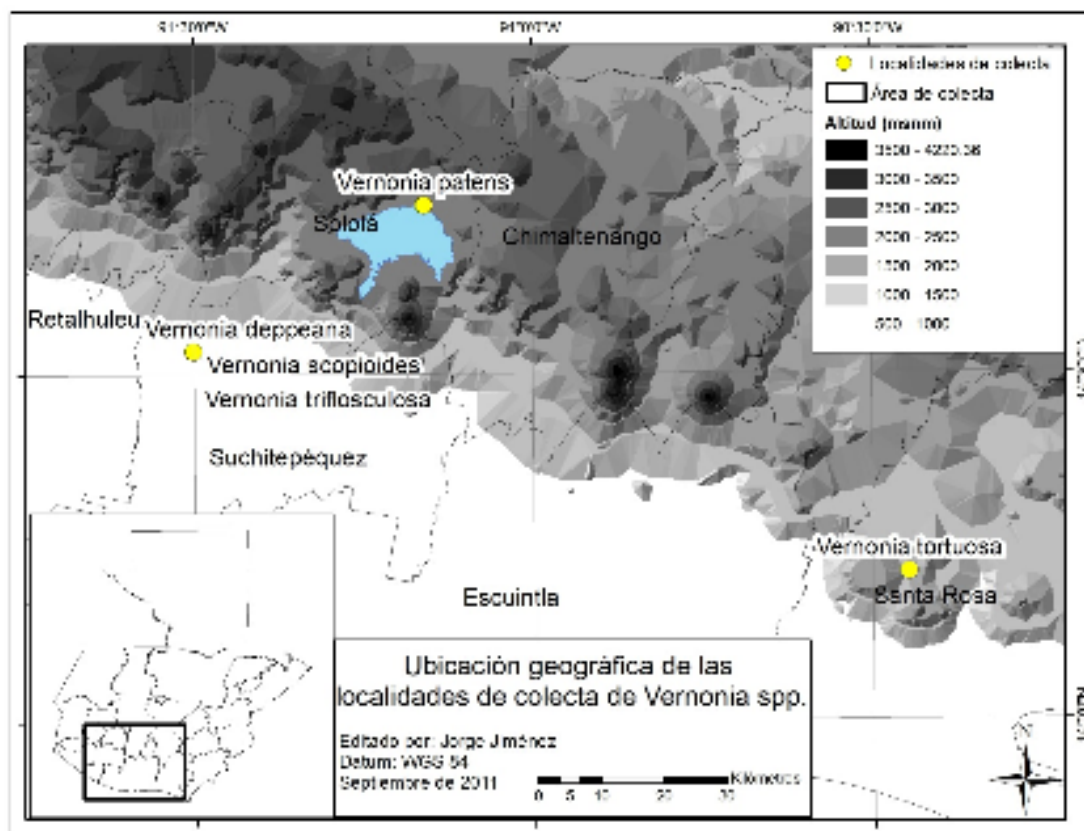


Figura 2. Mapa del área de colecta la región sur-occidente y centro de la República de Guatemala. Localización de los puntos de colecta del material botánico de las cinco especies del género *Vernonia* de este estudio (Art Map).

7.3.2 Preparación de la materia seca vegetal

Se pesaron 200 g de la planta, se homogenizó hasta que se obtuvo una consistencia uniforme. Se almacenaron y se rotularon con nombre, fecha y órgano de la planta (Cáceres, Samayoa, & Aguilar, 1990, pp. 55-73).

7.3.3 Obtención del extracto

Se colocó en la punta del percolador un pedazo de algodón que sirvió de filtro. Se cortó un pedazo de papel filtro, se le hicieron dobleces y se colocaron dentro del percolador, en una bandeja aparte se colocó el material vegetal, se le agregó 200 ml de etanol al 70% y se movió con una varilla de vidrio hasta que todo el material quedó húmedo. Se colocó el material vegetal en el percolador y se le agregaron los restantes 1800 ml del etanol y se tapó. Se rotuló el percolador con el nombre científico de la planta, nombre común, fecha, disolvente y peso. Se dejó reposar durante 24 horas para que el disolvente actúe. Se abrió la llave y se dejó gotear hasta obtener la cantidad deseada para pasar al rota-evaporador para concentrar. Se le agregó el disolvente recuperado en el rota-evaporador al material vegetal, se repitió esta operación tres veces por cada planta.

Se encendió el baño de María a 60°C, se untaron con glicerina todas las bocas esmeriladas y se colocó el balón de rota-evaporador, el balón del solvente recuperado y se cerró la llave. Se conectó la bomba de vacío y el rota-evaporador y se inició con la destilación del extracto con recuperación del disolvente hasta llevar al extracto a una consistencia semi-sólida. Se vertió el extracto concentrado a una caja de petri tarada y rotulada, se tapó con papel aluminio dejando respiradores. Se colocó en la desecadora durante aproximadamente 15-30 días hasta que tuviera una consistencia sólida y después se transvasó a los viales tarados y rotulados. Con el peso se calculó el porcentaje de rendimiento del extracto y se guardaron los viales con el extracto a una temperatura de 4°C hasta el momento de su uso (Cáceres, y otros, 1987, pp. 223-237; Cáceres, y otros 1990, pp. 55-73).

7.3.4 Preparación del agar-planta para bacterias y levaduras

Se prepararon tubos con 9.0 ml de agar Mueller Hinton. Se esterilizaron, se dejaron enfriar a 50° C y se les agregó 1 ml de la solución del extracto disuelto el cual tenía una concentración de 10 mg/ml. Al agregar la solución del extracto disuelto al agar Mueller Hinton se obtuvo una concentración final de 1 mg/ml. Se agitó y vertió en cajas de Petri estériles, se dejó solidificar en la campana y se incubó a 36°C por 24 horas, para comprobar esterilidad. Se guardó en refrigeración hasta el momento de su uso.

7.3.5 Preparación del inóculo bacteriano y de levaduras en placa

Se purificaron los microorganismos a ensayar inoculándolos en un tubo con 8 ml de agar Mueller Hinton inclinado (para bacterias), y en cajas con agar Sabouraud (para levaduras) se incubaron a 36° C por 24 horas. Se Inoculó una asada del cultivo puro microbiano en un tubo con 5.0 ml de caldo Tripticasa Soya, se incubó a 36° C por 24 horas (para bacterias) o 48 horas (para levaduras). Se diluyeron 0.05 ml de la suspensión anterior en 4.95 ml de solución salina estéril (dilución 1:100). Se sembraron en las cajas de petri con agar-planta preparadas anteriormente.

7.3.6 Demostración de la actividad antibacteriana

Se inocularon en las cajas con agar-planta una asada de la bacteria siguiendo el patrón de la plantilla de ocho partes iguales dejando una zona clara, en el centro de la caja. Este patrón se realizó utilizando una plantilla de plástico el cual se colocó debajo de las cajas (Anexos 3 y 4). Se dejó reposar durante 5-10 minutos y se incubaron a 36° C por 24 horas. Se utilizó como control negativo 9 ml de Agar Mueller Hinton mezclado con 1 ml de etanol al 50% y como control positivo Amoxicilina.

7.3.7 Demostración de la actividad antilevadura

Se inoculó la suspensión de levaduras en cada sección según la plantilla. Se incubó a 36° C durante 48 horas. Se utilizó como control negativo 9 ml de Agar Mueller Hinton mezclado con 1 ml de etanol al 50% y como control positivo Amoxicilina.

7.3.8 Interpretación de resultados para bacterias y levaduras

Actividad negativa: crecimiento homogéneo a lo largo del inoculo

Actividad positiva: no hay crecimiento homogéneo a lo largo del inoculo.

Contaminación: Presencia de microorganismos fuera de la inoculación.

- Las cuatro repeticiones del mismo microorganismo tienen que dar el mismo resultado, de lo contrario el procedimiento fue erróneo.

7.3.9 Preparación del agar-planta para hongos

Se prepararon tubos con 13.5 ml de agar Sabouraud. Se esterilizaron, se dejaron enfriar a 50° C y se les agregó 1.5 ml del extracto de la planta disuelta previamente (10 mg/ml). La concentración final que se obtuvo fue de 1 mg/ml. Se vertió y se agitó en cajas de Petri estériles, se dejó solidificar en la campana y se incubó a 25° C por 48 horas, para descartar contaminación.



Figura 3. Modelo de la caja de petri utilizando la técnica de pozos equidistantes. (Se utilizó una caja de petri para cada hongo para evitar contaminación entre hongos)

7.3.10 Preparación del inóculo micótico

Se preparó el medio de Takashio (Sabouraud modificado para la producción de esporas según la técnica de Brancato y Golding modificado por MacRae). Se vertió 6 ml de agar en cada tubo con tapón de rosca, se esterilizó y se dejó solidificar con el mayor declive posible. Se incubaron a 25° C durante 18 horas para descartar contaminación. Se sembraron los hongos en los tubos a 27° C durante 21 días hasta obtener un crecimiento homogéneo. Se les agregó 2 ml de agua estéril y se desprendió el hongo con una varilla. Se

agito un minuto en agitador y se realizó un conteo de esporas en la cámara de Neubauer (Anexo 5).

7.3.11 Demostración de la actividad antimicótica

Se inoculó la suspensión de esporas empleando la técnica de cultivo en pocillos (ver figura 4), cuatro pozos equidistantes para un alfa de 0.10 (según la tabla de probabilidades de la distribución binomial). Se depositó la suspensión de esporas en los pozos. Se incubaron a 27° C durante 14 días. (Cáceres, y otros 1990, p. 55-73; MacRae, Hudson, & Towers, 1988, pp. 143-172; Mitcher, Darker, & Golapudi, 1987, pp. 1025-1040). Se utilizó como control negativo 13.5 ml de Agar Sabouraud mezclado con 1.5 ml de etanol al 50% y como control positivo fluconazol.

7.3.12 Interpretación de resultados para hongos

Se observó el crecimiento micótico en el medio.

Crecimiento positivo: no hubo actividad

Crecimiento negativo: inhibición del diámetro de la colonia en un 75%

7.3.13 Determinación de la CIM

Los extractos que inhibieron el crecimiento visible de microorganismos (bacterias y hongos), se les realizó la cuantificación de la CIM del extracto. Se prepararon cajas cuadruplicate (ver figura 5) con las siguientes diluciones del extracto:

3.6 ml de agar + 0.4 ml de la solución de extracto = 1.0 mg/ml,

3.8 ml de agar + 0.2 ml de la solución de extracto = 0.5 mg/ml

3.9 ml de agar + 0.1 ml de la solución de extracto = 0.25 mg/ml y

Un cuadrante con 4.0 ml de agar como control negativo.

Para bacterias se inocularon tres estrías en cada uno de los cuadrantes y se incubaron a 36°C por 24 horas. Se les realizó la lectura y se interpretaron los resultados.

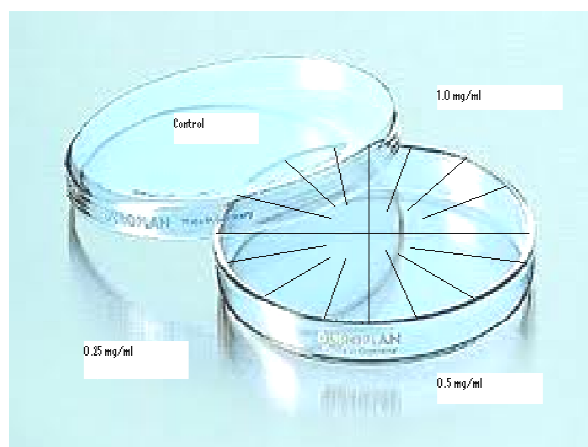


Figura 4. Plantilla para la caja cuadruplicate, utilizada para determinar la CIM de cada extracto con actividad positiva.

Para evaluar la CIM en hongos, se repitió la prueba con cantidades decrecientes del extracto vegetal con la técnica de los pocitos (1:25; 1:50 y 1:100)

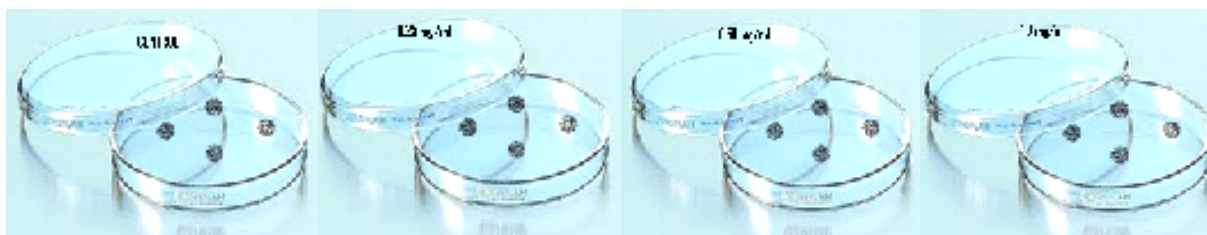


Figura 5. Modelo de la caja de petri, utilizada para determinar la concentración inhibitoria mínima de cada extracto con actividad positiva. Se utiliza una caja de petri para cada tratamiento con cuatro repeticiones.

7.4 Diseño Experimental

Unidad experimental: Caja de petri

Tratamiento: 1 mg/ml del extracto de cada especie

Muestra: 30 cajas de petri

Población: Bacterias y hongos

7.4.1 Hipótesis de investigación

Por lo menos uno de los extractos hidroalcohólicos del género *Vernonia* tiene actividad antimicótica y antibacteriana.

7.4.2 Hipótesis experimental

Ho: El extracto hidroalcohólico tiene efecto inhibitorio.

Ha: El extracto hidroalcohólico no tiene efecto inhibitorio.

Rechazar si la probabilidad (p) de error es menor a 0.1 (error tipo I).

7.4.3 Variables

Independiente: La concentración de los cinco extractos de *Vernonia* (1 mg/ml) con relación al solvente.

Dependiente: La actividad inhibitoria de los cinco extractos de *Vernonia*.

7.4.4 Ensayo antibacteriano y antimicótico

En la demostración de la actividad antibacteriana se realizaron cuatro repeticiones por microorganismo. Se preparó una caja de petri con 9 ml de agar Muller Hinton, 1 ml de

extracto a ensayar y un control con agar Muller Hinton, se utilizó la plantilla dividida en ocho partes iguales colocando cuatro estrías por bacteria, para la actividad antimicótica se realizaron ensayos independientes con cuatro repeticiones por extracto a estudiar y un control de crecimiento.

7.4.5 Distribución de los grupos

Distribución de grupos para bacterias y hongos fue de la siguiente manera: un control de crecimiento en el que se inocula el microorganismo con cuatro repeticiones y los grupos de tratamiento en el que se incorpora los extractos de las plantas estudiadas al medio de cultivo y se siembra el microorganismo en cuatro repeticiones. Con cuatro repeticiones por ensayo, se tiene un error alfa de 0.10 para concluir que el resultado de los ensayos es positivo (según la tabla de probabilidades de la distribución binomial).

7.4.6 Unidades de medida

En este estudio se asume como unidad de medida: Para bacterias el crecimiento homogéneo en todas las repeticiones (4) no hay actividad inhibitoria y si no hay crecimiento homogéneo en todas las repeticiones (4) si hay actividad inhibitoria. Para hongos el, no crecimiento o inhibición del 75% del microorganismo, si hay actividad inhibitoria y el resultado positivo del ensayo.

7.4.7 Diseño experimental

Para las bacterias se trató de un diseño al azar, distribuyéndose aleatoriamente las cuatro inoculaciones del microorganismo; para los hongos fue un diseño no al azar, en el que las cuatro inoculaciones del hongo en estudio se distribuyen en forma no aleatoria.

7.4.8 Análisis estadístico

En igual forma para bacterias como para hongos, se trabajó con una prueba de hipótesis binomial donde $H_0: p \leq 0.5$ (no tiene efecto inhibitorio) y $H_a: p > 0.5$ (si tiene efecto inhibitorio). Si cuatro repeticiones dan éxito, H_0 se rechaza para el nivel α establecido y se dirá que los extractos evaluados tienen efecto inhibitorio in vitro significativo sobre el crecimiento los microorganismo estudiados con un valor $p=0.0625$.

El crecimiento negativo indica que la actividad con los microorganismos es positiva por lo que se realizaron diluciones del extracto (1, 0.5, 0.25 mg/ml) con cuatro repeticiones en cada dilución del extracto siguiendo las indicaciones del tamizaje con el objetivo de determinar la CIM.

8 RESULTADOS

Las plantas del género *Vernonia* son parte de la flora nativa de uso popular en Guatemala utilizadas principalmente para afecciones de la piel. Se recolectaron cinco especies del género en diferentes departamentos del Centro y Sur-Occidente de Guatemala generalmente conocidas como suquinay y fueron debidamente identificadas. Posteriormente se obtuvieron los extractos etanólicos de las especies, los extractos fueron obtenidos mediante la técnica de percolación y concentrados en rota-evaporador en el LIPRONAT. El rendimiento de cada especie vegetal evaluada se muestra en la Tabla 1. Se

puede notar que *V. triflosculosa* (16.5%) presento el mayor porcentaje de rendimiento, mientras que el menor valor correspondió a *V. deppeana* (10.2%) (Ekinci, y otros, 2002, pp. 810-813; Murray, 1995, pp. 97-100).

Tabla 1. Porcentajes de rendimientos de cada uno de los extractos etanólicos.

Especie Vegetal	Órgano de la planta	Peso inicial (g)	Extracto (g)	% Rendimiento etanol
<i>Vernonia deppeana</i>	hoja	200	33.00	10.2
<i>Vernonia patens</i>	hoja	100	15.54	10.4
<i>Vernonia scorpioides</i>	hoja	200	20.42	15.5
<i>Vernonia tortuosa</i>	hoja	175	18.25	14.5
<i>Vernonia triflosculosa</i>	hoja	100	14.54	16.5

Fuente: Datos experimentales
% = porcentaje gr = gramos

Se efectuaron resiembras de las cepas de bacterias y levadura que se encuentran almacenados en el Laboratorio de Bioensayos del Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. La actividad inhibitoria fue evaluada en cinco cepas de bacterias y una cepa de levadura. Se realizó un tamizaje de 1 mg/ml de cada uno de los extractos. Los resultados obtenidos con los extractos etanólicos, mostraron igual comportamiento en todas las cepas, ya que no fueron sensibles a ninguno de los cinco extractos, no hubo actividad antibacteriana ($p > 0.1$). Se utilizó un control negativo que consistió de agar Mueller Hinton con etanol al 70% en una concentración de 1 mg/ml y el control positivo agar Mueller Hinton con amoxicilina en una concentración de 0.034 mg/ml.

En el caso de la actividad inhibitoria antimicótica, está fue evaluada contra tres cepas de hongos dermatofitos. Se realizó un tamizaje de 1 mg/ml de cada uno de los extractos. Para calcular el porcentaje de inhibición, se compararon los diámetros contra el de las colonias en las cajas control, tomando como positivo los extractos que redujeron el diámetro de la colonia en un 75%. La Tabla 3, muestra que *A. flavus* ATCC 204304 y *T. rubrum* ATCC 113200 no fueron sensibles a ningún extracto. Los extractos etanólicos de *V. deppeana* y *V. scorpioides* inhibieron el crecimiento de *M. gypseum* ATCC 115200.

Tabla 3. Actividad inhibitoria *in vitro* de extractos etanólicos de cinco especies del género *Vernonia* retados contra tres cepas de hongos dermatofitos, utilizando el método de Brancato y Golding modificado por Mac Rae. Porcentaje de inhibición del crecimiento de hongos dermatofitos en concentración 1 mg/ml.

Extracto vegetal 1 mg/ml	Hongos (Inhibición)		
	<i>Aspergillus flavus</i> ATCC 204304	<i>Microsporium gypseum</i> ATCC 115200	<i>Trichopyton rubrum</i> ATCC 113200
<i>Vernonia deppeana</i>	Inactivo (50%)	Activo (100%)	Inactivo (50%)
<i>Vernonia patens</i>	Inactivo (0%)	Inactivo (50%)	Inactivo (50%)
<i>Vernonia scorpioides</i>	Inactivo (50%)	Activo (75%)	Inactivo (50%)
<i>Vernonia tortuosa</i>	Inactivo (0%)	Inactivo (50%)	Inactivo (50%)
<i>Vernonia triflosculosa</i>	Inactivo (0%)	Inactivo (0%)	Inactivo (50%)

Fuente: Datos experimentales
Actividad antimicótica significativa (p=0.0625)

Luego de realizar la fase de tamizaje, se procedió a determinar la CIM de las especies vegetales con probable actividad, esta prueba permite tener datos más exactos de las propiedades antibacterianas y antimicóticas.

Se realizó la CIM con cuatro diferentes concentraciones en cada una de las cajas inoculadas. Los resultados indicaron que el extracto etanólico de *V. deppeana* presentó una CIM de 0.25 mg/ml (Anexo 6), mientras que *V. scorpioides* presentó la misma concentración inicial evaluada en la fase de tamizaje (1 mg/ml) sobre la cepa de *M. gypseum* ATCC 1152000 (Tabla 4).

Se realizó la prueba estadística utilizando la función de probabilidad de la distribución binomial, fórmula en la que n es el número de ensayos, k es el número de éxitos, p es la probabilidad de éxito y q es la probabilidad de fracaso.

$$p(X = k) = \binom{n}{k} p^k \cdot q^{n-k}$$

Los extractos etanólicos de *V. tortuosa*, *V. triflosculosa* y *V. patens* no tienen actividad antimicótica (p>0.1). Los extractos de *V. deppeana* y *V. scorpioides* (p=0.0625) tuvieron actividad inhibitoria significativa (Tabla 4).

Tabla 4. Concentración Inhibitoria Mínima de extractos etanólicos que presentaron actividad anti *Microsporium gypseum* en la fase de tamizaje. Y los resultados obtenidos del análisis estadístico mediante la prueba de hipótesis binomial con un alfa de $p=0.1$.

Extracto vegetal	<i>Microsporium gypseum</i>				Valor de P
	0.125 mg/ml	0.25 mg/ml	0.5 mg/ml	1 mg/ml	
<i>Vernonia deppeana</i>	Inactivo	Activo	Activo	Activo	0.0625
<i>Vernonia scorpioides</i>	Inactivo	Inactivo	Inactivo	Activo	0.0625

Fuente: Datos experimentales

Actividad inhibitoria significativa ($p=0.0625$)

9 DISCUSION

Las plantas del género *Vernonia* poseen características morfológicas externas similares, lo cual permite confundirlas con facilidad. Las cinco especies de *Vernonia* en estudio son conocidas en Guatemala con el nombre vernacular “suquinay”. En este estudio se conoció la actividad inhibitoria *in vitro* de algunas especies de *Vernonia* utilizados tradicionalmente para afecciones de la piel, específicamente se buscó conocer por medio de un ensayo de laboratorio, si poseen actividad antimicrobiana y/o antimicótica utilizando para ello extractos etanólicos.

Los extractos etanólicos de las hojas de *V. scorpioides* (15.5%) y *V. tortuosa* (14.5%) presentaron mayor rendimiento en la técnica de percolación y concentración en rota-evaporación. Ninguno de los extractos etanólicos vegetales demostraron actividad antibacteriana ($p > 0.1$) por lo cual no presentaron actividad inhibitoria alguna frente a las cinco bacterias y la levadura en este estudio. Por otra parte dos extractos etanólicos presentaron actividad antimicótica significativa (según el valor establecido en el análisis estadístico $p = 0.0625$) contra *M. gypseum*, los cuales fueron *V. deppeana* y *V. scorpioides*. Posteriormente se realizó la CIM a los dos extractos para cuantificar la menor concentración en que un extracto inhibe el crecimiento de microorganismos. El extracto etanólico de *V. deppeana* mostró una CIM de 0.25 mg/ml mientras que *V. scorpioides* mostró una CIM de 1 mg/ml, destacando que la actividad inhibitoria de *V. deppeana* fue la más alta de las plantas estudiadas. La alta polaridad del etanol, disolvente utilizado, permite obtener compuestos que inhiben el crecimiento de *M. gypseum*.

Ahora bien, todas las plantas sintetizan metabolitos secundarios diversos (Anexo 7), que utilizan para defenderse de agentes fitopatógenos, entre ellos los hongos y bacterias (Marino, y Pensiero, 2006, p. 13; Mitcher, y otros, 1987, pp. 1025-1040). Los metabolitos secundarios que están presentes en el género *Vernonia* son diferentes tipos de compuestos como sesquiterpenlactonas, glucósidos esteroidales, flavonoides, ésteres, terpenos, acetatos, vitaminas, proteínas, etc. Debido a que son pocos los estudios puntuales acerca de los metabolitos secundarios presentes en *V. deppeana* y *V. scorpioides*, se asumió que la información existente acerca de estas

especies junto con la de los metabolitos presentes en otras especies del género y si adicionalmente se conoce el tipo de actividad antimicrobial que estos poseen, entonces es posible dar una posible explicación de la actividad antimicótica de *V. deppeana* y *V. scorpioides* contra *M. gypseum*.

Composición química de *V. scorpioides* y *V. deppeana*

Los compuestos presentes en *V. scorpioides* han sido poco estudiados sin embargo se encontraron algunos estudios que demuestran la presencia de metabolitos en esta especie los cuales se mencionan a continuación. En un análisis cualitativo y cuantitativo de *V. scorpioides* se demostró la presencia de los sesquiterpenos β -cariofileno (30,6%), germacreno D (27,3%), y biciclogermacreno (8,5%) (Albuquerque, Lemos, Pessoa, Nunes, Nascimento, & Silveira, 2007, pp. 249-250). En esta especie se aisló el compuesto 5-octa-2,4,6-triiril-furano-2(5H)-ona un nuevo poliacetileno definido como un compuesto orgánico con alternancia de enlaces covalentes simples o triples (Buskuhl, Freitas, Monache, Barison, Campos, Corilo, et al., 2009, pp. 1327-1333). Adicionalmente, se aislaron las siguientes lactonas sesquiterpénicas: luteolina, apigenina, caffeate etílico, y diacetilpiptocarphol (8-acetil-13-etoxiptocarphol) (Buskuhl, Oliveira, Blind, Freitas, Barison, Campos, et al., 2010, 1539-1544). Se aisló la estructura de "tigliato", terpeno que es obtenido mediante la destilación y evaporación de los aceites esenciales (Jakupovic, Buruah, Chau Thi, Bohlmann, Msonthi, & Schmeda-Hirschmann, 1985, pp. 378-380). También se aisló el compuesto 6-Deoximikanokriptina (3-oxo-1 α ,7 α ,8 β ,10 β (H)-guaia-4(5),11(13)-dien-8,12-olido), el cual es un Guaianolido definido como lactona sesquiterpénica (Gómez, Rivera, Rodulfo de Gil, Vogler de Valeri, y Triana, 1987, pp. 2216-2218).

La composición química de *V. deppeana* ha sido poco estudiada sin embargo recientemente se realizó un tamizaje fitoquímico en el cual se efectuaron ensayos para la determinación de alcaloides, cumarinas, flavonoides, antocianinas, taninos y aceites volátiles. *V. deppeana* mostró presencia de alcaloides, pero estos no coincidieron con los estándares utilizados, los cuales fueron papaverina y atropina. El tamizaje también mostró presencia de cumarinas, antocianinas, y la presencia de flavonoides. *V. deppeana* dio resultado positivo de los tres compuestos mencionados anteriormente sin embargo

no coincidieron con los estándares utilizados los cuales fueron apigenina, rutina, ácido clorogénico, quercetina e hiperósido. Los aceites volátiles de *V. deppeana* coincidieron con dos bandas de los estándares utilizados, los cuales fueron mirceno y cineol (Ortiz López y López Chenal, 2010, pp. 41-45).

Hay varios compuestos que aún no han sido estudiados en *V. deppeana* y *V. scorpioides*, como las lactonas sesquiterpénicas que son abundantes en Asteraceae y en consecuencia en el género en estudio. Entre estas las que podrían desempeñar un papel en la actividad antimicótica están vernodalol y los vernolidos (Dubey, 2011, p. 96; Erasto, Grierson, & Afolayan, 2006, pp. 117-120), un acetato llamado B-amirina (Misra, Singh, Upandhyay, & Srivstava, 1984, pp. 865-867) y un triterpeno aislado de importancia llamado lupeol (Blair, 2005, pp. 84-87).

Actividad de los metabolitos más importantes

Los aceites esenciales son ampliamente utilizados en la medicina, los dos aceites presentes en *V. deppeana* el primero 1,8-cineol es utilizado como expectorante y antiséptico, ayuda a combatir o prevenir infecciones causados por bacterias, hongos o virus. Posee propiedades antimicóticas aunque únicamente es activo en altas concentraciones para *Aspergillus* (Vilela, Almeida, Regitano, Duarte, Brito, da Silva, et, al., 2009, pp. 108-111). El mirceno ha sido identificado como principal componente analgésico (utilizado para aliviar el dolor) en la hierba de té de limón (Lorenzetti, Souza, Sarti, Santos Filho Ferreira, 1991, pp. 43-48) y en anteriores estudios este compuesto ha demostrado actividad anti-fúngica (Prieto, Patiño, Delgado, Moreno, & Cuca, 2011, pp. 73-82). El mecanismo de acción en 1,8-cineol aparentemente actúa contra la estructura de las membranas celulares en hongos y bacterias (Mesa, Bueno, y Betancur, 2004, pp. 325-331).

Los compuestos que fueron aislados en *V. scorpioides* y que han demostrado actividad antimicótica podrían estar presentes en *V. deppeana* como compuestos activos del género. Entre estos compuestos se encuentran las lactonas sesquiterpénicas β -cariofileno posee actividad antimicótica y anestésica (Silva, Bolzan, Mallmann, Pozzatti, Alves, y Heinzmann, 2008, pp. 87-92), germacreno-D, al cual le atribuye

actividad antibacteriana, antifúngica e insecticida (Costa, Alves, Silva, Santos, Passos, Silva, et al., 2010, pp. 851-858) y biciclogermacreno, que posee actividad antibacteriana y antifúngica (Siqueira, Oliani, Sartoratto, Queiroga, Moreno, Reimao, et al., 2010, pp. 33-40).

Las lactonas sesquiterpénicas son el grupo más importante de compuestos en el género *Vernonia* y aparentemente su mecanismo de acción está relacionado con la inhibición de enzimas que tienen un importante papel en la formación de la membrana celular en los hongos (Freitas, Leonelo, y Stefani, 2009, p. 1).

Otro compuesto importante es el caffeate etílico, el cual es antiinflamatorio, antibiótico y antimicótico (Kishimoto, Kakino, Iwai & Fujita, 2005). Su actividad frente a los microorganismos se debe principalmente a que forma complejos con las proteínas solubles y extracelulares y con las células de la pared (Aricapa, 2009, pp. 86-111; Cuéllar, y otros, 2006, p. 1).

Estos componentes podrían ser los responsables de la actividad antimicótica en *V. scorpioides* y ser parte de los componentes presentes en *V. deppeana* que con la presencia de otros compuestos propios de la especie aumentan la actividad antimicótica. Es importante mencionar otros compuestos presentes en el género que ya han sido aislados y estudiados a los cuales se les atribuye actividad antimicótica. Otro grupo de lactonas sesquiterpénicas está conformado por Vernodalol presenta actividad antimicótica, antimicrobiana e insecticida, Vernolidos con actividad antimicótica, antibacteriana y antiprotozoa (Erasto, & otros, 2006, pp. 117-120) y el triterpeno lupeol ha presentado actividad antifúngica (Gallo y Sarachine, 2009, pp. 46-66). Otro componente que ha sido aislado es un acetato importante llamado B-amirina el cual posee propiedades antimicóticas (Johann, Soldi, Lyon, Pizzolatti, Resende, 2007, pp. 148-153).

El grupo de compuestos que podrían estar presentes en *V. deppeana* (Anexo 8), incluyen los metabolitos que compataría con *V. scorpioides* más la presencia de las lactonas sesquiterpénicas ya estudiadas con actividad antimicótica, el triterpeno Lupeol y el acetato B-amirina. A este grupo de metabolitos se le uniría el mirceno compuesto aislado en *V. deppeana*, al cual se le atribuiría el aumento de la actividad antimicótica en comparación a la actividad de *V. scorpioides*. La mezcla de metabolitos

presentes en *V. deppeana* podría ser la clave de la actividad antimicótica significativa frente a *M. gypseum*.

La actividad antimicótica significativa de *V. deppeana* y una gran variedad de metabolitos que podrían estar presentes en esta especie, incluyendo los compuestos activos responsables de la actividad inhibitoria de hongos, ponen de manifiesto la necesidad de realizar un nuevo estudio de tamizaje fitoquímico tanto en ésta especie como en otras utilizando nuevos marcadores, los cuales se crea que son importantes como metabolitos con actividad inhibitoria de hongos y tumores (Farombi, & Owoeye, 2011, pp. 2533-2555; Koshimizu , Ohigashi, Huffman, Nishida, & Takasaki, 1993, pp. 345-356; Owoeye, Yousuf, Akhtar, Qamar, A Dar, Farombi, et al., 2010, pp. 226-234).

La revisión bibliográfica de los metabolitos presentes en este género ha evidenciado un alto potencial antiinflamatorio y analgésico eliminando así los síntomas que se puedan presentar en presencia de piodermias, lo cual explicaría el uso de infusiones para el tratamiento de estas enfermedades (Geetha, & Varalakshmi, 2001, pp. 77-80; Olaleye, Farombi, Adewoye, Owoyele, Onasanwo, & Elegbe, 2000, pp. 171-174; Villaseñor, Angelada, Canlas, & Echevoyen, 2002, pp. 417-421).

10 CONCLUSIONES

- 10.1 El extracto etanólico de *V. deppeana* presentó actividad inhibitoria significativa ($p=0.0625$) contra *M. gypseum* ATCC 115200 a una CIM de 0.25 mg/ml.
- 10.2 El extracto etanólico de *V. scorpioides* presentó actividad inhibitoria significativa ($p=0.0625$) contra *M. gypseum* ATCC 115200 a una CIM de 1 mg/ml.
- 10.3 El extracto etanólico de *V. deppeana* mostró ser el mas efectivo de los extractos evaluados al mostrar una menor CIM 0.25 mg/ml, lo que permite sugerir a esta especie para futuras investigaciones con diferentes tipos de patógenos.
- 10.4 Las cinco cepas de bacterias utilizadas en este estudio mostraron resistencia a los extractos etanólicos evaluados.
- 10.5 El mirceno, compuesto aislado en *V. deppeana* se le atribuiría el aumento de la actividad antimicótica en comparación de *V. scorpioides*.

11 RECOMENDACIONES

- 11.1 Continuar con los estudios de actividad antibacteriana, antimicótica y antitumoral del género *Vernonia* principalmente *V. deppeana* para conocer su capacidad inhibitoria en otros microorganismos.
- 11.2 Debido al potencial y la actividad antimicótica encontrada del extracto etanólico de *V. deppeana* se recomienda su aplicación en productos fito-farmacéuticos para el tratamiento de enfermedades causada por *M. gypseum*.
- 11.3 Realizar estudios de aislamiento y análisis de los metabolitos presentes en las especies del género *Vernonia* para ampliar la información acerca del mecanismo de acción de los compuestos activos, mediante actividad biológica frente a patógenos.
- 11.4 Realizar nuevos estudios biológicos y fitoquímicas tomando en cuenta variables tales como la época del año, origen, tipo de suelo, condiciones climáticas para comprobar la variabilidad de los metabolitos.
- 11.5 Efectuar estudios *in vivo* de extractos de *V. deppeana* que presentó actividad inhibitoria, evaluando su actividad cicatrizal, para proponerlo como medicamento alternativo para el tratamiento de afecciones de la piel.
- 11.6 Recopilar y divulgar la información obtenida a los pobladores que utilizan tradicionalmente las plantas medicinales preservando el conocimiento de nuestros antepasados comprobado científicamente.

12 REFERENCIAS

- Aizpuru, I., Aseguinolaza C., Catalán P., y Uribe-Echebarría P. M. (1993). *Catálogo florístico de Navarra*. Informe técnico. Dpto. de Medio Ambiente, Gobierno de Navarra: Pamplona.
- Albuquerque, M., Lemos, T., Pessoa, O., Nunes, E. P., Nascimento, R. F., & Silveira, E. R. (2007). Chemical composition of the essential oil from *Vernonia scorpioides* (Asteraceae). *Flavour and fragrance journal*, 22, 249-250.
- Arellano-Rodríguez, J. A., Flores Guido, J. S., Tun Garrido, J., y Cruz Bojórquez, M. M. (2003). *Etnoflora Yucatanense Nomenclatura, forma de vida, uso, manejo y distribución de las especies vegetales de la península de Yucatán*. Mérida. Yucatán. Universidad Autónoma de Yucatán (UADY). 20, 1-815.
- Aricapa, D. P. (2009). *Actividad antimicrobiana de plantas sobre microorganismos cariogénicos*. (Tesis de Bacteriólogo). Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias Básicas. Bogotá.
- Arrázola Rivero, S., Atahuachi, Margoth., Saravia, E., y Lopez, A. (2002). Diversidad florística medicinal y potencial etnofarmacológico de las plantas de los valles secos de Cochabamba - Bolivia. *Revista de Biología Tropical*, 12, 53-85.
- Badilla, B., Chaves, F., Poveda, L. J., Jiménez, S., y Rodríguez, G. (2006). Efecto de plantas usadas etnomedicamente sobre la actividad hemorrágica y proteolítica inducida por *Bothrops asper*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, Ciudad de la Habana, Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962006000100005&lng=es&nrm=iso. accedido en 20 sept. 2011.
- Barbastefano, V., Cola, M., Ferrerira, A. L., Hiruma-Lima, C. A., Camargo. E., Vilegas W., y Brito, A. (2004). *Actividad antiulcerogenica y analgésica de dos extractos brutos de las especies Vernonia polyanthes L. y Vernonia ferruniea L.* XII Congreso Sociedad Italo-Latinoamericana de Etnomedicina (SILAE). Brasil, Río de Janeiro.
- Bardón, A., Kamiya, N. I., De Ponce De León, C. A., Catalán, C., Díaz, J. G., & Herz, W. (1992). Glaucolides and related sesquiterpene lactones from *Vernonia nudiflora* and *Chrysolaena propinqua*. *Phytochemistry*, 31(2), 609-613.
- Blair, S. (2005). *Plantas antimaláricas de Tumaco: Costa pacífica colombiana*. Universidad de Antioquia. 84-87.

- Bohlmann, F., Wallmeyer, M. & Jakupovic, J. (1982a). Glaucolide from *Vernonia staehelinoides*. *Phytochemistry*, 21(6), 1445-1447.
- Bohlmann, F., Zdero, C., King, R. M., & Robinson, H. (1982b). Hirsutinolides and other sesquiterpene lactones from *Vernonia* species. *Phytochemistry*, 21(3), 695-699.
- Bohm, B. A., & Stuessy, T. F. (2001). *Flavonoids of the sunflower family (Asteraceae)*. Vienna, Springer.
- Brancato, F. P., & Golding, N. S. (1983). The diameter of the mould colony as a reliable measure of growth. *Journal Mycology*, 45(6), 848-863.
- Burlingame, E. M., & Reddish, G. P. (1973). Laboratory methods for testing fungicides used in the treatment of epidermophytoses. *Journal Laboratory Clinique Medical* 14, 649-653.
- Buskuhl, H., Freitas, R. A., Monache, F. D., Barison, A., Campos, F. R., Corilo, Y. C., et al. (2009). A new polyacetylene from *Vernonia scorpioides* (Lam.) Pers. (Asteraceae) and its in vitro antitumoral. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20, 1327-1333.
- Buskuhl, H., Oliveira, F. L., Blind, L. Z., Freitas, R. A., Barison, A., Campos, F. R., et al. (2010). Sesquiterpene lactones from *Vernonia scorpioides* and their in vitro cytotoxicity. *Phytochemistry*, 71(13), 1539-1544.
- Cáceres, A., Girón, L. M., Alvarado, S. R., & Torres, M. F. (1987). Screening of antimicrobial activity of plants used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, 20(3), 223-237.
- Cáceres, A., Cano, O., Samayoa, B., & Aguilar, M. (1990). Plant used in Guatemala for the treatment of Gastrointestinal Disorder: Screening of 84 Plants against Enterobacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, 30(1), 55-73.
- Cáceres, A. (1991). Actividad antimicrobiana de plantas de uso medicinal en Guatemala. In *Proceedings of international conference on traditional medicinal plants. Part III: The use and promotion of traditional medicinal plants in the latin American region*. Tanzania: Dar Es Salaam University Press, Ministry of health.
- Cáceres, A. (1999). *Manual de procedimientos del proyecto biodiversidad tropical centroamericana*. OEA. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. 17.
- Carvalho, L. H., Rocha, E. M., Raslan, D. S., Oliveira, A. B., & Krettli, A. U. (1988). In vitro activity of natural and synthetic naphthoquinones against erythrocytic

- stages of *Plasmodium falciparum*. *Brazilian Journal of Medicinal and Biological Research*, 21(3), 485-487.
- Costa, D. P., Alves, E. G., Silva, L., Santos, S., Passos, X. S., Silva, M. R., et al. (2010). Influence of fruit byotypes on the chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Eugenia uniflora* leaves. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 21(5), 851-858.
- Cuéllar Araújo, N., Vasallo, A., Ciuffi, G., y Dal Piaz, F. (2006). *Metabolitos secundarios de Vernonia ferruginea*. Italia.
- Davicino, R., Mattar, M. A., Casali, Correa, Y. A., Pettenati, S. G., y Micalizzi, B. (2007). Actividad antifúngica de extracto de plantas usadas en medicina popular en Argentina. *Revista peruana de Biología*, 14(2), 247-251.
- De la Cruz, J. R. (1982). *Clasificación de zonas de vida de Guatemala a nivel de reconocimiento*. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación. Instituto Nacional Forestal, Unidad de Evaluación y Promoción. Dirección General de Servicios Agrícolas Guatemala. 5-35.
- De Marzi, V. (2006). *100 Plantas Argentinas*. Argentina: Albatros. 128.
- Deuschle, A. N., Camargo, T., Francescato, L. N., Alves, S. H., y Heinzmann, B. M. (2006). Actividad antimicrobiana de *Senecio desiderabilis* Vellozo (Asteraceae). *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 25(3), 356-359.
- Dubey, N. K. (2011). *Natural products in plant pest Management*. Cambridge, USA: CABI, 2011.
- Durango, J., Arrieta, G., y Máttar, S. (2004). Epidemiología de *Salmonella* spp aislada de alimentos en la costa Atlántica. *Biomédica*, 24, 89-96.
- Ekinci, B., Coban, Y., Birinci, A., Durupinar, A., & Erturc, M. (2002). In vitro effects of cephalexin and ceftriaxone on *Salmonella typhi* within human monocytoid derived macrophages. *Clinical Microbiology and Infection*, 8, 810-813.
- Erasto, P., Grierson, D. S., & Afolayan, A. J. (2006). Bioactive sesquiterpene lactones from the leaves of *Vernonia amygdalina*. *Journal of Ethnopharmacology*, 106, 117-120.
- Esnard, S. C., y Díaz, O. E. (1997). Identificación y caracterización de bacilos Gram-negativos no fermentadores aislados en el medio hospitalario. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 35(1), 30-37.

- Espinoza Ruíz M., Palomeque Rodas, M., Salazar Sandoval, I., Domínguez Arrevillaga, y Canseco Ávila, L. M. (2009). Análisis preliminar de la actividad antimicrobiana de la planta medicinal Chik chawa (*Tagetes nelsoni* Greenm.) Revista cubana de plantas medicinales (online), 14(4). Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962009000400007&lng=en&nrm=iso&ignore=.html
- Farombi, E., & Owoeye, O. (2011). Antioxidative and chemopreventive properties of *Vernonia amygdalina* and *Garcinia biflavonoid*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 8, 2533-2555.
- Freitas, M., Leonelo, A., & Stefani, R. (2009). Seleção de fármacos antimaláricos eficientes a partir de Produtos Naturais. Uso combinado de QSAR, Docking e Primeiros Princípios. *32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*.
- Gallo, M., & Sarachine, M. (2009). Biological Activities of Lupeol. *International Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 3, 46-66.
- García, H. O. (2002). Cuantificación de la calidad del agua del río Villalobos en época seca y lluviosa en un período de 24 horas 2 veces al mes en un punto previo a la entrada al lago de amatitlan. (Tesis de Maestría en Recursos Hidráulicos). Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ingeniería. Guatemala.
- Geetha, T., & Varalakshmi, P. (2001). Anti-inflammatory activity of lupeol and lupeol linoleate in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 4, 77-80.
- Gómez, D., Rivera, A. V., Rodulfo de Gil, E., Vogler de Valeri, B., & Triana, J. (1987). X-ray structure of 6-deoxymikanokryptin, a new guaianolide from *Vernonia scorpioides* Pers: 3-oxo-1 α ,7 α ,8 β ,10 β (H)-guaia-4(5),11(13)-dien-8,12-olide. *Acta Crystallographica Section E*, 43(11), 2216-2218.
- Heinrich, M., Robles, M., West, J., Ortiz, B., & Rodriguez, E. (1998). Ethnopharmacology of Mexican asteraceae (Compositae). *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 38, 539-65.
- Heywood, V. H. (1985). *Las plantas con flores*. Barcelona: Reverté. 225.
- House, P. R., Lagos-Witte, S., Ochoa, L., Torres, C., Mejía, T., y Rivas, M. (1995). *Plantas Medicinales comunes de Honduras*. Tegucigalpa: Litografía López, S. de R. L. 407, 487.
- Ibrahim, T. A., Ajala, L., Adetuyi, F. O., & Jude-Ojei, B. (2009). Assessment of the Antibacterial Activity Of *Vernonia Amygdalina* And *Occimum Gratissimum*

Leaves On Selected Food Borne Pathogens. *The internet Journal of Third World Medicine™* 8(11), 1212-1218.

- Igile, G. O., Oleszek, W., Jurzysta, M., Burda, S., Fafunso, M., & Fasanmade, A. A. (1994). Flavonoids from *Vernonia amygdalina* and their antioxidant activities. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 42(11), 2445-2448.
- Inca, J., Corrales, A., Tupiza, M., Yazán, J., y Imbaquingo, S. (1995) Virtudes terapéuticas de algunas plantas medicinales del Litoral y Screening fitoquímico de las plantas medicinales del Litoral ecuatoriano. En *La Medicina tradicional en el Ecuador: Memorias de las primeras jornadas ecuatorianas de etnomedicina andina*. Quito: Universidad andina Simón Bolívar, Corporación Editora Nacional. 87-102 y 133-146.
- Jakupovic, J., Buruah, R. N., Thi, T., Bohlmann, F., Msonthi, J. D., & Schmeda-Hirschmann, G. (1985). New vernolepin derivatives from *Vernonia glabra* and glaucolides from *Vernonia scorpioides*. *Planta Medica*, (5), 378-380.
- Janssen, A. M., Scheffer, J. C., & Svendsen, A. (1998). Screening for Antifungal Activity of nineteen Latin American Plants. *Phytotherapy research*, 12, 427-430.
- Johann, S., Soldi, C., Lyon, J. P., Pizzolatti, G., Resende, M. A. (2007). Antifungal activity of the amyirin derivatives and in vitro inhibition of *Candida albicans* adhesion to human epithelial cells. *Letters in applied microbiology*, 45(2), 148-153.
- Jones, S. B. (1977). Vernoniaeae systematic review. In Heywood, V. H., Harborne, J. B. & Turner, B. L. *The biology and chemistry of the compositae*. 1, 503-521. London: Academic Press.
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2, 123-140.
- Kennedy, M. J., & Sigler, L. (1995). *Aspergillus*, *Fusarium* and other opportunistic moniliaceous fungi. In Murray, P. A., Barron, E. J., Pfaller, M. A., Tenover, F. C. & Tenover, R. H. *Manual of Clinical Microbiology*. (6a ed. pp. 765-799). Washington, DC: American Society for Microbiology.
- Kishimoto, N., Kakino, Y., Iwai K., & Fujita, T. (2005). Chlorogenate hydrolase-catalyzed synthesis of hydroxycinnamic acid ester derivatives by transesterification, substitution of bromide. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 68(2), 198-202.

- Koshimizu, K., Ohigashi, H., Huffman, M., Nishida, T., & Takasaki, H. (1993). Physiological activities and the active constituents of potentially medicinal plants used by wild chimpanzees of the mahale mountains, Tanzania. *International Journal of Primatology*, 14(2), 345-356.
- Kwon-Chung, K. J., & Bennett, J. E. (1992). Aspergillosis. In *Medical mycology*. Philadelphia: Lea & Febiger. 201-247.
- Koul, J. L., Koul, S., Singh, C., Taneja, S. C., Shanmugavel, M., Kampasi, et al. (2003). In vitro cytotoxic elemanolides from Vernonia lasiopus. *Planta Médica*, 69(2), 164-166.
- Leite, S. N., Palhano, G., Almeida, S., & Biavatti, M. W. (2002). Wound healing activity and systemic effects of Vernonia scorpioides extract in guinea pig. *Fitoterapia*, 73(6), 496-500.
- Levy, S. B. (2002). Active efflux, a common mechanism for biocide and antibiotic resistance. *Journal Applied Microbiology*, 92, 65-71.
- Lorenzetti, B. B., Souza, G. E., Sarti, S. J., Santos Filho, D., & Ferreira, S. H. (1991). Myrcene mimics the peripheral analgesic activity of lemongrass tea. *Journal of Ethnopharmacology*, 34, 43-48.
- Luján, M. C. y Pérez, C. (2008). Cribado para evaluar actividad antibacteriana y antimicótica en plantas utilizadas en medicina popular de Argentina. *Revista Cubana de Farmacia*, 42(2). Recuperado de http://www.bvs.sld.cu/revistas/far/vol42_2_08/far07208.htm
- MacRae, W. D., Hudson, J. B., & Towers, G. H. (1988). Studies on the pharmacological activity of Amazonian Euphorbiaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, 22, 143-172.
- Marino, E. M. (2005). *Etnomedicina en Guatemala*. USAC, 296.
- Marino, G. D., y Pensiero, J. F. (2006). *Catálogo de árboles y arbustos de la Provincia de Santa Fe*. Museo Provincial de Ciencias Naturales "Florentino Ameghino". Argentina, Santa Fe. 12, 31.
- Martínez, S., Terrazas, E., Álvarez, T., Mamani, O., Vila, J., y Mollinedo, P. (2010). Actividad antifúngica in vitro de extractos polares de plantas del género baccharis sobre fitopatógenos. *Revista Boliviana de Química*, 27(1) 13-18.
- Mesa, A. C., Bueno, J. G. y Bentancur L. A. (2004). Productos Naturales con Actividad Antimicótica. *Revista Española de Quimioterapia*, 17(4), 325-331.

- Misra, T. N., Singh, R. S., Upandhyay, J., & Srivstava, R. (1984). Chemical constituents of *Vernonia cinerea*. Isolation and structure elucidation of a new pentacyclic triterpenoid. *Journal of natural products*, 47(5), 865-867.
- Mitcher, L. A., Darker, S. & Gollapudi, A. (1987). A modern look at folkloric use of anti-infective agents. *Journal of Natural Product*, 5, 1025-1040.
- Mitscher, L. A., Leu, R., Bathala, M. S., Wu, W., & Beal, J. L. (1972). Antimicrobial agents from higher plants. In Introduction, rational and methodology. *Lloydia*, 35(2), 157-166.
- Murray, P. (1995). *Manual of clinical microbiology*. (6a ed., pp. 97-100).
- Narain, N. K. (1979). Fasciculatol A new tetra cyclic tri terpenoid ether from *Vernonia-fasciculata*. *Canadian Journal of Pharmaceutical Sciences* 14, 33-35.
- Naranjo, P. (1995). *La medicina tradicional en el Ecuador. Nuevas plantas medicinales de la Amazonia Ecuatoriana*. Universidad Andina Simón Bolívar, Subsede Ecuador, Quito: Corporación editorial nacional. 65-86.
- Nash, D. L., & Williams L. O. (1976). Compositae. En Standley, P., y Steyemark., J. *Flora de Guatemala* (Vol. 24, Part XII, pp. 21-28). Fieldiana Botany.
- Olaleye, S. B., Farombi, E. O., Adewoye, E. A., Owoyele, B., Onasanwo, S. A., & Elegbe, R. A. (2000). Analgesic and anti-inflammatory effects of kolaviron (a *Garcinia Kola* seed extract). *African Journal of Biomedical Research*, 3(3), 171-174.
- Ortiz López, D., y Lòpez Chenal, J. (2010). Actividad inhibitoria de la acetilcolinesterasa por extractos de ocho especies vegetales nativas de Guatemala usadas en el tratamiento de afecciones nerviosas. (Seminario de Investigación de Químicos Biólogos). Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.
- Oshodi, A. A., Amoo, I. A., & Eleyinmi, A. F. (2004). The antimicrobial activity of negeriam medicinal plants potentially usable as hop substitutes. *Masters brewers association of the Americans*, 21(4), 398-402.
- Ospina, L., Aragón, D., Vergel, N., Isaza, G., y Pérez, J. (2011). Actividad Antiinflamatoria y antioxidante de *Phenax rugosus* (Poir.) Wedd Y *Tabebuia chrysanta* G. Nicholson. *Pharmacology and toxicology*, 18(1), 49-55.
- Owoeye, O., Yousuf, S., Akhtar, M. N., Qamar, K., Dar, A., Farombi, E.O., Onwuka, S.K., et al. (2010). Another anticancer elemanolide from *Vernonia amygdalina*. *International Journal of biological and chemical Sciences*, 4, 226-234.

- Özcan, G., Sagdiç, O., Karahan, A. G., & Musa Özcan. (2003). Effect of Some Spice Extracts on Bacterial Inhibition. *Food science and technology international*, 9(5), 353-358.
- Paganini H. (2007). Infecciones por Staphylococcus aureus meticilino resistente proveniente de la comunidad: un nuevo desafío para los pediatras. *Medicina Infantil. Revista Hospital Pediatrico Garrahan*, 14(4), 292-296.
- Palacios, M. C. (2004). Inhibición del crecimiento de Gardnerella vaginalis por seis plantas de uso medicinal de la flora suroccidental de Guatemala. (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala. 46.
- Perera, W. H., Gonzales, L., y Payo, A. L. (2006). Metabolitos secundarios y actividad antimicrobiana de Pluchea Carolinensis. *Revista cubana de farmacia (online)*, 40(2). Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75152006000200007&script=sci_arttext&tlng=en
- Pérez-Amador, M. C., Muñoz Ocotero, V., Perez Benitez, S., y García Jimenez, F. (2008). Vernonia patens Kunth, una especie de Asterácea con actividad fototóxica y farmacológica. Recuperado de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-56572008000100023
- Prieto, J. A., Patiño, O. J., Delgado, W. A., Moreno, J. P., & Cuca, L. E. (2011). Chemical Composition, insecticidal, and antifungal activities of fruit essent oils of three Colombian Zanthoxylum sp species. *Chilean Journal of Agricultural Reserch*, 71, 73-82.
- Programa Iberoamericano de ciencias y tecnología para el desarrollo (CYTED). (1995). *Manual de Técnica de Investigación*. Bogotá, Proyecto X-1, s/ 70.
- Rabe, T., Mullholland, D., & Van Staden., J. (2002). Isolation and identification of antibacterial compounds from Vernonia colorata leaves. *Journal of Ethnopharmacology*. 80(1), 91-94.
- Ralph Daniel, C. R. (1991). The Diagnosis of Nail Fungal Infection. *Archives of Dermatology*, 127(10), 1566-1567.
- Restrepo de Fraume, M. (2005). *Manual. El milagro de las plantas: aplicaciones medicinales y oro faríngeas*. Bogotá: Taller San Pablo. 232.

- Ríos, J. L., & Recio, M. C. (1988). Screening methods for natural products with antimicrobial activity; a review of the literature. *Journal of Ethnopharmacology*, 23(2-3), 127-148.
- Rippon, J. (1990). *Micología médica: hongos y actinomicetos patógenos*. México: Interamericana. 33-56.
- Robinson, H. (1999). *Generic and subtribal classification of American Vernoniae*. Washington, DC: Smithsonian Institution Press. 1-116.
- Sanabria-Galindo, A., Mendoza, A., y Moreno, A. L. (1998). Actividad antimicrobiana in vitro de angiospermas colombianas. *Revista colombiana de ciencias químicas farmacéuticas*, 27, 47-51.
- Santana, P. M., Miranda, M., Gutiérrez, Y., García, G., Orellana, T., y Orellana-Manzano, A. (2011). Efecto antiinflamatorio y antimicótico del extracto alcohólico y composición química del aceite de hojas de *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist (canilla de venado). *Revista Cubana de plantas medicinales*, 16(1), 13-23.
- Silva, C. M., Bolzan, A. B., Mallmann, C. A., Pozzatti, P., Alves, S. H., & Heinzmann, B. M. (2008). Sesquiterpenóides de *Senecio bonariensis* Hook. & Arn., Asteraceae. *Revista Brasileira de farmacognosia*, 20, 87-92.
- Siqueira, C. A., Oliani, J., Sartoratto, A., Queiroga, C., Moreno, P., Reimao, J., et al. (2010). Chemical constituents of the volatile oil from leaves of *Annona coriacea* and *in vitro* antiprotozoal activity. *Revista brasileira de farmacognosia*, 21, 33-40.
- Tegos, G., Stermitz, F., Lomovskaya, O. & Lewis, K. (2002). Multidrug pump inhibitors uncover remarkable activity of plant antimicrobials. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 46(10), 3133-3141.
- Toribio, M., Oriani, D., y Fernández, J., Toso, R., y Tortone, C. (2007). Estudio de la actividad antimicrobiana de cuatro especies del género *Baccharis*. *Ciencia veterinaria*, 9, 44-48.
- Toribio, M., Oriani, D., y Skliar. (2004). Actividad antimicrobiana de *Centaurea solstitialis* y *Centaurea calcitrapa*. *Ars pharmaceutica*, 45(4), 335-341.
- Tropicos® (2011). Missouri Botanical Garden. Recuperado de <http://www.tropicos.org>

- United States Department of Agriculture (USDA). (2009). Natural Resources conservation service. *Vernonia sp.* (s. f.). Recuperado de <http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=VEMI2>
- Vilela, G. R., de Almeida, G. S., D'Arce, M. A. B., Moraes, M. H., Brito, J. O., da Gloria, E. M. et al. (2009). Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare. *Journal of Stored Products Research*. 45(2), 108-111.
- Villaseñor, I. M., Angelada, J., Canlas, A. P., & Echevoyen, D. E. (2002). Bioactivity Studies on b-Sitosterol and Its Glucoside. *Phytotherapy Research* 16, 417-421.
- Winfield, M. D. & Groisman, E. A. 2003. Role of non host environments in the lifestyles of *Salmonella* and *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(7), 3687-3694.
- Zandonál, R. H. 2007. Análise da atividade linfoproliferativa de células esplénicas murinas frente a extracto de seis plantas medicinais da flora Catarinense. Universidade do Vale do Itajaí. Centro de ciencias da saúde. Recuperado de http://www6.univali.br/tede/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=423
- Zapata, B., Durán, C., Stashenko, E., Betancur, L., y Mesa-Arango, A. C. (2010). Actividad antimicótica y citotóxica de aceites esenciales de plantas de la familia *Asteraceae* *Revista Iberoamericana de Micología*, 27(2), 101-103
- Zuazo, J.L. 2001. El recurso microbiológico en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas En Llop, A., Valdés, M., Zuazo, J. *Microbiología y Parasitología Médicas*, La Habana: ECIMED. 569-574.

13 ANEXOS

Anexo 1. *Vernonia deppeana* Less.



Lugar: Guatemala, Panajachel (Sololá)
Autor y determinador: Michael Kesl

Fuente: BioLib.cz 2011

Anexo 2. Lugares de colecta de las muestra botánicas depositadas en los herbarios.

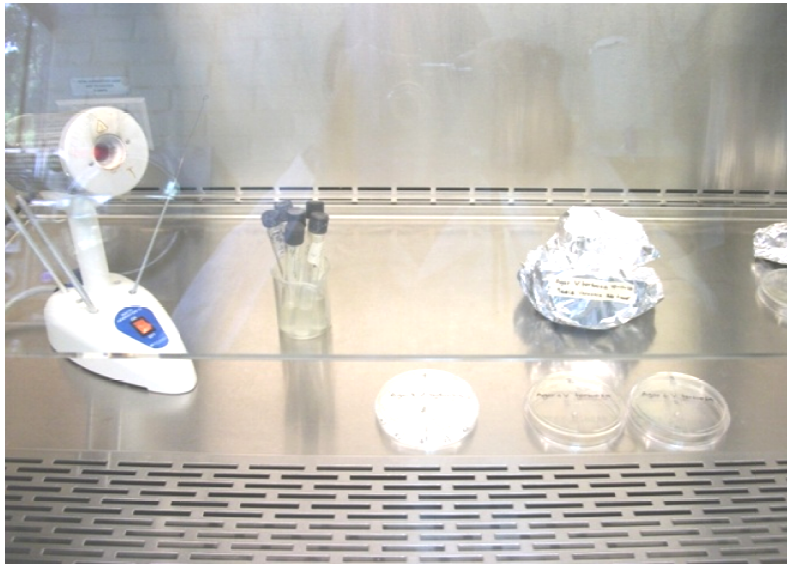
Tabla 1. Información general de las especies vegetales evaluadas

Familia	Especie vegetal	No. de herbario	Lugar de colecta	Georeferencia	Altura msnm*	Propiedades
Asteraceae	<i>Vernonia deppeana</i>	1122	Km. 153 Samayac, Suchitepéquez	N 14° 31'59.88" O 91° 30'00"	371	Medicinal
Asteraceae	<i>Vernonia patens</i>	48139**	Municipio Panajachel, Sololá	N 14° 44'34.56" O 91° 09'30.5"	1044	Medicinal
Asteraceae	<i>Vernonia scorpioides</i>	1103	Km. 153 Samayac, Suchitepéquez	N 14° 31'59.88" O 91° 30'00"	371	Medicinal
Asteraceae	<i>Vernonia tortuosa</i>	52801**	Pueblo Nuevo Viñas, Santa Rosa	N 14° 12'44 O 90° 26'46"	1055	Medicinal
Asteraceae	<i>Vernonia triflosculosa</i>	1102	Km. 153 Samayac, Suchitepéquez	N 14° 31'59.88" O 91° 30'00"	371	Medicinal

* msnm: Metros sobre el nivel del mar

** no. de herbario perteneciente al Herbario de la Escuela de Biología (BIGU), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. El resto de números de herbario pertenece al Herbario de Farmaya, S.A.

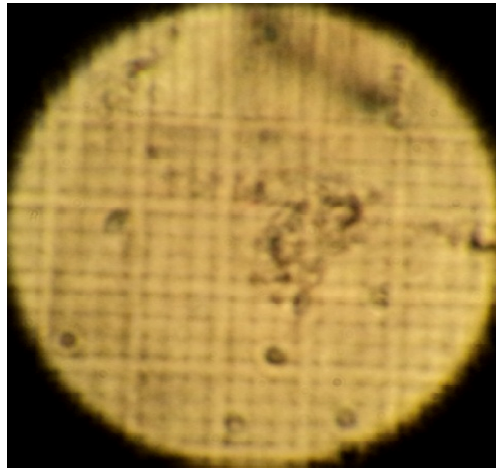
Anexo 3. Realización del ensayo en la campana de flujo laminar utilizando incinerador, asa de nicromo, plantilla de ocho partes, cajas de petri con agar-planta e inoculos.



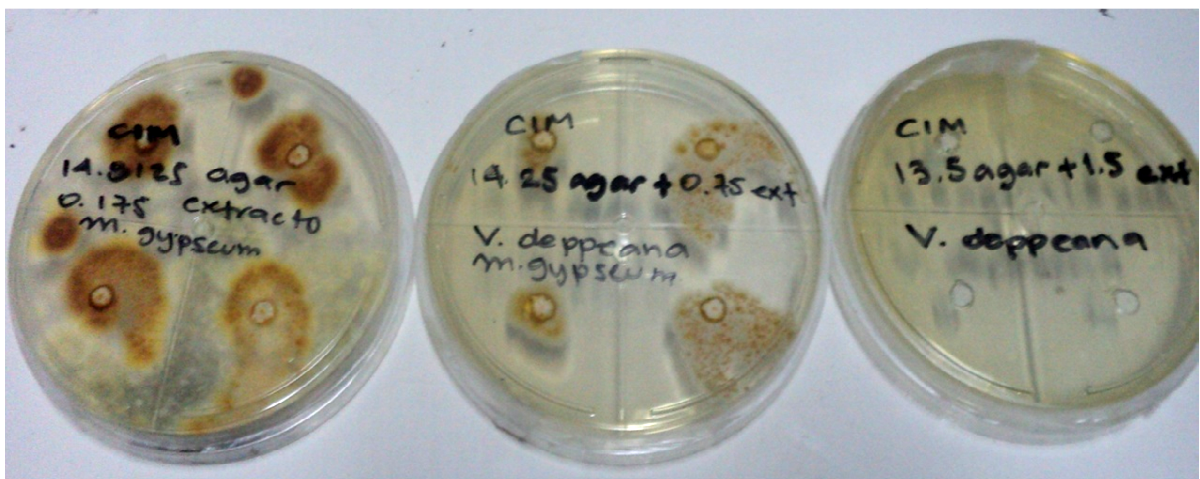
Anexo 4. Plantilla de ocho partes iguales utilizada en el ensayo, dejando una zona clara en el centro de la caja.



Anexo 5. Tamizaje de la actividad antimicótica, conteo de esporas en la cámara de Neubauer.



Anexo 6. CIM de *V. deppiana* sobre la cepa de *M. gypseum* en concentraciones de 0.25, 0.5 y el control negativo (de izquierda a derecha) a simple vista se puede observar la actividad inhibitoria.



Anexo 7. Productos o compuestos con actividad antimicótica obtenidos de plantas.

Tabla 1. Productos con actividad antimicótica obtenidos de plantas.			
Compuesto	Fuente	Actividad	Ref.
Aceite del árbol del té (terpinen-4-ol y 1,8-cineol)	<i>Melaleuca alternifolia</i>	<i>Candida</i> , <i>Malassezia</i> , dermatófitos	21-27
Alicina	<i>Allium sativum</i>	<i>Candida</i> , <i>Malassezia</i> , dermatófitos, <i>Cryptococcus</i> , <i>Aspergillus</i>	29, 30
Ajoeno	<i>Allium sativum</i>	<i>Candida</i> , <i>Malassezia</i> , dermatófitos, <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	31-34
Timol	<i>Thymus vulgaris</i> , <i>Thymus zygis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Saprolegnia</i> , <i>Zygorhynchu</i>	35
Carvacrol	<i>Thymus vulgaris</i> , <i>Thymus zygis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Saprolegnia</i> , <i>Zygorhynchu</i>	35
Eucaliptol (1,8-cineol)	<i>Eucaliptus globulus</i>	<i>Candida albicans</i>	36
Zeamatina	<i>Zea mays</i>	<i>Candida albicans</i>	37-41

Fuente: Mesa, AC; Bueno, JG; Bentancur LA. (2004). Productos Naturales con Actividad Antimicótica. *Revista Española de Quimioterapia*, 17(4), 325-331p.

Anexo 8. Metabolitos de importancia aislados en el género *Vernonia*.

Especie	Nombre del compuesto	Clase de compuestos	Autor (s)
<i>V. scorpioides</i>	β -cariofileno, germacreno D, y biciclogermacreno	Sesquiterpenos	Albuquerque, Lemos, Pessoa, Nunes, Nascimento, y Silveira, 2007, pp. 249-250
	5-octa-2,4,6-tri-inil-furano-2(5H)-ona	Poliacetileno	Buskuhl, Freitas, Monache, Barison, Campos, Corilo, et, al., 2009, pp. 1327-1333.
	luteolina, apigenina, caffeato etílico, y diacetilpiptocarphol (8-acetil-13-etoxiptocarphol)	Sesquiterpenlactonas	Buskuhl, Oliveira, Blind, Freitas, Barison, Campos, et, al., 2010, 1539-1544.
	tigliato	Terpeno	Jakupovic, Buruah, Chau Thi, Bohlmann, Msonthi, & Schmeda-Hirschmann, 1985, pp. 378-380.
<i>V. deppeana</i>	6-Deoximikanokriptina (3-oxo-1 α ,7 α ,8 β ,10 β (H)-guaia-4(5),11(13)-dien-8,12-olido	Guaianolido	Gómez, Rivera, Rodulfo de Gil, Vogler de Valeri, y Triana, 1987, pp. 2216-2218
	Nces*	Alcaloides	Ortiz López y López Chenal, 2010, pp. 41-45.
	Nces*	Cumarinas	
	Nces*	Antocianinas	
	Nces*	Flavonoides	
Mirceno y cineoles	Aceites volátiles		
<i>V. amygdalina</i>	Vernodalol y vernolidos	Sesquiterpenlactonas	Erasto, Grierson, & Afolayan, 2006, pp. 117-120; Dubey, 2011, p. 96.
<i>V. cinerea</i>	β -amirina	Acetato	Misra, Singh, Upandhyay, & Srivstava, 1984, pp. 865-867.
<i>Vernonia sp.</i>	Lupeol	Triterpeno	Blair, 2005

*Nces = no coincidió con los estándares utilizados.

Lidia Yasmin Canel Monterroso

Autora

Lic. Armando Cáceres Estrada

Asesor de Tesis

Ing. Agr. Jorge Mario Vargas

Revisor de Tesis

Dr. Sergio Melgar

Director de Escuela de Biología

Dr. Oscar Manuel Cobar Pinto

Decano de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

