

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



**BÚSQUEDA DE ACTIVIDAD ANTI-*HELICOBACTER PYLORI*  
EN 16 PLANTAS DE USO POPULAR GUATEMALTECO**

NYDIA ANAIDÉ ORÓZCO MORÁN  
CHRISTA MARÍA LEAL SALGUERO  
JESSICA MARIELA RIVERA RAYMUNDO  
MARÍA LARISSA NADEJDA MONTERROSO CASTILLO

QUÍMICAS BIÓLOGAS

GUATEMALA, MARZO DE 2012.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



**BÚSQUEDA DE ACTIVIDAD ANTI-*HELICOBACTER PYLORI*  
EN 16 PLANTAS DE USO POPULAR GUATEMALTECO**

SEMINARIO DE TESIS

PRESENTADO POR

NYDIA ANAIDÉ ORÓZCO MORÁN

CHRISTA MARÍA LEAL SALGUERO

JESSICA MARIELA RIVERA RAYMUNDO

MARÍA LARISSA NADEJDA MONTERROSO CASTILLO

PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
QUÍMICAS BIÓLOGAS

GUATEMALA, MARZO DE 2012.

## **JUNTA DIRECTIVA**

OSCAR CÓBAR PINTO, PH.D.

DECANO

LIC. PABLO ERNESTO OLIVA SOTO, M.A.

SECRETARIO

LICDA. LILIANA VIDES DE URIZAR

VOCAL I

DR. SERGIO ALEJANDRO MELGAR VALLADARES

VOCAL II

LIC. LUIS ANTONIO GÁLVEZ SANCHINELLI

VOCAL III

BR. JOSÉ ROY MORALES CORONADO

VOCAL IV

BR. CECILIA LISKA DE LEÓN

VOCAL V

## CONTENIDO

1	Ámbito de la investigación.....	1
2	Resumen.....	2
3	Introducción.....	3
4	Antecedentes.....	5
4.1	Historia.....	5
4.2	Especies de <i>Helicobacter</i> .....	5
4.3	Morfología.....	6
4.4	Genoma y plásmidos.....	7
4.5	Respiración y metabolismo.....	7
4.6	Pared celular y lipopolisacáridos.....	8
4.7	Requerimientos nutricionales.....	8
4.8	Virulencia.....	9
4.9	Patogenicidad.....	10
4.10	Transmisión.....	10
4.11	Métodos de diagnóstico.....	11
4.12	Epidemiología.....	16
4.13	Tratamiento.....	17
4.14	Patologías causadas por <i>H. pylori</i> .....	19
4.15	Tratamiento con plantas medicinales.....	21
5	Justificación.....	58
6	Objetivos.....	59
6.1	Objetivo general.....	59
6.2	Objetivos específicos.....	59
7	Hipótesis.....	60

8	Materiales y Métodos .....	61
8.1	Universo de trabajo.....	61
8.2	Muestra .....	61
8.3	Recursos.....	61
8.4	Materiales .....	62
8.5	Metodología.....	66
8.6	Diseño estadístico .....	72
9	Resultados .....	73
10	Discusión .....	78
11	Conclusiones.....	80
12	Recomendaciones .....	81
13	Referencias .....	82
14	Anexos.....	102

## 1 ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

Se conoce que *Helicobacter pylori* es un microorganismo Gram negativo que ha colonizado a la mitad de la población mundial, y que además está relacionado con enfermedades crónicas activas como úlceras, gastritis y procesos malignos. Aunque existe una terapia recomendada contra *H. pylori*, se ha reportado un creciente problema de resistencia a antibióticos, lo cual incrementa la demanda de la investigación de nuevos componentes terapéuticos principalmente aquellos provenientes de plantas (Kusters, Vliet, & Kuipers, 2006; Zuñiga, 1992; Marshall & Warren, 1983). Como microbiólogos clínicos se tiene al menos dos razones para interesarse en el tema de búsqueda de sustancias antimicrobianas en extractos de plantas. Primero, es muy probable que en los extractos se encuentren fitoquímicos que podrían ser parte del arsenal de agentes antimicrobianos descritos por los médicos (Cowan, 1999; Clark, 1996). Luego de un descenso en el ritmo de producción de antibióticos en las últimas décadas, nuevamente se ha despertado el interés en la investigación de nuevos agentes antimicrobianos debido a que la vida efectiva de cualquier antibiótico es limitada por el pronto desarrollo de mecanismos de resistencia por los microorganismos (Clark, 1996; Alper, 1998). En segundo lugar, cada vez hay más conciencia de los problemas con la prescripción excesiva y la mala utilización de los antibióticos. Además, una gran cantidad de los componentes de las plantas se encuentran disponibles fácilmente a través de ventas de plantas y alimentos naturales (Cowan, 1999; Eisenberg, Kessler, Foster, Norlock, Calkings, & Delbanco, 1993; Klink, 1997).

A partir de los 90's empezaron a aparecer estudios de actividad anti-*H. pylori*, sin embargo en Guatemala aún no se encuentra ninguna publicación sobre esta temática. Por lo anterior esta investigación busca formar parte de los estudios realizados en Guatemala sobre búsqueda de actividad anti-*H. pylori* en extractos de plantas nativas, con el apoyo del departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala –USAC–, en el cual se han realizado diversos estudios sobre actividad antimicrobiana en plantas desde hace varios años, y también con la contribución de los laboratorios de Patología y Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas de la USAC, lugar donde se encuentra un cepario de *H. pylori* que forma parte del proyecto FODECYT 048-2008, del cual se obtuvieron las cepas utilizadas en este estudio para evaluar el efecto antimicrobiano de los extractos de las plantas elegidas para esta investigación.

## 2 RESUMEN

En el presente estudio se determinó la actividad anti-*H. pylori* de 16 extractos etanólicos de especies vegetales que son usadas como plantas medicinales para el tratamiento de afecciones gastrointestinales en Guatemala. Las plantas evaluadas fueron: *Acalypha guatemalensis*, *Capsicum annuum*, *Cordia dentata*, *Lippia graveolens*, *Petiveria alliacea*, *Phlebodium pseudoaureum*, *Piper jacquemontianum*, *Rauvolfia tetraphylla*, *Salvia lavanduloides*, *Senna alata*, *Simarouba glauca*, *Smilax domingensis*, *Solanum nigrescens*, *Tagetes lucida*, *Vernonia deppeana* y *Wigandia urens*.

Dado que se reporta un creciente problema de resistencia a antibióticos en *H. pylori*, es necesaria la investigación de nuevos compuestos terapéuticos principalmente aquellos provenientes de plantas.

Los extractos fueron obtenidos por percolación y concentración en rotavapor, utilizando etanol como disolvente. Dos de ellos fueron preparados por el grupo de investigación, obteniéndose un rendimiento de 5% en *C. annuum* y 27% en *T. lucida*.

Fue evaluada la actividad anti-*H. pylori* de los extractos a una concentración de 100 µg/mL, por el método de dilución en agar según las recomendaciones realizadas por el CLSI (por sus siglas en inglés: Clinical and Laboratory Standards Institute). Los extractos que mostraron actividad inhibitoria fueron probados a diferentes diluciones.

Fue detectada actividad inhibitoria significativa ( $p= 0.0312$ ) contra *H. pylori* en los extractos etanólicos de *C. dentata* y *S. nigrescens* a una concentración de 100 µg/mL.

### 3 INTRODUCCIÓN

*H. pylori* es un bacilo Gram negativo, de forma espiral, con extremos redondeados, microaerófilico (Marshall & Warren, 1983; Dunn, Cohen, & Blaser, 1997; García, Alarcón, & Lopez, 2003). Es conocido como una de las principales causas de numerosos desórdenes gastrointestinales crónicos incluyendo dispepsia, úlcera gástrica, úlcera duodenal y cáncer gástrico. (Marshall & Warren, 1983; Rauws, Langenberg, Houthoff, Zanen, & Tygat, 1998; Blazer, 1992; Ricci, Ciacci, Zarrilli, Sommi, Tummuru, Del Vecchio, ... Romano, 1996; Rodes & Guardia, 1997). La bacteria coloniza la mucosa del estómago, causando una condición conocida como gastritis crónica activa (Marshall & Warren, 1983). La prevalencia de *H. pylori* es cerca del 40% en países desarrollados y del 80-90% en países en desarrollo (Perez, Rothenbacher, & Brenner, 2004).

En Guatemala la prevalencia de la infección se ve influenciada por la condición socioeconómica de los individuos mientras su prevalencia alcanza hasta un 86.3% en sujetos adultos dispépticos de condición socioeconómica baja, y 63.6% en los individuos de condición socioeconómica alta. (Schneider, Vettorazzi, Torres, Solis, Marroquín, Morales, & de Rodriguez, 1994).

La mayoría de los esquemas de tratamiento utilizan tres o cuatro medicamentos; los esquemas triples, de uso más común, incluyen una sal de bismuto, un inhibidor de la producción de ácido y uno o dos antibióticos. Estos proveen un porcentaje de éxito del tratamiento que oscila entre el 70 y el 80%, y en algunas ocasiones puede ser tan bajo como el 20% (Unge, 1998; Mégraud & Marshall, 2000; Chassay & Durancinsky, 2002). Entre las causas para ese bajo rendimiento se incluyen la resistencia de la bacteria a algunos antibióticos, especialmente contra el metronidazol y más recientemente contra claritromicina, adicionado a las molestias secundarias al tratamiento que enfrentan los pacientes ocasionando que lo abandonen; entre las molestias se citan la permanencia de un sabor anormal, diarrea y náuseas (Drouin, 1999; Kato, Fujimura, & Udagawa, 2002; Meurer & Bower, 2002). Debido a los altos niveles de morbilidad mundial, y por el incremento en la prevalencia de la infección de *H. pylori* y su resistencia antimicrobiana, se ha generado gran interés por el desarrollo de nuevos tratamientos para la infección (Cowan, 1999).



En Guatemala las enfermedades gastrointestinales constituyen una de las más importantes causas de morbilidad. Por generaciones se han utilizado plantas para el tratamiento de afecciones gastrointestinales, muchas de las cuales se han estudiado para encontrar agentes derivados que muestren actividad contra este tipo de enfermedades (Cowan, 1999; Cáceres & Girón, 2002; Castillo & Romero, 2007). Sin embargo, no fue sino hasta la década de los 90 que empiezan a aparecer estudios sobre búsqueda de actividad anti-*H. pylori* en plantas, incrementando su frecuencia a principios del siglo actual (Castillo & Romero, 2007; McKinlay, Upadhyay, Gemmell, & Russell, 1990). Según encuestas etnobotánicas en Guatemala existen cerca de 700 especies vegetales de uso medicinal, entre las cuales se encuentran 385 plantas pertenecientes a 95 familias que se utilizan para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales (Cáceres & Girón, 2002; Cáceres, Cano, Samayoa, & Aguilar, 1990). Tomando en cuenta el potencial que poseen las plantas medicinales guatemaltecas, el objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antimicrobiana contra *H. pylori* de los extractos de 16 plantas nativas de uso popular en Guatemala para tratar las afecciones gastrointestinales.

## 4 ANTECEDENTES

### 4.1 Historia

Existen descripciones histológicas de organismos espirales localizados en la cavidad gástrica de personas realizadas por patólogos alemanes desde 1874. En 1884 se detectó por vez primera en las heces un microorganismo semejante morfológicamente a una espiroqueta. Poco después, se descubrió una bacteria en espiral similar en los humanos, algunos de los cuales presentaban úlcera péptica o cáncer gástrico y los pacientes incluso eran tratados con altas dosis de sales de bismuto como antimicrobianos. Esta posibilidad fue posteriormente descartada como irrelevante, probablemente debido a la alta prevalencia de esta bacteria en el estómago de personas asintomáticas. La bacteria observada en el estómago de los humanos fue, por lo tanto, considerada hasta principios de la década de 1980 como proliferación bacteriana o contaminante de los alimentos (Kusters et al., 2006; Zuñiga, 1992). En 1983, Warren y Marshall, demostraron que el 98% de los pacientes con histología de gastritis crónica activa tenían microorganismos en la superficie de la mucosa y que el 80% de los pacientes con úlcera gástrica también padecían la infección (Marshall & Warren, 1983; Brooks, Butel, & Morse, 2002). Ambos lograron exitosamente el cultivo y aislamiento de una especie de bacteria en espiral proveniente del estómago humano, más tarde conocida como *H. pylori*. Con la ingestión de la bacteria por ambos y más tarde por otros voluntarios, demostraron que esta bacteria podía colonizar el estómago humano y en consecuencia inducir la inflamación de la mucosa gástrica. Marshall desarrolló una gastritis transitoria y Warren desarrolló una gastritis más persistente, la cual resolvió con una terapia secuencial, primero con doxiciclina y luego con subsalicilato de bismuto. Estos datos iniciales estimularon al desarrollo de más investigaciones las cuales mostraron que la colonización gástrica con *H. pylori* puede dirigir a una variedad de desórdenes gastrointestinales como son la gastritis crónica, úlcera péptica, linfoma gástrico asociado a la mucosa y cáncer gástrico (Marshall & Warren, 1983).

### 4.2 Especies de *Helicobacter*

El género *Helicobacter* pertenece a la subdivisión de las *Proteobacteria*, orden *Campylobacterales*, familia *Helicobacteraceae*. Las especies de *Helicobacter* se pueden subdividir en dos grandes linajes, las especies gástricas y las enterohepáticas. Ambos grupos

demuestran un alto nivel de especificidad al órgano que infectan, por lo que las especies gástricas son incapaces de infectar el intestino o hígado y viceversa (Brooks et al., 2002).

### 4.3 Morfología

*H. pylori* es un bacilo Gram negativo, de forma espiral, con extremos redondeados, microaerófilico. En ocasiones luego de cultivarse en un medio sólido la bacteria pierde su forma espiral, mostrando una forma más recta. Luego de varios cultivos la bacteria adquiere predominantemente una forma cocoide, la cual por microscopía electrónica se observa como bacilos en forma de U, con los extremos unidos por una estructura membranosa. Esta forma cocoide es metabólicamente activa, pero no puede ser cultivada *in vitro* y se cree que representan células muertas (Marshall & Warren, 1983; Dunn et al., 1997; García et al., 2003).

Ambas formas tanto cocoide como bacilar, pueden encontrarse en el estómago y en el duodeno, aunque la mayoría presenta una morfología bacilar espiral. La forma cocoide no tiene la capacidad de adherirse a las células epiteliales y además, tampoco es capaz de inducir la producción de interleucina. Factores como la aerobiosis, pH alcalino, temperatura alta, una prolongada incubación, exposición a altas concentraciones de oxígeno, tratamiento con inhibidor de la bomba de protones, antibióticos u óxido nítrico producen la conversión morfológica de la forma espiral a la forma cocoide. Se cree que la forma cocoide es una forma de resistencia, capaz de adaptarse a condiciones adversas del medio ambiente y convertirse en el modo de transmisión, además se producen cambios degradativos en su composición (ADN, ARN, ATP, proteínas) y cambios en las propiedades de la superficie de la membrana (aumento hidrofóbico). Sin embargo, el ADN no se fragmenta lo que le da la capacidad de regresar a la forma espiral cuando las condiciones ambientales son las adecuadas (Zuñiga, 1992; Goodwing & Armstrong, 1990).

En cuanto al tamaño, esta bacteria puede medir de 2.5 a 5.0  $\mu\text{m}$  de largo y de 0.5 a 1.0  $\mu\text{m}$  de ancho; además presenta entre 4 y 6 flagelos unipolares, los cuales son esenciales para la movilidad de este microorganismo. Cada flagelo mide aproximadamente 30  $\mu\text{m}$  de largo y 2.5  $\mu\text{m}$  de ancho. Estos flagelos poseen las siguientes características: un bulbo terminal, cubiertos con una membrana o vaina. Esta vaina tiene una estructura lipídica, igual a la de la membrana externa, y parece que su misión es la de proteger a los flagelos de su degradación por el medio ácido. Los flagelos le confieren movilidad y le permiten moverse rápidamente en soluciones

viscosas como la capa mucosa que recubre las células del epitelio gástrico (Dunn et al., 1997; García et al., 2003). Además con su flagelo y su forma espiral, la bacteria taladra literalmente la capa de mucus del estómago y después puede quedarse suspendida en la mucosa gástrica o adherirse a células epiteliales (Goodwing & Armstrong, 1990).

#### **4.4 Genoma y plásmidos**

El genoma de *H. pylori* puede ser de 1.6 -1.73 Mb, con una media de 1.67 Mb. La composición media de guanina (G) + citosina (C) es de 35.2 mol%. Aproximadamente el 40% de los aislamientos de *H. pylori* contiene plásmidos con un tamaño entre 1.5 a 23.3 kb, pero no se han reconocido factores de virulencia en los mismos. El genoma de *H. pylori* posee al menos dos copias de los genes 16S y 23S ARNr. La variable localización de múltiples genes en el mapa genómico sugiere que ocurre un extensivo rearrreglo del genoma de *H. pylori*. Es posible que la heterogenicidad genética se deba a una adaptación de *H. pylori* a las condiciones gástricas del huésped, además de distintos patrones de respuesta inmune del hospedero a la infección. Este microorganismo exhibe en su contenido múltiples genes incluyendo los que codifican la ureasa y proteínas estructurales, flagelina, citotoxina vacuolizante Vac A, y la proteína antigénica denominada Cag A (Dunn et al., 1997; García et al., 2003).

#### **4.5 Respiración y metabolismo**

Por los métodos microbiológicos de rutina, *H. pylori* no parece utilizar ni oxidativa, ni fermentativamente a los carbohidratos, de ahí los problemas que han existido para diferenciar especies. *H. pylori* muestra actividad de la glucosa kinasa, que está asociada con la membrana celular bacteriana. Además, se ha identificado la actividad enzimática de la vía de las pentosas fosfato, por lo que *H. pylori* parece ser capaz de metabolizar la D-glucosa, posee transportadores específicos para la misma, características del sistema de transporte de la glucosa que parecen ser únicas (Kusters et al., 2006; García et al., 2003).

*H. pylori* muestra una actividad característica, la más importante es la potente enzima ureasa que posee, así como la oxidasa y la catalasa útiles para su identificación (Goodwing & Armstrong, 1990) La vía de Etner-Doudoroff ha sido demostrada en *H. pylori*. La fumarato reductasa es un componente esencial del metabolismo de *H. pylori* y como tal se constituye en

un posible blanco para la intervención terapéutica. *H. pylori* puede metabolizar aminoácidos por la vía fermentativa de manera similar a la de las bacterias anaeróbicas. Se han caracterizado los citocromos involucrados en la terminación de la cadena respiratoria de *H. pylori*. El elevado nivel de CO<sub>2</sub> requerido para el crecimiento *in vitro* puede deberse en parte a la actividad de la acetil coenzima A carboxilasa (García et al., 2003).

*H. pylori* contiene gránulos de polifosfato, que pueden funcionar como una reserva de energía en la bacteria, asociada con un epitelio degenerado, donde una fuente de energía exógena puede estar ausente (García et al., 2003).

#### **4.6 Pared celular y lipopolisacáridos**

Se ha identificado una variedad de proteínas exteriores de la membrana. La masa de estas proteínas se encuentra entre 31 a 80 kDa. La ureasa y la proteína de choque térmico HspB (por sus siglas en inglés: Heat shock protein) se localizan estrictamente entre el citoplasma en la fase de crecimiento logarítmica del cultivo de *H. pylori*. Luego, en la fase final del cultivo, la ureasa y HspB se asocian con la superficie bacteriana de una nueva forma: las proteínas citoplasmáticas son liberadas por autólisis bacteriana y se absorben a la superficie de una bacteria intacta gracias a las características de la membrana exterior (Dunn et al., 1997).

#### **4.7 Requerimientos nutricionales**

Una característica clave de *H. pylori* es su microaerofilia, con un óptimo crecimiento a un nivel de O<sub>2</sub> del 2 al 5% y del 5 al 10% de CO<sub>2</sub> y una alta humedad. Comúnmente se utilizan condiciones microaeróbicas de 85% de N<sub>2</sub>, 10% de CO<sub>2</sub>, y 5% de O<sub>2</sub> para el cultivo de *H. pylori*. Esta bacteria puede sobrevivir a breves exposiciones a un pH menor de 4, pero su crecimiento se da entre un pH de 5.5 a 8.0, siendo óptimo un pH neutro. En aislamientos frescos *H. pylori* crece mejor bajo condiciones microaeróbicas. Luego de su mantenimiento en el laboratorio, algunas cepas se vuelven lo suficientemente aerotolerantes que pueden crecer en un 10% de CO<sub>2</sub>. El crecimiento en medios líquidos es favorecido por la agitación e incubación en una atmósfera enriquecida con CO<sub>2</sub>. El crecimiento ocurre entre 30 a 37 °C, pero no a 25 °C. A 42 °C se da un crecimiento variable de *Helicobacter* spp. (Dunn et al., 1997; García et al., 2003).

No hay medios definidos disponibles para el cultivo de *H. pylori*; este microorganismo requiere de medios complejos, con algunas formas de suplementos tales como sangre completa, grupo heme, suero, carbón activado,  $\beta$ -ciclodextrinas o factores X y V, o emulsión de yema de huevo. Estos suplementos sirven como sustratos nutritivos y una de las funciones principales puede ser la detoxificación del medio y la protección de los organismos. Comúnmente para el cultivo de *H. pylori* se utiliza el agar Columbia o Brucella suplementados con sangre, ya sea de caballo o carnero, o alternativamente con suero de feto de ternero o de ternero recién nacido. Para los aislamientos primarios se dispone de antibióticos selectivos, aunque estos no son requeridos. Comúnmente se utiliza el suplemento Dent que consiste en vancomicina, trimetoprim, cefsoludina, y anfotericina B, mientras que la alternativa utilizada por el suplemento de Skirrow consiste en vancomicina, trimetoprim, polimixina B, y anfotericina B. Los medios líquidos utilizados son Brucella, Muller-Hinton, o infusión cerebro-corazón suplementado con 2 al 10% de suero de ternero o 0.2 al 1.0% de  $\beta$ -ciclodextrinas, junto con el suplemento de Dent o Skirrow (Dunn et al., 1997; García et al., 2003).

El aislamiento de *H. pylori* a partir de biopsias gástricas es dificultoso y no siempre se logra con éxito. Los cultivos pueden revisarse a partir del 3 hasta el 14 día. Las colonias de *H. pylori* son pequeñas, de aproximadamente 1 mm, translúcidas y lisas. Los subcultivos de los aislamientos de *H. pylori* tienden a adaptarse a las condiciones de crecimiento del laboratorio, subsecuentemente, puede lograrse el crecimiento en los siguientes 1 a 3 días de incubación. Cabe señalar que una vez los cultivos alcanzan la fase estacionaria, la tasa de crecimiento declina rápidamente, acompañada por el cambio morfológico a la forma cocoide. La prolongación del cultivo no aumenta significativamente el tamaño de la colonia (Kusters et al., 2006).

#### **4.8 Virulencia**

Se ha prestado gran interés a los mecanismos por los que este microorganismo rompe el equilibrio de las defensas de la mucosa. Entre las distintas propuestas se encuentran las siguientes:

*H. pylori* secreta una ureasa que genera amoníaco libre y una proteasa, que degrada las glucoproteínas del moco gástrico. Además, estos microorganismos elaboran también

fosfolipasas, que dañan a las células epiteliales superficiales y podrían liberar leucotrienos y eicosanoides bioactivos. Los neutrófilos atraídos por *H. pylori* liberan mieloperoxidasa, que produce ácido hipocloroso; éste en presencia de amoníaco, genera monocloramina. Tanto uno como otro puede destruir las células de los mamíferos. Tanto las células epiteliales de la mucosa como las endoteliales de la lámina propia son objetivos primarios de las acciones destructivas de la colonización por *H. pylori*. El factor de activación plaquetario de las bacterias favorece la oclusión trombótica de los capilares superficiales. Además de la elaboración de enzimas, los antígenos de *H. pylori* (entre ellos los lipopolisacáridos) atraen a las células inflamatorias hacia la mucosa. La inflamación crónica de ésta facilita la acción del ácido. Por último, parece que la lesión de la mucosa permite la salida de los elementos nutritivos del tejido hacia el microambiente superficial, manteniendo así el crecimiento de los bacilos (Suberman & Michetti, 2002; Ernst, 1999; Hadad, Diaz, Ramos, Ancajima, & Chero, 2004).

#### **4.9 Patogenicidad**

Los mecanismos implicados en la patogenicidad producida por *H. pylori* son: la producción de toxinas tales como citotoxinas, ureasas, mucinasa, lipasa, lipolisacaridasa, hemolisinas y fosfolipasa A, la acción de mediadores de inflamación (Kusters et al., 2006; Olivares & Gisbert, 2006; Fox, 1995).

Después de la ingestión, *H. pylori* coloniza predominantemente el antro gástrico, facilitada por los factores de virulencia y de patogenicidad antes mencionados; una vez allí, la infección persiste desencadenando y manteniendo una marcada respuesta inflamatoria de la mucosa por macrófagos y polimorfonucleares, así como linfocitos T y B. Paradójicamente esta reacción inmunológica/inflamatoria notable no elimina la infección y más bien ésta genera el desarrollo de metaplasia intestinal y mutaciones que pueden llevar al cáncer gástrico (Olivares & Gisbert, 2006; Fox, 1995).

#### **4.10 Transmisión**

Los mecanismos exactos por los cuales se adquiere *H. pylori* son en gran medida desconocidos. Tiene una afinidad casi exclusiva por el ser humano y de algunos primates no humanos. *H. pylori* aunque en raras ocasiones ha sido aislado de animales domésticos, por lo

que la presencia de mascotas puede ser un factor de riesgo para la infección (Bermejo, Boixeda, Gisbert, Defarges, De Argila, Sanz, & García, 2000).

Las infecciones por *H. pylori* son transmitidas de humano a humano, ya sea a través de una exposición oral–oral o fecal–oral o ambas. El microorganismo ha sido detectado en saliva, vómitos, reflujo gástrico y heces. En general, la adquisición se produce en la infancia, probablemente dentro de los miembros de la familia. La premasticación de alimentos por los padres que se observa en algunas culturas, es un claro factor de riesgo para la transmisión de *H. pylori*. El hacinamiento durante la infancia y fuera de la familia se asocia positivamente a la infección con *H. pylori*, mientras que en adultos el hacinamiento parece menos importante. Varios estudios han informado la presencia de ADN de *H. pylori* en fuentes de agua, reflejando probablemente la contaminación ambiental. Otras posibles fuentes de infección son los alimentos contaminados ya que esta bacteria puede sobrevivir brevemente en la comida refrigerada pero la transmisión directa de persona a persona sigue siendo la vía de transmisión más probable (Megraud, 1995; Pueyo, Huarte, & Jiménez, 1998).

#### **4.11 Métodos de diagnóstico**

Para detectar la infección por *H. pylori* se cuenta con varios métodos diagnósticos, clasificados en directos e indirectos. Los métodos directos incluyen el test de ureasa, cultivo, tinción, reacción en cadena de polimerasa y tipificación molecular de la bacteria; muestras obtenidas por técnicas invasivas como la endoscopia para obtener la biopsia gástrica. Aunado a esto, presentan altos costos, dificultades técnicas y requieren personal entrenado y equipos sofisticados, lo que limita su uso (Zuñiga, 1992; Megraud, 1995). Los métodos indirectos se basan en la detección de productos derivados de la actividad metabólica bacteriana (prueba del aliento) y de la respuesta del huésped a la infección, determinada por la presencia de anticuerpos específicos en suero, saliva, jugo gástrico y heces. La histología y el cultivo son de confirmación para la infección por *H. pylori* (Zuñiga, 1992; García et al., 2003; Brooks et al., 2002).

El método considerado de referencia para el diagnóstico de la infección es el método directo invasivo (cultivo y tinción) y el más rápido para confirmar el diagnóstico es la prueba rápida de la urea-rojo fenol a partir de biopsia. La estrategia diagnóstica a seguir es combinar inicialmente dos pruebas invasivas aprovechando la fibrogastrosocopia. Si se trata de la primera



manifestación de los síntomas de la enfermedad, la endoscopia digestiva debe practicarse para confirmar la existencia de úlcera activa y puede aprovecharse para practicar biopsias gástricas que mediante el cultivo, estudio histológico o prueba rápido de la ureasa, permitirán diagnosticar la existencia de infección. Por el contrario, en pacientes ulcerosos crónicos, con diagnóstico endoscópico en brotes previos, la práctica de la prueba del aliento con urea marcada o una prueba serológica, proporcionará el diagnóstico con una buena sensibilidad y especificidad. La elección de la prueba diagnóstica a utilizar dependerá de la información clínica, la disponibilidad y el costo de las pruebas complementarias (Dunn et al., 1997; Cohen & Laine, 1997; Abdalla, Marco, Perez, Piqué, Bordas, Jimenez de Anta, & Teres, 1989).

#### 4.11.1 Métodos invasivos

##### 4.11.1.1 Cultivo

El cultivo de biopsia gástrica es considerado el método de referencia (patrón de oro) para el diagnóstico de la infección por *H. pylori* (Zuñiga, 1992). Este método tiene ventajas y desventajas como cualquier otro método; sus dos principales ventajas son: permite llevar a cabo pruebas de sensibilidad antibiótica, además de que las cepas obtenidas por cultivo pueden ser caracterizadas en detalle. Entre sus desventajas cabe destacar que es un método lento de diagnóstico que puede demorarse varios días, la sensibilidad de la técnica depende de la experiencia del laboratorio en su cultivo y de que la toma o el transporte se realicen en condiciones adecuadas. Unido a ello, el aislamiento de *H. pylori* tiene un costo relativamente alto por las condiciones de crecimiento que requiere (Zuñiga, 1992; Marshall & Warren, 1983).

Las colonias de *H. pylori* son translúcidas, no pigmentadas y miden de 1 a 2 mm de diámetro, algunas cepas pueden presentar una ligera hemólisis beta. Su crecimiento óptimo se alcanza en aproximadamente 5 días en una atmósfera microaerofílica y a 37°C (Luqueño, Perea, & López, 1994). Para identificar *H. pylori* se deben considerar los siguientes aspectos:

- Verificar la morfología de la colonia y bacteriana (tinción de Gram).
- Verificar las características bioquímicas: oxidasa (positivo), catalasa (positivo), ureasa (positivo) (Goodwing & Armstrong, 1990; Dubois, 1995).

#### 4.11.1.2 Histología

El estudio histológico de la biopsia permite conocer las lesiones de la mucosa además de detectar la infección por *H. pylori*. La confirmación histológica de la inflamación de la mucosa es fundamental para el diagnóstico de la gastritis y su clasificación. Además permite detectar zonas de metaplasia intestinal. La técnica de tinción a partir de biopsia gástrica es una técnica fácil, rápida, de muy bajo costo y alta utilidad en el estudio de la infección por el microorganismo. Se han utilizado diferentes tinciones como la de Gram, Gram modificada o bien el examen en fresco utilizando un microscopio de contraste de fases. Se puede utilizar otras tinciones entre las que destacan las tinciones de Giemsa, carbol fushina y su modificación la tinción triple de carbol fucsina/azul de alción/hematoxilina-eosina y tinciones de inmunohistoquímica (Cohen & Laine, 1997; Abdalla et al., 1989; Genta & Graham, 1994).

Se han hecho modificaciones sobre las tinciones previamente descritas, como la tinción de Gram modificada, utilizando como contra colorante carbol fucsina y dejándola actuar durante un tiempo superior al habitual (2-5 minutos) (Cohen & Laine, 1997).

La visión microscópica tiene una sensibilidad y especificidad menor que la del cultivo y para obtener buenos resultados es necesario realizar una impronta densa en el portaobjetos, lo cual se consigue impregnando intensamente la biopsia a lo largo del mismo, o bien colocando sobre el portaobjetos 2-3 gotas de la biopsia homogeneizada. Para conseguir una buena sensibilidad se recomienda partir de dos biopsias, una de antro y otra de cuerpo (Cohen & Laine, 1997).

#### 4.11.1.3 Prueba rápida de urea en biopsia

*H. pylori* presenta una gran actividad de ureasa, característica que ha dado lugar al desarrollo de métodos diagnósticos basados en dicha actividad enzimática para la detección indirecta del microorganismo en biopsias gástricas. Uno de los métodos más conocidos es el CLO test que consiste en un agar que contiene urea y como indicador de pH rojo de fenol. En presencia de la enzima la urea es hidrolizada lo cual provoca un cambio de pH evidenciado por el viraje de color del indicador, interpretándose antes de las 24 horas. La prueba posee una especificidad y sensibilidad entre 90-95% (Dunn et al., 1997; Cohen & Laine, 1997; Morio, Rioux Ledercq, Pagenault, Corbinais, Ramee, Goseelin, & François Bretagne, 2004).

#### 4.11.1.4 Tipificación molecular de *H. pylori*

El diagnóstico molecular y la tipificación de *H. pylori* pueden darnos información invaluable para estudios epidemiológicos y clínicos, así como para determinar la estructura genética de las poblaciones y entender la evolución del microorganismo. Técnicas sensibles y eficientes que nos permitan diferenciar los aislamientos clínicos son necesarias, para tales objetivos se han desarrollado técnicas moleculares basadas en el alto grado de variabilidad genómica entre las cepas de *H. pylori* (Murray, Baron, Jorgensen, Pfaller, & Tenover, 2003).

##### 4.11.1.4.1 Reacción en cadena de la Polimerasa-Polimorfismo en la longitud de fragmentos de restricción (PCR-RFLP)

Los fragmentos de ADN son primero amplificados usando PCR como iniciadores generados a partir de genes conocidos, seguido por digestiones con enzimas de restricción. Las cepas de *H. pylori* se pueden diferenciar con esta técnica utilizando los genes de las ureasas incluyendo a *ureA*, *ureB*, *ureC* y *ureD* (Murray et al., 2003).

#### 4.11.2 No invasivos

Las pruebas diagnósticas no invasivas para *H. pylori* son métodos disponibles en la primera atención y estas comprenden; la detección de anticuerpos anti-*H. pylori* en el suero del paciente (serología) y la prueba de urea en el aliento (Forné, 2002).

##### 4.11.2.1 Serología

Los métodos serológicos se basan en la detección de anticuerpos específicos frente a *H. pylori* en suero, saliva u orina. La serología es útil en el estudio de poblaciones seleccionadas, sin embargo, su principal problema radica en que no puede diferenciar la infección activa de la exposición previa al microorganismo. El rendimiento de las pruebas serológicas puede verse afectado por el método diagnóstico considerado como referencia (estándar de oro), la clase de anticuerpo, el tipo de antígeno y la técnica serológica utilizada, así como por la población estudiada (Dunn et al., 1997; Atherton, 1997).

Las pruebas serológicas son las más utilizadas en este momento por ser sencillas. La detección de anticuerpos específicos por ELISA permite un monitoreo serológico en un corto tiempo usando un método simple, altamente específico, sin recurrir a técnicas invasivas. Desde el punto de vista diagnóstico, niveles altos de anticuerpos específicos deberán ser interpretados

como un indicador de gastritis asintomática tipo B, de hecho títulos elevados de IgM e IgA indican infección inicial o activa por *H. pylori*, mientras que niveles elevados de IgG pueden indicar infección activa o resuelta (Dunn et al., 1997; Atherton, 1997).

Mientras los estudios serológicos son de indudable valor para conocer la epidemiología de este patógeno, su valor en el diagnóstico debe interpretarse con cautela ya que existe una elevada seroprevalencia en poblaciones sanas, por lo que en nuestro medio, los resultados positivos para adultos pueden ser no concluyentes (Dunn et al., 1997; Atherton, 1997).

Una importante ventaja de los métodos serológicos, es que sus resultados no se ven afectados por el tratamiento reciente con antibióticos o inhibidores de la bomba de protones, que pueden inducir falsos negativos con otros métodos (Dunn et al., 1997; Atherton, 1997).

#### 4.11.2.2 Prueba del aliento

Es un método indirecto que se basa en la presencia de la ureasa de *H. pylori*. El paciente ingiere una solución con urea marcada isotópicamente con  $^{13}\text{C}$  (no radioactivo) o  $^{14}\text{C}$  (radioactivo) y se recoge el aliento 30 minutos después de la ingestión de la solución de urea; previamente se habrá recogido otra muestra de aliento basal. Si *H. pylori* se encuentra en el estómago, éste hidroliza la urea gracias a su ureasa y se libera  $\text{CO}_2$  marcado ( $^{13}\text{C}$  o  $^{14}\text{C}$ ) que se absorbe, difunde a sangre y transporta a los pulmones y es liberado con el aliento (Atherton, 1997).

Los resultados se miden como la relación de  $^{13}\text{C}$  o  $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$  de la prueba con respecto al estándar. Tanto el sistema radiactivo como el no radiactivo presentan similares porcentajes de sensibilidad aunque generalmente se prefiere el no radiactivo si se dispone del espectrómetro de masas (Atherton, 1997).

Estas pruebas tienen una excelente sensibilidad y especificidad para el diagnóstico y seguimiento del tratamiento antimicrobiano con la ventaja de ser una prueba global que valora la presencia de *H. pylori* en el estómago y no se ve sometido al sesgo que pueden tener otras pruebas por la distribución parcheada de la bacteria en el estómago. También tienen otras ventajas, como el ser una prueba no invasiva y no depender de las condiciones de transporte, ni de la experiencia del personal que la trabaja. La prueba del aliento indica una infección actual por la bacteria ya que en una infección pasada el resultado sería negativo. Por esto es

útil realizarlo como seguimiento en el tratamiento, de 4 a 6 semanas después de finalizado (Atherton, 1997; Koneman, Winn, Allen, Janda, Procop, Schreckenberger, & Woods, 1979).

#### 4.11.2.3 Entero-test o prueba del hilo

El Entero-test es un dispositivo para toma de muestra gástrica no invasivo conformado por un hilo de nylon elevadamente absorbente en el interior de una cápsula de gelatina. La cápsula es ingerida dejando un extremo del hilo adherido a la mejilla del paciente, luego es degradada por el jugo gástrico y por movimientos peristálticos es llevada hacia el duodeno, lugar donde se lleva a cabo la absorción de secreciones gástricas, finalmente este hilo es retirado luego de 4 a 6 horas. El hilo obtenido del procedimiento es fraccionado para diversas pruebas entre las que se encuentran la prueba rápida de urea y cultivo microbiológico (Koneman et al., 1979; Samuels, Windwor, Ho, Goodwin, & Marshall, 2000).

Es una prueba sencilla, sensible y barata que permite el estudio de las posibles resistencias del microorganismo a los diferentes medicamentos que se emplean en su tratamiento. Tiene el inconveniente de que hay niños, sobre todo los pequeños, que tienen dificultades para tragar la capsula. La sensibilidad y especificidad es comparable con la obtenida en la prueba rápida de urea (Atherton, 1997).

### 4.12 Epidemiología

*H. pylori* es portado por más de la mitad de la población humana y es un importante patógeno. Es la mayor causa de úlceras pépticas, contribuye a enfermedades desde la malnutrición infantil hasta cáncer gástrico, y es un agente causal conocido que contribuye al establecimiento de otros patógenos transportados por alimentos y agua (Perez et al., 2004).

Debido a la diferencia en la prevalencia y las dificultades para determinar la incidencia según la clínica, ya que los síntomas de infección aguda pasan desapercibidos, los investigadores han sometido a cohortes de la población a pruebas de diagnóstico para *H. pylori* de forma repetitiva, en un seguimiento de varios años de evolución. La seroconversión anual en adultos en los países en vías de desarrollo fue 1.9%, en cambio, en países industrializados la incidencia estimada fue de 0.3% - 1.0% por año (Perez et al., 2004).

El principio activo de la erradicación de *H. pylori* de la población depende de la mejora de la higiene y la condiciones de vivienda que dan lugar a una menor tasa de infección en los niños, que se refleja en la distribución por edades (Perez et al., 2004).

En Guatemala la prevalencia de la infección se ve influenciada por la condición socioeconómica de los individuos mientras su prevalencia alcanza hasta un 86.3% en sujetos adultos dispépticos de condición socioeconómica baja, y 63.6% en los individuos de condición socioeconómica alta (Schneider et al., 1994).

#### **4.13 Tratamiento**

Se recomienda dar tratamiento a pacientes con úlcera duodenal y aquellos relacionados con cáncer, especialmente cuando involucra infiltración linfocitaria de la mucosa y cuando exista una relación familiar directa con cáncer gástrico (Qasim & Maroain, 2002). *H. pylori* es una bacteria susceptible *in vitro* a la mayoría de los antibióticos; lo que ha dificultado la elaboración de medios de cultivo selectivos para su posible aislamiento de heces o muestras ambientales (Tee, Fairley, Samllwood, & Dwyer, 1991). En contraposición, es altamente resistente a los antimicrobianos *in vivo*, posiblemente debido a su localización extracelular en tejido gástrico, pues su nicho ecológico presenta un pH usualmente menor de 4, lo que constituye un problema para el tratamiento antimicrobiano (Unge, 1998).

Los hallazgos anteriores condujeron a que desde los primeros años de la historia de *Helicobacter* se aplicaran esquemas de tratamiento que incluyen drogas para inhibir o bloquear la síntesis de ácido en el estómago, para una mayor efectividad de los antibióticos (Unge, 1998). Esos esquemas de tratamiento se han basado en una terapia múltiple que incluye antibióticos como metronidazol, eritromicina, claritromicina y amoxicilina, entre otros; junto con drogas que inhiben o bloquean la síntesis de ácido clorhídrico y sales de bismuto (Blazer, 1992). El efecto de las sales de bismuto sobre *Helicobacter*; es bacteriostático: una acción de barrera física contra el ácido clorhídrico, pues al pH gástrico precipita llenando los cráteres de las úlceras y finalmente, estimulan la síntesis del factor regenerador de epitelios; no obstante, causan estreñimiento, ennegrecimiento de las heces y molestias como la permanencia de un sabor metálico en la boca, lo que desanima a los pacientes a completar los esquemas de tratamiento (Hernández & Rivera, 2003).

La mayoría de los esquemas de tratamiento utilizan tres o cuatro medicamentos; los esquemas triples incluyen una sal de bismuto, un inhibidor de la producción de ácido y uno o dos antibióticos; en tanto, los esquemas cuádruples adicionan un bloqueador de la producción de ácido. Los primeros proveen una cura que oscila entre el 70 y el 80% y en algunas ocasiones puede ser tan bajo como el 20% (Unge, 1998; Mégraud & Marshall, 2000; Chassay & Durancinsky, 2002). Entre las causas para ese bajo rendimiento se incluyen la resistencia de la bacteria a algunos antibióticos, especialmente contra el metronidazol y más recientemente contra claritromicina; además, se citan las molestias secundarias al tratamiento que enfrentan los pacientes lo que hace que lo abandonen; entre esas molestias se cita la permanencia de un sabor anormal, diarrea y náuseas (Drouin, 1999; Kato et al., 2002; Meurer & Bower, 2002). Ante los fracasos en el tratamiento se propusieron los esquemas cuádruples, que se consideran como un tratamiento de rescate, cuando han fallado los esquemas menos agresivos (Goh, 2002). Entre las primeras terapias triples y cuádruples más efectivas se incluye omeprazole o lansoprazole más metronidazole o amoxicilina, más claritromicina o bien, ranitidina citrato de bismuto más claritromicina o metronidazole, más tetraciclina o amoxicilina. En los esquemas cuádruples se indica subsalicilato de bismuto más metronidazole y tetraciclina junto con un antagonista del receptor Histamina H<sub>2</sub> (H<sub>2</sub>RA) (Meurer & Bower, 2002; Hernández & Rivera, 2003).

Entre las terapias más recientes se incluyen otros antibióticos como furazolidona, azitromicina, nitazoxanida y cetolidos. Finalmente se ha lanzado al mercado comprimidos que contienen bismuto, tetraciclina y metronidazol, el primero contiene el bismuto como subcitrato en tanto el segundo como subsalicilato; lo cual facilita el tratamiento (Drouin, 1999; DeBoir, 2001; Graham, Rakel, & Fendrick, 1999). Por otra parte, se ha evaluado la posibilidad de otros tratamientos menos ortodoxos como el empleo de anticuerpos vía oral, lo cual se apoya en datos epidemiológicos que muestran una baja prevalencia de la bacteria en niños amamantados al seno materno (Okuda & Miyashiro, 2001). También, el empleo de *Lactobacillus* como probiótico abre nuevas expectativas; pues al menos en modelos murinos previene la infección (Hernández & Rivera, 2003; Kabir, Aiba, Takagi, Kamiya, Miwa, & Koga, 1997).

#### **4.14 Patologías causadas por *H. pylori***

##### 4.14.1 Gastritis crónica

La gastritis crónica es el resultado de la inflamación crónica de la mucosa gástrica con la aparición de la respuesta humoral contra *H. pylori*. En la mayoría de las personas progresa lentamente o permanece virtualmente inactiva (Marshall & Warren, 1983; Rauws et al., 1998). Dependiendo de la región del estómago infectada, la gastritis crónica puede clasificarse en:

##### 4.14.1.1 Gastritis crónica tipo A:

La infección está localizada en el cuerpo del estómago, la cual se encuentra presente en el 90% de los pacientes con anemia perniciosa (Leung, Hui, Chan, & Thomas, 1992). La mucosa del cuerpo y el fondo gástrico presenta una marcada atrofia glandular y epitelial, la secreción de ácido clorhídrico, pepsinógeno y factor intrínseco están marcadamente disminuidos o ausentes y los niveles de gastrina en suero están elevados. En estos pacientes se encuentran anticuerpos anti-mucosa gástrica, lo cual revela el carácter autoinmune de la enfermedad. *H. pylori* no es encontrado comúnmente en este tipo de gastritis (Czinn, Dahms, Jacobs, Kaplan, & Rothstein, 1986; Genta, Hammer, & Graham, 1993).

##### 4.14.1.2 Gastritis crónica tipo B:

La infección está localizada en el antro del estómago, encontrándose reducidas las células G y los niveles de gastrina están dentro del rango normal. Los anticuerpos anti-mucosa gástrica están ausentes en el suero de estos pacientes (Coghlan, Humphries, Dooley, Keane, Gilligan, Mckenna, ... O'Morain, 1987). El principal factor de inicio de la gastritis tipo B es la infección por *H. pylori* y la progresión de ésta se debe a la persistencia de la bacteria (Cordon, 2000). En la mayoría de los casos, la gastritis es asintomática y probablemente sin consecuencias visibles a largo plazo. El desarrollo de úlceras duodenales está muy relacionado con este tipo de gastritis (Cordon, 2000).

##### 4.14.1.3 Gastritis crónica tipo AB:

La infección está localizada en ambas regiones y los pacientes que la padecen presentan un mayor riesgo de desarrollar cáncer gástrico (Cordon, 2000).



La prevalencia de gastritis crónica en la población general está directamente relacionada con la edad ya que se ha establecido que aumenta en las personas adultas y tiende a ser más baja en las poblaciones infantiles (Genta et al., 1993).

#### 4.14.2 Úlcera gástrica

Resultado de la ruptura de la barrera de la mucosa gástrica, como resultado de la actividad de la ureasa producida por *H. pylori*, dando inicio al proceso ulceroso (Coghlan et al., 1987; Cornelius & Cohen, 1998). Actualmente se sabe que existen dos grupos de pacientes con úlceras gástricas: Los pacientes que padecen gastritis crónica asociada a *H. pylori* y los que no están infectados por esta bacteria, pero que toman drogas antiinflamatoria no esteroideas, las cuales también son capaces de romper la mucosa por diferentes mecanismos (Ormand, Talley, Shorter, Conley, Carpenter, Fich, ... Phillips, 1991).

#### 4.14.3 Úlcera duodenal:

Esta afección está asociada en más del 90% con la presencia de *H. pylori*, siendo en este grupo de pacientes donde se observa una mayor frecuencia de recaídas después del tratamiento. En ausencia de la bacteria se deben investigar otras posibles causas como la Enfermedad de Crohn y el Síndrome de Zollinger-Ellison. En este grupo de pacientes, el porcentaje de recaídas es menor del 5% (Blazer, 1992; Ricci et al., 1996).

Debido a la evidencia obtenida de varios estudio, se afirma que la presencia de *H. pylori* induce el desarrollo de esta enfermedad, sin embargo aún no se ha dilucidado cual es el mecanismo por medio del cual la ocasiona. Se han postulado dos teorías para explicar este mecanismo de acción:

La duodenitis crónica causada por la colonización microbiana, se asocia a la persistencia de la úlcera, siendo la persistencia de la bacteria responsable de debilitar la mucosa, lo cual favorece la formación de la úlcera por la acción del ácido.

La producción de una hipergastrinemia e hiperpepsingenemia tipo I inducida por *H. pylori* que favorecerían la hipersecreción de ácido y la aparición de la úlcera (Kinoshita, Kawanami, Kishi, Nakata, Seino, & Chiba, 1997).

#### 4.14.4 Cáncer gástrico

Estudios realizados en regiones del mundo con alta incidencia de cáncer arrojan datos epidemiológicos que sugieren que la incidencia de cáncer gástrico varía considerablemente de una región geográfica a otra y de una generación a otra (Correa & Haenszel, 1982). En general la mayor prevalencia de cáncer gástrico ocurre en los países en vías de desarrollo (Parkin, Laara, & Muir, 1984; Muir, Waterhouse, Mack, Powell, & Whelan, 1987).

La mayoría de los tumores gástricos son malignos y de éstos el adenocarcinoma es el más frecuente (95%), seguido por los linfomas (4%) y el leiomiomasarcoma (1%). Las formas benignas de cáncer de estómago representan menos del 2% de los tumores observados (Rodes & Guardia, 1997).

### 4.15 Tratamiento con plantas medicinales

#### 4.15.1 Estudios de plantas contra *Helicobacter pylori*

Por generaciones se han utilizado plantas para el tratamiento de afecciones gastrointestinales, muchas de las cuales se han estudiado para encontrar agentes derivados que muestren actividad contra este tipo de afecciones (Cowan, 1999; Castillo & Romero, 2007). Sin embargo, fue hasta la década de los años 80 que se aisló *H. pylori* y se demostró su asociación a patologías gástricas (Zuñiga, 1992; McKinlay et al., 1990). Por lo tanto, a partir de la década de los 90 empiezan a aparecer estudios sobre búsqueda de actividad anti-*H. pylori* en plantas, incrementando la frecuencia de este tipo de estudios a principios del siglo actual (Castillo & Romero, 2007).

Existe una gran variedad de estudios con diferentes plantas con el fin de encontrar la forma de erradicar la colonización de *H. pylori* entre las investigaciones de plantas regionales destacan las siguientes:

##### 4.15.1.1 Estudios en América

En el 2002 se publicó un estudio en el que se realizaron varios bioensayos para obtener información de la actividad farmacológica de 48 plantas medicinales de origen mexicano. Parte de estas plantas fueron investigadas contra *H. pylori*, encontrándose que los extractos apolares y polares de *Piscidia piscipula* L., mostraron una alta actividad con valores de CIM

de 0.7 y 3 µg/mL, respectivamente, los extractos no polares de *Casimiroa tetrameria* Mill y *Jatropha gaumeri* L., (CIM 3 y 5 µg/mL respectivamente) también fueron activos contra este microorganismo. Otras plantas que mostraron actividad fueron *Dorstenia contrajerva* L., y extractos polares de *Psidium sartorianum* Nied, *Microgramma nitida* Phill, *Chrysophyllum mexicanum* Brandege (Ankli, Heinrich, Bauerfeind, Brun, Schmid, Weiss, ... Sticher, 2002).

Un estudio mexicano evaluó la actividad *in vitro* de 53 plantas usadas tradicionalmente en este lugar para tratar enfermedades gastrointestinales. El ensayo se realizó por dilución en agar para los extractos acuosos y dilución en caldo para los extractos metanólicos. Los extractos acuosos que mostraron mayor actividad fueron los de *Artemisia ludoviciana* Willd subsp. *mexicana*, *Cuphea aequipetala* Cav., *Ludwigia repens* J. R. Forst, y *Mentha piperita* L., con una CIM entre 125 a <250 µg/mL, y de los extractos metanólicos los que mostraron mayor actividad fueron *Persea americana* Mill, *Annona cherimola* Mill, *Guaiacum coulteri* A., y *Moussonia deppeana* (Schltdl. & Cham.) Klotzsch ex Hanst, los cuales obtuvieron como resultado de CIM valores entre el rango de <7.5 a 15.6 µg/mL (Castillo-Juarez, González, Aguilar, Martínez, Linares, Bye, & Romero, 2009).

Las plantas estudiadas correspondientes a 49 géneros que pertenecen a 29 familias son: Anacardiaceae: *Amphiterygium adstringens* (Schltdl.) Standl., *Cyrtocarpa procera* Kunth.; Annonaceae: *A. cherimola*; Apiaceae: *Eryngium carlinae* F. Delaroche; Asteraceae: *Haplopappus spinulosus* (Pursh) DC., *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip., *Machaeranthera* cf. *parviflora* A. Gray., *Machaeranthera tanacetifolia* (Kunth) Nees., *Machaeranthera riparia* (Kunth) A.G. Jones., *Tagetes lucida* Cav., *Eupatorium petiolare* Moc. ex DC., *Gnaphalium canescens* DC., *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A.G., *Grindelia inuloides* Willd., *Heterotheca inuloides* Cass., *Artemisia ludoviciana* Nutt. subsp. *mexicana* (Willd. ex Spreng.) Fernald; Brassicaceae: *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik.; Bignoniaceae: *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth; Bromeliaceae: *Tillandsia usneoides* (L.) L.; Caryophyllaceae: *Dianthus caryophyllus* L.; Chenopodiaceae: *Teloxys ambrosioides* (L.) W.A. Weber., *Teloxys graveoles* (Willd.) W.A. Weber; Equisetaceae: *Equisetum myriochetum* Schlecht. & Cham; Fagaceae: *Quercus rugosa* Née; Gesneriaceae: *M. deppeana*; Hippocrateaceae: *Hemiangium excelsum* (Kunth) A.C. Sm.; Lamiaceae: *Poliomintha longiflora* A. Gray, *Ocimum basilicum* L., *Marrubium vulgare* L., *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng., *Heperozygis marifolia* Epling., *Monarda*

*austromontana* Epling., *M. piperita*; Lauraceae: *P. americana*; Lythraceae: *C. aequipetala*; Loganiaceae: *Buddleja perfoliata* Kunth; Malvaceae: *Hibiscus sabdariffa* L., *Anoda cristata* (L.) Schltldl; Nyctaginaceae: *Mirabilis jalapa* L.; Oleaceae: *Olea europea* L.; Onagraceae: *L. repens*; Plantaginaceae: *Plantago major* L.; Poaceae: *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.; Polypodiaceae: *Campyloneurum amphostenon* (Kunze ex Klotzsch) Fée.; Portulacaceae: *Calandrinia micrantha* Schltldl; Rutaceae: *Ruta chalepensis* L.; Taxodiaceae: *Taxodium mucronatum* Ten.; Verbenaceae: *Lippia berlandieri* Schauer., *Verbena carolina* L., *Priva grandiflora* (Ortega) Moldenke.; Zygophyllaceae: *G. coulteri*. Gray., *Larrea tridentata* (Sessé & Moc. ex DC.) Coville (Castillo-Juarez et al., 2009).

Otros estudios han logrado encontrar nuevos compuestos con actividad anti-bacteriana, como lo es el ácido 3-farnesil-2-hidroxibenzoico, que fue aislado de las hojas de *Piper multiplinervium* C. DC., mostrando actividad anti-*H. pylori* y una actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium smegmatis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. La actividad anti-*H. pylori* encontrada en los extractos metanólicos puede que se encuentre justificada por la utilización continua que hacen los etnomédicos kunas indígenas de Panamá para tratar dolores gastrointestinales con dicha planta (Ruegg, Calderón, Queiroz, Solís, Marston, Rivas, ... Gupta, 2006).

En Brasil se le han atribuido propiedades inhibitorias y gastroprotectoras a los extractos de la corteza de *Calophyllum brasiliense* Britton, por lo cual ha sido nombrada como medicina popular para el tratamiento de úlcera crónica. Dichos extractos han sido estudiados en diversidad de solventes como los hidroetanólicos y los diclorometanólicos de la corteza y del tallo contra *H. pylori in vitro* e *in vivo*; en donde los extractos diclorometanólicos parecen ser los más activos y potentes *in vitro* frente a *H. pylori*, sin embargo ensayos *in vivo* con ratones y extractos hidroetanólicos muestran un marcado retraso en la cicatrización de la úlcera (Souza, Beserra, Martins, Real, Santos, Rao, ... Martins, 2009).

En el 2005 en Estados Unidos se utilizaron 24 plantas de uso tradicional para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales contra 15 cepas de *H. pylori*. Entre los extractos más activos se encontraron: *Myristica fragrans* Houtt., con una CIM de 12.5 µg/mL; *Zingiber officinale* Roscoe y *Rosmarinus officinalis* L., con una CIM de 25 µg/mL, *Achillea millefolium* L.,

*Foeniculum vulgare* Mill. var. *dulce* DC, *Passiflora incarnata* L., *Origanum majorana* L., y *Curcuma longa* L., con una CIM de 50 µg/mL, *Carum carvi* L., *Elettaria cardamomum* Maton, *Gentiana lutea* L., *Juniper communis* L., *Lavandula angustifolia* Mill., *Melissa officinalis* L., *Mentha piperita* L., y *Pimpinella anisum* L., con una CIM de 100 µg/mL, *Matricaria recutita* L., y *Ginkgo biloba* L., con una CIM > 100 µg/mL (Mahady, Pendland, Stoa, Hamill, Fabricant, Dietz, & Chadwick, 2005).

#### 4.15.1.2 Estudios en Europa

En un estudio realizado con aproximadamente 70 extractos de plantas griegas usadas tradicionalmente en la medicina popular contra enfermedades gástricas, úlcera péptica, y otras afecciones gástricas provocadas por *H. pylori* se demostró que *Anthemis melanolepis* L., *Cerastium candidissimum* L., *Chamomilla recutita* L., *Conyza albida* L., *Dittrichia viscosa* L., *Origanum vulgare* L., y *Stachys alopecuros* L., demostraron ser activos contra una cepa estándar y 15 aislados clínicos de *H. pylori* (Stamatis, Kyriazopoulos, Golegou, Basayiannis, Skaltsas, & Skaltsa, 2003; Nostro, Cellini, Di Bartolomeo, Di Campli, Grande, Cannatelli, ... Alonzo, 2005)

En Italia Nostro y colaboradores evaluaron la actividad de 17 extractos etanólicos y acuosos de: *Cichorium intybus* L., *Cinnamomum zeylanicum* Blume, *Coriandrum sativum* L., *Cuminum cyminum* L., *Cynara scolymus* L., *Electaria cardamomum* Mat., *F. vulgare*, *Juniperus communis* L., *Mentha piperita* L., *O. vulgare* L., *Prunus avium* L., *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* L., *Thymus serpyllum* L., *Tilia platyphyllos* L., *Zingiber officinalis* contra 12 cepas de *H. pylori*, siendo los extractos etanólicos más activos que los acuosos. Para los extractos acuosos *C. scolymus* y *O. vulgare* mostraron un mayor efecto inhibitorio, y para los extractos etanólicos los más activos fueron *C. scolymus* y *Z. officinalis* (con un diámetro de inhibición de 25 mm). Se llegó a la determinación de que *C. cyminum* y propóleo expresaron un MIC<sub>90</sub> de 0.075 µg/mL (Nostro et al., 2005). Posteriormente con los hallazgos de este estudio se evaluó el efecto de la combinación de los extractos etanólicos de propóleos y *Z. officinalis* con claritromicina sobre 25 cepas de *H. pylori*, encontrando que la combinación mejora la inhibición por una actividad de sinergia o como un aditivo (Nostro, Cellini, Di Bartolomeo, Cannatelli, Di Campli, Propocio, ... Alonzo, 2006).

Igualmente en Turquía se realizó un estudio de 7 plantas nativas de uso culinario tradicional que además se utilizan para el tratamiento de úlceras pépticas. Estas son: flores de *Cistus laurifolius* L., y *Spartium junceum* L., conos de *Cedrus libani* A. Rich., hojas y flores de *Centaurea solstitialis* ssp. *solstitialis* L., frutos de *Momordica charantia* Descourt., parte aérea de *Sambucus ebulus* L., planta con flores de *Hypericum perforatum* L. Los resultados mostraron que todas excepto un extracto de estas plantas mostraron actividad contra *H. pylori* con valores de CIM entre 1.95 y 250 µg/mL, la única especie inactiva fue *S. junceum*. Cabe notar que entre las plantas activas las propiedades inhibitorias de *C. laurifolius* parecen prominentes (Yesilada, Gurbuz, & Shibata, 1999).

#### 4.15.1.3 Estudios en Asia

Otro estudio demostró que la actividad bactericida de treinta plantas de Pakistán, incluidas *Alpinia galangal* L., *Anethum graveolens* L., *Artemisia absinthium* L., *Commiphora mukul* Arn., *C. cyminum* Linn., *Curcuma amada* L., *Curcuma caesia* L., *Cydonia vulgaris* Miller., *Elettaria cardamomum* Maton, *Glycyrrhiza glabra* L., *Ficus religiosa* L., *F. vulgare* L., *Mallotus philippinensis* Muell, *M. fragrans*, *Nigella sativa* L., *C. longa* L., *Oligochaeta ramosa* K. Koch, *O. majorana* L., *Parmelia perlata* Taylor, *P. anisum*, *Piper cubeba* L., *Piper longum* L., *Psoralea corylifolia* L., *Solanum nigrum* L., *T. serpyllum*, *Trachyspermum ammi* L., *Trigonella foenum-graecum* L., *Zanthoxylum armatum* L., inhibieron completamente el crecimiento de *H. pylori* en 500 µg/mL en todas las cepas. La mayor actividad bactericida encontrada, fue demostrada por Phillipinesis mallotus que completa la detención del crecimiento de *H. pylori* en la concentración de 15.6-31.2 µg/mL (Zaidi, Yamada, Kadowaki, Usmanghani, & Sugiyama, 2009).

En Irán se han investigado los extractos metanólicos de las siguientes plantas contra *H. pylori*: la parte aérea *Artemisia dracuncululus* L., y *Teucrium polium* L., hojas de *Salvia mirzayanii* Rech. & Esfand., y *S. officinalis*, flores de *Zataria multiflora* Boiss., frutos de *Bunium persicum* -Boiss.-B. Fedtsch., *C. carvi*, *Heracleum persicum* Desf. ex Fischer, *P. anisum*, *Trachyspermum copticum* -L.- Link y *Myrtus communis* L., y semillas de *N. sativa*. Dentro de estas *S. mirzayanii* mostró la mayor actividad contra *H. pylori* con una CIM de 32 µg/mL (Atapour, Zahedi, Mehrabani, Safavi, Keuvanfar, Foroughi, ... Foroumadi, 2009).

En China se analizaron 30 plantas usadas tradicionalmente para el tratamiento de úlceras, se demostró que las mayores inhibiciones del crecimiento de *H. pylori* se obtuvieron de los extractos etanólicos de la parte aérea de *Abrus cantoniensis* Hance, los tallos de *Saussurea lappa* DC y las flores de *Eugenia caryophyllata* L. Se han reportado otras plantas con actividad anti-*H. pylori*, como el aceite de ajo macerado y sus componentes, los ácidos grasos y terpenos de *Aristolochia paucinervis* Pomel, *Magnolia sieboldii* K. Koch, y algunos componentes ácidos y alcalinos en *Coptis japonica* Salisb., *E. caryophyllata*, *Magnolia officinalis* Rehder & Wilson y *Rhus javanica* Linn (Li, Ma, Chen, Li, Ping, De, ... Bai, 2005).

#### 4.15.1.4 Estudios en África

En Camerún se evaluaron 10 extractos metanólicos de: *Ageratum conyzoides* L., *Scleria striatinux* Wild, *Lycopodium cernua* L., *Acanthus montanus* L., *Eryngium foetidum* L., *Tapeinochilus ananassae* Hassk., *Euphorbia hirta* L, *Emilia coccinea* Cass y *Scleria verrucosa* Willd. Estas plantas medicinales provenientes del Noroeste de Camerún se probaron contra 15 cepas de *H. pylori*. Todas las plantas demostraron actividad antimicrobiana con una zona de diámetro entre 0-30 mm, de las cuales *A. conyzoides*, *S. striatinux* y *L. cernua* mostraron potente actividad antibacteriana, con un rango de CIM para *S. striatinux* de 0.032-1.0 µg/mL, *L. cernua* de 0.063-0.5 µg/mL y 0.063-1.0 mg/µL para *A. conyzoides* (Ndip, Tarkang, Mbullah, Luma, Malongue, Ndip, ... Efangé, 2007).

#### 4.15.2 Estudio en Guatemala de plantas utilizadas para el tratamiento de afecciones gastrointestinales

En Guatemala las enfermedades gastrointestinales constituyen una de las más importantes causas de morbilidad, para su tratamiento tradicionalmente se utilizan plantas naturales. A través de encuestas etnobotánicas y revisión de literatura se determinó que en Guatemala se utilizan 385 plantas pertenecientes a 95 familias para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales. Las plantas que aparecen a continuación fueron seleccionadas para este estudio debido a que son usadas tradicionalmente para el tratamiento de al menos un tipo de afección gastrointestinal de acuerdo a su uso registrado en la literatura. Entre estas *Simarouba glauca* DC., y *T. lucida* exhibieron una fuerte actividad inhibitoria *in vitro* contra enterobacterias (Cáceres et al., 1990).

#### 4.15.2.1 *Acalypha guatemalensis* Pax & Hoffm. (Euphorbiaceae).

##### 4.15.2.1.1 Nombres populares

Hierba del cáncer, Ccul, Corrimiento, Gusanillo, Sajoi (Cáceres, 1996).

##### 4.15.2.1.2 Sinonimias

*A. arvensis* Poepp. & Endl. (Cáceres, 1996).

##### 4.15.2.1.3 Descripción

*A. guatemalensis*, hierba perenne, erecta, hasta 1 m de alto, simple o ramificada, vellosa cuando joven. Hojas ovaladas, alargadas, margen festoneado, 4-7 cm de largo, membranosos, agujereadas por insectos o protuberancias rojizas. Flores numerosas en racimos rojo oscuro, densas, espigas axiales terminales, 4-5 cm de largo, pedunculadas o sub-sésiles. Semillas ovoides, suaves (Standley, 1949).

##### 4.15.2.1.4 Hábitat

*A. guatemalensis* es nativa de Guatemala y Honduras, común en terrenos removidos, secos o húmedos, en campos de cultivo y vegetación de 750-2,500 msnm (metros sobre el nivel del mar). En Guatemala se ha descrito en Baja Verapaz, Chimaltenango, Guatemala, Huehuetenango, Jalapa, Quetzaltenango, Quiché, Santa Rosa, Sacatepéquez y Sololá (Standley, 1949).

##### 4.15.2.1.5 Propiedades y usos medicinales

En Guatemala se vende como medicina y alimento las ramas con hojas de ambas especies (Morton, 1977). El cocimiento de la planta se usa como tónico y diurético (House, Lagos-witte, Mejia, Ochoa, Rivas, & Torres, 1995; Aguilar, 1966). Por vía oral se usa para tratar afecciones gastrointestinales como amebiasis, cólico, diarrea, disentería, estreñimiento, gastritis, inflamación (Ronquillo, Melgar, Carrillo, & Martínez, 1988 ; Hartwell, 1982; Giron, Freire, Alonzo, & Cáceres, 1991; Cáceres & Samayoa, 1990), alergia, cáncer (Mellen, 1974), dolor de cabeza y menstrual, enfermedades venéreas (Cáceres, Jauregui, Herrera, & Logemann, 1991; IIN, 1978; Logan, 1973), reumatismo (Alcorn, 1984; Cáceres et al., 1991), pielonefritis, resfrío (Alcorn, 1984) y dolores del cáncer (Dieseldorff, 1977). Por vía tópica la decocción se usa en compresa, lavados y emplasto para tratar afecciones de la piel como



granos, llagas, pie de atleta, piodermia (Standley, 1949; Hartwell, 1982; Alcorn, 1984; Cáceres & Samayoa, 1990; Cáceres et al., 1991; Logan, 1973) y en lavados para vaginitis (Alcorn, 1984), picadura de serpientes y animales ponzoñosos (Mejía, 1927; Nelson, 1986), pies cansados (House & Lagos-Witte, 1989; Morton, 1981), heridas y llagas (Martínez, 1984). Se les atribuye propiedad antiemética, antiséptica, desinflamante, diurética y espasmolítica (IIN, 1978; Nelson, 1986; Mendieta & del Amo, 1981).

#### 4.15.2.1.6 Farmacología

Estudios antibacterianos demuestran que la tintura de hojas de *A. arvensis* y *A. guatemalensis* son activas contra *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* y *Shigella flexneri* (Cáceres & Samayoa, 1990; Giron et al., 1991; Cáceres, Girón, Alvarado, & Torres, 1987). El espectro de inhibición demostró que el 60% de cepas de *S. typhi*, 50% de *S. aureus* y 15% de *Pseudomonas aeruginosa* son inhibidas por el extracto de *A. guatemalensis* (Ramírez, 1998); se confirmó la actividad con *S. flexneri* y *S. aureus*, no así contra *S. typhi*, *S. pneumoniae* y *S. pyogenes*, siendo el mejor disolvente el metanol, CIM 10 mg/mL para *S. aureus* (Cáceres, Figueroa, Taracena, & Samayoa, 1993).

Estudios antimicóticos demuestran que la decocción de las hojas tiene actividad contra *E. floccosum*, no así contra *C. albicans* y los otros dermatofitos ensayados (Cáceres, López, Girón, & Logemann, 1991; Cáceres et al., 1991). El extracto acuoso de dos especies del género (*A. hispida* y *A. wilkesiana*) tienen actividad antibiótica (Nickell, 1959).

Estudios farmacológicos en ratas demuestra que la infusión acuosa de hojas de *A. arvensis* no tienen actividad diurética, mientras que la de *A. guatemalensis* sí, además no presenta actividad uricosúrica significativa en el mismo modelo (Cáceres, Girón, & Martínez, 1987). Los extractos en triclorometano, éter, y metanol de hojas de *A. arvensis* son inactivos contra células de carcinoma de colon (CO-115 en cultivo de tejidos) (Chapuis, Sordat, & Hostettmann, 1988).

#### 4.15.2.1.7 Química

El tamizaje fitoquímico preliminar indica que las hojas de *A. guatemalensis* contienen alcaloides no cuaternarios, taninos, antraquinonas, glicósidos cianogénicos, ácidos

diterpénicos, azúcares desoxigenados y polifenoles (Oliva, 1979), antocianinas, flavonoides y taninos (Cáceres, 2006).

#### 4.15.2.1.8 Toxicología

Se le atribuye propiedad abortiva (Dieseldorff, 1977).

#### 4.15.2.2 *Capsicum annuum* L. var. *aviculare* (Dierb.). (Solanaceae).

##### 4.15.2.2.1 Nombres populares

Pimiento dulce, ají, chile pimiento o pimentón (Standley & Gentry, 1974).

##### 4.15.2.2.2 Sinonimias

*C. petenense* Standl (Standley & Gentry, 1974).

##### 4.15.2.2.3 Descripción

Tamaño de hasta 4 m de alto, aunque generalmente mucho más pequeño, posee un tallo erecto o trepador, ramificado, hojas solitarias o en pares en cada nudo, alternas, ovadas, de hasta 10 cm de largo aunque generalmente más cortas, con pelillos, flores solitarias, raramente en pares, en las axilas de las hojas. Los pedicelos más largos que las flores, curvados hacia el ápice (Standley & Gentry, 1974).

La flores presenta un cáliz acampanado y terminado en 5 dientes; la corola blanca o verdosa, a veces amarillenta o violeta, de 5 pétalos algo triangulares, unidos en la base formando un tubo corto y acampanado; estambres 5 de anteras grandes, generalmente azuladas y levemente unidas entre sí. Sus frutos y semillas de color, forma y tamaño muy variable, carnosos o secos, huecos en el centro, generalmente picantes y semillas numerosas, circulares, aplanadas, amarillentas (Nee, 1986).

##### 4.15.2.2.4 Hábitat

Es originario de Mesoamérica y cultivado mundialmente a cualquier altitud, menos las más elevadas, en selva alta perennifolia y subperennifolia, selva baja caducifolia y bosque caducifolio. En Guatemala se distribuye comúnmente en más de un departamento desde la meseta central, occidental, etc., entre los que se pueden mencionar Petén, Jalapa,

Sacatepéquez, Chimaltenango, Quiché, Huehuetenango, San Marcos, Guatemala (Standley & Gentry, 1974).

#### 4.15.2.2.5 Propiedades y usos medicinales

Cultivada en todo el mundo. Los frutos son comestibles (Corell & Johnston, 1970), también tiene un uso medicinal y como estimulante local (Long, 1998). La forma silvestre es recolectada para uso doméstico, pero también en forma comercial en algunas regiones (Long, 1998).

Aportaciones recientes sobre los usos de los chiles para el tratamiento de algunas afecciones indican que se han utilizado en el tratamiento de conjuntivitis, con aplicaciones en forma de infusiones. Se ha comprobado también el efecto insensibilizante del nervio dental alveolar por lo que reduce el dolor. También se ha documentado el efecto de bienestar que le provoca al consumidor al inducirle una descarga al SNC de endorfinas (Krishna & Jiban, 1993).

#### 4.15.2.2.6 Farmacología

La capsaicina tiene muchos efectos farmacológicos entre los que se incluyen efectos antibióticos sobre algunos microorganismos. Efectos sobre el sistema circulatorio, específicamente sobre el músculo liso y regulación de la temperatura corporal. Desensibiliza las terminaciones nerviosas a los estímulos dolorosos al modular la peroxidación de lípidos, basándose su uso como analgésico local en este efecto (Krishna & Jiban, 1993; Martínez, 1992).

También se han consignado otros usos tradiciones del Chile, en algunas localidades de Guatemala, por ejemplo, se emplea como repelente en granos almacenados, mezclando polvo de Chile con cada grano y luego el ensilado de la misma manera en la conservación de carne de cerdo, como insecticida en algunos compuestos orgánicos como agua y jabón, las cuales se aplican luego a las plantas en los cultivos (Martínez, 1992).

#### 4.15.2.2.7 Química

Capsaicinoides (capsaicina, dihidrocapsaicina, nordihidrocapsaicina, homocapsaicina, homodihidrocapsaicina), capsantina, capsorubina, flavonoides (apiósido, luteína), aceite esencial, vitamina C, vitamina B1, vitamina B2, Fe, Cu (Gúzman, 1975).

#### 4.15.2.2.8 Toxicología

Aumenta la toxicidad de los inhibidores de la monoaminooxidasa, anticoagulantes orales (aumenta el riesgo de sangrado), inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (aumenta la tos). Efectos secundarios: Por inhalación del polvo causa tos seca, estornudos, dermatitis, irritación cutánea (Gúzman, 1975).

#### 4.15.2.3 *Cordia dentata* Poir. (Boraginaceae).

##### 4.15.2.3.1 Nombres populares

Uvito, saúco, cauvaro, gomo, tigüilote, jigüilote (Standley & Williams, 1970).

##### 4.15.2.3.2 Sinonimias

*C. alba* (Jacq.) Roemer & J.A. Schultes., *C. calyprata* Bertero ex Sprengel, *C. tenuifolia* Bertol. Rendic., *Varronia calypira* (Bert) DC., *C. ovata* Brandege (Standley & Williams, 1970).

##### 4.15.2.3.3 Descripción

Árbol de 6 a 15 m de alto, con follaje frondoso en forma de paraguas; hojas elíptico-oblongas u ovadas, ásperas y vellosas en la cara superior; la haz es más verde que el envés y en éste los nervios presentan tricomas más o menos largos, bordes enteros de la base al centro y acerrados en la porción restante, lámina de 6-7 cm de largo, 4-4.2 cm de ancho; pecíolo 1-1.5 cm de largo, cáliz verde, vellosos, cilíndrico-cuculiforme, con una porción libre, pequeña y triangular; corola de color crema o blanca, muy aromática, íntegramente soldada; filamentos en número de 5 y de color crema, adheridos a la corola; anteras basifijas, elípticas; ovario glabro, ovoide, verde; fruto drupáceo, oblongo, de 1 cm de largo y 1-4.5 mm de ancho; exocarpo mucilaginoso, viscoso; semillas con testa dura (Standley & Williams, 1970).

##### 4.15.2.3.4 Hábitat

Es nativo de Guatemala, localizándose en la región en muchos lugares diferentes, en los patios de las viviendas rurales, en cercos vivos de terrenos cultivados, limpios; a orillas de poblaciones y dentro de las mismas, en las colinas y pendientes rocosas secas, en matorrales secos o húmedos y en pasturas. Se localiza también en México, Honduras hasta Panamá, Colombia, Venezuela y en las Islas del Caribe (Standley & Williams, 1970).

#### 4.15.2.3.5 Propiedades y usos medicinales

La madera es utilizada para horcones en la construcción de viviendas, para leña como principal uso; el jugo de los frutos es utilizado como pegamento. En cercas vivas es usado para forraje (Cordero & Boshier, 2003). Las hojas también se utilizan como emoliente, y las flores para la tos y como sudorífico (Duke, 1985).

#### 4.15.2.3.6 Farmacología

En la literatura revisada no se encontró información.

#### 4.15.2.3.7 Química

En la literatura revisada no se encontró información.

#### 4.15.2.3.8 Toxicología

Concentraciones de nitratos encontradas en *C. dentata* son medianamente altas y potencialmente tóxicas (García, Abadía, Barahona, & Sánchez, 2009).

#### 4.15.2.4 *Lippia graveolens* HBK. (Verbenaceae).

##### 4.15.2.4.1 Nombres populares

Orégano, Mejorana, Orégano de monte (Cáceres, 1996).

##### 4.15.2.4.2 Sinonimias

*Lantana origanoides* M. Martens & Galeotti., *L. berladieri* Schauer., *Goniostachyum graveolens* (HBK) Small (Cáceres, 1996).

##### 4.15.2.4.3 Descripción

*L. graveolens* es un arbusto delgado hasta 2 m de alto, ramas con pubescencia cortamente pilosa. Hojas en peciolo 5-10 mm de largo, oblongas a elípticas, 2-4 cm de largo, obtusas o redondas en el ápice, subcordadas a la base, densamente pilosas, suaves al tacto, densamente tomentosas. Flores subglobosas a oblongas, 4-12 mm de largo, brácteas ovado-lanceoladas, agudas; cáliz 1-2 mm de largo, glandular; corola blanca, 3-6 mm de largo (Standley & Williams, 1970).

#### 4.15.2.4.4 Hábitat

*L. graveolens* es nativa del sur de Texas a Nicaragua, se encuentra en bosques secos y montes espinosos subtropicales, en pendientes pedregosas muy secas, en matorrales húmedos o secos y planicies hasta 350 msnm. En Guatemala se ha descrito en El Progreso, El Progreso y Zacapa (Standley & Williams, 1970; Ronquillo et al., 1988).

#### 4.15.2.4.5 Propiedades y usos medicinales

La decocción o infusión de hojas se usa para tratar anemia, afecciones gastrointestinales (amebiasis, cólico, diarrea, disentería, dispepsia, estreñimiento, indigestión) y respiratorias (asma, bronquitis, catarro, influenza, laringitis, pleuresía, resfrío, tos, tos ferina, tuberculosis), hidropesía, ictericia, amenorrea, dismenorrea y reumatismo. La decocción en leche se usa para tratar asma y bronquitis; un jarabe de las hojas secas se usa para tratar diabetes, disentería, catarro y resfríos. En homeopatía se usa para condiciones histéricas (Martínez, 1992; Ocampo & Maffioli, 1987; Ronquillo et al., 1988).

Tópicamente la decocción se aplica para la cicatrización de heridas, llagas e inflamaciones de la garganta; en baños se usa para fortalecer a niños debilitados, combatir la gripe y para aliviar el prurito y la sarna; en cataplasma para madurar absceso, calmar neuralgias y aliviar induraciones, cáncer y tumores; en fricciones y baños se usa como calmante. La planta fresca macerada en aceite se aplica a los dolores reumáticos; la maceración alcohólica contra “ataques” (Alcorn, 1984).

Se le atribuye propiedad antioxidante, antiséptica, aromática, calmante, carminativa, cicatrizante, desinflamante, diaforética, digestiva, diurética, emenagoga, espasmolítica, estimulante, estomáquica, expectorante, pectoral, sudorífica y tónica (Ronquillo et al., 1988).

#### 4.15.2.4.6 Farmacología

Estudios antibacterianos demuestran que la tintura de hojas de *L. graveolens* es activa contra *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *S. flexneri*, *S. aureus*, *S. pneumoniae* y *S. pyogenes*, pero inactiva contra *Haemophilus influenzae*; la infusión de hojas demostró actividad contra *C. albicans*, *A. flavus*, *E. floccosum*, *M. gypseum* y *T. rubrum*, (Salgueiro, Cavaleiro, Conçalves, & Proença da Cunha, 2003).

#### 4.15.2.4.7 Química

El tamizaje fitoquímico de hojas de *L. graveolens* contiene: aceite esencial (1.8%), glicósidos saponínicos, taninos y triterpenos, celulosa, pigmento y elementos minerales; la corteza y raíz contienen glicósidos saponínicos, aceite esencial y taninos. Las hojas contienen además flavononas (pinocebrina, naringenina) y lapachenol (Dominguez, Sánchez, Suárez, Baldas, & González, 1989; Pascual, Slowing, Carretero, Sánchez, & Villar, 2001) e iridioides (loganina, sacolaganina, ácido carioptósido y logánico, lippióside) (Rastrelli, Cáceres, Morales, De Simone, & Aquino, 1998).

El aceite esencial tiene densidad 0.890-0.922, índice de refracción 1.479-1.498, contiene timol (40-60%),  $\rho$ -cimeno (7.7-28%), 1,8-cineol (4-14%), carvacrol (3.1-25%),  $\gamma$ -terpineo (3.1-3.9%) (123), metiltimol (2.4-3.8%), mirceno (0.9-2.5%), D<sup>3</sup>-careno (0.9-1.5%), cariofileno (0.8-2.0%), linalool (0.7-1.3%) y al menos 34 elementos más en menos cantidades (Compadre, Hussain, Leon, & Enríquez, 1987; Uribe, Hurtado, Olmedo, & Martínez, 1992).

#### 4.15.2.4.8 Toxicología

Los extractos acuoso y etanólico de hojas de *L. graveolens* (500 ppm) presentan cierta toxicidad dosis-dependiente contra peces del género *Mollinesia* (Mena, 1994). El lapachenol tiene actividad carcinogénica y podría explicar cierta actividad antifertilidad atribuida (Cáceres, 2006).

#### 4.15.2.5 *Petiveria alliacea* L. (Phytolaccaceae).

##### 4.15.2.5.1 Nombres populares

Apacin, anamú, apacina, hierba de las gallinitas, mazote, payche, zorrillo (Guatemala, El Salvador), ave (Haití), ipacina (Honduras), anamú (Cuba, Panamá y República Dominicana) (Cáceres, 2006; Standley & Steyermark, 1946).

##### 4.15.2.5.2 Sinonimias

*P. alliacea* L. var. *grandifolia* (L.) Moq., *P. alliacea* L. var. *octandra* (L.) Moq., *P. foetida* Salisb., *P. hexandria* Sessé & Moc., *P. ochroleuca* Moq., *P. octandra* L., *P. paraguayensis* Parodi, *P. correutina* Rojas (Cáceres, 2006).

#### 4.15.2.5.3 Descripción

Hierba alta, leñosa en la base a veces con pequeños tallos angulados 5-10 dm de alto y un fuerte olor a ajo. Hojas alternas, simples, enteras, elípticas a abobadas, ápice agudo o acuminado frecuentemente mucronado; la base decurrente 5.5-16.0 cm de largo, 2-6 cm de ancho, ligeramente pubescentes, pecioladas 1.5-2 cm de largo y escasamente estipuladas. Inflorescencias, un racimo elongado terminal o axilar 15-40 cm de largo las flores pequeñas, sub-sésiles, bracteadas a bracteoladas. Tépalos 4, unidos en un corto tubo, blancos o verde pálido. Los lóbulos subiguales, lineales, persistentes y erectos en el fruto. Estambres 8, insertos de 3 mm de largo, irregularmente hipóginos, disco a la base del ovario, los filamentos filiformes y variados en longitud, la antera linear dorsifija. Ovario 1-carpelar, oblongo, tormentos, 4 a 6 uncinado, estigma 1, sésil, penicelado, decurrente a lo largo del margen ventral del ovario, óvulo 1, basifijo. Fruto un aquenio linear, 8 mm de largo pericarpo coriáceo y adherido a la semilla. Semilla 1, linear, la testa membranácea, el albumen muy pequeño y escaso, los cotiledones foliáceos (Standley & Steyermark, 1946).

#### 4.15.2.5.4 Hábitat

Ampliamente distribuida desde la Florida hasta Centro y Sur América, principalmente en México, Guatemala, Costa Rica, Islas Caribeñas, Brasil, Colombia y la región Andina. Crece de manera silvestre en zonas bajas de <1000 msnm, en climas cálidos y húmedos. Se propaga por esquejes o por semillas, pero en la actualidad la mayoría del material medicinal se obtiene por crecimiento espontáneo. En Panamá crece entre 0-2000 msnm distribuida desde las provincias de Bocas del Toro, Canalera, Chiriqui, Darién, Herrera, Los Santos y Panamá (Standley & Steyermark, 1946; Cáceres, 2006).

#### 4.15.2.5.5 Propiedades y usos medicinales

La decocción de las hojas se usa para resfriados, como desinfectante, insecticida, afecciones gastrointestinales, alteraciones respiratorias, calambres, cistitis y para el dolor de muelas se hacen buches tibios con el mismo preparado. La infusión ayuda al alumbramiento de mujeres y del ganado y para el enfriamiento con dolores de huesos. Para el tratamiento de tumores malignos las hojas frescas se licúan con un litro de agua y este preparado se divide en tres tomas durante el día por varios meses hasta la desaparición de los síntomas; los estudios



indican que esta preparación es especialmente efectiva para el tratamiento de leucemias y de cáncer de estómago (Cáceres, 1996; Gupta, 1995).

#### 4.15.2.5.6 Farmacología

La tintura y cocimiento tiene ligera actividad contra *E. floccosum*, no así contra otros dermatofitos. El extracto etanólico es activo contra *Plasmodium falciparum* 100 mg/mL; estimula la actividad fagocítica del sistema reticuloendotelial al proteger ratones inoculados con dosis letales de *E. coli* (Delaveau, Lallouette, & Tessier, 1980). Los extractos acuoso y etanólico inhiben modelos de tumores e inhiben la proliferación de linfocitos y de células de médula ósea; las hojas son antimutagénicas en un sistema de segregación mitótica inducido por mebendazole en *Aspergillus nidulans* (López, Rojas, & Jiménez, 1981).

La decocción y extracto de hojas y raíz es antiinflamatoria y analgésica, inhibe el edema por carragenina y aspirina y las contorsiones por ácido acético, pero no tiene efecto en la pleuresía por carragenina (Cáceres, 2006; Germano, Caldeira, Mazella, Sertie, & Bacchi, 1993; De Sousa, Demunerc, Pinheiro, Breitmaier, & Cassels, 1990).

#### 4.15.2.5.7 Química

La planta contiene triterpenos, acetado de isoarbinol, cinamato de isoarbinol, cumarinas,  $\beta$ -sistesterol, pinitol, alantoina, alcohol lignocerílico, ácido lignocérico, lignocerato de lignoceníl y  $\alpha$ -friedilínol. La planta entra en la composición del curare. La raíz contiene derivados sulfurados, esteroides, terpenoides, saponosidos y polifenoles (Morton, 1981; Germosén-Robineau, 2005; De Sousa et al., 1990).

#### 4.15.2.5.8 Toxicología

La raíz se considera tóxica para el ganado. La  $DL_{50}$  de hojas por vía oral es 360 mg/Kg en ratas, por vía intraperitoneal en ratón es 1.7 g/Kg; no se observó signos de toxicidad durante 7 días ni causó la muerte de ratones después de una dosis oral de 10 g/Kg. La decocción no presenta genotoxicidad en células germinales de rata. Se considera abortiva (Cáceres, 2006).

4.15.2.6 *Phlebodium pseudoaureum* (Cav.) Lellinger (Polypodiaceae).

4.15.2.6.1 Nombres populares

Calaguala, Serpiente Dorada o Helecho Palmar, Polipodio (Stolze, 1981; Cáceres, 1996).

4.15.2.6.2 Sinonimias

*Polypodium aureum* L., *P. areolatum* H&B, *P. calahuala* L. y *P. leucotomos* Poir. (Stolze, 1981; Cáceres, 1996)

4.15.2.6.3 Descripción

Helecho epífita con rizoma rastrero y sinuoso, 8-15 mm de grueso, cubierto con una pelusa dorada-café. Frondas separadas, espaciadas; sobre tallos brillantes, cafés. Hojas ovado-oblongas verdes brillantes, amarillentas o azul-verdes, 30-120 cm de largo, 20-40 cm de ancho, divididas en segmentos puntiagudos oblongos, algunas veces traslapadas (Morton, 1981).

4.15.2.6.4 Hábitat

Nativa de Centro América. Crece en troncos de árboles y roca caliza desintegrada, en bosques de gran humedad a la sombra, de México a Sudamérica en alturas de 500-2,600 msnm (Stolze, 1981; Morton, 1981). En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Guatemala, Huehuetenango, Jalapa, Quetzaltenango, Suchitepéquez y Zacapa (Stolze, 1981).

4.15.2.6.5 Propiedades y usos medicinales

La infusión y decocción del rizoma se usan oralmente para tratar afecciones respiratorias y cardíacas, reumatismo, diabetes, gota, hipertensión, purificar la sangre y afecciones genitourinarias (Stolze, 1981).

Tópicamente se usa la infusión en emplasto y cataplasma para tratar contusiones, reumatismo, úlceras, fracturas, tumores y psoriasis. La decocción de las hojas se usa para detener hemorragias (Nelson, 1986; Morton, 1981).

Se le atribuye propiedades depurativas, diuréticas, desinflamante, espasmolítica, expectorante, febrífuga, inmunomoduladora, laxante, pectoral, purgante, sudorífica. (Morton, 1981)

#### 4.15.2.6.6 Farmacología

Los resultados iniciales de su actividad fueron contradictorios, por lo que se consideró sin ninguna propiedad. La decocción del rizoma produce moderada actividad diurética en ratas (Cáceres et al., 1987). En tejido tumoral, una de su saponina (anapsos) reduce la incorporación de nucleoproteínas y precursores por un mecanismo anabolizante opuesto a la acción de citostáticos (Vargas, García, Gutiérrez, & Osorio, 1981).

La administración oral del extracto acuoso tiene acción inmunomoduladora medida por proliferación del bazo de ratón. Una fracción del extracto acuoso (anapsos) produce en ratas hipoactividad cerebral dosis-dependiente posiblemente por variación en los niveles de IL-1 hipotalámica (Álvarez, Franco, Fernández, & Cacabelos, 1992). El extracto acuoso prolonga la sobrevivencia de aloinjertos cutáneos en ratones, sugiriendo una actividad inmunosupresora (Tuominen, Bohlin, Lindbom, & Rolfsen, 1991).

Ensayos clínicos desde principios de siglo le atribuyen eficacia en el tratamiento de cálculos renales e hidropesía. En pacientes con neoplasias avanzadas se demostró que la calagualina produce un ligero aumento de la sobrevivencia sin producir efectos indeseados (Horvath, Alvarado, Szocs, De Alvarado, & Padilla, 1967).

Un estudio doble ciego con control y placebo demostró que el extracto mejora el curso de la psoriasis comparado con tratamiento convencional (Del Pino Gamboa, De Sambricio, Colamo, & Gómez, 1982). En voluntarios sanos, la administración oral de anapsos disminuye la respuesta linfoblástica a la estimulación con mitógenos, los niveles de inmunoglobulinas y la proporción de linfocitos OKT 8+ (Vargas, Munoz, Osorio, & Garcia Olivares, 1983). Ese efecto observado en pacientes psoriáticos tratados con el extracto acuoso, podría explicar la mejoría clínica observada (Jiménez, Naranjo, Doblaré, & Vargas, 1987).

La administración oral y tópica de un producto que contiene extracto fluido de la planta induce repigmentación en pacientes con vitíligo (Padilla, Laínez, & Pacheco, 1974).

#### 4.15.2.6.7 Química

El rizoma contiene azúcar, aceite esencial, mucílago, almidón, nitrato de potasio y colorante rojo; calagualina, polipodina, aceites grasos y taninos, esteroides (ecdisterona y ecdisonas como la polipodaureina) (Morton, 1981; Arteché, 1998).

La ecdisona es un esteroide aislado de palomillas presente en algunos vegetales. Por fraccionamiento bioguiado por inhibición de células liberadas del factor activador de plaquetas (PAF) se aisló la adenosina como uno de los inmunomoduladores que podría explicar sus propiedades terapéuticas; inhibe la exocitosis pro-PAF (CI<sub>50</sub> 0.024 mg/mL) de manera dosis-dependiente, aunque es inactiva en el modelo de biosíntesis (Tuominen, Bohlin, & Rolfsen, 1992; Budavari, Oneil, Smith, & Heckelman, 1989), es un nucleosido ampliamente distribuido en la naturaleza, con uso farmacéutico como antiarrítmica, en la taquicardia supraventricular (Budavari et al., 1989). El anapsos (saponina de un cetosteroide y desoxihexosa), posee actividad inmunomoduladora demostrada experimentalmente y clínicamente (Vargas et al., 1983; Jiménez et al., 1987; Pineiro, 1983).

#### 4.15.2.6.8 Toxicología

En la revisión de literatura y bases de datos realizados no se encontró ninguna referencia sobre su toxicidad en humanos (Cáceres, 1996).

#### 4.15.2.7 *Piper jacquemontianum* HBK. (Piperaceae).

##### 4.15.2.7.1 Nombres populares

Cordoncillo, Poozcuyaax (Standley & Steyermark, 1952).

##### 4.15.2.7.2 Sinonímias

*P. citrifolium* Lam.; *P. wydlerianum* (Miq.) C. DC., *P. aeroginosibacum* L (Standley & Steyermark, 1952)..

##### 4.15.2.7.3 Descripción

Arbusto comúnmente de aproximadamente 2-3 m de altura, las ramas jóvenes densamente hispidulosas o hírtulas, algunas veces glabras con la edad u ocasionalmente casi glabras desde el principio; pecíolos mayormente de 1 cm de largo o menos, algunas veces más largo en las

hojas bajas, rígidos, densamente hispidulosos o raramente glabrados; láminas de las hojas ovado-oblongadas u ovado elípticas, mayormente de 12 a 20 cm de largo y de 4.5 a 9 cm de ancho, ápice abruptamente acuminado o largamente acuminado, muy desigual en la base y más o menos oblicua, usualmente redondeado o más o menos cordado en un lado y obtuso en el otro, un lado más decurrente que el otro, gruesas y firmes, muy lustrosas en el haz y con frecuencia lustrosas en el envés, un poco más pálidas en el envés, cuando se secan se tornan verde grisácea o lagunas veces negruzca, con puntos pelúcidos finos, glabras en el haz, suaves al tacto, hispidulosas en el envés, especialmente en los nervios, con pelos sórdidos subadpresos, ásperos al tacto, penninervadas, usualmente 3 nervios en cada lado, nervios arqueados, ascendentes, los superiores nacen en o por arriba de la mitad de la lámina, las venas son prominentes en el envés, laxamente reticuladas; pedúnculos cortos, gruesos, densamente puberulentos o hispidulosos; espigas erectas, mayormente de 5 a 7 cm de largo y de 3 a 4 mm de grosor, obtusas, gruesas; las brácteas con pubescencia densa (Standley & Steyermark, 1952).

#### 4.15.2.7.4 Hábitat

Bosques o matorrales húmedos o lluviosos, algunas veces en bosque de pino o en pantanos de Mancarúa. 900 msnm o menos. Se puede encontrar en Campeche, Guatemala, Belice. En Guatemala se ha descrito en los departamentos de Alta Verapaz, Petén e Izabal (Cáceres, 1996; Standley & Steyermark, 1952).

#### 4.15.2.7.5 Propiedades y usos medicinales

En Guatemala se utiliza para bajar la fiebre, cicatrizar granos, alteraciones de la presión, tos y para aliviar el dolor de cabeza, cuerpo y corazón (Lot & Chieng, 1986).

En general la infusión de hojas de las plantas del género *Piper* son utilizadas para el tratamiento de diarrea, disentería e infecciones gastrointestinales (Orellana, 1998)

#### 4.15.2.7.6 Farmacología

Estudios farmacológicos demuestran que el aceite esencial a 0.1 mg/mL tiene actividad contra *M. smegmatis* y *Bacillus subtilis*, actividad citotóxica contra *Artemia salina* a 0.5 mg/mL y actividad insecticida contra *Anopheles albimanus* y *Anopheles aegypti* hasta el tercer estadio (Cáceres, 1996).

#### 4.15.2.7.7 Química

Análisis de los constituyentes volátiles de las especies del género *Piper* ha revelado la presencia de monoterpenos, sesquiterpenos y arilpropanoides. Investigaciones fitoquímicas de extractos han revelado la presencia de muchos compuestos activos tales como amidas, alcaloides, lignanos, cromononas (Parmar, Jain, Bisht, Jain, Taneja, & Jha, 1997; Martins, Salgueiro, Vila, Tomi, Cañigual, & Casanova, 1998; Moreira & Kaplan, 1998).

Una revisión de la composición química del género *Piper*, lista los componentes principales:  $\alpha$ -pinene 3.2%,  $\beta$ -pinene, (E)- $\beta$ -ocimene 2.5%, linalool 69.4%, (E)-nerolidol 8.0% (Cruz, Cáceres, Álvarez, Morales, Apel, Henriques, ... Gupta, in press).

#### 4.15.2.8 *Rauvolfia tetraphylla* L. (Apocynaceae).

##### 4.15.2.8.1 Nombres populares

Alcotán, Amatillo, Cabamuc, Curarina, Matacoyote, Señorita, Viborilla, Chalchupa (Cáceres, 1996).

##### 4.15.2.8.2 Sinonimias:

*R. canescens* L., *R. hirsuta* Jacq., *R. heterophylla* Roem. & Schult., *R. subpubescens* L., y *R. tomentosa* Jacq (Cáceres, 1996).

##### 4.15.2.8.3 Descripción

Arbusto semileñoso, 1-4 m de alto, ramificado, finamente pubescente, con abundante látex. Hojas en 3-5 verticilos, delgadamente oblongas a anchamente ovadoelípticas, 2-13 cm de largo, agudas u obtusas. Inflorescencia condensada, más corta que las hojas, pocas flores, glabras o puberulentas; corola muy pequeña, puberulenta o glabra; estambres insertos a la mitad de la corola. Frutos en drupa subglobosa, 5-8 mm de diámetro, color rojo que se torna negro al madurar (Standley & Steyermark, 1946).

##### 4.15.2.8.4 Hábitat

Nativa de México, Centro América, Caribe y norte de Sur América en matorrales secos o húmedos, frecuente como crecimiento secundario tropical o maleza en campos abandonados y orilla de caminos hasta 2000 msnm. En Guatemala se ha descrito en Baja Verapaz,

Chimaltenango, El Progreso, Escuintla, Huehuetenango, Izabal, Jutiapa, Petén, Retalhuleu, San marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa (Standley & Steyermark, 1946; Ronquillo et al., 1988).

#### 4.15.2.8.5 Propiedades y usos medicinales

La decocción de raíz se usa oralmente para tratar malaria, mordeduras de culebra (Morton, 1981), dolor de estómago, bajar la presión arterial, como depurador y febrífugo (Aguilar, 1966). La infusión de hojas se usa para tratar disentería y malaria. La savia o látex se usa en hidropesía y tos crónica; se aplica en ojos inflamados y edema; la corteza se usa para desintegrar muelas (Morton, 1981).

Tópicamente se usa el cocimiento de tallos o frutos machacados en emplastos para la mordedura de serpientes, piquete de avispas y alacranes; el cocimiento y hojas del tallo se usa para curar úlceras, sarna, sífilis y otras enfermedades cutáneas (Ronquillo et al., 1988; Morton, 1981).

#### 4.15.2.8.6 Farmacología

Estudios antibacterianos demuestran que los extractos acuoso y etanólico de la planta completa son inactivos contra bacterias, las hojas no presentan actividad contra hongos patógenos (*A. flavus*, *E. floccosum*, *M. gypseum*, *T. rubrum*) a 200 mg/mL (Glasby, 1991). El extracto con éter de petróleo tiene actividad larvicida contra *A. stephensi*, *A. aegypti* y *C. quinquefasciatus* (Kalyanasundaram & Das, 1985).

#### 4.15.2.8.7 Química

El tamizaje fitoquímico de la planta completa indica la presencia de alcaloides, glicósidos carditónicos, taninos y triterpenos. Contiene múltiples alcaloides (ajmalicina, ajmalina, aricina, carpagina, chalchupina A y B, deserpidina, heterofilina, isoreserpina, raujemidina, reserpina, reserpilina, reserpina, rauwolscina, tetrafilicina, tetrafilina,  $\alpha$ -yohimbina), flavonoides, glicósidos cardio tónicos, taninos y triterpenos (Glasby, 1991).

#### 4.15.2.8.8 Toxicología

El extracto etanólico de la planta completa produce ligero efecto sedante en peces (40 ppm) y toxicidad (500 ppm) (Mena, 1994). El fruto es generalmente considerado tóxico; el látex

puede causar dermatitis. Los síntomas de intoxicación por los frutos son; dolor de la boca, constricción faríngea, náusea, vómitos y aun la muerte (Martínez, 1992).

#### 4.15.2.9 *Salvia lavanduloides* HBK. (Lamiaceae).

##### 4.15.2.9.1 Nombres populares

Salvia de monte (Guatemala), alhucema (Honduras), altamiza, alucena, azulilla, cenicilla, poleo, salvia morada (México) (Standley & Williams, 1973).

##### 4.15.2.9.2 Sinonimias

En la literatura revisada no se encontró información.

##### 4.15.2.9.3 Descripción

Hierba delgada, perenne, tallo solitario o en conjunto, recto de 1 m o menos de largo, ramas simples o espaciadas con hojas. Hojas con pecíolo corto, angosto, elíptico-oblongo o lanceolado de 3-9 cm de largo, agudo u obtuso, agudo o atenuado en la base, serrulado, venosa, verdosa en la cara superior, densamente pubescente o glabroso, en la cara inferior es pubescente de color grisáceo a blanquecino, verticilos de 12 flores formando espigas de 3-12 cm de largo y de 1.5 cm de diámetro. Flores sésiles o casi sésiles, el cáliz tiene de 4-5.5 mm de largo y raramente 7 mm, blanquecino y densamente pubescente a cercanamente glabrosa; la corola de color azul intenso a azul pálido o violeta; el tubo de 3.5-4.5 mm de largo, el labio superior de 2-2.5 mm de largo y densamente pubescente; el labio inferior de 3-5 mm de largo (Standley & Williams, 1973).

##### 4.15.2.9.4 Hábitat

En los departamentos de Baja Verapaz, Zacapa, Jalapa, Santa Rosa, Guatemala, Sacatepéquez, Chimaltenango, Sololá, Quiché, Huehuetenango, Totonicapán, Quetzaltenango, San Marcos en Guatemala; Centro y Sur de México; Honduras (Standley & Williams, 1973).

##### 4.15.2.9.5 Propiedades y usos medicinales

Dolor de vientre después del parto, flujo de sangre, dolores menstruales, aire, dolor de estómago y dolor de muelas. Disminuir la fiebre. Padecimientos digestivos como diarrea,



dolor de estómago y vómitos. Padecimiento de la vesícula. Contrarrestar la tos y tos ferina. Hemorragias vaginales (House et al., 1995; Instituto Indigenista Nacional, 1994).

#### 4.15.2.9.6 Farmacología

En la literatura revisada no se encontró información.

#### 4.15.2.9.7 Química

Poca información química existe sobre esta planta. De la planta completa se han identificado alcaloides, cumarinas, derilos, flavonoides, eupatorín, 5-hidroxi-tetrametoxi- y 5-hidroxi-trimvados azufrados, esteroides, lípidos y triterpenos (Rodriguez, Tello, & Quijano, 1974; Ortega, Cardenas, Toscano, Maldonado, Aumelas, Van Calsteren, & Jankowski, 1991; Maldonado, Cardenas, Salazar, Toscano, Ortega, Jankowski, ... Van Calsteren, 1992; Romo de Vivar, Gonzalez, & Perez, 1985).

#### 4.15.2.9.8 Toxicología

En la literatura revisada no se encontró información.

#### 4.15.2.10 *Senna alata* L. (Leguminosae/Caesalpiaceae).

##### 4.15.2.10.1 Nombres populares

Flor del secreto, taratana (Tabasco), gajagua, hierba de playa, laureno, lucutema (Cáceres, 2006; Standley & Steyermark, 1946).

##### 4.15.2.10.2 Sinonimias

*Cassia alata* L., *Hepatica alata* Raf., (Cáceres, 2006; Standley & Steyermark, 1946).

##### 4.15.2.10.3 Descripción

Arbusto de 1 a 2 m de altura, y ramas fuerte; hojas divididas entre 6 y hasta 12 pares de hojitas. Las flores son amarillas, y forman racimos muy abundantes. Los frutos son lustrosos de hasta 15 cm de largo (House et al., 1995; Standley & Steyermark, 1946).

##### 4.15.2.10.4 Hábitat

Planta cosmopolita tropical. Presente en clima cálido desde el nivel del mar hasta 40 m. Asociada a bosques tropicales caducifolio. Nativo de bosques húmedos de tierras bajas de

Centro América, el Caribe y Sur América; introducida en la India y África Occidental. En Guatemala se ha descrito en tierras costeras de ambos océanos (Cáceres, 2006; Standley & Steyermark, 1946).

#### 4.15.2.10.5 Propiedades y usos medicinales

Sus aplicaciones incluyen el tratamiento de diversas afecciones dérmicas (granos, jotes y tiña), se muele la hoja cruda con un poco de sal y se aplica en el lugar afectado. La decocción de las hojas se usa por vía oral y tópica para el tratamiento de reumatismo, enfermedades venéreas y mordeduras de serpiente, también se le atribuye propiedad purgante, antiinflamatoria, antifúngica, antihelmíntica, insecticida y cicatrizante (Cáceres, 2006; House et al., 1995).

#### 4.15.2.10.6 Farmacología

El extracto total y purificado y los derivados antraquinónicos (aloe-emodina, antrona, emodina) tienen actividad antibacteriana y antidermatofítica, aunque los glicósidos de antraquinona y crisofanal no tienen efecto (Ogunti, Aladesanmi, & Adesanya, 1991). El modo de acción se asocia con la destrucción irreparable de la pared celular de la macroconidia (Ibrahim & Osman, 1995).

El extracto de las hojas tiene actividad cicatrizante y desinfectante de lesiones inducidas experimentalmente por *S. aureus* (Palanichamy, Amala, Bakthavathsalam, & Nagarayan, 1991). El jugo de las hojas ha sido usado eficientemente en el tratamiento de pacientes con *Pityriasis versicolor* (Damodaran & Venkataraman, 1994). El extracto etanólico de las flores y sus fracciones tienen actividad antifúngica (Adedayo, Anderson, Moo-Young, & Kolawole, 1999).

El extracto etanólico presenta actividad hipoglicémica en el tratamiento de la enfermedad inducida en ratas por estreptozotocina, aunque no disminuye la glucosa en ratas normales, el mismo extracto también manifiesta actividad antihistamínica (Palanichamy, Nagarajan, & Devasagayam, 1988).

El extracto hidroalcohólico ha demostrado en diversos modelos animales actividad antiinflamatoria (Abatan, 1990; Palanichamy & Nagarajan, 1990a), analgésica, diurética y

espasmolítica, mientras que el extracto fluido 1:1 ha demostrado actividad antihistamínica y laxante (Ogunti & Elujoba, 1993). Una pomada conteniendo extracto de la hoja tiene actividad cicatrizante en conejo (Ibrahim & Osman, 1995).

La infusión de hojas presenta importante actividad laxante comparable al fitomedicamento de referencia (*Cassia acutifolia* L.) en un estudio clínico en 24 pacientes con 72 horas de estreñimiento, se demostró que 83% de los pacientes tratados con el extracto fluido 1:1 evacuaron las heces en 24 horas, mientras que los pacientes tratados con placebo únicamente lo hizo el 18% (Palanichamy & Nagarajan, 1990a).

#### 4.15.2.10.7 Química

Las hojas contienen antraquinonas (aloe-emodina, rheína, ácido crisofánico, dihidroximetilantraquinona),  $\beta$ -sitosterol, kampfenol, aminoácidos, crisofanol, coelutina, flavonoides, azuleno, quinonas, esteroides y taninos (Germosén-Robineau, 2005).

El aceite esencial tiene actividad bactericida. La actividad antifúngica se atribuye a derivados antrónicos y antraquinónicos, también se ha demostrado actividad antibiótica a los principios no antraquinónicos (Fuzellier, Mortier, & Lectard, 1982; Ross, 1999). La aloemodina es una antraquinona acídica que presenta actividad antifúngica y catártica, mientras que la rheína es antimicrobiana (Budavari et al., 1989).

El extracto etanólico desgrasado y el kampferol 3-O-soforósido tienen actividad analgésica medida por varios modelos animales, así mismo, presentan buena actividad antiinflamatoria en comparación con la fenilbutazona. La rheína presenta actividad antiinflamatoria, el diacetato es usado como antirreumático (Cáceres, 2006; Abatan, 1990; Palanichamy & Nagarajan, 1990b).

#### 4.15.2.10.8 Toxicología

El extracto acuoso presenta cierta toxicidad en la rata, que se manifiesta por la disminución de los niveles de hemoglobina, recuentos de eritrocitos, inapetencia, emaciación, ciertos cambios hematológicos y pérdida de peso. El extracto etanólico de las hojas secas no mostró toxicidad en ratones al administrarlo por vía intraperitoneal en dosis de 2 g/Kg y de 10 g/Kg al

administrarse oral y subcútea; la  $DL_{50}$  del extracto fluido (1:1) por administración intraperitoneal es 1 g/Kg en ratón (Cáceres, 2006; Sodipo, Effraim, & Emmagun, 1998).

#### 4.15.2.11 *Simarouba glauca* DC. (Smirubaceae).

##### 4.15.2.11.1 Nombres populares

Aceituno, Jocote de mico, Negrito, Olivo, Pasac (Cáceres, 2006; Standley & Steyermark, 1946).

##### 4.15.2.11.2 Sinonimias

*S. medicinalis* Endl., *S. officinalis* DC (Cáceres, 1996)

##### 4.15.2.11.3 Descripción

Es un árbol pequeño o mediano, hasta de 15 m de alto, tronco de 30 cm Las hojas están compuestas de 10-21 foliolos coriáceos, brillantes, oblongos, de 4-8 cm de largo. Las inflorescencias son panículos, con pequeñas flores unisexuales, de color blanquecino, los dos sexos en diferentes árboles. Los frutos ovoidales son drupas de 1.5-2 cm de largo, son de color verde claro a morado, casi negro (Standley & Steyermark, 1946; Ronquillo et al., 1988; Cáceres, 1996).

##### 4.15.2.11.4 Hábitat

Distribuido en regiones más o menos calurosas, a 900 msnm o más bajo. Se encuentra en Petén, Izabal, Baja Verapaz, El progreso, Zacapa, Chiquimula, Jutiapa, Santa Rosa, Retalhuleu, Quiché (Cáceres, 2006; Standley & Steyermark, 1946).

Crece en bosques secos subtropicales, regiones húmedas o pobladas de matorrales, sobre las laderas secas rocosas abiertas, en variedad de regiones desde el sur de México a Centro América y el Caribe en alturas de hasta 900 msnm. Es nativo de de Mesoamérica. En Guatemala se ha descrito en Baja Verapaz, Chiquimula, El Progreso, Izabal, Jutiapa, Petén, Quiché, Retalhuleu, Santa Rosa y Zacapa (Cáceres, 2006; Standley & Steyermark, 1946)

##### 4.15.2.11.5 Propiedades y usos medicinales

Corteza y raíz: la infusión de estas se usa por vía oral para tratar malaria (Nelson, 1986; Gúzman, 1975) afecciones gastrointestinales (diarrea, dispepsia atónica, debilidad, amebiasis,

lombrices, tricocéfalos, vómito); (Ronquillo et al., 1988; Nelson, 1986; Martínez, 1992; Núñez, 1986), nerviosismo, fiebre intermitente y tos (Ocampo & Maffioli, 1987).

Hojas: la tintura de hojas tiene actividad antiamebiana (Morton, 1981). Las hojas machacadas se aplican tópicamente para el tratamiento de afecciones cutáneas prurito (Ronquillo et al., 1988) y algunas formas de cáncer (Hartwell, 1982).

#### 4.15.2.11.6 Farmacología

La tintura de las hojas ha demostrado ser activa contra *S. typhi* y *S. flexneri* e inactiva contra *E. coli* enteropatógena, *S. aureus*, *S. enteritidis* y *S. dysenteriae* (Ndip et al., 2007). Ha demostrado actividad antimalárica sobre *P. gallinaceum* (Robineau, 1991). La infusión de la corteza tiene actividad contra esquizontes de *P. bergheii* similar a la droga de referencia (artemisinina, 50 mg/Kg) (Medinilla, 1993). Estudios farmacológicos demuestran que la infusión de hojas por vía oral produce broncoconstricción en conejos; el extracto acuoso por vía subcutánea en ratas ligadas del píloro redujo el número de úlceras, el volumen de líquido gástrico y el ácido libre; por vía oral, careció de efecto antiulcerogénico y no modificó el índice de ulceración (Duke, 1985).

#### 4.15.2.11.7 Química

Alcaloides y cuasinoides, la semilla contiene lípidos, alcoholes triterpénicos, ésteres de esteroides y un éster del glaucorrilbol, la glaucarrubina. El glaucarrubol es una pentahidroxilactonona en C-20 (Glasby, 1991).

Las hojas y la corteza contienen flavonoides, polifenoles, sesquiterpenlactonas, taninos (Ndip et al., 2007; Ronquillo et al., 1988), alcaloides y cuasinoides (15-O-β-D-glucopiranosilglaucarubol y glucorubolona) (Glasby, 1991). Las semillas contienen lípidos, alcoholes triterpénicos, ésteres de esteroides y del glaucarrubol y glaucarrubina, hasta 62% de aceite y un glicósido cristalino tóxico (fórmula C<sub>22</sub>H<sub>36</sub>O<sub>9</sub>) (Morton, 1981). La semilla contiene agua (24.0%) y grasa (45.5%) (Duke, 1985).

#### 4.15.2.11.8 Toxicología

Los extractos acuosos y etanólicos son tóxicos a peces. La  $DL_{50}$  de glaucarrubina por vía oral en ratas es 800 mg/Kg y por vía subcutánea 28 mg/Kg (Bérdy, Aszalos, Bostian, & McNitt, 1980).

#### 4.15.2.12 *Smilax domingensis* Willd. (Smilacaceae).

##### 4.15.2.12.1 Nombres populares

Bejuco de canasta (Costa Rica), Cuculmecha, cocolmecha (Costa Rica, Guatemala, México), Zarzaparrilla (Costa Rica, Guatemala), Bejuco de la vida, China-root, Curío, Diente de chucho, Palo de la vida (Guatemala), Corona de Cristo ( Honduras) (Cáceres, 1996).

##### 4.15.2.12.2 Sinonímias

*S. caudata* Lundell., *S. lanceolata* L., *S. microscola* (B.L. Rob.) Killip & C.V. Morton (Cáceres, 1996).

##### 4.15.2.12.3 Descripción

Planta glabra completamente. Tallos teretes, escasamente armados en la parte inferior con agujones robustos recurvados e inermes en la parte superior. Hojas 6-15 x 1.5-10 cm, 1.4-6 veces más largas que anchas, ovadas, lanceolado-ovadas, o lanceoladas, caríáceas, inermes, 5-nervías desde la base, las nervaduras primarias prominentes en el envés, no impresas en la haz, el par exterior submarginal, las nervaduras secundarias conspicuas, algo prominentes, reticuladas, el ápice brevemente acuminado ó brevicuspidado, la base aguda, el margen entero; pecíolo 0.5-2 cm. Umbelas estaminadas solitarias, pedúnculo 1-5 mm, más corto que el pecíolo subyacente, terete o algo aplanado. Umbelas pistiladas solitarias; pedúnculo 1-5 mm, más corto que el pecíolo subyacente, subterete, Pétalos de las flores estaminadas 4-6 mm; filamentos 2-4 mm; anteras 1-2 mm. Pétalos de las flores pistiladas cerca de 4 mm. Bayas 7-10 mm, rojas, purpúreas o negras (Standley & Steyermark, 1952)

##### 4.15.2.12.4 Hábitat

Distribuida en México y Centro América. Se encuentra en los departamentos de Alta Verapaz, Baja Verapaz; Izabal; Zacapa; Escuintla; Sacatepéquez. Crece en bosques húmedos o secos de

latifolidades, en laderas, hondonadas y orillas de quebradas trepando sobre las ramas de los árboles (Standley & Steyermark, 1952)

#### 4.15.2.12.5 Propiedades y usos medicinales

A *S. domingensis* se le atribuyen las siguientes propiedades antiinflamatoria, antifúngica, antiprorítica, antirreumática, antiséptica, cicatrizante, desinflamante, estimulante, diurética, diaforética, depurativa, sudorífica y tónica (Aguilar, 1966; Arriaza, 1983; Mendieta & Del Amo, 1981; CEMAT-FARMAYA, 1990; British Herbal Medicine Association Scientific Committee., 1996).

El rizoma en cocimiento es utilizado por vía oral para tratar anemia, afecciones gastrointestinales (diarrea, dolor de estómago, inapetencia (Cáceres & Samayoa, 1990; Logan, 1973), hinchazón, malaria (Pöll, 1984), dolor de riñones, enfermedades de la sangre y venéreas, hepatitis, reumatismo y tumores (Hartwell, 1982; IIN, 1978; Morton, 1981; Arriaza, 1983; Mendieta & Del Amo, 1981; Ximénez, 1967). La decocción se aplica tópicamente para tratar diversas afecciones dermatomucosas (alergias, eczema, liquen plano, tinea, psoriasis) (IIN, 1978; Morton, 1981; Arriaza, 1983; Mendieta & Del Amo, 1981; Ximénez, 1967).

#### 4.15.2.12.6 Farmacología

Estudios de la actividad antibacteriana *in vitro* demuestran que la maceración hidroalcohólica de la raíz de *S. lundellii* es activa contra *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. typhi*, *S. dysenteriae*, *S. flexneri* y *S. pyogenes* (Cáceres et al., 1990).

#### 4.15.2.12.7 Química

Presencia de alcaloides, aceite esencial, esteroides insaturados, glicéridos esferoidales, flavonoides, leucocintocianinas, taninos, polifenoles, resinas, azúcares y grasas (Arriaza, 1983).

#### 4.15.2.12.8 Toxicidad

La parrillina contiene un  $DL_{50}$  de 10 mg/Kg por vía intraperitoneal, mientras que por vía oral es de 30 mg/Kg (Fuentes, 1989).

#### 4.15.2.13 *Solanum nigrescens* Mart & Gal. (Solanaceae).

##### 4.15.2.13.1 Nombres populares

Hierba mora, Quilete, Macuy, Chichiquelite (Guatemala), Hierba mora negra, Ix pakgcha tantisiksi, Mustuluk (México) (Cáceres, 1996; Standley & Gentry, 1974).

##### 4.15.2.13.2 Sinonimias

*S. americanum*. *S. nodiflorum* Jacq. *S. nigrescens*. *S. douglasii* Dunal., *S. oligospermum* Bitter (Cáceres, 1996; Standley & Gentry, 1974).

##### 4.15.2.13.3 Descripción

Hierba de 0.5- 3 m de alto; tallo piloso. Hoja en pares o solitarias de diferentes tamaños, similares en forma, enteras o dentadas, lanceoladas, 3-18 cm de largo, ápice acuminado, base atenuada. Pecíolo 5-35 mm de largo; inflorescencia intermodal, racemiforme; pedúnculos 1-3 cm de largo; cáliz 1-1.5 mm de largo, lobulado; corola blanca o lila, mancha oscura en la base; filamentos ciliados; anteras 3-4 mm de largo; ovario glabro. Fruto globoso, 4-7 mm de diámetro; semillas 1-1.5 mm de largo (Standley & Gentry, 1974).

##### 4.15.2.13.4 Hábitat

Nativa de México a Costa Rica, crece en matorrales y bosques mixtos de 1500-3900 msnm. En Guatemala se ha descrito en Chiquimula, El Progreso, Escuintla, Huehuetenango, Quetzaltenango, Sacatepéquez, Sololá y San Marcos (Standley & Gentry, 1974).

##### 4.15.2.13.5 Propiedades y usos medicinales

El cocimiento de hojas y semillas tiene amplio uso medicinal, por vía oral se administra en el tratamiento de afecciones gastrointestinales (cólico, diarrea, estreñimiento, gastritis, úlcera gástrica) (Ake, Chibon, Cuffy, Darnault, Edwards, & Etienne, 1985) y respiratorias (asma, amigdalitis, tos ferina), anemia, cirrosis (Mendieta & Del Amo, 1981), dolor de muelas (House et al., 1995), escorbuto, hinchazón, meningitis, nerviosismo, paludismo, presión alta retención urinaria, reumatismo (Morton, 1981; Girón, 1983).



#### 4.15.2.13.6 Farmacología

Estudios antimicóticos demuestran que la decocción y tintura de hojas tienen actividad contra levaduras *C. albicans* (Ake et al., 1985; Girón, 1983) y *Cryptococcus neoformans* (Cooney, Buckley, Brickus, & Cáceres, 1991).

Estudios antibacterianos demuestran que la decocción de hojas tiene actividad antibiótica contra *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *S. pyogenes* (Cáceres et al., 1990; Cáceres et al., 1987; Cáceres, Álvarez, Ovando, & Samayoa, 1991), pero no contra *V. cholerae* (Cáceres, 1996).

#### 4.15.2.13.7 Química

El tamizaje fitoquímico de *S. nigrescens* demostró alcaloides, esteroides policíclicos insaturados, cantalosaponinas, azúcares 2-desoxigenados, taninos, cardenólidos, ácido málico, riboflavina, tiamina, ácido ascórbico y sales minerales (Mendieta & Del Amo, 1981; He, Mocek, Floss, Cáceres, Girón, Buckley, ... Wilson, 1994; Martínez, Cobar, Paz, Véliz, Saravia, Gaitán, ... Chigüichón, 2006).

#### 4.15.2.13.8 Toxicología

El extracto es hemolítico aún en altas diluciones; en concentraciones terapéuticas no presenta citotoxicidad a células de fibroblastoma. El clorhidrato de solanina se usa como insecticida en la agricultura, su DL<sub>50</sub> es 42 mg/Kg por vía intraperitoneal en ratón (Budavari et al., 1989).

#### 4.15.2.14 *Tagetes lucida* Cav. (Asteraceae/Compositae).

##### 4.15.2.14.1 Nombres populares

Pericón, I'ya, Jolomocox, Uca (Cáceres, 2006; Nash & Williams, 1976).

##### 4.15.2.14.2 Sinonimias

*T. florida* Sweet y *T. schiedeana* Less (Cáceres, 2006; Nash & Williams, 1976).

##### 4.15.2.14.3 Descripción

Hierba erecta perenne, glabra, comúnmente de 30 a 75 cm de altura, fuertemente aromática, crece a partir de una base corta gruesa y leñosa, cimosamente ramificada arriba, hojas opuestas, sésiles lineales y oblongo-lanceoladas, puntiagudas, dentadas, con numerosas

glándulas oleosas. Flores amarillas en pequeñas cabezuelas terminales; receptáculo cilíndrico; 5-7 filarios subulados en el ápice (House et al., 1995; Nash & Williams, 1976)

#### 4.15.2.14.4 Hábitat

Especie originaria de Mesoamérica, se distribuye desde Chihuahua en el noroccidente de México hasta el norte de Honduras en Centro América. En Guatemala se distribuye principalmente en el altiplano central y occidental. Petén, Jalapa, Sacatepéquez, Chimaltenango, Quiché, Huehuetenango, San Marcos (Cáceres, 1996; Nash & Williams, 1976).

#### 4.15.2.14.5 Propiedades y usos medicinales

Las hojas y flores apagadas por vía oral son usadas para aliviar el parto (Ortiz & Brower, 1985), tratar anemia, inflamación de los ojos, afecciones nerviosas, gastrointestinales (cólico, diarrea, disentería, flatulencia, indigestión náusea, parasitismo intestinal, vómitos) y respiratorias (amigdalitis, cefalea fiebre, gripe, neumonía, resfriados, tos ferina), dolor menstrual, mordedura de escorpión, hepatitis, paludismo, reumatismo, retención urinaria, afecciones nerviosas, tumores y úlceras (Siegel, Collings, & Diaz, 1977; Logan, 1973).

Se le atribuye propiedad antiinflamatoria, antioxidante, antiséptica, aromática, carminativa, digestiva, diurética, emenagoga, espasmolítica, y galactogoga (Siegel et al., 1977; Ortiz & Brower, 1985).

#### 4.15.2.14.6 Farmacología

La tintura y el extracto acuoso de hojas son activas contra enterobacterias *E. coli* enteropatogena, *S. dysenterie*, *S. flexneri*, *S. typhi*, *S. pyogenes*. El extracto acuoso es activo contra *S. enteritidis*, *S. typhi*, *S. disenteriae*, *S. flexneri*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* (Cáceres, 1996).

Estudios de espectro de inhibición del extracto alcohólico demostraron inhibición de un 60% de cepas de *P. aeruginosa* y 15% de cepas de *S. typhi*. El tamizaje de la actividad vibriocida *in vitro* demostró que la maceración hidroalcohólica inhibe *V. cholerae*, la mayor actividad se extrajo con hexano y la concentración mínima inhibitoria fue de 10 mg (Cáceres, 1996).

#### 4.15.2.14.7 Química

Hojas y flores contienen aceite esencial (limoneno 16.5%,  $\beta$ -ocimeno 14%,  $\beta$ -cariofileno 28%, mirceno 4-5%, tagetona, dihidrotagetona, tetrahidro-tagetona, estragol, etermetílico de eugenol, linalool) (Hethelyi, Dános, & Tétényi, 1986; Bicchi, Fresia, Rubiolo, Monti, Franz, & Goehler, 1997), alcaloides cuaternarios, flavonoides (quercetagetina, patuletina, isorhamnetina) (Abdala, 1999), saponinas, taninos, leucoantocianinas, poliacetilenos, glicóidos cianogénicos, cumarinas (herniarina o 7-metoxicumarina), derivados de tiofeno,  $\alpha$ -tertienilo, goma, dextrina, grasas, pectina, resinas acídicas y sales minerales (Martínez, 1992).

#### 4.15.2.14.8 Toxicología

La  $DL_{50}$  de los extractos con actividad espasmolítica por vía es mayor de 100 mg/Kg de peso. El  $\alpha$ -tertienilo puede ser fototóxico en presencia de luz ultravioleta cercana y producir una fotodermatitis por un mecanismo que no depende de la peroxidación lipídica de la membrana (Yamamoto, MacRae, Garcia, & Towers, 1984).

#### 4.15.2.15 *Vernonia deppeana* Less. (Asteraceae).

##### 4.15.2.15.1 Nombres populares

Suquinay, Suquinay hembra, Semém, Sucunán, Flor de cuaresma, Rosa blanca (Nash & Williams, 1976; Liogier, 2002).

##### 4.15.2.15.2 Sinonimias

En la literatura revisada no se encontró información.

##### 4.15.2.15.3 Descripción

Arbusto o árbol pequeño, algunas veces de 9 m de alto, tallos pubescentes, hojas alternas oblongas, 15 cm de largo y de 2-7 cm ancho, redondeada en la base, los márgenes enteros serrulados, haz pubescente y envés blanco tomentoso. Sus flores son tubulares, blancas o rosadas de 18-21, involucros campanulados, 3 mm de alto dispuestas en una panícula grande. Fruta una semilla de 2 mm de largo (Nash & Williams, 1976; Liogier, 2002).

#### 4.15.2.15.4 Hábitat

Se encuentra en México, El Salvador, Honduras y Costa Rica. En Guatemala crece en los departamentos de Chimaltenango, Huehuetenango, Quetzaltenango, Sacatépequez, San Marcos, Sololá, Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chiquimula, Jalapa, Retahuleu, Santa Rosa y Suchitepequez. Se desarrolla en bosques de 300-2000 msnm. Especie de hábito terrestre con variabilidad de humedad, crece en bosques de encino y pino-encino (Nash & Williams, 1976; Liogier, 2002).

#### 4.15.2.15.5 Propiedades y usos medicinales

Se utiliza para el tratamiento de cólicos, hemorragias vaginales, gripes, fiebre, cefaleas, constipado, empacho, diarreas, reumatismo, aire, heridas y para reducir la inflamación vaginal (Giron et al., 1991; House et al., 1995).

#### 4.15.2.15.6 Farmacología

El extracto de *V. deppeana* demostró actividad anti-*Gardnerella* a una concentración mayor o igual a 1 mg/mL (Palacios, 2004).

Presenta actividad antibacteriana contra *S. aureus*, pero es inactivo contra *E. coli*, *P. aeruginosa* y *C. albicans*. No se encuentra ninguna actividad contra *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *Microsporium gypseum*, *Trychophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*, *Epidermophyton floccosum* (Fletes, 1990).

#### 4.15.2.15.7 Química

En la literatura revisada no se encontró información.

#### 4.15.2.15.8 Toxicología

En la literatura revisada no se encontró información.

#### 4.15.2.16 *Wigandia urens* var. *caracasana* (R.& P.) HBK. (Hydrophyllaceae).

##### 4.15.2.16.1 Nombres populares

Chichicaste, Chichicaste de caballo, Mata pulga, Ortiga, Ortiga de montaña, Chocón, y Tabaquillo (Standley & Williams, 1970).

#### 4.15.2.16.2 Sinonimias

*W. kunthii* Choisy, Mern. Soc. Phys. Geneve., *W. urens* var. *eu-kunthii*, Brand, Pflanzenr., *W. urens* (R. & P.) Choisy (Standley & Williams, 1970).

#### 4.15.2.16.3 Descripción

Arbusto de 2-5 m de alto, tallo herbáceo, con pelusilla blanca. Hojas alternas, tallo acanalado de 5-60 cm de largo, indentado en la base, agujas en el pecíolo. Flores sésiles, moradas acampanadas de 1-2 cm de ancho, 5 estambres; cáliz persistente, hispido, estigma en clava; ovarios ovoides sedosos, panículas terminales de 50-60 cm de largo. Cápsula oblongo-cónica de 8 cm de largo, bivalva. Semillas numerosas, pequeñas, rugosas y color café (Standley & Williams, 1970).

#### 4.15.2.16.4 Hábitat

Nativa de México a Perú, se encuentra de 70-3000 msnm. En Guatemala se encuentra en Alta Verapaz, Chimaltenango, Guatemala, Huehuetenango, Quetzaltenango, Quiché, Sacatepéquez, San Marcos y Santa Rosa (Standley & Williams, 1970).

#### 4.15.2.16.5 Propiedades y usos medicinales

Se ha empleado contra afecciones sifilíticas, reumatismo e insomnio y en medicina tradicional. También tiene usos ceremoniales y religiosos. Se cultiva ocasionalmente como ornamental. Dado su carácter de planta pionera, se ha propuesto como especie inicial para la recuperación de suelos (Rzedowski & Rzedowski, 2001).

#### 4.15.2.16.6 Farmacología

El tamizaje antibacteriano demuestra que la tintura de las hojas tiene actividad contra *S. typhi*. Se confirma la actividad contra *S. typhi*, *S. pneumoniae*, y *S. pyogenes*. Los mejores solventes son etanol y acetona. La CIM en disco es de 1.25 mg para *S. pyogenes*, y 5 mg para *S. typhi* (Aguilar, 1966).

#### 4.15.2.16.7 Química

Se han aislado tres compuestos: el 2,3-dihidroxi-4-metoxi-6,6,9-trimetil-6h-dibenzo-(b,d)pirano (1), 8-metoxi-2-metil-2-(4-metil-3-ácido-pentenil)-2h-1-benzopirano-6-ol (2) y

4-metoxi-3-(3-metil-2-butenil)-benzoico (3). Las estructuras de los compuestos 1, 2 y 3 se determinaron a partir de datos espectroscópicos y mostró actividad en un ensayo de CCR5 con IC (50) los valores de 33, 46 y 26, respectivamente (Cao, Rossant, Ng, Buss, & Butler, 2003).

Análisis químicos comparativos en sus tipos de hojas revelaron que las hispídas presentan una concentración significativamente mayor de nitrógeno, fósforo y agua que las lisas, aunque en ambos tipos se registraron los mismos compuestos secundarios (flavonoides, fenoles, esteroides y glucósidos). Asimismo, se encontró que la presencia y densidad de tricomas urticantes en las hojas está relacionada con condiciones de baja disponibilidad de agua en el ambiente (Cano & Ovama, 1992).

#### 4.15.2.16.8 Toxicología

Los pelillos de *W. urens* perforan la piel, causando irritación mecánica. La toxicidad aguda de la infusión de hojas por vía oral en ratones a dosis de 1 a 5 g/Kg demostró resultados negativos (Aguilar, 1966).

## 5 JUSTIFICACIÓN

*H. pylori* es una bacteria que infecta alrededor del 50% de la población mundial, y la prevalencia aumenta en países en vías de desarrollo (Perez et al., 2004). En Guatemala la mayoría de la población vive en condiciones de extrema pobreza, generalmente en condiciones de hacinamiento y con poca higiene; las cuales son favorables para la prevalencia de infecciones por dicha bacteria (Schneider et al., 1994).

Existe clara evidencia de su patogenicidad como agente causal de gastritis crónica y úlcera gástrica y duodenal, y cáncer duodenal (Marshall & Warren, 1983).

En la actualidad en Guatemala se cuenta con una gran variedad de plantas medicinales de uso popular para el tratamiento de afecciones gastrointestinales pero es necesario validar científicamente sus usos y propiedades (Cáceres & Girón, 2002; Cáceres et al., 1990).

Por lo anterior se pretende evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* contra *H. pylori* de 16 extractos de plantas nativas y a la vez contribuir al desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas, haciendo uso de los recursos naturales propios del país.

## 6 OBJETIVOS

### 6.1 Objetivo general

Evaluar la actividad antimicrobiana contra *Helicobacter pylori* de los extractos de dieciséis plantas de uso popular en Guatemala para tratar las afecciones gastrointestinales.

### 6.2 Objetivos específicos

- 6.2.1 Aplicar un bioensayo de inhibición por el método de dilución en agar para establecer la actividad contra *H. pylori* de 16 extractos etanólicos.
- 6.2.2 Determinar la concentración inhibitoria mínima de los extractos que resulten activos contra *H. pylori*.



## 7 HIPÓTESIS

Por lo menos uno de los extractos vegetales analizados presenta actividad inhibitoria *in vitro* contra *H. pylori*.

## 8 MATERIALES Y MÉTODOS

### 8.1 Universo de trabajo

Plantas de distintas regiones de Guatemala utilizadas popularmente para el tratamiento de afecciones gastrointestinales.

### 8.2 Muestra

Dieciséis extractos etanólicos de plantas que se seleccionaron en base a su uso, a partir de bases de datos del Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala: *Acalypha guatemalensis*, *Capsicum annuum*, *Cordia dentata*, *Lippia graveolens*, *Petiveria alliacea*, *Phlebodium pseudoaureum*, *Piper jacquemontianum*, *Rauwolfia tetraphylla*, *Salvia lavanduloides*, *Senna alata*, *Simarouba glauca*, *Smilax domingensis*, *Solanum nigrescens*, *Tagetes lucida*, *Vernonia deppeana*, *Wigandia urens*.

Tres cepas de *H. pylori* obtenidos a partir de biopsias de pacientes que participaron en el proyecto FODECYT 048-2008.

### 8.3 Recursos

#### 8.3.1 Humanos

##### 8.3.1.1 Seminaristas

- Mtra. María Larissa Nadejda Monterroso Castillo
- Br. Nydia Anaidé Orózco Morán
- Br. Christa María Leal Salguero
- Sria. Jessica Mariela Rivera Raymundo

##### 8.3.1.2 Asesor

Lic. Armando Cáceres

##### 8.3.1.3 Revisora

Licda. Margarita Paz de Ramírez

#### 8.3.1.4 Colaboradores

- Sra. Norma Marroquín.
- Dra. Carmen de Tercero.
- Dra. Elisa de Rodas.
- Dra. Patricia Vélez.
- Dr. Jorge Gómez

#### 8.3.2 Institucionales

- Laboratorio de Bioensayos del Departamento de Citohistología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.
- Centro Universitario Metropolitano –CUM–, Laboratorio Multidisciplinario y Laboratorio de Patología.
- Laboratorio de Investigación de Productos Naturales –LIPRONAT–, Escuela de Química Farmacéutica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.
- Laboratorio de productos naturales, Farmaya.

### **8.4 Materiales**

#### 8.4.1 Físicos

##### 8.4.1.1 Cristalería

- Vasos de precipitar
- Erlenmeyers
- Balones aforados
- Probetas
- Pipetas volumétrica de 5, 10 y 25 mL

- Tubos de ensayo de 25 mL con tapón de rosca

#### 8.4.1.2 Equipo

- Autoclave
- Balanza semianalítica
- Balanza analítica
- Incubadora
- Incinerador de asas
- Mechero de Bunsen
- Refrigeradora
- Congelador a una temperatura de  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Jarras de vidrio con tapa de rosca
- Estufa
- Microscopio
- Soportes para tinción
- Bandejas para tinción
- Espátula
- Magnetos
- Pipetas automáticas
- Pipeteadores
- Pinzas
- Percolador

- Rotavapor
- Campana de seguridad biológica con flujo laminar
- Vortex o agitador

#### 8.4.1.3 Otros

- Tubos plásticos estériles con tapadera de rosca
- Cajas de Petri desechables estériles
- Cajas de Petri cuadriplate estériles
- Asas bacteriológicas en argolla
- Asas bacteriológicas desechables estériles de 1  $\mu\text{L}$ .
- Palillos de madera
- Portaobjetos
- Papel parafilm
- Tape
- Masking tape
- Goteros
- Puntas azules de 100 a 1000 $\mu\text{L}$ .
- Puntas amarillas de 10 a 100 $\mu\text{L}$
- Papel mantequilla
- Papel aluminio
- Algodón
- Papel filtro

- Papel mayordomo
- Bolsas Ziploc
- Jeringas estériles de 10 mL
- Paños Kimtech CL4

#### 8.4.2 Reactivos

- Agar base Columbia
- Agar Müeller-Hinton
- Sangre de carnero desfibrinada
- Sobres para microaerofilia (Anaerocult A®)
- Caldo urea
- Oxidasa
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30%
- Cristal violeta
- Lugol (solución de yodo)
- Carbol-fucsina
- Alcohol-acetona
- Agua desmineralizada estéril
- Agua desmineralizada
- Solución salina estéril
- Claritromicina
- Etanol al 70%

- Etanol al 95%
- Dimetilsulfóxido (DMSO)
- Metanol
- Estándar de MacFarland 2.0

#### 8.4.3 Microbiológicos

Tres cepas nativas de *Helicobacter pylori* aportadas por el proyecto FODECYT 048-2008.

### 8.5 Metodología

#### 8.5.1 Plantas

##### 8.5.1.1 Preparación de Extractos

- Se seleccionaron 16 plantas populares utilizadas para tratar afecciones gastrointestinales según revisión de literatura.
- Se obtuvieron 14 extractos sólidos del banco de extractos de plantas del departamento de citohistología (ver Tabla No. 2 de Resultados).
- Se obtuvo materia vegetal de *T. lucida* en el LIPRONAT y *Capsicum annuum* recolectado en el municipio de Puerto Barios, Izabal respectivamente.
- Preparación de la materia seca vegetal: Se colocó la materia vegetal a utilizar en un horno, durante el tiempo necesario hasta alcanzar un porcentaje de humedad menor de 5%. Luego se identificaron las plantas molidas con nombre, procedencia, fecha y órgano a utilizar (según el procedimiento de Determinación de Humedad, ver Anexo 1).
- Se pesó la cantidad de materia vegetal a utilizar.
- Percolación (según el procedimiento de extracción continua por percolación, ver Anexo 2)
- Se colocó un poco de algodón en la parte inferior del percolador.

- Se cortó un pedazo de papel filtro en forma circular y cubrir con él el fondo del percolador.
- Se humedeció la materia vegetal con etanol a la concentración determinada en el procedimiento de cuantificación de sólidos.
- Se transfirió todo el material al percolador y cubrió con etanol.
- Se dejó reposar por 18-24 horas.
- Se recolectó en un erlenmeyer todo el disolvente agregado.
- Se agregó el disolvente recuperado al material de extracción en el percolador (se repitió la operación hasta obtener el mayor porcentaje de rendimiento posible).
- Se colocó el material recolectado en el balón del rotavapor.

#### 8.5.1.2 Concentración por rotavapor (según el procedimiento de concentración usando rotavapor, ver Anexo 3)

- Se verificó que estuvieran conectadas todas las conexiones eléctricas.
- Se colocó el balón colector y se fijó con la llave respectiva.
- Se revisó el nivel de agua del baño de calentamiento.
- Se encendió el baño y se mantuvo la temperatura entre 50 – 60°C.
- Se revisó que la llave de alimentación del refrigerante estuviera cerrada.
- Se colocó el balón con la muestra y se sujetó con la llave correspondiente.
- Se puso a girar el balón que contenía la muestra a una revolución adecuada.
- Se conectó el sistema de enfriamiento.
- Se encendió la bomba de vacío cuantas veces fue necesario, hasta que se agotó el disolvente del balón de evaporación.
- Se retiró el balón de evaporación.



- Se colocó el extracto concentrado en un recipiente de vidrio previamente tarado y rotulado.
- Se colocó en una desecadora durante 15 o más días hasta la evaporación total del disolvente.
- Se verificó la consistencia sólida del extracto y se colocó en recipientes previamente tarados y rotulados.
- Se calculó el porcentaje de recuperación de cada uno de los extractos.

#### 8.5.2 Obtención de las cepas de *H. pylori* y condiciones de cultivo

Las tres cepas de *H. pylori* utilizadas formaban parte del cepario criopreservado del proyecto FODECYT 048-2008 las cuales fueron identificadas por metodologías de histoquímica y PCR.

##### 8.5.2.1 Descongelamiento de cepas (Spengler, Gross, & Kaltwasser, 1992)

- Se descongelaron los viales de *H. pylori* que se encontraban en caldo Brucella con glicerol al 17%.
- Inmediatamente se colocaron en una microcentrífuga a 5000 rpm durante 3 minutos a 3°C.
- Se pipetearon 80 µL del fondo del vial.
- Luego se vertieron en una caja de agar sangre de carnero al 5%, distribuyéndose por la técnica de estriado en placa.
- Se incubó con Jarra de vidrio con sobre para generación de anaerobiosis (Anaerocult A) a 37°C durante 7 días.
- Se realizó un subcultivo para el mantenimiento de las cepas, tomando un inóculo de colonias considerable e inoculándolo en caldo Brucella, para luego repetir los pasos anteriormente descritos.
- Las cepas reactivadas fueron identificadas por su crecimiento característico, por la tinción de Gram modificado y pruebas bioquímicas de oxidasa, catalasa y urea.

### 8.5.2.2 Preparación del inóculo

Se preparó una suspensión en solución salina equivalente a un estándar de MacFarland 2.0, conteniendo entre  $1 \times 10^7$  a  $1 \times 10^8$  UFC/mL, preparado a partir de un subcultivo de *H. pylori* en agar sangre de carnero al 5% (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009).

### 8.5.3 Ensayo de actividad antibacteriana por el método de dilución en agar

#### 8.5.3.1 Determinación de la susceptibilidad a Claritromicina *in vitro* (CLSI, 2009). (Anexo 4 y Anexo 5).

- Se preparó una solución madre a una concentración de 5120  $\mu\text{g}$  de claritromicina/mL utilizando como disolvente metanol y amortiguador de fosfato (a una concentración de 0.1 mol/L) pH 6.5 (1:4).
- Se realizaron diluciones a partir de una solución madre de claritromicina, utilizando como diluyente agua destilada estéril, almacenándolas en tubos estériles.
- Se preparó agar Müeller-Hinton (MH) de acuerdo a las instrucciones del fabricante.
- Se agregó la sangre de carnero al 5% v/v cuando el agar MH se encontraba a una temperatura entre 35-45°C.
- Se agregó a las cajas previamente identificadas 2 mL de la dilución de la claritromicina, con pipeta estéril se sirvió 18 mL de agar sangre de carnero al 5%, se agitó con movimiento en forma de 8.
- Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se evitó la condensación de agua.
- Se incubaron controles a 36°C durante 24 horas.
- Se inoculó 1  $\mu\text{L}$  de la suspensión de *H. pylori* en forma de estría con asa calibrada. Se repitió directamente en cada una de las cajas de agar que contienen las distintas concentraciones de Claritromicina.
- Se incubó con Jarra de vidrio con sobre de Anaerocult A a 37°C durante 7 días (Castillo-Juarez et al., 2009; Mahady et al., 2005; Atapour et al., 2009; CLSI, 2009).

### 8.5.3.2 Ensayo de actividad contra *H. pylori* por los extractos de plantas

Los extractos fueron evaluados con el método de dilución en agar según el procedimiento de tamizaje de la actividad antibacteriana *in vitro* (Anexo 6) y de acuerdo a las recomendaciones del CLSI (Castillo-Juarez et al., 2009; Mahady et al., 2005; Atapour et al., 2009; CLSI, 2009).

- Se realizó una solución madre del extracto a una concentración 4000 µg/mL utilizando como disolvente DMSO y etanol 70% (1:3).
- Se preparó agar Müeller-Hinton de acuerdo a las instrucciones del fabricante.
- Se agregó la sangre de carnero al 5% v/v cuando el agar MH se encontraba a una temperatura entre 35-45°C.
- Se agregó a las cajas previamente identificadas 0.5 mL de la solución madre del extracto más 1.5 mL de agua estéril, para obtener una concentración final en el agar de 100 µg /mL.
- Con pipeta estéril se sirvieron 18 mL de agar sangre de carnero al 5%, se agitó con movimiento en forma de 8.
- Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se evitó la condensación de agua.
- Se incubaron controles a 36°C durante 24 horas.
- Se inoculó 1 µL de la suspensión de *H. pylori* en forma de estría con asa calibrada. Se repitió directamente en cada una de las cajas de agar que contenían las distintas concentraciones del extracto correspondiente.
- Se incubó con Jarra de vidrio con sobre para generación de anaerobiosis (Anaerocult A) a 37°C durante 7 días.

### 8.5.3.3 Determinación de concentración inhibitoria mínima (CIM) para extractos con actividad positiva

Se determinó la CIM de los extractos que resultaron con actividad positiva, para ello se realizaron diluciones utilizando como diluyente agua destilada estéril en tubos estériles con tapadera de rosca según el procedimiento de CIM (Ver Anexo 7) y de acuerdo a las recomendaciones del CLSI (Castillo-Juarez et al., 2009; Mahady et al., 2005; Atapour et al., 2009; CLSI, 2009).

- Se preparó agar Müeller-Hinton de acuerdo a las instrucciones del fabricante.
- Se agregó la sangre de carnero al 5% v/v cuando el agar MH se encontraba a una temperatura entre 35-45°C.
- Se agregó a las cajas previamente identificadas el volumen del extracto de acuerdo al anexo dos para obtener las concentraciones finales deseadas.
- Con pipeta estéril se sirvieron 18 mL de agar sangre de carnero al 5%, y se agitó con movimiento en forma de 8.
- Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se evitó la condensación de agua.
- Se incubaron controles a 36°C durante 24 horas.
- Se inoculó 1 µL de la suspensión de *H. pylori* en forma de estría con asa calibrada. Se repitió directamente en cada una de las cajas de agar que contienen las distintas concentraciones del extracto.
- Se incubó con Jarra de vidrio con sobre de Anaerocult A a 37°C durante 7 días.
- Se interpretó de acuerdo al inciso 8.5.4.4.

### 8.5.3.4 Interpretación (Castillo-Juarez et al., 2009; Mahady et al., 2005; Atapour et al., 2009; CLSI, 2009).

- Se utilizó como control de actividad positiva una caja de agar sangre de carnero a 5% con claritromicina en concentraciones  $>0.12 \mu\text{g/mL}$  (ver Anexo 5).

- Se utilizó como control de actividad negativo una caja de agar sangre de carnero a 5% que contenía únicamente los disolventes utilizados en los extractos en las mismas proporciones, así mismo la utilización de agar sangre al 5% sin ningún aditivo y con ello la presencia del microorganismos.

## 8.6 Diseño estadístico

### 8.6.1 Tipo de estudio

Estudio experimental, diseño totalmente al azar. De los extractos que resultaron positivos (inhibición completa del crecimiento bacteriano) se determinó la CIM. Se utilizaron los extractos de 16 plantas utilizadas popularmente para el tratamiento de afecciones gastrointestinales. El número mínimo de repeticiones para cada ensayo con los extractos fue 5, según la tabla de la función de distribución acumulada de la probabilidad binomial, para un nivel  $\alpha=0.05$ .

### 8.6.2 Variables

Variable independiente: Extractos etanólicos de 16 plantas medicinales utilizadas popularmente para tratar afecciones gastrointestinales en Guatemala.

Variable dependiente: Actividad contra *H. pylori* de los extractos de plantas.

### 8.6.3 Análisis de resultados

Se realizó una prueba de hipótesis binomial, donde  $H_0: p \leq 0.5$  (con crecimiento bacteriano-inactivo-) y  $H_a: p > 0.5$  (sin crecimiento bacteriano-activo-). Si la hipótesis nula no fue rechazada, se dijo que los datos sobre los cuales se basa la prueba no proporcionaron evidencia suficiente que cause el rechazo, a efectos de investigación, esto significa que para rechazar la hipótesis nula y referir que el extracto tiene efecto, se debió tener 5 éxitos, al nivel  $\alpha=0.05$  seleccionado. La hipótesis alterna se creyó cierta si los datos de la muestra llevaron al rechazo de la hipótesis nula. El ensayo para la CIM fue similar al primero pero con diluciones seriadas a partir de 100  $\mu\text{g/mL}$ .

## 9 RESULTADOS

A partir de la revisión de la descripción etnobotánica de un universo de plantas de distintas regiones de Guatemala, utilizadas popularmente para el tratamiento de afecciones gastrointestinales, fueron seleccionadas dieciséis plantas para evaluar su actividad anti-*Helicobacter pylori* (Tabla 1).

De los dieciséis extractos utilizados, catorce fueron obtenidos del banco de extractos del Departamento de Citohistología y los dos extractos restantes fueron preparados por el método de percolación utilizando etanol al 70%, obteniendo menstros que se concentraron en un rotavapor, consiguiéndose extractos a punto de miel, de color café, olor dulce característico y de consistencia blanda. El rendimiento de los extractos obtenidos a partir de *C. annuum* y *T. lucida* fueron un 5.01% y 27.24% respectivamente (Tabla 2).

Del cepario de *H. pylori* identificado por pruebas de histoquímica y PCR por el proyecto FODECYT 048-2008, fueron sometidas varias cepas a descongelación para su recuperación, seleccionando tres cepas (62, 64, 68) que mostraron mejores niveles de crecimiento, las cuales fueron subcultivadas, sometidas a pruebas bioquímicas y de sensibilidad a claritromicina (Tabla 3).

Los extractos de *C. dentata* y *S. nigrescens* mostraron actividad *in vitro* contra *H. pylori* a una concentración de 100 µg/mL. Los otros extractos no presentaron inhibición de crecimiento de *H. pylori* (Tabla 4).

Al realizar la estimación de la CIM se encontró que los extractos que poseen actividad no presentaron inhibición a concentraciones menores (Tabla 4).

Tabla 1. Principales características de plantas utilizadas para tratamiento de desórdenes gastrointestinales.

Nombre científico	Familia	Nombre común	Uso tradicional <sup>a</sup>	Región de hábitat <sup>b</sup>
<i>Acalypha guatemalensis</i> Pax & Hoffm.	Euphorbiaceae	Hierba del cáncer	DE, PA, PE, G	N, C, NC, SU, SO
<i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>aviculare</i> (Dierb.)	Solanaceae	Chiltepe	AN	P, SU, C, NC, SO
<i>Cordia dentata</i> Poir.	Boraginaceae	Uvito	AN	SO, SU, P
<i>Lippia graveolens</i> HBK.	Verbenaceae	Orégano	DI, PA, PE	P, NO
<i>Petiveria alliacea</i> L.	Phytolaccaceae	Apacin	CE, PE, AN	N, NO, C, P, SU, SO
<i>Phlebodium pseudoaureum</i> (Cav.) Lellinger.	Polypodiaceae	Calaguala	PE, AN	N, C, NO, NC, SU, SO
<i>Piper jacquemontianum</i> HBK.	Piperaceae	Cordoncillo	DI, PA, II	N, P, NO
<i>Rauvolfia tetraphylla</i> L.	Apocynaceae	Amatillo	PA, PE	N, C, NO, NC, SU, P, SO
<i>Salvia lavanduloides</i> HBK.	Lamiaceae	Salvia de monte	DE, DI, AN	N, NO, SU, C, SO, NC
<i>Senna alata</i> L.	Caesalpiaceae	Taratana	DE	NO
<i>Simarouba glauca</i> DC.	Smirubaceae	Jocote de mico	DI, PA, PE	P, NO, N, SU, SO
<i>Smilax domingensis</i> Willd.	Smilacaceae	Zarzaparrilla	DE, DI	N, NO, C
<i>Solanum nigrescens</i> Mart & Gal.	Solanaceae	Quilete, macuy	G, U, DI, PE	SO, NC
<i>Tagetes lucida</i> Cav.	Asteraceae	Pericón	DE, DI, PA, II, PE	P, SU, C, NC, SO
<i>Vernonia deppeana</i> Less.	Asteraceae	Suquinay	DE, DI	C, NC, SO, N, NO, SU
<i>Wigandia urens</i> var. <i>caracasana</i> (R&P.) HBK.	Hydrophyllaceae	Chichicaste	AN	N, C, NC, SO, SU.

Fuente: Aguilar, 1966; Alcorn, 1984; Cáceres, 1996; Gupta, 1995; Instituto Indigenista Nacional, 1994; House et al., 1995; Martínez, 1992; Morton, 1981; Nelson, 1986; Ocampo & Maffioli, 1987; Orellana, 1998; Ronquillo et al., 1988; Standley, 1946.

<sup>a</sup>: Afecciones gástricas: G: gastritis; U: úlcera duodenal/estomacal; DE: dolor estomacal; DI: diarrea; PA: parásitos; II: infecciones intestinales; CE: cáncer estomacal; PE: problemas estomacales; AN: analgésico.

<sup>b</sup>: N: Norte; NO: Nororiente; SU: Suroriente; C: Central; SO: Suroccidente; NC: Noroccidente; P: Petén.

Tabla 2. Rendimiento presentado por los extractos empleados.

Nombre	Parte utilizada	ID	Rendimiento
		Herbario	(%) <sup>c</sup>
<i>Acalypha guatemalensis</i>	Hoja	228 <sup>a</sup>	22.20
<i>Capsicum annuum</i>	Fruto	56772 <sup>b</sup>	5.01
<i>Cordia dentata</i>	Hoja	50375 <sup>b</sup>	8.22
<i>Lippia graveolens</i>	Hoja	620 <sup>a</sup>	9.20
<i>Petiveria alliacea</i>	Hoja	45324 <sup>b</sup>	15.59
<i>Phlebodium pseudoaureum</i>	Hoja	31490 <sup>b</sup>	11.87
<i>Piper jacquemontianum</i>	Hoja	1098 <sup>a</sup>	8.57
<i>Rauvolfia tetraphylla</i>	Hoja	437 <sup>a</sup>	ND
<i>Salvia lavanduloides</i>	Hoja/Flor	735 <sup>a</sup>	17.70
<i>Senna alata</i>	Hoja	154 <sup>a</sup>	17.77
<i>Simarouba glauca</i>	Hoja	53379 <sup>b</sup>	ND
<i>Smilax domingensis</i>	Hoja	662 <sup>a</sup>	34.10
<i>Solanum nigrescens</i>	Hoja	1127 <sup>a</sup>	50.00
<i>Tagetes lucida</i>	Hojas/Flor	48052 <sup>b</sup>	27.24
<i>Vernonia deppeana</i>	Hoja	406 <sup>a</sup>	8.30
<i>Wigandia urens</i>	Flor	1132 <sup>a</sup>	18.02

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

<sup>a</sup> Número de herbario: Herbario de Farmaya (CFEH).

<sup>b</sup> Número de herbario: Herbario de Biología de Guatemala (BIGU) de la Escuela de Biología, Facultad de CCQQ y Farmacia, USAC.

<sup>c</sup> %: porcentaje

<sup>ND</sup>: Datos no disponibles por pertenecer al banco de extractos del Departamento de Citohistología



Tabla 3 Concentración inhibitoria mínima *in vitro* de claritromicina

Claritromicina $\mu\text{g/mL}^a$	Cepa ID.		
	62	64	68
256	NC	NC	NC
128	NC	NC	NC
64	NC	NC	NC
32	NC	NC	NC
16	NC	NC	NC
08	NC	NC	NC
4	NC	NC	NC
2	NC	NC	NC
1	NC	NC*	NC
0.5	NC	HC	NC
0.25	NC*	HC	NC
0.125	HC	HC	NC*
0.0625	HC	HC	HC
0.03125	HC	HC	HC
0.015625	HC	HC	HC
0.0078125	HC	HC	HC

Fuente: Datos obtenidos en el estudio.

HC: Hubo crecimiento

NC: No presentó crecimiento

<sup>a</sup> $\mu\text{g/mL}$ : microgramos por mililitro

\*Concentración inhibitoria mínima significativa ( $p= 0.0312$ )

Tabla 4. Demostración de la actividad anti-*H. pylori* en las tres cepas evaluadas y concentración inhibitoria mínima de los extractos etanólicos.

No.	Planta	Parte utilizada	ID. Cepas <sup>a</sup>			Actividad	
			62	64	68	100 µg/mL <sup>b</sup>	CIM <sup>c</sup> µg/mL
1	<i>Acalypha guatemalensis</i>	Hojas	HC	HC	HC	Negativa	-
2	<i>Capsicum annuum</i>	Fruto	HC	HC	HC	Negativa	-
3	<i>Cordia dentata</i>	Hojas	NC	NC	NC	Positiva	100*
4	<i>Lippia graveolens</i>	Hojas	HC	HC	HC	Negativa	-
5	<i>Petiveria alliacea</i>	Hojas	HC	HC	HC	Negativa	-
6	<i>Phlebodium pseudoaureum</i>	Hojas	HC	HC	HC	Negativa	-
7	<i>Piper jacquemontianum</i>	Hojas	HC	HC	HC	Negativa	-
8	<i>Rauvolfia tetraphylla</i>	Raíz	HC	HC	HC	Negativa	-
9	<i>Salvia lavanduloides</i>	Hojas y flores	HC	HC	HC	Negativa	-
10	<i>Senna alata</i> ,	Hojas	HC	HC	HC	Negativa	-
11	<i>Simarouba glauca</i>	Hojas	HC	HC	HC	Negativa	-
12	<i>Smilax domingensis</i>	Hojas	HC	HC	HC	Negativa	-
13	<i>Solanum nigrescens</i>	Hojas	NC	NC	NC	Positiva	100*
14	<i>Tagetes lucida</i>	Hojas y flores	HC	HC	HC	Negativa	-
15	<i>Vernonia deppeana</i>	Hojas	HC	HC	HC	Negativa	-
16	<i>Wigandia urens</i>	Flor	HC	HC	HC	Negativa	-

Fuente: Datos obtenidos en el estudio.

<sup>a</sup>Crecimiento presentado por las tres cepas de *H. pylori* identificadas como 62, 64 y 68.

<sup>b</sup>µg/mL: microgramos por mililitro

<sup>c</sup>CIM: Concentración inhibitoria mínima

HC: Hubo crecimiento

NC: No presentó crecimiento

\* Actividad inhibitoria significativa (p= 0.0312)

## 10 DISCUSIÓN

*H. pylori* es uno de los principales agentes etiológicos de la gastritis crónica activa, úlcera péptica y además esta asociado al carcinoma gástrico (Marshall & Warren, 1983; Rauws et al., 1998). Generalmente se utiliza para su tratamiento una terapia triple que consiste en dos antibióticos y un inhibidor de la bomba de protones, encontrándose a nivel mundial un incremento constante en la resistencia a los antibióticos (Castillo-Juarez et al., 2009). Recientemente se han llevado a cabo en varios países, investigaciones de plantas medicinales tradicionalmente utilizadas para el tratamiento de afecciones gastrointestinales con el objetivo de determinar la actividad contra *H. pylori*, y así contribuir al desarrollo de información sobre posibles recursos terapéuticos contra este agente. (Ankli et al., 2002; Castillo-Juarez et al., 2009; Mahady et al., 2005; Stamatis et al., 2003; Nostro et al., 2005; Yesilada et al., 1999; Zaidi et al., 2009; Atapour et al., 2009; Li et al., 2005).

En Guatemala esta investigación forma parte de los estudios iniciales que buscan tamizar un número significativo de plantas nativas utilizadas tradicionalmente para el tratamiento de afecciones gastrointestinales, en busca de actividad contra *H. pylori*.

Las especies botánicas a estudiarse se obtuvieron de una base de datos perteneciente al Departamento de Citohistología, la cual está estructurada según el uso popular tradicional en la población guatemalteca, seleccionando para el estudio dieciséis plantas relacionadas con afecciones gástricas crónicas.

La metodología de esta investigación está basada en las recomendaciones realizadas por el CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute por sus siglas en inglés), habiéndose utilizado en diferentes estudios de esta materia, (Castillo-Juarez et al., 2009; Mahady et al., 2005). La susceptibilidad a la claritromicina fue evaluada en las tres cepas utilizadas, mostrándose una cepa como resistente (64) y dos sensibles (62 y 68). En el bioensayo se encontró actividad inhibitoria significativa ( $p= 0.0312$ ) *in vitro* contra *H. pylori* en *S. nigrescens* y *C. dentata*, ambas a una concentración de 100  $\mu\text{g/mL}$ . Por lo anterior se puede considerar que tienen una actividad moderada comparado con los valores obtenidos con la claritromicina (Castillo-Juarez et al., 2009).

Aunque el CLSI ha hecho importantes recomendaciones para estandarizar los procedimientos de análisis de susceptibilidad antimicrobiana, y algunos estudios en plantas han comenzado a aplicar estas metodologías, los estudios *in vitro* aún carecen de una normalización que permita iniciar comparaciones significativas de actividad. Debido a que estas directrices son propuestas para las pruebas de compuestos puros, su estricta utilización debe ser ajustada en el caso de extractos crudos de plantas, principalmente en el caso de los extractos apolares, donde su solubilidad es limitada en el método de dilución en agar recomendada por el CLSI (Castillo-Juarez et al., 2009).

En vista de esto, es necesario estandarizar un método confiable para probar la actividad *in vitro* de extractos de plantas contra *H. pylori*. El método de dilución en agar utilizado en este estudio permite la utilización de la mayor parte del extracto etanólico a prueba, por lo que esta metodología es un buen candidato para la detección de rutina empleando extractos polares.

En estudios anteriores se ha demostrado que la decocción y tintura de las hojas de *S. nigrescens* presenta actividad contra levaduras como *C. albicans* (Ake et al., 1985; Girón, 1983); y *Cryptococcus neoformans* (Cooney et al., 1991). La actividad antifúngica es atribuida a un glicócido de espirostanol, la cantalosaponina 3 (He et al., 1994; Bérdy et al., 1980). La actividad antibiótica contra *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *S. pyogenes* (Cáceres et al., 1990; Cáceres et al., 1987; Cáceres et al., 1991) es atribuida al alcaloide  $\alpha$ -solanina (Bérdy et al., 1980; Giron et al., 1991; Germosén-Robineau, 2005).

Respecto a *C. dentata* no se ha encontrado ningún reporte sobre la actividad antibacteriana, sin embargo, entre otras especies de este género como *C. alliodora* se ha reportado actividad larvicida y antifúngica (Ioset, Marston, Gupta, & Hostettmann, 2000).

En las catorce plantas que no presentaron actividad contra *H. pylori* no se descarta que puedan actuar por otros mecanismos, tales como efecto desinflamante, neutralizante de la acidez, inhibidor de la bomba de protones y actividad antiadherente, que contribuyen al tratamiento sintomatológico de las diferentes afecciones que provoca.

## 11 CONCLUSIONES

1. De los dos extractos etanólicos realizados *Tagetes lucida* presentó un 27% de rendimiento, mientras que *Capsicum annuum* presentó solamente un 5%.
2. Los extractos etanólicos de *Cordia dentata* y *Solanum nigrescens* prestaron actividad inhibitoria significativa ( $p= 0.0312$ ) contra *H. pylori*, con una CIM de 100  $\mu\text{g/mL}$ .
3. La hipótesis planteada se acepta porque dos extractos de las 16 especies vegetales presentaron actividad *in vitro* contra *H. pylori*.

## 12 RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio de fraccionamiento bioguiado de *C. dentata* y *S. nigrescens* para establecer las fracciones o moléculas a las cuales se les puede atribuir la actividad mostrada.
2. Evaluar si las plantas que no mostraron actividad contra *H. pylori*, poseen otros mecanismos que puedan contribuir a tratar las diferentes afecciones que provoca la infección, por ejemplo: mecanismos inhibidores de la ureasa, destrucción de la pared celular, interferencias en la adherencia celular y modulación del sistema inmune.
3. Continuar con el tamizaje de actividad anti-*H. pylori* por especies vegetales usadas en el tratamiento de afecciones gástricas crónicas en Guatemala.

### 13 REFERENCIAS

- Abatan, M. O. (1990). A note on the anti-inflammatory action of plants of some *Cassia* species. *Fitoterapia*, 61 (4), 336-338.
- Abdala, L. R. (1999). Flavonoids of the aerial parts of *Tagetes lucida* (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 27 (7), 753-754.
- Abdalla, S., Marco, F., Perez, R. M., Piqué, J. M., Bordas, J. M., Jimenez de Anta, M. T., & Teres, J. (1989). Rapid detection of gastric *Campylobacter pylori* colonization by a simple biochemical test. *Journal of Clinical Microbiology*, 11 (27), 2604-2605.
- Adedayo, O., Anderson, W. A., Moo-Young, M., & Kolawole, D. O. (1999). Antifungal properties of some components of *Senna alata* flower. *Pharmaceutical Biology*, 37 (5), 369-374.
- Aguilar, J. I. (1966). *Plantas medicinales. Relación de unos aspectos de la flora útil de Guatemala*. (Ministerio de Agricultura, Ed.) Guatemala: Ministerio de Agricultura.
- Ake Assi, L., Chibon, P., Cuffy, S., Darnault, J. J., Edwards, M. J., & Etienne, C. (1985). *Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques à la dominique*. Paris: ACCT.
- Alcorn, J. B. (1984). *Huastec Mayan ethnobotany*. Austin-U.S, University of Texas Press.
- Alper, J. (1998). Effort to combat microbial resistance lags. *American Society for microbiology*, 64 (2), 440-441.
- Álvarez, X. A., Franco, A., Fernández, L., & Cacabelos, R. (1992). Effects of Anapsos on behavior and brain cytokines in rats. *Annals of Clinical Psychiatry*, 3 (4), 329-334.
- Ankli, A., Heinrich, M., Bauerfeind, P., Brun, R., Schmid, C., Weiss, C., ... Sticher, O. (2002). Yucatec Mayan medicinal plants; evaluation based on indigenous uses. *Journal of Ethnopharmacology*, 79 (1), 43-52.
- Arriaza, D. A. (1983). *Acción diurética y antimicrobiana de algunos vegetales del género Smilax*. Tesis de graduación, Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.

Arteche, A. (1998). *Fitoterapia. Vademécum de prescripción*. Bilbao: CITA.

Atapour, M., Zahedi, M., Mehrabani, M., Safavi, M., Keuvanfar, V., Foroughi, A., ... Foroumadi, A. (2009). *In vitro* susceptibility of the Gram-negative bacterium *Helicobacter pylori* to extracts of Iranian medicinal plants. *Pharmaceutical Biology*, 47 (1), 77-80.

Atherton, J. C. (1997). Non-endoscopic test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 11 (Suppl.1:), 11-20.

Bérdy, J., Aszalos, A., Bostian, M., & McNitt, K. (1980). *CRC Handbook of antibiotic compounds* (Vol. 1). Boca Ratón, Florida, USA: CRC Press.

Bermejo, F., Boixeda, D., Gisbert, J. P., Defarges, V., De Argila, C. M., Sanz, J. M., & García, A. (2000). Patogenia y diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*. *Medicina Clínica*, 115 (6), 201-204.

Bicchi, C., Fresia, M., Rubiolo, P., Monti, D., Franz, C., & Goehler, I. (1997). Constituents of *Tagetes lucida* Cav. ssp. *lucida* essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, 12 (1), 47-52.

Blazer, M. J. (1992). *Helicobacter pylori*; its role in disease. *Clinical Infectious Diseases*, 15 (3), 386-392.

Bouachanh, T., Jean, P., Desmasure, N., & Micheline, G. (2004). Resin straw as an alternative system to securely store frozen microorganisms. *Journal of Microbiological Methods*, 57, 181-186.

British Herbal Medicine Association Scientific Committee. (1996). *British Herbal Pharmacopoeia*. London: Author.

Brooks, G. F., Butel, J. S., & Morse, S. A. (2002). Vibriones, campilobacterias, helicobacterias y bacterias relacionadas. In E. Jawetz, & G. F. Brooks (Eds.), *Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg* (17 ed., pp. 299-301 ). México: El Manual Moderno.

Budavari, S., Oneil, M. J., Smith, A., & Heckelman, P. E. (1989). *The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. New Jersey: Merck & Co.



Cáceres, A. (1996). *Plantas de uso medicinal en Guatemala*. Guatemala: Editorial Universitaria.

Cáceres, A. (Ed.). (2006). Propuesta de monografía farmacopéicas de 10 especies vegetales de Centroamérica. 88. Guatemala: OEA.

Cáceres, A. (2006). *Vademécum Nacional de Plantas Medicinales*. Guatemala: Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social & USAC.

Cáceres, A., & Girón, L. (2002). Desarrollo de medicamentos fitoterápicos a partir de plantas medicinales en Guatemala. *Revista de Fitoterapia*, 2 (1), 41-46.

Cáceres, A., & Samayoa, B. (1990). Tamizaje de la actividad antibacteriana de plantas utilizadas en Guatemala para el tratamiento de afecciones gastrointestinales. *Cuadernos DIGI* 6-89, 138. Guatemala.

Cáceres, A., Álvarez, A. V., Ovando, A. E., & Samayoa, B. E. (1991). Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory Diseases. Screening of 68 plants against Gram-positive bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, 31 (2), 193-208.

Cáceres, A., Cano, O., Samayoa, B., & Aguilar, L. (1990). Plants used in Guatemala for the treatment of Gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plantas against enterobacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, 30 (1), 55-73.

Cáceres, A., Figueroa, L., Taracena, A. M., & Samayoa, B. (1993). Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases. 2: Evaluation of activity of 16 plants against Gram-positive bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, 39 (1), 77-82.

Cáceres, A., Girón, L. M., & Martínez, A. M. (1987). Diuretic activity of plants used for the treatment of urinary ailments in Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology*, 19 (3), 233-245.

Cáceres, A., Girón, L. M., Alvarado, S. R., & Torres, M. F. (1987). Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, 20 (3), 223-237.

Cáceres, A., Jauregui, E., Herrera, D., & Logemann, H. (1991). Plants used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal infections 1; Screening of 38 plant extracts for anticandidal activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 33 (3), 277 - 283.

Cáceres, A., López, B. R., Girón, M. A., & Logemann, H. (1991). Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. 1. Screening for antimycotic activity of 44 plant extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 31 (3), 263-276.

Cano, Z., & Ovama, K. (1992). Variation in leaf pubescence of *Wigandia urens* (Hydrophyllaceae) and its implications for herbivory. *Oecologia*, 92 (3), 405-409.

Cao, S., Rossant, C., Ng, S., Buss, A., & Butler, M. (2003). Phenolic derivatives from *Wigandia urens* with weak activity against the chemokine receptor CCR5. *Phytochemistry*, 64 (5), 987-990.

Castillo, I., & Romero, I. (2007). Plantas con actividad anti-*Helicobacter pylori*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 80 (1), 35-61.

Castillo-Juarez, I., González, V., Aguilar, J., Martínez, G., Linares, E., Bye, R., & Romero, I. (2009). Anti-*Helicobacter pylori* activity of plants used in Mexican traditional medicine for gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology*, 122 (2), 402-405.

CEMAT-FARMAYA. (1990). *Fichas populares sobre plantas medicinales* (Serie 1). Guatemala.

Chapuis, J. C., Sordat, B., & Hostettmann, K. (1988). Screening for cytotoxic activity of plants used in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 23 (2), 273-284.

Chassay, O., & Durancinsky, M. (2002). Which therapeutic regimen for eradicating *Helicobacter pylori* and cicatrization of a duodenal ulcer; Is there a role for short-term treatment? *La Presse Médicale*, 31 (27), 1277-1281.

Clark, A. M. (1996). Natural products as resource for new drugs. *Pharmaceutical Research*, 13 (8), 1133-1141.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2009). Performance Standards for Antimicrobial susceptibility testing. 29 (3), M100-S19, 91.

Coghlan, J. G., Humphries, H., Dooley, C., Keane, C., Gilligan, D., Mckenna, D., ... O'Morain, C. (1987). *Campylobacter pylori* and recurrence of duodenal ulcers a 12 month follow up study. *The Lancet*, 330 (8568), 1109-1111.

Cohen, H., & Laine, L. (1997). Endoscopic methods for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 11 (Suppl.1), 3-9.

Compadre, C. M., Hussain, R. A., Leon, I., & Enríquez, R. G. (1987). Volatile constituents of *Montanoa tomentosa* and *Lippia graveolens*. *Planta Médica*, 53 (5), 495-496.

Cooney, G., Buckley, H., Brickus, T., & Cáceres, A. (1991). Fungicidal activity of *Solanum* plant extract from Guatemala, C.A. Abstracts. *Pharmacy World Cong '91*, (p. CD52). Washington.

Cordero, J., & Boshier, D. H. (2003). *Árboles de Centroamérica, un Manual para Extensionistas*. Consultado el 4 de Marzo 4 de 2010, de CATIE: [http://herbaria.plants.ox.ac.uk/adc/downloads/capitulos\\_especies\\_y\\_anexos/cordia\\_dentata.pdf](http://herbaria.plants.ox.ac.uk/adc/downloads/capitulos_especies_y_anexos/cordia_dentata.pdf)

Cordon, S. (2000). *Comparación de un test serológico de ELISA vrs. Biopsia gástrica para la detección de Helicobacter pylori*. Tesis de graduación, Universidad de San Carlos de Guatemala, Escuela de Química Biológica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.

Corell, D. S., & Johnston, M. C. (1970). *Manual of the vascular plants of Texas*. (pp. 1881). Texas, USA: Texas Research Foundation.

Cornelius, P., & Cohen, H. (1998). Clinical significance of *Campylobacter pylori*. *Annals of Internal Medicine*, 108 (1), 70-79.

Correa, P., & Haenszel, W. (Eds.) (1982). *Epidemiology of gastric cancer*. The Hague, The Netherlands: Martinus Nijhoff.

- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4), 564-582.
- Cruz, S. M., Cáceres, A., Álvarez, L., Morales, J., Apel, M. A., Henriques, A. T., ... Gupta, M. P. (in press). Chemical composition of essential oil of *Piper jacquemontianum* Kunth and *Piper viriabile* C.D.C., Piperaceae, from Guatemala and bioactivity of the dichloromethane and methanol extracts. *Brasilene de Farmacologia*.
- Czinn, S. J., Dahms, B. B., Jacobs, G. H., Kaplan, B., & Rothstein, F. C. (1986). *Campylobacter*-like organisms in association with symptomatic gastritis in children. *Journal of Pediatrics*, 109 (1), 80-83.
- Damodaran, S., & Venkataraman, S. (1994). A study on the therapeutic efficacy of *Cassia alata* Linn. leaf extract against *Pityriasis versicolor*. *Journal of Ethnopharmacology*, 42 (1), 19-23.
- De Sousa, J. R., Demunerc, A. J., Pinheiro, J. A., Breitmaier, E., & Cassels, B. K. (1990). Dibenzil trisulfide and trans-N methyl-4-methoxyproline from *Petiveria alliacea*. *Phytochemistry*, 29 (11), 3653-3655.
- DeBoir, W. A. (2001). A novel therapeutic approach for *Helicobacter pylori* infection; The bismuth-based triple therapy monocapsule. *Expert Opinion Investigation Drugs*, 10 (8), 1559-1566.
- Del Pino Gamboa, J., De Sambricio, G., Colamo, F., & Gómez, C. (1982). Comparison of *Polypodium leucotomos* extract with placebo in 37 cases of psoriasis. *Medicina cutánea Ibero-latinoamericana*, 10 (3), 203-208.
- Delaveau, P., Lallouette, P., & Tessier, A. M. (1980). Stimulation of the phagocytic activity of reticuloendothelial system by plant drugs. *Planta Medica*, 40 (1), 49-54.
- Dieseldorff, E. P. (1977). Las plantas medicinales del departamento de Alta Verapaz. Guatemala. 52. Guatemala: Tipografía nacional.
- Dominguez, X. A., Sánchez, V., Suárez, M., Baldas, J. H., & González, M. R. (1989). Chemical constituents of *Lippia graveolens*. *Planta Medica*, 55 (2), 208-209.

- Drouin, E. (1999). *Helicobacter pylori* Novel therapies. *The Canadian Journal of Gastroenterology*, 13 (7), 581-583.
- Dubois, A. (1995). Spiral bacteria in the human stomach; The gastric Heliobacters. *Emerging Infectious Diseases*, 1 (3), 79-85.
- Duke, J. A. (1985). *CRC Handbook of Medicinal Herbs*. Boca Ratón, Florida, USA: CRC Press.
- Dunn, B. E., Cohen, H., & Blaser, M. J. (1997). *Helicobacter pylori*. *Clinical Microbiology Reviews*, 10 (4), 720-741.
- Eisenberg, D. M., Kessler, R. C., Foster, C., Norlock, F. E., Calkings, D. R., & Delbanco, T. L. (1993). Unconventional medicine in the United States: prevalence, costs and patterns of use. *The New England Journal of Medicine*, 328 (4), 246-252.
- Ernst, P. (1999). The role of inflammation in the pathogenesis of gastric cancer. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 13 (Suppl.1), 13-18.
- Fletes, L. (1990). *Confirmación de la acción antibacteriana in vitro de cuatro plantas de la flora silvestre guatemalteca*. Tesis de graduación, Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Forné, M. (2002). *Diagnóstico de la infección por Helicobacter pylori y tratamiento en pacientes con úlcera duodenal*. Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona, Facultad de Medicina, España.
- Fox, G. (1995). Non-human reservoirs of *Helicobacter pylori*. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 9 (Suppl.2), 93-103.
- Fuentes, A. R. (1989). *Tratamiento de la tiña pedis con zarzaparrilla (Smilax)*. Tesis de graduación, Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas, Guatemala.
- Fuzellier, M. C., Mortier, F., & Lectard, P. (1982). Activité antifongique de *Cassia alata* L. *Annales Pharmaceutiques Francaises*, 40 (4), 357-363.

García, E., Abadia, B., Barahona, R., & Sánchez, S. (2009). Caracterización fitoquímica de factores antinutricionales en las hojas de uvito. (*Cordia dentata* Poir). *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de Córdoba*, 14 (1), 1611-1623.

García, J. M., Alarcón, T., & Lopez, M. (2003). La infección por *Helicobacter pylori*. *Biopress*, 8 (1), 1.

Genta, R. M., & Graham, D. Y. (1994). *Helicobacter pylori*; the new bug on the (paraffin) block. *Virchows Archive*, 425 (4), 339-347.

Genta, R. M., Hammer, H. W., & Graham, D. Y. (1993). Gastric lymphoid follicles in *Helicobacter pylori* infection; Frecuency, distribution and response to triple therapy. *Human Pathology*, 24 (7), 577-583.

Germano, D. H., Caldeira, T. T., Mazella, A. A., Sertie, J. A., & Bacchi, E. M. (1993). Topical anti-inflammatory activity and toxicity of *Petiveria alliacea*. *Fitoterapia*, 64 (5), 459-462.

Germosén-Robineau, L. (Ed.). (2005). *Farmacopea vegetal caribeña. TRAMIL* (2 ed.). Nicaragua: Editorial Universitaria.

Girón, L. (1983). *Investigación de la inhibición de C. albicans por preparaciones de plantas usadas en la medicina popular*. Tesis de graduación, Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.

Giron, L. M., Freire, V., Alonzo, A., & Cáceres, A. (1991). Ethnobotanical survey of the medicinal flora used by the Caribs of Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology*, 34 (2), 173-187.

Glasby, J. S. (1991). *Dictionary of plants containing secondary metabolites*. London: Tylor & Francis.

Goh, K. L. (2002). Update on the management of *Helicobacter pylori* infection including drug-resistant organisms. *Journal of Gastroenterology Hepatology*, 17 (4), 482-487.

Goodwing, C. S., & Armstrong, J. A. (1990). Microbiological aspects of *Helicobacter pylori* (*Campylobacter pylori*). *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 9 (1), 1-13.

Graham, D. Y., Rakel, R. E., & Fendrick, A. M. (1999). Practical advice on eradicating *Helicobacter pylori* infection. *Postgrado Medical*, 3 (6), 137-148.

Gupta, M. (1995). 270 Plantas medicinales Iberoamericanas. Bogotá: CYTED-SECAB.

Gúzman, D. J. (1975). *Especies utiles de la Flora Salvadoreña*. San Salvador: Ministerio de Educación.

Hadad, F., Diaz, L., Ramos, R., Ancajima, J., & Chero, J. (2004). Prevalencia de serología para *Helicobacter pylori* en trabajadores de una refinera de zinc. *Revista Medica Herediana*, 15 (3), 151-154.

Hartwell, J. L. (1982). *Plants used against cancer*. Lawrence, Quarterman Publications.

He, X., Mocek, U., Floss, H. G., Cáceres, A., Girón, L., Buckley, H., ... Wilson, B. (1994). An antifungal compound from *Solanum nigrescens*. *Journal of Ethnopharmacology*, 43 (3), 173-177.

Hernández, F., & Rivera, P. (2003). Historial natural de la infección por *Helicobacter pylori*. *Revista costarricense de Ciencias Médicas*, 24 (3), 149-165.

Hethelyi, E., Dános, P., & Tétényi, I. (1986). GC/MS analysis of essential oils of some *Tagetes* species. In E. J. Brunke, *Progress in Essential Oil Research* (pp. 131-137). Berlin: Walter de Gruyter.

Horvath, A., Alvarado, F., Szocs, J., De Alvarado, Z. N., & Padilla, G. (1967). Metabolic effects of calagualine, an antitumoral saponin of *Polypodium leucotomos*. *Nature*, 214 (5094), 1256-1258.

House, P. R., Lagos-witte, S., Mejia, T., Ochoa, L., Rivas, M., & Torres, C. (1995). *Plantas Medicinales Comunes de Honduras*. Tegucigalpa.

- House, P., & Lagos-Witte, S. (1989). *Manual de 50 plantas medicinales de Honduras*. Tegucigalpa.
- Ibrahim, D., & Osman, H. (1995). Antimicrobial activity of *Cassia alata* from Malaysia. *Journal of Ethnopharmacology*, 45 (3), 151-165.
- Instituto Indigenista Nacional. (1978). Aspectos de la medicina popular en el área rural de Guatemala. 13, 1-617. Guatemala: Guatemala indígena.
- Instituto Indigenista Nacional. (1994). *Atlas de la Medicina tradicional Mexicana* (1a. ed. Vol. 1).
- Ioset, J. R., Marston, A., Gupta, P., & Hostettmann, K. (2000). Antifungal and Larvicidal Compounds from the Root Bark of *Cordia alliodora*. *Journal of Natural Products*, 63 (3), 424-426.
- Jiménez, D., Naranjo, R., Doblaré, E., C, M., & Vargas, J. F. (1987). Anapsos, an antipsoriatic drug in atopic dermatitis. *Allergologia et Immunopathologia*, 15 (4), 185-189.
- Kabir, A. M., Aiba, Y., Takagi, A., Kamiya, S., Miwa, T., & Koga, Y. (1997). Prevention of *Helicobacter pylori* infection by lactobacilli in a gnotobiotic murine model. *Gut*, 41 (1), 49-55.
- Kalyanasundaram, M., & Das, P. K. (1985). Larvicidal & synergistic activity of plant extract for mosquito control. *Indian Journal of Medical Research*, 7 (1), 134-138.
- Kato, S., Fujimura, S., & Udagawa, H. (2002). Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains in Japanese children. *Journal of Clinical Microbiology*, 40 (2), 649-653.
- Kinoshita, Y., Kawanami, C., Kishi, K., Nakata, H., Seino, Y., & Chiba, T. (1997). *Helicobacter pylori* independent chronological change in gastric acid secretion in the Japanese. *Gut*, 41 (4), 452-458.
- Klink, B. (1997). Alternative medicines: is natural really better? *Drug Top*, 141 (2), 99-100.
- Koneman, E. W., Winn, W., Allen, J., Janda, W., Procop, G., Schreckenberger, P., & Woods, G. (1979). *Diagnostic Microbiology* (5 ed., Vol. 2). Philadelphia: Lippincott-Raven.



Krishna, A., & Jiban, J. (1993). Capsaisin action modulates lipid peroxidation induced by different irritants. *Phytotherapy Research*, 7 (4), 273-277.

Kusters, J. G., Vliet, A., & Kuipers, E. (2006). Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 19 (3), 449-490.

Leung, K. M., Hui, P. K., Chan, W. Y., & Thomas, T. M. (1992). *Helicobacter pylori*- related gastritis and gastric ulcer; a continuum of progressive epithelial degeneration. *American Journal of Clinical Pathology*, 98 (6), 569-574.

Li, Y., Ma, F., Chen, Y., Li, J., Ping, H., De, J., ... Bai, Y. (2005). *In vitro* anti *Helicobacter pylori* activity of extracts of selected medicinal. *Journal of Ethnopharmacology*, 98 (3), 329–333.

Liogier, H. (2002, Noviembre 21). *Secretaría de Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca*. Consultado el 08 de Marzo de 2010, de [www.semarnat.gob.mx/pfnm/vernoniadeppeana.html](http://www.semarnat.gob.mx/pfnm/vernoniadeppeana.html)

Logan, M. H. (1973). Digestive disorders and plant medicinals in Highland Guatemala. *Anthropos*, 68, 537-547.

Long, J. (1998). *Capsicum* y cultura "La historia del Chili" fondo de cultura económica. México: Fondo de Cultura Económica .

López, A. N., Rojas, N. M., & Jiménez, C. A. (1981). Potential antineoplastic activity of Cuban plants IV. *Revista Cubana de Farmacia*, 15 (1), 71-77.

Lot, A., & Chieng, F. (1986). Manual del Herbario. Consejo Nacional de la Flora de México. (pp.11-142). México.

Luqueño, V., Perea, L. M., & López, Y. (1994). *Helicobacter* y bacterias relacionadas. In S., Giono, A., Escobar, & J. L., Valdespino, *Diagnóstico de laboratorio de infecciones gastrointestinales* (1 ed., p. 637). México: INDRE S.A.

Mahady, G., Pendland, S. L., Stoia, A., Hamill, F. A., Fabricant, D., Dietz, B. M., & Chadwick, L. R. (2005). *In vitro* susceptibility of *Helicobacter pylori* to botanical extracts

used traditionally for the treatment of gastrointestinal disorders. *Phytotherapy Research*, 19 (11), 988–991.

Maldonado, E., Cardenas, J., Salazar, B., Toscano, R. A., Ortega, A., Jankowski, C. K., ... Van Calsteren, M. R. (1992). Salvianduline C, A 5,6-Secoclerodane diterpenoid from *Salvia lavanduloides*. *Phytochemistry*, 31 (1), 217-220.

Marshall, B. J., & Warren, J. R. (1983). Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *The Lancet*, 321 (8336), 1273-1275.

Martínez, M. A. (1984). Medicinal plants used in a totonac community of the sierra norte de Puebla: tuzamapan de Galeana, Puebla, Mexico. *Journal of Ethnopharmacology*, 11 (2), 203-211.

Martínez, M. (1992). *Las plantas medicinales de México*. México: Editorial Botas.

Martínez, V., Cobar, O. M., Paz, A. M., Véliz, M. E., Saravia, A., Gaitán, I. C., ... Chigüichón, M. A. (2006). Determinación fitoquímica y de actividad antifúngica de cultivares de *Solanum americanum* Miller y caracterización de preparaciones para la industria fitofarmacéutica. Informe Final de Investigación, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Dirección General de Investigación (DIGI), Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas (IIQB), Guatemala.

Martins, A. P., Salgueiro, L., Vila, R., Tomi, F., Cañigüeral, S., & Casanova, J. (1998). Essential oils from four *Piper* Species. *Phytochemistry*, 49 (7), 2019-2023.

McKinlay, A. W., Upadhyay, R., Gemmell, C. G., & Russell, R. I. (1990). *Helicobacter pylori*: bridging the credibility gap. *Gut*, 31 (8), 940-945.

Medinilla, B. (1993). Evaluación farmacológica y toxicológica *in vitro* de algunas plantas comúnmente empleadas en Guatemala contra malaria. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia*, 9, 7-10.

Megraud, F. (1995). Transmission of *Helicobacter pylori*; faecal-oral versus oral-oral route. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 9 (Suppl.2), 85-91.

- Mégraud, F., & Marshall, B. J. (2000). How to treat *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology Clinics of North America*, 29 (4), 759-773.
- Mejía, J. V. (1927). Geografía de la República de Guatemala. 400. Guatemala: Tipografía Nacional.
- Mellen, G. A. (1974). Uso de plantas medicinales en Guatemala. *Guatemala Indígena*, 9 (2), 102-148.
- Mena Guerrero, M. G. (1994). *Obtención y aprovechamiento de extractos vegetales de la flora salvadoreña* (2 ed.). San Salvador: Editorial Universitaria.
- Mendieta, R. M., & del Amo, S. (1981). *Plantas medicinales del estado de Yucatán*. Xalapa, México: INIREB.
- Meurer, L. N., & Bower, D. J. (2002). Management of *Helicobacter pylori* infection. *American Academy of Family Physicians*, 65 (7), 1327-1336.
- Moreira, D. L., & Kaplan, M. (1998). Essential oil analysis of two *Piper* species (Piperaceae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 70 (4), 751-754.
- Morio, O., Rioux Ledercq, N., Pagenault, M., Corbinais, S., Ramee, M. P., Goseelin, M., & François Bretagne, J. (2004). Prospective evaluation of a new rapid urease test (Pronto Dry) for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 28 (6-7-c1 ), 569-573.
- Morton, J. F. (1981). *Atlas of medicinal plants of Middle America*. Springfield: Charles C. Thomas.
- Morton, J. F. (1977). Some folk-medicine plants of Central American markets. *Pharmaceutical Biology*, 15 (4), 165-192.
- Muir, C. S., Waterhouse, J., Mack, T., Powell, J., & Whelan, S. L. (1987). Cancer incidence in five continents. *International Agencia for Research on Cancer*, 5 (88).
- Murray, P., Baron, E., Jorgensen, J., Pfaller, M., & Tenover, R. C. (2003). *Helicobacter* (8 ed.). Washington: ASM Press.

- Nash, D. L., & Williams, L. O. (1976). Flora of Guatemala. *Fieldiana Botany*, 24 (12), 24-383.
- Ndip, R., Tarkang, A. E., Mbullah, S. M., Luma, H. N., Malongue, A., Ndip, L. M., ... Efange, S. M. (2007). *In vitro* anti-*Helicobacter pylori* activity of extracts of selected medicinal plants from North West Cameroon. *Journal of Ethnopharmacology*, 114 (3), 452-457.
- Nee, M. (1986). Flora de Veracruz. (*Fascículo 49*), 168. Xalapa, Veracruz, México.
- Nelson, C. H. (1986). *Plantas comunes de Honduras. Plantas comunes de Honduras*. Tegucigalpa: Editorial Universitaria.
- Nickell, L. G. (1959). Antimicrobial activity of vascular plants. *Society for Economic Botany*, 13, 281-318.
- Nostro, A., Cellini, L., Di Bartolomeo, S., Cannatelli, M. A., Di Campli, E., Propocio, F., ... Alonzo, V. (2006). Effects of combining extracts (from Propolis or *Zingiber officinale*) with Clarithromycin on *Helicobacter pylori*. *Phytotherapy Research*, 20 (3), 187–190.
- Nostro, A., Cellini, L., Di Bartolomeo, S., Di Campli, E., Grande, R., Cannatelli, M. A., ... Alonzo, V. (2005). Antibacterial effect of plant extracts against *Helicobacter pylori*. *Phytotherapy Research*, 19 (3), 198–202.
- Núñez, M. E. (1986). *Plantas medicinales de Costa Rica y su folklore*. San José, Costa Rica: Editorial de la Universidad de Costa Rica.
- Ocampo, R. A., & Maffioli, A. (1987). *El uso de algunas plantas medicinales en Costa Rica*. San José: Trejos Hnos.
- Ogunti, E. O., & Elujoba, A. A. (1993). Laxative activity of *Cassia alata* (Leguminosae) oil leaf. *Fitoterapia*, 64 (5), 437-439.
- Ogunti, E. O., Aladesanmi, A. J., & Adesanya, S. A. (1991). Antimicrobial activity of *Cassia alata*. *Fitoterapia*, 62 (2), 537-539.
- Okuda, M., & Miyashiro, E. (2001). Breast-feeding prevents *Helicobacter pylori* infection in early childhood. *Pediatrics International*, 43 (6), 714-715.

Oliva, A. M. (1979). *Recopilación botánica y análisis químico cuantitativo de algunas especies de plantas medicinales de Guatemala*. Tesis de graduación, Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.

Olivares, D., & Gisbert, J. (2006). Factores implicados en la patogenia de la infección por *Helicobacter pylori*. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 98 (5), 374-386.

Orellana, R. E. (1998). Estudio etnobotánico de siete comunidades de la reserva de biosfera de la Sierra de las Minas, Guatemala, con énfasis en plantas medicinales. Tesis de graduación, Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.

Ormand, J., Talley, N. J., Shorter, R. G., Conley, C. R., Carpenter, H. A., Fich, A., ... Phillips, S. F. (1991). Prevalence of *Helicobacter pylori* in specific forms of gastritis. Further evidence supporting a pathogenic role for *Helicobacter pylori* in non specific gastritis. *Digestive Diseases and Sciences*, 36 (2), 142-145.

Ortega, A., Cardenas, J., Toscano, A., Maldonado, E., Aumelas, A., Van Calsteren, M. R., & Jankowski, C. (1991). Salviandulines A and B two secoclerodane diterpenoids from *Salvia lavanduloides*. *Phytochemistry*, 30 (10), 3357-3360.

Padilla, H. C., Laínez, H., & Pacheco, J. A. (1974). A new agent (hydrophilic fraction of *Polypodium leucotomos*) for management of psoriasis. *International Journal of Dermatology*, 13 (5), 276-282.

Palacios, M. (2004). Inhibición del crecimiento de *Gardnerella vaginalis* por seis plantas de uso medicinal de la flora suroccidental guatemalteca. Tesis de graduación, Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.

Palanichamy, S., & Nagarajan, S. (1990a). Analgesic activity of *Cassia alata* leaf extract and kaempferon-3-O-sophoroside. *Journal of Ethnopharmacology*, 29 (1), 73-78.

Palanichamy, S., & Nagarajan, S. (1990b). Anti-inflammatory activity of some *Cassia alata* leaf extract and kaempferol 3-O-sophoroside. *Fitoterapia*, 61 (1), 44-47.

Palanichamy, S., Amala Bhaskar, E., Bakthavathsalam, R., & Nagarayan, S. (1991). Wound healing activity of *Cassia alata*. *Fitoterapia*, 62 (1), 153-156.

- Palanichamy, S., Nagarajan, S., & Devasagayam, M. (1988). Effect of *Cassia alata* leaf extract on hyperglycemic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 22 (1), 81-90.
- Parkin, D. M., Laara, E., & Muir, C. S. (1984). Estimates of worldwide frequency of twelve major cancers. *Bull WHO*, 62 (2), 163-182.
- Parmar, V. S., Jain, S. C., Bisht, K. S., Jain, R., Taneja, P., & Jha, A. (1997). Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochemistry*, 46, 597-673.
- Pascual, M. E., Slowing, K., Carretero, E., Sa´chez, D., & Villar, A. (2001). *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 76 (3), 201-214.
- Perez, G. I., Rothenbacher, D., & Brenner, H. (2004). Epidemiology of *Helicobacter pylori* Infection. *Helicobacter*, 9 (Supl.1), 1-6.
- Pineiro, B. (1983). Two year personal experience in the treatment of various forms of psoriasis with *Polypodium leucotomos* extract. *Medicina Cutánea IberoAmericana*, 11 (1), 6572.
- Pöll, E. (1984). Contribución al estudio de las Loranthaceae de Guatemala. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacias*, 2, 22-32.
- Pueyo, A. M., Huarte, M. P., & Jiménez, C. (1998). Epidemiología de la infección por *Helicobacter pylori*. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 21 (Supl. 2), 9-17.
- Qasim, A. O., & Maroain, C. A. (2002). Treatment of *Helicobacter pylori* infection and factors influencing eradication. *Alimentary Pharmacology & Therapeutic*, 16 (Supl. 1), 24-30.
- Ramírez, O. (1998). *Espectro de inhibición de bacterias patógenas por extractos vegetales*. Tesis de graduación, Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Rastrelli, L., Cáceres, A., Morales, C., De Simone, F., & Aquino, R. (1998). Iridoids from *Lippia graveolens*. *Phytochemistry*, 49 (6), 1829-1832.

- Rauws, E. A., Langenberg, W., Houthoff, H. J., Zanen, H. C., & Tygat, G. N. (1998). *Campylobacter pylori* disassociated chronic active antral gastritis. *Gastroenterology*, 94 (1), 33-40.
- Ricci, V., Ciacci, C., Zarrilli, R., Sommi, P., Tummuru, M. K., Del Vecchio, B. C., ... Romano, M. (1996). Effect of *Helicobacter pylori* on gastric epithelial cell migration and proliferation *in vitro*: role of Vac A and Cag A. *Infection and Immunity*, 64 (7), 2829-2833.
- Robineau, L. (1991). *Hacia una farmacopea caribeña*. Santo domingo: ENDA-Caribe, UNAH.
- Rodes, J., & Guardia, J. (1997). *Medicina Interna* (Vol. 1). Barcelona: Masson.
- Rodriguez, J., Tello, H., & Quijano, L. (1974). Flavanoids of Mexican plants. Isolation and structure of santin and glucoferide. *Revista Latinoamericana de Química*, 5 (1), 41-53.
- Romo de Vivar, A., Gonzalez, J. M., & Perez, A. L. (1985). Pentacyclic Triterpenes from *Salvia lavanduloides* (Cantueso). *Revista Latinoamericana de Química*, 16 (1), 51-52.
- Ronquillo, F. A., Melgar, M. F., Carrillo, J. E., & Martínez, A. B. (1988). Especies vegetales de uso actual y potencial en alimentación y medicina de las zonas semiáridas del Nor-oriente de Guatemala. (*Cuadernos DIGI 5-88*), 249. Guatemala.
- Ross, I. A. (1999). *Medicinal Plants of the World: Chemical Constituents, Traditional and Modern Medicinal Uses*. Totowa, New Jersey, USA: Humana Press.
- Ruegg, T., Calderón, A. I., Queiroz, E. F., Solís, P. N., Marston, A., Rivas, F., ... Gupta, M. P. (2006). 3-Farnesyl-2-hydroxybenzoic acid is a new anti- *Helicobacter pylori* compound from *Piper multiplinervium*. *Journal of Ethnopharmacology*, 103 (3), 461-467.
- Rzedowski, J., & Rzedowski, G. C. (2001). *Flora fanerogámica del Valle de México*. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad Pátzcuaro, Michoacán, México. (2 ed.). (Instituto de Ecología, Ed.) México.

Salgueiro, L. R., Cavaleiro, C., Conçalves, M. J., & Proença da Cunha, A. (2003). Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Lippia graveolens* from Guatemala. *Planta Medica*, 69 (1), 80-83.

Samuels, A. L., Windwor, H. M., Ho, Y. G., Goodwin, L. D., & Marshall, B. J. (2000). Culture of *Helicobacter pylori* from a gastric string may be an alternative to endoscopic biopsy. *Journal of Clinical Microbiology*, 38 (6), 2438-2439.

Schneider, R. E., Vettorazzi, M., Torres, M. A., Solis, C., Marroquín, S., Morales, H., & de Rodriguez, E., (1994). La infección gástrica por *Helicobacter pylori* en adultos dispépticos de Guatemala. Su relación con el estado socioeconómico y cambios displásicos gástricos. *Revista de Medicina Interna*, 5, 2-9.

Siegel, R. K., Collings, P. R., & Diaz, J. L. (1977). On the use of *Tagetes lucida* and *Nicotiana rustica* as a Huichol smoking mixture: the Aztec "yahutli" with suggestive allucinogenic effects. *Society for Economy Botanic*, 31, 16-23.

Sodipo, O. A., Effraim, K. D., & Emmagun, E. (1998). Effect of aqueous leaf extract of *Cassia alata* (Linn.) on some haematological indices in albino rats. *Phytotherapy Research*, 12 (6), 431-433.

Souza, C., Beserra, A. M., Martins, D. C., Real, V. V., Santos, R. A., Rao, V. S., ... Martins, D. T. (2009). *In vitro* and *in vivo* anti *Helicobacter pylori* activity of *Calophyllum brasiliense* Camb. *Journal of Ethnopharmacology*, 123 (3), 454-458.

Spengler, A., Gross, A., & Kaltwasser, H. (1992). Successful freeze storage and lyophilisation for preservation of *Helicobacter pylori*. *Journal of Clinical Pathology*, 45 (8), 737.

Stamatis, G., Kyriazopoulos, P., Golegou, S., Basayiannis, A., Skaltsas, S., & Skaltsa, H. (2003). *In vitro* anti *Helicobacter pylori* activity of Greek herbal medicines. *Journal of Ethnopharmacology*, 88 (2), 175-179.

Standely, P. C., & Gentry, J. L. (1974). Flora of Guatemala. *Fieldiana Botany*, 24 (10), 13-130.

Standley, P. C. (1949). Flora of Guatemala. *Fieldiana Botany*, 24 (6), 351.



- Standley, P. C., & Steyermark, J. A. (1946). Flora of Guatemala. *Fieldiana Botany*, 24 (5), 506.
- Standley, P. C., & Steyermark, J. A. (1946). Flora of Guatemala. *Fieldiana Botany*, 24 (4), 196-516.
- Standley, P. C., & Steyermark, J. A. (1952). Flora of Guatemala. *Fieldiana Botany*, 24 (3), 92-284.
- Standley, P. C., & Williams, L. O. (1970). Flora of Guatemala. *Fieldiana Botany*, 24 (9), 109-211.
- Standley, P. C., & Williams, L. O. (1973). Flora of Guatemala. *Fieldiana Botany*, 24 (9), 289.
- Stolze, R. G. (1981). Ferns and fern allies of Guatemala. *Botany New Series*, 6 (2), 374-377.
- Suberman, S., & Michetti, P. (2002). *Helicobacter pylori* infection. *Massachusetts Medical Society*, 347 (1), 23-30.
- Tee, W., Fairley, S., Samllwood, R., & Dwyer, B. (1991). Comparative evaluation of three selective media and a nonselective medium for the culture of *Helicobacter pylori* from gastric biopsies. *Journal of Clinical Microbiology*, 29 (11), 2587- 2589.
- Tuominen, M., Bohlin, L., & Rolfsen, W. (1992). Effects of calahuala and an active principle, adenosine, on platelet activating factor. *Planta Médica*, 58 (4), 306-310.
- Tuominen, M., Bohlin, L., Lindbom, L. O., & Rolfsen, W. (1991). Enhancing effect of calaguala on the prevention of rejection on skin transplants in mice. *Phytotherapy Research*, 5 (5), 234-236.
- Unge, P. (1998). Eradication therapy of *Helicobacter pylori*; A review report from a workshop organized by the Swedish and Norwegain Medical products agencies, September 1995. *Journal of Gastroenterology*, 33 (1), 57-61.
- Uribe Hernandez, C. J., Hurtado Ramos, J. B., Olmedo Arcega, E. R., & Martinez Sosa, M. A. (1992). ResThe essential oil of *Lippia graveolens* HBK from Jalisco, México. *Journal of Essential Oil Research*, 4 (6), 647-629.

Vargas, J., García, E., Gutiérrez, F., & Osorio, C. (1981). Síntesis de ácidos nucleicos y nivel de AMP cíclico en tumores murinos después del tratamiento *in vitro* con anapsos. *40*, 39-46. España.

Vargas, J., Munoz, C., Osorio, C., & Garcia Olivares, E. (1983). Anapsos, an antipsoritic frug which increases the proportion of suppressor cells in human peripheral blood. *Annales de l'Institut Pasteur Immunology*, *134* (3), 393-400.

Ximénez, F. (1967). *Historia Natural del Reino de Guatemala*. Guatemala: José de Pineda Ibarra.

Yamamoto, E., MacRae, W., Garcia, F., & Towers, G. (1984). Photodynamic hemolysis caused by a-terthienyl. *Planta Medica*, *50* (2), 124-127.

Yesilada, E., Gurbuz, I., & Shibata, H. (1999). Screening of Turkish anti-ulcerogenic folk remedies for anti-*Helicobacter pylori* activity. *Journal of Ethnopharmacology*, *66* (3), 289–293.

Zaidi, S. F., Yamada, K., Kadowaki, M., Usmanhani, K., & Sugiyama, T. (2009). Bactericidal activity of medicinal plants, employed for the treatment of gastrointestinal ailments, against *Helicobacter pylori*. *Journal of Ethnopharmacology*, *121* (2), 286–291.

Zuñiga, A. G. (1992). *Helicobacter pylori*. *Revista Médica Hondureña*, *60* (2), 91-96.

## 14 ANEXOS

### Anexo No. 1 Procedimiento para obtener el porcentaje de humedad.



#### DETERMINACIÓN DE HUMEDAD UTILIZANDO UNA BALANCA DE HUMEDAD SARTORIUS MA45

Elaborado por: _____	Fecha: _____
Revisado por: _____	Fecha: _____
Autorizado por: _____	Fecha: _____

#### I. Definición:

La humedad de una muestra no es sólo el contenido de agua. Por humedad del material se entiende toda materia volátil, que se elimina por calentamiento, conduciendo a la pérdida de peso de la muestra. Entre dichas sustancias tenemos: agua, grasas, aceites, alcoholes, disolventes, materias aromáticas, componentes volátiles, productos de descomposición.

El exceso de agua en drogas vegetales es el responsable de la hidrólisis de sus constituyentes y del crecimiento de microorganismos. Con pocas excepciones, el contenido de agua en estas drogas debe variar entre 8 y 12%.

La termogravimetría es un procedimiento para determinar una pérdida de masa, que se produce al calentar una sustancia. Para esto, la sustancia se pesa antes y después del calentamiento, y a continuación se calcula la diferencia entre ambos pesos registrados.

#### II. Objetivo:

Proporcionar instrucciones para determinar el porcentaje de humedad de una droga vegetal utilizando un analizador de humedad.

#### III. Responsable:

Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este PEO, este debe ser ejecutado de forma correcta para determinar cuantitativamente la humedad de una droga vegetal.

#### IV. Distribución:

Auxiliar de laboratorio.  
Estudiantes.

#### V. Materiales y equipo necesarios:

Analizador (Balanza) de Humedad.  
Platillos desechables.  
Agitador magnético.  
Fibra de vidrio (cuando aplique).  
Cucharilla.  
Varilla de vidrio.



LIPRONAT - Manual de Operaciones  
Determinación de Humedad 2/2  
PEO No. \_\_\_\_\_ Febrero 2005

#### VI. Procedimiento:

##### 1. Preparación de muestras:

- Seleccionar parte representativa de la cantidad total como muestra.
- Asegurar la homogeneidad de la muestra mezclando o agitando, muestreos en varias partes o bien muestreos en intervalos definidos.
- Evitar toda influencia de calor al moler la muestra: el calor produce pérdida de humedad.
- Moler la muestra con mortero, en líquidos con componentes sólidos utilizar varilla de vidrio, cucharilla o agitador magnético.
- Utilizar sólo platillos de muestra desechables (diámetro interno = 92).
- Distribuir la muestra en el platillo fina y homogéneamente (altura: 2-5 mm, cantidad: de 5-15 g).
- Poner muestras líquidas, pastosas o volátiles en filtro de fibra de vidrio.

##### 2. Determinación de humedad:

- Encender: tecla ON/OFF (I/Φ)
- Seleccionar programa de secado:
- Seleccionar función PROGRAMA: Tecla (↓) y tecla (enter).
- Seleccionar programa P1, P2 o P3 con la tecla (↓) y tecla (enter).
- En caso dado, cancelar requerimiento de entrada para clave de acceso: tecla (CF).
- Abandonar selección de programa: 2 x tecla (CF).
- Abrir cámara de muestras.
- Colocar platillo de muestra.
- Tapar platillo de muestra: función TARA y tecla (enter)
- Pesada inicial, cerrar cámara de muestras.
- Iniciar: función INICIO y tecla Enter o bien, cerrar cámara de muestras directamente (se realiza proceso de secado, esperar y leer el resultado).

##### 3. Recomendaciones:

- No debe penetrar líquido ni polvo en el aparato.
- No utilizar detergentes agresivos (disolventes o similares), utilizar sólo un paño suave humedecido en agua jabonosa.
- Puede quitarse fácilmente protector contra corrientes de aire y soporte de platillo.
- Quitar cuidadosamente restos de muestra/polvo con pincel o jeringa aspiradora.
- Secar el aparato con un paño suave.
- Limpiar el radiador cerámico con pincel o líquido limpiavidrios de uso común.

#### Referencias:

Manual de Instrucciones de Sartorius Moisture Analyzer. Modelo MA45. 2002. Alemania. 51 p.  
REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA (2002) 2ª Ed. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo. 2801 p.  
Vila, R & Reing, M. (2003). Métodos de Control de Calidad. Barcelona: Madaus, UB Virtual, Imicromat. 39 p.

## Anexo No. 2 Procedimiento para la percolación.

**EXTRACCIÓN CONTINUA POR PERCOLACIÓN**

Elaborado por: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_  
 Revisado por: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_  
 Autorizado por: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

**I. Definición:**

La percolación consiste en hacer pasar el disolvente a través de la droga vegetal hasta su extracción completa. La percolación simple, comprende la extracción exhaustiva de la droga con el disolvente siempre renovado. En pequeña escala, la percolación se realiza en aparatos denominados percoladores, de cuerpo cilíndrico o cónico, provistos de un grifo en la parte inferior, para regular el flujo de solvente. La capa de droga debe ser 5 veces el diámetro medio del equipo según la Farmacopea Alemana.

**II. Objetivo:**

Proporcionar instrucciones para la extracción continua de una droga vegetal utilizando la percolación.

**III. Responsable:**

Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este PEO, este debe ser ejecutado de forma correcta para extraer los principios activos de una droga vegetal utilizando el equipo seleccionado (Percolador).

**IV. Distribución:**

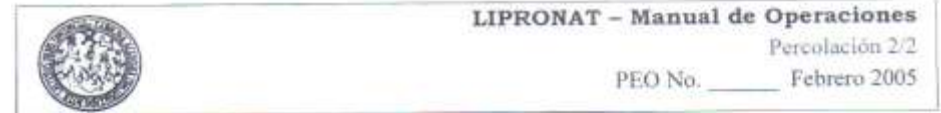
Auxiliar de laboratorio.  
Estudiantes.

**V. Equipo y materiales necesarios:**

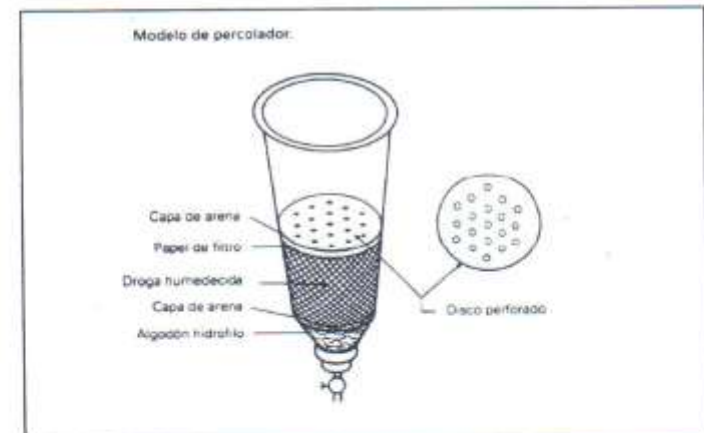
Percolador de vidrio o acero inoxidable.  
Balanza.  
Algodón.  
Papel filtro.  
Vasos de precipitar.  
Erlenmeyers.

**VI. Procedimiento:**

- En un percolador previamente limpio y seco, colocar un poco de algodón en la parte inferior y papel filtro cortado de acuerdo al diámetro del percolador.
- Pesar la cantidad de materia vegetal a utilizar de acuerdo al tamaño del percolador
- Humedecer el material vegetal con el disolvente adecuado para la extracción, utilizando un vaso de precipitar.



- Transferir todo el material al percolador y agregar disolvente hasta cubrir el material vegetal.
- Dejar reposar el tiempo necesario para llevar a cabo la extracción, esto dependerá del material vegetal (18-24 horas).
- Abrir la llave de la parte inferior y dejar gotear el líquido a una velocidad adecuada.
- Recoger el líquido en un erlenmeyer, añadir suficiente disolvente extra, según se requiera, hasta obtener el volumen de disolvente agregado al inicio.
- El material sólido que ha quedado, se presiona fuertemente y el líquido obtenido se añade al percolado obtenido anteriormente.
- La solución obtenida puede utilizarse para producir extractos o tinturas. Para preparar los primeros, el líquido obtenido (menstruo) se concentra en rotavapor o un equipo similar y se repite la operación hasta que se agote la droga con el disolvente recuperado; las tinturas solo se ajustan a volumen en función de la concentración deseada (1:5, 1:8 o 1:10)

**Referencias:**

- KUKLINSKI, C. (2000). Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Omega. 515 p.
- MEDINILLA, B. (1996). Manual de Laboratorio de Farmacognosia. Guatemala: USAC. 38 p.
- REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA (2002) 2ª Ed. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo. 2801 p.
- SHARAPIN, N. (2000) Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Santafé de Bogotá: Convenio Andrés Bello y CYTED. 247 p.



Anexo No. 3 Procedimiento de rotavaporación

 **LIPRONAT – Manual de Operaciones**  
 Concentración 1/3  
 PEO No. \_\_\_\_\_ Febrero 2005

 **LIPRONAT – Manual de Operaciones**  
 Concentración 2/3  
 PEO No. \_\_\_\_\_ Febrero 2005

**CONCENTRACIÓN USANDO ROTAVAPOR**

Elaborado por: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_  
 Revisado por: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_  
 Autorizado por: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

**I. Definición:**

La concentración representa la etapa siguiente al proceso de extracción. El proceso de concentración busca aumentar el contenido de sólidos totales en el extracto con la finalidad de:

- a) alcanzar un determinado contenido del residuo seco,
- b) producir extractos blandos,
- c) como etapa preliminar en la producción de extractos duros,
- d) los extractos también pueden ser concentrados para la extracción en contracorriente con disolventes no miscibles, con miras a la fabricación de extractos purificados o el aislamiento de sustancias puras.

El equipo necesario para la concentración con recuperación de disolventes es el evaporador rotatorio, cuyo funcionamiento se basa en los siguientes principios: (1) se coloca la muestra en un balón de evaporación a 40°C que rota a una velocidad constante produciendo una película que aumenta la superficie de evaporación; (2) con la ayuda de una bomba se genera un vacío entre 30 y 300 mbar que facilita la evaporación sin necesidad de aumentar la temperatura; (3) el vapor del disolvente es condensado en el refrigerante que esta conectado a un sistema de enfriamiento que luego se colecta en un balón colector.

**II. Objetivo:**

Proporcionar instrucciones para el manejo del evaporador rotatorio en la concentración de extractos.

**III. Responsable:**

Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este PEO, este debe ser ejecutado de forma correcta para el buen uso del evaporador.

**IV. Distribución:**

Auxiliar de laboratorio.  
 Estudiantes.

**V. Materiales y equipo necesarios:**

Rotavapor (Balón de evaporación, condensador, bomba de vacío, refrigerante y balón de colecta).  
 Sistema de enfriamiento o circulación de agua  
 Disolvente orgánico (hexano, pentano o xileno).  
 Balón de 1000 mL.

**VI. Procedimiento:**

- Verificar que estén conectadas todas las conexiones eléctricas.
- Colocar el balón colector y fijarlo con la llave respectiva.
- Revisar el nivel de agua del baño de calentamiento.
- Encender el baño y mantener la temperatura entre 50-60°C, dependiendo del equipo puede haber pérdidas de 10-20°C entre el baño de calentamiento y el interior del balón de evaporación, en todo caso el balón de evaporación no deberá tener una temperatura mayor de 40°C.
- Revisar que la llave de alimentación del refrigerante esté cerrada.
- Colocar el balón con la muestra y sujetar al vástago con la llave correspondiente.
- Encender el botón que permite girar el balón que contiene la muestra a una revolución adecuada.
- Conectar un sistema de enfriamiento o por lo menos de circulación de agua del chorro.
- Encender la bomba de vacío durante el tiempo necesario para iniciar la destilación.
- Cuando haya iniciado la destilación, apagar la bomba de vacío.
- Encender la bomba de vacío cuantas veces sea necesario hasta que se haya agotado el disolvente del balón de evaporación o ya no destile ningún líquido, lo que querrá decir que el vacío de nuestra bomba no es suficiente para evaporar la mezcla de disolventes contenida en el balón de evaporación.




- 1. Alzador rápido.
- 2. Accionamiento
- 3. Cabezal electrónico.
- 4. Matraz de evaporación.
- 5. Módulo de vidrio.
- 6. Matraz receptor.
- 7. Sistema de hermetización.
- 8. Baño calefactor.
- 9. Módulo indicador de velocidad de rotación y temperatura del vapor.
- 10. Control de Vapor.
- 11. Conjunto de válvulas.

**Recomendaciones:**

Aplicar vaselina al vástago rotatorio, a todas las llaves y juntas esmeriladas.  
 Mantener el sistema de refrigeración a baja temperatura, con recambio periódico de los hielos.

Anexo No. 4 Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)

 **LIPRONAT – Manual de Operaciones**  
 Concentración inhibitoria mínima (CIM) 1/3  
 PEO No. \_\_\_\_\_ Marzo 2005

**CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MINIMA (CIM)**

Elaborado por: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_  
 Revisado por: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_  
 Autorizado por: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

**I. DEFINICION**

Consiste en cuantificar la concentración mínima de un extracto, fracción o compuesto obtenidos de una droga vegetal que ha demostrado actividad en una prueba de tamizaje previo. Se emplean diluciones seriadas del extracto y concentraciones constantes del microorganismo y se evalúa el crecimiento del microorganismo en un ensayo estandarizado similar al que sirvió de tamizaje.

**II. OBJETIVO**

Proporcionar instrucciones para determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los extractos con resultados de tamizaje positivo.

**III. RESPONSABLE**


Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este PEO, este debe ser ejecutado de forma correcta para determinar la CIM de los extractos.

**IV. DISTRIBUCION**

Auxiliar de laboratorio  
Estudiantes

**V. MATERIALES Y EQUIPO**

- Agar Muller Hinton
- Asa de nicromo
- Autoclave
- Cajas de petri cuadríplate
- Caldo tripticasa soya
- Etanol al 50%
- Incubadora a 36°C
- Pipetas automáticas
- Puntas amarillas de 200µL
- Puntas azules de 1000µL
- Refrigeradora
- Solución salina
- Tubos de tapón de rosca de 15 mL

 **LIPRONAT – Manual de Operaciones**  
 Concentración inhibitoria mínima (CIM) 2/3  
 PEO No. \_\_\_\_\_ Marzo 2005

**VI. PROCEDIMIENTO**

**Preparación de Agar-Planta**

- Preparar tubos con 3.6, 3.8, 3.9 y 4 mL de agar Mueller Hinton.
- Esterilizar a 121°C durante 15 minutos, dejar enfriar a 50°C y agregar la solución del extracto disuelto (concentración de 10 mg/mL) en una caja cuadríplate de la siguiente manera:  
 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  
 Un cuadrante con 4.0 mL de agar como control negativo.
- Dejar solidificar e incubar a 36°C por 24 horas, para comprobar esterilidad.
- Guardar en refrigeración hasta el momento de usar.

**Preparación del inóculo**

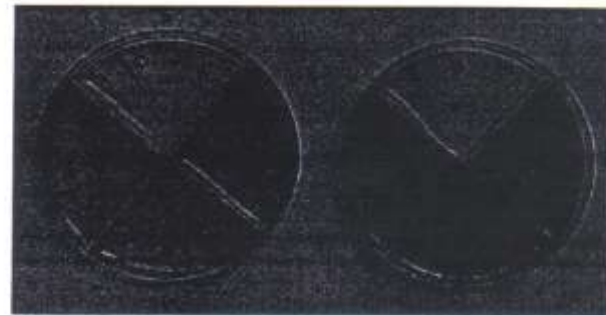
- Purificar el microorganismo a ensayar inoculándolo en un tubo con 8 mL de agar Muller Hinton inclinado, incubar 36°C durante 24 h.
- Inocular una asada del cultivo puro microbiano en un tubo con 5.0 mL de caldo Tripticasa soya, incubar a 36°C durante 48 h.
- Diluir 0.05 mL de la suspensión anterior en 4.95 mL de agua solución salina estéril (dilución 1: 100).

**Demostración de la concentración inhibitoria mínima**

- Inocular tres estrías en cada uno de los cuadrantes de la caja, dejar reposar durante 5-10 minutos e incubar a 36°C durante 24 h.

**Interpretación de resultados**

- Actividad negativa: crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.
- Actividad positiva: no hay crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.
- Contaminación: presencia de microorganismos fuera de la inoculación.

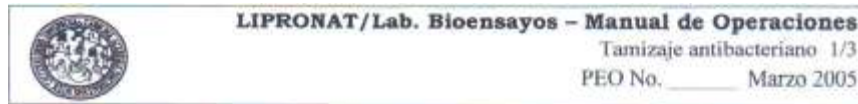


## Anexo 5. Guía para la preparación de diluciones para soluciones antimicrobianas

Paso	Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	Fuente(mL)	Volumen (mL)	Diluyente (mL)	Concentración intermedia ( $\mu\text{g/mL}$ )	Concentración final en una dilución en agar 1:10 ( $\mu\text{g/mL}$ )
1	5120	Stock	12	0	5120	512
2	5120	Stock	6	6	2560	256
3	5120	Stock	3	9	1280	128
4	5120	Stock	3	21	640	64
5	640	Paso 4	6	6	320	32
6	640	Paso 4	3	9	160	16
7	640	Paso 4	3	21	80	8
8	80	Paso 7	6	6	40	4
9	80	Paso 7	3	9	20	2
10	80	Paso 7	3	21	10	1
11	10	Paso 10	6	6	5	0.5
12	10	Paso 10	3	9	2.5	0.25
13	10	Paso 10	3	21	1.25	0.125
14	1.25	Paso 13	6	6	0.625	0.0625
15	1.25	Paso 13	3	9	0.3125	0.03125
16	1.25	Paso 13	3	21	0.15625	0.015625
17	0.15625	Paso 16	2	2	0.078125	0.0078125

Fuente: Adoptado de CLSI, 2009



Anexo 6. Tamizaje de la actividad antibacteriana *in vitro***TAMIZAJE DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *IN VITRO***

Elaborado por: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_  
Revisado por: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_  
Autorizado por: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

**I. DEFINICION**

Las bacterias son organismos de vida libre que tienen curvas de crecimiento máximo de 24–48 horas en medios artificiales específicamente diseñados. El tamizaje de la actividad antibacteriana consiste en poner de manifiesto la inhibición del crecimiento de una bacteria determinada en condiciones estándar con una concentración previamente determinada como punto de corte (500-1000 mg/mL) de un extracto, fracción o compuesto obtenidos de una droga vegetal.

**II. OBJETIVO**

Proporcionar instrucciones para determinar la actividad antimicrobiana *in vitro*.

**III. RESPONSABLE**

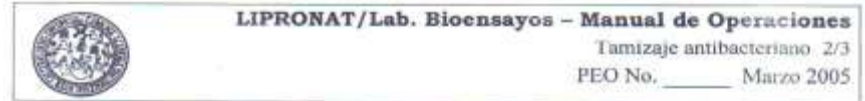
Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este PEO, que debe ser ejecutado de forma correcta para determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos a ensayar.

**IV. DISTRIBUCION**

Auxiliar de laboratorio o estudiantes

**V. MATERIALES Y EQUIPO**

Agar Muller Hinton  
Agua desmineralizada  
Asa de nicromo  
Autoclave  
Cajas de petri simples  
Caldo tripticasa soya  
Campana bacteriológica  
Campana bacteriológica con flujo laminar  
Etanol al 50%  
Incubadora a 36°C  
Mechero  
Pipetas automáticas  
Puntas amarillas de 200 µL  
Puntas azules de 1000 µL  
Plantilla para siembra  
Refrigeradora  
Solución salina  
Tubos con tapón de rosca de 15 mL

**VI. PROCEDIMIENTO****Preparación de Agar-Planta**

- Preparar tubos con 9.0 mL de agar Mueller Hinton.
- Esterilizar a 121°C durante 15 min, dejar enfriar a 50°C y agregar 1.0 mL de la solución del extracto disuelto. Este debe tener una concentración de 10 mg/mL. La concentración final que se obtiene es de 1 mg/mL.
- Agitar y verter en cajas de Petri estériles, dejar solidificar e incubar a 36°C por 24 h, para comprobar esterilidad.
- Guardar en refrigeración hasta el momento de usar.

**Preparación del inóculo**

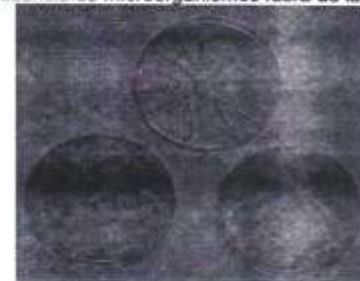
- Purificar el microorganismo a ensayar inoculándolo en un tubo con 8 mL de agar Muller Hinton inclinado, incubar 36°C durante 24 h.
- Inocular una asada del cultivo puro microbiano en un tubo con 5.0 mL de caldo Tripticasa soya, incubar a 36°C durante 48 h.
- Diluir 0.05 mL de la suspensión anterior en 4.95 mL de agua solución salina estéril (dilución 1: 100).
- Sembrar en caja de petri según la plantilla a utilizar.

**Demostración de la actividad antibacteriana**

- Inocular en las cajas con agar-Planta una asada de cada uno de los microorganismos siguiendo el patrón de la plantilla. Hacer cuatro repeticiones por microorganismo. Dejar reposar durante 5-10 min e incubar a 36°C durante 24 h.
- Utilizar como control negativo 9 mL de agar Muller Hinton mezclándole 1 mL de etanol al 50%.

**Interpretación de resultados**

- Actividad negativa: crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.
- Actividad positiva: no hay crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.
- Contaminación: presencia de microorganismos fuera de la inoculación.





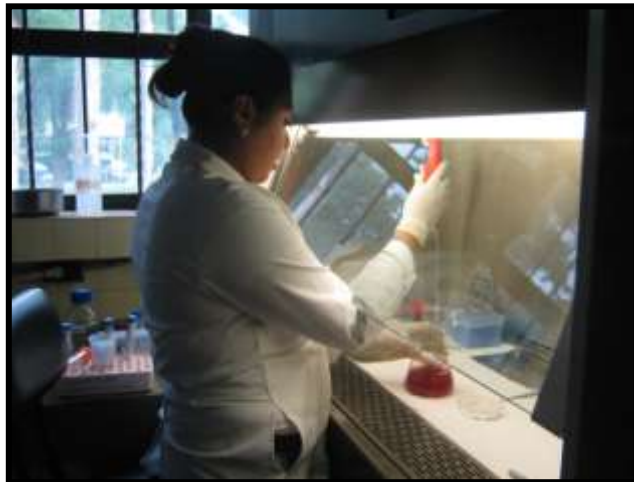
## Anexo 7. Guía para la preparación de diluciones de extractos.

Paso	Concentración ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	Fuente(mL)	Volumen (mL)	Diluyente (mL)	Concentración intermedia ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	Concentración final en una dilución en agar 1:10 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
1	2000	Stock	6	18	500	50
2	500	Paso 1	6	6	250	25
3	500	Paso 1	3	9	125	12.5
4	500	Paso 1	3	21	62.5	6.25
5	62.5	Paso 4	6	6	31.25	3.125
6	62.5	Paso 4	3	9	15.625	1.5625
7	62.5	Paso 4	3	21	7.8125	0.78125
8	7.8125	Paso 7	6	6	3.90625	0.390625
9	7.8125	Paso 7	3	9	1.953125	0.1953125
10	7.8125	Paso 7	2	14	0.9765625	0.09765625

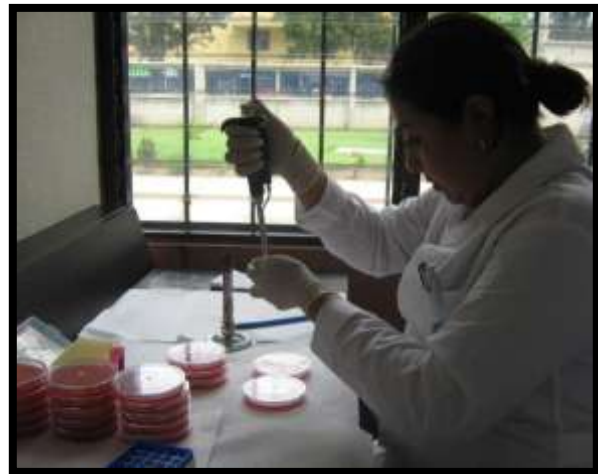
Fuente: Adoptado de CLSI, 2009

Anexo 8. Fotografías del trabajo experimental del seminario “Búsqueda de actividad anti-*Helicobacter pylori* en 16 plantas de uso popular guatemalteco”.

a. Preparación de extractos y medios de cultivo



b. Descongelamiento de cepas



## c. Siembra en medios de cultivo





d. Jarras de incubación y sobres de Anaerocult A (16 jarras en total)

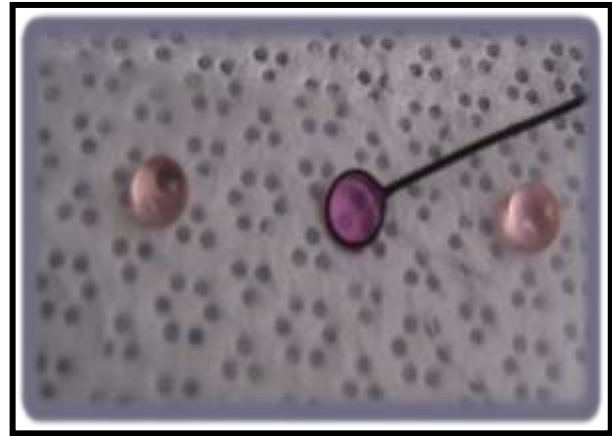


e. Crecimientos obtenidos de *H.pylori* en los medios de cultivo inoculados





f. Pruebas de identificación: oxidasa, tinción de Gram y Giemsa





g. Supervisión del equipo de seminario



---

Pc. Nydia Anaidé Orózco Morán  
Autora

---

Br. Christa María Leal Salguero  
Autora

---

Sria. Jessica Mariela Rivera Raymundo  
Autora

---

Mtra. Ma. Larissa Monterroso Castillo  
Autora

---

Lic. Armando Cáceres  
Asesor

---

Licda. Margarita Paz de Ramirez  
Revisora

---

Licda. Maria Eugenia Paredes  
Directora

---

Dr. Oscar Cobar Pinto  
Decano