



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLAS DE HIDALGO



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGA

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE *Jatropha cordata*

PRESENTA

pQFB. CELESTE ALONSO VELAZQUEZ

ASESOR

DOCTOR EN CIENCIAS MAURO MANUEL MARTÍNEZ PACHECO

COASESOR

DOCTORA EN CIENCIAS ROSA ELVA NORMA DEL RÍO TORRES

MORELIA MICHOACÁN, ENERO DEL 2015

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Fisiología Celular del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, bajo la dirección del D.C. Mauro Manuel Martínez pacheco y la D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres.

No hay que desesperar de lograr aquello que deseamos,
la asiduidad, si es constante, consigue el fin que se propone.

La Abadía de Northanger

DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado primeramente a Dios por permitirme la vida y darme a la familia que tengo.

A mis abuelos

María Luisa y Avelino, ellos que son el cimiento de mi familia, con su sabiduría han logrado en nosotros valores que solamente un ser amado te sabe brindar. Este logro también es de ustedes, los quiero, DLB.

A mi mamá

Mamá te quiero mucho, este trabajo lo comparto contigo, también formas parte de él, tu sabes el sacrificio que conllevó y que gracias a ello, ambas crecimos como personas, nunca olvides que te Amo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios

Gracias señor por permitirme la fuerza y sabiduría suficiente para salir adelante con este trabajo, pero antes que nada no sabría agradecerte todo lo que me has brindado al paso de los años, simplemente te agradezco la familia que me diste y los retos que me brindas cada día, sé que puedo salir adelante porque tú estás conmigo.

A mis abuelos

Agradezco a mis abues Licha y Avelino por todo el apoyo que siempre me han brindado, por la confianza que depositan en mí y que a pesar de las adversidades por las que pasamos seguimos de pie. Los Amo abuess!!

A mi madre

Agradezco a mi mamá por enseñarme a nunca darme por vencida y demostrarme que a pesar de todos los problemas que se nos presenten, siempre debemos mirar hacia adelante con una sonrisa. Por siempre brindarme la confianza de contar contigo, por demostrarme que a pesar de ser madre e hija, podemos ser las mejores amigas, simplemente no sé cómo agradecerte todo el apoyo que me brindas. Cámate totuga!!!! Jejeje Te amo mami.

A mis hermanos

Angel y Gregory chiquillos feos a pesar de siempre pelear y hacer berrinches gracias por estar ahí cuando los necesito, los quiero hermanos aunque a veces me saquen canas verdes jejeje feos los quiero!!

A mi hermana

Raquel hermana fea te quiero, gracias por siempre contar contigo en las buenas y en las malas, agradezco a Dios por darme una hermana como tú, por darme a ti! Te amo hermanita chula, gracias por darme un sobrino tan hermoso, ese pedacito tuyo que me robo el corazón.

A mi sobrinito Diego

Chaparro sabes que te amo aunque no pueda verte tan seguido, gracias por llegar a nuestras vidas corazón, tu demuestras con tu llegada que algo tan pequeño puede llenar de total alegría a una familia. A ruuuuuuuuuuuunn!! Jejeje

A mis amigos

Gracias por acompañarme en este camino de nuevas experiencias adquiridas, los quiero mucho, ustedes lograron que fueran amenas las horas de trabajo, los momentos inolvidable que compartimos realizando las bitacoras...como olvidarlo en la "Polloguarida" jejeje Iroel, Fer, Lalillo (el sun), David (chukillo), Gabo, Giovanni, Gus guss (el Dj moshito jejeje ntc), todos son unas excelentes personitas que siempre llevare en mi corazón, gracias chiquillos por formar parte de esta etapa tan bonita.

A los pequeños tiguesitos

Ustedes me enseñaron que se puede tener hermanas de corazón y que uno puede elegir también la familia que quiere tener, las quiero niñas x estar ahí para compartir juntas locuras al 100 jejeje Claudia, Lore, Perla, Mayra, mi marida Pamela, Roxy po jejeje como ustedes no hay dos (y si lo hubiese Dios me libre de encontrarlas, con ustedes basta!! Jejeje) Las amodoro pequeños tiguesitos.

A los amigos que me encontré a lo largo de la carrera, muchas gracias por compartir momentos tan agradables conmigo, a la wera (Diana hermosa tkm nena), marisita (Mi vidaaaaa), anita muy corto el tiempo de conocernos pero gracias por brindarme siempre esa confianza, Jose por soportar siempre mi bipolaridad como decía el (sorry por peliar contigo siempre), Lilian, la chubis, chapis, todos forman parte de mi corazón, se les quiere niños.

A mis compañero de laboratorio que más que eso, pasaron a formar parte de mis amigos, con ustedes conviví el tiempo de la realización de este trabajo, gracias por hacer más amenas las horas en el laboratorio, compartiendo risas y experiencias, maestro Alberto, maestra Mariana, el doctor Edgar, el doctor Cesar, Jeannin, Dulce, Rubi, Nayeli, Cleme, Hugo, Ale, Roberto, Enrique, Moni, Rita, Armando, Iroel, Yunuen, Lore, Saul, Martín.

A mi Morritouw, te quiero chiquillo, muchas gracias por acompañarme es esta etapa tan importante para mí, por apoyarme e impulsarme a seguir adelante y además por convertirte en uno de mis mejores amigos. Muchas historias más!!

Al doctor Mauro

Gracias por abrirme las puertas de su laboratorio y permitirme estar dentro de su grupo de trabajo, por brindarme las herramientas necesarias para poder realizar este trabajo. Agradezco por contar con su apoyo y su confianza.

Al maestro Alberto

Muchas gracias maestro por lograr una amistad con usted, por siempre estar al pendiente de lo que nos hiciera falta en la realización del trabajo, por corregir la realización del mismo, se le agradece maestro.

A la doctora Rosy

Gracias por brindarme las herramientas necesarias en la parte química, usted demuestra siempre que el trabajo se debe realizar con la mejor disposición y alegría, es una muy linda persona doctora, agradezco su apoyo.

A mis sinodales

Gracia por la disposición que le brindaron a mi trabajo y se dieron tiempo para la revisión del mismo, por sus observaciones y consejos.

A la universidad por abrirme las puertas hacia el gran mundo del saber.
A la facultad de Químico Farmacobiología por brindarme los conocimientos necesarios para mi formación académica.

ABSTRACT

The prevalence of human infections is largely due to commercial antimicrobial resistant microbial strains. Annually, the health sector invests a lot of money to combat the problem of microbial resistance. An alternative of antimicrobial active principles are derived from natural resources due to the chemical complexity of the metabolome, a motivation to study its metabolites and potential drug side effects. Some plant species of *Jatropha* genus are used in traditional medicine including *J. cordata* tree that grows in Baja California Sur, Mexico, where the bark infusion is used as an antiseptic highlights. In order to know its antibacterial and anti-fungal activity, an *in vitro* screening of bacterial and *Candida albicans* sensitivity to organic extracts stem from *J. cordata* by agar diffusion method. For this reason, a bioassay-guided fractionation of the extracts through microbial sensitivity, chromatographic and spectroscopic methods were conducted to know the responsible compounds for the antimicrobial activity. The results showed that *J. cordata* organic extracts exhibit antimicrobial activity on pathogens tested. According to nuclear magnetic resonance (NMR) ^1H and ^{13}C , the presence of a macrocyclic diterpene was determined as responsible for the antimicrobial activity *in vitro*.

Keywords: *J. cordata*, antimicrobial, extracts

RESUMEN

La prevalencia de infecciones humanas es debida en gran parte por cepas microbianas resistentes a los antimicrobianos comerciales. Anualmente, el sector salud invierte una gran cantidad de dinero para combatir el problema de cepas microbianas resistentes. Una alternativa son los principios activos antimicrobianos obtenidos de los recursos naturales por la complejidad química de su metaboloma, una motivación para estudiar sus metabolitos secundarios y posibles efectos farmacológicos. Algunas especies vegetales del género *Jatropha* se utilizan en la medicina tradicional entre ellas destaca el árbol de *J. cordata* que crece en Baja California Sur, México, en donde la infusión de su corteza es utilizada como antiséptico. Con el objetivo de conocer su actividad antibacteriana y anti-fúngica, un escrutinio *in vitro* de la sensibilidad bacteriana y de *Candida albicans* a los extractos orgánicos de tallo de *J. cordata* con el método de difusión en agar se realizó. Por tal razón, un fraccionamiento de los extractos bioguiado por la sensibilidad microbiana, por métodos cromatográficos y espectroscópicos se realizó para conocer los componentes responsables de la actividad antimicrobiana. Los resultados mostraron que los extractos orgánicos de *J. cordata* presentan actividad antimicrobiana sobre los patógenos ensayados. De acuerdo al método de resonancia magnética nuclear (RMN) de ^1H y de ^{13}C , se determinó la presencia de un compuesto del tipo diterpeno como el responsable de la actividad antimicrobiana *in vitro*.

Palabras clave: *J. cordata*, antimicrobiana, extractos

ÍNDICE GENERAL

| | Página |
|---|--------|
| Abstract..... | I |
| Resumen..... | II |
| Índice general..... | III |
| Índice de figuras..... | VI |
| Índice de cuadros..... | VIII |
| | |
| I. Introducción | 1 |
| | |
| II. Antecedentes | 2 |
| 2.1. La familia Euphorbeaceae..... | 2 |
| 2.2. El género <i>Jatropha</i> y su distribución en México..... | 4 |
| 2.3. Especies del género <i>Jatropha</i> con actividad farmacológica..... | 6 |
| 2.4. Metabolitos secundarios aislados de algunas especies del género <i>Jatropha</i> con actividad farmacológica..... | 8 |
| 2.5. La especie <i>Jatropha cordata</i> | 10 |
| 2.5.1. Valor nutricional de <i>J. cordata</i> | 11 |
| 2.6. Resistencia bacteriana a los antibióticos de uso convencional..... | 13 |
| | |
| III. Justificación | 16 |
| | |
| IV. Hipótesis | 17 |
| | |
| V. Objetivos | 18 |
| 5.1 . Objetivo general..... | 18 |
| 5.2. Objetivos específicos..... | 18 |

| | |
|---|----|
| VI. Materiales y métodos | 19 |
| 6.1. Material biológico..... | 19 |
| 6.1.1. Cepas bacterianas..... | 20 |
| 6.1.2. Cepas de <i>Candida albicans</i> | 20 |
| 6.2. Medios de cultivo..... | 20 |
| 6.3. Productos químicos..... | 21 |
| 6.4. Material de laboratorio..... | 22 |
| 6.5. Equipo de laboratorio..... | 22 |
| 6.6. Recolección y preparación de la planta..... | 22 |
| 6.7. Obtención de los extractos..... | 23 |
| 6.7.1. Almacenamiento de los extractos..... | 24 |
| 6.8. Ensayo biológico..... | 24 |
| 6.8.1 Propagación bacteriana..... | 24 |
| 6.8.2 Inoculación en medio líquido..... | 25 |
| 6.8.3 Preparación de los extractos y de las sustancias control..... | 25 |
| 6.8.4 Método de difusión en agar para bacterias y levaduras..... | 25 |
| 6.9 Método de cromatografía en columna..... | 27 |
| 6.10 Espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN)..... | 28 |
| 6.11 Análisis de resultados..... | 29 |
| | |
| VII. Resultados | 29 |
| 7.1 Rendimiento de los extractos..... | 29 |
| 7.2 Selección del extracto con actividad bactericida..... | 30 |
| 7.3 Efecto fungistático en <i>Candida albicans</i> | 32 |
| 7.4 Identificación de las mejores fracciones con efecto bactericida del extracto hexánico del TD de <i>J. cordata</i> | 34 |
| 7.5 Efecto fungistático de las fracciones del extracto hexánico del TD de <i>J. cordata</i> | 37 |
| 7.6. Efecto bactericida de la fracción 5-6 del extracto hexánico de <i>J. cordata</i> ... | 39 |
| 7.7. Efecto fungistático de la fracción 5-6 del extracto hexánico de <i>J. cordata</i> | 42 |
| 7.8. Identificación del compuesto..... | 44 |

| | | |
|-------|--------------|----|
| VIII. | Discusión | 46 |
| IX. | Conclusión | 49 |
| X. | Bibliografía | 50 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | Página |
|--|--------|
| Figura 1. Especies de <i>Jatropha</i> | 8 |
| Figura 2. Planta de la especie <i>Jatropha cordata</i> | 11 |
| Figura 3. Bacterianas utilizadas..... | 20 |
| Figura 4. Cepas utilizadas de <i>C. albicans</i> | 20 |
| Figura 5. Especimen vegetal..... | 23 |
| Figura 6. Extracto hexánico de TD de <i>J. cordata</i> | 24 |
| Figura 7. Método de difusión en agar para hongos y bacterias..... | 26 |
| Figura 8. Cromatografía en columna de la fracción 5-6 del extracto hexánico.. | 27 |
| Figura 9. Equipo de resonancia magnética nuclear (RMN) del IIQB-UMSNH... | 29 |
| Figura 10. Sensibilidad bacteriana a los extractos de <i>J. cordata</i> | 31 |
| Figura 11. Halos de inhibición del crecimiento bacteriano causada por los extracto del tallo descortezado de <i>J. cordata</i> | 32 |
| Figura 12. Efecto fungistático de los extractos del TD de <i>J. cordata</i> | 33 |
| Figura 13. Halos del efecto fungistático de los extractos del TD de <i>J. cordata</i> en <i>C. albicans</i> | 34 |
| Figura 14. Señales del fraccionamiento del extracto hexánico de <i>J. cordata</i> en placa fina..... | 35 |
| Figura 15. Sensibilidad bacteriana a las fracciones del extracto hexánico del tallo descortezado de <i>J. cordata</i> | 36 |
| Figura 16. Halos de inhibición de las fracciones del extracto hexánico del TD de <i>J. cordata</i> y controles..... | 37 |
| Figura 17. Efecto fungistático de las fracciones de <i>J. cordata</i> en <i>C. albicans</i> .. | 38 |
| Figura 18. Halos del efecto fungistático de las fracciones del extracto hexánico del TD de <i>J. cordata</i> en <i>C. albicans</i> | 39 |
| Figura 19. Señales de la fracción 5-6 del extracto hexánico de <i>J. cordata</i> en placa fina..... | 40 |

| | |
|--|----|
| Figura 20. Sensibilidad a la fracción 5-6 del extracto hexánico..... | 41 |
| Figura 21. Halos de inhibición del fraccionamiento de la fracción 5-6 del extracto hexánico de <i>J. cordata</i> y controles..... | 42 |
| Figura 22. Efecto fungistático del fraccionamiento cromatográfico de la fracción 5-6..... | 43 |
| Figura 23. Halos del efecto fungistático del fraccionamiento cromatográfico de la fracción 5-6 del extracto hexánico de <i>J. cordata</i> | 44 |
| Figura 24. Espectros de RMN ¹ H del extracto del TD de <i>J. cordata</i> | 45 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | Página |
|---|--------|
| Cuadro 1. Géneros con centro de diversificación en México..... | 4 |
| Cuadro 2. Especies del género <i>Jatropha</i> distribuidas en algunos estados de México..... | 5 |
| Cuadro 3. Especies del género <i>Jatropha</i> con actividad antimicrobiana..... | 6 |
| Cuadro 4. Compuestos aislados de algunas especies del género <i>Jatropha</i> | 9 |
| Cuadro 5. Composición de ácidos grasos en el aceite de <i>J. cordata</i> | 11 |
| Cuadro 6. Composición química aproximada de la harina y aceites de las semillas de <i>J. cordata</i> | 12 |
| Cuadro 7. Composición de aminoácidos de la harina desengrasada de los granos de <i>J. cordata</i> | 12 |
| Cuadro 8. Componentes tóxicos y antinutricionales de la harina de los granos de <i>J. cordata</i> | 13 |
| Cuadro 9. Resistencia microbiana a los antibióticos de uso convencional..... | 15 |
| Cuadro 10. Resistencia a antibióticos de los aislados clínicos bacterianos patógenos usados en este trabajo..... | 19 |
| Cuadro 11. Composición de medios de cultivo utilizados..... | 21 |
| Cuadro 12. Mezclas de disolventes utilizados en la cromatografía en columna del extracto hexánico..... | 28 |
| Cuadro 13. Mezcla de disolventes utilizados en la cromatografía en columna de la fracción 5-6..... | 28 |
| Cuadro 14. Rendimiento de los extractos del tallo descortezado de <i>Jatropha cordata</i> | 30 |
| Cuadro 15 Sensibilidad bacteriana a los extractos TD de <i>J. cordata</i> | 30 |
| Cuadro 16. Efecto antifúngico de los extractos TD de <i>J. cordata</i> sobre <i>Candida albicans</i> | 32 |
| Cuadro 17. Sensibilidad bacteriana a las fracciones del extracto hexánico del | 35 |

| | |
|--|----|
| tallo descortezado de <i>J. cordata</i> | |
| Cuadro 18. Efecto fungistático del extracto hexánico del TD de <i>J. cordata</i> sobre el hongo levaduriforme <i>C. albicans</i> | 37 |
| Cuadro 19. Sensibilidad bacteriana a la fracción 5-6 del extracto hexánico.... | 40 |
| Cuadro 20. Efecto fungistático de la fracción 5-6 del extracto hexánico de <i>J.</i> <i>cordata</i> | 42 |

I. INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional es la suma de conocimientos y prácticas usadas en el diagnóstico, prevención y eliminación de los desequilibrios físicos, mentales o sociales de los individuos. Este conocimiento se basa en la experiencia práctica y es transmitida de generación en generación de manera oral o escrita. Es indudable la importancia de las plantas y los árboles para la medicina moderna, durante mucho tiempo los remedios naturales y las plantas medicinales fueron el principal e incluso el único recurso del que disponía el médico (Quesada-Hernández, 2008). Actualmente, los extractos de plantas se siguen usando para proporcionar la cobertura de salud a más del 80% de la población mundial. La medicina tradicional se usa para el desarrollo de medicamentos, especialmente en países en desarrollo. México tiene una tradición acendrada en la utilización de plantas medicinales, entre sus prácticas curativas. Un total de 3,000 especies han sido compiladas en un atlas de plantas medicinales, empleada por diversos grupos étnicos. Increíblemente, de éstos sólo aproximadamente el 1% de ellos han sido estudiados en cuanto a sus posibles propiedades medicinales, debido a que las plantas presentan una abundancia y complejidad estructural en sus componentes. Recurrentemente se valida el uso medicinal de las especies vegetales ampliamente utilizados en la medicina tradicional mexicana para tratar padecimientos de etiología infecciosa y se identifican metabolitos secundarios mayoritarios como responsables de la actividad antimicrobiana *in vitro* (Damián-Badillo *et al.*, 2008).

El género *Jatropha* forma parte de la familia Euphorbeaceae, se encuentra distribuida en las regiones tropicales de América, África y Asia, e incluye aproximadamente 186 especies (Fresnedo y Orozco, 2013), tiene usos en la medicina tradicional, algunas de sus especies son usadas por sus propiedades analgésicas, antimicrobianas y antitumorales. Los extractos de etanol de la corteza

de tallo de *J. curcas* presentan actividad antibacteriana y antifúngica sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Candida albicans*, y pueden ser atribuidos a la presencia de algunos metabolitos secundarios como saponinas, taninos, glucósidos cardiacos, carbohidratos, flavonoides y terpenoides (Wakirwa *et al.*, 2013). En México, 50 especies del género *Jatropha* se encuentran distribuidas en zonas semiáridas y subtropicales, entre ellas la especie *J. cordata*, localizada a lo largo de las costas del Pacífico de Sonora hasta Oaxaca con uso etnomedicinal debido a que sus infusiones de corteza son utilizadas por sus propiedades antisépticas.

El presente trabajo aporta evidencia experimental de la bioactividad del tallo descortezado de *J. cordata* en patógenos de importancia clínica y la variación de la producción de metabolitos secundarios como los responsables de tal acción, así como una aproximación del posible blanco de los mismos.

II. ANTECEDENTES

2.1. La familia Euphorbeaceae

La familia Euphorbiaceae es una de las más grandes familias vegetales y ocupa el sexto lugar en diversidad después de Orchidaceae, Asteraceae, Fabaceae, Poaceae y Rubiaceae. Su distribución es subcosmopolita, pero está mejor presentada en regiones tropicales y subtropicales, varios representantes se extienden a las zonas templadas de ambos hemisferios. La familia es importante, debido a que muchas de sus especies se cultivan para su uso medicinal, industrial, alimenticio y ornamental. Las Euphorbiaceae son dicotiledóneas y pertenecen al orden Euphorbiales. La variación morfológica en la familia es enorme, lo que dificulta su caracterización. Sin embargo, la mayoría de las especies se reconocen por sus flores unisexuales, frecuentemente pequeñas, la

presencia de un disco floral, un ovario súpero con tres lóculos, los lóculos con uno o dos óvulos, frutos típicamente esquizocarpicos capsulares con mericarpos elásticamente dehiscentes. Además, mucha especies tienen látex, hojas con estípula y varias formas de glándulas. La familia Euphorbiaceae es una de las más grandes y diversas de México, por ello se constituye como el centro de diversidad para muchos de sus géneros (Cuadro 1), contribuyen significativamente a la riqueza de la flora nacional. En México las Euphorbiaceae están representadas por 43-50 géneros y 782-826 especies, lo que representa más de 3% de la flora vascular calculada para el país en 22 000 especies. Más 32 taxa intraespecíficos: 8 subespecies y 24 variedades. Los géneros más grandes son *Euphorba* (241 spp., 31%), *Croton* (124 spp., 16%), *Acalypha* (108 spp., 14%), *Jatropha* (48-50 spp., 6%) y *Phyllanthus* (41 spp., 5%). Juntos representan 72% de las especies de las Euphorbiaceae conocidas de México. Hay un género endémico del país, *Enriquebeltrania* y se estima que 57% de las especies mexicanas son endémicas a su territorio, un ejemplo del porque se emplea el concepto de Megaméxico. Los taxa introducidos están representados por un género (*Ricinus*) y 10 especies. Dos centros de diversidad se destacan que corresponden con las vertientes pacífica y atlántica. A nivel de género, las euforbiáceas mexicanas muestran una gran afinidad con las del Centro y Sudamérica. A nivel de especie, en su mayoría son endémicas, pero de las que no lo son, 200 existen también en Centroamérica, 138 en los Estados Unidos, 85 en Sudamérica y 55 en las Antillas. Casi ninguna de las especies mexicanas se encuentra de manera natural en el Viejo Mundo. Tanto sistemática como florística, el conocimiento de las Euphorbiaceae en México es aun sumamente pobre (Steinmann., 2002; Martínez *et al.*, 2002).

Cuadro 1. Géneros con centro de diversificación en México. (Steinmann, 2002).

| Género | Número de especies en México/Número de especies en total | Porcentaje correspondiente |
|--------------------|--|----------------------------|
| <i>Pedilanthus</i> | 15/15 | 100 |
| <i>Dalembertia</i> | 3/3 | 100 |
| <i>Garcia</i> | 2/2 | 100 |
| <i>Tetracoccus</i> | 4/5 | 80 |
| <i>Astrocasia</i> | 4/6 | 67 |
| <i>Adelia</i> | 6/13 | 46 |
| <i>Stillingia</i> | 12/29 | 41 |
| <i>Bernardia</i> | 25/70 | 36 |
| <i>Cnidoscopus</i> | 24/67 | 36 |
| <i>Jatropha</i> | 48/188 | 25 |
| <i>Acalypha</i> | 108/465 | 23 |
| <i>Manihot</i> | 20/108 | 19 |
| <i>Euphorbia</i> | 241/1840 | 13 |
| <i>Croton</i> | 124/1225 | 10 |

2.2. El género *Jatropha* y su distribución en México

El género *Jatropha* es ampliamente distribuido en zonas tropicales del viejo y nuevo mundo como América, África y el continente de Asia. La palabra *Jatropha* es derivada de las palabras griegas *Jatras*=Médico, *Trophe*=Nutrición/alimento. El género *Jatropha* pertenece a la tribu Jatrophae y cuenta con aproximadamente 200 especies, arbustos, árboles o hierbas monoicos o doicos. Generalmente, son arbustos o arboles caracterizados por un exudado transparente o coloreado que emana cuando la planta sufre algún daño (Rodríguez-Acosta *et al.*, 2009). El crecimiento es rápido, tiene cortos periodos de gestación y sirve de barrera en sistemas agrícolas por que no permite el paso de los animales en terrenos baldíos. Las semillas de *Jatropha* contienen 46-58% de aceite en peso del grano y del 30-40% en peso de la semilla (Ganesh *et al.*, 2008).

La riqueza y el nivel de endemismo del género *Jatropha* en México inducen a reflexionar sobre el potencial químico farmacológico que puede existir en ésta biodiversidad, por lo que es de vital importancia conocer más sobre este recurso y la distribución en los diferentes estados (Cuadro 2).

Cuadro 2. Especies del género *Jatropha* distribuidas en algunos estados de México. (Cházaro-Basáñez *et al.*, 2013).

| Nombre de la especie | | Estado |
|-------------------------------------|-----------------------------|---|
| <i>J. alamani</i> | Muell.-Arg. | Oaxaca |
| <i>J. andrieuxii</i> | Muell.-Arg. | Oaxaca, Guerrero, Puebla |
| <i>J. ciliata</i> | Sesse ex Cerv. | Oaxaca, Guerrero, Puebla |
| <i>J. conzatti</i> | J. Jiménez-Ram. | Oaxaca, |
| <i>J. curcas</i> | Linn | Oaxaca, Jalisco, Puebla (cultivada), Michoacán, Veracruz |
| <i>J. fremontoides</i> | Standl. | Oaxaca, |
| <i>J. gossypifolia</i> | Linn. | Oaxaca, Jalisco, Veracruz |
| <i>J. malacophylla</i> | Standl. | Oaxaca, Jalisco |
| <i>J. neopauciflora</i> | Pax. | Oaxaca, Puebla |
| <i>J. oaxacana</i> | J. Jiménez-Ram. & R. Torres | Oaxaca, Guerrero, Puebla |
| <i>J. podagrica</i> | Hook. | Oaxaca |
| <i>J. pseudocurcas</i> | Muell.-Arg. | Oaxaca, Puebla |
| <i>J. rzedowskii</i> | Muell.-Arg. | Oaxaca, Puebla |
| <i>J. sympetala (J. stadleyana)</i> | Standley & Blake (Steyerm) | Oaxaca |
| <i>J. tehuantepecana</i> | J. Jiménez-Ram. | Oaxaca |
| <i>J. barlettii</i> | Wilbur | Jalisco, |
| <i>J. bullockii</i> | E. Lott | Jalisco |
| <i>J. cinerea</i> | (Ort.) Muell.-Arg. | Jalisco |
| <i>J. dioica</i> | Cerv. | Jalisco, Veracruz |
| <i>J. chamelensis</i> | Pérez-Jiménez | Jalisco, Michoacán |
| <i>J. deghanii</i> | J. Jiménez-Ram. | Jalisco |
| <i>J. mcvaughii</i> | Dehgan & Webster | Jalisco |
| <i>J. playtphylla</i> | Muell.-Arg. | Jalisco |
| <i>J. sympetala (J. standleyii)</i> | Standley & Blake (Steyerm) | Jalisco |
| <i>J. contrerasii</i> | J. Jiménez-Ram. | Guerrero |
| <i>J. elbae</i> | J. Jiménez-Ram. | Guerrero |
| <i>J. galvanii</i> | J. jiménez-Ram. | Guerrero, Puebla, Michoacán |
| <i>J. krusei</i> | J. Jiménez-Ram. | Guerrero |
| <i>J. peltata</i> | Sesse ex Cerv. | Guerrero, Michoacán |

| | | |
|-------------------------------|----------------------------------|---------------------|
| <i>J. sympetala</i> | S. F. Blake | Guerrero, Michoacán |
| <i>J. tlalcozotitlanensis</i> | J. Jiménez-Ram. | Guerrero |
| <i>J. websterii</i> | J. Jiménez-Ram | Guerrero, Puebla |
| <i>J. riojae</i> | Muell.-Arg. | Puebla |
| <i>J. rufescens</i> | Brandege | Puebla |
| <i>J. cordata</i> | (Ort.) Muell.-Arg. | Jalisco, Michoacán |
| <i>J. jaimejimenezii</i> | Steinmann | Michoacán |
| <i>J. pereziae</i> | J. Jiménez-Ram. | Michoacán |
| <i>J. stephanii</i> | J. Jiménez-Ram. | Michoacán |
| <i>J. gaumerii</i> | Greenm. | Veracruz |
| <i>J. soto-nuneyzii</i> | Fernández-Casas & Martínez-Salas | Veracruz |

2.3 Especies del género *Jatropha* con actividad farmacológica

Las especies de *Jatropha* son usadas en la medicina tradicional para curar varias enfermedades en África, Asia y América Latina (Cuadro 3), por ejemplo, *J. curcas*, *J. podagrica*, *J. multifida* y *J. gossypifolia*, que son algunas de las especies distribuidas en China, empleadas como medicamentos herbarios tradicionales debido a su efecto anti-agregación de plaquetas, antioxidante, diurético, antifúngico y actividades antiinflamatorias (Zhang *et al.*, 2009).

Cuadro 3. Especies del género *Jatropha* con actividad antimicrobiana.

| Especie | Partes de la planta | Actividad farmacológica | Uso medicinal | Referencia |
|------------------|---|-----------------------------|---|--|
| <i>J. nana</i> | Semillas, hojas, raíces | antimicrobiano | Anti-irritante en oftalmia (Maharastra) | Bhagat y Kulkarni, 2010 |
| <i>J. curcas</i> | Semillas, corteza del tallo, fruto, latex | Antimicrobiano, antifúngico | Antiséptico durante el parto, tratamiento en enfermedades de la piel, en infecciones de transmisión sexual, | Devappa <i>et al.</i> , 2009; Wakirwa <i>et al.</i> , 2013; Tarun <i>et al.</i> , 2012; Adamu <i>et al.</i> , 2013; Igbinosa <i>et al.</i> , 2009; Arekemase <i>et al.</i> , 2011; Ekundayo y Ekekwe, 2013 |

| | | | | |
|-------------------------|-----------------------|--|--|--|
| | | | antiinflamatorio | |
| <i>J. gossypifolia</i> | Toda la planta | antibacteriano | Antiinflamatorio, antidiarréico, antihipertensivo | Ravindranath <i>et al.</i> , 2003; Félix-Silva <i>et al.</i> , 2014 |
| <i>J. podagrica</i> | Raíz, corteza, tallo | antimicrobiano | Antipirético, diurético, colerético, purgante | Aiyelaagbe <i>et al.</i> , 2000; Aiyelaagbe y Gloer, 2008; Bhaskarwar <i>et al.</i> , 2008 |
| <i>J. maheshwerii</i> | Tallo | antibacteriano | En reumatismo, eccema, tiña, insecticida, infecciones dentales y de la piel, hemorragias | Sumathi y Uthayakumari, 2014; Viswanathan <i>et al.</i> , 2004 |
| <i>J. unicastata</i> | Hojas, fruto, corteza | antibacteriano | Heridas, sarna, eccemas | Mothana y Lindequist, 2005 |
| <i>J. multifida</i> | Hojas, raíz, corteza | Antibacteriano, larvicida contra <i>Bactrocera zonata</i> , antiinflamatorio, analgésico | Antimicrobiano, antiséptico | Rampadarath <i>et al.</i> , 2014; Falodun <i>et al.</i> , 2013 |
| <i>J. elliptica</i> | Rizomas | antibacteriano | Depuraciones, mordeduras de serpientes | Marquez <i>et al.</i> , 2005 |
| <i>J. weddelliana</i> | Tallo | Antibacteriano, antifúngico | | Brum <i>et al.</i> , 2001 |
| <i>J. glandulifera</i> | Hojas, raíz | antibacteriano | Analgésico, antiinflamatorio, tratamiento en bronquitis, en piquetes de escorpión | Bhagat y Kulkarni, 2013 |
| <i>J. grossydentata</i> | Raíz | Antiprotozoario | Usos en prácticas chamánicas (Paraguay) | Schmeda-Hirschmann <i>et al.</i> , 1996 |
| <i>J. isabelli</i> | Rizomas, raíz | Antiprotozoario | Abortivo, reumatismo, | Schmeda-Hirschmann <i>et al.</i> , |

| | | | | |
|------------------|--------------------|-------------|---|-------------------------------|
| | | | gota humana | 1996 |
| <i>J. dioica</i> | Hojas, raíz, látex | Antifúngico | Gingivitis, dolor de muela, astringente | Oliveira <i>et al.</i> , 2013 |

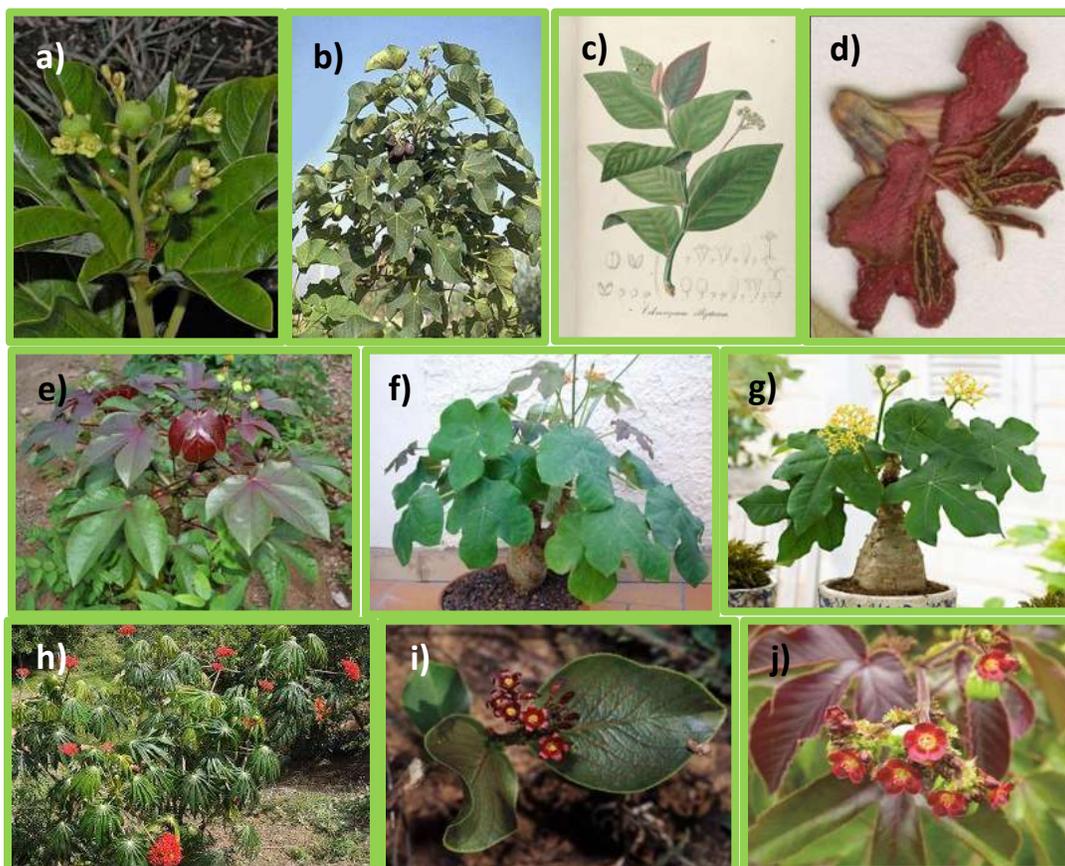


Figura 1. Especies de *Jatropha*. a) *Jatropha nana*. b) *Jatropha curcas* L. c) *Jatropha elliptica*. d) *Jatropha weddelliana*. e) *Jatropha gossypifolia*. f) *Jatropha podagrica*. g) *Jatropha podagrica* flor amarilla. h) *Jatropha multifida*. i) *Jatropha isabelli*. j) *Jatropha glandulifera*.

2.4. Metabolitos secundarios aislados de algunas especies del género *Jatropha* con actividad farmacológica

Las especies de *Jatropha*, son una fuente de componentes en los que destaca los taninos, saponinas, alcaloides, flavonoides, fenoles y terpenoides. Entre los terpenos, los compuestos diterpenos han dominado el área de investigación de las especies de *Jatropha* con respecto a sus nuevas estructuras químicas y su valor medicinal. Recientemente, una serie de productos naturales bioactivos,

principalmente diterpenos y triterpenos, se reportaron en los extracto de las especies de *Jatropha*, y estos son un bio-recurso prometedor para el desarrollo de fármacos potenciales y otros productos (Zhang *et al.*, 2009; Nwokocha *et al.*, 2011).

Cuadro 4. Compuestos aislados de algunas especies del género *Jatropha*.

| Especie | Compuesto | Tipo del compuesto | Actividad | Referencia |
|---|---|--------------------|--|--|
| <i>J. nana</i> ; <i>J. weddelliana</i> ; <i>J. maheshwerii</i> ; <i>J. dioica</i> | β -sitosterol | Esterol | Antimicrobiano | Bhagat y Kulkarni, 2010; Brum <i>et al.</i> , 1998; Sumathi y Uthayakumari, 2014; Villareal <i>et al.</i> , 1988 |
| <i>J. curcas</i> | 12-desoxi-16-hidroxi-forbol (éster de formol) | Diterpeno | Antimicrobiano | Devappa <i>et al.</i> , 2012 |
| <i>J. gossypifolia</i> | Jatrogenona | Diterpeno | Antimicrobiano | Ravindranath <i>et al.</i> , 2003 |
| <i>J. weddelliana</i> | Jatrowediol | Diterpeno | *NA | Brum <i>et al.</i> , 2001 |
| <i>J. weddelliana</i> ; <i>J. grossidentata</i> | Jatrogrossidiona | Diterpeno | Leishmanicida, tripanocida | Brum <i>et al.</i> , 2001; Schmeda-Hirschmann <i>et al.</i> , 1996 |
| <i>J. weddelliana</i> | 4Z-jatrogrossidentadiona | Diterpeno | Antibacterial, antifúngica | Brum <i>et al.</i> , 2001 |
| <i>J. weddelliana</i> | 15- <i>epi</i> -4Z-jatrogrossidentadiona | Diterpeno | Antibacterial, antifúngica | Brum <i>et al.</i> , 2001 |
| <i>J. weddelliana</i> | 2-hidroxiisojatrogrossidiona | Diterpeno | Antibacterial, antifúngico | Brum <i>et al.</i> , 2001 |
| <i>J. weddelliana</i> | 2- <i>epi</i> -hidroxiisojatrogrossidiona | Diterpeno | Antibacterial, antifúngico | Brum <i>et al.</i> , 2001 |
| <i>J. weddelliana</i> | Ácido 3-acetilalcuritolico | | *NA | Brum <i>et al.</i> , 1998 |
| <i>J. weddelliana</i> | Jatrowediona | Diterpeno | *NA | Brum <i>et al.</i> , 198 |
| <i>J. multifida</i> | Multifolona | Diterpeno | *NA | |
| <i>J. maheshwarii</i> | fitol | Diterpeno | Antimicrobiano, antiinflamatorio, anticancerígeno, diurético | Sumathi y Uthayakumari, 2014 |
| <i>J. maheshwarii</i> | Imidazol 2-amino-5-[(2-carboxi), vinil]] | Amino | Antibacteriano, antiinflamatorio | Sumathi y Uthayakumari, 2014 |
| <i>J. maheshwerii</i> | 1,4-Dioxaspiro[4.5] | Sulfuro | Antimicrobiano | Sumathi y |

| | | | | |
|-----------------------|---|---------------|---|--|
| | decande, 8-(metilitio) | | | Uthayakumari, 2014 |
| <i>J. maheshwerii</i> | Ácido 1,2-bencenedicarboxílico, diisooctil éster | Plastificante | Antimicrobiano, | Sumathi y Uthayakumari, 2014 |
| <i>J. dioica</i> | Citlaltiriona | Diterpeno | *NA | Villareal <i>et al.</i> , 1988 |
| <i>J. dioica</i> | Riolazatriona | Diterpeno | Antimicrobiano | Dominguez <i>et al.</i> , 1980; Villareal <i>et al.</i> , 1988 |
| <i>J. maheshwerii</i> | 3,3'-iminobispropilamina | Amino | Antimicrobiano, antiinflamatorio | Sumathi y Uthayakumari, 2014 |
| <i>J. maheshwerii</i> | Escualeno | Triterpeno | Antibacteriano, antioxidante, antitumoral,pesticida | Sumathi y Uthayakumari, 2014 |
| <i>J. maheshwerii</i> | 3-Trifluoroacetoxipentadecano | Fluoro | Antimicrobiano | Sumathi y Uthayakumari, 2014 |
| <i>J. isabellii</i> | Jatrofano | Diterpeno | Antiprotozoario, citotóxico | Schmeda-Hirschamann <i>et al.</i> , 1996 |
| <i>J. elliptica</i> | 2,6-dimetil-4-fenilpiridina 3,5—dicarboxílico del ácido éster dietílico | | Antibacteriano | Marquez <i>et al.</i> , 2005 |
| <i>J. podagrica</i> | Japodagrín | Diterpeno | Antibacteriano | Aiyelaagbe <i>et al.</i> , 2007 |
| <i>J. podagrica</i> | Japodagróna | Diterpeno | Antibacteriano | Aiyelaagbe <i>et al.</i> , 2007 |

*NA = No tiene actividad reportada.

2.5. La especie *Jatropha cordata*

Jatropha cordata es una planta endémica del noroeste de México, su distribución es en ambos lados del golfo de California, en las montañas de Baja California, y hasta Sonora, en el sur de Chihuahua, y de Sinaloa hasta Jalisco (Fresnedo y Orozco, 2013). Cuando la planta madura, tiene la forma de crecimiento de un pequeño árbol de 6 a 8 m de altura con la apariencia superficial de un arbusto. El tallo de esta planta es semileñosa de 13 cm de diámetro (Popham 1947).

Su hábitat incluye el desierto de Sonora, bosques caducifolios tropicales y bosques de roble. Las flores de *J. cordata* aparecen de agosto a septiembre y las

hojas en el inicio de lluvias de verano y se mantiene hasta el árido verano del año siguiente (Turner *et al.*, 2005). Esta especie se puede encontrar en colonias dispersas, comúnmente asociado con árboles y arbustos, crece en las laderas rocosas y suelos arenosos. Es una planta suculenta y su madera es semi-blanda. Es un importante huésped para larvas *Rothschildia cincta*, una mariposa mejor conocida como “Cuatro espejos”. La sabia se ha utilizado para detener el sangrado de heridas menores (Gámez-Mesa *et al.*, 2012) y sus infusiones de corteza son utilizadas por sus propiedades antisépticas.



Figura 2. Planta de la especie *Jatropha cordata*.

2.5.1 Valor nutricional de *J. cordata*

Las semillas de *J. cordata* contienen bastante proteína cruda con 283 g/kg (29.26%). Los ácidos grasos presentes en esta planta son ácido linoléico y ácido oleico con 49.66% y 36.48%, respectivamente. Inhibidores de tripsina (10.4%) y fitatos (25.16%) y bajos niveles de saponinas (3.56%) están presentes en las semillas, el contenido de ésteres de formol en *J. cordata* es de 2.73 mg/g (1.09%), los aminoácidos esenciales y no esenciales contenidos por kg de proteína más abundantes son: leucina (7.03%), valina (5.26%), ácido glutámico (16.88%), arginina (12.39%). (Gámez-Meza *et al.*, 2012).

Cuadro 5. Composición de ácidos grasos en el aceite de *J. cordata*. (Gámez-Meza *et al.*, 2012).

| Ácido graso | Contenido en g/kg |
|-------------------|-------------------|
| Mirístico (C14:0) | 4.2±0.1 |

| | |
|-----------------------|------------|
| Palmítico (C16:0) | 76.6±1.2 |
| Palmitoléico (C16:1) | 13.5±0.7 |
| Esteárico (C18:0) | 41.6±8.2 |
| Oleico (C18:1) | 366.4±22.3 |
| Linoleico (C18:2) | 498.8±13.2 |
| Linolénico (C18:3) | 2.3±0.1 |
| Araquidónico (C20:0) | 0.9±0.2 |
| Total saturados | 123.3 |
| Total monoinsaturados | 379.9 |
| Total poliinsaturados | 501.1 |

Cuadro 6. Composición química aproximada de la harina y aceites de las semillas de *J. cordata*. (Gámez-Meza *et al.*, 2012).

| componente | g/kg de materia seca | |
|--------------------------|----------------------|---------|
| | grano | Cáscara |
| Proteína cruda | 283 | 54 |
| Lípidos | 517 | 10 |
| Ceniza cruda | 47 | 34 |
| Fibra detergente neutra | -- | 884 |
| Fibra detergente ácido | -- | 720 |
| Lignina detergente ácido | -- | 327 |
| Materia seca (g/kg) | 967 | 948 |

Cuadro 7. Composición de aminoácidos de la harina desengrasada de los granos de *J. cordata*. (Gámez-Meza *et al.*, 2012).

| Aminoácido | g/kg proteína |
|--------------|---------------|
| Esenciales | |
| Cistina | 16.8 |
| Metionina | 16.1 |
| Valina | 47.9 |
| Isoleucina | 39.5 |
| Leucina | 64.0 |
| Tirosina | 26.3 |
| Fenilalanina | 42.4 |
| Histidina | 31.8 |
| Lisina | 35.1 |

| | |
|-----------------|-------|
| Treonina | 34.0 |
| Triptófano | 11.3 |
| No esenciales | |
| Acido aspártico | 97.7 |
| Prolina | 39.5 |
| Serina | 48.3 |
| Acido glutámico | 153.6 |
| Glicina | 44.3 |
| Alanina | 47.9 |
| Arginina | 112.7 |
| Total | 909.5 |

Cuadro 8. Componentes tóxicos y antinutricionales de la harina de los granos de *J. cordata*. (Gámez-Meza *et al.*, 2012).

| Componente | Contenido en g/kg |
|-----------------------|-------------------|
| Inhibidor de tripsina | 26 mg/g |
| Fitatos | 62.9 |
| Saponinas | 8.9 |
| Formol éster | 2.73 |

2.6. Resistencia bacteriana a los antibióticos de uso convencional

La resistencia microbiana a múltiples sustancias es un problema de salud pública a nivel mundial después de la aparición de los antibióticos. Este problema se incrementó drásticamente en los últimos años en los países en desarrollo, y se convirtió rápidamente en una preocupación principal de salud pública. La prevalencia de la resistencia microbiana a los antibióticos varía mucho entre países y dentro de ellos (Amabile-Cuevas, 2010), sin embargo, una tendencia general al aumento de la resistencia a los agentes antimicrobianos se observa. Son varios los factores a quienes se le puede atribuir la rápida aparición y diseminación de la resistencia a los antimicrobianos (Vila y Pal, 2010).

En México, la información sobre las prácticas de prescripción de antimicrobianos, tanto en la medicina humana como en la veterinaria y en la agricultura, es insuficiente para establecer estrategias puntuales y disminuir el problema de

resistencia. La disponibilidad de medicamentos “similares”, entre otros y la calidad de los mismos, propician que México sea un lugar ideal para la selección de microorganismos cada vez más resistentes (Miranda-Novales, 2011). La investigación sobre la resistencia bacteriana a los antibióticos en México se centró inicialmente en las infecciones gastrointestinales, aunque también se ha enfocado en la generación de reportes y en la descripción de los mecanismos de resistencia en aislamientos provenientes principalmente de muestras de pacientes con infecciones hospitalarias, así como de brotes, epidemias o de patógenos persistentes. Igualmente, se observa un panorama general de la resistencia en las infecciones comunitarias más frecuentes en nuestro país, como son las de las vías respiratorias (Rodríguez-Noriega *et al.*, 2014).

Por ejemplo, las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina se diseminaron por todo el mundo y aunque se mantuvieron como un problema asociado al ambiente hospitalario, en los años 90 del siglo XX aparecieron los primeros casos en pacientes sin antecedentes de hospitalización, por lo que estas nuevas cepas recibieron la denominación de cepas de adquisición en la comunidad. Debido al comportamiento descrito en los hospitales (incremento de resistencia de 2 a 64% en 30 años) se teme que la diseminación se lleve a cabo eficientemente y se convierta en un problema grave de salud pública en este siglo. En México, la información sobre la magnitud del problema se ha centrado en reportes de centros hospitalarios de tercer nivel. La frecuencia de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina es del 50-80% (Miranda-Novales, 2011). En los países en desarrollo, las enfermedades como el VIH, la tuberculosis, la malaria y diversas infecciones entéricas y neumocócicas son consideradas como las causas más importantes de morbilidad y mortalidad de las infecciones por *S. aureus* y más organismos resistentes a los antibióticos en general. Esto limita considerablemente la atención que se presta a la aparición y propagación de la resistencia de este patógeno en zonas de bajos ingresos (Vila y Pal, 2010).

Escherichia coli es un microorganismo que se asocia con infecciones extraintestinales e intestinales. Las infecciones del tracto urinario son las más frecuentes. Actualmente, seis diferentes patotipos de *E. coli* se aceptan, con

diferentes rasgos de virulencia, que causan infecciones intestinales. Estos son denominados como *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* difusa adherirse (DAEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) y *E. coli* enterohemorrágica o *E. coli* verotoxigénica (EHEC/VTEC). EIEC y EHEC tienen una menor prevalencia como una causa de diarrea en los países en desarrollo en comparación con los otros patotipos. Datos recientes sugieren que en pacientes con infección causada por *E. coli* enterohemorrágica 0157:H7 al tratamiento aumenta el riesgo del síndrome urémico hemolítico (Vila y Pal, 2010).

Candida albicans es un comensal de la microflora de humanos, reside en la cavidad oral, el tracto gastrointestinal, en la vía vaginal y urinaria, actúa como un patógeno oportunista. Es la segunda causa de infección urinaria nosocomial, tal vez debido a que en los enfermos hospitalarios se conjuntan otros factores de riesgo para este tipo de infecciones, entre ellos el uso de antibióticos de amplio espectro, sondas urinarias, nutrición parenteral y estancia hospitalaria prolongada (Lundstrom y Sobel, 2001).

Cuadro 9. Resistencia microbiana a los antibióticos de uso convencional.

| Microorganismo | Resistencia a antibiótico | Referencia |
|------------------------------|---|---|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Metilina, ampicilina, penicilina, ceftazidima | Vila y Pal, 2010; Morales y Ruíz de Chavez, 2006; |
| <i>Bacillus subtilis</i> | Tetraciclina | Andrews y Wise, 2002 |
| <i>Proteus mirabilis</i> | Amoxicilina, nitrofurantoína, cefalexina, piperaciclina, ampicilina; trimetoprim-sulfametoxazol | Salas y Sancho, 2005 |
| <i>Escherichia coli</i> | Amoxicilina, trimetoprim-sulfametoxazol, ácido clavulánico-amoxicilina, | Vila y Pal, 2010; Salas y Sancho, 2005 |
| <i>Cándida albicans</i> | Fluconazol, ketoconazol, itraconazol | Cowen <i>et al.</i> , 2000 |

III. JUSTIFICACIÓN

El desarrollo de resistencia en patógenos humanos a los antibióticos de uso común requiere la investigación de nuevas moléculas antimicrobianas procedentes de fuentes como las plantas. Diversos estudios confirman la bioactividad de especies de *Jatropha*, algunas usadas por sus propiedades analgésicas, antitumorales y antimicrobianas. *J. cordata* tiene uso en la medicina tradicional para el tratamiento de diversas enfermedades, sus infusiones de corteza son utilizadas por sus propiedades antisépticas. Por esta razón es posible encontrar actividad antimicrobiana.

IV. HIPÓTESIS

Los extractos orgánicos del tallo descortezado (TD) de *J. cordata* presentan actividad antimicrobiana sobre patógenos de importancia clínica.

V. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Determinar la actividad antimicrobiana de los extractos orgánicos de *Jatropha cordata* sobre patógenos de importancia clínica.

5.2. Objetivos específicos

- Determinar la actividad antimicrobiana de los extractos hexánicos, diclometánicos y acetónicos del TD de *J. cordata*.
- Separar por cromatografía en columna el extracto con mejor actividad biocida.

VI. Materiales y métodos

6.1. Material biológico

La evaluación de los extractos de *Jatropha cordata* se realizó con cinco aislados clínicos: tres gram positivas y dos gram negativas. Todas ellas caracterizadas bioquímicamente y obtenidas del Hospital Civil “Dr. Miguel Silva” de la ciudad de Morelia, Michoacán, México (figura 3). Forman parte de la flora normal del cuerpo pero en personas inmunocomprometidas pueden causar padecimientos graves resistentes a diversos antibióticos de uso convencional (Cuadro 10). Tres cepas de hongos levaduriformes de *Candida albicans*, cepa 1 y cepa 2 obtenidas de la Asociación para Evitar la Ceguera en México I.A.P. Hospital “Dr. Luis Sánchez Bulnes” y una ATCC 10231 cepa 5 obtenida del Laboratorio Estatal de Salud Pública de Michoacán (Figura 4).

Cuadro 10. Resistencia a antibióticos de los aislados clínicos bacterianos patógenos usados en este trabajo. (García-Sánchez, 2014).

| Bacteria | Resistencia a antibióticos | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|----------------------------|----|----|-----|----|-----|----|-----|-----|----|-----|----|----|----|----|-----|
| | AM | CF | CL | NET | CB | SXT | NF | CRO | CTX | PE | CAZ | GE | DC | TE | AK | CXM |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | R | | | | | R | | | | R | R | R | R | | | |
| <i>Staphylococcus saprophyticus</i> | R | | | | | | | | R | R | R | | R | R | | R |
| <i>Proteus mirabilis</i> | | R | | | R | | R | | | | | | | | | |
| <i>Escherichia coli</i> | R | R | R | | R | R | | | | | | | | | | |

Resistencia (R); Ampicilina 10 µg (AM); Amikacina 30 µg (AK); Cefalotina 30 µg (CF); Cloranfenicol 30 µg (CL); Netilmicina 30 µg (NET); Carbencilina 100 µg (CB); Trime/sulfa 1.25/23.75 µg (SXT); Nitrofurantoina (NF); Ceftriaxona 30 µg (CRO); Cefotaxima 30 µg (CTX); Penicilina 10 unit (PE); Ceftazidima 30 µg (CAZ); Gentamicina 10 µg (GE); Dicloxacilina (DC); Tetraciclina 30 µg (TE); Cefuroxima 30 µg (CXM).

6.1.1. Cepas bacterianas

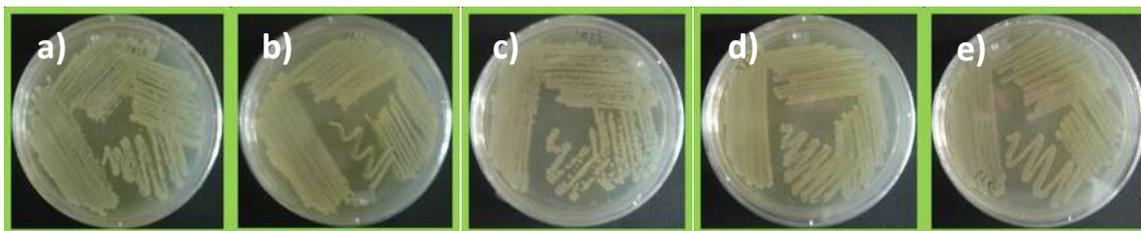


Figura 3. Bacterias utilizadas. Gram positivas: a) *Staphylococcus aureus*, b) *S. saprophyticus*, c) *Bacillus subtilis*; gram negativas d) *Proteus mirabilis*, e) *Escherichia coli*.

6.1.2. Cepas de *Candida albicans*

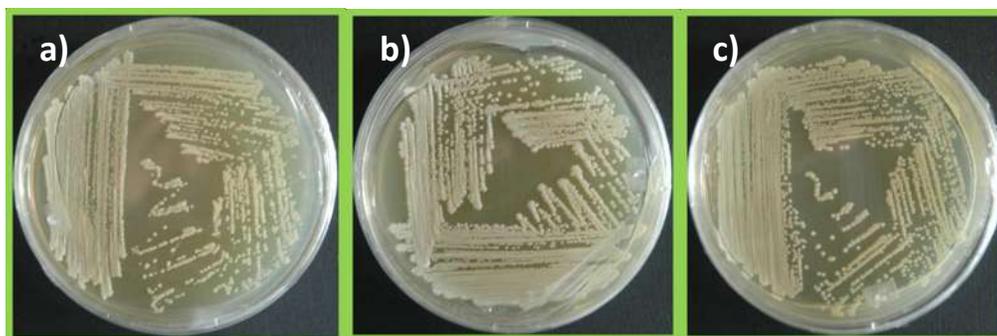


Figura 4. Cepas utilizadas de *C. albicans*. a) ATCC 10081 cepa 1, b) ATCC 10170 cepa 2, c) ATCC 10231 cepa 5.

6.2. Medios de cultivo

Los medios de cultivo deshidratados fueron preparados a la concentración indicada por el fabricante (Cuadro 11). El polvo se disolvió con agitación suave y calentamiento hasta su completa disolución y una apariencia transparente. Posteriormente, la suspensión se esterilizó en autoclave a 121 °C (15 libras de presión) durante 15 min, una vez esterilizado el medio de cultivo se enfrió a una temperatura entre 40-45 °C, se vació en placas de petri estériles con un grosor de aproximadamente 4 mm dentro de una campana de flujo laminar para evitar cualquier contaminación. El medio líquido se preparó con 5 ml de caldo Mueller Hinton (MHB) en tubos roscados de vidrio limpios y se esterilizó a las mismas condiciones antes mencionadas.

Cuadro 11. Composición de medios de cultivo utilizados.

| Medios de cultivo (Bioxon®)/1 litro de H ₂ O tridestilada | | | |
|--|---------|--|---------|
| Agar Mueller Hinton (MH) | | Agar Mueller Hinton Caldo (MHB) | |
| Infusión de carne | 30.0 g | Infusión de carne | 30.0 g |
| Almidón | 1.5 g | Peptona ácida de Caseína | 17.5 g |
| Peptona de caseína H | 17.5 g | Almidón | 1.5 g |
| Agar bacteriológico | 17.0 g | pH | 7.3±0.2 |
| pH | 7.4±0.2 | Cantidad de g/L de agua | 22 g |
| Cantidad de g/L de agua | 38 g | | |
| Agar Dextrosa Sabouraud (AS) | | Agar Papa Dextrosa (PDA) | |
| Digerido enzimático de caseína | 10.0 g | Infusión de papa | 4.0 g |
| Dextrosa | 40.0 g | Dextrosa | 20.0 g |
| Agar bacteriológico | 15.0 g | Agar | 15.0 g |
| pH | 5.6±0.2 | pH | 5.6±0.2 |
| Cantidad de g/L de agua | 65g | Cantidad de g/L de agua | 39 g |

6.3. Productos químicos

- ✓ Acetato de etilo
- ✓ Acetona
- ✓ Ácido sulfúrico 58%
- ✓ Agua tridestilada
- ✓ Cefotaxima (antibiótico)
- ✓ Cloruro de metileno
- ✓ Fluconazol (antifúngico)
- ✓ Hexano
- ✓ Hipoclorito de sodio
- ✓ Metanol
- ✓ Sílice gel 70-230 mesh, 60A

6.4. Material de laboratorio

- ✓ Asas bacteriológicas
- ✓ Bisturí
- ✓ Cajas Petri
- ✓ Columna de vidrio para cromatografía
- ✓ Cubrebocas
- ✓ Discos de papel filtro estériles
- ✓ Gradillas
- ✓ Guantes
- ✓ Hisopos estériles
- ✓ Matraz Erlenmeyer
- ✓ Mecheros Fisher
- ✓ Micropipetas
- ✓ Pinzas de disección
- ✓ Pipetas Pasteur
- ✓ Probetas
- ✓ Puntas estériles para micropipeta
- ✓ Tubos de ensayo con tapón de rosca
- ✓ Tubos Eppendorf
- ✓ Vasos de precipitado

6.5. Equipo de laboratorio

- ✓ Autoclave
- ✓ Balanza (Denver Instrument XE-100)
- ✓ Bortex-Genie (Mixer K-550-G)
- ✓ Campana de flujo laminar (IF, Mod: CFH-90)
- ✓ Estufa de incubación (Lumina IHC-36)
- ✓ Incubadora (Lumina IBT-165)
- ✓ Molino (Micron K20)
- ✓ Refrigerador
- ✓ Rotavapor (Büchi R-114)
- ✓ Waterbath (Büchi B-480)

6.6. Recolección y preparación de la planta

La especie *J. cordata* fue proporcionada por el Dr. Rafael Ramírez Malagón del Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Guanajuato, México. Los

especímenes fueron recolectados en Guerrero Negro en Baja California Sur, México.

El espécimen vegetal se separó en corteza y tallo. Los tallos descortezados obtenidos se cortaron en trozos pequeños de 1 cm de grosor por 6 ± 1 cm de alto, los cuales fueron molidos en pulverizador de la marca Micron modelo K20 para obtener un polvo (figura 5).

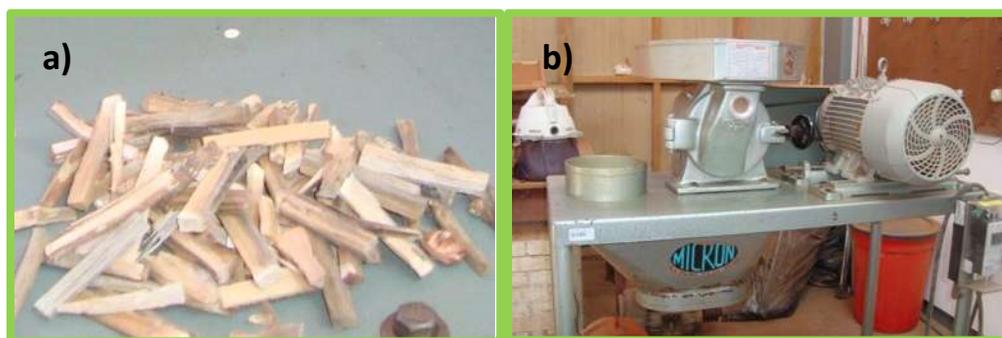


Figura 5. Especimen vegetal. a) Tallos descortezados de *J. cordata*, b) Molino pulverizador Micron K20.

6.7. Obtención de los extractos

Para la obtención de los extractos de tallo descortezado (TD) de *J. cordata* se realizó una maceración sucesiva con disolventes de polaridad ascendentes, se inició con el hexano (no polar), seguido de cloruro de metileno (polaridad media) y se finalizó con acetona (polar). En la primera etapa, el tallo descortezado y molido de la planta se colocó en un frasco de vidrio dejándose macerar con hexano durante tres días a temperatura ambiente protegiéndolo de la luz, posteriormente se filtró y se concentró en un rotavapor R-114 a 65°C , el disolvente obtenido (hexano) se vertió nuevamente en la misma muestra y se dejó macerar por tres días, repitiéndose el proceso hasta agotar componentes. Este proceso se repitió con los disolventes cloruro de metileno concentrando a 35°C y acetona

concentrando a 55 °C hasta agotar componentes (figura 6). Finalmente, tres extractos fueron obtenidos: hexánico, diclorometánico y acetónico.



Figura 6. Extracto hexánico de TD de *J. cordata*.

6.7.1. Almacenamiento de los extractos

Una vez obtenido los extractos se colocaron en frascos de vidrio y el disolvente se dejó evaporar en la campana de extracción hasta obtener un peso constante, posteriormente los extractos se prepararon a diferentes concentraciones en Dimetil Sulfóxido (DMSO) y se almacenaron en refrigeración hasta su utilización.

6.8. Ensayo biológico

6.8.1. Propagación bacteriana

La propagación de las bacterias se realizó con la técnica de estriado en placas, que consiste en obtener colonias aisladas, una asada del cultivo a ensayar se desliza sobre la superficie del agar MH con movimientos en forma de estría de un lado a otro, en cada cuadrante con la finalidad de obtener colonias aisladas. Una vez realizado, se prosiguió a incubar a 37 °C por 16-24 h.

6.8.2. Inoculación en medio líquido

En tubos de ensayo con tapas de roscas limpios y estériles se les agregó 5 ml de caldo Mueller Hinton (MHB) y se esterilizó a 121 °C (15 libras de presión) durante 15 min. Del cultivo se tomó de 2-4 colonias aisladas de acuerdo al tamaño de las mismas y se colocaron en los tubos de MHB el cual se incubó a 37°C hasta obtener una turbidez de 0.5 en la escala de Mc Farland, para obtener una densidad de 1×10^8 ufc/ml.

6.8.3. Preparación de los extractos y de las sustancias control

Cada uno de los tres extractos se disolvió en dimetil sulfóxido (DMSO) puro debido a que fue inerte con los microorganismos siendo así el disolvente ideal para ser ensayados los extractos. El control positivo fue cefotaxima y control negativo Dimetil DMSO. De cada uno se agregó un volumen de 6 µl, teniendo así: extracto 0.5 mg/µl, cefotaxima (0.125 µg/µl) y DMSO (1.10 mg/µl).

6.8.4. Método de difusión en agar para bacterias y levaduras

Las cepas crecidas en caldo MH, con la ayuda de un hisopo estéril fueron inoculadas en cajas de agar MH en forma de césped, hasta cubrir todos los espacios de la caja, se le colocaron discos de 7 mm de diámetro de papel filtro de poro mediano, a los cuales se le adicionaron los extractos en las concentraciones correspondientes, en otro se le adicionó cefotaxima (control positivo) y por último DMSO (control negativo). Las placas se incubaron a 37 °C durante 18 h y el halo de inhibición fue reportado en mm. Este proceso se repitió para los ensayos de las fracciones del extracto con mejor actividad antimicrobiana (figura 7).

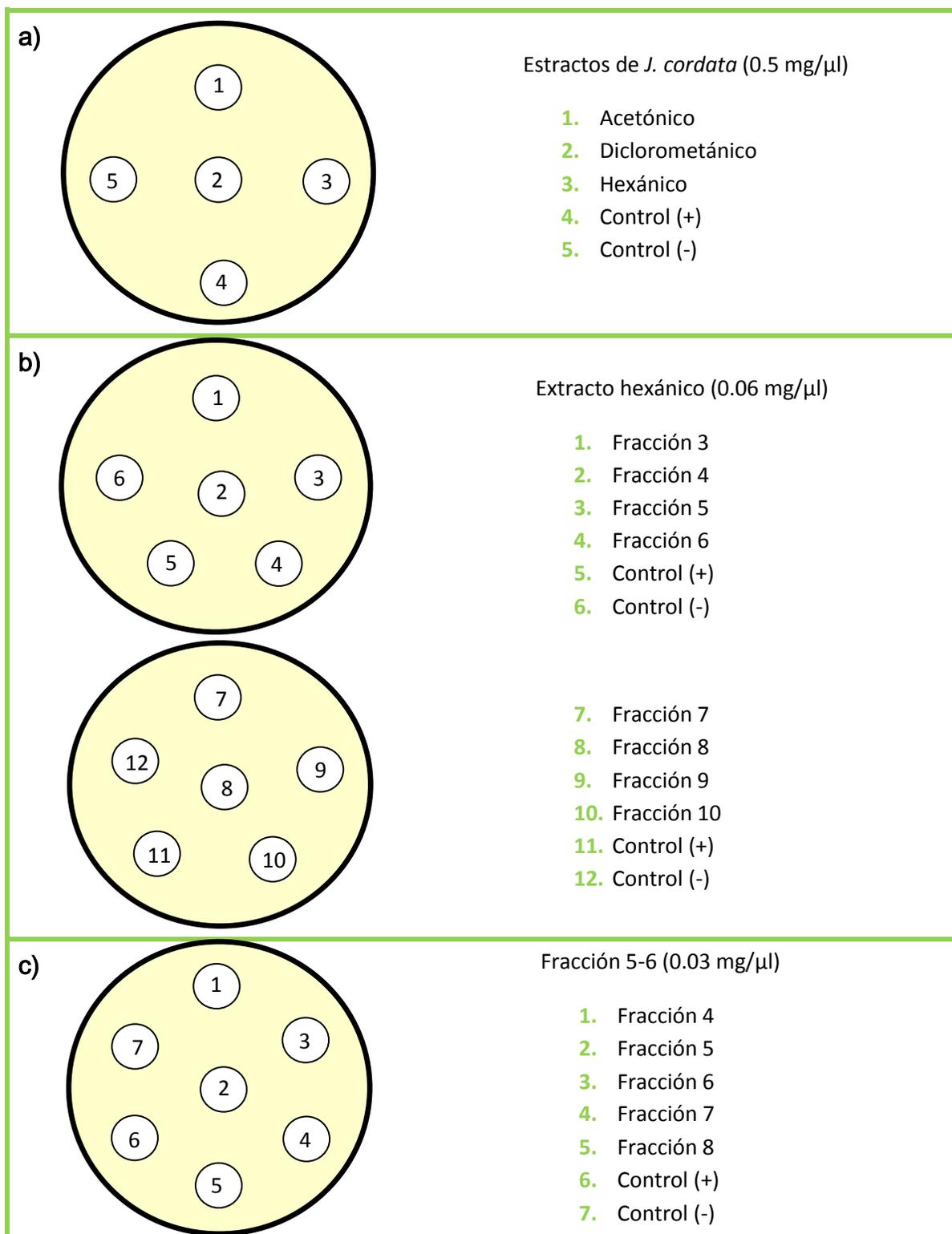


Figura 7. Método de difusión en agar para hongos y bacterias. A) fracciones del extracto hexánico. B) fracción 5-6 del extracto hexánico. Control positivo cefotaxima (0.125 μg/μl) y fluconazol (0.002 μg) para bacterias y hongo respectivamente; control negativo DMSO (1.10 mg/μl).

6.9. Método de cromatografía en columna

La columna de vidrio utilizada se lavó con cloruro de metileno para evitar cualquier contaminación por alguna sustancia, se adicionaron 15 g de gel de sílice (70X230 mesh 60A, SIGMA-ALDRICH) previamente humedecidos con hexano para eliminar el aire, se adicionó el gel de sílice a la columna de vidrio y quedó una columna de 2 x 10 cm de longitud. En seguida se adicionó 1 g de extracto hexánico disuelto en la mínima cantidad de hexano, se colocó un algodón con la finalidad de que las mezclas de disolventes utilizadas no llegaran directamente a la muestra y el corrimiento fuera homogéneo. Como fase móvil se usaron mezclas de hexano:acetato de etilo en polaridad ascendente como se muestra en el cuadro 3. Un total de 12 fracciones de cincuenta mililitros cada una se colectaron y las fracciones se analizaron mediante cromatografía en capa fina (TLC) con la finalidad de identificar la presencia de compuestos (Cuadro 12). Con las fracciones obtenidas se realizó un ensayo de sensibilidad microbiana. Nuevamente una cromatografía de las fracciones que presentaron actividad antimicrobiana se realizó (Cuadro 13) y se analizaron las fracciones obtenidas mediante el método de resonancia magnética nuclear (RMN), con la finalidad de conocer los compuestos presentes en el fraccionamiento (figura 8).



Figura 8. Cromatografía en columna de la fracción 5-6 del extracto hexánico.

Cuadro 12. Mezclas de disolventes utilizados en la cromatografía en columna del extracto hexánico.

| Volumen (ml) | Polaridad | |
|--------------|-----------|------------------|
| | Hexano | Acetato de etilo |
| 50 | 50 | 0 |
| 50 | 50 | 0 |
| 50 | 45 | 5 |
| 50 | 40 | 10 |
| 50 | 35 | 15 |
| 50 | 30 | 20 |
| 50 | 25 | 25 |
| 50 | 20 | 30 |
| 50 | 15 | 35 |
| 50 | 10 | 40 |
| 50 | 5 | 45 |
| 50 | 0 | 50 |

Cuadro 13. Mezcla de disolventes utilizados en la cromatografía en columna de la fracción 5-6.

| Volumen (ml) | Polaridad | |
|--------------|-----------|------------------|
| | Hexano | Acetato de etilo |
| 100 | 100 | 0 |
| 50 | 47.5 | 2.5 |
| 50 | 45 | 5 |
| 50 | 42.5 | 7.5 |
| 50 | 40 | 10 |
| 50 | 37.5 | 12.5 |
| 50 | 35 | 15 |
| 50 | 32.5 | 17.5 |
| 50 | 30 | 20 |
| 50 | 27.5 | 22.5 |
| 50 | 25 | 25 |
| 50 | 22.5 | 27.5 |
| 50 | 20 | 30 |
| 50 | 17.5 | 32.5 |
| 50 | 15 | 35 |
| 50 | 12.5 | 37.5 |
| 50 | 10 | 40 |
| 50 | 7.5 | 42.5 |
| 50 | 5 | 45 |
| 50 | 2.5 | 47.5 |
| 50 | 0 | 50 |

6.10. Espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN)

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C fueron obtenidos en un equipo Varian Mercury plus 400. Los espectros de Hidrógeno (^1H) se obtuvieron a 400 MHz en 60 repeticiones, la ventana espectral fue de 6,000 Hz, el disolvente utilizado fue cloroformo deuterado (CDCl_3) y el disolvente de referencia interna fue tetrametilsilano (TMS), los espectros de Carbono (^{13}C) se obtuvieron a 100 MHz en 30,032 repeticiones, la ventana espectral fue de 25,000 Hz, el disolvente utilizado fue cloroformo deuterado (CDCl_3) y el disolvente de referencia interna fue cloroformo deuterado, todos obtenidos a temperatura ambiente (Figura 9).



Figura 9. Equipo de resonancia magnética nuclear (RMN) del IIQB-UMSNH.

6.11. Análisis de resultados

Todos los experimentos se realizaron una vez de forma independiente por triplicado cada uno. Los datos obtenidos se utilizaron para realizar análisis de varianza y prueba de comparación de medias de la inhibición y el error estándar (es) con el programa Statistic 7.0. El efecto de los extractos sobre el crecimiento de bacterias y hongos levaduriformes se determinó con la medición (mm) de los halos incluyendo el disco.

VII. RESULTADOS

7.1. Rendimiento de los extractos

De 140.9 g del tallo descortezado (TD) de *J. cordata* se obtuvieron un total de tres extractos. En general, los extractos presentaron un rendimiento aceptable para el trabajo subsecuente. De mayor a menor los extractos acetónico con 1.22%, seguido del hexánico con 0.89% y por último el diclorometánico con 0.2% (Cuadro 14).

Cuadro 14. Rendimiento de los extractos del tallo descortezado de *Jatropha cordata*.

| Número de extracción | Extracto | | | | | |
|----------------------|---------------|---------------|-----------------|---------------|--------------|---------------|
| | Hexánico | | Diclorometánico | | Acetónico | |
| | Peso (g) | Rendimiento % | Peso (g) | Rendimiento % | Peso (g) | Rendimiento % |
| Primera | 0.8821 | 0.62 | 0.1595 | 0.11 | 0.3629 | 0.257 |
| Segunda | 0.2126 | 0.15 | 0.0667 | 0.047 | 1.1848 | 0.84 |
| Tercera | 0.1402 | 0.099 | 0.0519 | 0.037 | 0.1706 | 0.12 |
| Total | 1.2349 | 0.889 | 0.2781 | 0.199 | 1.718 | 1.219 |

7.2. Selección del extracto con actividad bactericida

El ensayo de sensibilidad microbiana se realizó a una concentración de 0.5 mg/μl y la inhibición del crecimiento se expresó en mm. Los tres extractos del tallo descortezado de *J. cordata* se evaluaron con cinco diferentes bacterias tres gram positivas (*S. aureus*, *S. saprophyticus*, *B. subtilis*) y dos gram negativas (*P. mirabilis*, *E. coli*).

Cuadro 15. Sensibilidad bacteriana a los extractos TD de *J. cordata*. Donde: Sa=*S. aureus*; Ss=*S. saprophyticus*; Bs=*B. subtilis*; Pm=*P. mirabilis*; Ec = *E. coli*.

| Extracto TD de <i>J. cordata</i> | Inhibición en mm | | | | |
|----------------------------------|------------------|----------|----------|----------------|----------|
| | Gram positivas | | | Gram negativas | |
| | Sa | Ss | Bs | Pm | Ec |
| Hexánico | 9.66±1.3 | 8.33±0.3 | 7.70±0.0 | 0.00±0.0 | 0.00±0.0 |
| Diclorometánico | 8.66±0.3 | 0.00±0.0 | 0.00±0.0 | 0.00±0.0 | 0.00±0.0 |
| Acetónico | 10.66±0.6 | 9.33±0.3 | 0.00±0.0 | 0.00±0.0 | 0.00±0.0 |

El extracto hexánico del tallo descortezado de *J. cordata* exhibió actividad biocida en las bacterias gram positivas analizadas. Las bacterias sensibles fueron *S. aureus* con inhibición del crecimiento de 9.66 mm, *S. saprophyticus* con 8.33 mm y *B. subtilis* con 7.7 mm. La inhibición del crecimiento bacteriano con el extracto acetónico fue entre 9.33 mm hasta 10.66 mm; con el extracto hexánico la inhibición fue de 7.7 mm hasta 9.66 mm y con el de diclorometánico fue de 8.66 mm. Las bacterias gram negativas fueron insensibles a los extractos (Cuadro 15).

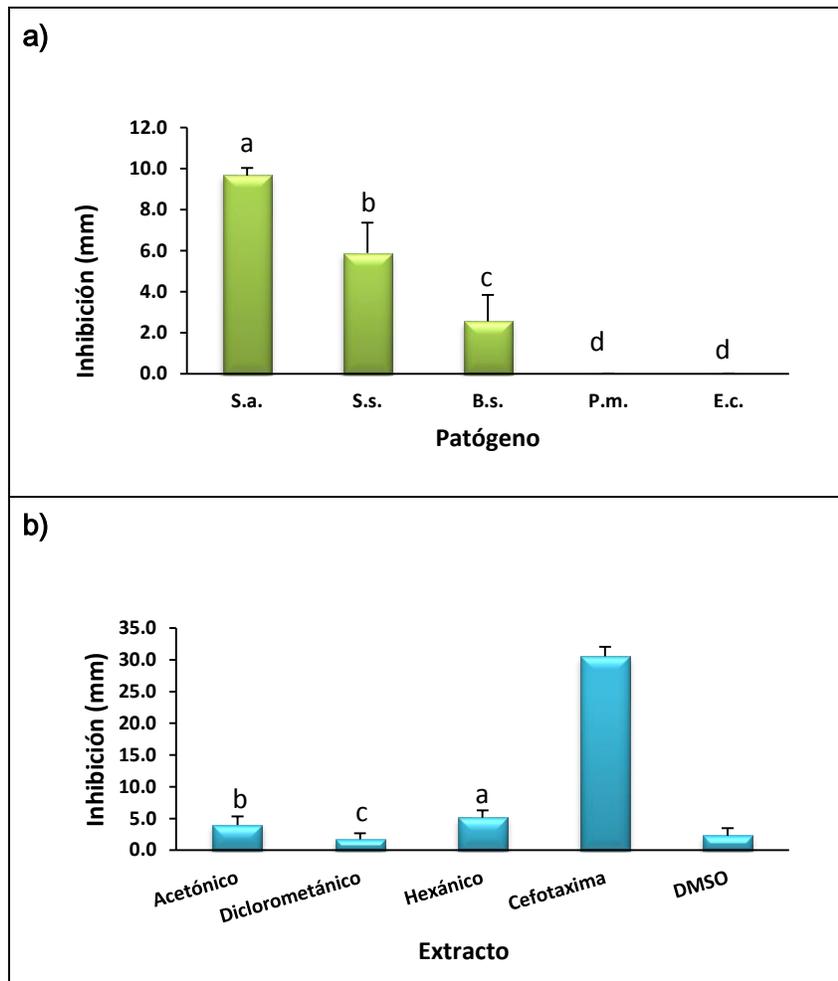


Figura 10. Sensibilidad bacteriana a los extractos de *J. cordata*. a) Por bacteria; b) Por extracto. Donde: (S.a; S.s; B.s; P.m; E.c).= *S. aureus*; *S. saprophyticus*; *B. subtilis*; *P. mirabilis*; *E. coli*, respectivamente. Los resultados son promedio de un experimento por triplicado, n=3, \pm es. Tukey (0.05).

Una observación clara fue que el extracto hexánico es el antimicrobiano más efectivo con una inhibición promedio del crecimiento bacteriano de 5.14 mm, seguido por el extracto acetónico con inhibición promedio de 4.0 mm y el extracto diclorometánico con inhibición promedio de 1.73 mm. En la gráfica se puede observar que *S. aureus* fue la bacteria más sensible para los tres tipos de extractos del TD. El control positivo utilizado (Cefotaxima) presentó una inhibición

promedio de 40 mm (Figura 10). Los resultados de los halos de inhibición se pueden apreciar en la figura 11.



Figura 11. Halos de inhibición del crecimiento bacteriano causada por los extractos del tallo descortezado de *J. cordata*. Bacterias gram positivas: a) *S. aureus*; b) *S. saprophyticus*; c) *B. subtilis*, y gram negativas: d) *P. mirabilis*; e) *E. coli*. 1; 2; 3= extracto acetónico; diclorometánico; hexánico respectivamente, 4= cefotaxima (+), 5= DMSO (-).

7.3. Efecto fungistático en *Cándida albicans*

En la evaluación microbicida de los extractos del TD de *J. cordata* sobre hongos levaduriformes se hizo en *C. albicans*. Solamente, un efecto fungistático de los extractos de hexano y acetona sobre la cepa 5 y la cepa 1 se observó. Para el caso de los extractos diclorometánicos no se observó actividad.

Cuadro 16. Efecto antifúngico de los extractos TD de *J. cordata* sobre *Candida albicans*. Donde: (Ca 1; Ca 2; Ca 5)= cepa 1; cepa 2; cepa 5, respectivamente.

| Tipo de extracción | Inhibición en mm | | |
|--------------------|------------------|-----------|-----------|
| | Ca 1 | Ca 2 | Ca 5 |
| Hexánico | 8.66±0.33 | 0.00±0.00 | 9.66±0.33 |
| Diclorometánico | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| Acetónico | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 6.00±3.00 |

El extracto hexánico del TD de *J. cordata* presentó una inhibición de 8.66 mm hasta 9.66 mm (Cuadro 16). Se puede observar que solamente hubo efecto para las cepas 1 y 5 de *C. albicans*. El extracto acetónico solo tuvo efecto antifúngico en la cepa 5 de *C. albicans*.

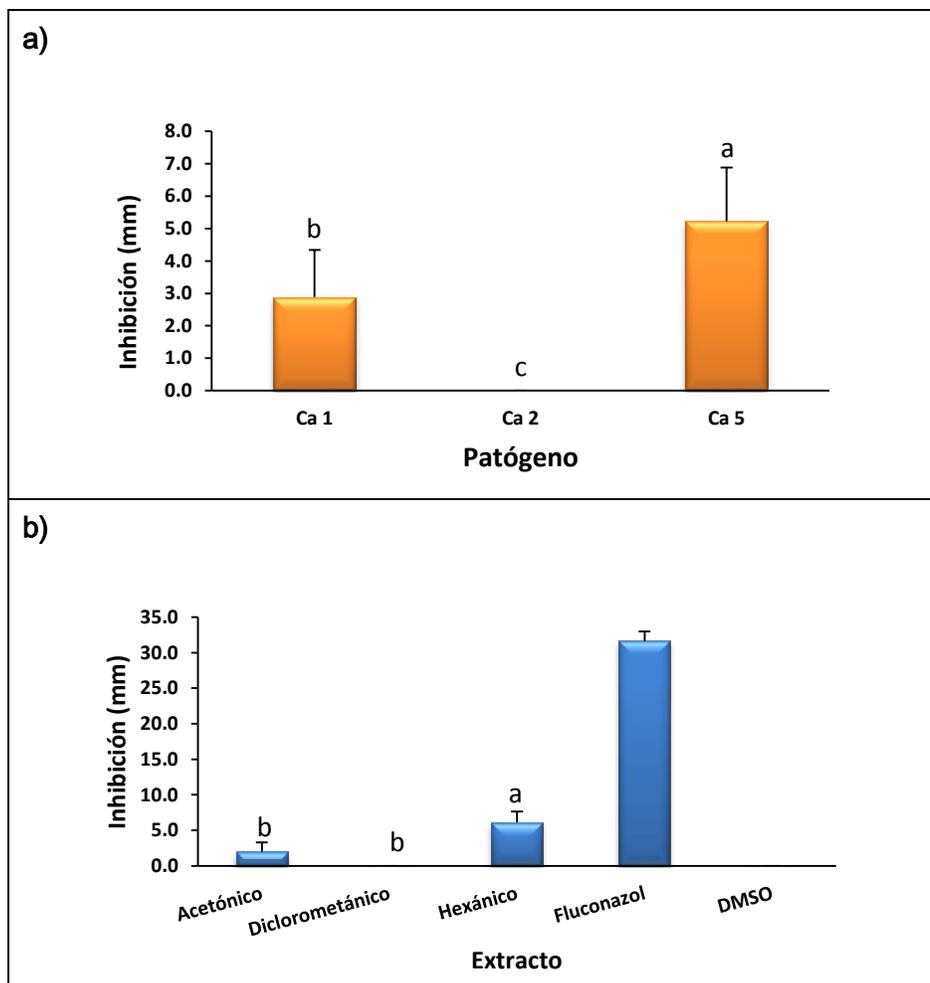


Figura 12. Efecto fungistático de los extractos TD de *J. cordata* en *C. albicans*. a) Efecto por cepa. b) Efecto por extracto. Donde: (Ca 1; Ca 2; Ca 5)= cepa 1; cepa 2; cepa 5 respectivamente. Los resultados se obtuvieron de un experimento por triplicado, $n=3$, \pm es. Tukey (0.05).

En la figura 12 se observa que el extracto más efectivo frente a *C. albicans* fue el hexánico con inhibición promedio de 6.11 mm. La cepa más sensible de *C. albicans* fue la cepa 5 con una inhibición promedio de 5.22 mm. Par el caso de la cepa 2 no se observó sensibilidad. El efecto fungistático se puede observar en la Figura 13.

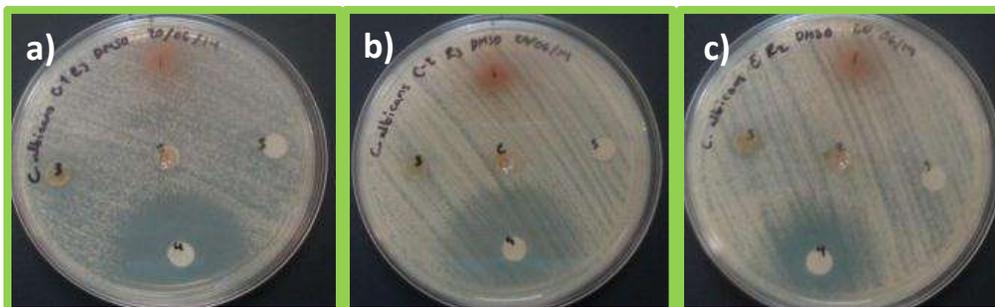


Figura 13. Halos del efecto fungistático de los extractos del TD de *J. cordata* en *C. albicans*, a) cepa 1; b) cepa 2; c) cepa 5. 1; 2; 3= extracto acetónico; diclorometánico; hexánico respectivamente, 4= fluconazol (+), 5= DMSO (-).

7.4. Identificación de las mejores fracciones con efecto bactericida del extracto hexánico del TD de *J. cordata*

El extracto del tallo descortezado de *J. cordata* con mejor actividad bactericida fue el extracto hexánico. Mediante el método de cromatografía en columna se realizó una separación del extracto en fracciones de 50 ml obteniendo un total de 12 fracciones. La sensibilidad microbiana se ensayó nuevamente.

Las fracciones del extracto hexánico del tallo descortezado de *J. cordata* mostraron un efecto bactericida frente a las bacterias *S. aureus*, *S. saprophyticus* y *B. subtilis* a una concentración de 0.06 mg/μl. De las 12 fracciones obtenidas, solo fueron ensayadas las fracciones 3-10 por la presencia de compuestos mayoritarios identificados mediante el método de cromatografía en capa fina (TLC) previa (Figura 14).

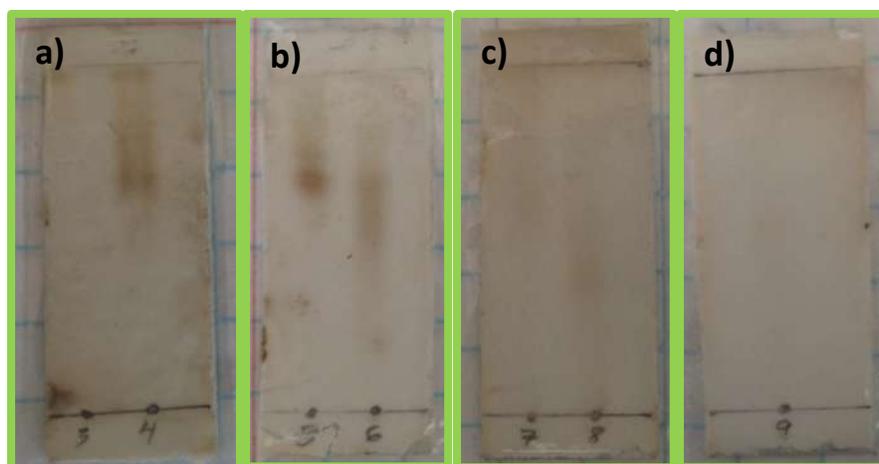


Figura 14. Señales del fraccionamiento del extracto hexánico de *J. cordata* en placa fina. Fase móvil, hexano:AcOEt a) 7.5:2.5; b) 6:4; c) 4:6; d) 2.5:7.5. Revelador H₂SO₄ al 58% y calor.

Cuadro 17. Sensibilidad bacteriana a las fracciones del extracto hexánico del tallo descortezado de *J. cordata*.

| Número de fracción | Inhibición en mm | | |
|--------------------|------------------|-------------------------|--------------------|
| | <i>S. aureus</i> | <i>S. saprophyticus</i> | <i>B. subtilis</i> |
| 3 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 8.16±0.16 |
| 4 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 7.50±0.00 |
| 5 | 11.33±0.33 | 10.83±0.33 | 15.16±0.16 |
| 6 | 8.00±0.00 | 0.00±0.00 | 11.00±0.00 |
| 7 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 8.00±0.00 |
| 8 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 8.66±0.44 |
| 9 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 7.83±0.16 |
| 10 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 8.16±0.16 |

La fracción número 5 del extracto hexánico del tallo descortezado de *J. cordata* fue el mejor antimicrobiano con inhibición de 10.83 mm hasta 15.16 mm. La fracción número 6 mostró inhibición del crecimiento bacteriano de 8 mm hasta 11 mm (Cuadro 17).

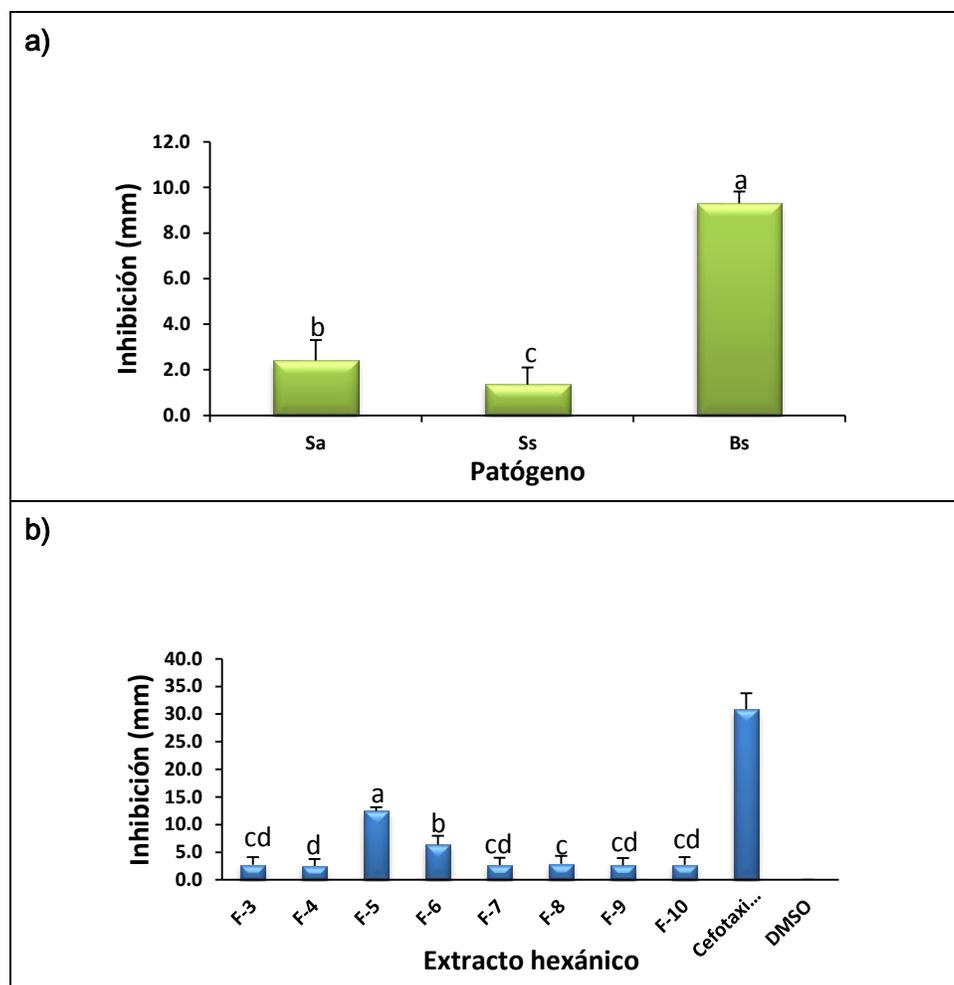


Figura 15. Sensibilidad bacteriana a las fracciones del extracto hexánico del tallo descortezado de *J. cordata*. A) Por bacteria. B) Efecto por fracción. Donde: (Sa; Ss; Bs)= *S. aureus*; *S. saprophyticus*; *B. subtilis*. (F-3; F-4; F-5; F-6; F-7; F-8; F-9; F-10)= fracción 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9, respectivamente. Los resultados son la media de un experimento por triplicado, n=3, \pm es. Tukey (0.05).

La fracción 5 fue el de mejor actividad bactericida con inhibición promedio del crecimiento bacteriano de 12.44 mm. De las tres bacterias ensayadas *B. subtilis* fue la más sensible a las fracciones 5 y 6 del extracto hexánico (Figura 15).

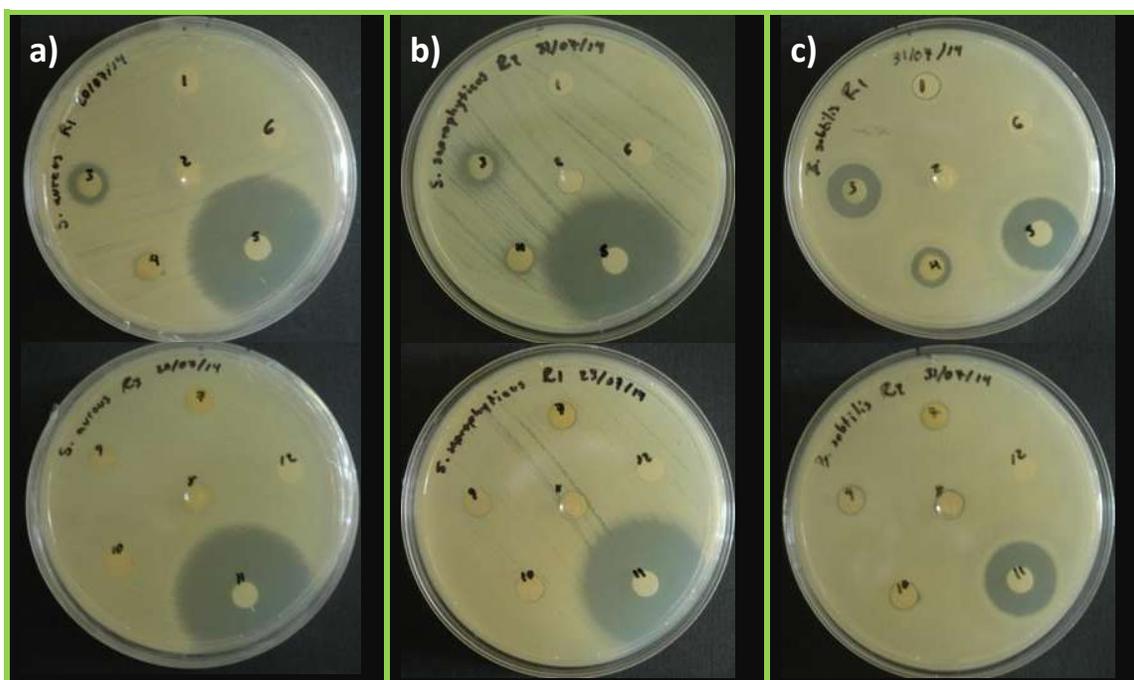


Figura 16. Halos de inhibición de las fracciones del extracto hexánico del TD de *J. cordata* y controles. a) *S. aureus*; b) *S. saprophyticus*; c) *B. subtilis*. 1; 2; 3; 4; 7; 8; 9 y 10= fracción 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9 y 10 respectivamente, 5; 11= cefotaxima (+), 6; 12= DMSO (-).

7.5. Efecto fungistático de las fracciones del extracto hexánico del TD de *J. cordata*.

El ensayo se realizó a una concentración de 0.06 mg/μl y la inhibición fue expresada en mm. Las fracciones del extracto hexánico del TD de *J. cordata* se evaluaron con las tres cepas de *C. albicans* ensayadas.

Cuadro 18. Efecto fungistático del extracto hexánico del TD de *J. cordata* sobre el hongo levaduriforme *C. albicans*.

| Número de fracción | Inhibición en mm | | |
|--------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | <i>C. albicans</i> 1 | <i>C. albicans</i> 2 | <i>C. albicans</i> 5 |
| 3 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 4 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 5 | 14.33±0.33 | 9.50±0.29 | 10.83±0.44 |
| 6 | 11.83±1.16 | 8.66±0.33 | 9.50±0.29 |
| 7 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 8.66±0.33 |
| 8 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 8.00±0.00 |
| 9 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |

La fracción número 5 tuvo más efectividad frente al hongo levaduriforme *C. albicans* con una inhibición de 9.5 mm hasta 14.33 mm. Las fracciones 1, 2, 10, 11 y 12 no se ensayaron debido a que las dos primeras fueron obtenidas del arrastre con hexano, lo que indicó que solo se encontraban ácidos grasos en las fracciones 1 y 2, para el caso de las fracciones 11 y 12 su rendimiento fue mínimo y fue suficiente para la realización los ensayos (Cuadro 18).

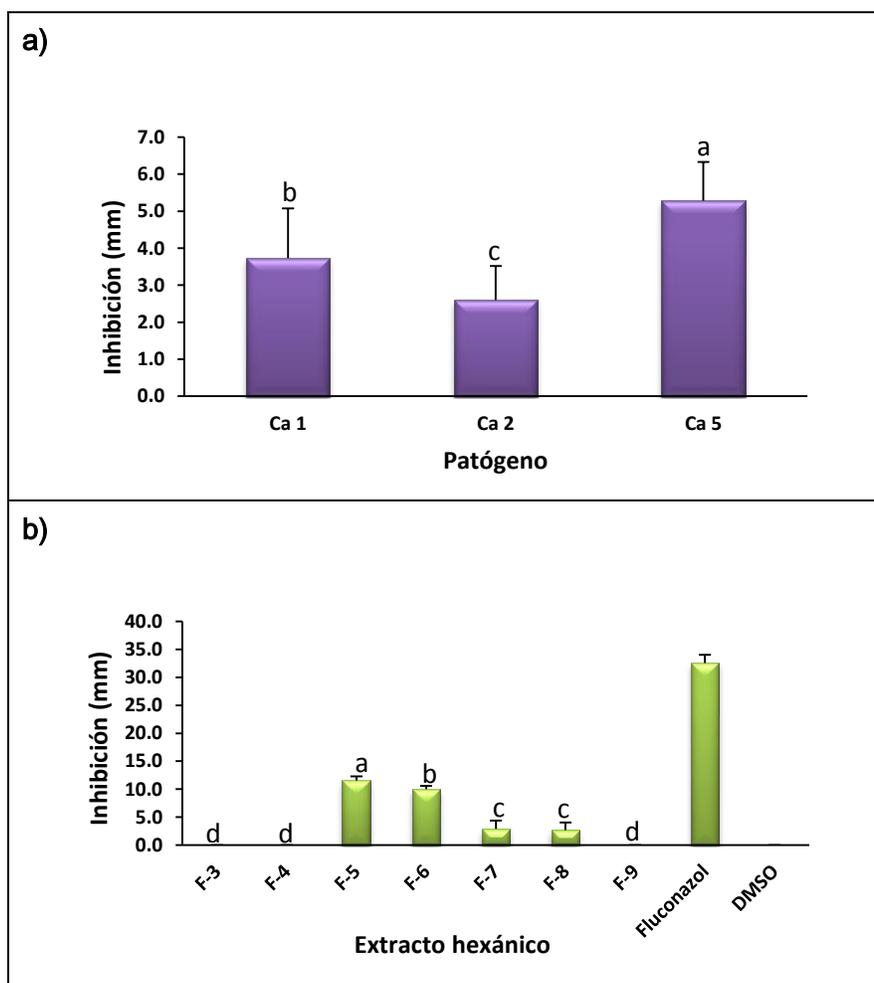


Figura 17. Efecto fungistático de las fracciones de *J. cordata* en *C. albicans*. a) Por patógeno donde: (Ca 1; Ca 2; Ca 5)= cepa 1; cepa 2; cepa 5. b) Por fracción, donde: (F-3; F-4; F-5; F-6; F-7; F-8; F-9)= fracción 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9, respectivamente. Los resultados son la media de un experimento por triplicado, n=3, ± es. Tukey (0.05).

La cepa número 5 de *C. albicans* fue la más sensible a las fracciones con una inhibición promedio de 5.28 mm. Las fracciones 5, 6, 7 y 8 presentaron efecto fungistático en *C. albicans*, la fracción 5 fue la de mejor actividad fungistática con inhibición promedio de 11.55 mm seguida por la fracción 6 con inhibición promedio de 10 mm (Figura 17).

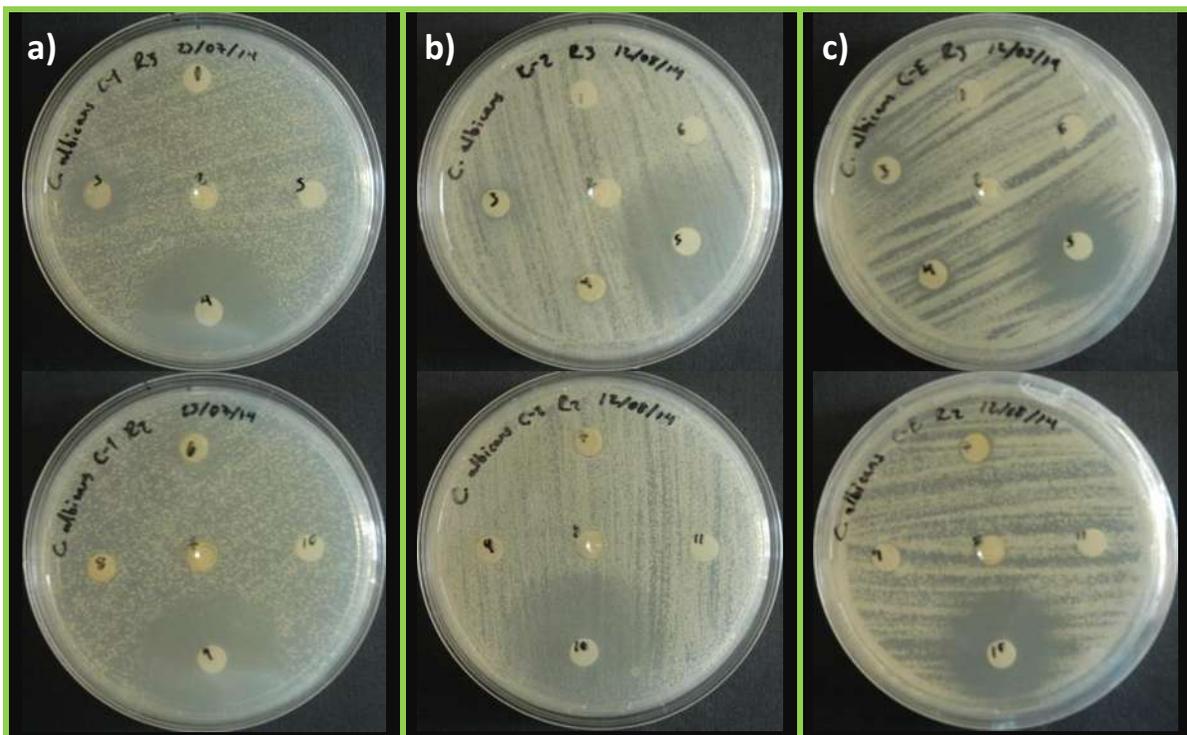


Figura 18. Halos del efecto fungistático de las fracciones del extracto hexánico del TD de *J. cordata* en *C. albicans*, a) cepa 1. 1; 2; 3; 6; 7; 8= fracción 3; 4; 5; 6; 7; 8, 4 y 9= fluconazol (+), 5 y 10= DMSO (-). b) cepa 2; c) cepa 5. 1; 2; 3; 4; 7; 8; 9= fracción 3; 4; 5; 6; 7; 8 respectivamente, 9 y 5 y 10= fluconazol (+), 6 y 11= DMSO (-).

7.6. Efecto bactericida de la fracción 5-6 del extracto hexánico de *J. cordata*

Para el ensayo biológico del refraccionamiento cromatográfico de la fracción 5-6 del extracto hexánico, se realizó una cromatografía TLC (Figura 19), para la identificación de las fracciones con los compuestos mayoritarios (fracciones 4-8). El ensayo se realizó a una concentración de 0.03 mg/μl y la inhibición se expresó en mm. Las fracciones se evaluaron con las tres bacterias gram positivas ensayadas.

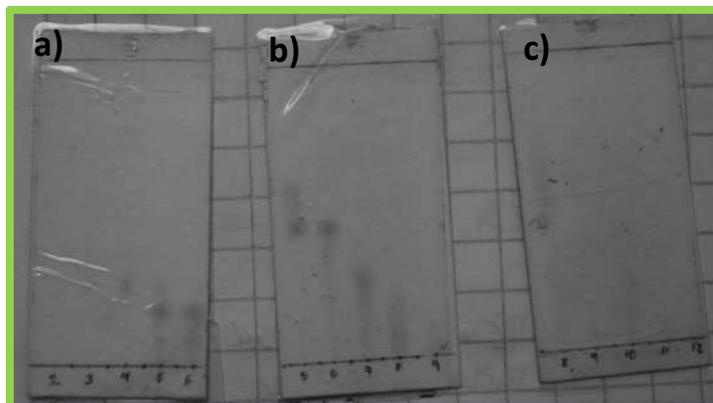


Figura 19. Señales de la fracción 5,6 del extracto hexánico de *J. cordata* en placa fina. Fase móvil, hexano:AcOEt A) 9:1; B) 8:2; C) 7.5:2.5. Revelador H₂SO₄ al 58% y calor.

Cuadro 19. Sensibilidad bacteriana a la fracción 5-6 del extracto hexánico.

| Número de fracción | Inhibición en mm | | |
|--------------------|------------------|-------------------------|--------------------|
| | <i>S. aureus</i> | <i>S. saprophyticus</i> | <i>B. subtilis</i> |
| 4 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 7.66±0.16 |
| 5 | 12.00±0.00 | 11.00±0.00 | 15.00±0.00 |
| 6 | 12.00±0.00 | 10.83±0.16 | 15.66±0.33 |
| 7 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 8.00±0.00 |
| 8 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 7.83±0.16 |

La fracciones con mejor efecto bactericida fueron la fracción 5 con inhibición del crecimiento bacteriano de 11 mm hasta 15 mm y la fracción 6 con una inhibición de 10.83 mm hasta 15.66 mm. *B. subtilis* fue sensible a las 5 fracciones evaluadas y la inhibición fue de 7.66 mm hasta 15.66 mm. *S. aureus* y *S. saprophyticus* presentaron sensibilidad a las fracciones 5 y 6 evaluadas (Cuadro 19).

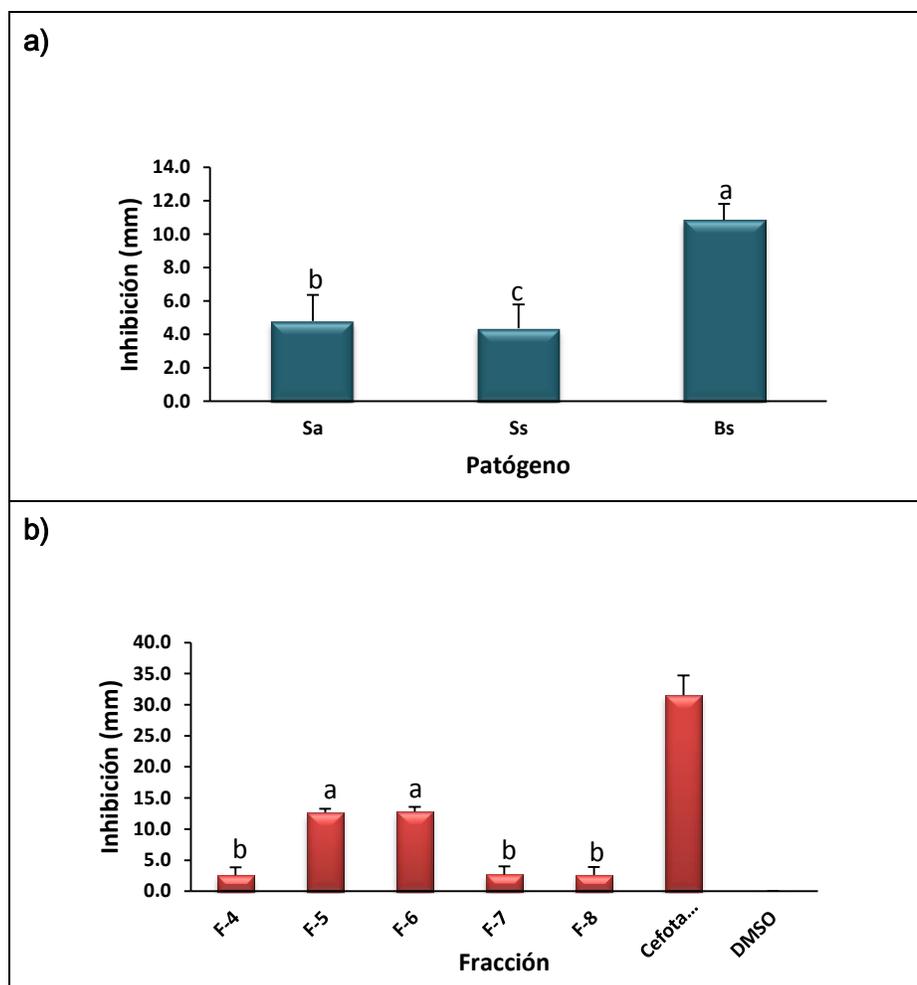


Figura 20. Sensibilidad bacteriana a la fracción 5-6 del extracto hexánico. a) Por bacteria. b) Por fracción, donde: (Sa; Ss; Bs)= *S. aureus*; *S. saprophyticus*; *B. subtilis*, (F-4; F-5; F-6; F-7; F-8)= fracción 4; 5; 6; 7; 8, respectivamente. Los resultados son promedio de un experimento por triplicado, n=3, \pm es. Tukey (0.05).

Las fracciones 5 y 6 presentaron un efecto bactericida, con inhibición promedio del crecimiento bacteriano de 12.66 mm y 12.83 mm respectivamente, ambas fracciones fueron numéricamente distintas pero estadísticamente igual de efectivas. La bacteria más sensible fue *B. subtilis* con una inhibición promedio del crecimiento bacteriano de 10.83 mm. El control positivo (cefotaxima) presentó inhibición promedio de 31.55 mm (Figura 20). Los resultados de los halos de inhibición se aprecian en la figura 21.

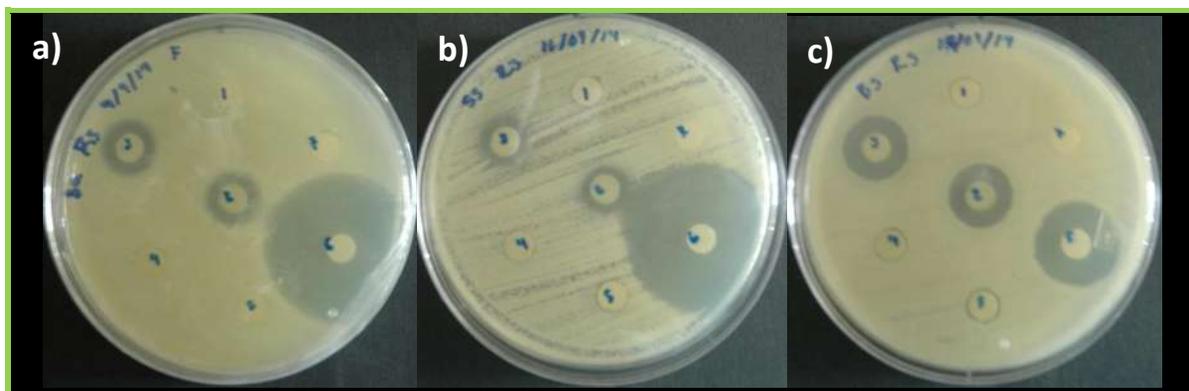


Figura 21. Halos de inhibición del fraccionamiento de la fracción 5-6 del extracto hexánico de *J. cordata* y controles. a) *S. aureus*; b) *S. saprophyticus*; c) *B. subtilis*. 1; 2; 3; 4; 5= fracción 4; 5; 6; 7; 8 respectivamente, 6= cefotaxima (+), 7= DMSO (-).

7.7. Efecto fungistático de la fracción 5-6 del extracto hexánico de *J. cordata*

El ensayo se realizó a una concentración de 0.03 mg/ μ l y la inhibición se expresó en mm. Las fracciones se evaluaron con las tres cepas de *C. albicans* ensayadas.

Cuadro 20. Efecto fungistático de la fracción 5-6 del extracto hexánico de *J. cordata*.

| Número de fracción | Inhibición en mm | | |
|--------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | <i>C. albicans</i> 1 | <i>C. albicans</i> 2 | <i>C. albicans</i> 3 |
| 4 | 0.00 \pm 0.00 | 0.00 \pm 0.00 | 0.00 \pm 0.00 |
| 5 | 14.33 \pm 0.33 | 9.33 \pm 0.33 | 9.66 \pm 0.33 |
| 6 | 16.33 \pm 0.88 | 10.16 \pm 0.16 | 10.00 \pm 0.00 |
| 7 | 0.00 \pm 0.00 | 0.00 \pm 0.00 | 0.00 \pm 0.00 |
| 8 | 0.00 \pm 0.00 | 0.00 \pm 0.00 | 0.00 \pm 0.00 |

Las cepas de *C. albicans*, mostraron un efecto fungistático a las fracciones evaluadas. Las fracciones 5 y 6 presentaron inhibición de entre 9.33 mm hasta 14.33 mm y de 10 mm hasta 16.33 mm respectivamente. La cepa 1 fue la más sensible a las fracciones evaluadas con inhibición de 14.33 mm hasta 16.33 mm (cuadro 20).

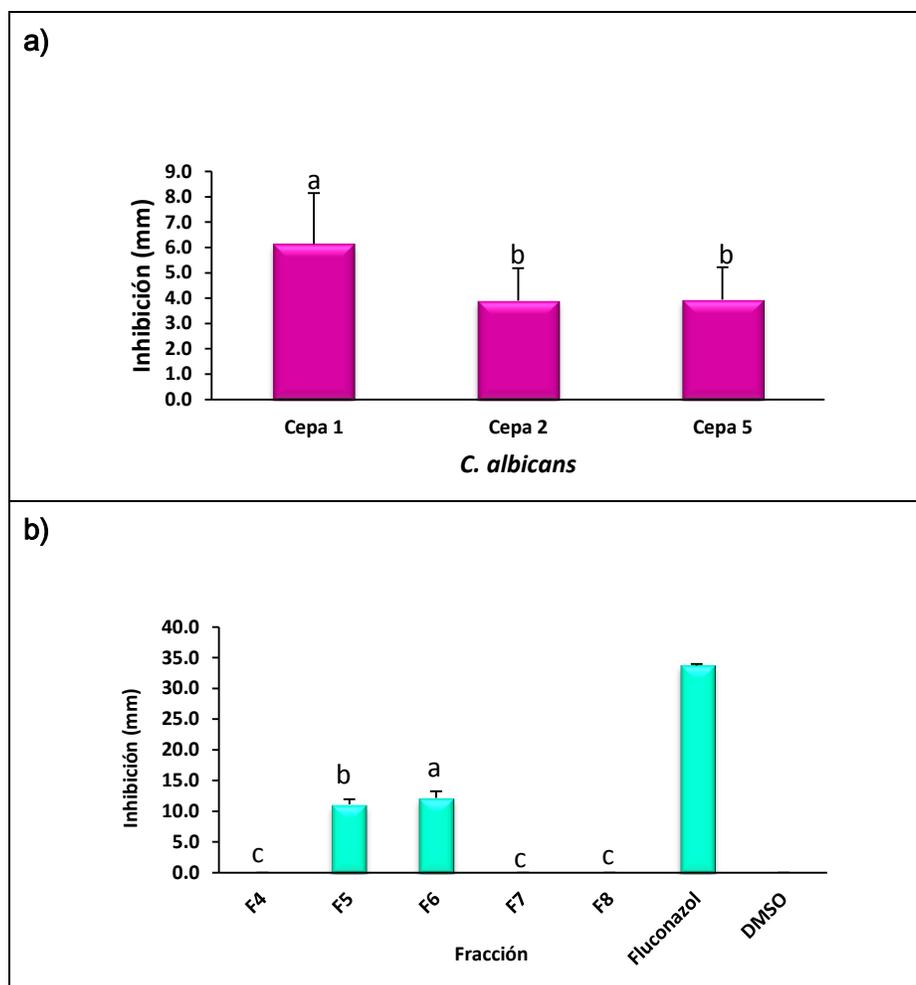


Figura 22. Efecto fungistático del fraccionamiento cromatográfico de la fracción 5-6. a) Por cepa de *C. albicans*. b) Por fracción, donde: (F4; F-5; F6; F7; F8)= fracción 4; 5; 6; 7; 8 respectivamente. Los resultados son promedio de un experimento por triplicado, $n=3$, \pm es. Tukey (0.05).

En la figura 22 se puede observar claramente que solo las fracciones 5 y 6 presentaron efecto fungistático en las cepas de *C. albicans* con inhibición promedio de 11.11 mm y 12.16 mm respectivamente, la fracción 6 mostró mayor efectividad. La cepa 1 fue la más sensible de las tres cepas evaluadas con inhibición promedio de 6.13 mm, la cepa 2 y 3 fueron estadísticamente igual de sensibles a las fracciones 5 y 6. El control positivo (fluconazol) presentó inhibición promedio de 33.72 mm. El efecto fungistático se muestra en la Figura 23.

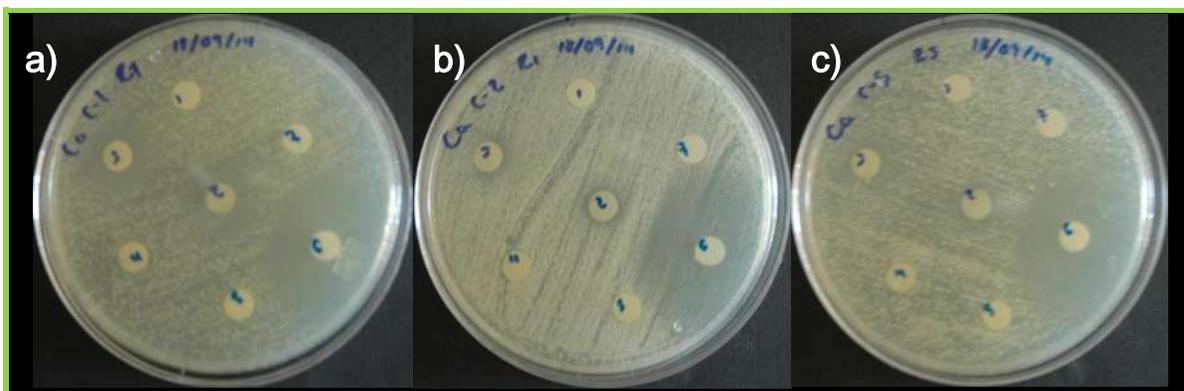


Figura 23. Halos del efecto fungistático del fraccionamiento cromatográfico de la fracción 5-6 del extracto hexánico de *J. cordata*. a) cepa 1; b) cepa 2; c) cepa 5. 1; 2; 3; 4; 5= fracción 4; 5; 6; 7; 8 respectivamente, 6= fluconazol (+), 7= DMSO (-).

7.8. Identificación del compuesto

De acuerdo a la selección del extracto con mejor actividad antimicrobiana, se realizó una identificación de las posibles moléculas responsables por el método de Resonancia Magnética Nuclear (RMN ^1H), donde se observó que las fracciones 5 y 6 del extracto hexánico del TD de *J. cordata* contenían los mismos tipos de compuestos por la similitud de señales que sus espectros de RMN de ^1H presentaron. En los espectros de la figura 24, correspondientes a las fracciones mostraron compuestos del tipo triterpeno destacando señales características del compuesto β -sitosterol comparado con la literatura (Chaturvedula y Prakash, 2012).

Ambas fracciones (5 y 6) se fraccionaron y evaluaron nuevamente. En la fracción número 4 eluida con hexano:acetato de etilo (95:5) se observó el β -sitosterol con estigmasterol (Figura 24), las fracciones 5 y 6 mediante el método de RMN de ^1H y ^{13}C mostró un compuesto del tipo diterpeno, responsable del efecto bactericida y fungistática en las bacterias gram positivas ensayadas y cepas de *C. albicans*, respectivamente.

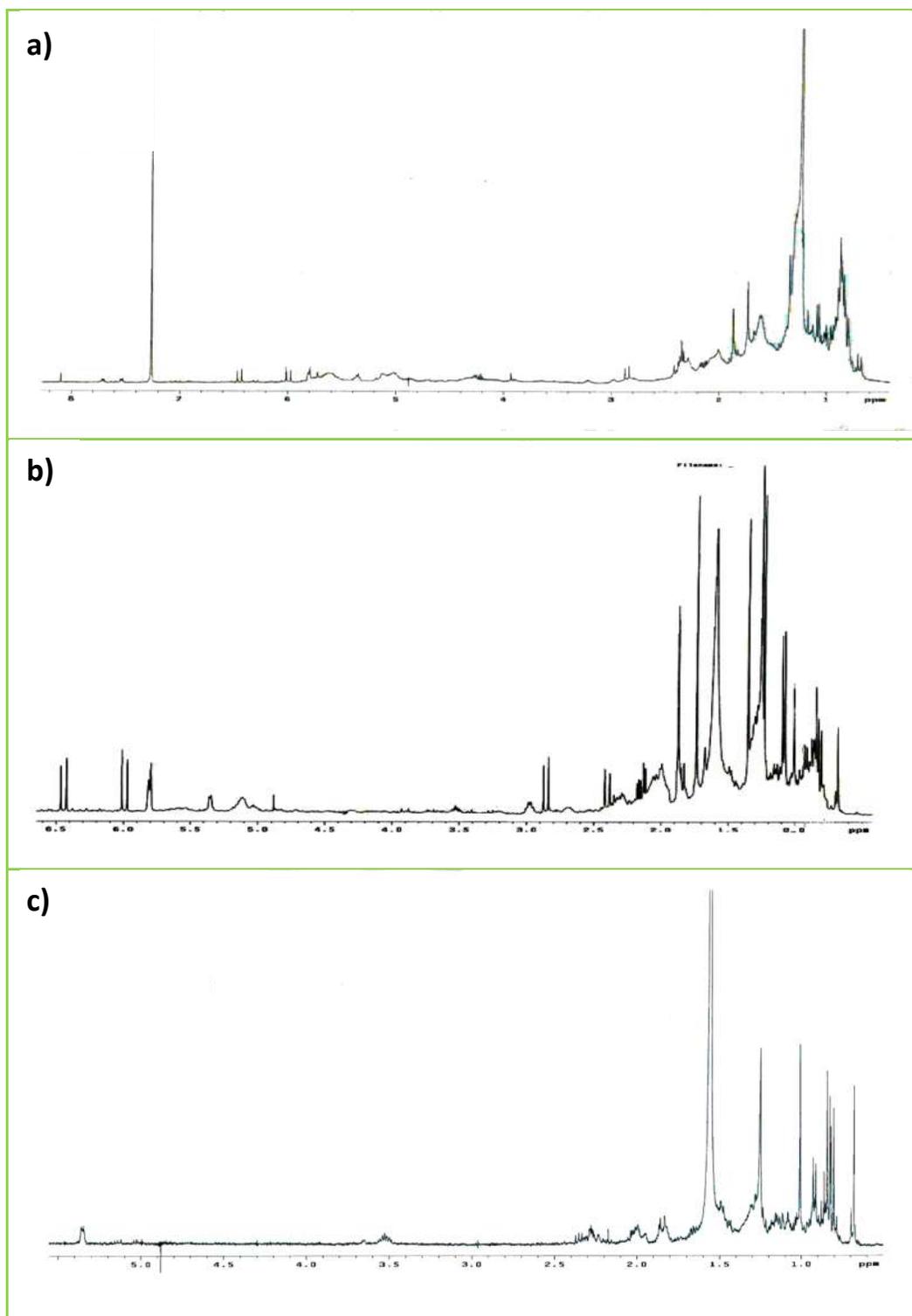


Figura 24. Espectros de RMN ¹H del extracto hexánico del TD de *J. cordata*. a) Extracto crudo. b) Fracción 5 del extracto hexánico. c) Fracción 4 del refraccionamiento, β -sitosterol con estigmasterol.

VIII. DISCUSIÓN

Existen pocos estudios acerca de la actividad biológica y fitoquímica de la especie *J. cordata*. Sin embargo, se han encontrado moléculas con actividad antimicrobiana y antifúngica como diterpenos o triterpenos aislados de otras especies del género *Jatropha* (Zhang *et al.*, 2009) lo cual motiva a la búsqueda de moléculas con actividad antimicrobiana en esta especie.

Debido a que en México se encuentran diversas especies del género *Jatropha* y a los pocos reportes acerca de la especie *J. cordata*, el criterio por el cual se determina ensayar esta especie es que los extractos del tallo descortezado presentan un efecto antimicrobiano contra los patógenos *S. aureus*, *S. saprophyticus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *Proteus mirabilis* y *C. albicans*, causantes de infecciones que propician morbilidad y mortalidad importantes a nivel mundial por la aparición y propagación de resistencia a los antibióticos comerciales en zonas de bajos ingresos (Vila y pal, 2010; Lundstrom y Sobel, 2001).

Los extractos hexánicos y acetónicos del tallo descortezado de *J. cordata* presentan efecto bactericida, siendo el más efectivo el extracto hexánico para inhibir el crecimiento en gram positivas *S. aureus*, *S. saprophyticus*, *B. subtilis*. Para el caso de las gram negativas no tienen sensibilidad a los extractos, esto quizás a la diferencia de pared bacteriana o a la membrana externa que poseen estas; a diferencia de las gram positivas que carecen de ella. Otro factor podría deberse al rápido desarrollo de resistencia en *E. coli* y *P. mirabilis* como la adquisición de betalactamasas plasmídicas en *P. mirabilis* según los reportes de Rodríguez *et al.*, (2005).

Estos resultados son comparables con los reportes de Igbinosa *et al.*, (2009), los cuales a partir de la corteza de *J. curcas* realiza extracciones con etanol, metanol y agua, donde observaron que estos presentan efecto sobre el crecimiento de las bacterias ensayadas con la diferencial que los extractos presentaron efecto bactericida tanto para gram positivas como gram negativas, esto debido a la polaridad de las moléculas presentes en los extractos, en donde para *S. aureus* y *B. subtilis* presentan un mayor espectro

bactericida los extractos de etanol y metanol con concentraciones mínimas inhibitorias de 5 a 6.25 mg/ml.

Viswanathan *et al.*, (2004), determinaron la actividad antimicrobiana del tallo de *Jatropha maheshwarii*, en el cual, los extractos no polares (hexánicos) contienen compuestos del tipo triterpénicos y esteroides como el β -sitosterol que inhiben el crecimiento de bacterias gram positivas *S. aureus* y *B. subtilis*, así como también levaduras de *C. albicans* a concentraciones mínimas inhibitorias de 8 a 10 mg/ml. Sus resultados muestran lo contrario a los obtenidos en el presente trabajo, debido a que la fracción en la cual se encuentra el β -sitosterol no muestra actividad antimicrobiana.

El extracto hexánico del TD de *J. cordata* es el más activo para inhibir el crecimiento de las tres bacterias gram positivas y hongos levaduriformes de *C. albicans*, esto se infiere a que compuestos no polares presentes en el extracto hexánico son más potentes para inhibir el crecimiento de bacterias gram positivas y hongos levaduriformes. Los extractos de diclorometano presentan una inhibición mínima, lo que significa que compuestos de polaridad media presentes en el extracto no tienen efecto contra el crecimiento de los microorganismos ensayados.

Entre los diferentes fitoquímicos caracterizados de diferentes especies de *Jatropha* están los diterpenos que tienen una gran actividad biológica como antitumoral, citotóxica, antiinflamatoria, propiedades antimicrobianas y antifúngicas (Devappa *et al.*, 2011). Diterpenos con esqueleto de tipo lathyranol y Jatrofano (Japodagrín y Japodagrón) aislados de la raíz de *J. podagrica* exhiben actividad antibacteriana contra *S. aureus* y *B. subtilis* (Aiyelaagbe *et al.*, 2007). Otros diterpenos macro cíclicos Jatrofenona aislado de *J. gossypifolia* y Riolozatriona aislado de la raíz de *J. dioica* exhiben actividad antibacteriana contra *S. aureus* de acuerdo a los reportes de Ravindranath *et al.*, (2003) y Dominguez *et al.* (1980), estos datos son importantes ya que el compuesto identificado en el extracto hexánico del TD de *J. cordata* es del tipo diterpeno.

De acuerdo a los criterios establecidos que son identificar señales interpretables que sean de compuestos mayoritarios, asumimos que son los responsables del efecto observado en los extractos crudos, se logra obtener un compuesto de tipo diterpeno a partir del

extracto hexánico, este compuesto presenta un efecto bactericida contra las bacterias gram positivas *S. aureus*, *S. saprophyticus*, *B. subtilis* y un efecto fungistático contra el hongo levaduriforme *C. albicans*.

IX. CONCLUSIÓN

Los extractos hexánicos y acetónicos de TD de *J. cordata* presentan actividad antimicrobiana sobre los patógenos *Staphylococcus aureus*, *S. saprophyticus*, *Bacillus subtilis* y *Candida albicans*. Las fracciones cromatográficas del extracto hexánico presentaron sensibilidad con los patógenos ensayados y sus espectros de RMN de ^1H y ^{13}C mostraron un compuesto del tipo diterpeno como el responsable del efecto antimicrobiano.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Adamu L.G.O., Edeghagba B., Omalara, Abiola M., Elijah A.I., Ezeokoli O.T. (2013). Antimicrobial activity of extracts of *Jatropha curcas* and *Calotropis procera* leaves against pathogenic isolates from motorcycle helmets in Lagos metropolis. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*, 2(12): 292-302
2. Aiyelaagbe O.O., Adesogan E.K., Ekundayo O., Adeniyi B.A. (2000). The antimicrobial activity of roots of *Jatropha podagrica* (Hook). *Phytotherapy Research*, 14, 60-62
3. Aiyelaagbe O.O., Adesogan K., Ekundayo O., Gloer J.B. (2007). Antibacterial diterpenoids from *Jatropha podagrica* Hook. *Phytochemistry*, 68(19): 2420-2425
4. Aigelaagbe O.O., Gloer J.B. (2008). Japodic acid, a novel aliphatic acid from *Jatropha podagrica*. *Records of Natural Products*, 2(4): 100-106
5. Amabile-Cuevas. (2010). Antibiotic resistance in Mexico: a brief overview of the current status and its causes. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 4(3): 126-131.
6. Andrews J.M., Wise R. (2002). Susceptibility testing of *Bacillus* species. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 49, 1039-1046
7. Arekemase M.O., Kayode R.M.O., Ajiboye A.E. (2011). Antimicrobial activity and phytochemical analysis of *Jatropha curcas* plant some selected microorganisms. *International Journal of Biology*, 3(3): 52-59
8. Bhagat R. B., Kulkarni D. K. (2010). Review, phytochemical, antioxidant and antimicrobial analysis of endemic and endangered *Jatropha nana* Dalz. & Gibs. From Maharashtra. *Journal of Pharmacy Research*, 3(9), 2073-2076
9. Bhagat R.B., Kulkarni D.K. (2013). Phytochemical evaluation and *in vitro* Antimicrobial activity of *Jatropha glandulifera* Roxb. (Family

- Euphorbiaceae). *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, 4(12): 3178-3184
10. Bhaskarwar B., Itankar P., Fulke A. (2008). Evaluation of antimicrobial activity of medicinal plant *Jatropha podagrica*. *Roumanian Biotechnological Letters*, 13(5): 3873-3877
 11. Brum R.L., Honda N.K., Mazarin S.M., Hess S.C., Cavalheiro A.J., Monache F.D. (1998). Jatrowedione, a lathirane diterpene from *Jatropha weddelliana*. *Phytochemistry*, 48(7): 1223-1227
 12. Brum R.L., Cavalheiro A.J., Monache F.D., Vencato I. (2001). Jatrowediol, a lathyrane diterpene from *Jatropha weddelliana*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 12(2): 259-262
 13. Chaturvedula V.S.C., Prakash I. (2012). Isolation of stigmasterol and β -sitosterol from the dichloromethane extract of *Rubus suavissimus*. *International current Pharmaceutical Journal*, 1(12): 239-242
 14. Cházaro-Basáñez M., López-Velázquez R., Nieves-Hernández G. (2013). *Jatropha dehganii* Jiménez-Ram. (Euphorbiaceae), una especie endémica del Estado de Jalisco, México. *Bouteloua*, 14: 115-120
 15. Cowen L.E., Sanglard D., Calabrese D., Sirjusingh C., Anderson J.B., Kohn L.M. (2000). Evolution of drug resistance in experimental populations of *Candida albicans*. *Journal of Bacteriology*, 182(6): 1515-1522
 16. Damián-Badillo L.M., Salgado-Garciglia R., Martínez-Muñoz R.E., Martínez-Pacheco M.M. (2008). Antifungal properties of some Mexican medicinal plants. *The Open Natural Products Journal*, 1, 27-33
 17. Devappa R.K., Makkar H.P.S., Becker K. (2011). *Jatropha* diterpenes: a review. *Journal of the American Oil Chemists' society*, 88, 301-322
 18. Devappa R. K., Rajesh S. K., Kumar V., Makkar H. P., Becker K. (2012). Activities of *Jatropha curcas* phormol esters in various bioassays. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 78, 57-62

19. Dominguez X.A., Cano G., Franco R., Villareal A.M., Watson W.H., Zabel V. (1980). Rioloatrione, a new class of diterpene from *Jatropha dioica* var. *sessiliflora*. *Phytochemistry*, 19(11): 2478-2478
20. Ekundayo E.O., Ekekwe J.N. (2013). Antibacterial activity of leaves extracts of *Jatropha curcas* and *Euphorbia heterophylla*. *African Journal of Microbiology Research*, 7(44): 5097-5100
21. Falodun A., Igbe I., Erharuyi O., Agbanyim O.J. (2013). Chemical characterization, anti inflammatory and analgesic properties of *Jatropha multifida* root bark. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 17(3): 357-362
22. Félix-Silva J., Giordani R.B., da Silva-Jr A.A., Zucolotto S.M., Fernandes-Pedrosa M.F. (2014). *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae): A review of traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of this medicinal plant. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article ID 369204, 1-32
23. Fresnedo-Ramírez J., Orozco-Ramírez Q. (2013). Diversity and distribution of genus *Jatropha* in Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 60, 1087-1104
24. Gámez-Meza N., Alday-Lara P. P., Makkar H. PS., Becker K., Medina-Juárez. (2012). Chemical characterisation of kernels, kernel meals and oils from *Jatropha cordata* and *Jatropha cardiophylla* seeds. *Society of Chemical Industry. Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 1706-1710
25. Ganesh R. S., Parthiban T. K., Senthil K. R., Thiruvengadam V., Paramathma M. (2008). Genetic diversity among *Jatropha* species as revealed by RAPD markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55, 803-809
26. García-Sánchez E. (2014). Tesis de doctorado: Caracterización etnofarmacológica de especies de *Eupatorium* nativas de Michoacán. *Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo*, pp. 8

27. Igbinosa O.O, Igbinosa E.O., and Aiyegoro O.A. (2009). Antimicrobial activity and phytochemical screening of stem bark extracts from *Jatropha curcas* (Linn). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3(2): 058-062
28. Kupchan S.M., Sigel C.W., Matz M.J., Gilmore C.J., Bryan R.F. (1976). Structure and stereochemistry of jatrophone, a novel macrocyclic diterpene tumor inhibitor. *Journal of the American Chemical Society*, 98(8): 2295-2300
29. Lundstrom T., Sobel J. (2001). Nosocomial Candiduria: A review. *Healthcare Epidemiology*, 32, 1602-1607
30. Marquez B., Neuville L., Moreau N.J., Genet J.P., Feitosa A., Caño M.C., Goulart A.E. (2005). Multidrug resistance reversal agent from *Jatropha elliptica*. *Phytochemistry*, 66, 1804-1811
31. Martínez, G. M., Jiménez, R. J., Cruz, D. R., Juárez, A. E., García, R., Cervantes, A. (2002). Los géneros de la familia Euphorbiaceae en México. *Anales del instituto de Biología, Universidad Autónoma de México, Serie Botánica*, 73(3): 155-281
32. Miranda-Novales M.G. (2011). Artículo de revisión: resistencia antimicrobiana del *Staphylococcus aureus* en México. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, 68(4): 262-270
33. Mothana R.A.A., Lindequist U. (2005). Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqotra. *Journal of Ethnopharmacology*, 96, 177-181
34. Morales M.M.G., Ruiz de Chávez R.C.G. (2006). Diferencias en la resistencia a los antimicrobianos de cepas de *Staphylococcus aureus* obtenidas de diversas fuentes de aislamiento. *Revista del centro de investigación. Universidad La Salle*, 7(25): 45-64
35. Nwokocha, Blessing A., Agbagwa I.O., Okoli B.E. (2011). Comparative phytochemical screening of *Jatropha* L. species in the Niger Delta. *Research Journal of Phytochemistry*, 5: 107-114

36. Oliveira S.G.D., Nascente P.S., Escareño J.J.H., Carvalho R.V., Piva E., Lund R.G. (2013). Evaluation anti-Candida activity and cytotoxicity of *Jatropha dioica* Cerv. extracts. *African Journal of Microbiology Research*, 7(30): 3903-3907
37. Popham R.A. (1947). Developmental anatomy of seedling of *Jatropha cordata*. *Ohio Journal of Science*, 47(1): 1-20
38. Quesada-Hernández, A. (2008). Las plantas medicinales. *Revista Biocenosis*, 21 (1-2): 20-23
39. Rampadarath S., Puchooa D., Ranghoo-Sanmukhiya V.M. (2014). Antimicrobial, phytochemical and larvicidal properties of *Jatropha multifida* Linn. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(1): 930-934
40. Ravindranath N., Venkataiah B., Ramesh C., Jayaprakash P., Das B. (2003). Jatrophene, a novel macrocyclic bioactive diterpene from *Jatropha gossypifolia*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 51(7): 870-871
41. Rodríguez-Acosta M., Vega-Flores K., Gante-Cabrera V.H. (2009). Distribución del género *Jatropha* L. (Euphorbiaceae) en el estado de Puebla, México. *Polibotánica*, 28: 37-48
42. Rodríguez C., Radice M., Perazzi B., Castro S., Juárez J., Santini P., Vay C., Famiglietti A., Gutkind G. (2005). Resistencia enzimática a betalactámicos en el género *Proteus* y evaluación de los fenotipos y genotipos de resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación en *Proteus mirabilis*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 23(3): 122-126
43. Rodríguez-Noriega E., León-Garnica G., Petersen-Morfín S., Pérez-Gómez H.R., González-Díaz E., Morfín-Otero R. (2014). La evolución de la resistencia bacteriana en México, 1973-2013. *Biomédica*, 34(1): 181-190
44. Salas B.R., Sancho R.J. (2005). Resistencia bacteriana a los antibióticos en infecciones del tracto urinario bajo, en pacientes de consulta externa en el área de salud palmanares. *Fármacos*, 17(1-2): 10-16

45. Schmeda-Hirschmann G., Razmilic I., Sauvain M., Moretti C., Muñoz V., Ruiz E., Balanza E., Fournet A. (1996). Antiprotozoal activity of Jatrogrossidione from *Jatropha grossidentata* and Jatrophone from *Jatropha isabellii*. *Phytotherapy Research*. 10: 375-378
46. Steinmann, W. V. (2002). Diversidad y endemismo de la familia Euphorbiaceae en México. *Acta Botánica Mexicana*, 61: 61-93
47. Sumathi B.M., Uthayakumari F. (2014). GC MS analysis of *Jatropha maheswarii* Subram & Nayar. *Science Research Reporter*, 4(1): 24-30
48. Tarun A., Rachana S., Rinki R., Neha A., Meghna R. (2012). Comparative analysis of antibacterial activity of *Jatropha curcas* fruit parts. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Science*. 15(12): 1-4
49. Turner R.M., Bowers J.E., Burgess T.L. (2005). Sonora desert plants: an ecological atlas. *University of Arizona Press, Tucson, AZ*, 246-248
50. Vila J., Pal T. (2010). Update on antibacterial resistance in low-income countries: factors favoring the emergence of resistance. *The Open Infectious Diseases Journal*, 4: 38-54
51. Villareal A.M., Dominguez X.A., Williams H.J., Lan S.A., Reibenspies J. (1988). Citlalitrione, a new diterpene from *Jatropha dioica* var. *sessiliflora*. *Journal of Natural products*, 51(4): 749-753
52. Viswanathan M.B., Ramesh N., Ahilan A., Lakshmanaperumalsamy P. (2004). Phytochemical constituents and antimicrobial activity from the stem of *Jatropha maheshwarii*. *Medicinal Chemistry Research*, 13(6/7): 361-368
53. Wakirwa J.H., Ibrahim P., Madu S.J. (2013). Phytochemical screening and *in vitro* antimicrobial analysis of the ethanol stem bark extract of *Jatropha curcas* Linn. (Euphorbeaceae). *International Research Journal of Pharmacy*, 4(3): 97-100
54. Zhang X.P., Zhang M.L., Su X.H., Huo C.H., Gu Y.C., Shi Q.W. (2009). Review chemical constituents of the plants from genus *Jatropha*. *Chemistry & Biodiversity*, 6: 2166-2183