



## ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIFÚNGICA DE *Dalea carthagenensis* (JACQ.) J. F. MACBR.

### ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITY OF *Dalea carthagenensis* (JACQ.) J. F. MACBR.

Carolina Montes-de-Oca-Márquez<sup>1</sup>, Claudia T. Hernández-Delgado<sup>1</sup>, Julieta Orozco-Martínez<sup>1</sup>, Ana Ma. García-Bores<sup>2</sup>, J. Guillermo Ávila-Acevedo<sup>2</sup>, Ma. Teresa Ortiz-Melo<sup>1</sup>, Ignacio Peñalosa-Castro<sup>1</sup>, Gustavo López-Moreno<sup>1†</sup> y Rocío Serrano-Parrales<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Farmacognosia, <sup>2</sup>Laboratorio de Fitoquímica, Unidad de Biotecnología y Prototipos, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. de los Barrios No. 1. 54090, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, México.

\*Autor para correspondencia (rserrano0112@gmail.com)

#### RESUMEN

El Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Puebla) es una zona de gran importancia florística por su amplia diversidad de especies vegetales. Dentro de esta riqueza se encuentra *Dalea carthagenensis*, que es utilizada por los habitantes del Valle como desinflamatorio y para tratar infecciones gastrointestinales. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad antimicrobiana diferencial de flores y tallos de *D. carthagenensis* a partir de extractos de distinta polaridad, y determinar su composición química general. Se obtuvieron los extractos hexánico, acetónico y metanólico de flores y tallos, mediante el método de maceración. Se evaluó la actividad antibacteriana y antifúngica por los métodos de difusión en agar, inhibición de crecimiento radial y dilución en agar. La composición química de la especie se determinó mediante pruebas cualitativas para fenoles, terpenos, alcaloides, taninos, glucósidos y saponinas. Los extractos hexánicos mostraron la mayor actividad antibacteriana y antifúngica. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 fue la cepa bacteriana más susceptible al extracto hexánico de flores (CMI = 0.125 mg/mL), así como al de tallo (CMI = 0.5 mg/mL). En la evaluación de la actividad antifúngica, *Candida albicans* ATCC 14065, *C. albicans* 17MR, *C. albicans* 18MR, *C. albicans* cc y *C. tropicalis* HA fueron las más susceptibles al extracto hexánico de flores (CMI = 0.125 mg/mL). De los hongos filamentosos, *Trichophyton mentagrophytes* fue la cepa más susceptible a los extractos hexánicos y acetónicos de flores y tallos, con porcentaje de inhibición del crecimiento radial mayor a 90 % en la concentración de 0.125 mg/mL. En los extractos se detectó la presencia de terpenos, fenoles, saponinas y taninos. Los resultados validan el uso medicinal de *D. carthagenensis* para el tratamiento de enfermedades de posible origen infeccioso.

**Palabras clave:** *Dalea carthagenensis*, actividad antibacteriana, actividad antifúngica, fenoles, terpenos.

#### SUMMARY

The Tehuacán-Cuicatlán Valley (State of Puebla) is an area of great floristic importance, because of its wide variety of plant species. *Dalea carthagenensis* is used by the inhabitants of the Valley as anti-inflammatory and for treatment of gastrointestinal infections. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial activity of flowers and stems of *D. carthagenensis* from extracts of different polarity and to determine their general chemical composition. The hexane, acetone and methanol extracts of flowers and stems was obtained by the maceration method. Antibacterial and antifungal activity was assessed by agar diffusion, inhibition of radial growth and agar

dilution methods. The chemical composition of the species was determined by qualitative tests for phenols, terpenes, alkaloids, tannins, saponins and glycosides. The hexane extracts showed the highest antibacterial and antifungal activity. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 was the most susceptible to the hexane extract of flowers (MIC = 0.125 mg/mL) and stem (MIC = 0.5 mg/mL). The antifungal activity test showed that *Candida albicans* ATCC 14065, *C. albicans* 17MR, *C. albicans* 18MR, *C. albicans* cc and *C. tropicalis* HA were the most susceptible to the hexane extract of flowers (MIC = 0.125 mg/mL). *Trichophyton mentagrophytes* was the filamentous fungus most susceptible to acetone and hexane extracts obtained from flowers and stems. The extracts inhibited over 90 % the radial growth of the fungus at the concentration of 0.125 mg/mL. The presence of terpenes, phenols, saponins and tannins was detected in the extracts. Results validate the medicinal use of *D. carthagenensis* in the treatment of diseases of infectious origin.

**Index words:** *Dalea carthagenensis*, antibacterial activity, antifungal activity, phenols, terpenes.

#### INTRODUCCIÓN

El uso de las plantas medicinales se ha difundido por generaciones para el tratamiento y prevención de diversos padecimientos. Se estima que 30 % de los medicamentos terapéuticos disponibles son derivados de recursos naturales, principalmente de plantas y de microorganismos (Mishra y Tiwari, 2011; Newman y Cragg, 2012). El valle de Tehuacán-Cuicatlán es una zona árida de México, que se caracteriza por ser la más seca del sur del país (Casas *et al.*, 2001), posee una amplia diversidad de especies vegetales (más de 2600 especies de plantas vasculares), de las cuales cerca de 1200 son utilizadas con diversos fines (Dávila *et al.*, 2002), uno de ellos es el medicinal, en el que destaca la especie *Dalea carthagenensis* (Jacq.) J. F. Macbr. como desinflamatorio y para tratar infecciones gastrointestinales.

*D. carthagenensis* pertenece a la familia Fabaceae, se conoce comúnmente como "Escobilla", y se distribuye en

Centroamérica, norte de Sudamérica y en las Antillas (CICY, 2010). De esta especie solo se ha reportado que en Yucatán, México se utilizan las hojas para tratar enfermedades dermatológicas y aliviar heridas causadas por animales venenosos (Ankli *et al.*, 2002), y que posee efecto citotóxico en líneas celulares KB (Ankli *et al.*, 2002).

Se ha reportado que otras especies del género que poseen actividad antibacteriana, antifúngica y amebicida (Belofsky *et al.*, 2006; Belofsky, 2014; Nanayakkara *et al.*, 2002; Peralta *et al.*, 2012). En cuanto a su composición química, se ha documentado que *D. thyrsoiflora*, *D. elegans*, *D. purpurea* y *D. caerulea* poseen aceites esenciales, terpenos, flavonoides, flavanonas, taninos, chalconas y cumarinas (Caffaratti *et al.*, 1994; Domínguez *et al.*, 1980; Elingold *et al.*, 2008; Jin *et al.*, 2012; Peralta *et al.*, 2014; Peralta *et al.*, 2015; Rivera *et al.*, 1992). La composición química en las distintas estructuras vegetales, que incluyen las del género *Dalea*, se determina en respuesta a diversos factores, como: características genotípicas de la especie, fenología, factores bióticos y abióticos, así como condiciones geográficas (Filippini *et al.*, 2010; Ganjewala *et al.*, 2009; Moura *et al.*, 2010).

Las propiedades biológicas y la composición química reportada para el género *Dalea* indican que *D. carthagenensis* puede tener potencial como agente antimicrobiano; sin embargo, aún no existen estudios que den a conocer esta propiedad en la especie, por lo que los objetivos de la presente investigación fueron evaluar la actividad antibacteriana y antifúngica de *D. carthagenensis* sobre especies microbianas de importancia clínica, así como determinar la composición química general de los extractos de flores y tallos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

La parte aérea de *D. carthagenensis* se colectó en febrero de 2015, en San Rafael Coxcatlán, Puebla, México, (18° 12' y 18° 14' N; 97° 07' y 97° 09' O; altitud 957 msnm), localidad perteneciente al Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Se depositó un ejemplar de la especie en el herbario IZTA de la FES Iztacala (Clave HCM341).

### Obtención de los extractos

Las estructuras de la parte aérea de la planta fueron separadas en tallos y flores, y posteriormente se obtuvieron los extractos de diferente polaridad (hexánico, acetónico y metanólico) mediante el método de maceración (Domínguez, 1985), a partir del material vegetal seco y fragmentado. El extracto se filtró y el exceso de solvente se destiló a

presión reducida. Finalmente, se determinó el rendimiento total. Los extractos se almacenaron en la oscuridad a 4 °C, hasta su uso para las pruebas biológicas.

### Análisis fitoquímico

Se hizo un perfil fitoquímico a los extractos mediante pruebas cualitativas para identificación de fenoles, glucósidos, alcaloides, terpenos, cumarinas, esteroides, saponinas, taninos y triterpenos. Las pruebas se realizaron de acuerdo con los criterios descritos por Domínguez, 1985.

### Cepas microbianas

Las cepas bacterianas utilizadas en los bioensayos fueron: *Escherichia coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 53218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 19430, *Staphylococcus aureus* ATCC 12398, *S. aureus* ATCC 29213 (donadas por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán), *Enterobacter aerogenes*, *S. aureus* (aislada de un caso clínico), *S. aureus* 75 MR, *S. aureus* 83 MR, *S. epidermidis*, *E. coli* 1249 MR, *E. coli* 182 MR, *E. coli* 28 MR (donadas por el Laboratorio de Análisis Clínicos de la FES Iztacala), *Klebsiella pneumoniae* (aislada de un caso clínico y donada por el Hospital Ángeles Metropolitano). Estas cepas se mantuvieron a 4 °C en agar Mueller Hinton (Bioxon®).

Las cepas de hongos levaduriformes fueron: *Candida albicans* ATCC 14065, *C. albicans* CUSI (aislada de un caso clínico), *C. albicans* 17 MR, *C. albicans* 18 MR (cepas donadas por el Laboratorio de Análisis Clínicos de la FES Iztacala), *C. albicans* CC, *C. glabrata* HA, *C. tropicalis* CC, *C. tropicalis* HA (aisladas de casos clínicos y donadas por el Hospital Ángeles Metropolitano). Las cepas de hongos filamentosos fueron: *Aspergillus niger*, *Fusarium sporotrichum* (donadas por el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la FES Iztacala), *Rhizoctonia lilacina* CDBB-H-306 y *Trichophyton mentagrophytes* CDBB-H-1112. Estas cepas se mantuvieron en agar-papa-dextrosa (PDA, por sus siglas en inglés) a 4 °C.

### Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana de los extractos se evaluó mediante el método de difusión en agar de Kirby-Bauer (Vanden Berghe y Vlietinck, 1991). Los inóculos bacterianos se prepararon en 10 mL de caldo Muller-Hinton (Bioxon®) y se incubaron a 37 °C durante 24 h. Los inóculos se ajustaron con solución salina estéril hasta obtener la turbidez del estándar Núm. 05 de McFarland (10<sup>8</sup> UFC/mL). Sobre la superficie de placas con agar Muller-Hinton se sembraron los inóculos bacterianos, posteriormente, se colocaron por triplicado discos de papel filtro (Whatman

Núm. 5) de 5 mm de diámetro, impregnados con 2 mg de extracto. Como control positivo se utilizaron discos con 25 µg de cloranfenicol, que es un fármaco antibacteriano de amplio espectro, y como controles negativos se utilizaron discos con 10 µL de los solventes empleados (hexano, acetona y metanol). Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h. Los halos de inhibición se midieron y se reportaron en mm. Todas las pruebas se hicieron por triplicado.

De las cepas que resultaron sensibles a los extractos se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante el método de dilución en agar (Vanden Berghe y Vlietinck, 1991). Se evaluaron ocho concentraciones de los extractos (0.062, 0.125, 0.250, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5 y 2.0 mg/mL). Las placas se prepararon a partir de una solución patrón (200 mg/mL) de la que se tomaron las alícuotas correspondientes, y se agregaron en agar Muller-Hinton para obtener las placas con las diferentes concentraciones. Para estas pruebas los inóculos bacterianos se ajustaron a una concentración de 10<sup>5</sup> UFC/mL y se colocaron por triplicado muestras de 10 µL del inóculo sobre la superficie del agar. Como control negativo se emplearon los solventes: hexano, acetona y metanol; como control positivo se utilizó cloranfenicol en concentraciones de 1 a 10 µg/mL. Las placas se incubaron durante 24 h a 37 °C. La CMI se consideró como la menor concentración del extracto que inhibió visiblemente el desarrollo de cada uno de los microorganismos ensayados.

### Actividad antifúngica

La actividad antifúngica de los extractos sobre hongos filamentosos se determinó por el método de inhibición del crecimiento radial (Wang y Ng, 2002). En placas Petri con agar-papa-dextrosa (PDA) se inoculó el micelio (1 mm de diámetro). Se prepararon discos de papel filtro (5 mm de diámetro) con 2 mg de extracto. Los discos se colocaron por triplicado en las placas, a 3 cm de distancia del micelio. Como control positivo se emplearon discos impregnados con 56 µg de ketoconazol, que es un antimicótico empleado en infecciones causadas por hongos filamentosos, y como controles negativos, discos con 10 mL de los solventes empleados en la extracción (hexano, acetona o metanol). Las placas se incubaron a 28 °C durante 72 a 96 h, hasta que el micelio cubrió la superficie del agar. Los discos con los extractos que mostraron zonas de inhibición del crecimiento del micelio fueron considerados con actividad antifúngica, y se reportaron como positivos.

Los ensayos de actividad antifúngica sobre hongos levaduriformes se llevaron a cabo por el método de difusión en agar de Kirby-Bauer (Geetha y Anitha, 2013), el inóculo se ajustó a 10<sup>5</sup> UFC/mL. Los discos se impregnaron con 2 mg de extracto; como control positivo se utilizó Nistatina (30

µg/disco), que es un antimicótico empleado en infecciones causadas por especies del género *Candida*.

Para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración fungicida media (CF<sub>50</sub>) se evaluaron diferentes concentraciones de los extractos (0.0, 0.0625, 0.123, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 y 2.0 mg/mL), las cuales fueron incluidas en agar-papa-dextrosa y colocadas por triplicado en placas de 24 pozos. Para los hongos filamentosos se colocó en el centro de cada pozo un inóculo de 1 mm de diámetro de micelio. Las placas se incubaron a 28 °C durante 48 a 72 h, hasta que el crecimiento del micelio en los pozos testigo (0.0 mg/mL de extracto) cubrió la superficie del agar.

El diámetro de micelio en cada pozo se midió y se determinó el porcentaje de inhibición. Con los datos obtenidos se graficaron curvas de concentración vs. porcentaje de inhibición, y se calculó la CF<sub>50</sub> (Wang y Ng, 2007). Para hongos levaduriformes el inóculo se ajustó a 10<sup>5</sup> UFC y se agregaron 20 mL del inóculo en el centro de cada pozo. Las placas se incubaron a 37 °C; los pozos con la mínima concentración en los que se observó inhibición visible del desarrollo de los microorganismos se consideraron como CMI.

### Análisis estadísticos

La significancia estadística de los resultados se determinó mediante análisis de varianza multifactorial. En todos los casos se consideró como estadísticamente significativo una  $P < 0.01$ . Para determinar la CF<sub>50</sub> se realizó análisis de regresión.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis fitoquímico

En la caracterización química de los metabolitos secundarios se observaron ligeras diferencias en la composición química de los extractos de flores y tallos de *D. carthagenensis*; los fenoles se encontraron en todos los extractos, y dentro de este grupo se identificaron además saponinas y taninos en los extractos acetónico de tallo y metanólico de flor y de tallo. Los terpenos se identificaron únicamente en los extractos hexánicos y los alcaloides en el extracto hexánico de tallo (Cuadro 1).

Las diferencias mencionadas se deben a que los metabolitos secundarios se distribuyen de manera heterogénea en las distintas partes de las plantas, ya que son producidos y almacenados en células especializadas y distintos compartimentos celulares, que incluyen vacuolas, tricomas y ductos de resina (Huber *et al.*, 2015); su distribución

**Cuadro 1. Rendimiento de los extractos de *D. carthagenensis* y grupos de metabolitos secundarios presentes en los extractos.**

Extracto		Rendimiento		Metabolitos secundarios				
		(g)	(%)	Terpenos	Fenoles	Alcaloides	Saponinas	Taninos
Hexánico	F	7.57	3.61	✓	✓			
	T	9.17	1.18	✓	✓	✓		
Acetónico	F	19.71	9.41		✓			
	T	5.56	0.71		✓		✓	✓
Metanólico	F	22.47	10.73		✓		✓	✓
	T	57.93	7.45		✓		✓	✓

Rendimiento calculado con respecto a 209.5 y 777.7 g de peso seco de flores (F) y tallos (T), respectivamente.

y acumulación en las estructuras o tejidos de las plantas es influenciada por los factores bióticos y abióticos con los que interactúan (Ganjewala *et al.*, 2009).

Los compuestos fenólicos tienen una amplia distribución en el reino vegetal (Parveen *et al.*, 2013), y pueden encontrarse en cualquier parte de las plantas (hojas, flores, tallos, raíces). En la familia Fabaceae se ha reportado la presencia de compuestos fenólicos, glucósidos cianogénicos, terpenoides y alcaloides (Wink, 2013); las especies de esta familia acumulan alcaloides debido a que pueden fijar nitrógeno atmosférico, lo que favorece la producción de metabolitos secundarios nitrogenados. Por otra parte, producen menos compuestos terpenoides, en comparación con otras familias vegetales como Asteraceae, Lamiaceae y Rutaceae (Wink y Witte, 1984).

#### Actividad antibacteriana

En la evaluación de la actividad antibacteriana, los extractos inhibieron el crecimiento de cuatro cepas bacterianas: tres Gram positivas y una Gram negativa. Los extractos hexánicos y el acetónico de flores mostraron los mayores halos de inhibición ( $14.00 \pm 0.05$ ,  $16.00 \pm 1.00$  y  $13.00 \pm 1.00$  mm para *S. aureus* ATCC 12398, *S. aureus* ATCC 29213 y *P. aeruginosa* ATCC 27853, respectivamente). El extracto metanólico de tallo fue el menos activo, al inhibir el crecimiento de una cepa bacteriana (*S. aureus* ATCC 12398) (Cuadro 2). Los resultados de la actividad antibacteriana de los extractos mostraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) comparadas con el control positivo (cloranfenicol).

Así mismo, se observó que los extractos hexánico, acetónico y metanólico de flores mostraron mayor actividad antibacteriana al presentar los valores de CMI menores, comparados con los extractos de tallos. Las cepas más susceptibles fueron *S. aureus* ATCC 29213 y *S. aureus* 83 MR al haber sido inhibidas por las CMI menores

(entre 0.125 y 0.25 mg/mL para los extractos hexánico y acetónico de flores) (Cuadro 3).

Estos resultados coinciden con el efecto antibacteriano reportado para otras especies del género *Dalea*, como es el caso de *D. scandens*, de la que se aislaron flavonoides a partir del extracto de acetato de etilo y mostraron actividad antibacteriana sobre *S. aureus*, resistente a meticilina (Nanayakkara *et al.*, 2002). Asimismo, de *D. versicolor* se reportó que inhibe el crecimiento de bacterias Gram positivas, entre ellas *S. aureus* y *B. cereus* (Belofsky *et al.*, 2004); además, *D. spinosa* posee compuestos fenólicos con efecto bactericida sobre *S. aureus* (Belofsky *et al.*, 2006).

#### Actividad antifúngica

En la evaluación de la actividad antifúngica, los extractos hexánicos fueron los más activos al inhibir el crecimiento de todas las cepas fúngicas evaluadas (ocho cepas de hongos levaduriformes y cuatro miceliados). En la evaluación sobre hongos levaduriformes el extracto hexánico de flores mostró los mayores halos de inhibición (entre  $7.89 \pm 0.66$  y  $13.25 \pm 1.24$  mm) y valores menores de CMI (0.125 mg/mL). Las cepas más susceptibles al extracto hexánico de flores fueron *C. albicans* ATCC 14065, *C. albicans* 17MR, *C. albicans* 18MR, *C. albicans* CC y *C. tropicalis* HA (CMI = 0.125 mg/mL).

Lo anterior coincide con lo reportado para otras especies del género *Dalea*. Pérez *et al.* (2003) reportaron efecto antifúngico de *D. elegans* sobre *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* y *Cryptococcus neoformans*. Peralta *et al.* (2012) reportaron actividad de *D. elegans* sobre *C. albicans*.

En cuanto a los hongos filamentosos, la cepa más susceptible fue *T. metagrophytes* porque su crecimiento radial fue inhibido hasta 90 % con los extractos hexánicos de flores y tallos, así como el acetónico de flores, en las concentraciones de 0.125 mg/mL y 0.5 mg/mL, respectivamente

**Cuadro 2. Actividad antibacteriana de los extractos de *D. carthagenensis*.**

Microorganismo	Cloranfenicol	Hexánico		Acetónico	
		Flor	Tallo	Flor	Tallo
Halos de inhibición (mm)					
<i>S. aureus</i> ATCC 12398	24.00 ± 0.82	14.00 ± 0.05*	10.66 ± 0.57*	11.33 ± 1.52*	17.33 ± 0.57*
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	25.66 ± 2.08	10.30 ± 1.00*	13.00 ± 1.00*	11.66 ± 1.52*	7.66 ± 0.57*
<i>S. aureus</i> 83 MR	22.33 ± 0.47	10.60 ± 0.57*	16.00 ± 1.00*	11.33 ± 0.57*	7.00 ± 0.05*
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	27.60 ± 0.11	10.66 ± 0.57*	13.00 ± 1.00*	13.00 ± 1.00*	7.66 ± 0.57*
Valores de CMI					
	(µg/mL)			(mg/mL)	
<i>S. aureus</i> ATCC 12398	1.0	0.75	1.0	0.5	1.0
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	8.0	0.125	1.0	0.125	0.75
<i>S. aureus</i> 83 MR	8.0	0.25	1.0	0.25	0.75
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	8.0	0.75	1.0	0.25	0.25
Metanólico					
		Flor	Tallo		
Halos de inhibición (mm)					
<i>S. aureus</i> ATCC 12398		10.66 ± 0.57*	7.66 ± 0.57*		
<i>S. aureus</i> ATCC 29213		9.00 ± 9.05*	na		
<i>S. aureus</i> 83 MR		11.00 ± 1.00*	na		
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853		9.66 ± 0.57*	na		
Valores de CMI					
				(mg/mL)	
<i>S. aureus</i> ATCC 12398		0.75	2.0		
<i>S. aureus</i> ATCC 29213		0.5	na		
<i>S. aureus</i> 83 MR		0.5	na		
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853		0.75	na		

Valores promedio de tres repeticiones ± desviación estándar. Los sensibiliscos se probaron con 2 mg de extracto por disco. Los resultados de la CMI del cloranfenicol están dados en µg/mL; los de los extractos en mg/mL. \* Indica diferencia significativa (P < 0.01) con el control positivo (cloranfenicol); na: no presento actividad.

(Figura 1). El extracto hexánico de flores fue el más activo al inhibir a todas las cepas microbianas evaluadas con las concentraciones menores (CF<sub>50</sub> de 0.09 a 0.6 mg/mL) (Cuadro 4), y mostró entre 90 y 100 % de inhibición sobre las cepas microbianas con las menores concentraciones (1.0 mg/mL para *A. niger* y *F. sporotrichum*; 0.75 y 0.125 mg/mL para *R. lilacina* y *T. mentagrophytes*, respectivamente) (Figura 1). De otras especies del género, el único trabajo encontrado es el de Pérez et al. (2003) quienes reportaron actividad antifúngica sobre *T. mentagrophytes* de un flavonoide aislado de *D. elegans*.

Los resultados sugieren que los metabolitos secundarios presentes en los extractos activos pueden ser los responsables del efecto antimicrobiano, al inhibir microor-

ganismos causantes de infecciones en la piel y en las mucosas, como *S. aureus* y *P. aeruginosa*, los cuales son responsables en gran medida de las infecciones nosocomiales en los hospitales. Además, *S. aureus* es causante de diversas enfermedades como neumonía, pericarditis, infecciones del tracto urinario y septicemia (Zhong et al., 2015). Por otra parte, las especies de *C. albicans* que resultaron susceptibles a los extractos son responsables de más del 90 % de los casos de candidiasis sistémicas y en las mucosas (García-Vidal et al., 2013). En cuanto a los hongos miceliados, *T. mentagrophytes* es un hongo dermatofito responsable de la mayoría de las infecciones fúngicas superficiales en casos clínicos reportados en América (Ghannoum et al., 2013; Havlickova et al., 2008). Por lo anterior, los extractos de *D. carthagenensis* representan



**Cuadro 3. Actividad antifúngica de los extractos de *D. carthagenensis* sobre hongos levaduriformes.**

Microorganismo	Nistatina	Hexánico		Acetónico	
		Flor	Tallo	Flor	Tallo
Halos de inhibición (mm)					
<i>C. albicans</i> ATCC 14065	11.83 ± 2.02	10.20 ± 0.05	9.16 ± 0.74	---	6.00 ± 0.05*
<i>C. albicans</i> CUSI	9.33 ± 0.58	9.16 ± 0.72	6.78 ± 0.05*	6.00 ± 0.05*	---
<i>C. albicans</i> 17MR	30.00 ± 0.82	13.25 ± 1.24*	8.66 ± 1.15*	6.00 ± 0.05*	---
<i>C. albicans</i> 18MR	26.00 ± 0.05	8.87 ± 0.81*	7.60 ± 0.69*	6.00 ± 0.05*	---
<i>C. albicans</i> CC	9.33 ± 0.58	7.26 ± 1.11*	6.51 ± 0.96*	---	---
<i>C. glabrata</i> HA	22.00 ± 0.05	9.40 ± 0.81*	6.81 ± 0.84*	6.00 ± 0.05*	---
<i>C. tropicalis</i> CC	20.33 ± 0.47	7.89 ± 0.66*	6.83 ± 0.85*	---	---
<i>C. tropicalis</i> HA	9.00 ± 1.00	9.40 ± 0.75	8.70 ± 0.05	---	6.00 ± 0.05*
Valores de CMI					
	(µg/mL)	(mg/mL)			
<i>C. albicans</i> ATCC 14065	11	0.125	0.25	---	2.0
<i>C. albicans</i> CUSI	11	0.25	0.25	0.5	---
<i>C. albicans</i> 17MR	8	0.125	0.25	1.5	---
<i>C. albicans</i> 18MR	7	0.125	0.25	1.5	---
<i>C. albicans</i> CC	11	0.125	0.25	---	---
<i>C. glabrata</i> HA	8	0.25	0.25	2.0	---
<i>C. tropicalis</i> CC	9	0.25	0.25	---	---
<i>C. tropicalis</i> HA	9	0.125	0.25	---	1.0

Valores promedio de tres repeticiones ± desviación estándar. Los sensibilizados se probaron con 2 mg de extracto por disco; Nistatina: 30 µg/disco. Los valores de la CMI de nistatina están dados en µg/mL; los de los extractos en mg/mL. \* Indica diferencia significativa ( $P < 0.01$ ) con el control positivo (Nistatina).

**Cuadro 4. Concentración fungicida media (CF<sub>50</sub>) de los extractos de *D. carthagenensis* sobre hongos filamentosos.**

Microorganismo	Ketoconazol	Hexánico		Acetónico		Metanólico	
		Flor	Tallo	Flor	Tallo	Flor	Tallo
<i>A. niger</i>	0.015	0.60	1.56*	1.45*	na	nd	na
<i>F. sporotrichum</i>	0.008	0.33	1.70	0.15*	0.32*	0.50	1.74*
<i>R. lilacina</i>	0.020	0.45	1.81	0.20	0.15*	0.17	1.75
<i>T. mentagrophytes</i>	0.002	0.09	0.09	0.10	0.10	0.13	1.68

Datos expresados en mg/mL. \*CF<sub>25</sub>: Concentración fungicida que inhibe el crecimiento radial en 25 %; na: No presento actividad; nd: No determinado.

recursos potenciales de obtención de fármacos eficaces para inhibir a los microorganismos mencionados.

### CONCLUSIONES

Los resultados del presente trabajo muestran que existen diferencias en la composición química y en los efectos antibacterianos y antifúngicos de los extractos de flores y tallos de *D. carthagenensis* (Jacq.) J. F. Macbr., colectada en el valle de Tehuacán-Cuicatlán, estado de Puebla. La mayor actividad biológica se presenta en el extracto hexá-

nico de flores que posee terpenos y flavonoides, lo que sugiere que los metabolitos responsables de la actividad biológica pueden ser de tal naturaleza. La relevancia de la presente investigación se debe a que no existen trabajos previos sobre la actividad antimicrobiana de *D. carthagenensis*, de la cual los metabolitos secundarios en los extractos, principalmente en los hexánicos de flores y tallos, así como el acetónico de flores, poseen propiedad antimicrobiana sobre bacterias Gram positivas, hongos levaduriformes y miceliados. Con los resultados obtenidos se contribuye al conocimiento de la flora medicinal del valle

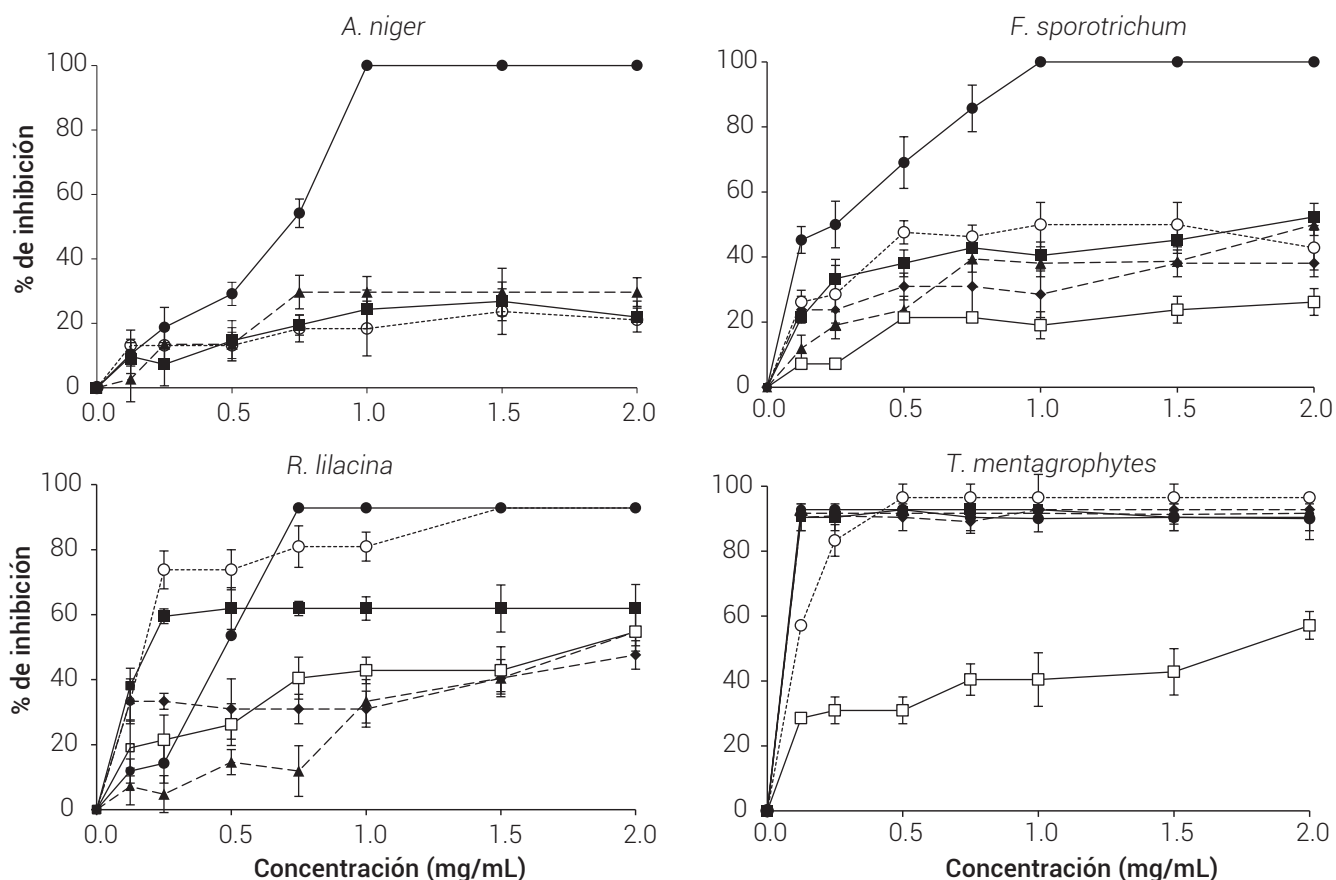


Figura 1. Inhibición del crecimiento radial de los extractos de *D. carthagenensis* sobre hongos filamentosos. Valores promedio de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar. \*Indica diferencia significativa ( $P < 0.0001$ ) entre extractos. HF: extracto hexánico de flor; HT: extracto hexánico de tallo; AF: extracto acetónico de flor; AT: extracto acetónico de tallo; MF: extracto metanólico de flor; MT: extracto metanólico de tallo.

de Tehuacán-Cuicatlán, y se valida el uso medicinal de *D. carthagenensis* en el tratamiento de enfermedades de posible origen infeccioso.

#### AGRADECIMIENTOS

A los habitantes de San Rafael Coxcatlán, Puebla. También a Héctor Cervantes Maya por su colaboración en la coleta de campo. Esta investigación fue financiada por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) IA204915 y por el Programa de Apoyo a los Profesores de Carrera (PAPCA) de la FES Iztacala, UNAM 2014-2015 (FESI-DIP-PAPCA-2014-33).

#### BIBLIOGRAFÍA

- Ankli A., M. Heinrich, P. Bork, L. Wolfram, P. Bauerfeind, R. Brun, C. Schmid, C. Weiss, R. Bruggisser, J. Gertsch, M. Wasescha and O. Sticher (2002) Yucatec Mayan medicinal plants: evaluation based on indigenous uses. *Journal of Ethnopharmacology* 79:43-52.
- Belofsky G., R. Carreno, S. M. Goswick, and D. T. John (2006) Activity of isoflavans of *Dalea aurea* (Fabaceae) against the opportunistic ameba *Naegleria fowleri*. *Planta Medica* 72:383-386.
- Belofsky G., D. Percivill, K. Lewis, G. P. Tegos and J. Ekart (2004) Phenolic metabolites of *Dalea versicolor* that enhance antibiotic activity against model pathogenic bacteria. *Journal of Natural Products* 67:481-484.
- Belofsky G., M. Aronica, E. Foss, J. Diamond, F. Santana, J. Darley, P. F. Dowd, C. M. Coleman and D. Ferreira (2014) Antimicrobial and antiinsectan phenolic metabolites of *Dalea searlsiae*. *Journal of Natural Products* 77:1140-1149.
- Caffaratti M., M. G. Ortega, M. E. Scarafia, L. A. Espinar and H. R. Juliani (1994) Prenylated flavanones from *Dalea elegans*. *Phytochemistry* 36:1082-1084.
- Casas A., A. Valiente-Banuet, J. L. Viveros, J. Caballero, L. Cortés, P. Dávila, R. Lira and I. Rodríguez (2001) Plant resources of the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Economic Botany* 55:129-166.
- CICY, Centro de Investigación Científica de Yucatán (2010) Flora de la Península de Yucatán. URL: <http://www.cicy.mx/sitios/flora%20digital/> (Enero 2016).
- Dávila P., M. C. Arizmendi, A. Valiente-Banuet, J. L. Villaseñor, A. Casas and R. Lira (2002) Biological diversity in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Biodiversity and Conservation* 11:421-442.
- Domínguez X. A. (1985) Métodos de Investigación Fitoquímica. 3ª ed. Limusa. México 281 p.
- Domínguez X. A., R. Franco, A. Zamudio, D. M. Barradas D., W. H. Watson, V. Zabel and A. Merijanian (1980) Flavonoids from *Dalea scandens* var. *Paucifolia* and *Dalea thyrsoiflora*. *Phytochemistry* 19:1262-1263.
- Elingold I., M. P. Isollabella, M. B. Casanova, A. M. Celentano, C. Pérez, J. L.

- Cabrera, R. A. Diez and M. Dubin (2008) Mitochondrial toxicity and antioxidant activity of a prenylated flavonoid isolated from *Dalea elegans*. *Chemico-Biological Interactions* 171:294-305.
- Filippini R., A. Piovan, A. Borsarini and R. Caniato (2010) Study of dynamic accumulation of secondary metabolites in three subspecies of *Hypericum perforatum*. *Fitoterapia* 81:115-119.
- Ganjewala D., S. Sam and K. H. Khan (2009) Biochemical compositions and antibacterial activities of *Lantana camara* plants with yellow, lavender, red and white flowers. *EurAsian Journal of Biosciences* 3:69-77.
- García-Vidal C., D. Viasus and J. Carratalá (2013) Pathogenesis of invasive fungal infections. *Current Opinion in Infectious Diseases* 26:270-276.
- Geetha R. V. and R. Anitha (2013) *In vitro* evaluation of antimycotic activity of ethanolic extract of *Glycyrrhiza glabra*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 6:205-206.
- Ghannoum M. A., L. Long, A. J. Cirino, A. R. Miller, R. Najafi, L. Wang, K. Sharma, M. Anderson and B. Memarzadeh (2013) Efficacy of NVC-422 in the treatment of dermatophytosis caused by *Trichophyton mentagrophytes* using a guinea pig model. *International Journal of Dermatology* 52:567-571.
- Havlicková B., V. A. Czaika and M. Friedrich (2008) Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. *Mycoses* 51:2-15.
- Huber M., D. Triebwasser-Freese, M. Reichelt, S. Heiling, C. Paetz, J. N. Chandran, S. Bartram, B. Schneider, J. Gershenzon and M. Erb (2015) Identification, quantification, spatiotemporal distribution and genetic variation of major latex secondary metabolites in the common dandelion (*Taraxacum officinale* agg.). *Phytochemistry* 115:89-98.
- Jin L., Y. Wang, A. D. Iwaasa, Z. Xu, M. P. Schellenberg, Y. G. Zhang, X. L. Liu and T. A. McAllister (2012) Effect of condensed tannins on ruminal degradability of purple prairie clover (*Dalea purpurea* Vent.) harvested at two growth stages. *Animal Feed Science and Technology* 176:17-25.
- Mishra B. B. and V. K. Tiwari (2011) Natural products: an evolving role in future drug discovery. *European Journal of Medicinal Chemistry* 46:4769-4807.
- Moura J. C. M. S., C. A. V. Bonine, J. O. F. Viana, M. C. Dornelas and P. Mazzafera (2010) Abiotic and biotic stresses and changes in the lignin content and composition in plants. *Journal of Integrative Plant Biology* 52:360-376.
- Nanayakkara N. P. D., C. L. Burandt and M. R. Jacob (2002) Flavonoids with activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of *Dalea scandens* var. *paucifolia*. *Planta Medica* 68:519-522.
- Newman D. J. and G. M. Cragg (2012) Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products* 75:311-335.
- Parveen I., T. Wilson, I. S. Donnison, A. R. Cookson, B. Hauck and M. D. Threadgill (2013) Potential sources of high value chemicals from leaves, stems and flowers of *Miscanthus sinensis* 'Goliath' and *Miscanthus sacchariflorus*. *Phytochemistry* 92:160-167.
- Peralta M. A., M. Angel da Silva, M. G. Ortega, J. L. Cabrera and M. G. Paraje (2015) Antifungal activity of a prenylated flavonoid from *Dalea elegans* against *Candida albicans* biofilms. *Phytomedicine* 22:975-980.
- Peralta M. A., M. Calise, M. C. Fornari, M. G. Ortega, R. A. Diez, J. L. Cabrera and C. Pérez (2012) A prenylated flavanone from *Dalea elegans* inhibits rhodamine 6 G efflux and reverses fluconazole-resistance in *Candida albicans*. *Planta Medica* 78:981-987.
- Peralta M. A., M. D. Santi, A. M. Agnese, J. L. Cabrera, M. G. Ortega (2014) Flavonoids from *Dalea elegans*: chemical reassignment and determination of kinetics parameters related to their anti-tyrosinase activity. *Phytochemistry Letters* 10:260-267.
- Pérez C., I. N. Tiraboschi, M. G. Ortega, A. M. Agnese and J. L. Cabrera (2003) Further antimicrobial studies of 2'-4'-dihydroxy-5'-(1''-dimethylallyl)-6'-prenylpinoembrin from *Dalea elegans*. *Pharmaceutical Biology* 41:171-174.
- Rivera A., J. Calle, G. Gallo, A. G. González, Z. E. Aguiar and J. G. Luis. (1992) A C-methyl chalcone from *Dalea caerulea*. *Phytochemistry* 31:2565-2566.
- Vanden Berghe D. A. and A. J. Vlietinck (1991) Screening methods for antibacterial agents from higher plants. In: *Methods in Plant Biochemistry, Assays for Bioactivity*. P. M. Dey, J. B. Harborne and K. Hostettman (eds.). Academic Press London, U. K. pp:47-69.
- Wang H. and T. B. Ng (2002) Isolation of an antifungal thaumatin-like protein from kiwi fruits. *Phytochemistry* 61:1-6.
- Wang H. X. and T. B. Ng (2007) Isolation and characterization of an antifungal peptide with antiproliferative activity from seeds of *Phaseolus vulgaris* cv. Spotted Bean. *Applied Microbiology and Biotechnology* 74:125-130.
- Wink M. and L. Witte (1984) Turnover and transport of quinolizidine alkaloids: diurnal fluctuations of lupanine in the phloem sap, leaves and fruits of *Lupinus albus* L. *Planta* 161:519-524.
- Wink M. (2013) Evolution of secondary metabolites in legumes (Fabaceae). *South African Journal of Botany* 89:164-175.
- Zhong D., Y. Zhuo, Y. Feng and X. Yang (2015) Employing carbon dots modified with vancomycin for assaying Gram-positive bacteria like *Staphylococcus aureus*. *Biosensors and Bioelectronics* 74:546-553.