



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

UNIDAD ACADÉMICA

FACULTAD DE BIOLOGÍA

MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

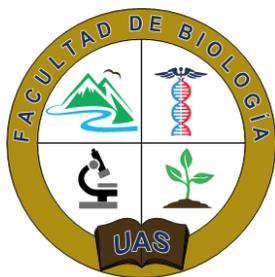
Caracterización fitoquímica, evaluación de la actividad antibacteriana y toxicológica *in vitro* de los extractos metanólicos de hoja y raíz de *Tournefortia hartwegiana* Steud. (Tatachinole)

Tesis que presenta:
Biol. María Cecilia Soto Cisneros

Para obtener el grado de maestra en Ciencias Biológicas

Directores:
Dr. Samuel Campista León
Dra. Cecilia Liana Alfonso Corrado

Asesores:
Dra. Luz Isela Peinado Guevara
Dr. José Saturnino Díaz
Dr. Julio Montes Ávila



Culiacán de Rosales, Sinaloa, México, diciembre del 2023



Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

UAS-Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial
Compartir Igual, 4.0 Internacional



A la facultad de Biología de la Universidad Autónoma de Sinaloa, al Posgrado en Ciencias Biológicas y a los laboratorios de Microbiología y Biología Aplicada; Laboratorio de Biotecnología, Laboratorio de Química de Productos Naturales y al cuerpo académico Ecología Molecular y Biotecnología por darme la oportunidad de pertenecer a su equipo y ofrecer las herramientas necesarias para el desarrollo de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por la beca de manutención al CVU número 1148197.

A mis directores de tesis, Dr. Samuel Campista León y Dra. Cecilia Liana Alfonso Corrado, por brindarme la oportunidad de pertenecer a su equipo de trabajo y guiarme para poder concluir satisfactoriamente este proyecto. Muchas gracias por su compromiso y dedicación para sacar adelante esta investigación y por todo el conocimiento y tutoría brindada para mi formación como Maestra en Ciencias.

A la Dra. Luz Isela Peinado Guevara, quien fue una gran asesora de tesis, siempre comprometida y dedicada para hacer de este un buen trabajo.

Al Dr. José Saturnino Díaz, por apoyarme con su vasto conocimiento sobre la flora del estado de Sinaloa a identificar taxonómicamente la especie vegetal sobre la que trata esta investigación, por atender siempre a las dudas de carácter técnico e intelectual cuando de plantas se trata, siempre es un gusto trabajar con personas apasionadas y doctas en su campo de estudio.

Al Dr. Julio Montes Ávila, muchas gracias por asesorar esta tesis, por brindarme su valioso tiempo en cada seminario, por la paciencia y disposición para apoyarme siempre que lo necesité.

Al Dr. Mario Leyva, de la FCQB por el apoyo en la realización de los análisis fitoquímicos y asesorarme en las cuestiones técnicas que implica un estudio de esta naturaleza.

A la M. C. Irma Romelia Sánchez Mendoza, muchas gracias por abrir las puertas del Laboratorio de Biotecnología para realizar este trabajo de investigación y apoyarme siempre que lo necesité.

Al Ing. Agrónomo Alejandro Soto Cisneros, por su valiosa asesoría y apoyo con la realización del análisis de suelo y su posterior interpretación.

A mis compañeros del Laboratorio de Microbiología y Biología Aplicada: Alberto, Armando, Enrique, Flor, Gilberto, Joel, Marco, Nereyda, Oliver, Ricardo, Rogelio y Uriel, les agradezco cada gesto amable, el apoyo en los días de ensayos antibacterianos que parecían interminables y el compañerismo brindado siempre en mi estancia en el laboratorio de micro.

A mis compañeros del Laboratorio de Biotecnología: Jazmín, Fernanda y Ángel, gracias por todo el apoyo brindado durante el tiempo que compartimos el mismo espacio de trabajo.

A mi compañera y amiga Claudia Patricia Ávila Gaxiola, muchas gracias por ser un gran apoyo en estos dos años que compartimos en el posgrado.

A mi familia por siempre apoyarme en cada uno de mis retos.

Índice General

Resumen	1
Abstract.....	2
I. INTRODUCCIÓN	3
II. ANTECEDENTES	6
2.1 Género <i>Tournefortia</i>	6
2.1.1 <i>Tournefortia hartwegiana</i>	6
2.2 Usos tradicionales y distribución natural	7
2.3 Etnobotánica	8
2.4 Medicina tradicional	8
2.5 Uso histórico de plantas en diferentes culturas.....	8
2.6 Medicina tradicional en México	9
2.7 Familias de plantas con atributos medicinales.....	11
2.8 Flora de Sinaloa	12
2.9 Estudios sobre plantas en México y Sinaloa.....	13
2.10 Estudios del género <i>Tournefortia</i> y <i>Tournefortia hartwegiana</i>	15
2.11 Impacto de las condiciones del suelo en la producción de metabolitos secundarios de plantas medicinales	17
2.12 Desafíos en la resistencia bacteriana a antibióticos	18
2.12.1 Resistencia antibiótica intrínseca y adquirida.....	20
2.12.2 Resistencia a antibióticos en México.....	22
2.13 Metabolitos secundarios de plantas	23
2.13.1 Alcaloides	24
2.13.2 Compuestos fenólicos	24
2.13.3 Terpenos.....	24
2.13.4 Extractos polares y no polares	25
2.13.5 Fraccionamiento guiado por bioensayos.....	26
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	27
IV JUSTIFICACIÓN.....	28
V. HIPÓTESIS	29
VI. OBJETIVOS.....	30
6.1 Objetivo general.....	30

6.2 Objetivos específicos	30
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	31
7.1 Diseño experimental	31
7.2 Tipo de estudio.....	31
7.3 Sitio de estudio.....	31
7.4 Identificación de la especie	34
7.5 Colecta de material vegetal y de suelo.....	34
7.5.1 Material vegetal	34
7.5.2 Muestra de suelo	34
7.6 Preparación de extractos y tamizaje fitoquímico	35
7.6.1 Preparación del extracto metanólico.....	35
7.6.2 Filtración y almacenamiento.....	35
7.6.3 Concentración del extracto	36
7.7 Fraccionamiento bioguiado de extractos	36
7.8 Análisis fitoquímico de los extractos metanólicos y fracciones de hoja y raíz de <i>Tournefortia hartwegiana</i>	37
7.8.1 Determinación cualitativa de reacción en tubo de metabolitos en los extractos y fracciones de <i>Tournefortia hartwegiana</i>	37
7.8.1.1 Compuestos Fenólicos	37
7.8.1.2 Taninos.....	38
7.8.1.3 Flavonoides	38
7.8.1.4 Saponinas	38
7.8.1.5 Terpenos.....	39
7.8.1.5.1 Prueba de Liebermann-Burchard	39
7.8.1.5.2 Prueba de Salkowski	39
7.8.1.6 Alcaloides	39
7.8.1.6.1 Prueba de Dragendorff.....	39
7.8.1.6.2 Prueba de Mayer	40
7.8.1.6.3 Prueba de Wagner	40
7.9 Cromatografía en capa fina del extracto metanólico y fracciones de hoja y raíz	41
7.10 Análisis fisicoquímico del suelo	41
7.11 Evaluación de la actividad antibacteriana.....	43
7.11.1 Bioensayo antibacteriano de los extractos	43

7.11.1.1 Cultivo de cepas.....	43
7.11.1.2 Cuantificación del inóculo.....	43
7.11.1.3 Determinación de susceptibilidad antibacteriana por el método de dilución en agar	44
7.12. Evaluación de toxicidad de los extractos.....	45
7.12.1 Ensayo de toxicidad de los extractos con <i>Artemia salina</i>	45
7.13 Lugar de trabajo.....	47
7.14 Financiamiento.....	47
VIII. RESULTADOS.....	48
8.1 Identificación taxonómica, rendimiento de extractos, caracterización fitoquímica y análisis de suelo.....	48
8.1.1 Identificación de especímenes botánicos de <i>Tournefortia hartwegiana</i>	48
8.1.2 Rendimiento de los extractos metanólicos y fracciones.....	49
8.1.3 Análisis fitoquímico en el extracto y fracciones de hojas de <i>Tournefortia hartwegiana</i>	50
8.1.3.1 Análisis fitoquímico en el extracto y fracciones de raíz de <i>Tournefortia hartwegiana</i>	53
8.1.4 Composición fisicoquímica del suelo en el área de colecta de <i>Tournefortia hartwegiana</i>	59
8.1.5 Determinación de la actividad antibacteriana de los extractos metanólicos y fracciones de <i>Tournefortia hartwegiana</i> mediante el método de dilución en agar.....	60
8.1.6 Determinación de la toxicidad de los extractos y fracciones de <i>Tournefortia hartwegiana</i>	65
8.1.6.1 Análisis <i>in vitro</i> en <i>Artemia salina</i>	65
IX. DISCUSIÓN.....	68
9.1 Rendimiento de extracción e Identificación de Metabolitos Secundarios.....	68
9.2 Actividad antibacteriana.....	70
9.3 Toxicidad.....	72
9.4 Análisis de suelo.....	72
X. CONCLUSIONES.....	74
XI. PERSPECTIVAS.....	75
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76
XIII. ANEXOS.....	92

Índice de Figuras

Figura	Página
1. Especie <i>Tournefortia hartwegiana</i> Steud.....	7
2. Área de muestreo (Humaya, Culiacán, Sinaloa).....	33
3. Especímenes de <i>Tournefortia hartwegiana</i> donados al Herbario Jesús González Ortega.....	48
4. Tamizaje fitoquímico; reacciones en tubo del EMH.....	51
5. Reacciones en tubo del EMR.....	54
6. TLC para alcaloides.....	57
7. Dilución en agar del extracto metanólico de hojas.....	62
8. Dilución en agar del extracto metanólico de raíces.....	63
9. Dilución en agar de la fracción de acetato de etilo de raíz (FAER).....	64
10. Nauplios de <i>Artemia salina</i> con 24 h de desarrollo después de eclosionar.	67
11. Ensayo de toxicidad con <i>Artemia salina</i>	67

Índice de Cuadros

Cuadro	Página
1. Clasificación de toxicidad según CYTED (Ciencia y Tecnología para el Desarrollo).....	46
2. Rendimientos de los extractos y fracciones.....	49
3. Tamizaje fitoquímico del extracto metanólico de hojas y fracciones de <i>Tournefortia hartwegiana</i> Steud.....	52
4. Tamizaje fitoquímico del extracto metanólico de raíces y fracciones de <i>Tournefortia hartwegiana</i>	55
5. Cromatografía en capa fina (TLC) de los extractos metanólicos y fracciones de hoja y raíz de <i>Tournefortia hartwegiana</i>	58
6. Actividad antibacteriana de los extractos y fracciones de <i>Tournefortia hartwegiana</i> mediante el método de dilución en agar.....	61
7. Análisis de toxicidad de los extractos y fracciones de <i>T. hartwegiana</i>	66

Abreviaturas

CL₅₀: Concentración Letal Media

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria

EMH: Extracto metanólico de hoja

EMR: Extracto metanólico de raíz

FAEH: Fracción de acetato de etilo de hoja

FAER: Fracción de acetato de etilo de raíz

FAH: Fracción acuosa de hoja

FAR: Fracción acuosa de raíz

FCH: Fracción clorofórmica de hoja

FCR: Fracción clorofórmica de raíz

FHH: Fracción hexánica de hoja

FHR: Fracción hexánica de raíz

TLC: Siglas para “*Thin Layer Chromatography*” (Cromatografía en Capa Fina)

mg: Miligramo

mL: Mililitro

μL: Microlitro

Resumen

El Tatchinole *Tournefortia hartwegiana* Steud., es una planta ampliamente utilizada en la medicina tradicional para el tratamiento de dolores reumáticos, diabetes e infecciones de las vías urinarias. El objetivo de esta investigación fue conocer los principales grupos de metabolitos secundarios que contiene la especie, evaluar la actividad antibacteriana y toxicidad *in vitro*. Se determinó el perfil de metabolitos secundarios que posee la especie mediante extractos metanólicos y fraccionamiento bioguiado con solventes de polaridad creciente, se evaluó la actividad antibacteriana por dilución en agar y la acción citotóxica *in vitro* en el crustáceo *Artemia salina* (L., 1758). Los análisis fitoquímicos de los extractos metanólicos de hoja y raíz mediante reacciones en tubo y cromatografía en capa fina indican la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides y terpenos en ambas partes de la planta y ausencia de alcaloides y saponinas. Las fracciones hexánica y clorofórmica de hojas y clorofórmica de raíz mostraron además presencia de alcaloides en reacciones en tubo y TLC. La CMI del extracto metanólico de raíz (EMR) y hojas (EMH) es de 5 mg/mL y 5 mg/mL para *E. coli* ATCC 25922 y de 5 mg/mL y 5 mg/mL para *S. aureus* ATCC25923, respectivamente. La fracción de acetato de etilo de raíz (FAER) mostró la más baja CMI para las dos cepas con 2.5 mg/mL para *E. coli* ATCC 25922 y 0.625 mg/mL para *S. aureus* ATCC25923. El bioensayo de toxicidad en *A. salina* mostró que los extractos metanólicos de hoja y raíz así como las fracciones hexánica, clorofórmica, acetato de etilo y acuosa, son no tóxicas o relativamente inocuas al ser suministradas a una concentración de 2,000 µg/mL.

Palabras clave: Boraginaceae, plantas medicinales, etnobotánica, actividad antibacteriana, metabolitos secundarios.

Abstract

Tatachinole *Tournefortia hartwegiana* Steud., is a plant widely used in traditional medicine for the treatment of rheumatic pain, diabetes, and urinary tract infections. The aim this research was to know the main groups of secondary metabolites contained in the species, evaluate the antibacterial activity and *in vitro* toxicity. The profile secondary metabolites that the species possesses was determined by means of methanolic extracts and bioguided fractionation with solvents of increasing polarity, the antibacterial activity was evaluated by dilution in agar and the cytotoxic action *in vitro* in the crustacean *Artemia salina* (L., 1758). The phytochemical analysis of the methanolic extracts of leaves and roots by means of tube reactions and thin layer chromatography indicate the presence of phenolic compounds, tannins, flavonoids and terpenes in both parts of the plant and the absence of alkaloids and saponins. The hexanic and chloroformic fractions of the leaves and chloroformic of roots also showed the presence of alkaloids in tube and TLC reactions. The MIC of the methanolic extract of roots (EMR) and leaves (EMH) is 5mg/mL and 5mg/mL for *E. coli* ATCC 25922 and 5mg/mL and 5mg/mL for *S. aureus* ATCC25923 respectively; The root ethyl acetate fraction (FAER) showed the lowest MIC for the two strains with 2.5 mg/mL for *E. coli* ATCC 25922 and 0.625 mg/mL for *S. aureus* ATCC25923. The bioassay of toxicity in *A. salina* showed that the methanolic extracts of leaves and roots, as well as the fractions hexanic, chloroformic, ethyl acetate and aqueous, are non-toxic or relatively innocuous when supplied at a concentration of 2,000 µg/mL.

Keywords: Boraginaceae, medicinal plants, ethnobotany, antibacterial activity, secondary metabolites

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas son ampliamente utilizadas en la medicina tradicional a nivel mundial, se estima que un 80% de su uso es para satisfacer las necesidades de atención primaria en salud. Según las directrices de la Organización Mundial de la Salud publicadas en su *Estrategia sobre medicina tradicional 2014-2023* (OMS, 2013), en la última década (2002-2013) ha ido en aumento el interés de diversos sectores por la medicina tradicional tanto en países en vías de desarrollo como en los desarrollados, lo que ha generado un incremento de los mercados nacionales e internacionales de las hierbas medicinales; Newman y Cragg (2020), reportaron que en los últimos cuarenta años, 929 de 1,881 nuevos medicamentos aprobados en EEUU tienen un origen natural, y otros 952 medicamentos, aunque clasificados como sintéticos, poseen farmacóforos naturales o moléculas que imitan un producto natural. Las predicciones del mercado indicaban que el mercado mundial de medicamentos botánicos y de origen vegetal crecería de 29.400 millones de dólares en 2017 a alrededor de 39.600 millones de dólares en 2022, con una tasa de crecimiento anual compuesta (CAGR) del 6.1% durante el período 2017-2022 (D'Amelia et al., 2021).

A nivel mundial existen reportes del uso generalizado de plantas como el ajo (*Allium sativum*), la guayaba (*Psidium guajava*) y la granada (*Punica granatum*) como remedio tradicional para afecciones del sistema digestivo, incluyendo parásitos, diarrea y malestar estomacal. Estas tres plantas cuentan con un total de 328 registros en la Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana que las avalan como opciones primarias para abordar dichos problemas en México (UNAM, 2009).

México es un país con una gran riqueza florística, se estima que 4,500 especies de plantas con flores (alrededor del 15% de la flora total) cuentan con atributos medicinales, lo que

equivale a aproximadamente una de cada siete especies. No obstante, se estima que solo el 11% de estas especies ha sido sometido a validación química, el 2.6% de forma biodirigida y sólo el 1.69% con estudios farmacológicos y toxicológicos (Aguiar-Hernández et al., 2016; Reyes Munguía et al., 2017).

Las medicinas indígenas y tradicionales utilizan ampliamente productos naturales y proporcionan más de la mitad de todos los medicamentos que se consumen hoy en día en todo el mundo (Shedoeva et al., 2019). Los estudios científicos sobre especies vegetales permiten dilucidar los componentes químicos activos responsables de las propiedades medicinales, farmacológicas, antibacterianas, antioxidantes y diversas actividades biológicas (Sharma et al., 2017).

A nivel mundial, la resistencia a los antimicrobianos es un grave problema que causa 7,000,000 de muertes al año, se estima que para 2050 cause aproximadamente 10 millones de muertes anuales en todo el mundo si aumenta al ritmo actual (Hermsen et al., 2020). Aunque se han logrado avances significativos en la investigación microbiológica y en el control de muchas enfermedades causadas por organismos infecciosos como las bacterias, se está reconsiderando que la investigación de plantas medicinales utilizando tecnologías de vanguardia, sea un enfoque viable para descubrir nuevos agentes bioactivos para resolver problemas generalizados de salud pública (Sharma et al., 2017).

Tournefortia hartwegiana (Heliotropiaceae) es una especie regional del estado de Sinaloa, México, que se conoce comúnmente como Tatachinole o Tachinole, ha sido utilizada ampliamente en la medicina tradicional por muchos años para tratar una variedad de afecciones, incluyendo dolores reumáticos, diabetes e infecciones del tracto urinario. Entre las comunidades indígenas, como los mayos en las regiones norte de Sinaloa y sur de Sonora, la raíz de esta planta

ha sido un recurso valioso en el manejo de dolencias como los dolores reumáticos. Además, se emplea para elaborar infusiones a partir de la raíz cruda para aliviar cálculos renales y malestares en los riñones, y las hojas se utilizan de manera tópica en el tratamiento de llagas de lenta cicatrización (Yetman y Van Devender, 2002; Díaz, 2020); sin embargo, posee escasos estudios sobre su química, usos y de actividad antibacteriana y toxicológica.

Por lo anterior, el presente estudio tiene como objetivo principal evaluar la actividad antibacteriana de *Tournefortia hartwegiana*. Esta investigación busca contribuir al constante avance del entendimiento en torno a las aplicaciones farmacológicas y terapéuticas de las plantas medicinales autóctonas de la región. Asimismo, se propone generar información relevante destinada a impulsar futuros avances en los campos de la medicina tradicional y la farmacología moderna.

II. ANTECEDENTES

2.1 Género *Tournefortia*

El género *Tournefortia*, confinado a las regiones tropicales de América, representa un desafío taxonómico debido a su diversidad. Con aproximadamente 100 especies en su haber, de las cuales 30 están presentes en México, este género exhibe una amplia variación morfológica. Esta variabilidad se refleja en los numerosos epítetos asignados y en los sinónimos taxonómicos relacionados. Las diferencias en las especies de *Tournefortia* se manifiestan en características como la forma y el tamaño de las hojas, las dimensiones de las inflorescencias y el tipo de pubescencia en sus partes vegetativas (Patiño-Siciliano, 2020).

2.1.1 *Tournefortia hartwegiana*

Un miembro notable de *Tournefortia* es la especie *T. hartwegiana* Steud., comúnmente conocida como Tatachinole o Tachinole. Este arbusto o hierba, con tallos ásperos que varían de verde tierno a café grisáceo en la madurez, presenta hojas alternas, pubescentes, ovadas o lanceoladas, con márgenes lisos u ondulados y ápices agudos o acuminados. Las flores tubulares de color blanco se agrupan en cimas escorpioides, que con el tiempo dan lugar a pequeñas bayas jugosas, de tonalidad blanca o translúcida. También conocida como hierba rasposa, nigua, perlas y tlachichinoa, la *T. hartwegiana* puede sufrir de infestación por insectos en sus frutos, alterando su desarrollo y comprometiendo sus poblaciones de manera significativa (Figura 1) (Patiño-Siciliano, 2020).

Se clasifica taxonómicamente dentro del Orden Boraginales, Familia Heliotropiaceae, Género *Tournefortia* L., Especie *Tournefortia hartwegiana* Steud. (GBIF, 2023).



Figura 1. Especímenes de *Tournefortia hartwegiana* Steud.

2.2 Usos tradicionales y distribución natural

Tournefortia hartwegiana ocupa un lugar prominente en la medicina tradicional, donde se la utiliza para tratar dolores reumáticos, diabetes e infecciones del tracto urinario. Las comunidades mayo del norte de Sinaloa y sur de Sonora emplean la raíz de esta planta para preparar lavados aliviadores de reumatismo, así como infusiones de la raíz cruda que se cree benefician los riñones. Además, las hojas de la *T. hartwegiana* son aplicadas sobre llagas de cicatrización complicada. Especie que se distribuye desde el noreste de México hasta Nicaragua, en su entorno natural, prospera en diversos hábitats, desde las zonas costeras hasta las elevaciones medias de las sierras. Se encuentra en matorrales xerófilos, bosques espinosos, bosques tropicales caducifolios, además en orillas de caminos, arroyos y cuerpos de agua, incluso en espacios baldíos (Díaz, 2020; Patiño-Siciliano, 2020; Moran-Palacio et al., 2014).

2.3 Etnobotánica

La etnobotánica, término derivado de "etno" (estudio de personas) y "botánica" (estudio de plantas), se enfoca en analizar las interacciones y relaciones entre seres humanos y vegetación a lo largo del tiempo y el espacio. Esta disciplina puede resumirse en cuatro palabras: humanos, plantas, interacciones y uso. El enfoque moderno de la etnobotánica proviene de la definición de Aumeerudhy (1996) y arraiga sus fundamentos en la botánica. Además, existe una íntima relación entre la medicina y la botánica, dado que numerosos medicamentos modernos tienen origen vegetal (Qureshi et al., 2007; Rahman et al., 2019).

2.4 Medicina tradicional

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la medicina tradicional como "el cúmulo de conocimientos, destrezas y prácticas basadas en teorías, creencias y experiencias autóctonas de diversas culturas, que pueden explicarse o no, y que se emplean en el mantenimiento de la salud, así como en la prevención, diagnóstico, mejora o tratamiento de enfermedades físicas y mentales" (OMS, 2000).

Los métodos ancestrales para tratar dolencias, arraigados en antiguas sociedades, se categorizan hoy como medicina complementaria. Los términos "medicina complementaria", "alternativa" o "no convencional" se utilizan de manera intercambiable con medicina tradicional en algunos países (OMS, 2020; OMS, 2000).

2.5 Uso histórico de plantas en diferentes culturas

Aunque la medicina griega y la egipcia se exploran principalmente desde una perspectiva histórica, la medicina tradicional china (MTC) y el Ayurveda de la India perduran como

sistemas de salud antiquísimos, con más de dos milenios de historia. Las plantas constituyen los materiales medicinales esenciales en ambos sistemas (Jaiswal et al., 2016).

La farmacología ayurvédica incorpora preparaciones herbarias según el tipo de dosha o desequilibrio. Muchas hierbas culinarias también se utilizan para aliviar afecciones menores. Por ejemplo, la alfalfa actúa como antiinflamatorio en casos de ciática, mientras que el *Aloe vera* se emplea como tónico hepático que contribuye a equilibrar las tres bioenergías o doshas presentes en el cuerpo: Vata, Pitta y Kapha. Cualquier alteración en este equilibrio se considera un signo de enfermedad, resaltando así la importancia de entender este concepto para apreciar la teoría y la práctica del ayurveda. Este sistema se enfoca en terapias preventivas y curativas, junto con métodos de limpieza y rejuvenecimiento para fomentar el bienestar general (Shankar y Liao, 2004).

En China, se ha acumulado una valiosa experiencia a partir de las prácticas de la medicina tradicional en diversas regiones. Las plantas medicinales y sus derivados procesados se aplican ampliamente en el ámbito clínico bajo la guía de la teoría de la medicina tradicional china. La Farmacopea China (edición de 2015) registra un total de 644 especies de plantas medicinales (Jaiswal et al., 2016).

2.6 Medicina tradicional en México

La Medicina Tradicional Mexicana (MTM), arraigada en la cultura precolombina del país, comparte características con otras prácticas de América Central y América Latina (Martínez, 2009). La diversidad de flora en México, compuesta por aproximadamente 30,000 especies de plantas vasculares, ha sido utilizada en la medicina tradicional gracias a conocimientos heredados y refinados a lo largo de los tiempos. Ejemplos como los códigos Cruz-

Badiano y Florentino resaltan el uso ancestral de plantas para tratamientos medicinales, incluyendo afecciones infecciosas como la diarrea. Estas prácticas perduran en comunidades geográficamente aisladas o áreas con acceso limitado a servicios de salud (Calzada y Bautista, 2020).

A finales del siglo XX, la OMS reconoció la importancia de la medicina tradicional en países con culturas originarias como China, India y México, donde amplias franjas de la población, especialmente las de escasos recursos, hacen uso de esta. Esto motivó al gobierno mexicano, a través de la Secretaría de Salud, a reconocer oficialmente la medicina tradicional y a fomentar su uso (Ávila-Uribe et al., 2016).

Recientemente, el conocimiento sobre el uso de plantas en la medicina tradicional ha suscitado un creciente interés para la obtención de productos farmacéuticos más eficaces (Getti et al., 2009). México, con su biodiversidad excepcionalmente rica y poco explorada, destaca al tener alrededor de 7,000 especies vegetales ampliamente empleadas en la medicina tradicional, de las cuales 800 se reconocen como plantas medicinales en el sur del país (Getti et al., 2009).

En México, el término "medicina tradicional" engloba diversas expresiones, como medicina tradicional indígena, medicina popular, medicina paralela, medicina indígena, medicina natural, medicina herbolaria y etnomedicina, entre otros (CONABIO, 2020).

En el país, aproximadamente 4,000 especies de plantas con flores (alrededor del 15% de la flora total) cuentan con atributos medicinales, lo que equivale a aproximadamente una de cada siete especies. No obstante, se estima que solo el 5% de estas especies ha sido sometido a validación química, farmacológica y biomédica de sus principios activos (Aguar-Hernández et al., 2016).

Los estudios etnobotánicos en México han revelado ventajas de las plantas empleadas por curanderos tradicionales para tratar principalmente trastornos del tracto digestivo y

respiratorio. Muchas de estas especies vegetales poseen propiedades bactericidas, antiinflamatorias, antivirales, antipiréticas, insecticidas y fungicidas. Además, se ha documentado que diversas especies contienen sustancias activas eficaces contra numerosas enfermedades actuales (Miranda-Cruz et al., 2012).

2.7 Familias de plantas con atributos medicinales

Dentro de la herbología mexicana, el nopal (*Opuntia ficus-indica*) destaca como un componente principal. Este cactus prospera en todo México, encontrando su mayor abundancia en las regiones áridas y semiáridas del centro del país. Reconocido tanto por su valor nutricional como por sus efectos hipoglucemiantes, el nopal es una presencia prominente en la tradición herbal mexicana. Su riqueza en compuestos bioactivos, como la indicaxantina y la betanina, le confieren diversas actividades biológicas gracias a sus potentes propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (Cruz-Martínez et al., 2017).

El Árnica (*Heterotheca inuloides*), originaria de las zonas cálidas y templadas del centro de México, es un recurso de gran relevancia. Ampliamente empleado como agente antiinflamatorio, analgésico y cicatrizante, el Árnica ha demostrado eficacia en el tratamiento de contusiones, heridas en la piel y hematomas. En casos de gingivitis, se utiliza mediante infusiones administradas tres veces al día. Resultados prometedores han indicado una eficacia del 96.6% para un extracto etanólico de la flor de Árnica, en comparación con el 66.7% de eficacia mostrado por el fármaco piroxicam (Cruz-Martínez et al., 2017).

En la Universidad Nacional Autónoma de México, la Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana constituye un tesoro de conocimiento, albergando 3,103 especies documentadas, las cuales abarcan 1,000 especies, 482 géneros y 154 familias con monografías

exhaustivas. Además, presenta 2,103 especies, 1,000 géneros y 183 familias en su listado base. Esta invaluable fuente también brinda una clasificación detallada de las especies de plantas más empleadas, las enfermedades más comunes para las que han sido recolectadas de fuentes de estudio, así como su enfoque en un sistema específico del cuerpo humano. Además, se determina si son el primer recurso de elección o si se encuentran entre las cinco principales opciones terapéuticas registradas (UNAM, 2009).

Dentro de este contexto, el ajo (*Allium sativum*), la guayaba (*Psidium guajava*) y la granada (*Punica granatum*) emergen como remedios tradicionales para afecciones del sistema digestivo, incluyendo parásitos, diarrea y malestar estomacal. Estas tres plantas cuentan con un total de 328 registros que las avalan como opciones primarias para abordar dichos problemas (UNAM, 2009).

2.8 Flora de Sinaloa

La flora de Sinaloa comprende 3,940 especies registradas. Sin embargo, su conocimiento sigue siendo limitado y la mayoría de los estudios florísticos se han centrado en la porción norte del estado. La flora de Sinaloa, rica en diversidad vegetal debido a su ubicación en la confluencia de tres regiones florísticas (Mesoamericana de Montaña, Xerofítica Mexicana y Caribeña) y tres provincias florísticas (Sierra Madre Occidental, Costa Pacífica y Planicie Costera del Noroeste), pero ha sido objeto de investigaciones escasas (Rzedowski, 2006; Vega Aviña et al., 2021).

Estudios recientes sobre la flora silvestre nativa y naturalizada de Sinaloa (Vega Aviña et al., 2021) documentan 3,940 especies pertenecientes a 1,177 géneros y 206 familias. De estas especies, 1,460 son endémicas de México y 75 son endémicas de Sinaloa.

2.9 Estudios sobre plantas en México y Sinaloa

La utilización de terapias a base de hierbas para abordar cuestiones de salud es una práctica global arraigada en la historia. En México, estas terapias han sido empleadas a lo largo de generaciones para tratar afecciones como gingivitis, periodontitis, infecciones y otros problemas orales (Cruz-Martínez et al., 2017).

Un estudio datado en 2017 ha documentado la actividad antibacteriana *in vitro* de 343 especies de plantas medicinales, pertenecientes a 92 familias botánicas y empleadas en la medicina tradicional mexicana para tratar infecciones. Esta investigación se ha centrado en agentes patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Resalta que las aplicaciones populares más frecuentes se dirigen hacia trastornos gastrointestinales (200 plantas), problemas respiratorios (118 plantas), alivio del dolor (efecto analgésico) (72 plantas) y tratamiento de afecciones cutáneas (71 plantas). Estos problemas engloban aspectos frecuentemente asociados a infecciones, incluyendo aquellas causadas por agentes bacterianos, como trastornos gastrointestinales (diarrea, úlceras estomacales o duodenales, gastritis, vómitos, etc.), problemas respiratorios (tos, dolor de garganta, estornudos, acumulación de líquido en pulmones o nariz, etc.), efecto analgésico (para mitigar el dolor causado por procesos inflamatorios activados durante infecciones como fiebre o inflamación de tejidos) y afecciones cutáneas (limpieza o cierre de heridas, tratamiento de úlceras cutáneas, dermatitis, caspa, etc.) (Sharma et al., 2017).

En el 2000, un estudio reportó el uso de una pasta derivada de *Uncaria tomentosa* para tratar daño pulpar dental. Los resultados demostraron que dicha pasta fue eficaz contra microorganismos comunes en la cavidad bucal humana, inhibiendo el 8% de aislados de Enterobacteriaceae, el 52% de *Streptococcus mutans* y el 96% de *S. aureus* (Cruz-Martínez et al., 2017).

Otro estudio comunicó que el extracto de *Citrullus colocynthis*, una planta de la familia Cucurbitaceae, exhibió actividad antibacteriana contra cepas bacterianas Gram positivas y negativas como *Bacillus subtilis*, *E. coli* y *P. aeruginosa*. El autor sugiere que la actividad de los extractos de este fruto ante las cepas bacterianas podría atribuirse a compuestos bioactivos como flavonoides, glucósidos y taninos (Hussain et al., 2014).

En 2005, se examinó el efecto de un enjuague bucal de Aloe (*Aloe vera*), dado que la planta presentó propiedades antibacterianas y antiinflamatorias. Los resultados de susceptibilidad antibacteriana mostraron que tanto el enjuague como la hoja inhibieron el crecimiento de *S. aureus* a 18.0 y 4.0 mm, respectivamente. Solo el gel inhibió el crecimiento de *Trichophyton mentagrophytes* (20.0 mm), mientras que la hoja demostró efectos inhibitorios tanto en *P. aeruginosa* como en *Candida albicans* (Cruz-Martínez et al., 2017).

Las plantas medicinales han contribuido a la lucha contra el cáncer, proporcionando bases para el descubrimiento de fármacos; actualmente, más del 70% de los agentes anticancerígenos provienen de fuentes naturales. México, con su rica diversidad biológica y cultural, posee un profundo conocimiento tradicional de remedios herbales. Un reciente análisis revisa 25 familias botánicas y 39 especies de plantas usadas para tratar el cáncer de colon en México, con respaldo en estudios *in vitro* e *in vivo* (Jacobo-Herrera et al., 2016).

Para el estado de Sinaloa, un estudio realizado por Pío-León et al. (2013) reporta resultados prometedores contra enterobacterias (*E. coli*, *Salmonella* spp. y *Shigella* spp.) a partir de extractos de Nanchi (*Byrsonima crassifolia*), arrayán (*Psidium sartorianum*) y ayale (*Crescentia alata*). Estas plantas silvestres, cuyos frutos son comestibles y han sido empleados en la medicina tradicional para tratar infecciones bacterianas como la disentería bacilar, exhibieron destacada actividad antibacteriana. Los extractos hexánicos de arrayán y ayale mostraron la mayor actividad antibacteriana, con concentraciones mínimas inhibitorias

inferiores a 1 mg/mL y concentraciones mínimas bactericidas de 0.5-16 mg/mL (CMI 0.25-2 mg/mL; CMB 0.5-16 mg/mL). El extracto metanólico de arrayán demostró ser especialmente efectivo contra bacterias Gram positivas, destacando la sensibilidad de *S. aureus* (CMI 2 mg/mL; CMB 2-4 mg/mL). Estos resultados refuerzan el respaldo a la utilización tradicional de estos recursos para el tratamiento de infecciones bacterianas (Pío-León et al., 2013).

2.10 Estudios del género *Tournefortia* y *Tournefortia hartwegiana*

Se han emprendido diversos estudios para explorar la actividad biológica diversa de especies pertenecientes al género *Tournefortia*.

Para *Tournefortia hirsutissima* (Hurtado-Díaz et al., 2019), se han reportado actividades antiproliferativas y antiinflamatorias *in vitro* a partir de compuestos aislados de sus hojas, incluido el 16-hidroxi-licoperseno, un poliisoprenoide (terpeno), que ha demostrado inhibir la producción de óxido nítrico en células RAW 264.7 e inducir apoptosis en células Hep3B. Por otro lado, Hernández et al. (2021) han logrado obtener nanopartículas de γ -sitosterol de *Tournefortia hirsutissima* que, posteriormente, se han estabilizado con nanopartículas de plata sobre la superficie externa de la *Zeolita clinoptilolita*, generando un prometedor material antibacteriano eficaz contra bacterias Gram positivas y Gram negativas.

En relación a *Tournefortia sarmentosa*, un extracto acuoso ha mostrado la capacidad de atenuar la peroxidación lipídica y mejorar la viabilidad celular, además de potenciar las enzimas antioxidantes en tratamientos de hepatocitos de ratas intoxicadas con PAP (acetaminofén o paracetamol), ambas *in vitro* como *in vivo* (Teng et al., 2012).

Un análisis fitoquímico de *Tournefortia sibirica* reveló treinta compuestos, incluyendo triterpenoides, fenoles, lignanos, megastigmanes, amidas, flavonoides, esteroides y glucósidos.

Algunos de estos compuestos se informaron por primera vez en esta especie, lo que amplía nuestro conocimiento sobre la diversidad química del género (Xue et al., 2023).

En cuanto a *Tournefortia paniculata*, planta empleada en la medicina tradicional brasileña para tratar la obesidad, los extractos en polvo y acuosos de sus hojas han demostrado eficacia para reducir la grasa hepática, la glucosa y los triglicéridos en ratas Wistar sometidas a una dieta hipercalórica, sin mostrar efectos genotóxicos (Simão et al., 2015).

Tournefortia densiflora, utilizada en la medicina tradicional mexicana para tratar la disentería, ha sido objeto de estudio, y su extracto metanólico de tallos ha demostrado actividad antibacteriana contra enterobacterias multirresistentes, incluyendo *E. coli* y *P. mirabilis*. Además, un extracto metanólico de raíces ha exhibido actividad antifúngica contra hongos fitopatógenos *Alternaria alternata* y *Fusarium solani* (Osuna et al., 2005; Lira-De León et al., 2014).

Tournefortia hartwegiana también ha sido objeto de atención científica. Un estudio realizado en 2005 (Ortiz-Andrade et al., 2005) destacó su potencial antidiabético al demostrar una reducción significativa de los niveles de glucosa en sangre en ratas normales y diabéticas inducidas por aloxano. En un análisis fitoquímico, se aislaron siete metabolitos secundarios, incluyendo beta-sitosterol, estigmasterol, lupeol, ácido ursólico, ácido oleanólico, sacarosa y mioinositol (Ortiz-Andrade et al., 2007). Además, se ha analizado el contenido de aminoácidos en la planta y se ha establecido una relación entre los aminoácidos presentes y las propiedades terapéuticas (Moran-Palacio et al., 2014).

Los estudios sobre plantas en México y Sinaloa demuestran la rica diversidad de conocimientos tradicionales y la valiosa actividad biológica de diversas especies, incluyendo aquellas pertenecientes al género *Tournefortia* y, en particular, *Tournefortia hartwegiana*. Estas investigaciones subrayan el potencial de las plantas medicinales en el tratamiento de

infecciones, cáncer y otras afecciones, así como en la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos.

2.11 Impacto de las condiciones del suelo en la producción de metabolitos secundarios de plantas medicinales

Las plantas poseen una asombrosa capacidad para sintetizar una variedad de metabolitos secundarios (MS) con el propósito de contrarrestar los efectos adversos del estrés. Las variables ambientales individuales ejercen una influencia determinante en la acumulación de metabolitos secundarios en las plantas; sin embargo, la relación entre las diferentes variables ambientales y la producción y acumulación de metabolitos secundarios es intrincada y multifacética. Esto sugiere que esta relación no solo se circunscribe a características específicas de la especie, sino que también está vinculada a oscilaciones tanto en incrementos como en disminuciones de hasta un 50% en la presencia de MS (Pant et al., 2021).

Los diversos factores limitantes desde una perspectiva ecológica, tales como la temperatura, el dióxido de carbono, la iluminación, el ozono, el agua, la salinidad y la fertilidad del suelo, ejercen un impacto considerable en las respuestas fisiológicas y bioquímicas de las plantas medicinales. Estos elementos también inciden en el proceso metabólico secundario. A medida que cambian los nutrientes ambientales y del suelo, tanto el rendimiento como el contenido de MS pueden manifestar variaciones notables (Pant et al., 2021; Yang et al., 2018).

Investigaciones han constatado que el estrés hídrico puede resultar en un aumento de la cantidad de MS en una amplia gama de especies vegetales. Este fenómeno refleja la adaptación de las plantas a situaciones de estrés y sugiere la capacidad de las especies para potenciar su respuesta metabólica ante condiciones ambientales desafiantes (Pant et al., 2021; Yang et al., 2018).

En el ámbito de la salinidad, la cual es uno de los estresores abióticos más sobresalientes, se generan interacciones complejas entre diversos procesos morfológicos, fisiológicos y bioquímicos. Estas interacciones se traducen en estrés oxidativo, el cual emerge debido a la producción aumentada de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) que alteran el metabolismo de la planta. En respuesta, las plantas generan una cantidad significativa de MS, encargados de eliminar o desintoxicar los ROS, como parte de su estrategia para enfrentar el estrés inducido por la salinidad (Pant et al., 2021; Yang et al., 2018).

Es relevante mencionar que la suplementación de nutrientes minerales para las plantas puede no solo estimular su crecimiento, sino también influir en el contenido de MS. Investigaciones recientes han arrojado luz sobre cómo la disponibilidad de nutrientes puede ejercer un papel crucial en la determinación del metabolismo secundario y la actividad antioxidante dentro de las plantas (Pant et al., 2021; Yang et al., 2018).

2.12 Desafíos en la resistencia bacteriana a antibióticos

La resistencia a los fármacos antibacterianos representa una crisis de alcance global que amenaza nuestra capacidad para abordar eficazmente las infecciones bacterianas. Esta problemática se manifiesta como un fenómeno ecológico caracterizado por interacciones intrincadas que abarcan diversas poblaciones bacterianas y que impactan la salud humana, la de los animales y el entorno (McEwen y Collignon, 2018).

La OMS ha identificado la resistencia a los antibióticos como una de las diez principales amenazas para la salud pública a nivel mundial. Esta situación exige la implementación urgente de medidas multisectoriales para alcanzar los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) (OMS, 2020).

En 2017, la OMS emitió una lista de bacterias que requieren con urgencia nuevos antibióticos, poniendo un énfasis particular en las bacterias Gram negativas resistentes a múltiples fármacos. Estas bacterias poseen la capacidad inherente de desarrollar nuevas formas de resistencia a tratamientos y de transmitir material genético que propaga la farmacorresistencia a otras bacterias (OMS, 2017).

El grupo de máxima prioridad comprende bacterias multirresistentes como *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y varias enterobacterias, como *Klebsiella* spp., *E. coli*, *Serratia* spp. y *Proteus* spp., resistentes a carbapenémicos. Estas bacterias pueden causar infecciones graves y frecuentemente mortales, como se observa en infecciones sanguíneas y neumonías (OMS, 2017).

En una categoría de prioridad elevada se encuentran otras bacterias que exhiben una creciente resistencia a fármacos y causan enfermedades comunes como gonorrea o intoxicaciones alimentarias. Entre ellas se encuentran *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., y *Neisseria gonorrhoeae*. Asimismo, se enlistan *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Shigella* spp., en la categoría de prioridad media (OMS, 2017).

La resistencia a los antibióticos, un problema de salud mundial en constante aumento, había estado tradicionalmente asociada a entornos clínicos. Sin embargo, se reconoce cada vez más que los entornos no clínicos también desempeñan un papel crucial en la propagación de genes de resistencia a antibióticos (ARGs, por sus siglas en inglés). De acuerdo con los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), solo en los Estados Unidos, se estima que 2 millones de personas contraen infecciones causadas por bacterias resistentes a antibióticos, lo que resulta en al menos 23,000 muertes al año debido a estas infecciones. En

Europa, se atribuyen anualmente alrededor de 25,000 muertes a infecciones por bacterias resistentes a antibióticos (Brinkac et al., 2017).

El uso de sistemas de detección de quórum (QS) en muchas bacterias para coordinar la virulencia y la formación de biopelículas ha emergido como un objetivo prometedor para los fármacos antibacterianos. Los Inhibidores de Detección de Quórum (Quorum-Sensing Inhibitors, QSIs) representan la comunicación intercelular bacteriana que regula la expresión génica específica, lo que puede alterar el entorno circundante de manera beneficiosa para los patógenos (Kongkham et al., 2020).

Las moléculas de señal QS contribuyen tanto a la resistencia a los antibióticos como a la patogenicidad en las bacterias. En este sentido, la inhibición de las moléculas de señal QS puede atenuar los problemas de virulencia y resistencia bacteriana. Los metabolitos secundarios de las plantas se han identificado como moduladores de factores de virulencia en bacterias al interferir con las moléculas de señal QS. Investigaciones han demostrado que ciertos compuestos como el trans-cinnamaldehído (canela), carvacrol, timol y eugenol, a concentraciones subinhibitorias, pueden inhibir la formación de biopelículas al regular negativamente la transcripción de genes relacionados con este proceso. Por lo tanto, los compuestos que interrumpen la señalización QS entre bacterias tienen un potencial significativo como adyuvantes antibacterianos (Kongkham et al., 2020).

2.12.1 Resistencia antibiótica intrínseca y adquirida

La resistencia antibiótica intrínseca, un fenómeno arraigado en la historia natural de las bacterias previo a la era de la terapia antimicrobiana, se encuentra presente en todas las especies bacterianas. Además de las formas intrínsecas de resistencia mediadas por la membrana externa

bacteriana y el flujo activo de efluentes, la investigación ha desvelado una asombrosa cantidad de genes y loci genéticos adicionales que también contribuyen a este fenotipo (Cox y Wright, 2013).

La mayoría de los compuestos antibacterianos consisten en moléculas de origen natural, y como resultado, las bacterias coexistentes han desarrollado mecanismos para contrarrestar su acción, garantizando su supervivencia. Por consiguiente, estos microorganismos a menudo se consideran intrínsecamente resistentes a uno o más fármacos antibacterianos (Munita y Arias, 2016).

La reacción bacteriana ante el "ataque" antimicrobiano ejemplifica la adaptación bacteriana por excelencia y representa el punto culminante de la evolución. La noción de la "supervivencia del más apto" se deriva de la inmensa plasticidad genética de los patógenos bacterianos, la cual desencadena respuestas específicas que se traducen en adaptaciones mediante mutaciones, adquisición de material genético o alteraciones en la expresión génica. Estas adaptaciones confieren resistencia a prácticamente todos los antibióticos actualmente disponibles en la práctica clínica (Munita y Arias, 2016).

Se ha estimado que el peptidoglicano en las bacterias Gram-positivas presenta un umbral de permeabilidad considerable, permitiendo el acceso de moléculas de hasta 30-57 kDa. La estructura gruesa de su malla facilita la penetración de moléculas pequeñas, lo cual constituye la base molecular de la susceptibilidad relativa intrínseca de los organismos Gram-positivos a diversos antibióticos. En contraste, las bacterias Gram-negativas muestran insensibilidad intrínseca a muchos de estos agentes antimicrobianos debido a la presencia de una membrana externa, denominada "outer membrane" (OM) por sus siglas en inglés, con un tamiz molecular mucho más fino. Esta membrana rodea una capa de peptidoglicano relativamente delgada (Cox y Wright, 2013).

Las bacterias emplean principalmente dos estrategias genéticas para adaptarse al "ataque" de los antibióticos: mutaciones en genes frecuentemente asociados al mecanismo de acción de un compuesto y la adquisición de ADN externo que codifica resistencia a través de la transferencia horizontal de genes (Munita y Arias, 2016).

2.12.2 Resistencia a antibióticos en México

En el contexto mexicano, el género *Staphylococcus* ha emergido como el principal agente responsable de infecciones nosocomiales, junto con *Pseudomonas aeruginosa*, estas bacterias destacan como las más resistentes a los fármacos, particularmente en los hospitales de la Ciudad de México (Pío-León et al., 2013).

Para abordar esta problemática, la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), a través de su Programa Universitario de Investigación en Salud, ha instaurado el Plan Universitario de Control de la Resistencia Antibacteriana (PUCRA). En un enfoque observacional retrospectivo, PUCRA ha examinado información de 20 hospitales mexicanos, con el propósito de entender los patrones de resistencia antimicrobiana exhibidos por microorganismos aislados de hemocultivos durante los años 2016 y 2017. Este análisis se ha centrado en los patógenos del grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* spp.). De los 4,382 aislamientos sanguíneos, se ha encontrado que *E. coli* y *K. pneumoniae* prevalecen, mostrando resistencias superiores al 30% a la mayoría de los fármacos evaluados. Sin embargo, para los carbapenémicos y la amikacina, la resistencia ha sido inferior al 20%. En el caso de *A. baumannii*, su resistencia a todos los fármacos supera el 20%. La resistencia a la oxacilina en *S. aureus* se ha situado en el 20%. En cuanto a los 12,151 aislamientos de

urocultivos, *E. coli* ha representado el 90%. En este contexto, la resistencia al ciprofloxacino, las cefalosporinas y la trimetoprima/sulfametoxazol ha superado el 50%, aunque se ha observado una buena susceptibilidad a nitrofurantoína, amikacina y carbapenémicos. Estos hallazgos resaltan los niveles significativos de resistencia en los bacilos Gram-negativos, subrayando la gravedad del problema asociado al uso de antibióticos (Miranda-Novales et al., 2020).

2.13 Metabolitos secundarios de plantas

Los metabolitos secundarios de las plantas (MS) poseen una presencia extendida en el reino vegetal y desempeñan una multitud de funciones ecológicas. Estos compuestos han evolucionado como defensas contra herbívoros y patógenos pasados y actuales. Además, median interacciones con polinizadores y hongos micorrízicos, atraen depredadores de herbívoros, participan en la señalización planta-planta y otorgan protección ante estresores abióticos como la radiación UV-B, las heladas y la sequía (Moore et al., 2014).

En el reino vegetal, se han identificado aproximadamente 100,000 metabolitos secundarios, los cuales se encuentran en grupos taxonómicos específicos. Estos compuestos se dividen en tres categorías principales basadas en su vía biosintética: compuestos nitrogenados (glucósidos cianogénicos, alcaloides y glucosinolatos), compuestos fenólicos (flavonoides y fenilpropanoides) y terpenos (isoprenoides) (Li et al., 2020).

Dentro de este marco, los metabolitos secundarios de plantas han emergido como valiosos adyuvantes antibacterianos de origen biológico. Su diversidad estructural, funciones y propiedades de unión favorables los convierten en uno de los "hotspots" más prometedores para el descubrimiento de nuevos fármacos o adyuvantes (Kongkham et al., 2020).

2.13.1 Alcaloides

Los alcaloides, compuestos mayor o menormente tóxicos, ejercen su acción principalmente en el sistema nervioso central. Estos compuestos de naturaleza básica contienen nitrógeno heterocíclico y se sintetizan en las plantas a partir de aminoácidos o sus derivados inmediatos. A menudo, estos compuestos presentan una distribución restringida en el reino vegetal (Farnsworth, 1966).

Desde una perspectiva farmacológica, los alcaloides, al intercalarse con el ADN de los microorganismos, exhiben propiedades antimicrobianas valiosas (Kasolo et al., 2010).

2.13.2 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos abarcan un amplio grupo químico dividido en cinco subgrupos: cumarinas, ligninas, flavonoides, ácidos fenólicos y taninos (Król et al., 2014).

De especial interés son los flavonoides, una clase diversa de compuestos que actúan como potentes antioxidantes y han demostrado efectividad antimicrobiana *in vitro* contra una amplia gama de microorganismos. Esta acción se atribuye a la inhibición de enzimas vinculadas a las membranas celulares (Kasolo et al., 2010).

2.13.3 Terpenos

Los terpenos, uno de los grupos más extensos de metabolitos secundarios en las plantas, presentan una variabilidad estructural excepcional. Se han identificado más de 30,000 estructuras de terpenos distintas. El isopreno, su componente elemental, es una molécula de cinco carbonos que forma la base de compuestos más complejos. Los terpenoides se subdividen en monoterpenoides (C_{10}), sesquiterpenoides (C_{15}), diterpenoides (C_{20}), triterpenoides (C_{30}),

entre otros, dependiendo del número de unidades de isopreno. Estos compuestos, que incluyen esteroides, aceites esenciales, triterpenos y saponinas, exhiben una amplia gama de propiedades farmacológicas, como efectos antibacterianos, antivirales, antifúngicos, antiinflamatorios, anticancerígenos y antioxidantes (Gu et al., 2014).

2.13.4 Extractos polares y no polares

La elección del solvente en la extracción de metabolitos vegetales depende de factores como el tipo de planta, la parte de la planta utilizada, la naturaleza de los compuestos bioactivos y la disponibilidad del solvente. En consecuencia, se emplean solventes polares como agua, metanol y etanol para extraer compuestos polares, mientras que solventes no polares como hexano, diclorometano y cloroformo se utilizan para extraer compuestos no polares. La polaridad del solvente guía esta clasificación, oscilando desde el n-hexano, el menos polar, hasta el agua, el más polar (Abubakar y Haque, 2020).

En esencia, un solvente se define como un líquido capaz de disolver, diluir o extraer otras sustancias sin inducir una modificación química en dichas sustancias o en sí mismo. La acción de los solventes se traduce en la capacidad de limpiar o separar productos (Yara-Varón et al., 2017).

En la extracción de plantas medicinales, los solventes más empleados son los polares (por ejemplo, agua, alcoholes), los intermedios (como acetona, diclorometano) y los no polares (n-hexano, éter, cloroformo) (Abubakar y Haque, 2020).

2.13.5 Fraccionamiento guiado por bioensayos

Los extractos crudos de productos naturales contienen una amalgama compleja de diversos compuestos, que varían en estructura y polaridad. Para simplificar el proceso de aislamiento de los compuestos deseados, es viable realizar el fraccionamiento de la mezcla cruda con base a polaridad o naturaleza ácida, básica o neutra. Esta estrategia facilita el aislamiento de los compuestos con actividad biológica, lo cual es esencial para el descubrimiento de fármacos. Este enfoque, conocido como "fraccionamiento y aislamiento guiado por bioensayos", constituye una metodología crucial en la búsqueda de fármacos provenientes de fuentes naturales (Oliva-Flores, 2012).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad, ha surgido un creciente interés en la búsqueda de nuevos agentes antibacterianos de origen natural debido a la emergencia de resistencia bacteriana a los antibióticos convencionales, la investigación de plantas medicinales utilizando tecnologías de vanguardia es un enfoque viable para descubrir nuevos agentes bioactivos con potencial para resolver problemas generalizados de salud pública (Sharma et al., 2017). *Tournefortia hartwegiana* Steud., conocida popularmente como Tatachinole, es una planta que ha sido utilizada en la medicina tradicional debido a sus posibles propiedades medicinales. Sin embargo, hasta el momento, no se ha llevado a cabo una investigación exhaustiva que respalde científicamente su uso terapéutico.

Existe una falta de conocimiento en relación a la composición química de los extractos metanólicos de hoja y raíz de Tatachinole, así como en la carencia de datos científicos que respalden su potencial actividad antibacteriana. Por consiguiente, se requiere de una investigación científica rigurosa que permita caracterizar la composición fitoquímica de los extractos, evaluar su capacidad antibacteriana frente a cepas bacterianas patógenas relevantes y llevar a cabo una evaluación toxicológica *in vitro*.

Este estudio tiene como propósito identificar compuestos potencialmente bioactivos que puedan fungir como agentes antibacterianos. Además, se pretende determinar la seguridad del consumo de los extractos, lo cual respalda la viabilidad de su eventual aplicación terapéutica. Esta investigación puede contribuir al desarrollo de nuevos productos farmacéuticos de origen natural y proporcionar una base científica sólida para sustentar el empleo de Tatachinole en la medicina tradicional.

IV JUSTIFICACIÓN

Tournefortia hartwegiana Steud., ha sido tradicionalmente utilizada en la medicina popular debido a sus posibles propiedades medicinales. Sin embargo, hasta la fecha, existen pocos estudios científicos que respalden y validen su uso terapéutico. Por lo tanto, es fundamental llevar a cabo una investigación científica rigurosa para caracterizar fitoquímicamente los extractos metanólicos de hoja y raíz de Tatachinole, evaluar su actividad antibacteriana frente a cepas bacterianas patógenas relevantes y realizar una evaluación toxicológica *in vitro*.

La caracterización fitoquímica permite identificar los principales grupos de metabolitos secundarios presentes en los extractos de Tatachinole, lo que proporciona información sobre su composición química y posibles compuestos bioactivos. La evaluación de la actividad antibacteriana es esencial para determinar el potencial antimicrobiano de los extractos, lo que puede conducir al desarrollo de nuevos agentes antibacterianos para combatir infecciones causadas por bacterias patógenas. Además, la evaluación toxicológica *in vitro* es fundamental para garantizar la seguridad en el consumo de los extractos y su viabilidad como posibles tratamientos terapéuticos.

En conjunto, este estudio proporciona una base científica sólida para comprender el potencial terapéutico de los extractos metanólicos de hojas y raíces de *T. hartwegiana*. Los resultados obtenidos pueden contribuir al desarrollo de nuevos productos farmacéuticos naturales y proporcionar evidencia científica para respaldar su uso en la medicina tradicional.

V. HIPÓTESIS

Los extractos metanólicos y las fracciones derivadas de los mismos, de hojas y raíces de *Tournefortia hartwegiana* (Boraginaceae) de Sinaloa, presentan actividad antibacteriana contra especies Gram positivas y Gram negativas, sin presentar toxicidad.

VI. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Determinar los metabolitos secundarios, evaluar la actividad antibacteriana y toxicidad *in vitro* de los extractos metanólicos de hojas y raíces de *Tournefortia hartwegiana* Steud. (Tatachinole).

6.2 Objetivos específicos

1. Determinar la presencia de familias de metabolitos secundarios en los extractos metanólicos y fracciones de hojas y raíces de *T. hartwegiana*.
2. Evaluar la actividad antibacteriana de los extractos metanólicos de *T. hartwegiana* y fracciones contra bacterias ATCC Gram positivas y Gram negativas.
3. Evaluar la toxicidad *in vitro* de los extractos metanólicos y fracciones de *T. hartwegiana*.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Diseño experimental

El proyecto se dividió en tres etapas. En la primera etapa, correspondió la identificación taxonómica de la planta, caracterización fitoquímica y análisis de suelo. En esta etapa se obtuvieron los extractos metanólicos tanto de las hojas como de las raíces de *Tournefortia hartwegiana*, se realizó un tamizaje para identificar los grupos de metabolitos secundarios presentes en dichos extractos y se procedió al fraccionamiento bioguiado utilizando solventes de diferentes polaridades: hexano, cloroformo, acetato de etilo y agua. En la segunda etapa, se efectuaron ensayos de actividad antibacteriana utilizando cepas control, específicamente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922, en varias concentraciones. En la tercera etapa, se llevaron a cabo evaluaciones de toxicidad *in vitro* utilizando nauplios de *Artemia salina*.

7.2 Tipo de estudio

Este estudio se encuadra dentro de la categoría de descriptivo y experimental.

7.3 Sitio de estudio

El material vegetal de *Tournefortia hartwegiana* se colectó en el Estado de Sinaloa, específicamente en el Municipio de Culiacán, en la vía hacia la colonia Juntas del Humaya. La recolección se realizó en un área baldía cubierta de vegetación, donde prevalecían especies como *Cenchrus ciliaris*, *Chloris virgata* y *Amaranthus palmeri*. El suelo de tipo franco-arenoso estaba cubierto de restos pulverizados de materiales de construcción. La altitud aproximada del sitio es

de 38 metros sobre el nivel del mar. Las coordenadas geográficas correspondientes son 24.81678° N y 107.42247° O (Figura 2). Esta recolección tuvo lugar durante el mes de octubre del año 2022.



Figura 2. Área de muestreo (Humaya, Culiacán, Sinaloa).

7.4 Identificación de la especie

La identificación taxonómica se llevó a cabo mediante la consulta de diversos catálogos especializados en la identificación de especies de la familia Boraginaceae, como el Fascículo 212 de la Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes, dedicado específicamente a esta familia botánica (Patiño-Siciliano, 2020) y la confirmación se llevó a cabo por el Herbario Jesús González Ortega de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

7.5 Colecta de material vegetal y de suelo

7.5.1 Material vegetal

Para la recolección del material vegetal, se optó por escoger plantas completas, englobando tanto las partes aéreas como las raíces. Se excluyeron del muestreo aquellas plantas que presentaban signos evidentes de daños causados por insectos u otras causas desconocidas. Además, se omitieron aquellas con hojas en tonos amarillentos. Estas plantas fueron halladas en una región perturbada dentro de un contexto urbano en la ciudad de Culiacán (Figura 2).

7.5.2 Muestra de suelo

La selección de submuestras con el propósito de conformar una muestra representativa o compuesta del sector elegido fue una fase crítica en el desarrollo de este estudio. Dado que una parte significativa de la actividad de las raíces de las plantas se produce en la capa arable, que abarca de 0 a 30 cm de profundidad, se optó por centrar el proceso de muestreo en este estrato específico. Para asegurar la representatividad de las muestras obtenidas, se realizó una meticulosa medición de los primeros 30 cm de profundidad del suelo. Siguiendo las

recomendaciones de la literatura especializada, se recolectaron un total de 9 submuestras, superando la cantidad mínima recomendada de 8 para áreas de terreno que son menores a 2 hectáreas (Castellanos et al., 2000). Este enfoque garantizó que las muestras capturaran de manera adecuada la variabilidad presente en el suelo de la zona seleccionada.

7.6 Preparación de extractos y tamizaje fitoquímico

Las hojas de Tatachinole fueron cuidadosamente seleccionadas y sometidas a un proceso de limpieza y secado a la sombra para preservar la integridad de sus componentes bioactivos. Una vez secas, las hojas fueron pulverizadas utilizando un procesador de alimentos (Nutribullet), asegurando una homogeneidad en la textura. Posteriormente, se procedió a homogeneizar aún más la harina resultante pasándola a través de una malla #40 para obtener partículas de tamaño uniforme.

7.6.1 Preparación del extracto metanólico

En un matraz Erlenmeyer con taparrosca, se añadieron 100 g de la harina de hojas pulverizadas. Para llevar a cabo la extracción, se utilizó metanol destilado como solvente en una proporción de 1:5 con respecto al material vegetal. La mezcla resultante se dejó macerar durante 24 h, manteniendo una agitación constante a 80 rpm en un oscilador a una temperatura de 24 °C (Montes-Ávila et al., 2017).

7.6.2 Filtración y almacenamiento

Después del periodo de maceración, se procedió a filtrar el extracto utilizando un embudo de porcelana Büchner equipado con un papel filtro Whatman cualitativo de grado 40.

El filtrado resultante se recogió en un matraz Erlenmeyer y se resguardó en refrigeración, protegiéndolo de la luz mediante una bolsa negra. La harina remanente en el filtro fue recuperada para llevar a cabo un segundo y tercer filtrado, maximizando la obtención del extracto (Montes-Ávila et al., 2017).

7.6.3 Concentración del extracto

Los tres filtrados obtenidos fueron sometidos a un proceso de ebullición y evaporación controlada en un rotoevaporador Büchi, siguiendo las indicaciones específicas de presión y temperatura proporcionadas por el fabricante. Este proceso permitió eliminar el solvente metanólico y obtener un extracto concentrado, enriquecido con los compuestos bioactivos presentes en las hojas y raíces de *Tatachinole* (Montes-Ávila et al., 2017; Bulugahapitiya, 2013).

Una vez obtenido el extracto se determinaron los rendimientos porcentuales en peso, partiendo de 100 g de base seca (Ortiz-Andrade et al., 2005).

7.7 Fraccionamiento bioguiado de extractos

En la investigación de plantas medicinales, la identificación de grupos químicos responsables de las actividades biológicas es esencial para confirmar su eficacia (Oliva-Flores, 2012). Después de la fase de tamizaje fitoquímico del extracto metanólico, el fraccionamiento bioguiado es crucial para evaluar la bioactividad. Este proceso implica la separación extractiva escalonada según la polaridad, aprovechando la selectividad de los disolventes (Oliva-Flores, 2012).

El fraccionamiento implica dividir la mezcla en fracciones discretas. Esto permite separar metabolitos con afinidades químicas similares y propiedades afines. La mayoría de los

métodos de fraccionamiento se basan en las diferencias de polaridad y acidez-alcalinidad de los compuestos a separar (Oliva-Flores, 2012).

Para obtener las fracciones (FH, FC, FAE y FA), el extracto metanólico se sometió a cromatografía de partición de fases líquido-líquido de acuerdo a lo reportado por Wall et al. (1996). El proceso involucró la separación del extracto en fases de metanol y hexano. Posteriormente, la fase de metanol se utilizó para obtener la FC, FA y FAE, mientras que la fase de hexano se utilizó para la FH. Cada fracción se concentró para su posterior análisis mediante cromatografía en capa fina (Montes-Ávila et al., 2017).

Mediante esta metodología, se obtuvieron ocho fracciones para su posterior análisis, lo que permitió una evaluación más detallada de la bioactividad de *T. hartwegiana*.

7.8 Análisis fitoquímico de los extractos metanólicos y fracciones de hoja y raíz de *Tournefortia hartwegiana*

Posterior a la concentración de los extractos y fracciones de hoja y raíz de *T. hartwegiana*, se realizaron diferentes ensayos con reacciones químicas de identificación mediante cambios de coloración o formación de precipitados. Los resultados se expresaron como la presencia relativa de los metabolitos, considerando los siguientes símbolos: presencia (+) y ausencia (-), (Contreras-Angulo et al., 2022).

7.8.1 Determinación cualitativa de reacción en tubo de metabolitos en los extractos y fracciones de *Tournefortia hartwegiana*

7.8.1.1 Compuestos Fenólicos

La identificación de compuestos fenólicos se llevó a cabo mediante la prueba del cloruro férrico. Se agregó en 1 mL del extracto metanólico, 1 mL de una solución acuosa de cloruro

férrico (FeCl_3) al 10%. La aparición de una coloración verde azulada o negra señala la presencia de fenoles y taninos condensados (Akinduti et al., 2022; Bulugahapitiya, 2013).

7.8.1.2 Taninos

Se utilizaron los reactivos Gelatina y Sal para confirmar presencia de los compuestos fenólicos llamados taninos. En 1 mL de extracto metanólico se agregaron 5 gotas de los reactivos Gelatina y Sal, una reacción de precipitación indicó su presencia en el extracto.

7.8.1.3 Flavonoides

Se disolvió 1 mg de extracto seco de la planta en 1 mL de metanol precalentado a 50 °C. A esta solución, se añadieron 5 gotas de HCl concentrado. Luego, se introdujo magnesio metálico.

La aparición de un cambio de color hacia tonalidades rojas o naranjas indicó la presencia de flavonoides. Este fenómeno se corresponde con la bien conocida reacción de Shinoda (Contreras-Angulo et al., 2022).

7.8.1.4 Saponinas

Para realizar la prueba de saponinas, se tomó 1 mL de extracto vegetal y se agregó 2 mL de agua destilada caliente, se agitó vigorosamente y se dejó reposar.

La evaluación de la presencia de saponinas se basó en la persistencia de espuma. Si la espuma generada por la mezcla persistió durante más de 15 minutos, se consideró como un indicativo de la presencia de saponinas en el extracto vegetal analizado (Jaramillo-Hernandez, 2016).

7.8.1.5 Terpenos

7.8.1.5.1 Prueba de Liebermann-Burchard

Para detectar triterpenos y compuestos esteroidales, se utilizó la prueba de Liebermann-Burchard. En esta técnica, 1.5 mg de muestra se disolvieron en cloroformo (CHCl_3), y luego se añadieron unas gotas de reactivo. La observación de cambios en la coloración indicó la presencia de triterpenos. El reactivo se preparó mezclando una gota de H_2SO_4 con una mezcla de 1 mL de anhídrido acético ($\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$) y 1 mL de cloroformo (CHCl_3) (Huacuja-González, 1995; Akinduti et al., 2022).

7.8.1.5.2 Prueba de Salkowski

En este caso, se colocó 1 mg de muestra en 1 mL de cloroformo, que luego se combinó con 1 mL de H_2SO_4 concentrado al 98%. Los cambios en densidad y de color a tonos amarillos o rojizos indicaron la presencia de estos compuestos (Huacuja-González, 1995).

7.8.1.6 Alcaloides

En el presente estudio, se llevaron a cabo tres pruebas distintas para determinar la presencia o ausencia de alcaloides:

7.8.1.6.1 Prueba de Dragendorff

Se disolvió 1 mg de extracto seco en 6 gotas de HCl al 2%. La solución se dividió en 3 alícuotas: a la primera, que sirvió como referencia, se le añadieron 2 mL de agua destilada. Al segundo y tercer tubo de ensayo se agregaron 2 gotas del reactivo de Dragendorff, una mezcla

de nitrato dibásico de bismuto ($\text{NO}_3\text{Bi}(\text{OH})_2$) y yoduro de potasio (KI). La formación de un precipitado indicó la presencia de alcaloides (Kasolo et al., 2010).

El reactivo de Dragendorff se preparó mezclando una solución de 0.85 g de subnitrato de bismuto ($4\text{BiNO}_3(\text{OH})_2 \cdot \text{BiO}(\text{OH})$) en 10 mL de ácido acético glacial ($\text{CH}_3\text{-COOH}$) y 40 mL de agua destilada, con una solución de 8 g de yoduro de potasio (KI) en 20 mL de agua destilada. Esta mezcla se diluyó antes de su uso con 2.3 volúmenes de una mezcla de 20 mL de ácido acético glacial ($\text{CH}_3\text{-COOH}$) y 100 mL de agua destilada (Kasolo, 2010; Farnsworth, 1966; Raffauf, 1962).

7.8.1.6.2 Prueba de Mayer

El reactivo de Mayer se preparó mezclando 5.0 g de yoduro de potasio (KI) con 0.355 g de cloruro de mercurio (HgCl_2), los cuales se disuelven en 100 mL de agua destilada (Bulugahapitiya, 2013).

Se agregó 1 mL del extracto y se añadieron unas gotas del reactivo de Mayer. La aparición de turbidez o precipitado de color amarillo-naranja indicó la presencia de alcaloides.

7.8.1.6.3 Prueba de Wagner

El reactivo de Wagner, una solución acuosa compuesta por yoduro de potasio (KI) y diyodo (I_2), se preparó disolviendo 2.0 g de KI en 5 mL de agua destilada, a la que se añadió 1.27 g de I_2 . Luego, esta solución se diluyó hasta 100 mL con agua destilada en un matraz aforado de 100 mL. La formación de un precipitado marrón o rojizo al aplicar el reactivo de Wagner indicó la presencia de alcaloides (Zhang et al., 2021; Bulugahapitiya, 2013).

7.9 Cromatografía en capa fina del extracto metanólico y fracciones de hoja y raíz

Se realizó la cromatografía en capa fina, usando como fase estacionaria sílica gel 60 GF₂₅₄ y como fase móvil los solventes metanol y cloroformo en proporción (6:4) y (8:2) y metanol, cloroformo y acetato de etilo en proporción 8:1:1 para confirmar la presencia de los metabolitos secundarios terpenos, alcaloides, flavonoides y cumarinas. Se aplicó la siembra de los extractos metanólicos y fracciones secos, previamente reconstituido en metanol 99% usando capilares nuevos. Los reveladores usados fueron: Liebermann-Burchard para terpenos, Dragendorff para alcaloides, revelador Natural products (Ácido difenilbórico aminoéster 1%), Polietilenglicol 4000 (5% en metanol) para flavonoides e hidróxido de sodio (NaOH) al 5% para revelar Cumarinas con luz UV de 365 nm donde un brillo azul intenso indicó la presencia de las mismas en el extracto; las placas cromatográficas se observaron a luz UV de 365 nm antes y después del revelado (Rengifo-Zevallos, 2018).

7.10 Análisis fisicoquímico del suelo

Se realizaron análisis fisicoquímicos en la muestra representativa del suelo del área de recolecta de la planta, siguiendo los procedimientos establecidos en la Norma Oficial Mexicana (NOM-021-RECNAT-2000) para el análisis de suelos. La muestra fue sometida a análisis por triplicado y los procedimientos detallados se describen a continuación:

Preparación del extracto saturado: Inicialmente, se tomó una muestra de 250 g de suelo y se procedió a su deshidratación durante 48 h a temperatura ambiente. Posteriormente, la muestra deshidratada fue tamizada a través de un tamiz de 50 mesh, a la que se le añadió agua destilada. Tras un reposo de 4 h, se procedió a la filtración utilizando papel Whatman® 42 y a la centrifugación a 6,000 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente, obteniendo así el extracto saturado necesario para los análisis posteriores (Durán-Ramírez, 2020).

Conductividad Eléctrica (CE): Se midió la conductividad eléctrica del extracto saturado utilizando un conductivímetro a temperatura ambiente (Durán-Ramírez, 2020).

Concentración total de cationes: Las concentraciones totales de sodio (Na^+), potasio (K^+), magnesio (Mg^{2+}), y calcio (Ca^{2+}) fueron cuantificadas mediante un espectrofotómetro de absorción atómica (Bolaños-Alfaro, 2014).

Contenido de cloruros: El contenido de cloruros se determinó a través de la precipitación de cromato de plata Ag_2CrO_4 utilizando nitrato de plata AgNO_3 (0.025N) como solución de titulación y cromato de potasio K_2CrO_4 (5% p/v) como indicador (Carrasquero y Castillo, 2002).

Contenido de sulfatos: Se tomó una porción de 10 mL del extracto saturado al que se le añadió 0.2 g de sulfato de bario BaSO_4 . Luego, se utilizó una curva estándar que abarcó desde 5 hasta 40 mg mL^{-1} y 5 mL de una solución acondicionadora para analizar el contenido de sulfatos mediante espectrofotometría UV-vis (420 nm) (NMX-AA-073-SCFI-2001).

Contenido de carbonatos y bicarbonatos: La determinación del contenido de carbonatos y bicarbonatos se llevó a cabo mediante una titulación con ácido sulfúrico H_2SO_4 (0.05 N). Se utilizó fenolftaleína (1% p/v) como indicador de carbonatos y anaranjado de metilo (0.01% p/v) como indicador para bicarbonatos (NMX-AA-036-SCFI-2001).

7.11 Evaluación de la actividad antibacteriana

7.11.1 Bioensayo antibacteriano de los extractos

Para determinar la sensibilidad bacteriana a agentes antibióticos, se realizó un estudio mediante antibiogramas. El propósito de este análisis fue evaluar la susceptibilidad *in vitro* de cepas bacterianas a antibióticos o extractos vegetales. Estas pruebas ofrecen un enfoque predictivo de la eficacia de los agentes antibióticos o el potencial inhibitorio de los extractos (AEBM, 2012).

7.11.1.1 Cultivo de cepas

Las cepas control, *S. aureus* subsp. *aureus* (ATCC® 25923™) y *E. coli* (ATCC® 25922™), fueron cultivadas en placas de agar nutritivo a 37 °C durante 24 h mediante un proceso de agotamiento. A continuación, cinco colonias seleccionadas de los cultivos en agar se transfirieron a tubos de caldo Soya-Trypticaseína (Cat. #7385; MCD LAB S.A DE C.V., México) de 7 mL y se incubaron durante 2 h a 37 °C. Tras la incubación, se centrifugó 1 mL del cultivo a 16,000 × g durante 30 s. Luego, se eliminó el sobrenadante y se añadió 1 mL de solución salina estéril. El pellet resultante se resuspendió mediante un vortex y se procedió a cuantificar el inóculo (Rahman et al., 2004).

7.11.1.2 Cuantificación del inóculo

La cuantificación precisa del inóculo se llevó a cabo utilizando absorbancia y un espectrofotómetro VE-5600UV (Velab S.A. de C.V., México). Las lecturas con valores de absorbancia entre 0.08 y 0.1 a una longitud de onda de 625 nm se equipararon al 0.5 en la escala

de McFarland (equivalente a 1×10^8 UCF/mL), siguiendo el criterio establecido por Rahman et al. (2004).

7.11.1.3 Determinación de susceptibilidad antibacteriana por el método de dilución en agar

El ensayo antibacteriano se realizó con la metodología de dilución en agar descrito por Mistcher et al. (1972), Ortiz (2005), Balouiri (2016). Este enfoque implica la incorporación de diversas concentraciones del agente antibacteriano en el medio de agar Mueller Hinton. Para este estudio, se realizaron diluciones seriadas de extractos metanólicos de hojas y raíces, así como de fracciones hexánicas, clorofórmicas, de acetato de etilo y acuosas de *Tournefortia hartwegiana*. Las concentraciones evaluadas fueron 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 y 0.312 mg/mL. Luego, se añadió un inóculo bacteriano de 1 μ L, con una concentración celular aproximada de $\sim 1.0 \times 10^4$ UFC, en la superficie de la placa de agar. Para estas pruebas, se emplearon las cepas bacterianas *S. aureus* subsp. *aureus* (ATCC® 25923) y *E. coli* (ATCC® 25922).

La concentración mínima inhibitoria (CMI) se consideró como la más baja concentración de extracto que logra inhibir por completo el crecimiento bacteriano en condiciones de incubación adecuadas. Para establecer un contexto de control, se añadió Tetraciclina a una concentración de 100 μ g/mL como control negativo (-), garantizando la ausencia de crecimiento bacteriano. En contraste, como control positivo (+), se utilizó una suspensión bacteriana en prueba. Esto permitió evaluar el crecimiento normal de las bacterias y compararlo con los extractos en diferentes concentraciones.

La incubación se realizó en condiciones de aerobiosis a 36 °C. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se identificó como la concentración más baja del extracto vegetal en la cual no se detectó crecimiento al comparar con los controles correspondientes.

Esta técnica resulta especialmente apropiada para pruebas de susceptibilidad antibacteriana, especialmente cuando se evalúan múltiples cepas frente a un único compuesto, o cuando el extracto en estudio afecta la detección de crecimiento microbiano en medios líquidos debido a su coloración (Balouiri et al., 2016).

7.12. Evaluación de toxicidad de los extractos

7.12.1 Ensayo de toxicidad de los extractos con *Artemia salina*

El ensayo de toxicidad en *Artemia salina* se basa en la determinación de la concentración letal media (CL₅₀), que es la cantidad de un producto natural o químico necesaria para causar la muerte del 50% de las larvas de *Artemia* en 24 h bajo condiciones controladas de salinidad, temperatura, aireación, luz y pH.

Para el ensayo, los quistes de *A. salina* fueron eclosionados a una densidad de 4 g/L de agua purificada libre de cloro, añadiendo 40 g de sal marina para acuario a un pH de 8 y a una temperatura cercana a 26 °C durante 48 h. Tras la eclosión, las larvas fueron separadas de los huevos aún sin eclosionar y luego expuestas a diferentes concentraciones de extractos previamente diluidos en agua destilada con tween 20 al 5%.

Las concentraciones evaluadas fueron 5: 2,000 µg/mL, 1,000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL y 125 µg/mL. Los extractos puros y fracciones evaluadas incluyeron extractos metanólicos (puros) de hoja y raíz (EMH, EMR), Fracción Hexánica de Hojas, Fracción Clorofórmica de Hojas, Fracción de Acetato de Etilo de Hojas y Fracción Acuosa de Hojas (FHH, FCH, FAEH, FAH), así como Fracción Hexánica de Raíces, Fracción Clorofórmica de

Raíces, Fracción de Acetato de Etilo de Raíces y Fracción Acuosa de Raíces (FHR, FCR, FAER, FAR).

El ensayo se llevó a cabo por triplicado, empleando 10 nauplios por tubo de cultivo, junto con controles. La toxicidad de los extractos se clasificó en función de los valores de CL₅₀ en categorías, como extremadamente tóxico, altamente tóxico, moderadamente tóxico, ligeramente tóxico, prácticamente no tóxico, relativamente inocuo, siguiendo la metodología descrita por Braguini et al. (2019), Fernández-Calienes Valdés et al. (2009) y la Clasificación de toxicidad según el CYTED (Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo) (Robles-García et al., 2016), la cual es mostrada en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Clasificación de toxicidad según CYTED (Ciencia y Tecnología para el Desarrollo)

I	Extremadamente tóxico	1-10	µg/mL
II	Altamente tóxico	10-100	µg/mL
III	Moderadamente tóxico	100-500	µg/mL
IV	Ligeramente tóxico	500-1,000	µg/mL
V	Prácticamente no tóxico	1,000-1,500	µg/mL
VI	Relativamente inocuo	>1,500	µg/mL

Este ensayo permitió evaluar de manera precisa la toxicidad de los extractos en *Artemia salina*, proporcionando información vital sobre sus efectos en organismos vivos bajo condiciones controladas.

7.13 Lugar de trabajo

La presente investigación se desarrolló en tres entornos científicos cruciales: el Laboratorio de Biotecnología, el Laboratorio de Microbiología y Biología Aplicada pertenecientes a la Facultad de Biología, y el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas, todos ellos en la Universidad Autónoma de Sinaloa.

7.14 Financiamiento

Este trabajo de investigación fue financiado por los integrantes del Cuerpo Académico: Ecología Molecular y Biotecnología: Dr. Samuel Campista León y la Dra. Luz Isela Peinado Guevara. Además se contó con una beca de manutención del Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT).

VIII. RESULTADOS

8.1 Identificación taxonómica, rendimiento de extractos, caracterización fitoquímica y análisis de suelo

8.1.1 Identificación de especímenes botánicos de *Tournefortia hartwegiana*

Se identificaron y donaron dos especímenes botánicos que se han incorporado a la valiosa colección del Herbario Jesús González Ortega, perteneciente a la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Estos especímenes se registraron con los números de voucher 026073 y 026075 (Figura 3).

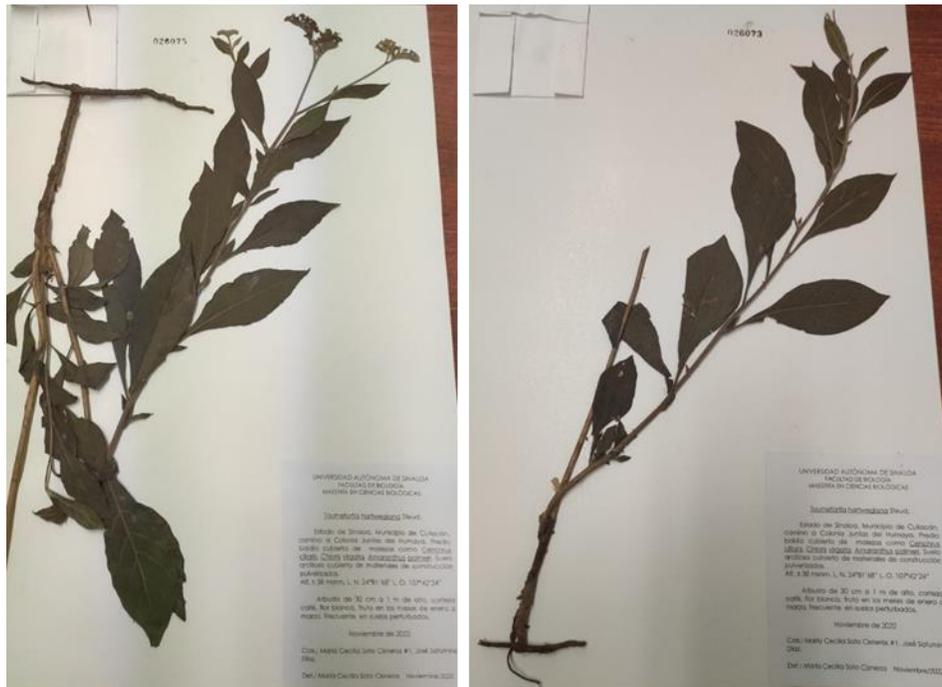


Figura 3. Especímenes de *Tournefortia hartwegiana* donados al Herbario Jesús González Ortega.

8.1.2 Rendimiento de los extractos metanólicos y fracciones

Para el EMH se obtuvo un 20% de rendimiento, es decir 20 g por 100 g de base seca y para EMR un 22% (22 g por 100 g de base seca). Se tomaron 10 g de los EM's y se fraccionaron por partición líquido-líquido, los rendimientos obtenidos para cada fracción se observan en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Rendimientos de los extractos y fracciones

Extractos	Rendimiento % (g/100 g base seca)
Extracto metanólico de hojas	20% (20)
Extracto metanólico de raíces	22% (22)
Fracciones	Rendimiento % (g/10 g base seca)
Fracción hexánica de hojas	6.7% (0.67)
Fracción clorofórmica de hojas	6.9% (0.69)
Fracción acetato de etilo de hojas	0.1% (0.01)
Fracción acuosa de hojas	1.3% (0.13)
Fracción hexánica de raíces	0.15% (0.015)
Fracción clorofórmica de raíces	0.7% (0.07)
Fracción acetato de etilo de raíces	0.9% (0.09)
Fracción acuosa de raíces	1.0% (0.10)

8.1.3 Análisis fitoquímico en el extracto y fracciones de hojas de *Tournefortia hartwegiana*

Se observó una variada presencia de compuestos fenólicos. La FAH mostró una fuerte presencia de estos compuestos, mientras que en el EMH y la FCH se encontró una presencia moderada. Por otro lado, la FAEH exhibió una baja presencia, y en la FHH no se detectaron compuestos fenólicos.

En cuanto a los taninos, no se encontraron en las FHH, FCH ni FAH. Sin embargo, se identificó una débil presencia en FAEH y una moderada en EMH.

Los compuestos flavonoides no estuvieron presentes en FHH ni FAH, pero se detectó una débil presencia en FCH y FAEH, y moderada en EMH.

En relación a las saponinas, se encontraron ausentes en las fracciones FCH y FAEH, con una débil presencia en EMH y una moderada presencia en FHH y FAH.

La familia de compuestos de terpenos mostró una moderada presencia en el EMH, FHH y FCH, mientras que se registró una débil presencia en FAEH y FAH.

Por último, en cuanto a los alcaloides, se observó su ausencia en EMH, FAEH y FAH, y una moderada presencia en FHH y FCH (Figura 4, Cuadro 3).



Figura 4. Tamizaje fitoquímico; reacciones en tubo del EMH. a) Control, b) fenólicos (cloruro férrico al 10%) positivo color oscuro, c) taninos (gelatina y sal) precipitado positivo d) flavonoides (*Shinoda*) presencia débil e) saponinas (espuma) negativo f) terpenos (*Liebermann-B.*) positivo precipitación g) terpenos (*Salkowski*) positivo h) alcaloides (*Mayer*) negativo i) alcaloides (*Wagner*) negativo j) alcaloides (*Dragendorff*) negativo.

Cuadro 3. Tamizaje fitoquímico del extracto metanólico de hojas y fracciones de *Tournefortia hartwegiana* Steud.

Extracto	Familia de compuestos/ Prueba					
	Fenólicos/Cloruro férrico	Taninos/ Gelatina y sal	Flavonoides/Shinoda	Saponinas/Prueba espuma	Terpenos/Liebermann-Burchard	Alcaloides/Dragendorff, Mayer, Wagner
EMH	(++)	(++)	(++)	(+)	(++)	(-)
FHH	(-)	(-)	(-)	(++)	(++)	(++)
FCH	(++)	(-)	(+)	(-)	(++)	(++)
FAEH	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)
FAH	(+++)	(-)	(-)	(++)	(+)	(-)

EMH: Extracto metanólico de hoja; **FHH:** Fracción hexánica de hoja; **FCH:** Fracción clorofórmica de hoja; **FAEH:** Fracción acetato de etilo de hoja; **FAH:** Fracción acuosa de hoja.

(+) Metabolito presente, (-) Metabolito ausente. La positividad o negatividad de cada prueba se determinó mediante la observación y comparación con un control, la presencia se clasifica en (+) débil, (++) moderado, (+++) fuerte.

8.1.3.1 Análisis fitoquímico en el extracto y fracciones de raíz de *Tournefortia hartwegiana*

El análisis fitoquímico de las raíces de *T. hartwegiana* reveló la presencia de diversos compuestos en el extracto y las diferentes fracciones. En el EMR y las FCR, FAER y FAR, se observó una moderada presencia de compuestos fenólicos. Por otro lado, la FHR no mostró presencia de estos compuestos, ver Cuadro 4.

Los taninos estuvieron ausentes en las FHR y FCR. Sin embargo, se identificó una débil presencia en FAER y FAR, y una moderada presencia en el extracto EMR.

En cuanto a los compuestos flavonoides, se detectó una débil presencia en el extracto EMR y las FCR y FAER, pero estuvieron ausentes en las FHR y FAR.

Las saponinas no se encontraron en el extracto EMR ni en las fracciones FHR y FAR. Se registró una débil presencia en FAER y una moderada presencia en FCR.

Los terpenos tuvieron presencia moderada en el EMR y la FAER, con una débil presencia en las FHR y FCR, y ausencia en la FAR.

Finalmente, los alcaloides estuvieron ausentes en el EMR y las FHR, FAER y FAR, pero se identificó una débil presencia en FCR (Figura 5).

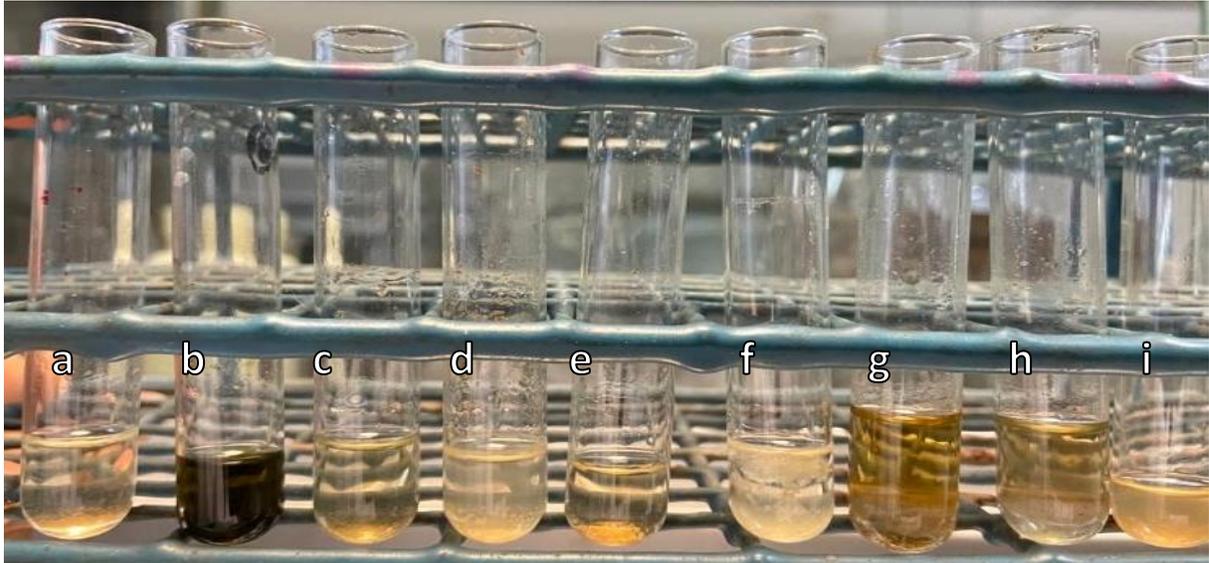


Figura 5. Tamizaje fitoquímico; reacciones en tubo del EMR. a) Control, b) fenólicos (cloruro férrico al 10%) positivo color oscuro, c) taninos (gelatina y sal) precipitado color claro positivo, d) flavonoides (*Shinoda*) presencia débil, e) terpenos (*Liebermann-B.*) precipitación indica positivo, f) Saponinas (*espuma*) negativa, g) alcaloides (*Test de Mayer*) negativo, h) alcaloides (*Test de Wagner*) negativo, i) alcaloides (*Test de Dragendorff*) negativo.

Cuadro 4. Tamizaje fitoquímico del extracto metanólico de raíces y fracciones de *Tournefortia hartwegiana*

Extracto	Familia de compuestos/ Prueba					
	Fenólicos/Cloruro férrico	Taninos/Gelatina y sal	Flavonoides/Shinoda	Saponinas/Prueba espuma	Terpenos/Liebermann-Burchard	Alcaloides/Dragendorff, Mayer, Wagner
EMR	(++)	(++)	(+)	(-)	(++)	(-)
FHR	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
FCR	(++)	(-)	(+)	(++)	(+)	(+)
FAER	(++)	(+)	(+)	(+)	(++)	(-)
FAR	(++)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)

EMR: Extracto metanólico de raíz; **FHR:** Fracción hexánica de raíz; **FCR:** Fracción clorofórmica de raíz; **FAER:** Fracción acetato de etilo de raíz; **FAR:** Fracción acuosa de raíz.

(+) Metabolito presente, (-) Metabolito ausente. La positividad o negatividad de cada prueba se determinó mediante la observación y comparación con un control, la presencia se clasifica en (+) débil, (++) moderado, (+++) fuerte.

Durante el análisis de los EM's, se confirmó por TLC la presencia de la familia de compuestos flavonoides, taninos y terpenos en ambos tipos de extractos (Cuadro 5). Sin embargo, se detectó la ausencia de alcaloides en ambas muestras (Figura 6).

Es importante destacar que no se encontraron cumarinas en el extracto EMH, el análisis de cumarinas en el extracto EMR no se llevó a cabo en este estudio.

Las fracciones de hojas mostraron resultados diferentes al mostrar por primera vez alcaloides en las FHH y FCH, que pudieron confirmarse mediante cromatografía en capa fina con el reactivo de Dragendorff.

La FHH dio positivo para flavonoides, terpenos y alcaloides. La FCH fue negativa para flavonoides y positiva para terpenos y alcaloides. La FAEH fue positiva para flavonoides y terpenos y negativa alcaloides. La FAH fue positiva para terpenos y negativa para flavonoides y alcaloides.

La FCR mostró resultado positivo para alcaloides con el revelador Dragendorff con la fase móvil 6:4 cloroformo-acetato, así como también mostró resultado positivo para presencia de flavonoides y terpenos por medio de esta metodología de confirmación.

En las FHR y FAER se confirmó la presencia de terpenos con la fase móvil 6:4 cloroformo-acetato y el revelador Liebermann-Burchard.

La FAER mostró resultado positivo para flavonoides con la fase móvil 6:4 cloroformo-acetato y el revelador Natural products. Las FHR, FAER y FAR son negativas para alcaloides en todas las pruebas realizadas (Figura 6 y Cuadro 5).

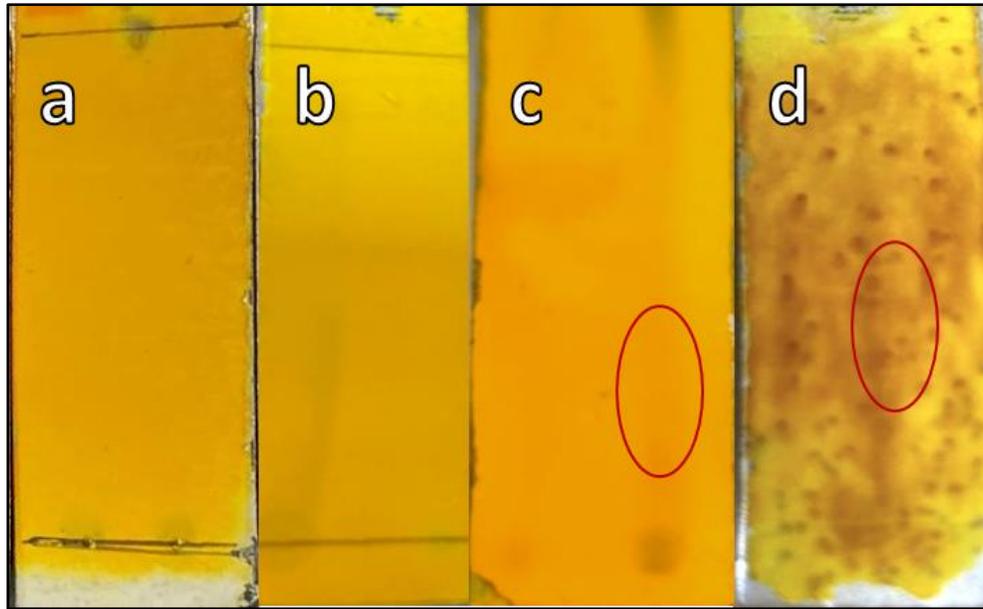


Figura 6. Cromatografía en capa fina (TLC) para alcaloides revelados con Dragendorff. a) EMR negativo, b) EMH negativo, c) FCH positivo, d) FCR positivo.

Cuadro 5. Cromatografía en capa fina (TLC) de los extractos metanólicos y fracciones de hoja y raíz de *Tournefortia hartwegiana*

Extracto evaluado	Familia de compuestos/ Prueba		
	Flavonoides/Revelador Natural products	Terpenos/Liebermann-B.	Alcaloides/Dragendorff
EMH	(+)	(+)	(-)
FHH	(+)	(+)	(+)
FCH	(-)	(+)	(+)
FAEH	(+)	(+)	(-)
FAH	(-)	(+)	(-)
EMR	(+)	(+)	(-)
FHR	(-)	(+)	(-)
FCR	(+)	(+)	(+)
FAER	(+)	(+)	(-)
FAR	(-)	(-)	(-)

EMH: Extracto metanólico de hoja; **FHH:** Fracción hexánica de hoja; **FCH:** Fracción clorofórmica de hoja; **FAEH:** Fracción acetato de etilo de hoja; **FAH:** Fracción acuosa de hoja. **EMR:** Extracto metanólico de raíz; **FHR:** Fracción hexánica de raíz; **FCR:** Fracción clorofórmica de raíz; **FAER:** Fracción acetato de etilo de raíz; **FAR:** Fracción acuosa de raíz.

(+) Metabolito presente, (-) Metabolito ausente. La positividad o negatividad de cada prueba se determinó mediante la observación y comparación con un control, la presencia se clasifica en (+) débil, (++) moderado, (+++) fuerte

8.1.4 Composición fisicoquímica del suelo en el área de colecta de *Tournefortia hartwegiana*

El suelo tuvo una composición de arcilla 15%, arena 75% y limo 10%, lo que lo clasifica como franco-arenoso en cuanto a su textura. Se registró un pH de 7.84 en una relación de 1:1 con agua, lo que se considera moderadamente alcalino y se encuentra fuera del rango ideal de 6.0-7.5. El pH óptimo para el suelo se encuentra en el rango de 6.0 a 6.5, donde los nutrientes son más fácilmente disponibles para las plantas (Garrido-Valero, 1993). Se determinó un contenido de materia orgánica del 0.94%, lo cual se considera moderadamente bajo para un suelo de textura gruesa franco-arenosa. La conductividad eléctrica (CE) se midió en 0.55 mS/cm mediante el método electrométrico, y se encuentra por debajo del rango ideal de 1.5-2.5 mS/cm. La CE refleja la concentración de sales solubles en el suelo y su valor suele aumentar con una mayor concentración de sales. Se obtuvo un porcentaje de sodio intercambiable (PSI) del 0.12%, que se encuentra dentro del rango normal, ya que mayor a 15% se considera que el suelo puede presentar problemas de solidificación. El PSI afecta la conductividad hidráulica del suelo y, en este caso, no indica una restricción significativa al movimiento del agua y oxígeno en el perfil del suelo. El porcentaje de saturación (PS), que representa la máxima cantidad de agua que el suelo puede retener, presenta valores cercanos o menores a 10% para suelos arenosos y valores de hasta 150% para suelos muy arcillosos o con altos porcentajes de materia orgánica (Castellanos et al., 2000); se calculó en 31.20%, por encima de lo esperado para suelos de arena gruesa y sugiere una capacidad de retención de agua mayor de lo típico para este tipo de suelo. La capacidad de intercambio catiónico (CIC) se determinó en un 48.13%. Una CIC más alta indica una mayor capacidad del suelo para retener elementos esenciales para el crecimiento

de las plantas. Según la clasificación de Garrido-Valero (1993), este suelo se considera muy rico en capacidad de intercambio catiónico (Anexos 1 y 2).

8.1.5 Determinación de la actividad antibacteriana de los extractos metanólicos y fracciones de *Tournefortia hartwegiana* mediante el método de dilución en agar

El EMH mostró una CMI de 5 mg/mL frente a la cepa *E. coli* ATCC 25922 y también de 5 mg/mL para *S. aureus* ATCC 25923 (ver Cuadro 6 y Figura 7).

En cuanto a las fracciones, las FHH, FCH y FAEH tuvieron una concentración mínima inhibitoria de 10 mg/mL para *E. coli*, mientras que la FAH no mostró actividad a la concentración máxima evaluada y se representó como mayor a 10 mg/mL en Cuadro 6.

Para *S. aureus*, las FHH y FCH presentaron una CMI de 10 mg/mL, mientras que las FAEH y FAH no mostraron actividad antibacteriana en el ensayo y se sugiere que la CMI podría ser mayor a 10 mg/mL.

Cuadro 6. Actividad antibacteriana de los extractos y fracciones de *Tournefortia hartwegiana* mediante el método de dilución en agar

Extracto	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923
	Concentración Mínima Inhibitoria	
Extracto metanólico de hojas	5 mg/mL	5 mg/mL
Fracción hexánica de hojas	10 mg/mL	10 mg/mL
Fracción clorofórmica de hojas	10 mg/mL	10 mg/mL
Fracción acetato de etilo de hojas	10 mg/mL	>10 mg/mL
Fracción acuosa de hojas	>10 mg/mL	>10 mg/mL
Extracto metanólico de raíces	5 mg/mL	5 mg/mL
Fracción hexánica de raíces	5 mg/mL	10 mg/mL
Fracción clorofórmica de raíces	5 mg/mL	2.5 mg/mL
Fracción acetato de etilo de raíces	2.5 mg/mL	0.625 mg/mL
Fracción acuosa de raíces	5 mg/mL	2.5 mg/mL

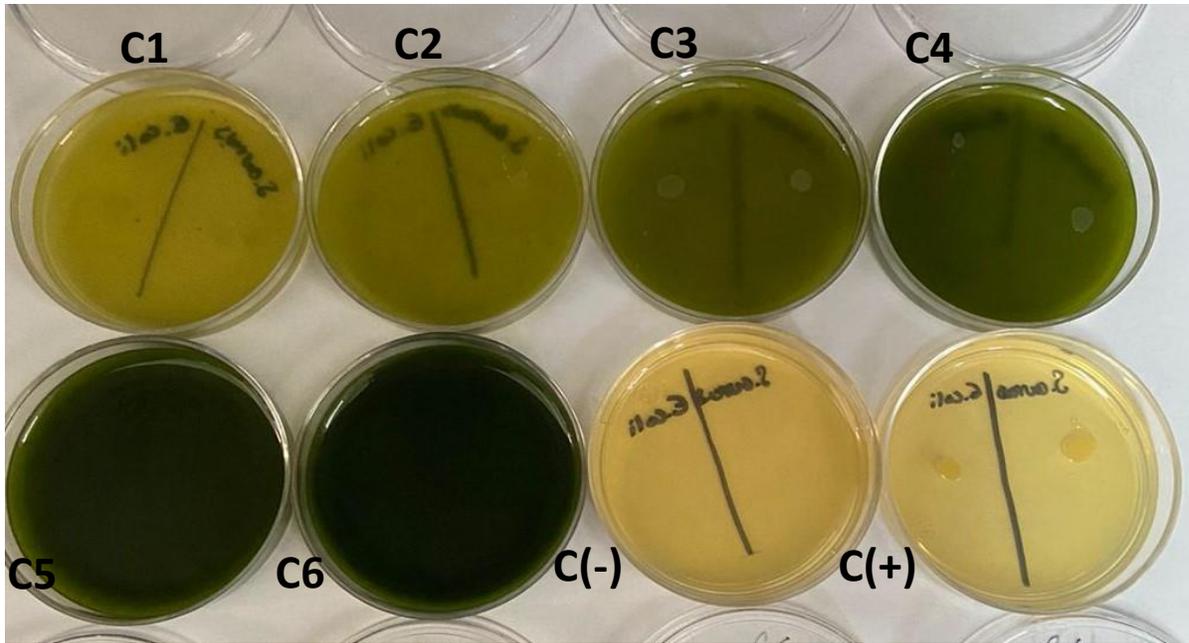


Figura 7. Dilución en agar del extracto metanólico de hojas. Cada placa muestra a la izq. *E. coli* y a la der. *S. aureus*. Se puede observar en las concentraciones C5 y C6 completa inhibición del crecimiento bacteriano de las dos cepas, así como crecimiento en control positivo e inhibición en control negativo. C1: 0.3125 mg/mL, C2: 0.625 mg/mL, C3: 1.25 mg/mL, C4: 2.5 mg/mL, C5: 5mg/mL, C6: 10 mg/mL.

El EMR presentó una CMI de 5 mg/mL contra la bacteria *E. coli* ATCC 25922 y de 5 mg/mL para *S. aureus* ATCC 25923 (Cuadro 6 y Figura 8).

Por otro lado, las fracciones de raíces mostraron un mejor resultado inhibitorio en comparación con las fracciones de hojas. Las FHR, FCR y FAR tuvieron una CMI de 5 mg/mL, y la FAER mostró una CMI de 2.5 mg/mL para *E. coli* ATCC 25922.

En el caso de *S. aureus* ATCC 25923, la FHR mostró inhibición a una concentración de 10 mg/mL, las FCR y FAR mostraron CMI de 2.5 mg/mL, mientras que la FAER mostró una CMI a una concentración de 0.625 mg/mL (Figura 9).

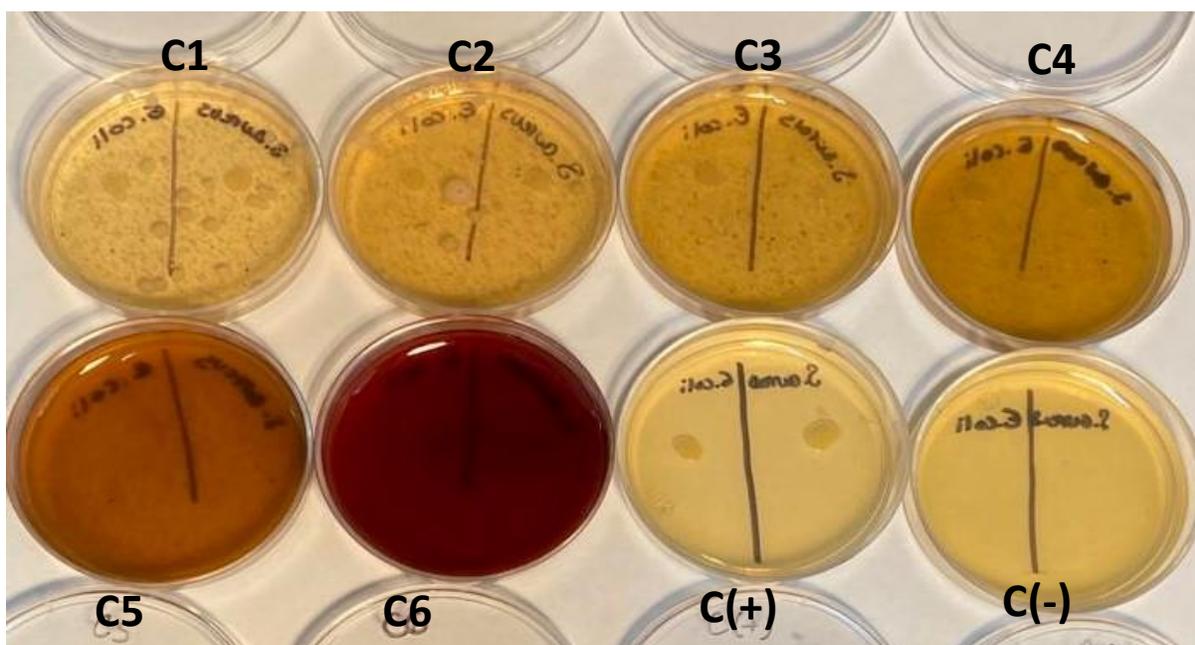


Figura 8. Dilución en agar del extracto metanólico de raíces. Cada placa muestra a la izquierda *E. coli* y a la derecha *S. aureus*. Se puede observar en las concentraciones C5 y C6 completa inhibición del crecimiento bacteriano de las dos cepas, así como crecimiento en control positivo e inhibición en control negativo. C1: 0.3125 mg/mL, C2: 0.625 mg/mL, C3: 1.25 mg/mL, C4: 2.5 mg/mL, C5: 5mg/mL, C6: 10 mg/mL.

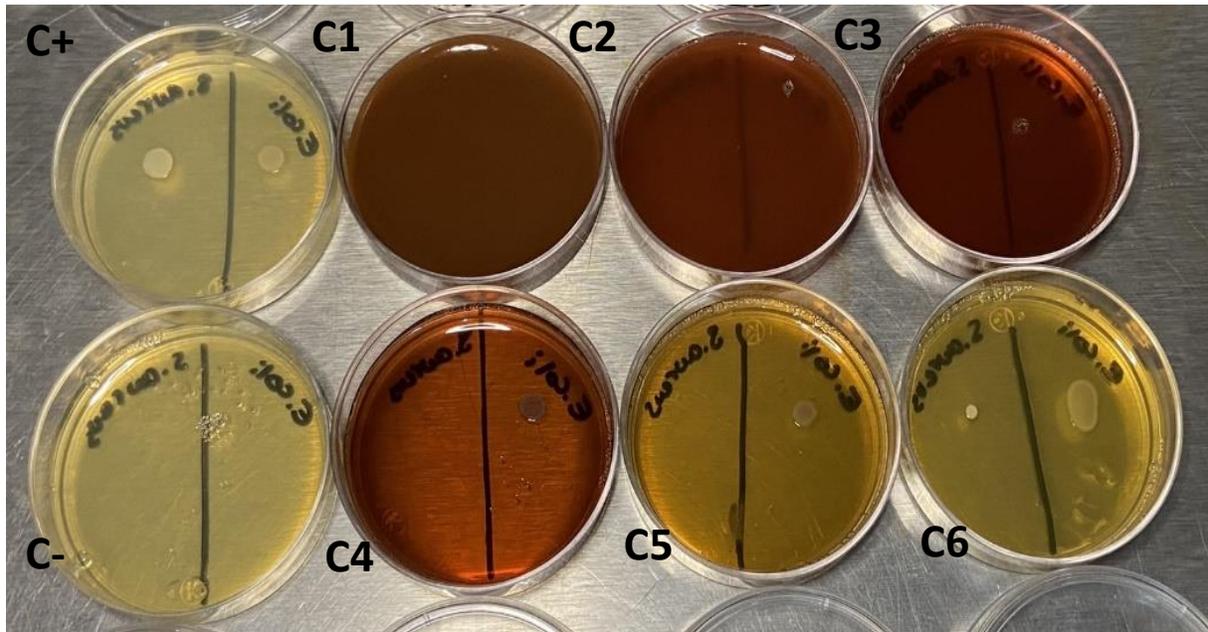


Figura 9. Dilución en agar de la fracción de acetato de etilo de raíz (FAER). Cada placa muestra a la izq. *E. coli* y a la der. *S. aureus*. Se puede observar en las concentraciones C1 a C5 inhibición de crecimiento de *S. aureus* y C1 a C4 inhibición del crecimiento de *E. coli*. C1: 0.3125 mg/mL, C2: 0.625 mg/mL, C3: 1.25 mg/mL, C4: 2.5 mg/mL, C5: 5mg/mL, C6: 10 mg/mL.

8.1.6 Determinación de la toxicidad de los extractos y fracciones de *Tournefortia hartwegiana*

8.1.6.1 Análisis *in vitro* en *Artemia salina*

Se calcularon los valores de la CL₅₀ (Concentración Letal 50) de las muestras de prueba mediante el análisis Probit, siguiendo el enfoque de Finney (1971). Todos estos análisis se llevaron a cabo utilizando el software SPSS® para Windows®. Se consideró que existía significancia estadística cuando se obtenía un valor de $p < 0.05$, siguiendo el criterio establecido por Braguini (2019). Es importante destacar que, en el bioensayo realizado por triplicado, todos los extractos y fracciones evaluadas a una concentración máxima de 2,000 µg/mL demostraron ser no tóxicas o relativamente inocuas. Esto se evidenció debido a la falta de mortalidad observada en los nauplios de *Artemia salina* durante el proceso (Cuadro 7, Figuras 10 y 11).

Cuadro 7. Análisis de toxicidad de los extractos metanólicos y fracciones de *Tournefortia hartwegiana*

	Concentración µg/mL	Grado de toxicidad
Extracto metanólico de hojas	2,000 µg/mL	No tóxico
Fracción hexánica de hojas	2,000 µg/mL	No tóxico
Fracción clorofórmica de hojas	2,000 µg/mL	No tóxico
Fracción acetato de etilo de hojas	2,000 µg/mL	No tóxico
Fracción acuosa de hojas	2,000 µg/mL	No tóxico
Extracto metanólico de raíz	2,000 µg/mL	No tóxico
Fracción hexánica de raíz	2,000 µg/mL	No tóxico
Fracción clorofórmica de raíz	2,000 µg/mL	No tóxico
Fracción acetato de etilo de raíz	2,000 µg/mL	No tóxico
Fracción acuosa de raíz	2,000 µg/mL	No tóxico



Figura 10. Nauplios de *Artemia salina* con 24 h de desarrollo después de eclosionar.



Figura 11. Ensayo de toxicidad con *Artemia salina*. De izquierda a derecha se observan los tubos control con sal de mar y tween 20 al 5%, y las concentraciones de mayor a menor de 2,000 a 125 $\mu\text{g/mL}$ de extracto metanólico de raíces (color ámbar) y extracto metanólico de hojas (color verde).

IX. DISCUSIÓN

Este estudio aborda por primera vez un análisis integral de identificación de metabolitos secundarios, actividad antibacteriana y evaluación de la toxicidad *in vitro* de la especie *Tournefortia hartwegiana* en México. Por lo anterior en términos generales se espera que este estudio no solo enriquezca nuestro conocimiento sobre los tres puntos arriba mencionados, sino también proporcione un sólido respaldo para la continuación de estudios futuros de la especie y posible desarrollo de fármacos antimicrobianos, dado la actual resistencia de los antibióticos (González-Alemán, 2013; González-Mendoza et al., 2019) y la necesidad actual de encontrar nuevos principios activos que lleven a la generación futura de nuevos antibióticos (González-Mendoza et al., 2019).

9.1 Rendimiento de extracción e Identificación de Metabolitos Secundarios

En la familia Boraginaceae, a la que pertenece la especie evaluada, existen pocos estudios enfocados a obtener el rendimiento e identificación de metabolitos secundarios con fines medicinales (Gabriel-Suárez et al., 2002; Serrano-Muciño. 2013; Lina-García, 2020). Por ejemplo, Gabriel-Suárez (2002) encontró en su estudio diferencias en los resultados de rendimientos de extracción obtenidos con diferentes solventes como cloroformo, metanol y agua, para hojas de *Tournefortia hirsutissima*, observando que la extracción con metanol metanólica fue la más eficiente al mostrar el más alto rendimiento de extracción con 9.74%, seguida de la extracción con agua y cloroformo, esto coincide con el resultado obtenido en el presente estudio donde para esta parte de la planta (hojas) se obtuvo mayor rendimiento de extracción con metanol (20%), y difiriendo en el orden del rendimiento conseguido con cloroformo 6.9 % y agua 1.3 %, esto puede deberse a que no se realizó una extracción inicial

con estos solventes, sino que se obtuvieron a partir de un fraccionamiento escalonado donde la solución acuosa fue la última que se empleó, logrando un menor rendimiento de extracción.

Recientemente en el estudio de la planta *Dodonaea viscosa* realizado por Serrano-Muciño (2013) el autor encontró que al extraer de tallos, hojas y frutos con solventes como metanol, agua, hexano y acetato de etilo, los máximos rendimientos se obtuvieron en la extracción con metanol y agua, siendo las hojas las que tienen un rendimiento mayor de aproximadamente el 10.3%. En *T. hartwegiana* las hojas junto con la raíces presentan un mayor rendimiento especialmente con solventes como metanol, sin embargo difiere en relación a cloroformo y demás solventes utilizados, una posible explicación para la especie en estudio es que los factores ambientales específicamente humedad, temperatura y propiedades del suelo, podrían ejercer algún tipo de balance funcional, en otras palabras la asignación de biomasa en hojas y raíces dependería de la disponibilidad de recursos como lo explican en su estudio Camargo y Rodríguez (2006). En este sentido una probable explicación para este estudio podría ser que *T. hartwegiana*, dependiendo de la disponibilidad de recursos (i.e., macronutrientes, luz, etc.) para su sobrevivencia, asignara recursos en biomasa hacia hojas y/o raíces, lo que explicaría las diferencias con lo que reporta la literatura.

Con respecto a los metabolitos secundarios presentes en la familia Boraginaceae, diversos estudios han reportado la identificación de triterpenoides (Chen et al., 2017), pirrolizidinas (Stegelmeier et al., 1999; Stegelmeier, 2011), y flavonoides (Diao et al., 2019), como lo encontrado en este estudio en hojas y raíces. Si bien en este estudio no se puede saber qué tipo de alcaloides existen en las fracciones de hojas y raíces donde se detectaron, en un estudio previo Moran-Palacio y colaboradores (2014), utilizando cromatografía líquida

de alta eficiencia (HPLC), encontraron ácido aspártico, precursor de alcaloides en *T. hartwegiana.*, por lo anterior es necesario explorar en futuros estudios con herramientas como HPLC en la especie, para determinar los alcaloides presentes y su concentración en distintas partes de la planta y diversas condiciones ambientales y entender más su función biológica en la especie y futuras aplicaciones biomédicas.

9.2 Actividad antibacteriana

Los resultados de la inhibición del crecimiento bacteriano de las cepas *S. aureus* (ATCC® 25923™) y *E. coli* (ATCC® 25922™), encontrados en este estudio sugieren que la hipótesis planteada en este trabajo sobre la actividad antibacteriana de los extractos metanólicos y las fracciones de hojas y raíces de *Tournefortia hartwegiana* Steud. en Sinaloa es correcta. Por lo anterior, encontramos sustancias potencialmente bactericidas tanto para bacterias Gram positiva como Gram negativas. Lo anterior corresponde con lo encontrado en estudios previos con especies de esta familia (Leos-Rivas, 2010; Schwechheimer y Kuehn, 2015) en especial en bacterias Gram negativas. En este sentido Schwechheimer y Kuehn, (2015) reportan que este tipo de bacterias presentan vesículas en la membrana plasmática, las cuales les permiten interactuar con su entorno y esto conlleva a promover su patogenicidad y sobrevivencia en condiciones de estrés, siendo pocos los extractos obtenidos de especies vegetales que pueden impedir el crecimiento de las bacterias Gram negativas (Encarnación-Dimayuga et al., 1998), en este sentido la especie en estudio representa una de ellas, por lo que se sugiere estudios más profundos que lleven en algún momento al desarrollo de nuevos fármacos.

Asimismo, Ortiz et al. (2005), encontraron que los extractos de partes aéreas de *T. hartwegiana* obtenidos con hexano, diclorometano y metanol no mostraron actividad

antibacteriana mediante el método de Mistcher (dilución en agar) a una concentración de 6.25 mg/mL en las especies *Enterococcus faecalis* (cepa local), *Salmonella typhi* (ATCC 6539), *S. aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *E. coli* (ATCC 25922) y *Bacillus cereus* (ATCC 11778). También, Osuna et al. (2008) evaluaron cinco plantas contra varias cepas ATCC, y el EM de *Tournefortia densiflora* y encontraron actividad contra *E. coli* ATCC 25922 a una concentración de 16 mg/mL. Sin embargo, en este trabajo los EMH y EMR mostraron una Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de 5 mg/mL para las cepas *S. aureus* (ATCC® 25923™) y *E. coli* (ATCC® 25922™). Esta diferencia en resultados con lo reportado en la literatura puede deberse a errores metodológicos y/o diferencia en la cantidad de metabolitos entre las especies y/o estadios de maduración de hojas y raíces, aspecto que debe ser explorado.

Por otro lado, el fraccionamiento de los EM's mediante partición de fases líquido-líquido ha demostrado ser eficaz para obtener fracciones de polaridad diversa, y estas fracciones han mostrado actividad antibacteriana. Las fracciones que presentaron los mejores resultados de inhibición fueron las obtenidas con acetato de etilo (2.5 mg/mL para *E. coli* y 0.625 mg/mL para *S. aureus*), y cloroformo (5 mg/mL para *E. coli* y 2.5 mg/mL para *S. aureus*) del EMR. Una explicación podría ser debida en parte a la presencia de compuestos transportados en estas fracciones, entre los cuales se encuentran los alcaloides, que tienen una gran actividad biológica, como actividad anticancerígena (Wang et al., 2017) y actividad antibacteriana (Faizi et al., 2003; Wang et al., 2017), y terpenos, que se encuentran principalmente en los aceites esenciales y cuya actividad antibacteriana también ha sido ampliamente documentada como lo demuestra en su trabajo Gu y colaboradores en el 2014.

Es importante destacar que la actividad antibacteriana reportada en este estudio constituye un nuevo registro de actividad biológica para esta especie, ya que investigaciones anteriores (Ortiz et al., 2005; Ortiz et al., 2007) se centraron en la actividad hipoglucémica de esta planta.

9.3 Toxicidad

Existen pocos reportes en la literatura que brinden información sobre la potencial toxicidad de esta especie, por ejemplo Ortiz y colaboradores (2005) reportaron que no se encontró citotoxicidad con CL_{50} de 1,000 ppm en extractos obtenidos con hexano, diclorometano y metanol en un bioensayo con *Artemia salina*. Algo similar a lo encontrado en este estudio el cual no presentó toxicidad de los extractos metanólicos y fracciones a concentraciones de 2,000 $\mu\text{g/mL}$ en el ensayo con *A. salina*, por lo que es clasificada dentro del rango no tóxico o relativamente inocuo de acuerdo con Robles-García et al., (2016), lo que sugiere que su consumo en la medicina tradicional no representa ningún un riesgo para la salud humana.

9.4 Análisis de suelo

El análisis de suelo en el área de estudio proporcionó información sobre las características fisicoquímicas, las cuales según la interpretación de la bibliografía especializada (Garrido-Valero, 1993; Castellanos, 2000), se encuentran dentro de los rangos con condiciones bióticas y abióticas idóneas para el desarrollo y sobrevivencia de la especie en estudio. Este resultado es inesperado, dado que el área de muestreo seleccionada para este estudio es un terreno perturbado, parcialmente cubierto con materiales de construcción, en un entorno urbano. Lo anterior parece sugerir que la especie tiene una gran adaptabilidad a la perturbación, además que es muy poco lo que se conoce de su biología.

Asimismo, hay pocos estudios al respecto, por ejemplo Panchenko et al., (2022), que explica que algunas especies de la familia Boraginaceae (i.e., *Lithospermum arvense*, *Nonea pulla*, *Asperugo procumbens*, *Lappula myosotis*) fueron estudiadas por primera vez como especies con potencial de remediación de suelos, incluso en suelos contaminados con petróleo. En este estudio, se encontró que el contenido relativamente alto de nitrógeno amoniacal en la rizósfera sugiere un alto potencial de tolerancia y uso potencial de la especie para remediación en entornos contaminados por petróleo. Por último, la capacidad de estas plantas para sintetizar varios metabolitos secundarios, incluyendo antioxidantes, puede ayudar a superar el estrés causado por la contaminación y contribuir a su degradación (Panchenko et al., 2022).

X. CONCLUSIONES

- En el EMH destacan mayoritariamente compuestos fenólicos, taninos y flavonoides los cuales pueden estar asociados a actividad antibacteriana, así como terpenos y saponinas en menor cantidad asociados a actividad antibacteriana sin mostrar toxicidad. Por otro lado, en el EMR destacan mayoritariamente los compuestos fenólicos como taninos que pueden estar asociados a actividad antibacteriana.
- En las FAER y FAR destaca la presencia de compuestos fenólicos, mientras que en las fracciones de hojas destaca presencia de terpenos en la FCH y FHH asociados a actividad antibacteriana y de alcaloides reconocidos como potentes analgésicos y con actividades biológicas diversas.
- Los MS detectados en *T. hartwegiana* presentan actividad antibacteriana frente a *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 25923, en donde se observó que los constituyentes más activos son aquellos que se encuentran en las fracciones obtenidas por fraccionamiento con solventes no polares como hexano y cloroformo y de polaridad media como acetato de etilo, esto demuestra que los extractos vegetales, en especial el extracto de raíces de *Tournefortia hartwegiana*, pueden ser una fuente de nuevos agentes antibacterianos para inhibir o reducir el crecimiento de bacterias patógenas.
- El ensayo de toxicidad *in vitro* con nauplios de *Artemia salina*, mostró que tanto los extractos metanólicos y las fracciones de hexano, cloroformo, acetato de etilo y agua, de hojas y raíces de *T. hartwegiana* son relativamente inocuos o no tóxicos, por lo que su consumo no representa un riesgo para las personas que lo utilizan para curar afecciones de tipo infeccioso por bacterias de acuerdo con la forma de empleo de la planta como remedio en la medicina tradicional de Sinaloa.

XI. PERSPECTIVAS

1. Aislar los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en el extracto metanólico de hoja y raíz de *Tournefortia hartwegiana* y caracterizarlos por espectrometría de masas (GC-MS), espectroscopia infrarroja (IR) y espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) H y Carbono-13.
2. Determinar la toxicidad subcrónica del extracto metanólico de hoja y raíz de *T. hartwegiana* en un modelo *in vivo* por administración continua (90 días).
3. Evaluar el efecto antibacteriano del EM y fracciones de *T. hartwegiana* en bacterias patógenas multirresistentes a antibióticos.
4. Establecer un cultivo *in vitro* de la especie *T. hartwegiana*.
5. Inducir producción de metabolitos secundarios de interés de la planta *T. hartwegiana* en condiciones *in vitro*.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abubakar, A. R., y Haque, M. (2020). Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 12(1), 1–10. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
- AEBM. (2012). Asociación Española de Biopatología Médica. Actualizaciones en el Laboratorio Clínico. *Estudio de sensibilidad a los agentes antimicrobianos*. <https://www.studocu.com/co/document/universidad-del-norte-colombia/biologia-molecular/estudio-de-sensibilidad-a-los-agentes-antimicrobianos/35795732>
- Aguiar-Hernández, H., Partida-Ruvalcaba, L., y Cruz-Ortega, J. (2016). Oral Communication and Scientific Nomenclature on Medicinal Wild Plants in Culiacan, Sinaloa, México: An Educational Proposal. *Open Access Library Journal*, 03, 1-15. <https://doi.org/10.4236/oalib.1103075>
- Akinduti, P. A., Emoh-Robinson, V., Obamoh-Triumphant, H. F., Obafemi, Y. D., y Banjo, T. T. (2022). Antibacterial activities of plant leaf extracts against multi-antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* associated with skin and soft tissue infections. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 22(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s12906-022-03527-y>
- Ávila-Uribe, M., García-Zárate, S., Sepúlveda-Barrera, A., y Godínez-Rodríguez, M. (2016). Plantas medicinales en dos poblados del municipio de San Martín de las Pirámides, Estado de México. *Polibotánica*. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.42.11>

- Balouiri, M., Sadiki, M., y Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Benítez-Benítez, R., Sarria-Villa, R. A., Gallo-Corredor, J. A., Pérez Pacheco, N. O., Álvarez Sandoval, J. H., y Giraldo Aristizabal, C. I. (2020). Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales. *Revista Facultad De Ciencias Básicas*, 15(1), 31–40. <https://doi.org/10.18359/rfcb.3597>
- Bolaños- Alfaro, J. D. (2014). Determinación de cationes en agua potable del cantón de Grecia, Costa Rica por absorción atómica. *InterSedes: Revista de las Sedes Regionales*, XV(30), 95-106. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=66631279005>
- Braguini, W. L., Alves, B. B., y Pires, N. V. (2019). Toxicity assessment of *Lavandula officinalis* extracts in Brine Shrimp (*Artemia salina*). *Toxicology Mechanisms and Methods*, 29(6), 411-420. <https://doi.org/10.1080/15376516.2019.1567892>
- Brinkac, L., Voorhies, A., Gomez, A., y Nelson, K. E. (2017). The Threat of Antimicrobial Resistance on the Human Microbiome. *Microbial ecology*, 74(4), 1001–1008. <https://doi.org/10.1007/s00248-017-0985-z>
- Bulugahapitiya, V. (2013). *Plants Based Natural products Extraction, Isolation and Phytochemical screening methods*. 1-93 ISBN 978-955-54456-1-0
- Calzada, F., y Bautista, E. (2020). Plants used for the treatment of diarrhoea from Mexican flora with amoebicidal and giadicial activity, and their phytochemical constituents. *Journal of ethnopharmacology*, 253, 112676. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112676>
- Camargo-Rodríguez, I. D., y Rodríguez-López, N. (2006). Nuevas perspectivas para el estudio de la asignación de biomasa y su relación con el funcionamiento de plantas

en ecosistemas neotropicales. *Acta biológica colombiana*, 11, 75-87.

<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=319028580006>

Carrasquero D., A., y Castillo, P. (2002). Determinación conductimétrica de cloruros en extractos de saturación de suelos. *Agronomía Tropical*, 52, (4) 555-563.

http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-

[192X2002000400010&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2002000400010&lng=es&tlng=es)

Castellanos, J. Z., Uvalle-Bueno, J. X., y Aguilar-Santelises, A. (2000). *Manual de interpretación de análisis de suelos y aguas agrícolas, plantas y ECP*. Instituto de Capacitación para la Productividad Agrícola.

<https://books.google.com.mx/books?id=FbQUcgAACAAJ>

CONABIO. (2020). *Medicina Tradicional Mexicana*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.

<https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/medicinal>

Contreras-Angulo, L. A., Moreno-Ulloa, A., Carballo-Castañeda, R. A., León-Felix, J., Romero-Quintana, J. G., Aguilar-Medina, M., Ramos-Payán, R., Heredia, J. B. (2022). Metabolomic Analysis of Phytochemical Compounds from Agricultural Residues of Eggplant (*Solanum melongena* L.). *Molecules* 2022, 27, 7013.

<https://doi.org/10.3390/molecules27207013>

Cox, G., y Wright, G. D. (2013). Intrinsic antibiotic resistance: mechanisms, origins, challenges and solutions. *International journal of medical microbiology : IJMM*, 303(6-7), 287–292. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.02.009>

- Cruz Martínez, C., Diaz Gómez, M., y Oh, M. S. (2017). Use of traditional herbal medicine as an alternative in dental treatment in Mexican dentistry: a review. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 1992–1998. <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1347188>
- Chen, K. K., Xie, Z. J., Dai, W., y Wang, Q. (2017). A new oleanolic-type triterpene glycoside from *Anchusa italica*. *Natural Products Research*, 31(8), 959-965. <https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1258557>
- D'Amelia, V., Docimo, T., Crocoll, C., y Rigano, M. M. (2021). Specialized Metabolites and Valuable Molecules in Crop and Medicinal Plants: The Evolution of Their Use and Strategies for Their Production. *Genes*, 12(6). <https://doi.org/10.3390/genes12060936>
- Diao, S., Jin, M., Jin, C. S., Wei, C. X., Sun, J., Zhou, W., y Li, G. (2019). A new flavanone glycoside isolated from *Tournefortia sibirica*. *Natural Product Research*, 33(20), 3021-3024. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1512995>
- Díaz, J. S. (10 de 04 de 2020). Tatchinole, *Tournefortia hartwegiana* Steud. *Plantas Regionales de Sinaloa*. Obtenido de: <https://www.facebook.com/626163534521414/posts/el-tatachinole-o-tachinole-tournefortia-hirsutissima-l-t-hartwegiana-steud-t-vol/884939615310470/>
- Durán-Ramírez, F. (2020). Análisis de laboratorio de suelos y agua: Primera edición. Grupo Latino Editores. <http://pbidi.unam.mx:8080/login?url=https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=nlebk&AN=2500018&lang=es&site=eds-live>
- Encarnación-Dimayuga, R., Virgen, M., y Ochoa, N. (1998). Antimicrobial Activity of Medicinal Plants from Baja California Sur (México). *Pharmaceutical Biology*, 36(1), 33-43. <https://doi.org/10.1076/phbi.36.1.33.4625>

- Faizi S, Khan RA, Azher S, Khan SA, Tauseef S, Ahmad A. (2003). New antimicrobial alkaloids from the roots of *Polyalthia longifolia* var. *pendula*. *Planta Medica*. 69(4):350-5. doi: 10.1055/s-2003-38883. PMID: 12709903
- Farnsworth N. R. (1966). Biological and phytochemical screening of plants. *Journal of pharmaceutical sciences*, 55(3), 225–276. <https://doi.org/10.1002/jps.2600550302>
- Fernández-Calienes Valdés, A., Mendiola-Martínez, J., Monzote-Fidalgo, L., García-Parra, M., Sariego-Ramos, I., Acuña-Rodríguez, D., Scull-Lizama, R., Gutiérrez-Gaitén, Y. (2009). Evaluación de la toxicidad de extractos de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de *Artemia salina* L. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 61, 254-258. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602009000300009&nrm=iso
- Gabriel-Suárez, M. A. (2002). "Actividad hipoglucemiante de *Tournefortia hirsutissima*". (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, México. Recuperado de <https://repositorio.unam.mx/contenidos/123633>
- Garrido-Valero M. S. (1993). Interpretación de análisis de suelos. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hojas_materia.asp?materiaid=zz0040921&materia=analisis%20del%20suelo
- GBIF. (2023). *Tournefortia hartwegiana* Steud. in GBIF Secretariat. GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset. <https://www.gbif.org/species/4065445>
- Getti, G., Durgadoss, P., Domínguez-Carmona, D., Martín-Quintal, Z., Peraza-Sánchez, S., Peña-Rodríguez, L. M. y Humber, D. (2009). Leishmanicidal activity of Yucatecan medicinal plants on *Leishmania* species responsible for cutaneous leishmaniasis. *The Journal of parasitology*, 95(2), 456–460. <https://doi.org/10.1645/GE-1675.1>

- González-Alemán, M. (2013). Resistencia Antimicrobiana, una amenaza mundial. *Revista Cubana de Pediatría*, 85(4): 414-417.
- González-Mendoza, J., Maguiña-Vargas, C. y González-Ponce, M. F. (2019) La Resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. *Acta Médica Peruana*, 36(2), 145-151.
- Gu, R., Wang, Y., Long, B., Kennelly, E., Wu, S., Liu, B., Li, P., y Long, C. (2014). Prospecting for bioactive constituents from traditional medicinal plants through ethnobotanical approaches. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 37(6), 903–915. <https://doi.org/10.1248/bpb.b14-00084>
- Hermesen, E. D., MacGeorge, E. L., Andresen, M. L., Myers, L. M., Lillis, C. J., y Rosof, B. M. (2020). Decreasing the Peril of Antimicrobial Resistance Through Enhanced Health Literacy in Outpatient Settings: An Underrecognized Approach to Advance Antimicrobial Stewardship. *Advances in therapy*, 37(2), 918–932. <https://doi.org/10.1007/s12325-019-01203-1>
- Hernández, H., Ruvalcaba, L., y Ortega, J. (2016). Oral Communication and Scientific Nomenclature on Medicinal Wild Plants in Culiacan, Sinaloa, México: An Educational Proposal. *OALib*, 03, 1-15. <https://doi.org/10.4236/oalib.1103075>
- Hernández, M. A., Salgado, M. A., Portillo, R., Petranovskii, V., Hernández, G. I., Santamaría, D., y Rubio, E. (2021). Nanoparticles of γ -Sitoesterol and Ag on Clinoptilolite Zeolites. *Journal of Nanomaterials*, 2021, 9959552. <https://doi.org/10.1155/2021/9959552>
- Huacuja-González, E. (1995). Contribución al estudio fitoquímico y determinación de la acción antimicrobiana de *Senecio candidissimus*. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León.

- Hurtado-Díaz, I., Sánchez-Carranza, J. N., Romero-Estrada, A., González-Maya, L., González-Christen, J., Herrera-Ruíz, M., y Álvarez, L. (2019). 16-Hydroxy-Lycopersene, a Polyisoprenoid Alcohol Isolated from *Tournefortia hirsutissima*, Inhibits Nitric Oxide Production in RAW 264.7 Cells and Induces Apoptosis in Hep3B Cells. *Molecules* (Basel, Switzerland), 24(13), 2366. <https://doi.org/10.3390/molecules24132366>
- Hussain, A. I., Rathore, H. A., Sattar, M. Z., Chatha, S. A., Sarker, S. D., y Gilani, A. H. (2014). *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad (bitter apple fruit): a review of its phytochemistry, pharmacology, traditional uses and nutritional potential. *Journal of ethnopharmacology*, 155(1), 54–66. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.06.011>
- Jacobo-Herrera, N. J., Jacobo-Herrera, F. E., Zentella-Dehesa, A., Andrade-Cetto, A., Heinrich, M., y Pérez-Plasencia, C. (2016). Medicinal plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of colorectal cancer. *Journal of ethnopharmacology*, 179, 391–402. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.12.042>
- Jaiswal, Y., Liang, Z., y Zhao, Z. (2016). Botanical drugs in Ayurveda and Traditional Chinese Medicine. *Journal of ethnopharmacology*, 194, 245–259. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.06.052>
- Jaramillo-Hernández, D. A. (2016). Estudio de la actividad acaricida *in vitro* del extracto acetónico de *Gliricidia sepium* sobre *Rhipicephalus microplus*. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/maest_ciencias_veterinarias/52
- Kasolo, J., Bimenya, G., Ojok, L., Ochieng, J., y Ogwal-Okeng, J. (2010). Phytochemicals and uses of *Moringa oleifera* leaves in Ugandan rural communities. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 4(9), pp. 753-757. Doi: 10.5897/JMPR10.492

- Kongkham, B., Prabakaran, D., y Puttaswamy, H. (2020). Opportunities and challenges in managing antibiotic resistance in bacteria using plant secondary metabolites. *Fitoterapia*, 147, 104762. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104762>
- Król, A., Amarowicz, R. y Weidner, S. (2014). Changes in the composition of phenolic compounds and antioxidant properties of grapevine roots and leaves (*Vitis vinifera* L.) under continuous of long-term drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 36, 1491–1499. <https://doi.org/10.1007/s11738-014-1526-8>
- Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M. R., y Wu, H. (2020). The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 148, 80-89. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>
- Lira-De León, K. I., Ramírez-Mares, M. V., Sánchez-López, V., Ramírez-Lepe, M., Salas-Coronado, R., Santos-Sánchez, N. F., Valadez-Blanco, R., Hernández-Carlos, B. (2014). Effect of crude plant extracts from some Oaxacan flora on two deleterious fungal phytopathogens and extract compatibility with a biofertilizer strain. *Frontiers in Microbiology*, 5, 10, Article 383. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00383>
- Martinez, L. N. (2009). South Texas Mexican American Use of Traditional Folk and Mainstream Alternative Therapies. *Hispanic Journal of Behavioral Sciences*, 31(1), 128–143. <https://doi.org/10.1177/0739986308328513>
- McEwen, S. A., y Collignon, P. J. (2018). Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. *Microbiology spectrum*, 6(2), 10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017>
- Miranda-Cruz, E., Espinosa-Moreno, J., Centurión, D., Velázquez-Martínez, J., y Alor, M. (2012). Antimicrobial activity of *Psidium friedrichsthalianum* L., *Pterocarpus*

- hayesii* L., *Tynanthus guatemalensis* L. and *Spondias purpurea* L. extracts. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 11, 354-361
- Miranda-Navales, M. G., Flores-Moreno, K., López-Vidal, Y., Rodríguez-Álvarez, M., Solórzano-Santos, F., Soto-Hernández, J. L., Ponce de León-Rosales, S., y UNCAR Network (2020). Antimicrobial resistance and antibiotic consumption in Mexican hospitals. Resistencia antimicrobiana y consumo de antibióticos en hospitales mexicanos. *Salud pública de Mexico*, 62(1), 42–49. <https://doi.org/10.21149/10543>
- Mitscher, L. A., Leu, R. P., Bathala, M. S., Wu, W. N., y Beal, J. L. (1972). Antimicrobial agents from higher plants. I. Introduction, rationale, and methodology. *Lloydia*, 35(2), 157–166
- Montes-Ávila, J., Díaz-Camacho, S., Willms, K., de-la-Cruz-Otero, M., Robert, L., Rivero, I., y Delgado-Vargas, F. (2017). Bioguided study of the *in vitro* parasitocidal effect on adult *Hymenolepis nana* of the *Psidium sartorianum* (O. Berg Nied.) fruit methanol extract. *Medicinal Chemistry Research*, 26, 2845–2852. <https://doi.org/10.1007/s00044-017-1983-x>
- Moore, B. D., Andrew, R. L., Külheim, C., y Foley, W. J. (2014). Explaining intraspecific diversity in plant secondary metabolites in an ecological context. *The New phytologist*, 201(3), 733–750. <https://doi.org/10.1111/nph.12526>
- Moran-Palacio, E. F., Tortoledo-Ortiz, O., Yanez-Farias, G. A., Zamora-Alvarez, L. A., Stephens-Camacho, N. A., Sonanez-Organis, J. G., Ochoa-Lopez, L. M., Rosas-Rodriguez, J. A. et al. (2014). Determination of Amino Acids in Medicinal Plants from Southern Sonora, Mexico. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 13. 601-606. 10.4314/tjpr.v13i4.17

- Munita, J. M., y Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology spectrum*, 4(2), 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015.
<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>
- Newman, D. J., y Cragg, G. M. (2020). Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, 83(3), 770-803. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>
- NMX-AA-036-SCFI-2001 (Norma Oficial Mexicana). 2001. Determinación de acidez y alcalinidad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. México, D.F.: Secretaría de Comercio y Fomento Industrial, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 21 de octubre de 1980, actualizada en 2001
- NMX-AA-073-SCFI-2001 (Norma Oficial Mexicana). 2001. "Análisis de agua - Determinación del ion sulfato". México, D.F.: Secretaría de Comercio y Fomento Industrial, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 10 de diciembre de 1981, actualizada en 2001
- NOM-021-RECNAT-2000 (Norma Oficial Mexicana). 2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México, D. F.
- Oliva-Flores, I. C. (2012). Tesis: Fraccionamiento bioguiado y tamizaje fitoquímico de extractos hexánicos de acetato de etilo y clorofórmicos de laurel: *Litsea glaucescens* HBK. y *Litsea guatemalensis* Mez. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala
- OMS. (2000). General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine. Geneva: *World Health Organization*.
<https://apps.who.int/iris/handle/10665/66783>

- OMS. (2013). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023.
https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf
- OMS. (2017). La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. *Organización Mundial de la Salud*.
<https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
- OMS. (2020). Resistencia a los antimicrobianos. *Organización Mundial de la Salud*.
<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- Ortiz-Andrade, R. R., García-Jiménez, S., Castillo-España, P., Ramírez-Avila, G., Villalobos-Molina, R., y Estrada-Soto, S. (2007). alpha-Glucosidase inhibitory activity of the methanolic extract from *Tournefortia hartwegiana*: an anti-hyperglycemic agent. *Journal of ethnopharmacology*, 109(1), 48–53.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.07.002>
- Ortiz-Andrade, R. R., Rodríguez-López, V., Garduño-Ramírez, M. L., Castillo-España, P., y Estrada-Soto, S. (2005). Anti-diabetic effect on alloxanized and normoglycemic rats and some pharmacological evaluations of *Tournefortia hartwegiana*. *Journal of ethnopharmacology*, 101(1-3), 37–42. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.03.022>
- Osuna, L., Tapia-Pérez, M. E., Jimenez-Ferrer, J., Carrillo-Quiróz, B. A., y Silva Sanchez, J. (2008). Screening of *Alternanthera repens*, *Boerhavia coccinea*, *Flaveria trinervia*, *Tournefortia densiflora*, and *Vitex mollis*. Extracts to Evaluate their Antibacterial Activity and Effect on Smooth Muscle. I. *Pharmaceutical Biology*, 43, 749-753.
<https://doi.org/10.1080/13880200500406412>
- Panchenko, L., Muratova, A., Biktasheva, L., Galitskaya, P., Golubev, S., Dubrovskaya, E., Selivanovskaya, S., Turkovskaya, O. (2022). Study of Boraginaceae plants for

- phytoremediation of oil-contaminated soil. *International Journal of Phytoremediation*, 24(2), 215-223. <https://doi.org/10.1080/15226514.2021.1932729>
- Pant, P., Pandey, S., y Dall'Acqua, S. (2021). The Influence of Environmental Conditions on Secondary Metabolites in Medicinal Plants: A Literature Review. *Chemistry & biodiversity*, 18(11), e2100345. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100345>
- Patiño-Siciliano, A. (2020). Familia Boraginaceae. En Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes. Instituto de Ecología A.C. ISSN en línea 2683-2712
- Pío-León, J., Díaz-Camacho, S., López-López, M., Uribe Beltrán, M., Willms, K., López-Angulo, G., Delgado-Vargas, F. (2013). Actividad antibacteriana de extractos de frutos de nanchi (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth), arrayán (*Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied.) y ayale (*Crescentia alata* Kunth). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 12, 356-364
- Qureshi, R. A., Ghufra, M., Gilani, S., Sultana, K., y Ashraf, M. (2007). Ethnobotanical studies of selected medicinal plants of Sudhan Gali and Ganga Chotti Hills, District Bagh, Azad Kashmir. *Pakistan Journal of Botany*, 39, 2275-2283
- Raffauf, R. F. (1962). A simple field test for alkaloid-containing plants. *Economic Botany*, 16(3), 171-172. <https://doi.org/10.1007/BF02860035>
- Rahman M, Kühn I, Rahman M, Olsson-Liljequist B, Möllby R. Evaluation of a scanner-assisted colorimetric MIC method for susceptibility testing of gram-negative fermentative bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 2004. Apr; 70(4):2398-403. doi: 10.1128/AEM.70.4.2398-2403.2004. PMID: 15066837; PMCID: PMC383167

- Rahman, I. U., Afzal, A., Iqbal, Z., Ijaz, F., Ali, N., Shah, M., Ullah, S., y Bussmann, R. W. (2019). Historical perspectives of ethnobotany. *Clinics in dermatology*, 37(4), 382–388. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2018.03.018>
- Rengifo-Zevallos, D. R. (2018). Estudio fitoquímico cualitativo preliminar y cuantificación de flavonoides y taninos del extracto etanólico de hojas de *Desmodium vargasianum* Schubert *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 84, 175-182. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2018000200002&nrm=iso
- Reyes-Munguía, A., Reyes-Martínez, A., Aguilar-González, C. N., y Carrillo-Inungaray, M. L. (2017). Propiedades antioxidantes de infusiones de neem (*Azadirachta indica*) encapsuladas con proteína de soya. *Nova scientia*, 9(18), 167-185. <https://doi.org/10.21640/ns.v9i18.819>
- Robles-García, M. A., Aguilar, A. J., Gutiérrez-Lomelí, M., Rodríguez-Félix, F., Morales-Del-Río, J. A., Guerrero-Medina, P. J., Madrigal-Pulido, J. A., y Del-Toro-Sánchez, C. L. (2016). Identificación cualitativa de metabolitos secundarios y determinación de la citotoxicidad de extractos de Tempisque (*Sideroxylum capiri* Pittier)/ qualitative identification of secondary metabolites and cytotoxicity determination of tempisque extracts. *Biotecnia*, 18(3), 3–8. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v18i3.328>
- Rzedowski, J. (2006). Vegetación de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, 504 pp. <https://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/librosDig/pdf/VegetacionMxPort.pdf>

- Schwechheimer, C. y Kuehn, M. J. (2015). Outer-membrane vesicles from Gram-negative bacteria: biogenesis and functions. *Nature Reviews Microbiology*. (10):605-19. doi: 10.1038/nrmicro3525. PMID: PMC5308417. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3525>
- Serrano-Muciño, S. E. (2013). Análisis fitoquímico y actividad biológica de *Dodonaea viscosa* L. Jacq. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, México. Recuperado de <https://repositorio.unam.mx/contenidos/140572>
- Shankar, K., y Liao, L. P. (2004). Traditional systems of medicine. *Physical medicine and rehabilitation clinics of North America*, 15(4), 725–v. <https://doi.org/10.1016/j.pmr.2004.03.006>
- Sharma, A., Flores-Vallejo, R. D. C., Cardoso-Taketa, A., y Villarreal, M. L. (2017). Antibacterial activities of medicinal plants used in Mexican traditional medicine. *Journal of ethnopharmacology*, 208, 264–329. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.04.045>
- Shedoeva, A., Leavesley, D., Upton, Z., y Fan, C. (2019). Wound Healing and the Use of Medicinal Plants. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2019, 2684108. <https://doi.org/10.1155/2019/2684108>
- Simao, A. A., Ramos, V. D., Correa, A. D., de Sousa, R. V., y Marcussi, S. (2015). Anti-obesity Effects of the Administration of *Tournefortia paniculata* Cham Extract on Wistar Rats Subjected to a Hypercaloric Diet. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 58(4), 494-503. <https://doi.org/10.1590/s1516-8913201500075>
- Stegelmeier, B. L. (2011). Pyrrolizidine alkaloid-containing toxic plants (*Senecio*, *Crotalaria*, *Cynoglossum*, *Amsinckia*, *Heliotropium*, and *Echium* spp.). *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 27(2), 419-428, ix. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2011.02.013>

- Stegelmeier, B. L., Edgar, J. A., Colegate, S. M., Gardner, D. R., Schoch, T. K., Coulombe, R. A., y Molyneux, R. J. (1999). Pyrrolizidine alkaloid plants, metabolism and toxicity. *Journal of Natural Toxins*, 8(1), 95-116
- Teng, C. Y., Lai, Y. L., Huang, H. I., Hsu, W. H., Yang, C. C., y Kuo, W. H. (2012). *Tournefortia sarmentosa* extract attenuates acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Pharmaceutical biology*, 50(3), 291–396.
<https://doi.org/10.3109/13880209.2011.602695>
- UNAM. (2009). Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. *La Medicina Tradicional de los Pueblos Indígenas de México*. Obtenido de <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/introduccion.html>
- Vega-Aviña, R., Vega-López, I. F., y Delgado-Vargas, F. (2021). *Flora nativa y naturalizada de Sinaloa*. Universidad Autónoma de Sinaloa.
<https://books.google.com.mx/books?id=1lMzzwEACAAJ>
- Wall, M. E., Wani, M. C., Brown, D. M., Fullas, F., Olwald, J. B., Josephson, F. F., Thornton, N. M., Pezzuto, J. M., Beecher, C. W., Farnsworth, N. R., Cordell, G. A., y Kinghorn, A. D. (1996). Effect of tannins on screening of plant extracts for enzyme inhibitory activity and techniques for their removal. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 3(3), 281–285.
[https://doi.org/10.1016/S0944-7113\(96\)80067-5](https://doi.org/10.1016/S0944-7113(96)80067-5)
- Wang, K., Feng, X., Chai, L., Cao, S., y Qiu, F. (2017). The metabolism of berberine and its contribution to the pharmacological effects. *Drug Metabolism Reviews*, 49(2), 139-157. <https://doi.org/10.1080/03602532.2017.1306544>

- Xue, Y., Zong, T., Jin, L., Li, J., Zhou, W., Diao, S., y Li, G. (2023). Chemical constituents from the *Tournefortia sibirica* L. and their chemotaxonomic significance. *Biochemical Systematics and Ecology*, 106, 104576. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bse.2022.104576>
- Yang, L., Wen, K.-S., Ruan, X., Ying-Xian, Z., Feng, W., y Wang, Q. (2018). Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. *Molecules*, 23(4), 762. <https://www.mdpi.com/1420-3049/23/4/762>
- Yara-Varón, E., Li, Y., Balcells, M., Canela-Garayoa, R., Fabiano-Tixier, A. S., y Chemat, F. (2017). Vegetable Oils as Alternative Solvents for Green Oleo-Extraction, Purification and Formulation of Food and Natural Products. *Molecules* (Basel, Switzerland), 22(9), 1474. <https://doi.org/10.3390/molecules22091474>
- Yetman, D., y Van Devender, T. R. (2002). *Mayo Ethnobotany: Land, History, and Traditional Knowledge in Northwest Mexico*. University of California Press. <https://books.google.com.mx/books?id=ueQIDQAAQBAJ>
- Zhang, N., Wang, M., Li, Y., Zhou, M., Wu, T., y Cheng, Z. (2021). TLC-MS identification of alkaloids in *Leonuri* Herba and *Leonuri* Fructus aided by a newly developed universal derivatisation reagent optimised by the response surface method. *Phytochemical analysis: PCA*, 32(3), 242–251. <https://doi.org/10.1002/pca.2970>

XIII. ANEXOS

Análisis fisicoquímico de suelo en el área de colecta de *Tournefortia hartwegiana*

Resultados				
Parametros Fisicos	Resultado			Niveles
pH (Potenciometrico)	7.84			6.0-7.5
Conductividad Eléctrica mS/cm (Electrométrico)	0.55			1.5-2.5 mS/cm
Relación de Absorción de Sodio	0.59			<5
Porciento Sodio Intercambiable (%)	0.12			
Porcentaje de Saturación (%)	31.20			
Capacidad de Campo	16.48			
Punto de Marchitez Permanente	9.80			
Aniones (-)	ppm	Meq/L	Mmol/L	Niveles
Nitratos NO ₃ ⁻ (Brusina)	2.83	0.05	0.05	3-8 Meq/L
Fosforo de fosfatos	0.32	0.01	0.01	3-5 ppm
Fosfato Diacido H ₂ PO ₄ (Morgan)	1.00	0.01	0.01	
Sulfatos SO ₄ ⁻² (Turbidimetrico)	37.46	0.78	0.39	3-6 Meq/L
Carbonatos CO ₃ ⁻² (Titulación)	0.00	0.00	0.00	0 Meq/L
Bicarbonatos HCO ₃ ⁻ (Titulación)	231.84	3.80	3.80	0.5-3.0 Meq/L
Cloruros Cl ⁻ (Mohr)	42.54	1.20	1.20	<10.0 Meq/L
Suma de Aniones		5.84		
Cationes (+)	ppm	Meq/L	Mmol/L	Niveles
Sodio Na ⁺ (Soluble A. Atómica)	20.00	0.87	0.87	<10.0 Meq/L
Potasio K ⁺ (Soluble A. Atómica)	19.00	0.49	0.49	1.5-3.0 Meq/L
Calcio Ca ⁺² (Soluble A. Atómica)	77.00	3.84	1.92	4.0-10.0 Meq/L
Magnesio Mg ⁺² (Soluble A. Atómica)	7.00	0.58	0.29	2.0-5.0 Meq/L
Suma de Cationes		5.77		
Microelementos	ppm	µmol/L		Niveles
Fierro Fe ⁻² (DTPA)	9.10	162.97		5-30 ppm
Zinc Zn ⁺² (DTPA)	5.50	84.10		3-10 ppm
Cobre Cu ⁻² (DTPA)	2.20	34.62		0.8-3 ppm
Manganeso Mn ⁺⁴ (DTPA)	2.80	50.97		5-15 ppm
Boro B ⁻³ (Azometina-H)	0.19	17.58		0.3-1.5 ppm
Relacion Nutricional	Meq/L			Nivel
NO ₃ /K ⁺	0.09			1.5 -2.5 -
K ⁺ /Ca ⁺⁺	0.13			0.3 - 0.5 -
Ca ⁺⁺ /Mg ⁺⁺	6.67			2.0 - 2.5 -
K ⁺ /Mg ⁺⁺	0.84			0.5 - 0.75 -

Análisis de fertilidad completo de suelo en el área de colecta de *Tournefortia hartwegiana*

Resultados				
Parametros Fisicos	Resultado			Niveles
pH 1:1 (H ₂ O)	7.69			6-7.5
Conductividad Eléctrica (mS/cm)	0.55			1.5-2.5 mS/cm
Materia Orgánica (%)	0.94			
Textura	Franco - Arenosa			
Arcilla (%)	15.00			
Arena (%)	75.00			
Limo (%)	10.00			
Aniones (-)	ppm			Nivel
Nitrogeno Nitrico N-NO ₃ (Brusina)	7.20			20-40 ppm
Fosforo de Fosfatos P-PO ₄ (Olsen)	7.20			20-30 ppm
Azufre de Sulfatos S-SO ₄ ²⁻ (Turbidimetrico)	30.00			60-100 ppm
Cationes (+)	ppm	Meq/100 gr.	% Base Saturada	Niveles
Sodio Na ⁺ (Ac.NH4 pH 7.0)	52.00	0.23	0.47	<150 ppm
Potasio K ⁺ (Ac.NH4 pH 7.0)	273.00	0.70	1.45	100-250 ppm
Calcio Ca ²⁺ (Ac.NH4 pH 7.0)	8,980.00	44.90	93.28	1500-3500 ppm
Magnesio Mg ²⁺ (Ac.NH4 pH 7.0)	290.00	2.31	4.80	200-500 ppm
Capacidad de Intercambio Cationico		48.13		
Observaciones	Verificado conc. de Ca.			