

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIBACTERIANA DE LAS HOJAS DE Hamelia patens Jacq. Y Cecropia peltata L. †

[EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF THE LEAVES OF Hamelia patens Jacq. AND Cecropia peltata L.]

Deanela D. Montufar-Canto¹, Claudia González-Salvatierra^{1,2*}, Luis I. Hernández-Chávez³, Andrés H. Uc-Cachón⁴ and Gloria M. Molina-Salinas⁴

 TecNM. Instituto Tecnológico de Chetumal, Avenida Insurgentes No. 330, Colonia David Gustavo Gutiérrez, Chetumal, Quintana Roo, C.P. 77013, México.
 IIxM- SECIHTI/TecNM/ITChetumal, Avenida Insurgentes No. 330, Colonia David Gustavo Gutiérrez, Chetumal, Quintana Roo, C.P. 77013, México. Email: <u>claudia.gs@chetumal.tecnm.mx</u>

 ³ TecNM, ITS de Felipe Carrillo Puerto, Carretera Vigía Chico Km, 1.5. Colonia Centro, Felipe Carrillo Puerto, Quintana Roo, C.P. 77200, México.
 ⁴ Unidad de Investigación Médica Yucatán, Instituto Mexicano del Seguro Social, Calle 34X41 No. 439. Colonia Industrial, Mérida, Yucatán, C.P. 97150, México.
 *Corresponding author

SUMMARY

Background: In the Yucatán Peninsula, essential information is available on the traditional use of medicinal plants, however, their biological activity is still unknow, such as Hamelia patens (Coralillo, X k'anan) and Cecropia peltata (Guarumbo, K'ooch k'aax), both species are used to treat respiratory, digestive, and skin infections. Considering the therapeutic potential of medicinal plants as exceptional sources of natural products that exhibit antioxidant properties and are capable to combating drug-resistant bacteria, we explored the potential of these two plants species to act against free radicals that cause various diseases due to cellular oxidative damage, and to control multi-resistant pathogens. **Objective:** To determine the antioxidant and antibacterial activities of the extracts and fractions of *H. patens* and *C.* peltata leaves against drug-resistant Staphylococcus aureus, Escherichia coli, and Acinetobacter baumannii. Methodology: Antioxidant activity was determined using the 2,2-diphenyl-1-picrylhidrazyl (DPPH) assay and antibacterial activity was determined using the resazurin micromethod. **Results:** Hamelia patens and C. peltata leaves extracts exhibited DPPH radical-binding capacity, and the ethyl acetate fraction showed a high antioxidant capacity. In contrast, the extracts and fractions did not show antibacterial activity against S. aureus, E. coli, and A. baumannii at the concentration range evaluated. **Implications:** The collection season, methods, and concentrations used can affect bioactivity. For further studies, it is necessary to characterize the secondary metabolites and obtain a complete antioxidant profile, and even test them against other bacterial species. Conclusion: The extracts and fractions of the leaves of H. patens and C. peltata showed antioxidant activity but not antibacterial properties, on the species and drugresistant strains. Thus, the ethyl acetate fraction is a potential candidate for further investigation. The development of new drugs is essential for combating diseases, and medicinal plants provide a promising alternative, as demonstrated for both species in the Mayan Peninsula.

Key words: antioxidant activity; antibacterial activity; traditional knowledge; medicinal plants; natural products; Yucatan Peninsula.

RESUMEN

Antecedentes: En la península de Yucatán se dispone de información esencial sobre el uso tradicional de plantas medicinales, sin embargo, aún se desconoce su actividad biológica como en el caso de *Hamelia patens* (Coralillo, X k'anan) y *Cecropia peltata* (Guarumbo, K'ooch k'aax), ambas especies se utilizan para tratar enfermedades

© BY

Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

ISSN: 1870-0462.

ORCID = D.D. Montufar-Canto: http://orcid.org/0000-0002-1667-4320; L.I. Hernández-Chávez: http://orcid.org/0000-0002-0725-3372; A.H. Uc-Cachón: http://orcid.org/0000-0002-3961-6449

[†] Submitted December 21, 2023 – Accepted September 4, 2024. http://doi.org/10.56369/tsaes.5364

respiratorias, infecciones gastrointestinales y de piel. Considerando el potencial terapéutico de las plantas medicinales como fuentes excepcionales de productos naturales que exhiben propiedades antioxidantes y con capacidad de combatir bacterias farmacorresistentes, se exploró el potencial de ambas especies de plantas para actuar contra los radicales libres que causan diversas enfermedades debido al daño oxidativo celular, y para controlar patógenos multirresistentes. Objetivo: Determinar la actividad antioxidante y antibacteriana de los extractos y fracciones de las hojas de H. patens y C. peltata contra Staphylococcus aureus, Escherichia coli y Acinetobacter baumannii farmacorresistentes. Metodología: La actividad antioxidante se determinó mediante la técnica del 2,2-difenil-1picrilhidrazilo (DPPH) y la actividad antibacteriana mediante el micrométodo de resazurina. Resultados: Los extractos de las hojas de Hamelia patens y C. peltata presentan capacidad de unión a radicales DPPH y la fracción de acetato de etilo demostró una alta capacidad antioxidante. En contraste, los extractos y fracciones no demostraron actividad antibacteriana contra S. aureus, E. coli y A. baumannii, en el rango de las concentraciones evaluadas. Implicaciones: La temporada de colecta, los métodos y concentraciones utilizadas pueden afectar la bioactividad. Para estudios posteriores es necesario caracterizar los metabolitos secundarios y obtener un perfil antioxidante completo e incluso probar contra otras especies de bacterias. Conclusión: Los extractos y fracciones de las hojas de H. patens y C. peltata presentaron actividad antioxidante pero no propiedades antibacterianas, sobre las especies y cepas farmacorresistentes. Así, la fracción de acetato de etilo es una potencial candidata para futuras investigaciones. El desarrollo de nuevos fármacos es fundamental para combatir las enfermedades, y las plantas medicinales, constituyen una alternativa prometedora, como se demuestra con ambas especies utilizadas en la península de Yucatán.

Palabras clave: actividad antioxidante; actividad antibacteriana; conocimiento tradicional; plantas medicinales; productos naturales; Península de Yucatán.

INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales son una fuente importante de conocimiento tradicional encaminadas al uso terapéutico para beneficio de la salud, su aplicación como remedio natural se remonta a los pueblos originarios; en la actualidad se siguen utilizando para el tratamiento de distintos padecimientos humanos (Can et al., 2017, Ortega-Cala et al., 2019). La Organización Mundial de la Salud (OMS, WHO, 2019) estima que, en las culturas indígenas de México, las prácticas medicinales a base de hierbas son utilizadas por el 20 al 40% de la población; sin embargo, gran parte de la información respecto a los usos medicinales se abandona y, por lo tanto, se pierde debido a la falta de valoración, interés y pérdida constante de los ecosistemas (Campos-Saldaña et al., 2018). Las plantas medicinales poseen un gran potencial, particularmente para la generación de fitofármacos (Durán y Méndez, 2015); sin embargo, de casi 4,000 especies vegetales con propiedades medicinales solo el 5% se ha estudiado respecto a un enfoque farmacológico (CONABIO, 2020); por lo tanto, es preciso conocer las plantas qué son aprovechadas con fines terapéuticos y estudiar su efectividad en modelos farmacológicos.

En la península de Yucatán aún se conservan las costumbres y conocimientos de la antigua civilización Maya sobre el aprovechamiento de su entorno natural, destacando el uso de las plantas medicinales; los mayas peninsulares utilizaban estas prácticas para aliviar sus malestares, además el manejo y conocimiento de estas plantas representa un uso sustentable para las selvas de los diferentes estados que conformar la península de Yucatán (Méndez-González *et al.*, 2014). Los habitantes de las zonas rurales siguen utilizando las plantas medicinales para elaborar remedios naturales y

atender o prevenir los problemas de salud, de esta manera se cubren la carencia de servicios de salud pública, escasez de medicamentos y del personal de salud (Medina *et al.*, 2018).

Entre las plantas de uso medicinal que son comúnmente utilizadas en la península de Yucatán para tratar distintos padecimientos, encontramos a Hamelia patens (Rubiaceae) conocida como coralillo o x k'anan, se distribuye en el continente americano, es un arbusto de zonas tropicales y subtropicales, y es originario de América donde se extiende desde Florida hasta Argentina (Rugerio-Escalona et al., 2018), es ampliamente utilizada en la zona maya para diferentes tratamientos cutáneos, aliviando granos e inflamación en la piel (Méndez et al., 2016), para el tratamiento del pie de atleta, picaduras de insectos, shock nervioso, reumatismo, dolor de cabeza, asma, disentería y diabetes (Rubio et al., 2018, Surana y Wagh, 2017). Por otro lado, Cecropia peltata (Urticacea) comúnmente conocida como guarumbo, k'ooch k'aax, sak kóoch v k'ooch le', se distribuye en áreas tropicales desde México hasta Centroamérica y Sudamérica, es considerada una especie exótica invasora debido a su rápido crecimiento (Duarte-Alonso et al., 2020, Méndez et al., 2016), sus hojas son usadas para la curación de heridas, afecciones cardiovasculares, respiratorias y diuréticas (Nayak, 2006, Ospina et al., 2013), así como para hipertensión, afecciones en la piel, diabetes, reumatismo, problemas digestivos, resfriado común y tos (Rivera-Mondragón et al., 2021).

Las especies vegetales presentan algunos metabolitos secundarios que contienen propiedades antioxidantes, las cuales son esenciales en la dieta ya que contribuyen a un estado de vida saludable. Durante el metabolismo del cuerpo humano se genera daño oxidativo en las

células causada por radicales libres, y los compuestos antioxidantes actúan inhibiendo la oxidación, lo que podría prevenir la aparición de cáncer y enfermedades como Parkinson, Alzheimer o aterosclerosis (Gibbons, 2012, Moharram y Youssef, 2014). Algunos estudios en H. patens y C. peltata han reportado actividad antioxidante. Surana et al. (2016) reportaron actividad antioxidante en los extractos de metanol, cloroformo y éter de petróleo de tallos de H. patens, destacando el extracto de cloroformo como un mejor eliminador de radicales DPPH en comparación con el extracto metanólico y éter de petróleo. Por otra parte, Mora et al. (2011) evaluaron los extractos metanólicos de hojas y raíces de C. peltata con el método ABTS; demostrando que el extracto metanólico de las hojas presenta mayor actividad antioxidante que el extracto de raíces, lo que podría estar relacionado con mayor estrés oxidativo al estar en contacto directo con la luz.

A nivel mundial se ha registrado que anualmente 700,000 personas mueren por infecciones causadas por bacterias resistentes a fármacos y se estima, que para el 2050 la resistencia antimicrobiana (RAM) causará 10 millones de muertes; además, la reducción de la eficacia y el aumento de la toxicidad de los fármacos antimicrobianos sintéticos agravarán este problema de salud mundial (Anand et al., 2019, O'Neill, 2016). Debido a la preocupante problemática de la RAM es necesario recurrir a alternativas para el control de estos patógenos multirresistentes, como los metabolitos secundarios presentes en las plantas medicinales (Hernández-Alvarado et al., 2018). Algunos autores han evaluado la actividad antibacteriana de las hojas de H. patens contra bacterias de importancia médica por el método de microdilución. Camporese et al. (2003) llevaron a cabo un estudio en Belice y usaron la técnica de maceración secuencial de las hojas de H. patens con n-hexano, cloroformo y metanol, los resultados revelaron actividad de los extractos con n-hexano y metanol sobre E. coli ATCC 25922 (concentración mínima inhibitoria [CMI] de 2,500 µg/mL), mientras que ninguno de los tres extractos demostró actividad contra S. aureus ATCC 25923.

La flora de la península de Yucatán ha sido ampliamente estudiada tanto por biólogos como por naturalistas, recibiendo menor atención por su potencial como una fuente de nuevos metabolitos secundarios bioactivos. En la península de Yucatán existen algunas plantas que son consideradas nativas y endémicas, las cuales poseen una distribución geográfica limitada y muchas de ellas se encuentran en ecosistemas amenazados o están desapareciendo debido al continuo crecimiento urbano (Hernández-Bolio *et al.*, 2019). La mayor parte de los estudios realizados en el estado de Quintana Roo son del tipo etnobotánico, sin evaluar su actividad biológica, por lo que, se realizó el presente trabajo farmacognóstico de especies vegetales colectadas en el municipio de Othón

P. Blanco, Q. Roo, México, durante la temporada de sequía y mediante el método de extracción asistido por ultrasonido. Así, el objetivo de este trabajo fue determinar la actividad antioxidante y antibacteriana (contra las bacterias resistentes de las especies *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Acinetobacter baumannii*) de extractos y fracciones de las hojas de *H. patens* y *C. peltata*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Zona de colecta

La colecta de las hojas de H. patens y C. peltata se llevó a cabo en la zona periurbana de Chetumal en el Municipio de Othón P. Blanco, Quintana Roo, en la carretera Villahermosa - Chetumal y en las instalaciones de INIFAP - Campus Chetumal, Municipio de Bacalar. El clima de la zona de colecta es del tipo cálido subhúmedo con lluvias en verano y parte del invierno, con una temperatura anual de 26°C; sin embargo, actualmente para la península de Yucatán se estima un incremento en las temperaturas y reducción en las precipitaciones, lo que provoca sequías prolongadas y al mismo tiempo afectan la distribución de las especies (Cruz-Aviña et al., 2022, Santillán-Fernández et al., 2021). La colecta se realizó en marzo del 2022 durante la temporada de sequía y se comprobó la identidad taxonómica de las especies en la página del herbario del CICY, bajo el número de catálogo de Hamelia patens (C. Chan 6186, CICY, MO.) y Cecropia peltata (Calzada et al., 7036, CICY, MEXU, XAL.) (CICY, 2021, Duno et al., 2010), de ECOSUR-Chetumal para H. patens (L. Serralta 5643, CIOR) v C. peltata (N. Sorensen v M. Valdez 19166, CIQR) (Islebe, 2021, Valdez-Hernández, 2013) y en el herbario virtual de CONABIO con número de referencia de H. patens (Nova V. JAdNV0416) (CONABIO, 2021).

Preparación de los extractos hidroalcohólicos

Se seleccionaron y colectaron 7 kg de hojas de plantas adultas de H. patens y C. peltata, se lavaron y secaron a temperatura ambiente (≈30°C) durante 72 h, posteriormente el material se secó en estufa a 50°C por 24 h. Las hojas deshidratadas fueron trituradas y colocadas en recipientes ámbar de 4 L, y por cada 500 g (peso seco) de hojas se emplearon 3 L de etanol-agua 80:20 (v/v), la extracción fue asistida por ultrasonido durante 30 min en un baño ultrasónico (Cole-Parmer, Vernon Hills, E.E. U.U.), este proceso se repitió tres veces para cada especie. Posteriormente, el extracto hidroalcohólico (EHA) obtenido se sometió a filtración para finalmente eliminar el disolvente a presión reducida a 45°C en un evaporador rotatorio al vacío (AE-RE-2, A & E Lab, Londres, UK). El EHA resultante se congeló para someterlo a un proceso de liofilización (A&ELab, modelo: FZ-10N-3, Londres,

UK) (Peñuelas-Rubio *et al.*, 2015) y finalmente el EHA recuperado se conservó en envases de cristal en refrigeración a 4°C hasta su uso.

Fraccionamiento de los extractos hidroalcohólicos

Las fracciones del EHA de hojas de cada especie, se obtuvieron con el método de extracción líquido-líquido continuo (Otsuka, 2006) empleando *n*-hexano (*n*-Hex), diclorometano (DCM) y acetato de etilo (AcOEt). Se pesaron 25 g del EHA y se diluyeron en 100 mL de etanol-agua (50:50), a continuación, se obtuvieron las fracciones de forma secuencial utilizando 200 mL por cada disolvente agitando durante 5 min y dejando reposar durante 45 min hasta la separación de fases. Finalmente, se obtuvieron las tres fracciones: fracción *n*-hexano (FHex), fracción soluble en diclorometano (FDCM) y fracción de acetato de etilo (FAcOEt).

Determinación de la capacidad antioxidante

Se determinó la actividad antioxidante de los extractos EHA y fracciones de H. patens y C. peltata evaluando la reducción del 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH, Sigma-Aldrich D9132-1G, Steinheim, Alemania). Para obtener la curva de calibración se preparó una solución stock de 2.5 mg DPPH en 80 mL de metanol ajustada a una absorbancia de 0.7 ± 0.2 a 517 nm y seis diluciones (100, 280, 460, 640, 820 y 1000 µM) de Trolox (ácido (±) 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2ácido carboxílico 97% Sigma-Aldrich 238813-5G, Steinheim, Alemania) en metanol (Brand-Williams et al., 1995, modificada por Medina-Saavedra et al., 2020). La actividad antioxidante de Trolox de las seis concentraciones se obtuvo con la adición de 3.9 mL de la solución de DPPH, posteriormente, se incubó por 30 min la reacción y se determinó la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro (Thermo Genesys 10 UV, Madison, EE. UU.).

El porcentaje de inhibición del DPPH se calculó con la fórmula (Brand-Williams *et al.*, 1995):

% inhibición
$$= \left(\frac{ABS\ inicial\ - ABS\ final}{ABS\ inicial}\right) X\ 100$$

Donde: ABS= Absorción

Una vez determinada la curva de calibración, se evaluó la actividad antioxidante de los extractos y fracciones de ambas especies, a través del cálculo del porcentaje de inhibición (por triplicado) a partir de una solución stock (10 mg de muestra con 10 mL de metanol) ajustada a una concentración de 250 µg/mL por sonicación en un tiempo de 5 a 15 min (dependiendo de la solubilidad de la muestra) y se colocaron en tubos de ensayo para su reacción en obscuridad con 3.9 ml

de DPPH durante 30 min. En el caso de la FAcOEt de ambas especies, se realizó un ajuste de la dilución a $100~\mu g/mL$, porque se obtuvieron altos porcentajes de inhibición; y en el caso de la FHex, se utilizó como disolvente etanol 96%. La actividad antioxidante se expresó en términos de concentración como equivalentes μM de Trolox (ET) a partir de la curva de calibración utilizando la ecuación determinada por una regresión lineal de tipo: y=0.701x-1.3325, $r^2=0.9956$. Se utilizó metanol como blanco y para FHex etanol 96%.

Obtención y preparación de cepas bacterianas

Las cepas bacterianas de S. aureus, E. coli y A. baumannii incluyeron cepas de referencia del American Type Culture Collection (ATCC): las cepas S. aureus ATCC 4330, E. coli ATCC 35218 y A. baumannii ATCC BAA-1605 y tres aislamientos clínicos multirresistentes de estas mismas especies del biobanco de la Unidad de Investigación Médica Yucatán, que previamente fueron aislados e identificados en el Laboratorio de Microbiología de la Unidad Médica de Alta Especialidad, IMSS, Mérida, Yucatán. Las cepas se reactivaron en medio de cultivo agar Müller Hinton por estriado y se incubaron a 37°C durante 24 h. Posteriormente, se realizaron cultivos en caldo Müller Hinton hasta alcanzar una turbidez comparable con el estándar 0.5 de McFarland (Uc-Cachon et al., 2021).

Determinación de la actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana se determinó con la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos y fracciones aplicando el método de dilución de caldo con el colorante de viabilidad celular resazurina (REMA) descrita por Sarker et al. (2007) y modificada por Uc-Cachón et al. (2021). Los extractos y fracciones fueron disueltos en dimetilsulfóxido (DMSO, 100%) durante 1 h para esterilizar, posteriormente se diluyeron en medio de cultivo Müller Hinton en una microplaca de 96 pocillos y se obtuvieron las siguientes concentraciones a través de diluciones seriadas de 1,000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 μg/mL, 125 μg/mL y 62.5 μg/mL. Para la prueba de inhibición de crecimiento bacteriano se agregaron 100 μL de una dilución 1:50 de la suspensión bacteriana en las diferentes diluciones y se incubaron durante 16 h a 37°C. Además, se incluyeron controles positivos (fármacos antibacterianos específicos para cada bacteria; Tabla 1), controles negativos (cultivos bacterianos sin tratamiento) y un control de esterilidad (solo medio de cultivo). Después de la incubación se añadieron 30 µL de 0.015% (p/v) de resazurina y la placa se re-incubó durante 2 h a 37°C. La CMI corresponde a la menor concentración del extracto o fracción que permanece con una coloración azul (Molina-Salinas, 2006).

Análisis estadístico

Para determinar diferencias significativas de la actividad antioxidante entre los extractos y fracciones de ambas especies se hizo una prueba de Kruskal-Wallis (p < 0.05) y una prueba post-hoc de Dunn (p < 0.05) para identificar las diferencias significativas. Los análisis y figuras se llevaron a cabo con los softwares Statistica 12 y SigmaPlot 12.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la capacidad antioxidante a través de la prueba Kruskal-Wallis (H: 69.92; p < 0.001) muestran que hay diferencias estadísticamente significativas (p < 0.001) entre los extractos y fracciones de ambas especies, en donde la prueba post hoc de Dunn (p < 0.05) demostró que las FAcOEt de ambas especies presentan los valores más altos y diferencias significativas con respecto a los otros tratamientos. La fracción con mayor captación de DPPH para ambas especies fue la de FAcOEt con 6282 \pm 79.6 μ Mol (ET)/g y de 4936 \pm 82.7 μ Mol (ET)/g en μ H. patens y C. peltata, respectivamente; seguido del EHA. Las fracciones con menor captación de DPPH y sin diferencias estadísticamente significativas, fueron

las fracciones FHex y FDCM de ambas especies (Figura 1).

La alta actividad antioxidante de FAcOEt y el EHA de ambas especies podría estar relacionada con la producción de metabolitos secundarios de compuestos polares como los compuestos fenólicos (Arumugam et al., 2006, Echavarría et al., 2009, Seidel, 2012). La actividad antioxidante de H. patens y C. peltata ha sido evaluada en diferentes zonas geográficas, en diferentes órganos de la planta y diferentes métodos de extracción; los resultados obtenidos en este estudio coinciden en que la actividad antioxidante se presenta en las fracciones o extracciones polares de las hojas; como en el estudio de Surana et al. (2016) en donde encontraron mayor actividad antioxidante y contenido fenólico en los extractos crudos de metanol, cloroformo y éter de petróleo en tallos de H. patens. Además, Gutiérrez-Sánchez et al., (2022) confirman que las hojas de H. patens son una excelente fuente de compuestos fenólicos, los cuales le confieren sus principales propiedades antioxidantes. Por otro lado, Mora et al. (2011) reportaron que los extractos metanólicos de las partes áreas y raíces de C. peltata presentan correlación positiva entre la actividad antioxidante y el contenido fenólico total. De esta forma, el siguiente paso es identificar los compuestos polares responsables de la actividad antioxidante.

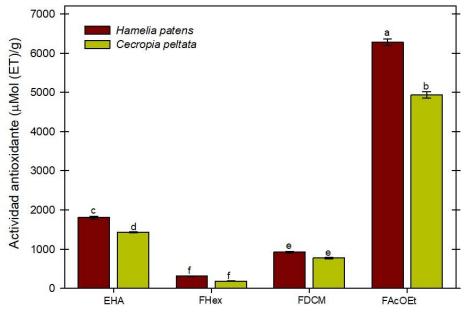


Figura 1. Capacidad antioxidante (μ Mol (ET)/g) de extractos y fracciones de *H. patens* y *C. peltata*. Los resultados muestran el promedio \pm error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (n = 9; H: =69.92; p < 0.001; Dunn p < 0.05). EHA=Extracto hidroalcohólico, FHex= fracción n-hexano, FDCM= fracción diclorometano, FAcOEt= fracción acetato de etilo.

La prueba de DPPH nos proporciona información importante de la actividad antioxidante de las especies estudiadas, las condiciones reales pueden ser distintas, y por lo tanto, se deben hacer pruebas de la actividad antioxidante in vivo y relacionarlo con las enfermedades producidas por estrés oxidativo, así como conocer cómo actúan los mecanismos fisiológicos humanos y como interactúan con los compuestos activos de las muestras (Škrovánková et al., 2012), además, es importante realizar un perfil antioxidante completo, es decir determinar los componentes antioxidantes, su acción biológica in vitro, con cambios en sus condiciones ambientales, geográficas, climáticas y partes de la planta; la elección del disolvente, tiempo de reacción, pH y el antioxidante estándar empleado pueden reflejar diferentes resultados (Boligon et al., 2014).

En cuanto a la actividad antibacteriana, mostró que los extractos y las fracciones de las especies vegetales *H. patens* y *C. peltata* no inhibieron el crecimiento de las cepas de *S. aureus*, *E. coli* y *A. baumannii*, en el rango de concentración evaluado (1000-62.5 μg/mL) (Tabla 1).

Estudios farmacognósticos han reportado actividad antibacteriana de *H. patens* y *C. peltata* sobre las especies bacterianas de interés: *E. coli*, *S. aureus* y *A. baumannii*. Al igual que en el presente estudio la actividad de los extractos de hojas de *H. patens* es considerada no activa. Sin embargo, Camporese *et al*.

(2003) y Gutiérrez-Sánchez et al. (2022), reportaron actividad antimicrobiana en el extracto EtOH sobre un aislado clínico de E. coli no productora de βlactamasa con CMI de 94 µg/mL (Gutiérrez-Sánchez et al., 2022) y en n-Hex sobre las cepas de referencia de A. baumannii ATCC BAA-747 y BAA-1605 (CMI= 250 μg/mL) (Núñez et al., 2023), ambos extractos obtenidos por el mismo método de extracción asistida por ultrasonido. Así, se sugiere que la actividad biológica de los extractos vegetales podría estar relacionada con la zona geográfica de colecta, el órgano de la planta y el método de extracción, influyendo en la composición y proporción de los fitoconstituyentes y por ende en la inhibición de la actividad antibacteriana. Además, las características de las bacterias usadas en el bioensayo también pueden influir en la actividad, ya sea porque son cepas de referencia ATCC o de otra colección, o aislados clínicos con perfiles de resistencia muy particulares (Mora-Villa et al., 2021, Oliveira et al., 2016).

Por otro lado, en el caso de *C. peltata*, Rojas *et al.* (2006) reportaron actividad antibacteriana mediante el método de difusión en agar, sobre cepas de referencia de *S. aureus* y *E. coli*, la actividad es expresada como el porcentaje del diámetro relativo de la zona de inhibición (DRZI), a una concentración de 25 µg/mL por extracto, lo cual no permite comparar la bioactividad con los resultados del presente trabajo.

Tabla 1. Actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólico y fracciones de H. patens y C. peltata.

Microorganismos			Concentración mínima inhibitoria (µg/mL)								
				H. patens				C. peltata			
			ЕНА	FHex	FAcOEt	FDCM	ЕНА	FHex	FDCM	FAcOEt	positivo Antibiótico
Bacteria	ID	Perfil del fármaco de resistencia									
S. aureus	ATCC	MDR,	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	RIF: 0.04
	43300	MRSA									
	*UIMY-	MDR,	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	TET: 0.5
	SAU-44	MRSA, VRSA									
E. coli	ATCC 35218	SCB, PβL	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	AMK: 1
	*UIMY-	MDR, SCB, BLEE	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	AMK: 1
A.	ECO-8 ATCC	XDR, RCB	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	TET: 0.5
baumannii	BAA- 1605										
	*UIMY- ABA-81	MDR, RCB	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	TET: 0.5

^{*:} aislado clínico; MDR: cepa multidrogorresistente; MRSA: *S. aureus* resistente a meticilina; VRSA: *S. aureus* resistente a vancomicina; XDR: cepa con drogorresistencia extendida; RCB: cepa resistente a carbapenémicos; PβL: cepa productora de beta-lactamasas; SCB: cepa sensible a carbapenémicos; BLEE: cepa productora de beta-lactamasas de expectro extendido; RIF: Rifampicina; TET: Tetraciclina; AMK: Amikacina; EHA: extracto hidroalcohólico; FHex: fracción *n*-Hexano; FAcOEt: fracción acetato de etilo; FDCM: fracción de diclorometano.

La actividad antibacteriana podría estar relacionados con los métodos de extracción, debido a que sus características permiten obtener distintos compuestos. Algunos métodos convencionales como la extracción por maceración tiene desventajas como la degradación de compuestos, largos periodos de extracción y el elevado gasto del disolvente (Oliveira et al., 2016), en comparación con la técnica de ultrasonido, este último implica un proceso más eficiente, el estrés mecánico genera la descomposición celular y, a su vez aumenta la solubilización, mejorando los rendimientos de extracción (Seidel, 2012); sin embargo, presenta desventajas como la baja selectividad de extracción (Oliveira et al., 2016). Además, se ha demostrado que la inhibición de bacterias depende en gran medida del compuesto bioactivo presente en el extracto, así como diferentes concentraciones de éste (Bhatia et al., 2021). Asimismo, algunos metabolitos secundarios presentan un espectro específico de actividad, por lo tanto, serán activos en ciertas categorías o especies de microorganismos (Dzul-Beh et al., 2023, Voukeng et al., 2016).

Por otra parte, las técnicas de difusión pueden ser válidas para la detección de efectos antimicrobianos, es decir, solo son apropiados como una prueba previa a la determinación cuantitativa del CMI a través de métodos de dilución (Corrales et al., 2013). También se debe considerar que la variabilidad en la actividad antimicrobiana puede deberse a diferencias estructurales y fisiológicas de las cepas bacterianas (Mora-Villa et al., 2021). Si se toma en cuenta que los valores de CMI inferiores o igual a 1,000 µg/mL son potenciales agentes antimicrobianos (Dzul-Beh et al., 2023), la actividad obtenida en el presente estudio no fue significativa. Las plantas medicinales H. patens y C. peltata no presentaron actividad antimicrobiana contra S. aureus, E. coli y A. baumannii.

Desde la perspectiva más general el creciente interés por las plantas medicinales se debe a sus múltiples propiedades biológicas y terapéuticas, además que a lo largo de la historia han sido utilizadas por las comunidades humanas para solucionar problemas cotidianos y se ha acumulado importante conocimiento sobre sus usos y distintas aplicaciones, especialmente para el tratamiento de diferentes padecimientos; asimismo tienen mayor accesibilidad, al encontrarse con facilidad en el ambiente, implicando menos gastos económicos y en algunos casos producen menos efectos nocivos para la salud en comparación con los productos farmacéuticos actuales (Abubacker et al., 2013, Ruelas et al., 2020), incluso la OMS promueve el uso apropiado de la medicina natural y tradicional debido a su efectividad en enfermedades agudas y porque en muchos países es la única forma de atención asequible y disponible (Soria y Ramos, 2015). Sin embargo, para llegar a las aplicaciones medicinales, se requiere de investigación científica extensa y meticulosa sobre las propiedades terapéuticas, en especial caracterizar la composición química, efectos secundarios y toxicidad de las plantas, debido a que la dosificación y uso inadecuado implica riesgos importantes en la salud y lejos de ser benéfica puede ocasionar daños irreversibles, por lo que las plantas medicinales se deben usar bajo control médico y con moderación (Ahmad *et al.*, 2012). Por lo tanto, se recomienda ampliar los estudios farmacognósticos de las especies vegetales de la península de Yucatán, que podrían ser alternativas para atender los problemas de Salud Pública como la RAM o enfermedades en las que participan los radicales libres, lo que a su vez permite aprovechar y revalorizar la medicina tradicional.

CONCLUSIONES

Este estudio sugiere que los extractos y fracciones de las hojas de H. patens y C. peltata presentan actividad antioxidante in vitro, destacando la FAcOEt que mostró una alta capacidad antioxidante, lo que lo hace un candidato potencial para futuras investigaciones, mientras que la prueba de actividad antibacteriana indica que no hay actividad relevante contra cepas fármacorresistentes de S. aureus, E. coli y A. baumannii. Esto sugiere que ambas especies vegetales son una fuente importante de antioxidantes naturales que podrían ayudar a prevenir la progresión de diversas enfermedades causadas por radicales libres, sin embargo, aún no se han identificado los componentes responsables de esta actividad, por lo tanto, se requiere aislar e identificar los compuestos antioxidantes presentes en los extractos de estas especies.

Agradecimientos

A Julio Escobedo y Alexander Chan por su apoyo en la colecta de las plantas, al Ing. Joel Casanova por su apoyo en la prueba de antioxidantes, al INIFAP y al IMSS por su apoyo para llevar a cabo este proyecto.

Funding. Part of this research was financed by the project CONAHCyT Ciencia de Frontera-2021-319795.

Conflict of interest. The authors declare that they have no conflict of interest.

Compliance with ethical standards. The authors have not made statements, due to the design of the study. The study does not involve human or animal subjects.

Data availability. 1) Data are available with Claudia González Salvatierra, claudia.gs@chetumal.tecnm.mx upon reasonable request and 2) All data is presented in the present paper.

Author Contributions. C. González-Salvatierra and D.D. Montufar-Canto –Investigation, formal analysis and writing – original draft; C. González-Salvatierra – Conceptualization, Funding acquisition; L.I. Hernández-Chávez – Methodology, resources and writing – original draft; A.H. Uc-Cachón and G.M. Molina-Salinas – Methodology, resources and writing – original draft. All authors read and approved the final manuscript.

REFERENCES

- Abubacker, M.N., Sathya, C. and Prabakaran, R., 2013. *In vitro* antifungal potentials of *Hamelia patens* Jacq. (Rubiaceae) aqueous extracts of leaves, flowers and fruits. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 10(2), pp. 699–704. http://dx.doi.org/10.13005/bbra/1183
- Ahmad, A., Pandurangan, A., Singh, N. and Ananad, P., 2012. A mini review on chemistry and biology of *Hamelia patens* (Rubiaceae). *Pharmacognosy Journal*, 4(29), pp. 1–4. https://doi.org/10.5530/pj.2012.29.1
- Anand, U., Jacobo-Herrera, N., Altemimi, A. and Lakhssassi, N., 2019. A comprehensive review on medicinal plants as antimicrobial therapeutics: potential avenues of biocompatible drug discovery. *Metabolites*, 9(11), p. 258. https://doi.org/10.3390/metabo9110258
- Arumugam, P., Ramamurthy, P., Santhiya, S.T. and Ramesh, A., 2006. Antioxidant activity measured in different solvent fractions obtained from *Mentha spicata* Linn.: An analysis by ABTS decolorization assay. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 15(1), pp. 119-124. Disponible en: http://apjcn.nhri.org.tw/server/APJCN/15/1/119.pdf [Consultado el 14 de octubre de 2023].
- Bhatia, P., Sharma, A., George, A.J., Anvitha, D., Kumar, P., Dwivedi, V.P. and Chandra, N.S., 2021. Antibacterial activity of medicinal plants against ESKAPE: An update. *Heliyon*, 7(2), pp. 1-12. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e0631
- Boligon, A.A., Machado, M.M. and Athayde, M.L., 2014. Technical evaluation of antioxidant activity, *Medicinal Chemistry*, 4(7), pp. 517–522. https://doi.org/10.4172/2161-0444.1000188

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebens, Wiss, *Technol-Food Science and Technology*, 28(1), pp. 25–30. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5
- Camporese, A., Balick, M.J., Arvigo, R., Esposito, R.G., Morsellino, N., De Simone, F. and Tubaro A., 2003. Screening of anti-bacterial activity of medicinal plants from Belize (Central America). *Journal of Ethnopharmacology*, 87(1), pp. 103–107. https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00115-6
- R.A., Campos-Saldaña, Solís-Vázquez, O.O., Velázquez-Nucamendi, A., Cruz-Magdaleno, L.A., Cruz-Oliva, D.A., Vázquez-Gómez, M. and Rodríguez-Larramendi, L.A., 2018. Saber etnobotánico, riqueza y valor de uso de plantas medicinales en Monterrey, Villa Chiapas (México). Boletín Corzo, Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 17(4), pp. 350-362. Disponible en: https://blacpma.mseditions.cl/index.php/blacpma/article/view/1 16 [Consultado el 14 de octubre de 2023].
- Can, G.O.C., Aguilar C.W.J. and Ruenes M.R., 2017.

 Médicos tradicionales mayas y el uso de plantas medicinales, un conocimiento cultural que continúa vigente en el municipio de Tzucacab, Yucatán, México. *Teoría y praxis*, (21), pp. 67-89. Disponible en:

 http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=45615
 0029005 [Consultado el 14 de octubre de 2023].
- CICY, 2021. Desde el Herbario CICY. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Disponible en:

 http://www.cicy.mx/sitios/desde_herbario/
 [Consultado el 4 de febrero del 2022].
- CONABIO, 2020. Plantas medicinales, Biodiversidad Mexicana. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Disponible en: https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/medicinal/plantas [Consultado el 14 de octubre de 2023].
- CONABIO, 2021. Herbario virtual, Biodiversidad Mexicana. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Disponible en: https://www.biodiversidad.gob.mx/especies/

- <u>herbario-virtual</u> [Consultado el 4 de febrero del 2022].
- Corrales, R.L., Castillo, C.A. and Melo, V.A., 2013. Evaluación del potencial antibacterial *in vitro* de *Croton lechleri* frente a aislamientos bacterianos de pacientes con úlceras cutáneas. *Nova*, 11(19), pp. 51-63. http://dx.doi.org/10.22490/24629448.1018
- Cruz-Aviña, J.R, Dzul-Ramírez R.D., Díaz-Larrea, J., Castañeda-Roldán, E.I., Cruz-Díaz, Y.L. and Cabrera, R., 2022. Carbon bonds as a proposal for environmental conservation for the micro-watershed Ejido la Laguna OM in Quintana Roo, Mexico. *Nexo Revista Científica*, 35(02), pp. 459–475. https://doi.org/10.5377/nexo.v35i02.14623
- Duarte-Alonso, A., Cu-Cañetas T.E., Avila-Nava, A., Sansores-España, D., Acevedo-Fernández, J.J., Sandoval-Peraza, M., Chel-Guerrero, L. and Torre-Villalvazo, I., 2020. A *Cecropia peltata* ethanolic extract reduces insulin resistance and hepatic steatosis in rats fed a high-fat diet. *Journal of Ethnopharmacology*, 261, pp. 113087. https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113087
- Duno, D.S.R., Carnevali Fernández-Concha, G., Ramírez, M.I.M., Tapia, M.J.L., Can I.L.L., Hernández-Aguilar, S. and Embray, T. 2010 en adelante. Flora de la Península de Yucatán. Disponible en: https://www.cicy.mx/sitios/flora%20digital/ [Consultado el 4 de febrero del 2022].
- Durán, G.R. and Méndez, G.M., 2015. Medicina tradicional y las plantas medicinales en el contexto actual. México, Yucatán: *Herbario CICY*, 7, pp. 165–168. Disponible en: https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Desde_Herbario/2015/2015-10-19-Duran_Mendez-Medicina-tradicional.pdf [Consultado el 14 de octubre de 2023].
- Dzul-Beh, A.D.J., Uc-Cachón, A.H., González-Sánchez, A.A., Dzib-Baak, H.E., Ortiz-Andrade, R., Barrios-García, H.B., Jiménez-Delgadillo, B. and Molina-Salinas, G.M., 2023. Antimicrobial potential of the Mayan medicine plant *Matayba oppositifolia* (A. Rich.) Britton against antibiotic-resistant priority pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*, 300, pp. 115738. https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115738
- Echavarría, Z.B., Franco, S.A. and Martínez, M.A., 2009. Antioxidant activity evaluation and

- phenolic compound content determination of seaweeds extracts from the Colombian Caribbean. *Vitae*, 16(1), pp. 126–131. https://doi.org/10.17533/udea.vitae.1434
- Gibbons, S., 2012. An introduction to planar chromatography and its application to natural products isolation. In: Sarker, S.D. and Nahar, L., eds., Natural products isolation. *Totowa, NJ: Humana Press (Methods in Molecular Biology)*, pp. 117–153. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-624-1_6
- Gutiérrez-Sánchez, M.D.C., Aguilar-Zárate, P., Michel-Michel, M.R., Ascacio-Valdés, J.A. and Reyes-Munguía, A., 2022. The ultrasound-assisted extraction of polyphenols from Mexican firecracker (*Hamelia patens* Jacq.): Evaluation of Bioactivities and Identification of Phytochemicals by HPLC-ESI-MS. *Molecules*, 27(24), pp. 8845. https://doi.org/10.3390/molecules27248845
- Hernández-Alvarado, J., Zaragoza-Bastida, A., López-Rodríguez, G., Peláez-Acero, A., Olmedo-Juárez, A. and Rivero-Perez, N., 2018. Actividad antibacteriana y sobre nematodos gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: enfoque en Medicina Veterinaria. *Abanico Veterinario*, 8(1), pp. 14-27. https://doi.org/10.21929/abavet2018.81.1
- Hernández-Bolio, G.I., Ruiz-Vargas, J.A. and Peña-Rodríguez, L.M., 2019. Natural products from the Yucatecan flora: structural diversity and biological activity. *Journal of Natural Products*. 82(3), pp. 647–656. https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00959
- Islebe, G.A., 2021. Comisión nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad C. Base de datos del Herbario CIQR de El Colegio de la Frontera Sur, unidad Chetumal. Versión 1.9. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de Biodiversidad. https://doi.org/10.15468/qp5zke accessed via GBIF.org [Consultado el 4 de febrero del 2022].
- Medina, F.J., Medina, F.I., Candila, C.J. and Yam S.A., 2018. Saberes y prácticas de una población rural maya con diabetes tipo 2 sobre plantas medicinales. *RqR Enfermería Comunitaria*, 6(2), pp. 76–91.
- Medina-Saavedra, G.Y., Ramírez-Rivera, E.J., Herrera-Corredor, J.A., Sánchez-Valera, O.V. and Ramón-Canul, L.G., 2020. Evaluación de

- diversas actividades biológicas in vitro en las hojas de *Mangifera indica* L. *Coloquio de Investigación Multidisciplinaria 2020*, 8(1), pp. 1422–1428.
- Méndez González, M., Dorantes, E.A., Pacheco G., G.T. and Durán, G.R., 2016. Guía de colección de plantas medicinales del Banco de Germoplasma PCTY, México, Yucatán: CICY.

https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Lig as_Interes/2016/GuiaPlantMed_BG-PCTY.pdf

- Méndez-González, M.E., Torres-Avilez, W.M., Dorantes-Euán, A. and Durán-García, R., 2014. Jardines medicinales en Yucatán: una alternativa para la conservación de la flora medicinal de los mayas. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 37(2), pp. 97–106. http://dx.doi.org/10.35196/rfm.2014.2.97
- Moharram, H.A. and Youssef, M.M., 2014. Methods for determining the antioxidant activity: A review. *Alexandria Journal of Food Science and Technology*, 11(1), pp. 31–42. https://doi.org/10.12816/0025348
- Molina-Salinas, G.M., Ramos-Guerra, M.C., Vargas-Villarreal, J., Mata-Cárdenas, B.D., Becerril-Montes, P. and Said-Fernández, S., 2006. Bactericidal activity of organic extracts from *Flourensia cernua* DC against strains of *Mycobacterium tuberculosis. Archives of Medical Research*, 37(1), pp. 45–49. https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2005.04.010
- Mora, I.A., Nicasio, T.M.D.P., Sepúlveda, J.G. and Cruz, S.F., 2011. Changes in biomass allocation and phenolic compounds accumulation due to the effect of light and nitrate supply in *Cecropia peltata* plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(6), pp. 2135–2147. https://doi.org/10.1007/s11738-011-0753-5
- Mora-Villa, A., Serrano-Parrales, R., Lira-Saade, R., Jiménez-Estrada, M. and Hernández-Delgado, T., 2021. Evaluation of the antimicrobial activity of *Leucaena esculenta* and *Leucaena leucocephala* seed collected from Tlayacapan, Morelos (Mexico). *Polibotánica*, (52), pp. 175-191. https://doi.org/10.183887/polibotanica.52.12
- Nayak, B.S., 2006. *Cecropia peltata* L (Cecropiaceae) has wound-healing potential: a preclinical study in a sprague dawley rat model. *The International Journal of Lower Extremity*

- *Wounds*, 5(1), pp. 20-26. https://doi.org/10.1177/1534734606286472
- Núñez, M.J., Paz-González, A.D., Vázquez-Jiménez, L.K., Castillo, U.G., Moo-Puc, R., Chan-Bacab, J.M., Aguilera-Arreola, G., Catalán-Gonzalez, L., Quintana-Gómez, A.U., Castañeda-Sánchez, J.I., Luna-Herrera, J. and Rivera G., 2023. *In vitro* antiparasitic and antibacterial evaluation of organic extracts of Salvadoran flora. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 22(1), pp. 19-36. https://doi.org/10.37360/blacpma.23.22.1.2
- O'Neill, J., 2016. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. The review on Antimicrobial Resistance. Review on Antimicrobial Resistance. Wellcome Trust and HM Government. Disponible en: https://amrreview.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf [Consultado el 14 de octubre de 2023].
- Oliveira, D.A., Angonese, M., Gomes, C.L. and Ferreira, S.R., 2016. Valorization of passion fruit (*Passiflora edulis* sp.) by-products: Sustainable recovery and biological activities. *The Journal of Supercritical Fluids*, 111, pp. 55-62.

https://doi.org/10.1016/j.supflu.2016.01.010

- Ortega-Cala, L.L., Monroy-Ortiz, C., Monroy-Martínez, R., Colín-Bahena, H., Flores-Franco, G., Luna-Cavazos, M. and Monroy-Ortiz, R., 2019. Plantas medicinales utilizadas para enfermedades del sistema digestivo en Tetela del Volcán, Estado de Morelos, México. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 18(2), pp. 106-129. https://doi.org/10.37360/blacpma.19.18.2.9
- Ospina, C.J., Rincón, V.J. and Guerrero, P.M., 2013. Perfil neurofarmacológico de la fracción butanólica de las hojas de *Cecropia peltata* L. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 42(2), pp. 244-259.
- Otsuka, H., 2006. Purification by solvent extraction using partition coefficient. In: Sarker, S.D., Latif, Z. and Gray, A.I., eds., Natural products isolation. Totowa, *NJ: Humana Press*, pp. 269–273. https://doi.org/10.1385/1-59259-955-9:269
- Peñuelas-Rubio, O., Arellano-Gil, M., Vargas-Arispuro, I.C, Lares-Villa, F., Cantú-Soto,

- E.U., Hernández-Rodríguez, S.E. Gutiérrez-Coronado, M.A. and Mungarro-Ibarra, C., 2015. Bioactividad in vitro de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata*) sobre la inhibición de hongos poscosecha: *Alternaria tenuissima*, *Aspergillus niger*, *Penicillium polonicum* y *Rhizopus oryzae*. *Polibotánica*, (40), pp. 183–198. https://doi.org/10.18387/polibotanica.40.12
- Rivera-Mondragón, A., Ortíz, O.O., Gupta, M.P. and Caballero-George, C., 2021.

 Pharmacognostic evaluation of ten species of medicinal importance of *Cecropia*: current knowledge and therapeutic. *Planta Medica*, 87(10-11), pp. 764-779. https://doi.org/10.1055/a-1495-9785
- Rojas, J.J., Ochoa, V.J., Ocampo, S.A. and Muñoz, J.F., 2006. Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: A possible alternative in the treatment of nonnosocomial infections. *BioMed Central Complementary and Alternative Medicine*, 6(2), pp. 1–6. https://doi.org/10.1186/1472-6882-6-2
- Rubio, F.Y., Valdivia, A.A.L., Camacho, C.C., Matos, T.M., Sosa, D.C.M. and Pérez, H.Y., 2018. Composición fitoquímica y actividad antibacteriana de extractos de hoja de *Hamelia patens* Jacq. Biotecnología Vegetal, 18(1), pp. 37-45. Disponible en: https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/574 [Consultado el 14 de octubre de 2023].
- Ruelas, H.P.G., Valdivia, B.R. and Arrieta, R.B.G., 2020. Etnobotánica de calabazas en Nayarit, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 23(18), pp. 1-10. http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.2810
- Rugerio-Escalona, C., Ordaz-Pichardo, C., Becerra-Martinez, E., Cruz-López, M.D.C., López-y-López, V.E., Mendieta-Moctezuma, A., Maldonado-Mendoza, I.E. and Jiménez-Montejo, F.E., 2018. Diabetes metabolism disorders medicinal plants: a glance at the past and look to the future 2018: antihyperglycemic activity of *Hamelia patens* extracts. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 1-9. https://doi.org/10.1155/2018/7926452
- Santillán-Fernández, A., Escobar-Castillo, J., Ireta-Paredes, A.D.R., Espinosa-Grande, E.,

- Bautista-Ortega, J. and Chávez-Vergara, B.M., 2021. Relación entre la riqueza de especies arbóreas y el cambio climático en el sureste de México. *Madera y Bosques*, 27(3). https://doi.org/10.21829/myb.2021.2732124
- Sarker, S.D., Nahar, L. and Kumarasamy, Y., 2007.

 Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the *in vitro* antibacterial screening of phytochemicals.

 Methods, 42(4), pp. 321–324.

 https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2007.01.006
- Seidel, V., 2012. Initial and bulk extraction of natural products isolation. In: Sarker, S.D. and Nahar, L., eds., Natural products isolation. Totowa, NJ: Humana Press, Methods in Molecular Biology, pp. 27–41. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-624-12
- Škrovánková, S., Mišurcová, L. and Machů, L., 2012.

 Antioxidant activity and protecting health effects of common medicinal plants.

 Advances in Food and Nutrition Research, 67, pp. 75–139.

 https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394598-3.00003-4
- Soria, N. and Ramos, P., 2015. Uso de plantas medicinales en la atención primaria de la salud en Paraguay: algunas consideraciones para su uso seguro y eficaz. *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*. 13(2), pp. 8-17. https://doi.org/10.18004/Mem.iics/1812-9528/2015.013(02)08-017
- Surana, A.R., Kumbhare, M.R. and Wagh, R.D., 2016. Estimation of total phenolic and total flavonoid content and assessment of *in vitro* antioxidant activity of extracts of *Hamelia patens* Jacq. stems. *Research Journal of Phytochemistry*, 10(2), pp. 67–74. https://doi.org/10.3923/rjphyto.2016.67.74
- Surana, A.R. and Wagh, R.D., 2017. GC-MS profiling and antidepressant-like effect of the extracts of *Hamelia patens* in animal model. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 12(4), p. 410-416. https://doi.org/10.3329/bjp.v12i4.32622
- Uc-Cachón, A.H., de Jesús Dzul-Beh A., Palma-Pech, G.A., Jiménez-Delgadillo, B., Flores-Guido, J.S., Gracida-Osorno, C. and Molina-Salinas, G.M., 2021. Antibacterial and antibiofilm activities of Mayan medicinal plants against

Methicillin-susceptible and -resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 279, pp. 114369. https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114369

Valdez-Hernández, M., 2013. Base de datos del Herbario CIQR de El Colegio de la Frontera Sur, unidad Chetumal. Herbario CIQR. Bases de datos SNIB.CONABIO, proyecto ECO18. México. https://doi.org/10.15468/qp5zke

Voukeng, I.K., Beng, V.P. and Kuete, V., 2016. Antibacterial activity of six medicinal Cameroonian plants against Gram-positive and Gram-negative multidrug resistant phenotypes. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), pp. 1-9. https://doi.org/10.1186/s12906-016-1371-y

WHO, 2019. WHO global report on traditional and complementary medicine 2019. World Health Organization. Disponible en: https://apps.who.int/iris/handle/10665/31234
2 [Consultado el 14 de octubre de 2023].