



MEDICINA
UNIVERSITARIA

www.elsevier.com.mx



ARTÍCULO ORIGINAL

Evaluación de la actividad biológica de productos herbolarios comerciales

Ricardo Salazar-Aranda,¹ Yael C de la Torre-Rodríguez,¹ Blanca Alicia Alanís-Garza,¹ Luis Alejandro Pérez-López,¹ Noemí Waksman-de-Torres.^{1*}

¹Departamento de Química Analítica Facultad de Medicina y Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

Recibido: julio, 2009. Aceptado: agosto, 2009.

PALABRAS CLAVE

Fitoterapia; México; Plantas medicinales, Efectos de drogas.

Resumen

Antecedentes: En México los productos herbolarios se comercializan mayormente sin ningún control de calidad, lo cual fue evidenciado recientemente por nuestro grupo de investigación.

Objetivo: Evaluar la actividad biológica de diversos productos, considerando el uso tradicional de las plantas que contienen.

Material y métodos: Los productos fueron adquiridos comercialmente tanto en herberías como en centros comerciales. Se obtuvieron extractos hidroalcohólicos por maceración a temperatura ambiente y extractos acuosos por ebullición. Se evaluaron la actividad antioxidante (DPPH) antimicrobiana contra *S. aureus*, *E. coli* y *C. albicans* (microdilución en placa), antihipertensiva (inhibición de la enzima convertidora de angiotensina) e inmunomoduladora de los extractos obtenidos.

Resultados: Los productos que contenían *Peumus boldus*, *Turnera diffusa*, *Eucalyptus globulus*, *Ginkgo biloba* y *Agastache* mexicana resultaron con buena actividad antioxidante, los demás mostraron actividad antioxidante baja o moderada. *P. boldus*, *E. globulus* y *Salvia officinalis* mostraron buena actividad antimicrobiana; sin embargo, los productos analizados de *Allium sativum* y *Mentha piperita*, reconocidos tradicionalmente por sus propiedades antisépticas, no mostraron actividad contra los microorganismos utilizados. Los productos comerciales con *A. sativum* o con *Esquisetum arvense*, que se recomiendan como diuréticos, no mostraron efecto en la prueba utilizada.

Conclusiones: Los resultados de esta investigación demuestran que distintos productos que dicen contener la misma planta producen diferentes grados de actividad biológica. Se hace necesario un estricto control de calidad de los productos herbolarios que evalúe también la actividad biológica, con el fin de prevenir problemas en la salud de la población que los consume.

*Correspondencia: Dra. Noemí Waksman de Torres. Departamento de Química Analítica, Facultad de Medicina y Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González, Universidad Autónoma de Nuevo León. Avenida Francisco I. Madero y Avenida Gonzalitos s/n Colonia Mitras Centro. CP 64460 Monterrey, Nuevo León, México. Teléfono: (+52 81) 8329 4185. Correo electrónico: nwaksman@gmail.com

KEY WORDS

Mexico; Phytotherapy;
Plants medicinal; Drug
effects.

Evaluation of the biological activity of commercial-grade herbal products**Abstract**

Introduction: In Mexico, herbal-products are sold mostly without a proper quality control; this situation was recently demonstrated by a research made by our group.

Objective: To evaluate the biological action of several plant-derived products, taking into account their traditional use.

Materials and Methods: The products were purchased in folk-healing shops, health-food stores, drug-stores, supermarkets, etc. Hydroalcoholic extracts were obtained by maceration at room temperature and aqueous extracts by boiling during 30 minutes; the extracts obtained were further evaluated for their antioxidant activity (DPPH scavenging test), antimicrobial activity (microdilution assay) against *S. aureus*, *E. coli* y *C. albicans*; antihypertensive activity (angiotensin-converting enzyme inhibition) and immunosuppressive action.

Results: The products containing *Peumus boldus*, *Turnera diffusa*, *Eucalyptus globulus*, *Ginkgo biloba* and *Agastache mexicana* showed good antioxidant activity; the other extracts tested showed low or medium activity. *P. boldus*, *E. globulus* and *Salvia officinalis*, displayed good antimicrobial activity; however, the products from *Allium sativum* and *Mentha piperita*, well known traditionally for their antiseptic properties, did not show activity against the tested microorganisms. Commercial products containing *A. sativum* or *Esquisetum arvense*, recommended as diuretics, did not show any effect in the used test.

Conclusions: The results obtained from this research show that different products that claim to contain the same plant, produce different biological activities. It is necessary to accomplish a strict quality control of plant-based products, which should also include the evaluation of their biological activity, to prevent health-problems in the people consuming these products.

Introducción

La medicina alternativa abarca diferentes prácticas médicas, que varían entre países o regiones; entre ellas destaca la fitoterapia¹ que es la ciencia y el arte del uso de los productos de origen vegetal con fines terapéuticos, ya sea para prevenir, atenuar o curar un estado patológico.

Las plantas medicinales juegan un papel clave en el mantenimiento de la salud de la población de la mayor parte del mundo. Se estima que se utilizan unas 10 000 especies vegetales con este propósito, particularmente en sistemas de medicina tradicional.²

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) más de 80% de la población mundial usa preparaciones botánicas como medicinas.³ Las estadísticas demuestran que en los países en desarrollo se necesitan tratamientos baratos y eficaces para curar enfermedades transmisibles, ya que es donde más de un tercio de la población carece de los medicamentos esenciales. La administración de productos herbales y las fitomedicinas seguras y eficaces podría mejorar de forma importante el acceso a la atención de salud, integrando la medicina tradicional en el sistema de salud oficial con las nuevas reformas regulatorias.^{4,5}

El uso de medicinas derivadas de plantas es muy diverso e incluye, por ejemplo, compuestos puros, plantas medicinales usadas tradicionalmente como infusiones (tisanas o tés), tinturas, partes de las plantas cortadas o

pulverizadas, extractos no estandarizados, con poca información de calidad y, por lo tanto, sin datos acerca de eficacia clínica y efectos farmacológicos de extractos estandarizados, con perfiles farmacológicos y clínicos establecidos. De acuerdo con el informe de la OMS de 2002, 60% de la población mexicana consume plantas medicinales.⁶

Dependiendo del tipo de producto herbal y del propósito para el cual es vendido pueden aplicar distintas regulaciones, pero uno de los elementos centrales es siempre la necesidad de definir apropiadamente la identidad del material inicial, así como ciertas consistencias respecto a sus especificaciones. La gran mayoría de las plantas utilizadas en los países europeos se describen en las farmacopeas en forma de monografías; sin embargo, no sucede lo mismo con las plantas consumidas en Latinoamérica. Así, plantas o sus derivados que sean vendidos en la Unión Europea como producto medicinal requieren pruebas de calidad, seguridad y eficacia para su aprobación, pero si es vendido como suplemento alimenticio las pruebas de eficacia no son necesarias.

En México la venta de productos herbales se realiza libremente, sin exigir que el producto se someta a algún tipo de análisis que como mínimo asegure la autenticidad de la planta. La Secretaría de Salud en México contempla una serie de artículos incluidos en la Ley General de Salud que regulan la venta, uso y comercialización de productos herbales; sin embargo, cuando se considera a estos

productos como suplementos alimenticios y no como productos con fines terapéuticos no se les exige un control de calidad.

Ante la situación que se registra en México, respecto a la libre venta de productos herbales, sin control de calidad aparente que por lo menos asegure la identidad de la planta, nuestro grupo de trabajo consideró importante investigar cuáles productos herbolarios se consumen más en nuestra región⁸ para, posteriormente, desarrollar procedimientos analíticos validados, con el fin de evaluar su calidad. Se seleccionaron los 40 productos de mayor demanda en la región y de ellos se eligieron 20 plantas con la exigencia de que estuvieran como único componente dentro de estos productos.⁸ Se validaron los métodos analíticos por cromatografía en capa fina (CCF) para las 20 plantas, empleando extractos estandarizados (o cuantizados, de acuerdo con la definición de la Unión Europea) o marcadores y, posteriormente, se aplicaron en la valoración del contenido de productos comerciales.^{9, 10} Los resultados demostraron la grave situación que se vive en el ámbito nacional, en donde no hay un adecuado control de calidad en productos herbales. De 107 productos comerciales analizados, solamente 31% cumplió con los criterios cualitativos y semicuantitativos, asegurando en ellos la calidad cromatográfica.

Parte de estos resultados se pueden deber al hecho de que cuando estas plantas son procesadas para su comercialización pudieran perder componentes químicos, o bien, pudieran ser adulteradas por los productores al adicionar algún componente químico, con el propósito de recuperar los perdidos o para otorgar nuevas "propiedades" al producto herbolario. Cualquiera de las dos situaciones podría repercutir en la eficacia de la planta, ya sea aumentándola, disminuyéndola e incluso haciéndola perder sus propiedades. Esta es la razón por la cual los productos herbolarios se debieran someter no solamente a un control de calidad de sus componentes, sino también, y tal vez de mayor importancia, a la evaluación de su actividad biológica.

La falta de eficacia de los productos herbolarios, implica tanto un efecto directo sobre la economía del paciente, como posiblemente agravar más su estado patológico. Además, existe un riesgo potencial por la falta de conocimiento en muchos casos acerca del contenido químico de los productos herbolarios y de la interacción de éstos en el organismo y, finalmente, sobre la salud en general.

Por esta razón, decidimos evaluar, por medio de bioensayos indicadores, la actividad biológica de algunos de estos productos comerciales y determinar su utilidad para tratar o remediar las enfermedades de acuerdo con las referencias de su uso en la medicina tradicional o de informes científicos al respecto.

Material y métodos

Productos herbolarios

Los productos herbolarios se adquirieron en hierberías y comercios de la ciudad de Monterrey, Nuevo León, México.

Para el presente trabajo se incluyeron productos herbolarios que contuvieran una sola planta. En el **cuadro 1** se listan las plantas y sus usos tradicionales. Entre los productos unos estaban debidamente etiquetados y otros carecían por completo de este requisito. Algunos de los productos se consiguieron en diferentes fechas y con diferente número de lote, y cada uno fue sometido a procesos de extracción y sus contenidos fueron evaluados para la actividad biológica, según el uso en medicina tradicional.

Obtención de extractos

De cada producto herbolario se prepararon extractos acuosos, tipo tisana. De cada uno se pesaron 5 g que se colocaron en 250 mL de agua destilada. Se dejaron en ebullición durante 30 minutos. Posteriormente la suspensión se filtró a través de una gasa y el extracto obtenido se mantuvo refrigerado y protegido de la luz hasta cuando se utilizó.

Se hicieron extracciones hidroalcohólicas de cada uno de los productos, de acuerdo con lo señalado por Orozco.¹⁸ Con etanol agua (90-10) se extrajeron 10 g del material pulverizado, agitando constantemente durante una hora. Posteriormente se filtró el extracto y se evaporó el solvente hasta la sequedad. Los extractos fueron almacenados en atmósfera de nitrógeno hasta cuando se usaron.

Actividad antioxidante

La evaluación cuantitativa de la reducción del DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) se realizó por espectrofotometría, de acuerdo con lo reportado por Leu y colaboradores, con algunas modificaciones.¹⁹ Un total de 500 µL de los extractos acuosos (1 mg/mL) se adicionaron a 500 µL de solución de DPPH (125 µM en etanol, Sigma). Se utilizó esta concentración con el propósito de cumplir la Ley de Beer y disminuir los errores instrumentales en las mediciones de absorbancia, generados por soluciones de altas concentraciones. La mezcla se agitó y se dejó reposar por 30 minutos en la oscuridad. Se midió la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Beckman DU 7500 con arreglo de diodos). Se utilizó la quercetina como control positivo de actividad. La actividad de reducción del radical libre se calculó con la ecuación:

$$\text{Porcentaje de reducción} = \frac{(\text{Abs control} - \text{Abs muestra})}{\text{Abs control}} \times 100$$

Actividad antimicrobiana

Las cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* fueron inoculadas en placas de Agar Müller-Hinton (Becton Dickinson) e incubadas durante 24 horas a 37 °C. La levadura *Candida albicans* se inoculó en placas de Agar Sabouroud (Becton Dickinson) y se incubó durante 24 horas a 37 °C. Algunas colonias puras fueron transferidas a 3 mL de medio líquido fresco; para bacterias se utilizó caldo Müller-Hinton, y para la levadura se usó medio RPMI 1640 (Sigma). En ambos casos se ajustó a una turbidez comparable con el estándar 0.5 de McFarland. Posteriormente se preparó la solución de trabajo para cada tipo de microorganismo en medio fresco (bacterias dilución 1:50 y levadura 1:1000), de acuerdo con el

Cuadro 1. Usos tradicionales de las plantas presentes en los productos herbolarios analizados

	Planta	Nombre científico	Usos tradicionales	Referencia
1	Ajo	<i>Allium sativum</i>	Afrodisiaco, antibiótico y para bajar la presión arterial.	11,12,14,15,16
2	Árnica	<i>Heterotecha inuloides</i>	Antiinflamatorio, antirreumático, antineurálgico.	13
3	Azahar	<i>Citrus aurantium</i>	Sedante suave en casos de nerviosismo y trastornos del sueño. Se utiliza también como aromático.	13,15
4	Boldo	<i>Peumus boldus</i>	Ligeras molestias gastrointestinales de carácter espasmódico. Acción antiinflamatoria y hepatoprotectora. Antihelmíntico.	13,14,15,16
5	Cáscara sagrada	<i>Rhamnus purshianus</i>	Estreñimiento; todas aquellas afecciones en las cuales sea indicada una fácil evacuación intestinal con heces blandas. Catarro.	13,14,15
6	Castaño de indias	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Astringente en caso de diarrea y hemorroides, uso externo para úlceras y afecciones cutáneas, artritis y reumatismo.	13,14
7	Cola de caballo	<i>Esquisetum arvense</i>	Diurético, por aumentar el flujo en las vías urinarias excretoras. En la conjuntivitis y como cicatrizante.	13,14,15,16
8	Damiana	<i>Turnera diffusa</i>	Afrodisiaco, para aumentar y mantener la capacidad física y mental.	13,14,15
9	Eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i>	Bronquitis y faringitis, posee acción antiséptica, expectorante, desodorante y refrescante.	13,14,16
10	Ginkgo biloba	<i>Ginkgo biloba</i>	Deficiencia de la memoria, desórdenes en la concentración, condición emocional depresiva, vértigo y dolor de cabeza.	7,15
11	Ginseng	<i>Panax ginseng</i>	Aumenta las prestaciones físicas e intelectuales, la capacidad de reacción y la función respiratoria.	13,14,16
12	Manzanilla	<i>Matricaria recutita</i>	Antiinflamatorio, espasmolítico, carminativo y estomacal.	7,13,14,15,16
13	Menta	<i>Mentha piperita</i>	Espasmolítico, carminativo y colerético; también como sedante. En afecciones respiratorias (resfriados, catarros).	7,13,14,16
14	Pasiflora	<i>Passiflora incarnata</i>	Nerviosismo e intranquilidad, insomnio, ansiedad, como sedante.	13,14,15,17
15	Salvia	<i>Salvia officinalis</i>	Antiinflamatorio, para el tratamiento de gingivitis y estomatitis. Antiséptico.	13,14,16
16	Sáuco	<i>Sambucus nigra</i>	Se emplea como laxante, contra la ciática y neuralgias y como materia prima para la obtención de colorantes alimentarios.	13,14,16,17
17	Sen	<i>Cassia senna</i>	Facilita las heces blandas.	7,13
18	Tila	<i>Tilia occidentalis</i>	Contra el insomnio, los resfriados, sedante y tranquilizante.	11,15,16
19	Toronjil	<i>Agastache mexicana</i>	Empleado como antidepresivo y para problemas estomacales en general.	11,15,17

National Committee for Clinical Laboratory Standard.^{20, 21} (NCCLS). La solución de trabajo de cada extracto hidroalcohólico se preparó a una concentración de 4 mg/mL en 5% de dimetilsulfóxido (DMSO) en el medio líquido correspondiente, por lo que el rastreo de la actividad se realizó en un rango de 1000 a 0.5 µg/mL. Todos los microorganismos fueron probados con el ensayo de microdilución en placas de poliestireno estériles de 96 pozos con fondo redondo;^{20,21} 100 µL de medio fresco y estéril se añadió a cada pozo y 100 µL de cada extracto se transfirieron al primer pozo de cada fila, y en los siguientes pozos se

hizo una dilución seriada 1:2; además, 100 µl de la suspensión de trabajo microbiana se agregaron a cada pozo. En cada placa se evaluaron siete extractos, un control antimicrobiano (cefalotina o fluconazol), un control de crecimiento del microorganismo donde no se agregó ningún compuesto y un control de esterilidad del medio. La cefalotina se utilizó en concentraciones entre 500 y 0.25 µg/mL, y el fluconazol entre 62.5 y 0.25 µg/mL. Las placas se incubaron a 37 °C durante 48 horas y el crecimiento se examinó visualmente. Todos los experimentos se hicieron por duplicado.

Cuadro 2. Porcentaje de reducción del DPPH de extractos acuosos de los productos herbolarios evaluados

Producto con:	Red. DPPH %	Producto con:	Red. DPPH %
<i>Allium sativum</i> A	5.4 ± 5.4	<i>Ginkgo biloba</i> A	87.1 ± 2.9
<i>Allium sativum</i> B	1.5 ± 11.3	<i>Ginkgo biloba</i> B	90.0 ± 3.5
<i>Heterotecca inuloides</i> A	67.0 ± 10.1	<i>Ginkgo biloba</i> C	86.2 ± 4.3
<i>Heterotecca inuloides</i> B	76.0 ± 0.0	<i>Panax ginseng</i> A	77.1 ± 12.5
<i>Heterotecca inuloides</i> C	73.0 ± 6.3	<i>Panax ginseng</i> B	19.7 ± 2.8
<i>Citrus aurantium</i> A	77.1 ± 5.2	<i>Panax ginseng</i> C	54.0 ± 21.7
<i>Citrus aurantium</i> B	76.1 ± 4.3	<i>Panax ginseng</i> D	27.7 ± 13.2
<i>Citrus aurantium</i> C	78.4 ± 6.3	<i>Matricaria recutita</i> A	65.4 ± 20.4
<i>Citrus aurantium</i> D	82.5 ± 4.4	<i>Matricaria recutita</i> B	61.1 ± 14.5
<i>Peumus boldus</i> A	82.3 ± 1.5	<i>Matricaria recutita</i> C	72.0 ± 9.3
<i>Peumus boldus</i> B	81.0 ± 3.2	<i>Matricaria recutita</i> D	74.9 ± 6.9
<i>Rhamnus purshianus</i> A	57.3 ± 7.2	<i>Salvia officinalis</i> A	61.1 ± 2.2
<i>Rhamnus purshianus</i> B	64.3 ± 4.9	<i>Salvia officinalis</i> B	70.6 ± 9.1
<i>Rhamnus purshianus</i> C	74.1 ± 9.0	<i>Salvia officinalis</i> C	75.8 ± 10.4
<i>Rhamnus purshianus</i> D	78.4 ± 4.3	<i>Salvia officinalis</i> D	79.3 ± 5.2
<i>Aesculus hippocastanum</i> A	14.6 ± 5.6	<i>Sambucus nigra</i> A	65.2 ± 5.6
<i>Aesculus hippocastanum</i> B	24.4 ± 6.2	<i>Sambucus nigra</i> B	75.1 ± 1.0
<i>Esquisetum arvense</i> A	65.1 ± 3.2	<i>Cassia senna</i> A	77.8 ± 1.7
<i>Esquisetum arvense</i> B	36.7 ± 8.6	<i>Cassia senna</i> B	74.6 ± 6.1
<i>Esquisetum arvense</i> C	77.4 ± 5.2	<i>Cassia senna</i> C	70.2 ± 8.0
<i>Esquisetum arvense</i> D	74.6 ± 11.0	<i>Tilia occidentalis</i> A	83.3 ± 4.6
<i>Turnera diffusa</i> A	86.3 ± 4.6	<i>Tilia occidentalis</i> B	82.4 ± 5.2
<i>Turnera diffusa</i> B	85.6 ± 3.6	<i>Tilia occidentalis</i> C	67.8 ± 5.4
<i>Turnera diffusa</i> C	81.0 ± 6.2	<i>Tilia occidentalis</i> D	65.4 ± 6.9
<i>Turnera diffusa</i> D	83.6 ± 3.9	<i>Agastache mexicana</i> A	80.3 ± 3.8
<i>Eucalyptus globulus</i> A	80.6 ± 3.8	<i>Agastache mexicana</i> B	81.4 ± 2.1
<i>Eucalyptus globulus</i> B	84.7 ± 2.8	<i>Agastache mexicana</i> C	80.9 ± 0.3
<i>Eucalyptus globulus</i> C	82.2 ± 2.1	<i>Agastache mexicana</i> D	83.1 ± 4.3
<i>Eucalyptus globulus</i> D	79.9 ± 0.8	Quercetina	91.1 ± 1.7

Actividad antihipertensiva

El bioensayo de inhibición de la actividad de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) se realizó siguiendo el método descrito por Hou y colaboradores:²² 200 µL de solución de N-[3(2-furyl)acryloyl]-phe-gly-gly (Sigma, 5x10⁻⁴ M) disueltos en Tris-HCl (50mM, NaCl 0.3 M, pH=7.5), se mezclaron con 250 µL de extracto hidroalcohólico (1 mg/mL

en etanol) y 30 µL de amortiguador Tris-HCl. La cinética enzimática se inició con la adición de 20 µL de la solución de ECA obtenida de pulmón de conejo (1 U/mL). Se registró la cinética durante cinco minutos a 345 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Beckman DU 7500 con arreglo de diodos). Como blanco de reacción se utilizó la mezcla sin sustrato. Como control positivo de inhibición se empleó lisinopril

Cuadro 3. Concentración mínima inhibitoria de extractos hidroalcohólicos de los productos herbolarios evaluados ($\mu\text{g/mL}$)

Producto con:	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
	($\mu\text{g/mL}$)		
<i>Allium sativum A</i>	> 1000	> 1000	> 1000
<i>Allium sativum B</i>	> 1000	> 1000	ND
<i>Peumus boldus A</i>	> 1000	250	> 1000
<i>Peumus boldus C</i>	> 1000	250	125
<i>Eucalyptus globulus A</i>	> 1000	125	62.5
<i>Eucalyptus globulus C</i>	> 1000	125	125
<i>Mentha piperita A</i>	> 1000	> 1000	ND
<i>Mentha piperita B</i>	> 1000	1000	ND
<i>Salvia officinalis A</i>	> 1000	500	500
<i>Salvia officinalis C</i>	> 1000	250	ND
<i>Cefalotina</i>	1	0.48	ND
<i>Fluconazol</i>	ND	ND	0.5

ND: no determinado.

(2 mg/mL). Para el cálculo de la inhibición se tomó como 100% de actividad enzimática el ensayo sin extracto. Todos los experimentos se hicieron por triplicado.

Actividad inmunomoduladora

La actividad inmunomoduladora se investigó a través del ensayo de inhibición de la actividad de la enzima inosin-5'-monofosfato deshidrogenasa (IMPDH), de acuerdo con lo reportado por Nair y colaboradores:²³ en un volumen final de 1 mL, se colocó la solución amortiguadora Tris-HCl (con cloruro de potasio 0.15 M; 1,4-ditiotreitol 1 mM; ácido etilendiamino tetraacético 1 mM, pH 8), la solución del extracto hidroalcohólico (1 mg/mL) y la enzima IMPDH (Sigma, 25 mM). Se incubó a 4 °C por 10 min y se agregaron el sustrato inosin-5'-monofosfato (Sigma; 0.5 mM), y la nicotinamida adenina dinucleotido (Sigma, 1.5 mM). Se efectuó la cinética enzimática durante dos minutos a 25 °C, tomando las absorbancias a 340 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Beckman DU 7500 con arreglo de diodos). Se hizo un control sin tratamiento el cual produjo 100 % de actividad. Todos los experimentos se hicieron por triplicado.

Resultados

En el cuadro 2 se muestran los porcentajes de reducción del DPPH de 57 productos analizados. Mayores porcentajes de reducción equivalen a una mejor actividad antioxidante. Los productos con mayor actividad antioxidante

fueron los que contenían *Gingko biloba* (86.2% a 90%) o *Turnera diffusa* (81% a 86%), cuyos porcentajes de reducción fueron semejantes al obtenido con quercetina (91.1%), utilizada como control. Los productos con menor actividad antioxidante fueron los que contenían *Allium sativum*, *Aesculus hippocastanum* o *Panax ginseng*, con valores inferiores a 24.4% de reducción del DPPH.

La actividad antimicrobiana se determinó en 10 productos herbolarios que contenían *A. sativum*, *Peumus boldus*, *Eucalyptus globulus*, *Mentha piperita* o *Salvia officinalis* (cuadro 3). Ninguno de ellos presentó actividad contra *E. coli* con la máxima concentración analizada (1000 $\mu\text{g/mL}$). Seis productos que contenían *P. boldus*, *E. globulus* o *S. officinalis* fueron los más activos contra *S. aureus* (MIC 500 a 62.5 $\mu\text{g/mL}$). Solamente cuatro productos con *P. boldus*, *E. globulus* o *S. officinalis* mostraron actividad contra *C. albicans* (500 a 62.5 $\mu\text{g/mL}$).

El efecto antihipertensivo fue evaluado a través de la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina en cuatro productos herbolarios que contenían *Esquisetum arvense* o *A. sativum*. Todos los productos mostraron una baja o nula actividad inhibitoria (inferior a 20%).

Tres productos que contenían *T. diffusa* como único componente se sometieron a evaluación de la actividad inmunomoduladora, mediante la inhibición de la enzima inosin-5'-monofosfato deshidrogenasa. Solamente un producto produjo una fuerte inhibición enzimática de 86.9% \pm 1.2%, los otros dos mostraron inhibiciones menores a 20%.

Cuadro 4. Porcentaje de inhibición de ECA de extractos hidroalcohólicos de los productos herbolarios evaluados

Producto	Inhibición ECA %
<i>Allium sativum A</i>	5.4 ± 1.6
<i>Allium sativum B</i>	NA
<i>Esquisetum arvense A</i>	NA
<i>Esquisetum arvense C</i>	18.2 ± 0.9
Lisinopril (2 mg/mL)	100

NA: no activo a 1 mg/mL.

ECA: Enzima Convertidora de La Angiotensina.

Discusión

Los compuestos antioxidantes tienen una amplia utilidad en el área médica para ayudar en los procesos generados por estrés oxidativo (como las enfermedades crónico-degenerativas y el envejecimiento), así como en el área de alimentos, ya que pueden disminuir la oxidación de grasas y aumentar la vida de anaquel. En el presente estudio se evaluó la actividad antioxidante mediante la reducción del radical libre DPPH de 57 productos herbolarios (cuadro 2), 53 de ellos contenían alguna planta utilizada tradicionalmente para tratar enfermedades crónico-degenerativas o bien, enfermedades que están relacionadas con malestares generales, como inflamación, artritis, reumatismo, neuralgias, cansancio, fatiga, nerviosismo, falta de concentración, falta de energía, entre otros, y los otros cuatro contenían solamente *Eucalyptus globulus*, el cual en la medicina tradicional es recomendado como antimicrobiano.

Los resultados demostraron que 16 de los 53 productos herbolarios (30.2%) tienen una actividad antioxidante importante (superior a 80% de reducción del DPPH) y cuatro de los 53 (7.5%) presentaron actividad muy pobre (menor a 20% de reducción de DPPH). Los productos que produjeron la mayor actividad fueron los que contenían *Peumus boldus*, *Turnera diffusa*, *Ginkgo biloba*, *Tilia occidentalis*, y *Agastache mexicana*; la actividad antioxidante de *P. boldus*, *T. diffusa* y *G. biloba* ha sido demostrada en plantas nativas y autenticadas;²⁴⁻²⁶ sin embargo, no encontramos reportes previos de la actividad antioxidante de *T. occidentales* y *A. mexicana*. Los productos que mostraron la menor actividad antioxidante fueron dos de *Allium sativum*, uno de *Aesculus hippocastanum* y uno de *Panax ginseng*, a pesar de que existen reportes acerca de la actividad antioxidante de cada una de estas especies, demostrando que estos productos o no tienen las plantas en cuestión, o la actividad de las mismas ha sido disminuida por la manipulación.²⁷⁻³⁰ Además, los cuatro productos herbolarios con *E. globulus* mostraron un alto poder antioxidante, con un porcentaje de reducción del DPPH entre 80 y 85 y aunque el *E. globulus* es recomendado tradicionalmente solamente para aliviar procesos infecciosos, recientemente se reportó el aislamiento e identificación de varios compuestos responsables de la

actividad antioxidante en esta planta.³¹⁻³³ Es importante notar la variación en la actividad biológica de los distintos productos evaluados que dicen contener la misma planta, diferencia que en algunos casos es altamente significativa (cuadro 2), como es el caso de *R. purshianus*, *E. arvense*, *P. ginseng* y *M. recutita*.

La determinación de una baja concentración mínima inhibitoria a través del bioensayo de actividad antimicrobiana proporciona información acerca de la posible eficacia de un producto en el tratamiento de una enfermedad infecciosa.

En la presente investigación evaluamos 10 productos herbolarios que contenían alguna planta utilizada tradicionalmente en enfermedades infecciosas (cuadros 1 y 3). Ninguno de los productos mostró actividad antimicrobiana contra la bacteria gram-negativa que utilizamos como modelo de estudio. Los productos que contenían *P. boldus*, *E. globulus* y *Salvia officinalis* mostraron una actividad importante contra *S. aureus* (CMI entre 500 a 125 µg/mL) y contra *C. albicans* (CMI entre 500 a 62.5 µg/mL) confirmando lo descrito para estas especies;³⁴⁻³⁸ de manera contraria, los productos con *A. sativum* no produjeron efecto sobre alguno de los microorganismos, a pesar de que en la medicina tradicional se recomienda su uso como antimicrobiano, lo cual ha sido confirmado en pruebas de laboratorio. También es importante señalar la diferencia entre la actividad de los distintos productos que contienen *P. boldus* contra la levadura utilizada, lo cual muestra que ambos productos deben tener distinta composición química, a pesar de provenir de la misma planta.

El bioensayo de inhibición de la actividad de la enzima convertidora de la angiotensina proporciona información acerca de la posible actividad antihipertensiva de un producto.²² En este estudio fueron evaluados cuatro productos herbolarios que contenían *A. sativum* y *Esquisetum arvense* (cuadro 4), plantas recomendadas en medicina tradicional para disminuir la presión arterial o como diurético (cuadro 1). Los resultados de esta investigación demostraron que ninguno de los cuatro productos inhibió la actividad de ECA, a pesar de que la actividad hipotensora de *A. sativum* había sido anteriormente demostrada.⁴² En cambio, hemos demostrado que al menos dos productos con *Tilia occidentalis* produjeron altos grados de inhibición de la enzima (91.5% ± 2.1 y 98.3% ± 1.2) y dos productos con *Passiflora incarnata* produjeron una inhibición moderada (72.9% ± 1.8 y 66.1% ± 0.5); sin embargo, estas plantas son recomendadas tradicionalmente como tranquilizantes o sedantes, y hasta el momento no localizamos informe alguno de la actividad inhibidora de ECA por cualquiera de las dos especies, por lo que, con base en nuestros resultados, estas plantas podrían contener algún compuesto o mezcla de compuestos que tuvieran potencial uso como antihipertensivos.

La *T. diffusa* está indicada tradicionalmente para aumentar y mantener la capacidad física y mental, lo cual está relacionado con la actividad antioxidante y con la modulación del sistema inmunológico; estas actividades

han sido demostradas por Pérez Meseguer⁴³ y Arletti y colaboradores.⁴⁴ utilizando plantas autenticadas. Con base en lo anterior, los tres productos comerciales que contenían *T. diffusa* fueron sometidos al ensayo de inhibición de la enzima inosin-5'-monofosfato deshidrogenasa, la cual indica una posible actividad inmunomoduladora. De acuerdo con los resultados, los productos herbolarios no tienen la misma constitución, ya que solamente uno de ellos produjo una fuerte inhibición enzimática y los otros dos no mostraron esta actividad. Más importante aún fue que tanto el producto activo, como el menos activo pertenecían a la misma casa comercial, sólo que tenían diferente número de lote.

Los resultados de esta investigación demuestran claramente que productos que dicen contener la misma planta tienen actividades diferentes, originado esto, quizá, por composiciones químicas diferentes. En algunos casos, incluso, dos productos de la misma empresa, pero con distinto número de lote, se comportaron en forma distinta, como en el caso señalado de *T. diffusa*. Este comportamiento en la actividad biológica puede deberse a diversos factores climáticos y de nutrición a los que está expuesta la planta durante su crecimiento,⁴⁵ pero también puede deberse a la pérdida o adición de diversos compuestos químicos durante el procesamiento para convertirlas en productos herbolarios.

La falta de un control de calidad minucioso de estos productos puede generar un problema de salud importante en la población consumidora, ya que el paciente adquirirá un producto herbolario comercial pensando que le ayudará a combatir una enfermedad o disminuir algunos síntomas, pero puede suceder que no le ayude y se agrave su padecimiento o, más aún, que afecte otros sistemas por la presencia de componentes ajenos a la planta y de los cuales no se tiene referencia alguna acerca de su seguridad.

Los organismos oficiales de nuestro país debieran establecer parámetros para el control de calidad de los productos herbolarios, tal como sucede en algunos países desarrollados.⁷ La evaluación de la actividad biológica de los productos comerciales mediante bioensayos indicadores, comprobaría, por un lado, el uso adecuado y justificaría su uso en la medicina tradicional o alternativa y, por otro, aseguraría que todos los lotes del producto herbolario tuvieran un grado de actividad similar.

Referencias

- Ernest E. Prevalence of use of complementary alternative medicine: A systematic review. *Bull WHO* 2000;78:252.
- Dellacassa E. Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas. Sociedad Latinoamericana de Fitoquímica. Chile 2005: 44-45.
- Mukherjee P K, Wahile A. Integrated approaches towards drug development from Ayurveda and other Indian system of medicines. *J Ethnopharmacology* 2006;103:25-35.
- Organización Mundial de la Salud. Pregunta al experto. ¿Es segura la medicina tradicional? 2005.
- Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional. Ginebra 2002-2005.
- WHO Traditional Medicine Strategy 2002-2005. Geneva. World Health Organization, 2002 (WHO/EDM/TRM2002.1).
- Blumental M, Busse W, Goldberg A. The complete German Commission E monographs. Therapeutic guide to herbal medicines. 1a ed. United States of America: American Botanical Council. 1998.
- Salazar R, Garza A, Cenicerros L, et al. El consumo de productos herbolarios en Nuevo León. *Medicina Universitaria* 2004;6:248-54.
- Ramírez R, Cenicerros L, Salazar R, Salazar ML, Waksman N. Evaluation of thin-layer chromatography methods for quality control of commercial products containing *Aesculus hippocastanum*, *Turnera diffusa*, *Matricaria recutita*, *Passiflora incarnata*, and *Tilia occidentalis*. *Journal of AOAC International* 2007;90:920-4.
- Ramírez R, Cenicerros L, Garza A, Salazar ML, Waksman N. Development and validation of thin layer chromatography methods for the quality control of herbal products. *Acta Chromatographica*. En prensa.
- Adame J, Adame H. Plantas curativas del noreste mexicano. 1ª ed. México: Castillo. 2000.
- Flores R. Atlas de las plantas medicinales y curativas. La salud a través de las plantas. 1ª ed. España: Cultural, S. A. 1997.
- Cañigüeral S, Vila R, Wichtl M. Plantas medicinales y drogas vegetales para infusión y tisana. 1ª ed. Barcelona: OEMF internacional srl. 1998.
- Lifchitz A. Plantas medicinales. Uso universal. Guía práctica de botánica universal. 10ª ed. Argentina: Kier. 1998.
- González-Ferrara M. Los remedios de la abuela. México: Ediciones Pacalli, 2ª impresión. 2005.
- Suero C. Manual de herbolaria mexicana. México: Ediciones Alpe. 2002.
- Villavicencio MA, Pérez BE. Guía de la flora útil de la Huasteca y la zona Otomí-Tepehua, Hidalgo I. México: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 2005.
- Pérez A, Orozco M, Rivas V, Waksman N. Experimental design to determine the factors affecting the preparation of extracts for antibacterial use. *Natural Products Communications* 2008;3:363-8.
- Leu S J, Lin Y P, Lin R D et al. Phenolic constituents of *Malus doumeri* var. formosana in the field of skin care. *Biol Pharm Bull* 2006;29:740-5.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. In 12th informational supplement M-100-S-12. Wayne, PA. 2002.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast, approved standard. Document M27-A2. Wayne, PA. 2002.
- Hou W Ch, Lee M H, Hsu F L, Lin Y H. Inhibitory activities of semicarbazide-sensitive amine oxidase and angiotensin converting enzyme of pectin hydroxamic acid. *J Agric Food Chem* 2003;51:6362-6.
- Nair V, Kamboj R C. Inhibition of inosine monophosphate dehydrogenase (IMPDH) by 2-[2-(Z)-fluorovinyl]inosine 50-monophosphate. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2003;13:645-7.
- Quezada N, Asencio M, Del Valle J M, Aguilera J M, Gomez B. Antioxidant activity of crude extract, alkaloid fraction, and flavonoid fraction from boldo (*Peumus boldus* Molina) leaves. *J Food Science* 2004;69:C371-C6.
- Salazar R, Pozos M E, Cordero P, Perez J. Salinas M C, Waksman N. Determination of the antioxidant activity of plants from Northeast Mexico. *Pharm Biol* 2008;46:166-70.

26. Luo Z, Li X, Ouyang N. Leaves study on microwave extraction of DPPH free radical scavenging substances from *Ginkgo biloba*. *Shizhen Guoyi Guoyao* 2008;19:1819-21.
27. Queiroz Y S, Ishimoto E Y, Bastos D H M, Sampaio G R, Torres E A F S. Garlic (*Allium sativum* L.) and ready-to-eat garlic products: *In vitro* antioxidant activity. *Food Chem* 2009;115:371-4.
28. Chung J Y, Kim C S. Antioxidant activities of domestic garlic (*Allium sativum* L.) stems and garlic bulbs according to cooking methods. *Han'guk Sikp'um Yongyang Kwahak Hoehci* 2009;38:188-94.
29. Naidenova E, Pencheva I, Marekov I, Gagauzov I. Determination of biologically active coumarins in *Aesculus hippocastanum* L. *Problemi na Farmakologiyata i Farmatsiyata* 1991;5:106-14.
30. Zou M. Chinese medical composition containing *Panax ginseng*, *Polygonum multiflorum* and soybean isoflavones with good antioxidant and anti-ageing effects, and its formulation. *Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu* 2009:8pp.
31. Amakura Y, Yoshimura M, Sugimoto N, Yamazaki T, Yoshida. Marker constituents of the natural antioxidant eucalyptus leaf extract for the evaluation of food additives. *Biochem* 2009;73:1060-5.
32. Almeida I F, Fernández E, Lima J L, et al. Oxygen and nitrogen reactive species are effectively scavenged by *Eucalyptus globulus* leaf water extract. *J Med Food* 2009;12:175-83.
33. Hasegawa T, Takano F, Takata T, Niiyama M, Ohta T. Bioactive monoterpene glycosides conjugated with gallic acid from the leaves of *Eucalyptus globulus*. *Phytochem* 2008;69:747-53.
34. Mazutti M, Mossi A J, Cansian R L, Corazza M L, Dariva C, Oliveira J V. Chemical profile and antimicrobial activity of boldo (*Peumus boldus* Molina) extracts obtained by compressed carbon dioxide extraction. *Brazilian J Chem Eng* 2008;25:427-34.
35. Vila R, Valenzuela L, Bello H, Canigueral S, Montes M, Adzet T. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Peumus boldus* leaves. *Planta Médica* 1999;65:178-9.
36. Caubet R, Pedarros-Caubet F, Ellison W J. The quantitative assessment of antimicrobial agents: Subinhibitory concentrations of *Eucalyptus globulus* essential oil against *Staphylococcus aureus*. *Pharm Biol* 2008;46:738-45.
37. Chao S, Young G, Oberg C, Nakaoka K. Inhibition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by essential oils. *Flavour and Fragrance Journal* 2008;23:444-9.
38. Jirovetz L, Wlcek K, Buchbauer G et al. Ungal activities of essential oils of *Salvia lavandulifolia*, *Salvia officinalis* and *Salvia sclarea* against various pathogenic *Candida* species. *J Essential Oil-Bearing Plants* 2007;10:430-9.
39. Chikwem A J, Chikwem J O, Swinton D J. Aqueous extraction of dried and fresh garlic, and comparative antimicrobial susceptibility testing of garlic extracts on selected bacteria. *Bios* 2008;79:56-60.
40. Marques A, Encarnacao S, Pedro S, Nunes M L. *In vitro* antimicrobial activity of garlic, oregano and chitosan against *Salmonella enterica*. *World J Microbiol & Biotechnol* 2008;24:2357-60.
41. Wu N, Zu Y, Wang W. Antimicrobial activities of garlic essential oil. *Shipin Kexue* 2008;29:103-5.
42. Suetsuna Kunio. Isolation and characterization of angiotensin I - converting enzyme inhibitor dipeptides derived from *Allium sativum* L (garlic). *J Nutr Biochem* 1998;9:415-9.
43. Pérez- Meseguer J. Aislamiento, purificación y caracterización de compuestos con actividad antioxidante e inmunomoduladora de *Juglans mollis* y *Turnera diffusa*. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina, UANL. Febrero, 2008.
44. Arletti R, Benelli A, Cavazzuti E, Scarpetta G, Bertolini A. Stimulating property of *Turnera diffusa* and *Pfaffia paniculata* extracts on the sexual behavior of male rats. *Psychopharmacology* 1999;143:15-9.
45. Schulz V, Hänsel R, Blumenthal M, Tyler VE. Rational phytotherapy. A reference guide for physicians and pharmacists. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2004.