

Trabajo Científico

Actividad antifúngica de *Stenocereus pruinosus* y *Echinocereus stramineus*

Antifungic activity of *Echinocereus stramineus* and *Stenocereus pruinosus*

Jaime Fco. Treviño N.,¹ Ramón Gerardo Rodríguez G.,¹ Ma. Julia Verde S.,²
Ma. Eufemia Morales R.,¹ Ruth Amelia Garza P.,¹ Catalina Rivas M., Azucena Oranday C.²

¹ Departamento de Biología Celular y Genética, Laboratorio de Micropropagación

² Departamento de Química, Laboratorio de Fitoquímica y Química Analítica.

Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León

Resumen

Se evaluó la presencia de metabolitos secundarios, la actividad antifúngica y toxicidad de los extractos metanólicos de las cactáceas *Stenocereus pruinosus* y *Equinocereus stramineus*. La determinación de la actividad antifúngica se evaluó sobre hongos dermatofitos (*Microsporum canis*, *M. gypseum*, *M. cookei* y *M. nanum*) por el método de difusión en placa. La toxicidad de los extractos se determinó sobre el ensayo de letalidad de *Artemia salina*. Los extractos metanólicos de ambas especies presentaron alcaloides, triterpenos, saponinas y flavonoides, mientras que para la actividad antifúngica los resultados fueron relevantes para *S. pruinosus*, al presentar inhibición a dosis inferiores de 125 mg/mL. En cuanto a la toxicidad sobre *Artemia salina* ambas especies presentaron dosis letales superiores a 500 mg/mL. *S. pruinosus* es una alternativa para la formulación de nuevos fármacos antifúngicos.

Abstract

We evaluated the presence of secondary metabolites, antifungal activity and toxicity of methanolic extracts of cactus *Stenocereus pruinosus* and *Equinocereus stramineus*. The determination of antifungal activity was evaluated on dermatophytes (*Microsporum canis*, *M. gypseum*, *M. cookei* and *M. nanum*) by dissemination in plate method. Toxicity of extracts was determined by lethality assay of *Artemia salina*. Methanolic extracts of both species had alkaloids, triterpenes, saponins and flavonoids, while for antifungal activity results were relevant to *S. pruinosus*, with inhibition at lower doses of 125mg/mL. Both species showed lethal doses above 500 mg/mL for *Artemia salina*. *S. pruinosus* is an alternative for the development of new antifungal drugs.

Palabras clave: actividad antifúngica, tamizaje fitoquímico, cactáceas.

Key words: antifungal activity, phytochemical screening, cacti.

Correspondencia

Dr. Ramón Gerardo Rodríguez Garza
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Autónoma de Nuevo León
Av. Universidad S/N Cd. Universitaria, Facultad de
Ciencias Biológicas.
San Nicolás de los Garza N. L.
Tel. (81) 83-29-41-10 Ext. 6468
e-mail: qbp_fcb@yahoo.com.mx

Fecha de recepción: 15 de junio de 2011

Fecha de recepción de modificaciones: 19 de noviembre de 2011

Fecha de aceptación: 7 de diciembre de 2011

Introducción

Las micosis con mayor incidencia, candidiasis y dermatofitosis, son causadas por hongos que forman parte de la flora microbiana normal o están muy adaptados para sobrevivir en el huésped humano.¹ Las micosis cutáneas son causadas por un grupo de hongos llamados dermatofitos que se han especializado evolutivamente en la explotación de la queratina, estando presentes en animales y en el humano.² Estos hongos representan más de 40 especies clasificadas en tres géneros: *Microsporum*, *Trichophyton* y *Epidermophyton*.^{3,4} Actualmente en México, las dermatofitosis constituyen del 70-80 % de todas las micosis y tienen una frecuencia del 20-25% en la consulta dermatológica.⁵

La quimioterapia eficaz de los hongos plantea problemas especiales; dado que los hongos pertenecen al dominio *Eukarya*, la mayor parte de su maquinaria celular es la misma del hombre y los animales, por lo que los agentes quimioterapéuticos que afectan rutas metabólicas en hongos a menudo interfieren con las correspondientes rutas en las células hospedadoras, de ahí la toxicidad de estos medicamentos. Entre los fármacos utilizados para tratar diferentes tipos de micosis se encuentran: ketoconazol, itraconazol, terbinafina, nitrato de miconazol, tolnaftato, clotrimazol,⁶ sin embargo la aparición de cepas resistentes que en México se presenta ya como un problema emergente, justifica la búsqueda de nuevos medicamentos sintéticos o naturales.⁷

En las últimas décadas se ha incrementado el interés por los productos naturales y sus posibles aplicaciones en la industria farmacéutica en la búsqueda de nuevos medicamentos más eficientes; aproximadamente el 30 % de los fármacos empleados en los países industrializados proceden o se han sintetizado a partir de productos vegetales, por lo que los extractos de plantas son una fuente atractiva de nuevos medicamentos.⁸

Las especies de plantas oscilan entre 250,000 y 500,000, esta riqueza es un recurso que no se aprovecha totalmente, a pesar de su conocimiento ancestral en el tratamiento de múltiples enfermedades. Las plantas sintetizan dos tipos de metabolitos: los primarios (ácidos nucleicos, proteínas, lípidos y carbohidratos) que son esenciales para su crecimiento y desarrollo, y los metabolitos secundarios, derivados del metabolismo primario de las plantas y que les aportan diferentes propiedades, en este grupo tenemos los flavonoides, alcaloides, aceites esenciales, glucósidos, saponinas, taninos, siendo estos metabolitos secundarios los causantes de actividades biológicas como la antifúngica.⁹

La familia Cactácea está compuesta de aproximadamente 2,000

especies, las cuales se encuentran principalmente en zonas áridas y semiáridas; son plantas suculentas, de ordinario espinosas, con hojas muy reducidas o ausentes.¹⁰

Stenocereus (Berger), es el género de más amplia distribución de la Tribu Pachycereeae de ésta familia Cactaceae, incluye 23 especies de la cuales la mayoría son endémicas de México. A este taxón pertenecen las plantas conocidas como pitayas, cuyos frutos se aprovechan para consumo humano. En cuanto a su distribución, la especie está presente en los estados de Tamaulipas, Veracruz, Puebla, Guerrero, Oaxaca y Chiapas. Crece en estado silvestre y se cultiva en diversos poblados.¹¹

La especie *Stenocereus pruinosus*, es arborescente, con tronco bien definido, de 4 a 5 m de alto, ramas de 8-10 cm de diámetro, de color verde oscuro, hacia la extremidad de las ramas azulado, con una pruinosidad blanquecina de 5 a 6 costillas prominentes, circulares provistas de fieltro grisáceo claro.¹¹

El género *Equinocereus* (Engelmann), comprende plantas simples o cespitosas, bajas, perennes, erectas o postradas, a veces pendulosas. Tallos con costillas, de consistencia casi siempre suave, globosos hasta cilíndricos a veces muy largos. Aréolas vegetativas y floríferas semejantes. El fruto es carnoso, con pericarpio delgado, colorido, con aréolas espinosas, caducas cuando madura.¹¹

Equinocereus stramineus pertenece al grupo de las cactáceas monoarticuladas, no arbustivas, de tallos en su mayoría pequeños, globosos a cilindroides que forman conglomerados más o menos hemisféricos, hasta de 1 a 2 metros de diámetro, subfamilia Cactoideae.¹²

En cuanto a compuestos químicos, en el fruto de *S. griseus* se han encontrado aldehídos, ésteres y pigmentos como betalaínas,¹³ y en tallos de este género, saponinas triterpénicas,^{14,15} las cuales se han reportado con actividad contra dermatofitos.

En el género *Echinocereus* se han encontrado diversos metabolitos secundarios, entre ellos alcaloides, reportados en *Echinocereus merkeri*.¹⁶ En la actualidad se realizan investigaciones para incrementar su producción de alcaloides sobre todo en el área del cultivo de tejidos vegetales, donde se ha logrado cultivar callos de *Cereus peruvianus* (cactácea) para la producción de alcaloides.¹⁷

Se tienen reportes de actividad antibacteriana de extractos metanólicos de especies del género *Stenocereus*, sobre el cultivo de *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typhi* y *Listeria monocitogenes*.¹⁸

En *Lophocereus schottii* (Fam. Cactaceae) se reporta actividad antibacteriana para el extracto metanólico, sobre el cultivo de *Salmonella typhi*, *Enterobacter aerogenes* y *Listeria monocytogenes*.¹⁹

Reportes de actividad antifúngica se tienen sobre las especies *Ariocarpus kotschoubeyanus* y *Ariocarpus retusus* (Fam. Cactaceae), sobre los hongos dermatofitos *Trichophyton tonsurans* y *Microsporum cookei*, así como la presencia de grupos carbonilo, oxidrilos fenólicos, esteroides, metilesteroides, cumarinas, sesquiterpenlactonas, saponinas, flavonoides y alcaloides.²⁰

La industria farmacológica somete todos sus compuestos químicos a pruebas para detectar toxicidad; la mayoría de estas pruebas involucran protocolos que trabajan sobre líneas celulares específicas humanas, células de animales o bien en animales de laboratorio. Se han desarrollado bioensayos de bajo costo, rápidos, fáciles de realizar para búsqueda y fraccionamiento de extractos de plantas fisiológicamente activos como el bioensayo en el que utiliza un pequeño crustáceo, para la detección y aislamiento de productos naturales bioactivos, conocidos como “letalidad de los nauplios de *Artemia salina*”. Para disminuir todo tipo de costos, sin demeritar la efectividad de los análisis de toxicidad, se utiliza este ensayo que es confiable, económico, reproducible y no requiere de condiciones extremas de asepsia ni habilidades de manejo específicas. El bioensayo con nauplios de *A. salina* consiste en la determinación de la DL₅₀ (Dosis Letal Media) de los extractos de plantas; aquellos que presentan una DL₅₀ <100 mg/L, es muy probable que contengan uno o varios compuestos activos, por lo que es necesario fraccionarlos para repetir el bioensayo a menores concentraciones. Una vez que se hayan obtenido la o las fracciones activas, se aísla el o los productos para determinar su DL₅₀ e investigar su actividad biológica específica.²¹

Morales *et al*, obtuvieron una DL₅₀ de 64.57 µg/mL del extracto metanólico de *Lophocereus schottii* (Fam. Cactaceae) sobre la letalidad de crustáceo *A. salina*.²²

Por los motivos anteriormente expuestos, en esta investigación se considera relevante la evaluación de la actividad antifúngica, toxica, así como el perfil fitoquímico de extractos metanólicos de las especies *Stenocereus pruinosus* y *Echinocereus stramineus* (Fam. Cactaceae), plantas adaptadas a condiciones de sequía y distribuidas en los estados de San Luis Potosí, Zacatecas, Tamaulipas, Querétaro y Nuevo León, su uso ha sido reportado en la medicina tradicional.²³ Sin embargo estas propiedades no han sido validadas científicamente, por lo que el presente trabajo permitirá comprobar algunos de estos reportes.

Material y método

Material vegetal

La recolección de las especies se realizó con el permiso de la Corporación para el Desarrollo Agropecuario de Nuevo León, oficio N° 139.0 DDR2.22 (2006). *S. pruinosus* se colectó en Dr. González N.L. y *E. stramineus* en Mina N.L. Los ejemplares fueron identificados por el Dr. Marco Antonio Guzmán Lucio del Laboratorio de Fanerógamas, ya secos y montados fueron depositados en el Herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas UANL, el cual extendió el registro correspondiente, para la especie *S. pruinosus* # 025520 y *E. stramineus* # 025521.

Microorganismos

Las cepas de hongos dermatofitos *M. gypseum*, *M. canis*, *M. nanum* y *M. cookei* fueron aislados de pacientes del Centro Regional de Control de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Medicina, UANL.

Procesado de las plantas

El material vegetal se lavó para eliminar el exceso de tierra y partículas extrañas, se secó en un horno (Despatch Termostato de 20-550 °C) a 40°C para después triturarse en un molino (Wiley). Se utilizaron plantas completas y adultas de ambas especies. De las muestras molidas, se tomaron 150 g de cada especie y se depositaron por separado en un matraz Erlenmeyer de 500 mL y se les adicionaron 300 mL de metanol (CTR Scientific), se sellaron herméticamente para evitar evaporación del solvente durante la extracción, se dejaron en agitación constante por 7 días en un Agitador (Dual Action Shaker Lab-Line). Una vez transcurrido el tiempo de la extracción el solvente se separó del resto de la muestra mediante filtración en papel Whatman N° 1 (Whatman International LTD. England), obteniendo de esta manera los extractos libres de residuos, y se evaporaron hasta sequedad a presión reducida en un rotaevaporador (Büchi 461) a 40 °C y 60 rpm, con el fin de agilizar la evaporación y evitar contaminación.²⁴

Análisis fitoquímico preliminar para identificación parcial de metabolitos secundarios

Para la determinación inicial de los compuestos presentes en los extractos metanólicos de *S. pruinosus* y *E. stramineus*, se realizaron pruebas químicas de identificación. Las soluciones de los extractos se prepararon a una concentración de 50 mg/mL disueltos en metanol. Se utilizaron placas de cerámica de 12 pozos para las reacciones con el propósito de identificar esteroides, metilesteroides, flavonoides, saponinas, sesquiterpenlactonas, alcaloides, insaturaciones, oxidrilos fenólicos, grupo carbonilo y azúcares.²⁴

Evaluación de la Actividad fungicida

Se pesó el equivalente a 500 mg, 250 mg, 125 mg de cada uno de los extractos metanólicos y se disolvieron en 1 mL de metanol (CTR Scientific). Las soluciones de prueba se esterilizaron por filtración con membranas de 0.25 µm (Filtro Millipore). Cada disco de papel Whatman N° 1 (Whatman International Ltd. England) estéril de 7.25 mm de diámetro, se cargó con 10 µL de la solución correspondiente (carga final por disco 5 mg, 2.5 mg, 1.25 mg, respectivamente). Para el control positivo se pesó el equivalente a 0.01 mg de ketoconazol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) y se disolvió en 1.6 mL de metanol destilado al 98 % (CTR Scientific) para obtener una concentración de 60 µg/mL. Cada disco de papel Whatman N° 1 (Whatman International Ltd., England) estéril, se cargó con 10 µL de la solución (carga final por disco 0.6 µg). Los halos de inhibición se midieron en centímetros. Para el control negativo se utilizó metanol al 98 % de pureza (CTR Scientific).

Estandarización del inóculo

Para obtener las suspensiones de inóculo se utilizaron cultivos puros obtenidos a partir del crecimiento de 7 a 14 días en medio de Agar Papa Dextrosa (PDA-DIFCO) a 30°C. Se emplearon colonias maduras para obtener por arrastre de la superficie con 1 mL de solución salina 0.85 % de NaCl (CTR Scientific) y Tween (Fisher Scientific) al 80 % los elementos fúngicos que serán usados como inóculo. Posteriormente, la suspensión de conidios y fragmentos de hifas se retiraron con la ayuda de una pipeta y fue transferida a tubos de vidrio estériles. Por precipitación (15-20 min a temperatura ambiente) se eliminaron las partículas pesadas y el sobrenadante fué homogenizado con un vortex mixer (Daigger Genie 2) durante 15 segundos. Se ajustó la turbidez del sobrenadante con solución salina hasta 0.5 del nefelómetro de Mc Farland, correspondiente a una transmitancia del 68 % a 70 % medida a 530 nm de longitud de onda (Espectrofotómetro Spectronic Genesys 5). Tras agitar los tubos con las suspensiones de conidias ya homogenizadas, se tomó un inóculo de 100 µL y se sembró en tres direcciones en medio Agar Papa Dextrosa (PDA-DIFCO) sólido por triplicado y se dejó secar durante 20 a 30 minutos, todos los experimentos se corrieron por triplicado.^{2, 25, 26}

Se comparó el halo de inhibición contra las tres concentraciones del extracto metanólico de *S. pruinosus* contra la concentración del control positivo (ketoconazol) para cada una de las especies de hongos utilizando la prueba de Anova y Tukey en el programa estadístico SPSS 10.0.

Toxicidad del extracto metanólico de *Stenocereus pruinosus* sobre *Artemia salina*

Se prepararon concentraciones de 1000, 500, 100, 10 ppm, de cada uno de los extractos metanólicos. Los nauplios

sobrevivientes se contaron después de 24 h de aplicado el extracto a las diferentes dosis, y se registró el número de nauplios muertos. Los datos se analizaron en un programa estadístico de computadora SPSS utilizando la prueba PROBIT para determinar la Dosis Letal Media DL₅₀.

Resultados y discusión

Las plantas seleccionadas para este estudio fueron seleccionadas en base a estudios previos sobre la actividad biológica, estudios etnofarmacológicos y por su distribución en el estado de Nuevo León.^{25, 27, 28}

Los extractos metanólicos de ambas especies presentaron diferentes compuestos de los tres grupos principales en los que se clasifican los metabolitos secundarios²⁹: isoprenoides como terpenos y saponinas; derivados fenólicos como fenoles, ácidos fenólicos, flavonoides, antocianinas y el tercer grupo conformado por alcaloides^{30, 31} solamente el extracto de *S. pruinosus* presentó esteroides y triterpenos (Tabla 1).

Tabla 1. Identificación de grupos funcionales y metabolitos secundarios de los extractos metanólicos de *S. pruinosus* y *E. stramineus*.

Pruebas Químicas	<i>S. p</i>	<i>E. s</i>
KMnO ₄ (Insaturaciones)	+	+
2,4-Dinitrofenilhidracina (Carbonilo)	+	+
FeCl ₃ (Oxidrilos fenólicos)	+	+
Salkowski (Esteroides y Metilesteroides)	+	-
NaOH al 10% (Cumarinas)	+	+
Baljet (Sesquiterpenlactonas)	+	-
H ₂ SO ₄ (Flavonoides)	+	+
Dragendorff (Alcaloides)	+	+
Bicarbonato de Sodio (Saponinas)	+	-
Salkowski para Saponinas	+	+

S. p = *Stenocereus pruinosus*

E. s = *Echinocereus stramineus*

En cuanto a la actividad antifúngica de los extractos, los resultados obtenidos del ensayo con los dos extractos metanólicos crudos a una concentración de 500 mg/mL en los medios probados, reportan que solo el extracto metanólico crudo de *S. pruinosus* presentó actividad antifúngica contra las cepas de dermatofitos, por lo que se procedió a probar este único extracto a concentraciones de 250 mg/mL y 125 mg/mL, los resultados de la actividad antifúngica de *S. pruinosus* contra *M. nanum*, *M. gypseum*, *M. canis* y *M. cookei* (Tabla 2). *E. stramineus* no presentó actividad contra estas cepas a las concentraciones probadas.

Tabla 2. Actividad antifúngica del extracto metanólico de *S. pruinosus*

Hongos	Halo de inhibición (cm)				
	500 mg/mL	250 mg/mL	125 mg/mL	Controles	
				Metanol (-)	Ketoconazol (+)
<i>M. nanum</i>	3.2 ± 1.0	2.0 ± 0.7	0.5 ± 0.7	-	4.5 ± 0.7
<i>M. gypseum</i>	4.2 ± 0.7	1.8 ± 0.1	1.7 ± 1.7	-	2.0 ± 0.0
<i>M. canis</i>	3.6 ± 0.5	2.3 ± 0.2	1.0 ± 1.4	-	3.0 ± 0.0
<i>M. cookei</i>	2.3 ± 3.3	2.4 ± 0.5	1.5 ± 0.0	-	4.5 ± 0.0

La amplia prevalencia de infecciones de piel, uñas y cabello causadas por dermatofitos, además del número limitado de fármacos efectivos contra ellas ha ocasionado la búsqueda de nuevos agentes antimicóticos, los cuales pueden derivar de las plantas, en los extractos polares de éstas se han encontrado compuestos con amplia actividad biológica, en este estudio los resultados de la actividad antifúngica en el extracto metanólico de *S. pruinosus* concuerda con otros estudios,³² en los que en los extractos polares tienen esta actividad y en investigaciones con otras cactáceas los compuestos extraídos con este solvente han resultado bioactivos.³³

Los resultados del análisis fitoquímico del extracto metanólico de *S. pruinosus* concuerda con lo dicho por Domínguez,³⁴ el cual menciona que las características químicas de la familia de las cactáceas se componen principalmente de betalainas, alcaloides, flavonoides y otros compuestos fenólicos, además de esteroides, triterpenos y saponinas. Los alcaloides y estos dos últimos metabolitos son compuestos biológicamente activos correlacionados a sustancias que poseen actividad antifúngica como son las saponinas triterpénicas,^{35, 36, 37} la acción de las saponinas esta asociado con la inhibición de la síntesis de los polímeros de la pared celular, Onishi,³⁸ reporta que las

saponinas triterpénicas glicosiladas con un azúcar son inhibidores específicos de (1,3)- Beta – D Glucan sintetasa de la pared celular fungal. Por lo que estas sustancias pueden ser candidatas a ser las responsables del efecto antifúngico de *S. pruinosus*.

El extracto metanólico de *S. pruinosus* presentó actividad fungicida sobre hongos dermatofitos de importancia médica a una concentración de 1.25 mg/mL. No se encontró actividad fungicida relevante con el extracto metanólico de *E. stramineus*.

En otro trabajo realizado con estas especies, el extracto metanólico de *S. pruinosus* presentó actividad bactericida contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typhi* y *Listeria monocitogenes*; en cambio en *Equinocereus stramineus* no se reporta actividad biológica contra ninguno de estos microorganismos.³⁹

Con lo anteriormente descrito se concluye que *S. pruinosus* cuya distribución en la República Mexicana es muy amplia y que además se cultiva por sus frutos, puede aprovecharse para obtener de él compuestos activos contra diversos microorganismos entre ellos los que producen dermatofitosis.

En las especies de *M. gypseum* y *M. canis* al realizar la comparación entre las diferentes concentraciones del extracto metanólico de *S. pruinosus* con el ketoconazol se observó que hay diferencia entre ellos. En las especies de *M. nanum*, y *M. cookei* se observó que hay una diferencia significativa entre las concentraciones de los extractos metanólicos de *S. pruinosus* y el ketoconazol (Tabla 3).

Tabla 3. Comparación del halo de inhibición contra las concentraciones utilizadas sobre las especies de hongos dermatofitos.

Especies	Media	Desviación estándar	Significancia	Prueba de Tukey			
				C1	C2	C3	C4
<i>M. gypseum</i>	2.246	1.231	0.002	a	b	b	b
<i>M. nanum</i>	3.642	1.733	0.000	a	b	b	a
<i>M. canis</i>	2.257	1.383	0.003	ab	ab	a	b
<i>M. cookei</i>	3.358	1.866	0.000	bc	ab	a	c

C1 = Extracto metanólico de *S. pruinosus* a 500 mg/mL

C2 = Extracto metanólico de *S. pruinosus* a 250 mg/mL

C3 = Extracto metanólico de *S. pruinosus* a 125 mg/mL

C4 = Ketoconazol a 60 µg/mL

abc = Grupos

Se realizó el bioensayo de letalidad de *A. salina* con el extracto metanólico de *Stenocereus pruinosus*, ya que fue el único extracto que mostró actividad antifúngica, este bioensayo es utilizado por ser sencillo y económico en la búsqueda primaria de compuestos tóxicos en extractos crudos de plantas y organismos marinos.⁴⁰

El extracto metanólico de *Stenocereus pruinosus* no presentó toxicidad a las dosis evaluadas sobre los nauplios de *A. salina*, el análisis PROBIT reveló que la DL_{50} se encuentra a 826.77 mg/mL (Figura 1), encontrándose que hay diferencia entre las concentraciones probadas.

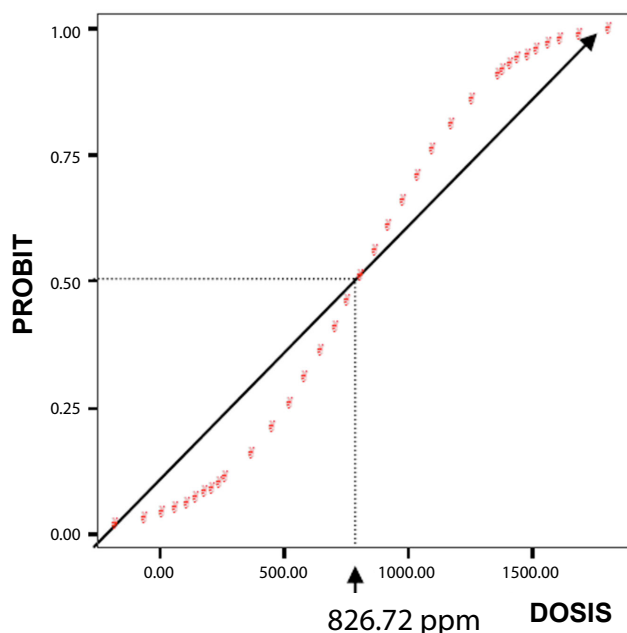


Figura 1. DL_{50} extracto metanólico de *S. pruinosus*

Conclusiones

La naturaleza es una fuente de una gran variedad de moléculas bioactivas, las cuales son utilizadas como base en el diseño y formulación de nuevas generaciones de fármacos más eficaces en el tratamiento de enfermedades y con menos efectos secundarios a la salud. La información generada en este trabajo sirve para dar soporte del uso de estas plantas en la medicina tradicional.

En base a los resultados obtenidos en este trabajo, se pueden orientar los esfuerzos a la búsqueda de nuevos fitofármacos de esta especie que habita en zonas áridas, surgiendo con esto posteriores investigaciones sobre la composición, aislamiento y la caracterización de compuestos químicos y lograr un aprovechamiento racional de los recursos naturales.

Agradecimiento

Al apoyo del CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología). Becario # 182201.

Referencias

1. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 16ª edición. Ed. El Manual Moderno. México, D. F. 1991, p.709-718.
2. Carrillo-Muñoz AJ, Santos P, Del Valle O, Casals JB, Quindós G. ¿Es activa la amfotericina B frente hongos dermatofitos y Scopulariopsis brevicaulis? Rev Esp Quimioterap. 2004; 17(3):244-249.
3. Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz S. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. Chapter McGraw-Hill. Washington DC. 1999.
4. Arenas R. Micología Médica Ilustrada. McGraw-Hill. México, D.F. 1993.
5. Arenas R. Dermatitis en México. Rev Iberoam Micol. 2002; (12):63-67.
6. Madigan MT, Martinko JM, Parker J. Brock. Biología de los microorganismos. 10a Ed. Pearson Educación. Madrid, España; 2004.
7. Manzano-Gayosso P, Méndez-Tovar LJ, Hernández-Hernández F, López-Martínez R. Antifungal resistance: an emerging problem in México, Gac Méd Mex. 2008; 144(1):23-26.
8. Borris RP. Natural Products Research: Perspectives from a major pharmaceutical company. J Ethnopharmacol. 1996; 51:29-38.
9. Mesa AC, Bueno JG, Betancur LA. Productos naturales con actividad antimicótica. Rev Esp Quim Prous Science, S.A. Soc Esp de Quimioterap. 2004; 17(4):325-331.
10. Bravo-Hollis H, Scheinvar L. El interesante mundo de las cactáceas. CONACYT. Fondo de Cultura Económica; 1995.
11. Bravo-Hollis H, Sánchez MH. Las Cactáceas de México. Vol. I Universidad Autónoma de México, México D.F; 1978, p.446-453.
12. Bravo - Hollis H, Sánchez MH. Las Cactáceas de México. Vol. II. UNAM. México D.F.; 1991.
13. Yáñez-López, J. Domínguez, M.C. Fajardo, F. Malpico, J. Soriano, C. Pelayo, M.A. Armella, F. Quality Attributes of Different Types of Cactus Pitaya Fruits (*Stenocereus griseus*) Ishs Acta Horticulturae 682. 2004. V International Postharvest Symposium.
14. Imai T, Okazaki S, Kinoshita K, Koyama K, Takahashi K, Yuasa H. Triterpenoid saponins from cultural plants of *Stenocereus stellatus* (Cactaceae). J Nat Med. 2006; 60: 49-53.

15. Okazaki S, Kinoshita K, Koyama K, Kunio T, Hiroshi Y. New triterpene saponins from *Stenocereus eruca* (Cactaceae). J Nat Med. 2007; 61(1): 24-29.
16. Agurell S, Lundström J, Masoud A. Cactaceae alkaloids. VII. Alkaloids of *Echinocereus merkeri*. J Pharm Sci. 1969; 58(11):1413-14.
17. Oliveira AJ De, Machado MF. Alkaloid production by callous tissue cultures of *Cereus peruvianus* (Cactaceae). Appl Biochem Biotechnol. 2003; 104(2):149-55.
18. Treviño NJ, Oranday CA, Verde SJ, Rivas MC, Morales RM, Rodríguez GR. Uso de extractos de *Equinocereus stramineus* y *Stenocereus pruinosus* como agentes antibacteriales. Rev Respyn. 2004; 1:2-3.
19. Morales RM, Verde SJ, Oranday CA, Rivas MC, Arévalo NK, Treviño NJ, Carranza RP, Cruz VD. Actividad Biológica de *Lophocereus schottii* (Engelman) Britton and Rose. Rev Respyn. 2007; 7:1-3.
20. Rodríguez GR, González GG, Verde SJ, Morales RM, Rivas MC, Oranday CA, Núñez GM, Treviño NJ. Rev Polibotánica. 2011; 31:143-155.
21. McLaughlin JL, Chang Ch, Smith DL. Simple bioassay for the detection and isolation of bioactive natural products. Department of Medicinal Chemistry and Pharmacognosy, School of Pharmacy and Pharmacal Sciences, Purdue University, West Lafayette, IN 47907, USA; 1988.
22. Morales ME. Extractos de *Lophocereus schottii* (Engelm) Britton and Rose y *Stenocereus gummosus* (Engelmann) Gibson y Horak con actividad antibacteriana y antineoplásica sobre líneas celulares humanas. Rev Respyn. 2008. 9:4-6.
23. Anderson EF. The Cactus Family. Timber Press. Hong Kong; 2001, p. 18-19, 120-121.
24. Harborne JB. Phytochemical Methods a guide to modern techniques of plant analysis. 3a Ed. Chapman & Hall, London; 1998, p. 1-32.
25. Maldonado MA, Treviño JF, González GM, Oranday CA, Rivas MC, Morales ME. Actividad fungicida y análisis fitoquímico preliminar de especies de cactáceas: *Echinocereus stramineus* y *Stenocereus pruinosus*. Rev Respyn. 2009. 4:2-4.
26. Ruiz BE, Velázquez C, Garibay EA, García Z, Plascencia JM, Cortez RM, Hernández MJ, Robles ZR. Antibacterial and antifungal activities of some Mexican medicinal plants. J Med Food. 2009; 12(6):398-402.
27. Anderson EF. The Cactus Family. Timber Press. Hong Kong; 2001, pp. 18-19, 120-121.
28. Moore M. Medicinal Plants of the Desert and Canyon West. Published by Museum of New México Press; 1989, p.81-83.
29. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Editorial Omega S.A; 2000, p.106-183.
30. Saleem M, Kim HJ, Han CK, Jin C, Lee YS. Secondary metabolites from *Opuntia ficus-indica* var. saboten. Phytochemistry. 2006; 67(13):1390-4.
31. Okazaki S, Kinoshita K, Koyama K, Kunio T, Hiroshi Y. New triterpene saponins from *Stenocereus eruca* (Cactaceae). J Nat Med. 2007; 61(1):24-29.
32. Siqueira AB, Gomes BS, Cambuim I, Maia R, Abreu S, Souza-Motta CM, de Queiroz LA. *Trichophyton species* susceptibility to green and red propolis from Brazil. Lett Appl Microbiol. 2009; 48(1):90-6.
33. Tan ML, Sulaiman SF, Najimuddin N, Samian MR, Muhammad TS. Methanolic extract of *Pereskia bleo* (Kunth) DC. (Cactaceae) induces apoptosis in breast carcinoma, T47-D cell line. J Ethnopharmacol. 2005; 4 96(1-2):287-94.
34. Domínguez XA. Métodos de Investigación Fitoquímica Editorial Limusa. México D.F; 1973.
35. Evron R, Polacheck I, Guizie M, Levy M, Zehavi U. Activities of Compound G2 Isolated from Alfalfa Roots against Dermatophytes. Antimicrob Agents and Chemother. 1988; 32(10):1586-1587.
36. Jules-Roger K, Simplicie M, Hypolyte K, Wabo, PT. Antidermatophytic triterpenoids from *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae). Phytother Res. 2006; 21(2):149-152.
37. Mahendra Rai, Donatella. Mares Plant-derived antimycotics: current trends and future prospects. Food Products Press. The Haworth Press, Inc. NY; 2003.
38. Onishi J, Meinz M, Thompson J, Curotto J, Dreikorn S, Rosenbach M, Douglas C, Abruzzo G, Flattery A, Kong L, Cabello A, Vicente F, Peláez F, Diez MT, Martin I, Bills G, Giacobbe R, Dombrowski A, Schwartz R, Morris S, Harris G, Tsipouras A, Wilson K, Kurtz MB. Discovery of Novel Antifungal (1,3)- β -D-Glucan Synthase Inhibitors. Antimicrob Agents Chemother. 2000; 44(2):368-377.
39. Treviño-Neávez JF, Oranday-Cárdenas A, Verde-Star J, Rivas-Morales C, Morales-Rubio ME, Rodríguez-Garza RG. Uso de Extractos de *Ariocarpus kotschobetanus*, *Equinocereus stramineus* y *Stenocereus pruinosus* como agentes antibacteriales. Rev Respyn. 2004; (1)6.
40. Meyer BN, Ferrigni NR, Putman JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. Plant Med. 1982; 45:31-34.