Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en Ciencias Biológicas

EVALUACIÓN QUIMICA Y BIOLÓGICA DE FORMULACIONES DERMATOLÓGICAS USADAS EN LA MEDICINA TRADICIONAL YUCATECA

Tesis que presenta

ZURISADAI ESCOBAR CHAN

En opción al título de

DOCTOR EN CIENCIAS

(Ciencias Biológicas: OPCIÓN RECURSOS NATURALES)

Mérida, Yucatán, México

2023

CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A. C.
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

CICY

RECONOCIMIENTO

Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis de **Zurisadai Escobar Chan** titulado **"Evaluación química y biológica de formulaciones dermatológicas usadas en la medicina tradicional yucateca",** fue realizado en la **Unidad de Recursos Naturales**, en la línea de investigación Servicios Ambientales de la Biodiversidad, en los laboratorios de la Unidad de Recursos Naturales y el laboratorio Regional para el Estudio y Conservación de Germoplasma del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., bajo la dirección de la **Dra. Blanca Marina Vera Ku**, dentro de la opción de Recursos Naturales, perteneciente al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas de este Centro.

Atentamente

Dra. Cecilia Hernández Zepeda
Directora de Docencia

Mérida, Yucatán, México, a 03 de octubre de 2023.

DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en la sección de Materiales y Métodos, los Resultados y Discusión de este documento proviene de las actividades de investigación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que a razón de lo anterior y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y en el mismo tenor, reconozco que si derivaren de este trabajo productos intelectuales o desarrollos tecnológicos, en lo especial, estos se regirán en todo caso por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.

Zurisadai Escobar Chan

Este trabajo se llevó a cabo en la **Unidad de Recursos Naturales** del Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C., y forma parte del proyecto de Investigadores por México, No. 1307 **"Plantas medicinales del banco de germoplasma: Caracterización fitoquímica y estudio etnofarmacológico de las especies vegetales más usadas en la medicina tradicional maya"** bajo la dirección de la Dra. Blanca Marina Vera Ku.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), por la beca otorgada para mis estudios de doctorado con No. 775069.

Al Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY), por el apoyo y uso de las instalaciones y equipos de los laboratorios.

Agradezco la colaboración con los grupos de investigación del Laboratorio Regional para Estudio y Conservación de Germoplasma (Germolab) del Centro de Investigación Científica de Yucatán del Parque Científico Tecnológico de Yucatán y al Laboratorio de Microbiología Molecular del Tecnológico Nacional de México/ IT-Mérida.

Expreso mi profunda gratitud a la Dra. Blanca Marina Vera Ku, mi directora de tesis, por brindarme la oportunidad de colaborar en su proyecto sobre medicina tradicional maya. Reconozco su invaluable contribución en la organización, elaboración y orientación en los análisis, así como su disposición constante durante la evaluación de esta tesis. Su experiencia y sabiduría han sido fundamentales para guiar mis conocimientos en la dirección adecuada.

A los apreciables Dres. Sergio Rubén Peraza Sánchez, Germán Carnevali Fernández Concha, Elizabeth Ortiz-Vázquez y Cecilia Mónica Rodríguez-García por su dedicación en la evaluación de cada examen tutorial, predoctoral y tesis.

Además, deseo expresar mi más sincero agradecimiento a los técnicos de laboratorio: Leticia Peraza Echeverría, Jesús Manuel Ramón Sierra, Rosa Grijalva Arango, Luis Wiliunfo Torres Tapia, Miriam del Socorro Monforte González, Fabiola Escalante Erosa y José Leonardo Guillermo-Cordero, por su apoyo en el desarrollo de los experimentos, que ha sido inestimable para mí, y por su amistad.

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a los médicos tradicionales: Carlos Tuyub Cetina, Leticia Elizabeth Jiménez Guzmán, Felipa Cetina Moo, María Aida Mul Rubio, María Santos Chan Chan, Juanita Tilan Collí, María Alicia Díaz Barboza, Miguel Ismael Chávez Manrique, Carmito Antonio Ek Catzim y Leydi Lucely Dorantes Cob. Sus profundos conocimientos, transmitidos con cariño y dedicación, han enriquecido mi comprensión, mi raza de bronce.

LISTA DE LOS PRODUCTOS GENERADOS

Artículo: Zurisadai Escobar-Chan, Germán Carnevali Fernández-Concha, Cecilia Mónica Rodríguez-García, Elizabeth Ortiz-Vázquez, Sergio Rubén Peraza-Sánchez, Blanca Marina Vera-Ku. Quantitative ethnobotanical study of medicinal species with dermatological relevance used in traditional Mayan medicine. Journal of Ethnobiology.

Participación en CICY casa abierta 2019 con la actividad titulada: Plantas utilizadas en la medicina tradicional maya.

Presentación del póster titulado "Estudio etnobotánico de plantas usadas en la medicina tradicional maya para tratar enfermedades cutáneas" dentro de las actividades del Segundo Congreso Mexicano de Fisiología Vegetal (6 de noviembre de 2019).

Presentación del cartel virtual: "Análisis de la actividad antifúngica y estudio fitoquímico de F9, un jabón con propiedades dermatológicas de la medicina tradicional maya", dentro de las actividades de la 17ª Reunión Internacional de Investigación de Productos Naturales (Amipronat, 18 de mayo de 2022).

Participación como panelista en la actividad denominada "La ciencia detrás de los médicos tradicionales", en el marco de la Semana Nacional del Conocimiento, Yucatán 2022 (del 17 al 21 de octubre de 2022).

DEDICATORIAS

En primer lugar, agradezco a ELOHIM por mostrarme que el verdadero sentido de la vida es conocerle. Él es quien da la sabiduría; conocimiento y ciencia brotan de sus labios (Proverbios 2:6).

A mi familia, a mi pequeño hijo Elishua por enseñarme a ser mamá, por ser mi impulso de todos los días, la sonrisa de mi hijo al final de la jornada borra cualquier rastro de cansancio que pueda sentir. Al amor de mi vida, mi esposo Isaí Abdiel, gracias por estar a mi lado en la realización de este sueño; juntos, hemos logrado superar cada obstáculo en el camino.

A mis padres, Araceli y Adal, les agradezco por permitirme volar. Aunque me caí y me lastimé en muchas ocasiones, me hicieron un bien al brindarme libertad. A mis abuelos, Amparo y Santiago, quiero expresarles mi gratitud por ser mi refugio en los momentos en que los he necesitado; el amor que me brindan es invaluable. A mis hermanos, Eslim, Esmirna, Abigail y Yudy, les agradezco por los preciosos recuerdos de cuando compartimos momentos juntos. A pesar de que hemos crecido en diferentes direcciones como las ramas de un árbol, nuestras raíces siguen siendo las mismas.

A la familia de mi esposo, Martinita y Santos, mis suegros, así como a mis cuñados Noemí, Thelma, Emanuel y Pablo, les agradezco de corazón. También quiero mencionar a mis sobrinos Erick y Adrián, así como a todas las tías y tíos. Su apoyo ha sido invaluable, cuidando a Elishua en tantas ocasiones para que yo pudiera trabajar, y tratándolo con cariño durante mis ausencias. Su amor y dedicación han sido fundamentales.

A mis amigos del laboratorio, Ángeles, Brandon, Sherly, Ruby, Enrique y Ana, les agradezco por las valiosas experiencias científicas compartidas. También quiero expresar mi gratitud a los hermanos de la comunidad adventista de Xoclán y Komchén, quienes me han acompañado en este camino y han brindado su apoyo moral y espiritual. Especialmente, agradezco a los amigos Alejandro, Carolina, Pablo, Maricela y Lorena por su amistad.

Cada día agradezco por las noches que se transforman en mañanas, por mi sitio bajo el cielo más dulce: que es mi hogar, por la familia y los amigos que se han vuelto mi segunda familia, por los sueños que se han vuelto realidad y por la vida que me ha dado ELOHIM.

ÌNDICE

LISTADO DE FIGURAS v
LISTADO DE TABLAS vii
ABREVIATURAS viii
RESUMEN ix
ABSTRACT x
INTRODUCCIÓN 1
CAPÍTULO I 4
ANTECEDENTES 4
1.1. Importancia de tratar las enfermedades cutáneas 4
1.2. Lesiones cutáneas 5
1.2.1. Infecciones causadas por bacterias 6
1.2.2. Infecciones causadas por hongos 6
1.3. Tratamientos contra las enfermedades cutáneas 8
1.4. Enfermedades cutáneas en la población yucateca 10
1.5. Patrimonio biocultural 11
1.6. Evolución de la medicina maya de Yucatán 13
1.7. Etnobotánica cuantitativa 15
1.8. Etnobotánica de las formulaciones medicinales 16
JUSTIFICACIÓN 18
HIPÓTESIS 19
OBJETIVO GENERAL 19
OBJETIVOS ESPECÍFICOS 19
ESTRATEGIA EXPERIMENTAL 20
CAPITULO II 20
QUANTITATIVE ETHNOBOTANICAL STUDY OF MEDICINAL SPECIES WITH DERMATOLOGICAL RELEVANCE USED IN TRADITIONAL MAYAN MEDICINE 20
Resumen 20
2.1. INTRODUCTION 21
2.2. MATERIALS AND METHODS 22
2.2.1. Study areas 22
2.2.2. Data collection 23
2.2.3. Bibliographical sources 24

2.2.4. Multivariate analysis 25
2.3. RESULTS 26
2.3.1. Demographic characteristics of informants 26
2.3.2. Perception and knowledge of the disease 26
2.3.4. Ethnohistoric and bibliographic analysis 30
2.3.5. Multivariate analysis 43
2.4. DISCUSSION 45
2.5. CONCLUSIONS 48
CAPÍTULO III 49
PERFIL CROMATOGRÁFICO DE LAS FORMULACIONES TRADICIONALES MAYAS USADAS PARA ENFERMEDADES CUTÁNEAS 49
3.1. INTRODUCCIÓN 49
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS 50
3.2.1. Investigación etnobotánica 50
3.2.2. Colecta y autentificación de plantas 51
3.2.3. Preparación de las formulaciones 51
3.2.4. Establecimiento del método cromatográfico por HPTLC 52
3.2.5. Perfiles fitoquímicos de las formulaciones 52
3.2.6. Revelado con reactivos específicos 53
3.2.6.1. Detección de terpenoides, saponinas y carbohidratos 53
3.2.6.2. Detección de flavonoides y compuestos polifenólicos 54
3.3. RESULTADOS 54
3.3.1. Formulaciones dermatológicas 54
3.3.2. Perfiles cromatográficos y análisis fitoquímico de las formulaciones 60
3.4. DISCUSIÓN 63
CAPITULO IV 66
ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE FORMULACIONES UTILIZADAS PARA TRATAR ENFERMEDADES CUTÁNEAS EN LA MEDICINA TRADICIONAL MAYA 66
4.1. INTRODUCCIÓN 66
4.2. MATERIALES Y MÉTODOS 67
4.2.1. Evaluación de la actividad biológica 67
4.2.2. Preparación de los microorganismos 69
4.2.3. Ensayo de difusión en disco 69
4.2.4. Concentración mínima inhibitoria (MIC) frente *a C. albicans y S. aureus* ... 70

4.3. RESULTADOS 71
4.3.1. Actividad biológica de las formulaciones 71
4.3.1.1. Resultados en el ensayo de difusión en discos 71
4.3.1.2. Resultados obtenidos por microdilución 72
4.4. DISCUSIÓN 75
CAPÍTULO V 78
ANALISIS FITOQUIMICO DE F9, F13 Y F15, FORMULACIONES UTILIZADAS EN LA MEDICINA TRADICIONAL MAYA 78
5.1 INTRODUCCIÓN 78
5.2. MATERIALES Y MÉTODOS 79
5.2.1. Preparación de las formulaciones medicinales 79
5.2.2. Obtención de fracciones de F9, F13 y F15 80
5.2.3. Perfiles por HPTLC de las formulaciones F9, F13 y F15 junto con sus fracciones 81
5.2.3. Detección fitoquímica de las formulaciones 81
5.3. RESULTADOS 81
5.3.1. Obtención de fracciones de F9, F13 y F15 81
5.3.2. Perfiles cromatográficos obtenidos por HPTLC de las formulaciones F9, F13 y F15 82
5.3.3. Análisis fitoquímico de las formulaciones por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) 83
5.3.3.1. Análisis fitoquímico de F9 83
5.3.3.2. Análisis fitoquímico de F13 87
5.3.3.3. Análisis fitoquímico de F15 91
5.4. DISCUSIÓN 93
CAPITULO VI 95
ESTABLECIMIENTO DE UN PROTOCOLO DE TOXICIDAD DÉRMICA AGUDA 95
6.1. INTRODUCCIÓN 95
6.2. MATERIALES Y MÉTODOS 98
6.3. RESULTADOS 101
6.3.1. Formatos que solicita el Comité 101
6.3.2. Formato administrativo 102
6.4. DISCUSIÓN 112
CAPITULO VII 113
DISCUSIÓN, CONCLUSIONES GENERALES Y PESPECTIVAS 113

7.1. DISCUSIÓN 113
7.2. CONCLUSIONES GENERALES 115
7.3. PERSPECTIVAS 116
REFERENCIAS GENERALES 117
ANEXOS 133
ANEXO 1. Pruebas de Hipótesis 133
ANEXO 2. Formato de consentimiento informado 138
ANEXO 3. Formato de entrevista 139
ANEXO 4. Reporte del análisis generado del método HPTLC para la obtención de perfiles cromatográficos de las formulaciones 144

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1.1. Mapa visual de las lesiones cutáneas primarias y secundarias. Fuente: Kleinman *et al*., 2021……5

Figura 1.2. Infecciones bacterianas de la piel. Fuente : Kleinman *et al*., 2021…..……..6

Figura 1.3. Infecciones fúngicas *de la* piel. Fuente : Kleinman *et al*., 2021……..……7

Figura 1.4. Regiones indígenas de México. Fuente: Atlas de los pueblos indígenas de México (Instituto Nacional de los Pueblos Indígenas, 2020)…..……..13

Figura 1.5. Estrategia experimental para la búsqueda, elección y análisis de formulaciones medicinales mayas utilizadas contra enfermedades de la piel……..20

Figure 2.1. Location of the Mayan municipalities of Hunucmá, Sotuta, Chapab, Akil, Tzucacab, and Yaxcabá in Yucatán, México……...23

Figure 2.2. Distribution of medicinal species used against skin diseases by family……28

Figure 2.3. Frequency of use of plant parts to treat skin conditions in the communities of Yucatan, Mexico……..29

Figure 2.4. Frequency of preparation forms of plants to treat skin conditions in the communities of Yucatan, Mexico……...29

Figure 2.5. PCA analysis of the similarity of species with dermatological relevance used in the traditional Mayan medicine (MTM) of the state of Yucatan. The numbers correspond to the order of the species listed in Table 2.1……...44

Figura 3.1. Etapas del desarrollo del método HPTLC……53

Figura 3.2. Vista 3D de todas las pistas del cromatograma densitométrico de las formulaciones obtenido a una longitud de onda (λ) de 330 nm……..……61

Figura 3.3. Obtención de perfiles cromatográficos de formulaciones medicinales usadas contra enfermedades de la piel. a) Perfiles obtenidos de las 22 formulaciones por HPTLC, λ 366 nm. b) Placa con 13 formulaciones derivatizada con el reactivo ácido sulfúrico-*p*-anisaldehido, UV 366 nm. c) Placa de las 22 formulaciones derivatizada con el reactivo NP bajo 366 nm……62

Figura 4.1. Ensayos de difusión en discos de formulaciones más activas. a) *Pseudomonas aeruginosa*, b) *Staphylococcus aureus*, c) *Candida albicans*, y d) *Criptococcus neoformans*……..72

Figura 4.2. Microdilución en placa de 96 pozos después de 24 horas de incubación con *C. albicans*. Las filas son las formulaciones para evaluar a 100, 200 y 50 mg/mL, control positivo, negativo y blanco……73
Figura 5.1. Diagrama de la obtención de fracciones hexánicas, acetato de etilo y acuosa para las formulaciones F9, F13 y F15 mediante extracciones sucesivas líquido-líquido……80
Figura 5.2. Perfiles por HPTLC de F9, F13 y F15 y sus fracciones hexánicas (1A) y diclorometánicas (1B). Sistema de disolvente: butanol/isopropanol/H_2O en (5:3:2, v/v/v), placas vistas en UV 366 nm……...83
Figura 5.3. Cromatogramas de análisis por CG-EM. a) Formulación F9, b) fracción de hexano (F9-1A), c) fracción de acetato de etilo (F9-1B)……84
Figura 5.4. Cromatogramas de análisis CG-EM de F13. a) Fracción de hexano (F13-1A), b) fracción de acetato de etilo (F13-1B)……88
Figura 5.5. Cromatograma de análisis CG-EM de F15. Fracción de acetato de etilo (F15-1B)……91
Figura 6.1. Diseño experimental para el establecimiento de un protocolo de toxicidad dérmica para la evaluación de formulaciones utilizadas en la medicina tradicional maya……100
Figura 6.2. Formato administrativo de protocolo de toxicidad dérmica……..…..102
Figura 6.3. Protocolo para el uso de animales e investigación y tesis……..……...111

LISTADO DE TABLAS

Table 2.1. Uses of endemic and introduced plant species against dermatological problems in the Yucatan Peninsula……...33

Tabla 3.1. Formulaciones medicinales utilizadas contra enfermedades de la piel obtenidas como resultado de las visitas de campo realizadas en Tibolón (Sotuta), Hunucmá y Yaxcabá……...56

Tabla 4.1. Lista de patógenos evaluados, enfermedades de la piel en humanos y síntomas relacionados……68

Tabla 4.2. Parámetros utilizados para los microorganismos en los ensayos de difusión en discos……70

Tabla 4.3. Interpretación cualitativa de los halo de inhibición de las 22 formulaciones usadas en la medicina tradicional maya yucateca contra enfermedades de la piel……...71

Tabla 4.4. Concentración mínima inhibitoria de las formulaciones contra *C. albicans* y *S. aureus*……...74

Tabla 5.1. Rendimientos correspondientes a las fracciones obtenidas a partir de 500 mg de extracto liofilizado de F9, F13 y F15……82

Tabla 5.2. Composición química de la formulación F9……..86

Tabla 5.3. Composición química de la formulación F13……88

Tabla 5.4. Composición química de la formulación F15……91

ABREVIATURAS

ACP	Análisis de componentes principales
ALT	Alanine amino tranferase
AST	Aspartate amino transferase
CDI	Comisión para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas
CNDH	Comisión Nacional de Los Derechos Humanos
CONAPO	Consejo Nacional de Población
CONEVAL	Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social
GC-MS	Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry
GERMOLAB	Laboratorio Regional para Estudio y Conservación de Germoplasma
HPTLC	High Performance Thin Layer Chromatography
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
INDEMAYA	Desarrollo de la Cultura Maya del Estado de Yucatán
INAFED	Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
MT	Medicina Traditional
MAC	Medicina alternativa complementaria
MIC	Minimum inhibitory concentration
MTC	Medicina traditional china
OECD	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos
OMS	Organización Mundial de la Salud
R_f	Factor de reparto
SEDESOL	Secretaría de Desarrollo Social
SEMARNAT	Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales
SSY	Servicios de Salud del Estado de Yucatán
SUVI	Species Usage Value Index
t_R	Tiempo de retención
TLC	Thin-layer chromatography

RESUMEN

En la Península de Yucatán se ha conservado una buena parte del conocimiento sobre las plantas útiles para la población indígena. Este legado ancestral ha despertado el interés y la dedicación del Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY), que ha emprendido estudios minuciosos para comprender a fondo las propiedades y beneficios de las plantas que lo conforman.

En el CICY se han realizado trabajos relacionados con la flora peninsular desde enfoques fitoquímicos, farmacológicos y de conservación entre otros; sin embargo, el estudio científico de la evaluación de formulaciones preparadas por los médicos tradicionales para el tratamiento de enfermedades aún está iniciando. A partir de la investigación de validación de formulaciones antidisentéricas de la medicina tradicional maya-yucateca y el análisis de las actividades biológicas contra algunos agentes causantes (Vera-Ku *et al.*, 2010), en nuestro equipo de trabajo ha existido un creciente interés por la validación de toda clase de formulaciones medicinales. En este trabajo, se espera dar soporte científico al conocimiento ancestral mediante la evaluación de formulaciones usadas para tratar afecciones dermatológicas, ya que la incidencia de estas afecciones es elevada en la población.

De acuerdo con el estudio etnobotánico realizado en comunidades indígenas marginadas, se llevó a cabo una exhaustiva recolección de información sobre más de 100 especies vegetales y 22 formulaciones medicinales tradicionales. Al realizar pruebas de actividad biológica contra varios agentes causantes de enfermedades dérmicas, se encontró que 10 formulaciones mostraron una destacada actividad antibacteriana contra las cepas resistentes a los antibióticos. Además, se observó que 13 formulaciones presentaron acción efectiva contra *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*. Entre las formulaciones más activas, se identificaron cinco que sobresalieron por su potencia terapéutica: F3, F9, F12, F13 y F14. Estos hallazgos sugieren que estas formulaciones pueden ser prometedoras para futuros estudios farmacológicos y podrían convertirse en candidatas potenciales para el tratamiento de infecciones bacterianas y fúngicas, brindando así una alternativa valiosa y accesible para la población que recurre a la medicina tradicional en busca de alivio.

Este estudio representa un paso importante hacia la validación científica de las prácticas medicinales tradicionales, al proporcionar una base sólida para futuras investigaciones que puedan llevar a la integración de la medicina tradicional con la medicina moderna, en beneficio de la salud de las comunidades marginadas y de la sociedad en general.

ABSTRACT

In the Yucatan Peninsula, a good part of the knowledge about useful plants for the indigenous population has been preserved. This ancestral legacy has aroused the interest and dedication of the Yucatan Scientific Research Center (CICY), which has undertaken detailed studies to fully understand the properties and benefits of the plants that comprise it. At the CICY, work related to the peninsular flora has been carried out from phytochemical, pharmacological and conservation approaches, among others; however, the scientific study of the evaluation of formulations prepared by traditional doctors for the treatment of diseases is still beginning. From the investigation of validation of antidysenteric formulations of traditional Mayan-Yucatecan medicine and the analysis of the biological activities against some causative agents (Vera-Ku *et al*., 2010), in our work team there has been a growing interest in the validation of all kinds of medicinal formulations. In this work, it is expected to give scientific support to ancestral knowledge through the evaluation of formulations used to treat dermatological conditions, since the incidence of these conditions is high in the population.

According to the ethnobotanical study carried out in marginalized indigenous communities, an exhaustive collection of information was carried out on more than 100 plant species and 22 traditional medicinal formulations used to treat skin diseases. By testing for biological activity against various skin disease-causing agents, 10 formulations were found to show outstanding antibacterial activity against antibiotic-resistant strains. In addition, it was observed that 13 formulations presented effective action against *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*. Among the most active formulations, five that stood out for their therapeutic potency were identified: F3, F9, F12, F13 and F14. These findings suggest that these formulations may hold promise for future pharmacological studies and could become potential candidates for the treatment of bacterial and fungal infections, thus providing a valuable and accessible alternative for the population turning to traditional medicine for relief.

This study represents an important step towards the scientific validation of traditional medicinal practices, by providing a solid foundation for future research that can lead to the integration of traditional medicine with modern medicine, for the benefit of the health of marginalized communities and of society in general.

INTRODUCCIÓN

El derecho a la salud es uno de los derechos fundamentales más relevantes, protegido tanto en instrumentos jurídicos nacionales como internacionales. La Organización Mundial de la Salud establece que "la salud es un estado completo de bienestar físico, mental y social, y no solamente la ausencia de afecciones o enfermedades" (WHO, 2019). A pesar de ello, este derecho aún no logra la plena vigencia en nuestro país, ya que no se proporciona la atención ni los servicios médicos necesarios en todas las localidades de México (CNDH, 2018).

En nuestro país, se estima que alrededor del 35% de los habitantes de los municipios de mayoría indígena no está afiliado a ningún esquema de salud, lo que significa que no cuentan con Seguro Popular, IMSS o ISSSTE (Vega, 2016a). Además, en Estados como Puebla, Veracruz y Yucatán, las poblaciones indígenas tienen la mitad de los centros de salud en comparación con el promedio nacional (Vega, 2016). Es relevante destacar que Yucatán se encuentra entre los tres primeros estados de la república mexicana cuyos servicios de salud, dirigidos a la población rural, se basan principalmente en la atención dada por pasantes de medicina y enfermería (Uicab y Juárez, 2017).

En Mérida, Yucatán, el sistema de salud funciona de manera centralizada, lo que se traduce en la existencia de hospitales y clínicas particulares que brindan atención de primer nivel. Sin embargo, en los municipios, la situación es diferente, ya que hay menos médicos, menos unidades de salud y menos especialistas disponibles. Además de los desafíos estructurales, los servicios de salud en las comunidades indígenas mayas también son afectados por una barrera socio-cultural. Las prácticas y costumbres culturales presentes en estas comunidades afectan tanto su organización social y política como su forma de abordar las enfermedades y la prevención. Esta situación ha sido señalada por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2019) y por estudios como el de Almaguer *et al*. (2013).

Es fundamental abordar estas disparidades y barreras en el acceso a la atención médica, para garantizar una atención equitativa y de calidad para todas las poblaciones, incluyendo a las comunidades indígenas mayas. La descentralización y la sensibilidad cultural en la prestación de servicios de salud son aspectos cruciales para mejorar la situación en los municipios y garantizar una atención adecuada para todos los ciudadanos.

Hace algunas décadas, la atención a la salud comunitaria en el medio rural yucateco se sostenía principalmente por la medicina doméstica, que se basaba en remedios caseros y en diversas formas de atención tradicional. Sin embargo, en las décadas siguientes, con el desarrollo de la

medicina alopática y farmacéutica, el trabajo de los curanderos y yerbateros fue descalificado (Geck *et al*., 2020).

Hoy en día, a pesar de todo y en respuesta a la necesidad de atención médica, el trabajo de los médicos tradicionales vuelve a destacar, ya que poseen una amplia experiencia en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades, curando a base de formulaciones tradicionales. Entre los padecimientos que atienden con mayor frecuencia se encuentran las infecciones respiratorias, cutáneas y gastrointestinales (Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, 2010).

Además, en los libros etnohistóricos también se encuentra evidencia de que la mayoría de las formulaciones herbales descritas son precisamente para estos tres tipos de padecimientos (Roys, 1931; Osado *et al*., 1834).

No obstante, cabe destacar que las enfermedades cutáneas representan una cuarta parte de las enfermedades infecciosas, afectando a casi un tercio de la población mundial, lo que las convierte en un problema significativo de salud (Karimkhani *et al*., 2017). A pesar de esto, los problemas dermatológicos a menudo no reciben la atención adecuada debido a que no presentan altas tasas de mortalidad. Sin embargo, en muchos casos, estas enfermedades pueden ocasionar problemas de salud más graves para las personas que las padecen.

Las infecciones de la piel o tejido subcutáneo se encuentran entre las principales enfermedades que padece la población de Yucatán, ocupando el segundo lugar en los casos de dermatitis atópica en México, lo que indica que el 10% de sus habitantes lo padece (Diario de Yucatán, 2022). Además, de acuerdo con los informes de los Servicios de Salud y del Centro Dermatológico de Yucatán, otras enfermedades dermatológicas frecuentes que se padecen en la región incluyen el cáncer de piel, los leiomiomas cutáneos, la tiña de la cabeza, la cromoblastomicosis y la foliculitis (Echevarría-Keel *et al*., 2020; Hernández *et al*., 2018; SSY, 2019; Atoche *et al*., 2016; Canul *et al*., 2015; Bárcenas *et al*., 2009).

En la península de Yucatán se han realizado diversos trabajos etnobotánicos que reportan plantas medicinales que se utilizan para tratar afecciones cutáneas (Ortiz *et al*., 2017; De las Mercedes, 2015; Ankli *et al*., 1999). Sin embargo, aún no se ha realizado un estudio profundo para conocer la flora medicinal utilizada para tratar dichas afecciones o su modo de preparación de forma precisa. Por esta razón, se considera necesario llevar a cabo un estudio con un enfoque etnofarmacológico que se centre en el uso y conocimiento científico de las formulaciones de la medicina tradicional maya.

Los extractos de especies vegetales pueden dar origen a un número importante de compuestos bioactivos, pero aún falta mucha investigación acerca de las formulaciones tradicionales.

También es bien conocido que muchas plantas pueden ocasionar reacciones tóxicas a quienes las utilizan. Por esta razón, se deben llevar a cabo investigaciones con el propósito de determinar, además de su acción farmacológica, la toxicidad de las formulaciones y plantas medicinales que las componen. Es fundamental evaluar exhaustivamente los riesgos asociados al uso de estas formulaciones y establecer pautas seguras para su aplicación, especialmente cuando se busca integrar la medicina tradicional con la medicina moderna en beneficio de la salud de la población.

CAPÍTULO I

ANTECEDENTES

1.1. Importancia de tratar las enfermedades cutáneas

Las enfermedades cutáneas se encuentran entre las enfermedades más comunes observadas en entornos de atención primaria en áreas tropicales y en algunas regiones donde las enfermedades transmisibles como la tiña imbricata o la oncocercosis son endémicas (Hay *et al*., 2006). Sin embargo, no se les ha prestado la suficiente atención como para considerarlas un problema, debido a la falsa suposición de que las enfermedades de la piel son benignas, no amenazan la vida y son una molestia menor. También se ha descrito que las enfermedades comunes de la piel están relacionadas con cambios en su microbiota (denominada disbiosis) y que los síntomas que se observan son causados por los diferentes procesos patológicos que aparecen (Bolognia *et al*., 2018).

Los cambios visibles con los cuales una enfermedad de la piel empieza, incluyen manchas, elevaciones, ronchas, nódulos, tumores, vesículas, ampollas, escamas, costras, excoriaciones, fisuras, ulceraciones y cicatrices (Fitzpatrick-Thomas, 2009; Dearborn-Frederik, 1999).

En un estudio realizado en todo el mundo a cerca de la epidemiología de las enfermedades comunes de la piel, se reveló que entre las más frecuentes que se tratan en centros especializados se encuentran frecuentemente pioderma, sarna, variantes de micosis superficiales y dermatitis (principalmente eczema), además, de que estas enfermedades son más frecuentes en niños que en adultos (WHO, 2005).

En México, se observa una coexistencia de enfermedades infecciosas, enfermedades crónicas degenerativas y lesiones como causas de defunción (Statista Research Department, 2023). Según una clasificación de países de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) en 2019, México registró un total de 2,872 fallecimientos por enfermedades de la piel, lo que lo convierte en el segundo país de la OCDE con el mayor número de muertes registradas por este tipo de enfermedades (Statista Research Department, 2022).

Por otra parte, la Dirección General de Información en Salud del gobierno del Distrito Federal a partir del año 2000 reportó las infecciones de la piel y del tejido subcutáneo entre las principales causas de ingreso hospitalario y de consulta externa (Secretaría de Salud, 2017).

1.2. Lesiones cutáneas

Las lesiones cutáneas se clasifican en primarias y secundarias. Las lesiones cutáneas primarias son afecciones anormales de la piel que están presentes al nacer o son adquiridas a lo largo de la vida. Las lesiones cutáneas secundarias son el resultado de lesiones cutáneas primarias irritadas o que han sido manipuladas (Figura 1.1) (Swanson, 2020).

Las infecciones de la piel se clasifican dependiendo del microorganismo que la produzca. De tal manera, que existen infecciones fúngicas, virales o bacterianas. También hay parásitos que afectan la piel ocasionando enfermedades como la escabiosis, la pediculosis, la larva migrans, las miasis, la trombidiasis y la tunguiasis (Swanson, 2020).

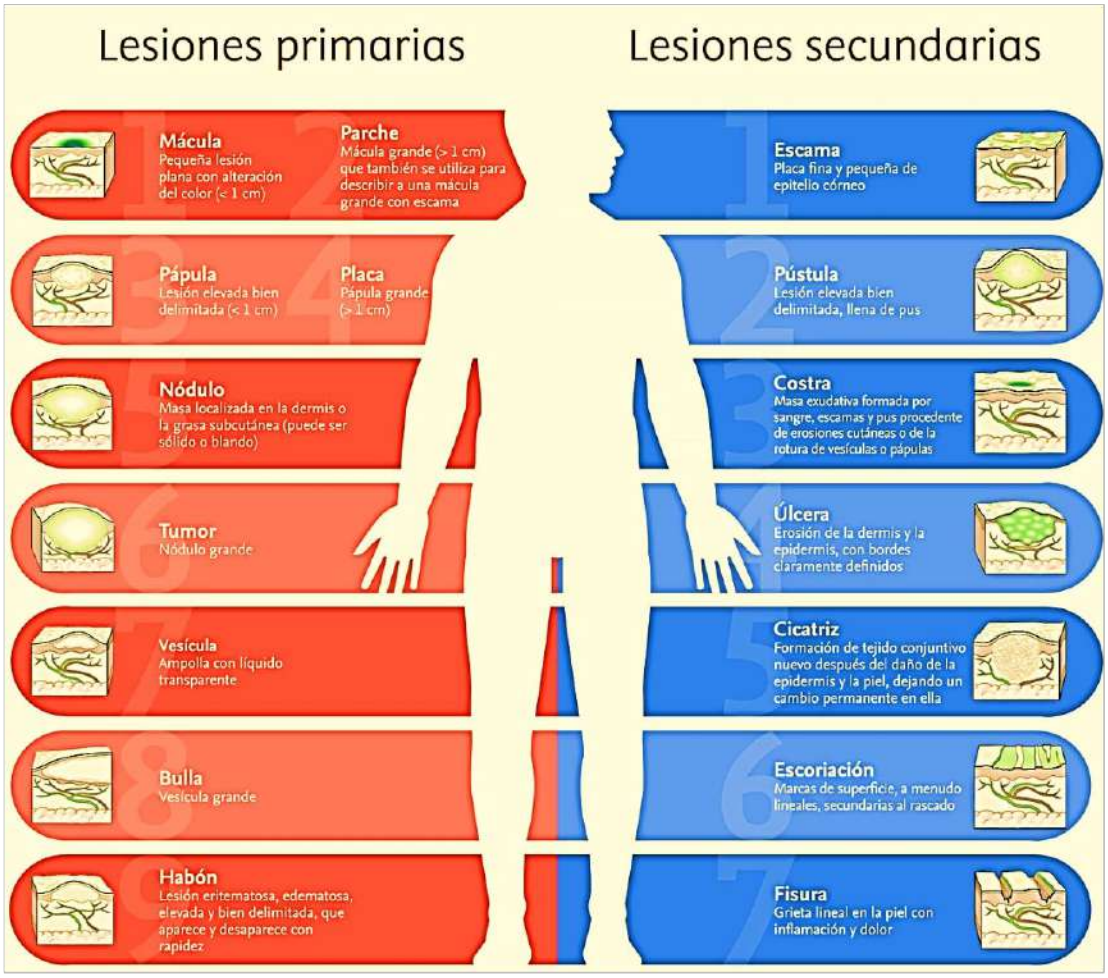


Figura 1.1. Mapa visual de las lesiones cutáneas primarias y secundarias. Fuente: Kleinman *et al*., 2021.

1.2.1. Infecciones causadas por bacterias

Las infecciones causadas por bacterias suceden principalmente en las capas superficiales de la piel. Entre las bacterias que colonizan la piel se encuentran las Gram-positivas notoriamente patógenas que incluyen *Micrococcus* sp, *Corynebacterium* sp., *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* y los organismos Gram-negativos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Pasteurella multocida*, *Capnocytophaga canimorsus*, *Bartonella* sp., *Klebsiella rhinoscleromatis* y *Vibrio vulnificus* que pueden causar infecciones cutáneas (Chiller *et al.*, 2001). Las infecciones cutáneas bacterianas más comunes incluyen: impétigo, foliculitis, forunculosis, ántrax, abscesos cutáneos, celulitis y erisipela (Figura 1.2).

De acuerdo con su mecanismo y forma de acción, las infecciones bacterianas pueden ser primarias, secundarias (sobreinfecciones) o mediadas por toxinas. Las infecciones primarias generalmente se producen cuando los microorganismos invaden una piel previamente sana. Las infecciones secundarias se originan cuando existe una dermatosis preexistente (cualquier anomalía o lesión en la piel), incluso a veces ya infecciosa causada por hongos, mientras que las infecciones mediadas por toxinas se originan a partir de un foco de colonización o de infección generalmente causado por *S. pyogenes* o *S. aureus* (Garza-González *et al*., 2014; Prats-Guillem, 2006).

Figura 1.2. Infecciones bacterianas de la piel. Fuente: Kleinman *et al*., 2021.

1.2.2. Infecciones causadas por hongos

Las micosis son las infecciones producidas por los hongos y levaduras. Según el tejido en el cual se alojen, se clasifican en micosis superficiales o profundas. Las micosis superficiales se consideran entre las dermatosis más frecuentes, y se caracterizan por ser un grupo de enfermedades que afectan principalmente la queratina de la piel. Entre los principales agentes causales se encuentran los géneros *Microsporum*, *Epidermophyton*, *Trichophyton* (agentes

causantes de las tiñas), *Malassezia furfur* (agente causal de la pitiriasis versicolor) y *C. albicans* (causante de la candidiasis) (Fariñas *et al.*, 2012; Corell- Vilata, 2006).

Las micosis profundas suceden cuando los hongos invaden los tejidos y los órganos. La entrada de estos hongos se produce por diferentes vías como son la respiratoria, la cutánea o la digestiva. Los agentes más frecuentemente encontrados son *Madurella mycetomatis* y *M. grisea* (causantes de mycetoma), *Sporothrix schenckii* (causantes de la esporotricosis), hongos pigmentados de la familia Dermatiaceae (causantes de cromomicosis), *Coccidioides immitis* y *Coccidioides posadasii* (causantes de coccidioidomicosis) que, aunque afectan la piel, se trata de infecciones internas (Figura 1.3) (Corell-Vilata, 2006).

Figura 1.3. Infecciones fúngicas de la piel. Fuente: Kleinman *et al.*, 2021.

1.2.3. Infecciones causadas por virus y parasitos

Los virus pueden infectar la piel manifestándose en diferentes patologías, algunos presentando la capacidad de replicar en células epiteliales, originando cuadros clínicos en los cuales se evidencia la destrucción celular o bien la hiperplasia del tejido infectado.

Tenemos los virus HSV-1(herpes simplex tipo 1) y HSV-2 (herpes simplex tipo 2), causante del herpes labial y del herpes neonatal, ambos ocasionando lesiones en la piel que incluyen úlceras orales y corneales. También al virus varicella-zóster (VZV) que ocasiona la varicela, una enfermedad generalizada, altamente contagiosa, de curso benigno en la infancia. Así como las verrugas, las cuales son una manifestación clínica muy frecuente de observar, como resultado de la infección por el virus papiloma humano (HPV) (Bascones-Martínez y Pousa-Castro, 2011).

Por otro lado, la piel también puede ser infectada por "parásitos", organismos animales o vegetales que viven a costa de otro de distinta especie, alimentándose de sus sustancias y debilitándolo sin llegar a matarlo. Por tanto, en las parasitosis cutáneas deberían ser incluidas

las infecciones por hongos (levaduras y dermatofitos), por protozoos (leishmania, trichomonas), por artrópodos (*Sarcoptes scabiei*) y por gusanos.

Entre estos padecimientos se incluye la escabiosis (o sarna) causada por el ácaro *S. scabiei var hominis*, que ocasiona el surco acarino y mucho picor; la miasis, que es la contaminación de la piel por larvas de moscas; y las picaduras de insectos ocasionados por mosquito, avispa, abeja, chinche, garrapata o araña (Morgado-Carrasco *et al*., 2022).

Otro padecimiento es la pediculosis, ocasionada por piojos. Esta es causada en el ser humano por dos especies, *Pediculus humanus* y *Pthirus pubis* (piojo del pubis). La pediculosis del cuero cabelludo se manifiesta por picor intenso y por la presencia del adulto en el cuero cabelludo o, más frecuentemente, por la presencia de sus larvas (liendres) adheridas al cabello. Por lo consiguiente, la pediculosis del pubis se manifiesta de la misma manera, pero el adulto se distingue del *Pediculus humanus var capitis* por tener el vientre más redondeado y por tener unas pequeñas prolongaciones en el mismo que le sirven para adherirse al pelo (Revenga *et al*., 2002).

1.3. Tratamientos contra las enfermedades cutáneas

Las infecciones fúngicas suelen tratarse con fármacos antimicóticos, que habitualmente se aplican directamente sobre la zona afectada. Los medicamentos tópicos pueden incluir cremas, geles, lociones, soluciones o champús. Los fármacos antimicóticos también pueden tomarse por vía oral (Chen y Sorrell, 2007).

La elección del antifúngico adecuado se sustenta en el conocimiento del lugar específico de la infección fúngica, del estado inmunitario del paciente, de la identificación, clasificación y caracterización del hongo implicado (patología), y del pronóstico asociado al tipo de infección. El tratamiento de las micosis ha evolucionado desde el empleo de metales pesados, metaloides, derivados azufrados y sulfonamidas, hasta los primeros antifúngicos como griseofulvina y nistatina, alilaminas y los derivados azólicos. Estos últimos han sido los más efectivos (Cock y Van Vuuren, 2020; Martín y González, 2004).

Los antifúngicos sistémicos quedan reservados para los casos recurrentes, muy extensos o que no responden al tratamiento tópico. Los fármacos más empleados para estos tratamientos son el ketoconazol, fluconazol y el itraconazol (Cuidate Plus, 2021).

El ketoconazol funciona impidiendo la síntesis de ergosterol (por inhibición de la enzima lanosterol 14-alfa dimetilasa dependiente del citocromo P-45032) alterando la permeabilidad de la membrana fúngica, pero el principal mecanismo de acción en la mayoría de los antimicóticos tópicos y sistémicos es el bloqueo que reduce la concentración de ergosterol, esencial para la integridad de la membrana citoplásmica fúngica. Una excepción es la griseofulvina que actúa impidiendo la división celular al inhibir la mitosis celular del hongo por destrucción de la estructura del uso mitótico; así mismo se fija a la queratina humana haciéndola resistente a la invasión fúngica. En las últimas décadas la terapia antifúngica de las micosis superficiales ha tenido un importante avance con el advenimiento de moléculas más seguras y efectivas, como fluconazol, itraconazol y terbinafina (Gubelin *et al*., 2011).

Por otra parte, las infecciones bacterianas con frecuencia se tratan principalmente con antibióticos tópicos aplicados directamente en la piel o con antibióticos orales. Si la cepa de la bacteria es resistente al tratamiento, la infección se trata con antibióticos intravenosos administrados en el hospital.

Los criterios para la elección del tratamiento con antibióticos incluyen la observación de la localización, extensión y profundidad de la infección, las características del paciente, y los patrones de resistencia. Entre los antibióticos tópicos más usados se incluyen la mupirocina y el ácido fusídico; mientras que en los antibióticos sistémicos se incluyen la penicilina V, amoxicilina, cloxacilina, cefadroxilo, cefuroxima-axetilo, amoxicilina-ácido clavulánico, clindamicin, cotrimoxazol y macrólidos como la eritromicina, claritromicina y azitromicina (Información farmacoterapéutica, 2018). El linezolid y la vancomicina son antibióticos efectivos para el tratamiento de las infecciones de piel y partes blandas (Ocampo-Palacio *et al*., 2018).

Además de las dificultades anteriores, los virus también juegan un papel importante en las causas de enfermedades cutáneas como son el herpes bucal y el herpes genital, causados por los virus VHS-1 y VHS-2. Sin embargo, el médico puede recetar un medicamento antiviral, como aciclovir, para evitar que el virus se multiplique. Mientras tanto, los tratamientos de venta libre (OTC, en inglés) contra el herpes, que con frecuencia son cremas, pueden ayudar a controlar el hormigueo, la picazón y el dolor (Goodwin-Meredith, 2021).

En lo relacionado con las enfermedades cutáneas causadas por protozoarios, una de las más importantes en la península de Yucatán es la leishmaniasis cutánea localizada, una enfermedad compleja y difícil de tratar. Los medicamentos más usados para el tratamiento de la leishmaniasis son los antimoniales pentavalentes (Glucantime y Pentostam), considerados los fármacos de

primera elección. El isetionato de pentamidina, la anfotericina B y la miltefosina constituyen otras opciones terapéuticas. Sin embargo, todos estos medicamentos presentan un alto grado de toxicidad, son dolorosos, de difícil acceso y costo elevado (Perrone *et al*., 2015).

Para el tratamiento de la escabiosis, se utiliza la permetrina tópica al 5% siendo este medicamento el de primera línea. Sin embargo, últimamente se ha reportado una disminución de la efectividad de este fármaco. Otra alternativa en primera línea terapéutica es la ivermectina oral. La administración combinada de permetrina tópica e ivermectina oral 200 µg/kg (2 dosis/aplicaciones separadas por una semana) pudiera ser la alternativa más efectiva según un reciente metaanálisis (Morgado-Carrasco *et al*., 2022).

Muchos medicamentos utilizados actualmente presentan múltiples efectos adversos, ocasionando una reacción alérgica cutánea grave, daños en los órganos del cuerpo y toxicidad. Ello ha dado lugar a más dificultades en el tratamiento de las infecciones cutáneas, fracasos terapéuticos, estancias hospitalarias más prolongadas y opciones terapéuticas mucho más caras.

Actualmente, se están desarrollando investigaciones dirigidas a comprobar la efectividad de diversos extractos de plantas en múltiples aplicaciones como agentes antibacterianos y antimicóticos y que ha llevado al descubrimiento de nuevos componentes con acciones farmacológicas de origen natural para combatir hongos y bacterias resistentes y patógenas (Cock y Van Vuuren, 2020; Ceylan *et al*., 2019; Hassan y Ullah, 2019; Oluwajobi *et al*., 2019).

1.4. Enfermedades cutáneas en la población yucateca

De acuerdo con los reportes oficiales de los Servicios de Salud del estado de Yucatán (SSY, 2019) las infecciones de la piel o tejido subcutáneo presentan una alta prevalencia en la población yucateca, y en el Centro Dermatológico de Yucatán han registrado las enfermedades de la piel más sobresalientes que incluyen: el cáncer de piel, los leiomiomas cutáneos, la tiña de la cabeza, la cromoblastomicosis y la foliculitis (Echevarría-Keel *et al*., 2020; Hernández *et al*., 2018; Atoche *et al*., 2016; Canul *et al*., 2015; Bárcenas *et al*., 2009).

De acuerdo con el primer y único reporte conocido de la epidemiología de las enfermedades de la piel en Yucatán (Paek *et al*., 2012), las enfermedades infecciosas, el acné y los eczemas son los trastornos cutáneos más comunes que se observan en las clínicas dermatológicas de las zonas rurales de Yucatán. Los síntomas más característicos para estos padecimientos son:

salpullido, hinchazón, enrojecimiento, protuberancias rojas y blandas, dolor, pus y picazón en la piel (World Health Organization, 2019), por lo que es importante conocer los trastornos cutáneos más comunes, ya que esta información puede ser útil para el desarrollo de iniciativas de salud pública dirigidas a las comunidades rurales en la región.

1.5. Patrimonio biocultural

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la medicina tradicional como: "la suma total de los conocimientos, capacidades y prácticas basados en las teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas, bien sean explicables o no, utilizadas para mantener la salud y prevenir, diagnosticar, mejorar o tratar enfermedades físicas y mentales" (WHO, 2015; QI- Zhang, 2013).

La medicina tradicional indígena es practicada por diversas culturas y comunidades indígenas en todo el mundo. Esta forma de medicina se basa en el profundo conocimiento de las plantas, animales y elementos naturales locales. Las ceremonias espirituales y las prácticas de sanación suelen estar integradas en este enfoque (WHO, 2015).

Una gran parte de la población mundial utiliza la medicina complementaria además de la atención médica estándar. La medicina complementaria o alternativa, incluye los suplementos alimenticios, las dosis altas de vitaminas, los preparados de hierbas, ciertos tés, la acupuntura, la terapia de masaje, la terapia con imanes, la curación espiritual y la meditación (Nogales-Gaete, 2004).

De acuerdo con el informe de la OMS sobre las medicinas tradicional y complementaria (WHO, 2019), el 88% de la población del mundo usa alguna forma de medicina tradicional (MT) o medicina alternativa complementaria (MAC) para tratamientos en el nivel primario de salud. La acupuntura, las hierbas medicinales y la medicina tradicional indígena, son los tres tipos de medicina tradicional (MT) más populares practicados alrededor del mundo son (WHO, 2019).

Aunque la medicina occidental, también conocida como medicina alopática (del griego allos, «otro», y pathos, «enfermedad») es la forma más recomendada por el sistema mundial de atención a la salud (Eskinazi y Jobst, 1996), en los últimos años, la medicina tradicional ha aumentado su popularidad alrededor del mundo, siendo la medicina tradicional china (MTC) la más popular (Micozzi-Marc, 2018). Esta popularidad en su uso se debe a que China ha dedicado mucho esfuerzo a la investigación, validación y control de calidad en los remedios usados por

sus médicos tradicionales, posicionando a la MTC a la vanguardia mediante el soporte científico que respalda su uso.

En México, las plantas medicinales siguen siendo el recurso más comúnmente conocido y accesible para la población indígena, por lo que la medicina tradicional se practica en muchas comunidades indígenas del país, siendo una de sus mayores riquezas la biodiversidad vegetal. Actualmente, el número total de especies de plantas se estima en casi 22,800 y tiene el segundo mayor número de especies de plantas medicinales registradas con casi 4,500 registradas después de China que reporta aproximadamente 5,000 (Estrada *et al*., 2012).

En México, existen 67 regiones indígenas (Figura 1.4). Los 10 grupos con mayores volúmenes de personas concentran 77% de la población indígena, mientras que 23% restante pertenece a 52 grupos etnolingüísticos (INPI, 2020; Almaguer *et al*., 2013). Los pueblos indígenas con mayor población son: náhuatl (24%); maya (13.7%); mixteco (6.8%); zapoteco (6.8%); tzeltal (5.7%); paipai (5.5%); otomí (5.5%); tzotzil (5.1%); totonaco (3.6%); y mazahua (3.0%) (INPI, 2020).

De acuerdo con el diagnóstico del Programa Especial de los Pueblos Indígenas (SEGOB, 2014-2018), el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) estima una población actual de 15.7 millones de indígenas en México. La población indígena supera el millón de habitantes en los estados de Oaxaca, Chiapas, Puebla y Veracruz. Por entidad federativa los mayores porcentajes de población indígena se ubican en Campeche, Chiapas, Hidalgo, Oaxaca, Quintana Roo y Yucatán. En todas ellas la población indígena supera el 20% del total y en algún caso como el de Yucatán representa más de la mitad de la población del Estado. Aun con un amplio margen de cobertura de los servicios de salud, los indígenas son invisibles a los informes epidemiológicos (Noriega *et al*., 2017). Por otra parte, a pesar de la aparición de los servicios médicos gubernamentales, la atención de la salud de los pueblos indígenas sigue siendo ineficiente y el perfil epidemiológico de la población indígena tiene como rasgos principales una elevada mortalidad (infantil y general) y patrones de enfermedad y muerte donde predominan la desnutrición y las enfermedades infecciosas y parasitarias.

Figura 1.4. Regiones indígenas de México. Fuente: Atlas de los pueblos indígenas de México (Instituto Nacional de los Pueblos Indígenas, 2020).

La civilización o cultura maya fue una de las principales civilizaciones que se desarrolló en la antigua Mesoamérica y es una cultura muy destacada por su sistema de escritura (jeroglífico de tipo mixto), por el uso del calendario, arte, arquitectura y medicina (Chávez-Guzmán, 2011; Mateos de la Higuera, 2011).

1.6. Evolución de la medicina maya de Yucatán

La medicina tradicional maya se refiere al sistema de cuidado de la salud y prácticas curativas desarrollado y transmitido por las comunidades indígenas mayas en la región de Mesoamérica, que abarca partes de lo que hoy es México, Guatemala, Belice, Honduras y El Salvador. Esta forma de medicina tiene profundas raíces en la cosmovisión y las tradiciones culturales de los antiguos mayas y ha persistido a lo largo de los siglos hasta la actualidad.

El ejercicio de la medicina entre los mayas ha sido ejercido por tres personajes de distinto rango, el *h-men* que es sacerdote, el *pul-yah* que es brujo o hechicero y el *dza-dzac* que es el que cura con hierbas y ha llegado hasta a nosotros con el nombre de "curandero" (Urzaiz-Jiménez, 2002),

este último, domina el conocimiento químico y medicinal de la herbolaria. Dentro de la especialidad del curandero existen subespecialidades tales como las parteras, los hueseros, los sobadores y los yerberos (Xiu-Chacón, 1998). Posterior a la eliminación de las instituciones indígenas existentes antes de la conquista, los médicos tradicionales se han fortalecido en sus comunidades aprendiendo de sus antepasados el uso de las especies locales en conjunto con aportaciones españolas, este fenómeno es conocido como sincretismo.

En la medicina maya la enfermedad se define como un desequilibrio en el cuerpo, el cual puede ser causado, principalmente, por elementos con propiedades frías y calientes; por lo que la salud es el resultado de vivir de acuerdo con las leyes de la naturaleza y la sociedad (concepto que cada vez toma mayor importancia, aunque menor popularidad). Es pertinente señalar que los elementos de calor y frío no se relacionan con ningún estado térmico, sino más bien describen efectos y cualidades hacia el organismo humano y su medio circundante (Peña-Kumul, 2020).

También existen manuscritos históricos coloniales, como el libro del "*Popol Vuh*" y los "Libros del *Chilam Balam*" (que se distinguen por el nombre del lugar donde se encontraron) como el del Ixil, el de Nah (Tenabo), el de Chan Cah y Kaua, de Sotuta, Maní, Oxkutzcab, Ticul y Chumayel (Niquinga y Margoth, 2009; Barrera-Vázquez, 1999). Estos manuscritos, son considerados fuentes importantes sobre el conocimiento de la flora y fauna y su uso medicinal, pues representan un testimonio de la persistencia del acervo cultural indígena, así como la inclusión y superposición de elementos españoles; son ejemplo del sincretismo que comenzó desde el primer momento de la conquista y continuó a través de los siglos siguientes (Cahuich-Campos, 2013).

Existen otros registros posteriores a la conquista acerca de la medicina tradicional que si bien, no son tan antiguos, también recopilan material tradicional valioso que se utilizaba mucho antes de la creación de los servicios modernos de salud, como el libro "Historia de las plantas de la Nueva España" (Hernández, 1942), el "Libro del judío" (De La Garza *et al*., 1992) y el libro "Etnobotánica de los mayas" (Roys, 1931).

Considerando los saberes de los médicos tradicionales, diversos autores han impulsado proyectos que fomentan el rescate de la medicina tradicional maya, la conservación y reproducción de plantas medicinales y han dado lugar a libros de interés como "Flora medicinal de los mayas peninsulares" (Méndez González *et al*., 2012); Guía de la colección de Plantas Medicinales del Jardín "*Tsu'u kaax u bu' tuni ti tsak*" (Cetina *et al*., 2015); Guía Ilustrada de la Colección de Plantas Medicinales "Miguel Ángel Martínez Alfaro" (Méndez *et al*., 2014);

Farmacopea Vegetal Caribeña (Germosén *et al.*, 2017), entre otros; también se han realizado diversos estudios fitoquímicos de plantas medicinales (Castillo-Bautista *et al.*, 2019; Caamal-Fuentes *et al.*, 2015).

1.7. Etnobotánica cuantitativa

La medicina tradicional puede estudiarse desde varios puntos de vista. Uno de ellos es desde la perspectiva de la Etnobotánica. Esta disciplina es una ciencia interdisciplinaria útil para el rescate del conocimiento indígena acerca del uso de los recursos vegetales. Algunos trabajos se centran en la elaboración de listados y registros de especies, uso medicinal y alguna cualidad de interés y algún análisis estadístico (Himanshu y Ashwani, 2011; Giday *et al*, 2003; Leonti *et al*., 2003). Sin embargo, el concepto de *Etnobotánica Cuantitativa* se ha vuelto novedoso y se define como "la aplicación de técnicas cuantitativas al análisis directo de datos de uso contemporáneo de plantas" (Gaoue *et al*., 2007).

Las estimaciones cuantitativas del conocimiento tradicional permiten apreciar con mayor precisión el valor cultural de las especies en una comunidad particular (Castañeda-Sifuentes, 2014) y las técnicas de procesamiento de datos etnobotánicos pueden variar desde el cálculo de un índice simple hasta las técnicas de clasificación y ordenación. Para esto se emplean métodos estadísticos multivariados aplicables al análisis de datos etnobotánicos de campo e índices cuantitativos para determinar la importancia de las diferentes especies identificadas en el área de estudio (Intriago *et al*., 2015; González-Jarvis, 2006), uno de ellos es el análisis de componentes principales (ACP).

El ACP generalmente es aplicado para encontrar la existencia de patrones en cuanto a la distribución del conocimiento, con los datos obtenidos durante las entrevistas (Höft *et al*., 1999).

Se han realizado investigaciones en el área de la Etnobotánica utilizando herramientas cuantitativas multivariadas, como son: el Análisis de Componentes Principales (PCA, por sus siglas en inglés), Análisis de Conglomerados y el Análisis Factorial. Avocévou-Ayisso *et al*. (2012), en el estudio etnobotánico de *Pentadesma butiracea*, encontraron que es posible asociar las partes usadas de las plantas medicinales, con grupos específicos sociolingüísticos. Por otro lado, Ahoyo *et al*. (2018), utilizando este tipo de análisis, lograron definir especies prioritarias usadas en Benín, África occidental, para su conservación, y también para evaluar su relación con las categorías de uso. Mathur (2012) realizó una agrupación jerárquica de plantas utilizadas en

16 tipos de enfermedades del sistema nervioso central, agrupándose en tres comjutos y destacándose tres plantas bajo uso máximo para las enfermedades relacionadas con el SNC. Mientras que Rangel-Landa *et al*. (2017) investigaron cómo los tipos de manejo de especies comestibles, medicinales y ceremoniales utilizadas en Ixcatlán (Oaxaca, México) están influenciados por factores socioculturales y ecológicos.

Con base en los trabajos anteriores, se consideró importante revisar el conocimiento tradicional de por lo menos cinco fuentes etnohistóricas que incluyan el uso de plantas para el tratamiento de enfermedades de la piel. Durante esta investigación también fue importante tomar en cuenta las especies usadas en la actualidad, para el tratamiento de enfermedades cutáneas.

1.8. Etnobotánica de las formulaciones medicinales

Las formulaciones herbales son mezclas fitoquímicas complejas que presentan una gran ventaja sobre las moléculas individuales, ya que no sólo se usan por tiempos moderadamente cortos, sino que la gran mayoría no causa efectos secundarios tóxicos (Rajani y Kanaki, 2008). En diferentes partes del mundo se están implementando las pautas y regulaciones relacionadas con las formulaciones herbales de la medicina alternativa y de la medicina tradicional.

En los últimos años se ha reconocido la importancia de la investigación de las formulaciones medicinales, y la determinación tanto de sus perfiles cromatográficos como de los componentes responsables del efecto farmacológico. Sin embargo, obtener información química de mezclas o preparaciones herbolarias tradicionales con muchos componentes puede ser un trabajo muy complicado. Según Mok y Chau (2006), las muestras se dividen en tres categorías: negras, grises y blancas.

Los sistemas “negros” son aquellas mezclas de las que no hay información disponible acerca de su composición química. Se ha reconocido a través del tiempo que dichos sistemas son los más difíciles de trabajar; sin embargo, no por ello se deben dejar de lado, pues cada vez son más populares, como es el caso de la medicina tradicional china, ayurveda (Mok y Chau, 2006) y otras más entre las cuales se encuentra la medicina tradicional maya. En las muestras grises y blancas ya se cuenta con una cantidad de información disponible sobre sus concentraciones y algunas de sus propiedades, como espectros de los componentes, interferencias o impurezas presentes, así como estándares de los componentes disponibles (Mok y Chau, 2006).

En el CICY, sólo se han realizado dos trabajos de estudio de formulaciones; el trabajo realizado por Vera-Ku *et al*. (2010) que registró y probó 31 pociones (formulaciones) medicinales mayas usadas para tratar enfermedades infecciosas intestinales y el trabajo de tesis de Garribo (2016), quien logró documentar la flora medicinal y las formulaciones empleadas por los médicos tradicionales mayas para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo II.

En este trabajo se presenta la etnobotánica de 22 formulaciones herbales ampliamente utilizadas en las localidades de Sotuta y Yaxcabá, Yucatán, México.

JUSTIFICACIÓN

Las formulaciones preparadas con hierbas para los trastornos relacionados con la piel se han aplicado sobre la base del conocimiento ancestral de los mayas. Sin embargo, a la fecha, no se han registrado estudios para la estandarización de las preparaciones, no se conocen las recomendaciones específicas de su posología, ni tampoco hay estudios suficientes para establecer la eficacia de los tratamientos tradicionales.

Por otra parte, los trabajos fitoquímicos reportados de plantas usadas en la medicina tradicional maya se realizan partiendo de extractos obtenidos mediante metodologías que incluyen el uso de disolventes orgánicos que no poseen la misma naturaleza que las formulaciones usadas en la medicina tradicional.

Tomando en cuenta esta realidad, en esta investigación se desea abrir camino para establecer un sistema metodológico que permita proveer el soporte científico necesario para algunos productos preparados por médicos tradicionales mayas, útiles para tratamientos de enfermedades cutáneas.

En vista de que las enfermedades cutáneas presentan un impacto significativo como problema de salud pública, resulta crucial resaltar la constante necesidad de validar científicamente nuevas opciones de tratamientos tradicionales, permitiendo una mejor comprensión de su eficacia y seguridad, y abriendo la puerta a una atención médica más completa y holística para quienes requieren atención dermatológica.

HIPÓTESIS

Si los preparados medicinales se usan para el tratamiento de enfermedades cutáneas, entonces es posible que estos preparados posean actividad antimicrobiana contra algunos agentes causantes de estas enfermedades.

Nota: En esta tesis también se incluyen las pruebas de hipótesis en el Anexo 1.

OBJETIVO GENERAL

Establecer la actividad antimicrobiana de preparados medicinales tradicionales contra microorganismos causantes de infecciones en la piel, realizar un análisis cromatográfico y establecer un protocolo para la toxicidad dérmica de las formulaciones.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar un estudio etnobotánico cuantitativo de plantas medicinales con relevancia dermatológica utilizadas en seis municipios del estado de Yucatán.
2. Obtener el modo de preparación de las formulaciones tradicionales mayas usadas contra enfermedades cutáneas y seleccionar las formulaciones de acuerdo con los siguientes criterios: a) que puedan prepararse en el laboratorio; y b) que hayan sido utilizadas en la medicina tradicional por los habitantes de la península de Yucatán.
3. Evaluar la actividad antimicrobiana de las formulaciones obtenidas y elegir las formulaciones que muestren la mejor actividad biológica.
4. Obtener los perfiles cromatográficos por HPTLC de las formulaciones.
5. Realizar análisis cromatográficos y fitoquímicos de las formulaciones elegidas.
6. Establecer un protocolo para la evaluación de la toxicidad dérmica de las formulaciones.

ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

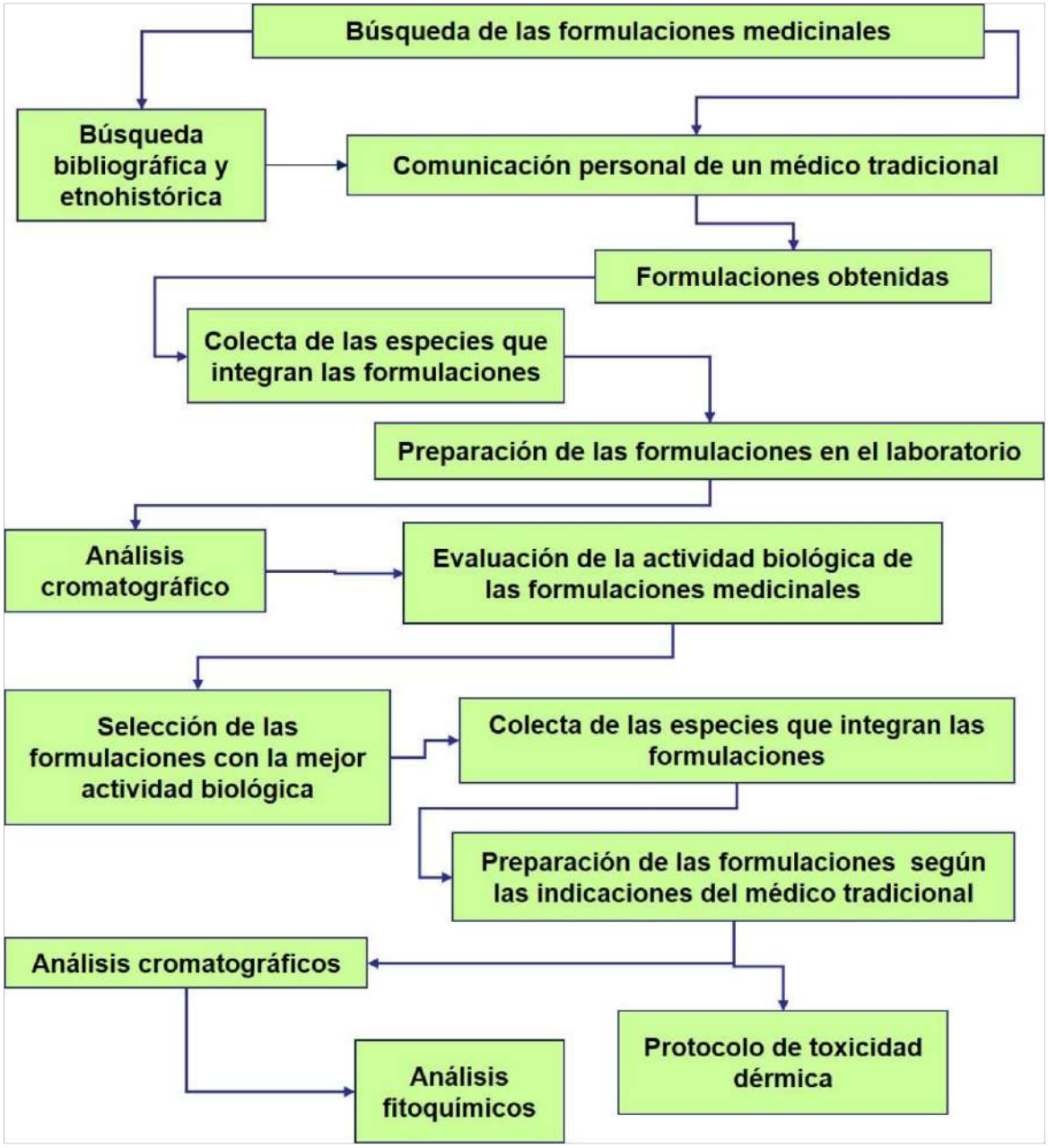


Figura 1.5. Estrategia experimental para la búsqueda, elección y análisis de formulaciones medicinales mayas utilizadas contra enfermedades de la piel.

CAPITULO II

QUANTITATIVE ETHNOBOTANICAL STUDY OF MEDICINAL SPECIES WITH DERMATOLOGICAL RELEVANCE USED IN TRADITIONAL MAYAN MEDICINE

Artículo aceptado para publicación en el Journal of Ethnobiology.

Zurisadai Escobar-Chan, Germán Carnevali Fernández-Concha, Cecilia Mónica Rodríguez-García, Elizabeth Ortiz-Vázquez, Sergio R. Peraza-Sánchez, Blanca Marina Vera-Ku.

Resumen

Este estudio etnobotánico destaca el valioso conocimiento de los médicos mayas yucatecos en relación con las plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de enfermedades de la piel, subrayando la importancia de estudiar los antiguos conocimientos mayas transmitidos de generación en generación. Los datos revelaron que las familias de plantas más representadas fueron Rutaceae, Euphorbiaceae, Lamiaceae y Asteraceae. Los resultados sugirieron un dinamismo en los patrones de uso entre las fuentes etnohistóricas revisadas, en contraste con los datos etnobotánicos actuales de campo. El registro etnohistórico también mostró cambios vinculados al conocimiento local desarrollado por los mayas a lo largo del tiempo y a las circunstancias sociopolíticas de cada fuente analizada. La técnica de Análisis de Componentes Principales aplicada a nuestros datos etnobotánicos simplifica la complejidad de la información sobre el uso de la flora medicinal para tratar afecciones de la piel, lo que da como resultado un nuevo modelo predictivo para combinar conocimientos sobre hierbas. Las correlaciones indicaron que más del 50% de las especies enumeradas se utilizan para tratar infecciones fúngicas.

2.1. INTRODUCTION

In Mexico, indigenous Mayan medicine remains an option for treating diseases in the Yucatan Peninsula, as, to a large extent, traditional healers are in charge of maintaining the knowledge and skills to cure (CONAPO, 2015; Nava, 2008).

The Mayan medical system is considered *mestizo* thanks to the influence and integration of European and African knowledge (Chávez, 2011), and the Mayan population recognizes it as an effective system (Arellano-Rodríguez, 2003; Kunow, 2003; Urzaiz, 2002). Oral communication is the primary source of teaching this knowledge. However, it has also been disseminated through manuscripts, which have changed and increased as generations pass, forming a compendium of the area's historical and contemporary medicinal herbalism.

Skin diseases are the fourth most common morbidity cause of diseases affecting almost a third of the world's population (Karimkhani *et al*., 2017). The health services (SSY, 2020) of the state of Yucatan reported them as some of the main diseases people suffer from. Although they do not have high mortality rates, dermatological problems are widespread and can lead to more severe health complications. For many years researchers have recorded a good set of ethnobotanical data available for study, including the scientific name of the species, their uses, localities, and sometimes a brief quantitative analysis such as family groupings, use values, etc. However, despite the importance of multivariate and statistical methods (e.g., cluster analysis, principal components analysis, and regression analysis) applicable to the analysis of field data from ethnobotany (which has been reported for 22 years) few ethnobotanical researchers have applied these methods (Ahoyo *et al*., 2018; Rangel-Landa *et al*., 2017; Avocévou-Ayisso *et al*., 2012; Mathur, 2012; Phillips and Gentry 1993).

In addition, there had not been an up-to-date quantitative investigation of the current knowledge that some indigenous communities in the Yucatan peninsula have about the specific use of plants with dermatological relevance, nor studies of the medicinal flora referred to in the Mayan colonial manuscripts for these types of ailments. Thus, we extracted ethnobotanical knowledge of the plant species used by traditional healers from six Mayan communities. Since there are references to the use of plants for medicinal purposes since pre-Hispanic times, the consultation of four ethnohistorical books that mention the direct knowledge of Mayan informants was also considered: *Las plantas de los libros sagrados mayas: Popol Vuh (Pop Wuj) y Chilam Balam*, the Book *Medicina doméstica o descripción de los nombres y virtudes de las hierbas indígenas de*

Yucatán y de las enfermedades a que se aplican, Mayan Ethnobotany and *Historia de las plantas de Nueva España*.

This article is the first work that records a comprehensive ethnobotanical study of species with dermatological properties belonging to traditional Mayan medicine. It also demonstrates the importance of ethnohistorical approaches applying quantitative ethnobotanical techniques in ethnobotanical studies as critical tools to understand an integrated view of the use of medicinal products and natural resources in the past and present to establish relevant indicators, make interpretations, test hypotheses, and make decisions pertinent to this research countryside.

This study aimed to analyze medicinal plants' past and current knowledge against skin diseases.

2.2. MATERIALS AND METHODS

2.2.1. Study areas

Yucatan is in the southeast of the Mexican Republic. Most of the territory is a plain formed mainly by limestone and little soil. On its surface, there are majestic ceremonial centers and beautiful buildings made of carved stone, the heritage of one of the most significant civilizations in the world (Morley and Sharer 1994). This study used data from six rural locations in Yucatan: Hunucmá, Tibolón (Sotuta), Akil, Chapab, Tzucacab, and Yaxcabá (Figure 2.1), and four books that include the knowledge of Mayan healers of past generations.

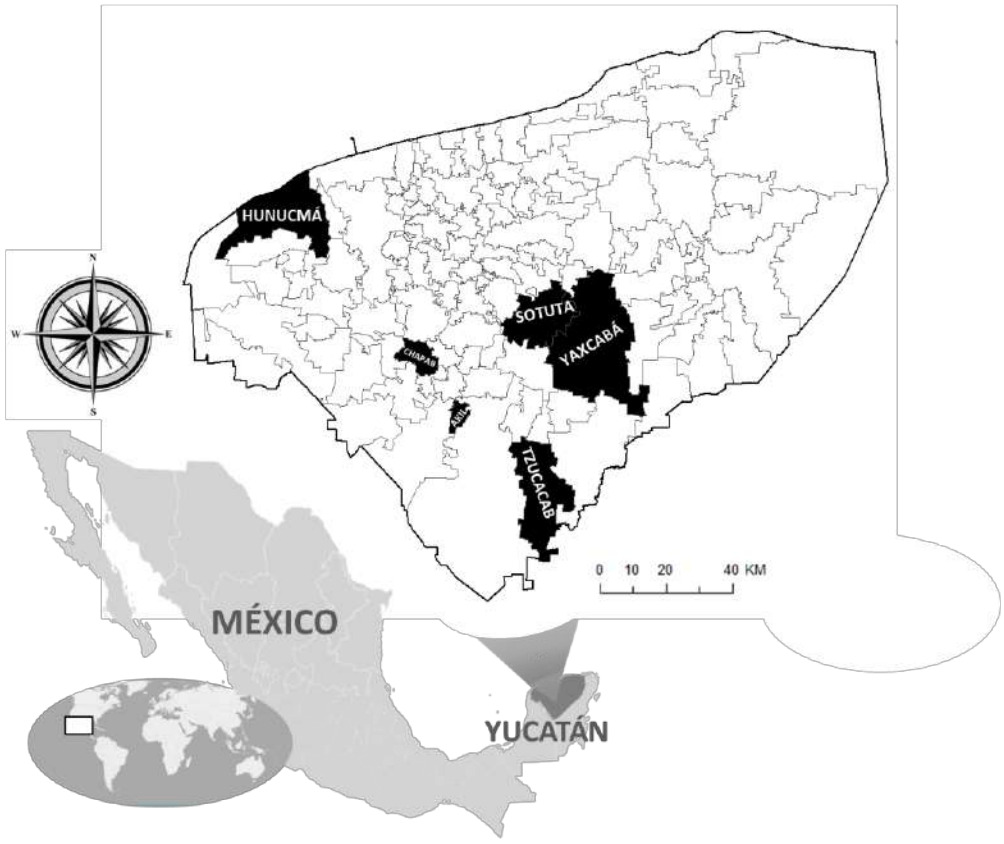


Figure 2.1. Location of the Mayan municipalities of Hunucmá, Sotuta, Chapab, Akil, Tzucacab, and Yaxcabá in Yucatán, México.

2.2.2. Data collection

The fieldwork was carried out between April 2019 and February 2020. The ten traditional healers chosen have good references in caring for various skin ailments, being recognized by the health institutions of their community in the state of Yucatan and the government agency INDEMAYA (Institute for the Development of Mayan Culture).

After obtaining their consent, they were interviewed through semi-structured questionnaires and open conversations using Heinrich and collaborators' approach (Heinrich *et al.*, 1998).

Herbarium specimens of the species they pointed out were collected in family gardens and deposited in the herbarium *U Najil Tikin Xiw* of the Natural Resources Unit of the Yucatan Center for Scientific Research (CICY). All species names were revised in the "Tropicos.org" (1982) and "The Plant List" websites (2013). For the identification of the species, several floristic and flora

lists were also consulted, the Flora of Guatemala (Standley *et al.*, 1946-1977); Barrera (*et al.*, 1976) and the Illustrated Flora of the Yucatan Peninsula (Carnevali *et al.*, 2010). The writing of the Mayan and common names was consulted on the websites Institutional Repository of UNAM (General Directorate of University Repositories, 2019) and *Flora de la Península De Yucatán* (2010) and in the book *Flora ilustrada de la Península de Yucatán* (Concha *et al.*, 2010).

2.2.3. Bibliographical sources

Four books containing information on Mexican medicinal herbs were consulted to establish points of comparison between medicinal sources and current traditional medicine. The first book, "*Historia de las plantas de Nueva España*", was consulted on the official website of the Institute of Biology of the National Autonomous University of Mexico (University Printing Office Mexico, 1943), and copies of the other three books were found in CICY's library. It is a pioneering work on the knowledge of Mexican plants. It was written by the doctor and historian Francisco Hernández after having carried out the first exploration of Mexican territory from 1571 to 1576 when he obtained the appointment of "Protomedic" of the New World and the order of King Felipe II (Hernández and Ochoterena, 1942). The importance of this work is because the author gathered the first common names and use of the plants at the very beginning of the contact with the conquerors when the Mayan traditional medicine was still unaffected by the Spanish medicine.

The second book, entitled "*Las plantas de los libros sagrados mayas: Popol Vuh (Pop Wuj) y Chilam Balam*", is a work carried out by CICY botanists who dedicated many months to decipher the plants reviewed in the books of *Chilam Balam* de Chumayel and Ixil, as well as the *Popol Vuh* versions of Adrián Recinos, Adrián Inés Chavez, and Sam Colop (Martin *et al.*, 2020). The *Chilam Balam*, which reviews peninsular Mayan life, is a compendium of various books written by indigenous people at different times who learned Spanish and Latin after the arrival of the Spanish and compiled old oral histories of the Mayans of this region (Balam and Bolio, 1973). The original *Popol Vuh* was written on deerskin in 1544 in the Maya-ki'che' language and outlined the origin of the world and the Mayan Indians (Colop, 1999).

The third reference work is a book entitled: "*Medicina doméstica o descripción de los nombres y virtudes de las hierbas indígenas de Yucatán y de las enfermedades a que se aplican*" It was handwritten from 1709 to 1773 by Dr. Giovanni Francesco Mayoli. It was published in Merida,

Yucatan, until 1834 under the name "Book of the Jew" (Osado *et al.*, 1834). The book includes the contribution of Mayan healers and copies of recipe books from the 16th to 18th centuries; in this book, Yucatecan medicinal plants are mentioned as herbs from central Mexico with their Nahua names.

The fourth reference work is a book entitled: "The Ethnobotany of the Maya," published by Dr. Ralph Roys in 1931. The author focused on his background work as a Mayanist, interviewing Mayan healers and translating and analyzing texts and colonial-era manuscripts and recipes from the Book of the Jew. He recorded more than 700 prescriptions for different illnesses (Roys, 1931).

In addition, a bibliographic analysis of the species was carried out using databases such as PubMed, SciFinder, Chemical Abstracts, Biological Abstracts, Science Direct search system, and the Google Scholar portal to find scientific articles on ethnobotany, biological activities or references related that support the medicinal use of the species with use for skin-related diseases.

2.2.4. Multivariate analysis

Principal Component Analysis (PCA) assessed similarities (correlations) between species according to their traditional uses related to skin diseases, and such were also classified according to the standard classification developed by Cook (Cook and Farewell, 1995). The binomial dataset was prepared as suggested by Weckerle *et al.* (2011).

The multivariate analyzes were performed in InfoStat (statistical software version 04-10-2015). Likewise, the Pearson correlation coefficient was used (Navarro-Céspedes *et al.*, 2010), taking into account the angles of the vectors between variables (Balzarini *et al.*, 2015).

The interpretation of the correlation circles was drawn following three criteria: 1) when two variables were far from the center of the graphic and close to each other, they were significantly positively correlated; 2) if the two variables were orthogonal, they were considered uncorrelated; 3) if they were on the opposite side of the center then they were considered significantly negatively correlated (Mathur, 2012).

2.3. RESULTS

2.3.1. Demographic characteristics of informants

Our informants were seven women and three men, ages 35 to 101 years. Five healers were interviewed most frequently and contributed greatly to the presented information. All of them consider themselves herbalists, and most of them reported having been taught by an experienced healer or by elderly relatives. Specialties of the Mayan healers are distributed according to gender but are not limited. According to their specialties, the priests (*h'men*) are mainly men, and the women are mostly midwives *(x-ilah k'oha'an*). The herbalist (*dzac yah*), the masseur (*aj-páats*) and the chiropractor (*aj-k'axbaak*) are not directed by gender but by choice.

Almost all traditional healers are bilingual except for one who only speaks Mayan but understands Spanish. All the interviewed healers have people who help them in their medical work, among them a relative or an apprentice collaborating in tasks such as collecting plants for medicine, standing guard when there are patients waiting or helping during consultations. It is worth mentioning that, although they practice traditional medicine, they carry out other activities; the men take care of their milpas or fruit orchards and the women dedicate themselves to the home.

Their work has been recognized by the Yucatan Institute for the Development of Mayan Culture (INDEMAYA). Our observations were similar to those reported in studies conducted in other parts of the world (Jamshidi-Kia *et al.*, 2018).

2.3.2. Perception and knowledge of the disease

Traditional healers have pointed out very well the morphological characteristics of skin conditions. In relation to how the traditional Mayan healers diagnose the disease, they are based on the observation of the state of the skin: if it is dry, red, rough, with a bad smell or bumps.

When asked about the causes that make people sick, they remark that they may be due to several causes: 1) the daily accidents that also cause even little injuries, cuts, and wounds; 2) a poor distribution of solar heat in some parts of the body that results in skin conditions, such as scabies or very itchy pimples of fire and large tumors with pus; 3) skin weakness which facilitates fungal

growth and leads to rashes, sores, and itching; 4) by poisonous animal or insect bites that produce a localized reddening of the skin and elevation of temperature.

The medicinal plants they use against skin problems have not been considered randomly, nor are they selected solely for their hot or cold qualities. The informants mentioned that generally, the plants have a bitter and astringent taste; they also pay attention to color, shape, and texture. To stop inflammation (a hot disease) they consider a treatment of a cold nature.

2.3.3. Medicinal flora used against skin diseases

A group of 106 plants for therapeutic use against skin diseases representing 42 families was documented (Figure 2.2). The most used families are Rutaceae, Euphorbiaceae, Lamiaceae, and Asteraceae.

The most used part of medicinal plants to prepare remedies are the leaves (55.40%); first, we thought it was probably due to the availability, however, a comparative study between the methanolic extracts of their leaves, stems, and roots demonstrated that the biological activities were primarily found in the leaves (Vera-Ku, 2004); hence, the availability is not the primary reason: 10.10% use latex, 9.30% the roots, and 1.80% use seeds (Figure 2.3).

The plants are prepared in poultices, infusions, and tinctures, grinding, squeezing, and roasting the vegetal material, whereas the latex or resin is applied directly to the skin (Figure 2.4).

As found in other works, decoctions are the most common form of preparation (Uc-Cachón *et al.*, 2021; Vera-Ku *et al.*, 2010). Those potions are mainly used for washing wounds and baths, while poultices (23%) are prepared to cover localized recurrent lesions, such as spots, injuries, and swellings.

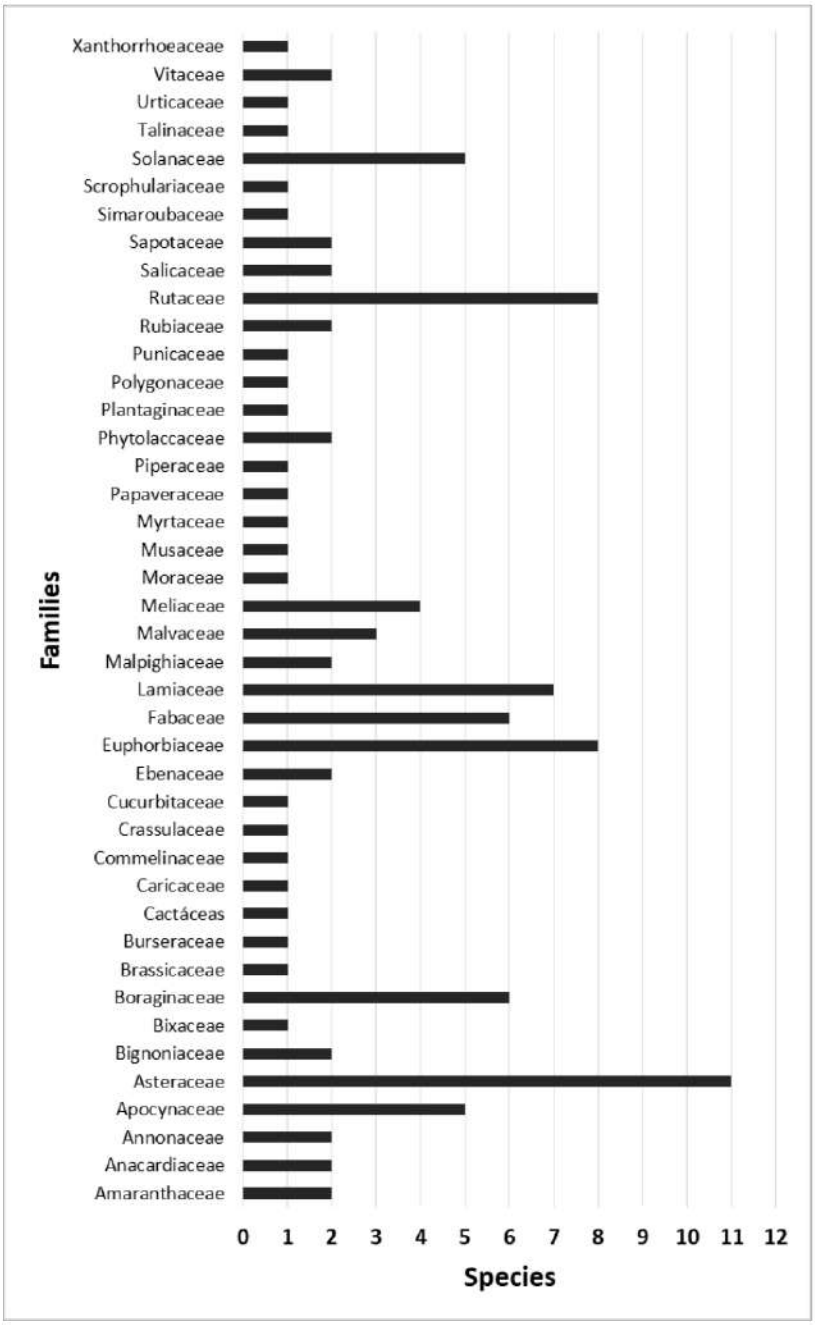


Figure 2.2. Distribution of medicinal species used against skin diseases by family.

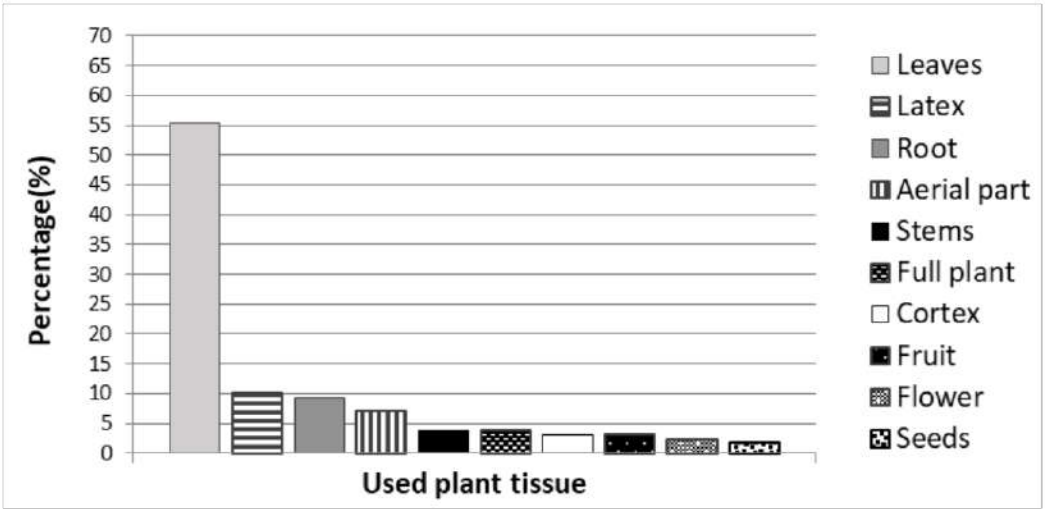


Figure 2.3. Frequency of use of plant parts to treat skin conditions in the communities of Yucatan, Mexico.

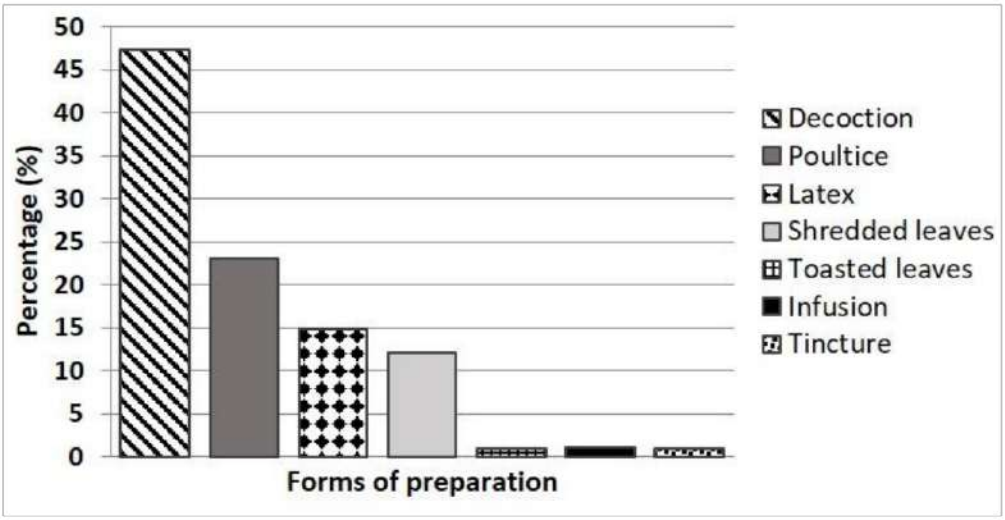


Figure 2.4. Frequency of preparation forms of plants to treat skin conditions in the communities of Yucatan, Mexico.

Also, six species were endemic to the Yucatan Peninsula: *Bourreria pulchra*, *Croton chichenensis*, *Diospyros anisandra*, *Euphorbia gaumeri*, *Jatropha gaumeri* and *Pilocarpus racemosus* (Table 2.1).

The most commonly used species by traditional healers (most mentioned) were *Annona muricata*, *Euphorbia gaumeri*, *Hamelia patens*, *Kalanchoe laetivirens*, *Momordica charantia*, *Punica granatum*, *Senna villosa*, *Spondias purpurea*, *Talinum paniculatum*, *Thevetia ahouai,* and

Tithonia diversifolia. This last species was the most mentioned by informants to treat skin diseases.

Thirty two categories of skin diseases treated by healers were also recorded, their knowledge based in their worldview. It is pertinent to point out that the World Health Organization considers traditional medicine as a series of nosological concepts, some of indigenous roots and others of Spanish origin. These concepts are transmitted from generation to generation, almost always directly. They include concepts of a different nature that give rise to diseases such as "*susto*" or "*empacho,*" or diseases that are caused by "cold" elements or hot" which can equally be treated by "hot and cold" herbs, not expressing thermal states, but effects on the human organism and the environment that surrounds it (Arzápalo Marín, 2005). Therefore, the categories registered in the analysis are terms according to indigenous nosology.

The dermatological conditions were: pimples with pus, *forúnculos*, blisters, acne, itch, skin cuts, bacterial infection, skin rash, *fogajes* (mouth sores), wounds on the lips, pimples, herpes, healing, fungus in the body, leprosy, diabetic injuries, sores on the skin, spots on the skin, bruise, louse, burns, rash, measles, scabies, ringworm, tumors, ulcers, hemorrhoids, chickenpox, warts, chafing, insect bite and smallpox (Table 2.1). These dermatological conditions were used as the variables to perform a quantitative analysis with PCA (Figure 2.5).

2.3.4. Ethnohistoric and bibliographic analysis

Ethnohistoric sources relate numerous species of plants belonging to different botanical families used alone or in combination to treat various ailments, with magical-religious meanings, their food uses, or for the manufacture of utensils.

The contributions, importance, or particularities of the works are briefly highlighted: in the book "*Las plantas de los libros sagrados mayas: Popol Vuh (Pop Wuj) y Chilam Balam*", in which a total of 176 plants species are used for eight categories of ailments included, cutaneous diseases. In this analysis, the most abundant families are Fabaceae, Asteraceae, and Euphorbiaceae.

In the "*Medicina doméstica o descripción de los nombres y virtudes de las hierbas indígenas de Yucatán y de las enfermedades a que se aplican*" which describes the virtues of the medicinal

herbs of Yucatan, the author lists 41 species to treat tumors, numbness, and *apostemas*; he identifies 43 for wounds, sores, and ulcers; 28 species for swelling, inflammation, bumps, and bruises; and 47 species for skin and malignant eruptions (Osado *et al*., 1834).

Conversely, "The Ethnobotany of the Mayas" describes the herbal formulas in categories. In the category of skin diseases: ulcers, abscesses, cancer, and tumors, the author presents a register of 103 formulations to treat skin problems (Roys, 1931).

In volumes one and two of the work "*Historia de las plantas de Nueva España*" the descriptions of approximately 3,000 phytotaxa are recorded, and the uses and common names of the plants compiled early in contact with Western culture.

Although the analyzed works have their differences, the medicinal recipes found there do not discriminate between the purely autochthonous of those of European origin and the hybrid ones since they were taught to the indigenous people. Still, their traditional knowledge was also learned (Hernández and Ochoterena, 1942).

The results of the ethnohistorical analysis were marked for each species in the last column of Table 2.1. Of a total of 106 species recorded in the interviews, the vernacular or Mayan names of five species are cited in the *Popol Vuh* book, 35 species are mentioned in the book of *Chilam Balam*, and 61 species are in the "Book of the Jew." In "The Ethnobotany of the Mayas" and the book "*Historia de las plantas de Nueva España*" the scientific names of 62 and 35 species were recorded, respectively.

In this way, 89 species were mentioned in the ethnohistorical books, corresponding to 83.9% of the total species analyzed. In addition, the medicinal uses described in the books were corroborated with those obtained in our ethnobotanical study, frequently coinciding, indicating that the knowledge of the benefits and preparation instructions has remained almost intact.

From the preceding, it is understood that the authors of the works were also compilers of the data they could obtain through direct information from people who practiced medicine.

Some species mentioned in our interviews were not found within the ethnohistoric records (16.1%); this can be explained because those books contain the knowledge that the healer wants to share with the researcher, keeping to himself some species which are to be communicated

only to their apprentice or successor or trusted person. Besides, there is also a chance that they were more recently integrated into the Mayan medical system. Also, by omission, some species may be recorded in one source but not in the other. An example of this is observed among the healers, where discrepancies were also observed regarding the use of some plants for a specific problem, all due to the availability of the plant in their surroundings or their teacher and the experience they have.

Annona muricata is an example of discrepancies in its use since, according to the Jewish Book, it is used to treat bleeding in women and for Roys is used for hemorrhoids, incorporating other usages over time, including it as a treatment for warts.

Concerning the treatments for rashes, wounds, sores, and tumors, we observed that these were recurrent conditions continually observed in ethnohistoric texts indicating that the people of this region suffered greatly from these conditions for centuries.

This is the first time the uses of the *A. littorale*, *P. alpinum*, and *T. volubilis* have been recorded. Sixteen species still need to be studied from a phytochemical and pharmacological point of view, including two species endemic to the Yucatan peninsula: *B. pulchra* and *E. gaumeri* (Table 2.1).

During our revision of the scientific literature (Table 2.1), we noted that researchers often use organic extracts instead of traditional formulations. Much of the published research on medicinal species' chemistry and biological activity is carried out with organic extracts using different solvents instead of water decoctions, poultices, or fresh plants like healers do. They can also make tinctures using wine, or other alcoholic beverages, which are the elements most used in preparing traditional potions. This fact is important because chemicals break, oxidize and react in the presence of heat which differs from what is tested in many research papers.

Table 2.1. Uses of endemic and introduced plant species against dermatological problems in the Yucatan Peninsula.

#	Scientific name	Common name	Family	Used part	Condition category	How to use	Bibliographical records
1	*Ageratum littorale* Kunth.	*X-ta-ulumil*	Asteraceae	Aerial part	Herpes, bacterial infection	Leaves and roots in poultice	M
2	*Alternanthera ramosissima* (Mart.) Chodat & Hassl.	*Zac-muul*	Amaranthaceae	Leaves and flowers	Bacterial infection, ulcers, and pimple with pus	Decoction of the leaves	P, B
3	*Aloe vera* (L.) Burm. F.	*Petk'inki*	Xanthorrhoeaceae	Latex	Herpes, acne, and skin rashes	Latex applied only to the skin	C, J, M, H, E, P, B
4	*Alvaradoa amorphoides* Liebm. Ssp.	*Belsinikche'*	Simaroubaceae	Leaves and bark	Itching, rash, fungus, pimples, spots, ringworm, scabies	Decoction of leaves and bark	M, E, P, B
5	*Annona muricata* L.	*Tak' oop*	Annonaceae	Leaves	Warts, wounds, cuts, and burns	Decoction of the leaves	J, M, H, E, P, B
6	*Annona squamosa* L.	*Ts'armuy*	Annonaceae	Leaves	Scarring and sores with pus	The dried leaves are ground to apply locally.	M, H, E, P, B
7	*Antigonon leptopus* Hook. & Arn.	*Chaklolmakal*	Polygonaceae	Complete plant	Chafing	Decoction of the whole plant	M, H, P, B
8	*Argemone mexicana* L.	*K'iixh'anlol*	Papaveraceae	Complete plant	Itching, rash and irritation	Crushed leaves and boiled roots	M, H, E, P, B
9	*Asclepias curassavica* L.	*Polkuts*	Apocynaceae	Leaves	Wounds, fungal infections, scabies, benign tumors	Decoction of the leaves	J, M, H, E, P, B
10	*Astronium graveolens* Jacq.	*k'ulinche'*	Anacardiaceae	Leaves	Pimples with pus and sores	Shredded leaves	C, J, M, P, B
11	*Azadirachta indica* A. Juss.	*Neem*	Meliaceae	Leaves	Red spots, insect bites, wounds, itching	Decoction of the leaves	E, P, B

12	*Bauhinia divaricata* L.	*Ts'uru'tok*	Fabaceae	Leaves	For snake bites and healing	The dried leaves are ground to apply locally.	C, M, H, E, P, B
13	*Bixa orellana* L.	*K'uxub, achiote*	Bixaceae	Leaves	Leprosy, burns by chechem (*Metopium brownei* (Jacq.), sores	Decoction of the leaves	C, J, M, H, E, P, B
14	**Bourreria pulchra* (Millsp.) Greenm.	*Bakalche'*	Boraginaceae	Leaves and bark	Herpes, rashes, and sores	The leaves and bark are crushed in water and applied as a bath.	J, M, E, P
15	*Brosimum alicastrum* Sw.ssp. alicastrum	*Oox, ramon*	Moraceae	Latex	Insect bites	The latex is applied directly to the wound.	PV, C, J, M, E
16	*Bunchosia swartziana* Griseb.	*Sipché*	Malpighiaceae	Leaves and root	Ulcers, rashes, and wounds associated with diabetes and superficial burns	Decoction of the leaves and roots	J, M, E, B
17	*Bursera simaruba* (L.)	*Chaka', palo mulato*	Burseraceae	Leaves and resin	Wounds, cuts, itching rash	Decoction of leaves and resin applied directly to the skin.	C, J, M, E, P, B
18	*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth	*Chi', nance*	Malpighiaceae	Leaves	Pimples, rash and smallpox	Decoction of the leaves	PV, C, J, E, P, B
19	*Calea urticifolia* (Mill.) DC.	*Xka'xikin*	Asteraceae	Leaves	Scabies, chickenpox, and skin rashes	Decoction of the leaves	J, H, E, P, B
20	*Capraria mexicana* Moric. ex Benth.	*Chokuilxiw, claudiosa*	Scrophulariacea e	Leaves, stems, and roots	Acne, fungal infections, and bruises	Decoction and poultice	J, M, E
21	*Capsicum annuum var. Glabriusculum*	*Maax iik, chile maax*	Solanaceae	Leaves	Rash of sores	Chili leaf that has been	PV, C, M, H, E, P, B

						crushed with salt	
22	*Carica papaya* L.	*Ch'ich'i-put, papaya*	Caricaceae	Leaves	Itching, the eruption of pustules, leprosy	A hot poultice of the leaves	C, J, M, H, E, P, B
23	*Cascabela gaumeri* (Hemsl) Lippold.	*Aak'its, campanilla*	Apocynaceae	Leaves and latex	Grains, wounds, sores, and cuts	Decoction of the leaves and latex applied directly to the skin.	E, P, B
24	*Casearia nitida* Jacq.	*Xi'im che',*	Salicaceae	Root	Bacterial infection	Decoction of the root	J, E
25	*Catharanthus roseus* (L.) G. Don.	*Xmikaria, vicaria*	Apocynaceae	Leaves	Sores, acne, cuts, wounds, and fungal infections	Decoction and poultice with fresh leaves	E, P, B
26	*Cedrela odorata* L.	*K'uche', cedro*	Meliaceae	Leaves	Bruising and swelling of the skin caused by varicose veins	The juice of the leaves applied directly to the skin	C, J, M, E, P, B
27	*Chiococca alba* (L.) Hitchc.	*T'un che'*	Rubiaceae	Leaves and root	skin infections	Decoction of the leaves and the root	C, M, P, B
28	*Chromolaena odorata* (L.) |R.M.King & H.Rob.	*Tok'aban*	Asteraceae	Leaves	Sores, rash, nuisance, pimple with pus, itching	Decoction of the leaves	J, E, P, B
29	*Chrysophyllum cainito* L.	*Chi-ceh, caimito*	Sapotaceae	Bark	Apostema, swelling, pimples,	Boiled bark	M, E, P, B
30	*Cissus alata* Jacq.	*Tab-can*	Vitaceae	Root	Rash	Crushed root in poultice	H, E
31	*Cissus trifoliata* (L.) L.	*Xta'kanil*	Vitaceae	Root	Small ulcers, blisters, pimples	Crushed root in poultice	C, J, M, H, E, P, B
32	*Citrus aurantiaca* Swingle.	*Muliix, limón*	Rutaceae	Leaves and fruits	Bacterial infection and sores	Decoction of the leaves and juice of	C, J, M, E, P, B

						the fruit is applied directly to the skin.	
33	*Citrus sinensis* (L.) (Osbeck).	*Ch'uhuk, naranja*	Rutaceae	Leaves	Skin burns and spots caused by acne	Leaves applied in the form of compresses	M, E, P, B
34	*Clinopodium brownei* (Sw.) Kuntze.	*Poleo*	Lamiaceae	Leaves	Itch	Decoction of the leaves	J, P
35	*Cnidoscolus urens (L.) Arthur.*	*Chaya*	Euphorbiaceae	Latex	Swelling, hemorrhoids and pimples on the skin	Latex applied directly to the skin	J, E, P, B
36	**Croton chichenensis* Lundell.	*Ek'balam*	Euphorbiaceae	Leaves y latex	Warts, cuts, wounds, and grains	Latex for warts and dry leaf powder applied to wounds	C, J, H, E, P, B
37	*Croton flavens* L.	*Xa-Balaam*	Euphorbiaceae	Leaves	Sores, ulcers, scratches, skin	Leaves in poultice	J, H, E, P, B
38	**Diospyros anisandra* S.F. Blake.	*Xkache'*	Ebenaceae	Leaves	Pimples and hemorrhoids	Shredded in poultice	
39	*Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants.	*Lukumxiw, epazote*	Amaranthaceae	Leaves	Sores, cuts, and Wounds	Ground leaves	J, B
40	*Dorstenia contrajerva L.*	*X cabal jaw, contrayerba*	Moraceae	Leaves and root	Insect bites, pimples, fungal infections	Dried and ground leaves and roots	C, J, M, E, P, B
41	*Ehretia tinifolia* L.	*Beec, roble*	Boraginaceae	Leaves	Warts on the skin, itching, rash, and measles	Poultice with leaves	J, M, E, P, B
42	*Erythrina coralloides* DC.	*Chak mo'ol che'*	Boraginaceae	Leaves	Sores, ulcers, and abscesses	Decoction of the leaves	J, M, P, B

43	**Euphorbia gaumeri* Millsp.	*We'ech xiiw*	Euphorbiaceae	Leaves and latex	Skin and grain infections	A poultice of fresh leaves and latex is applied directly to the skin.	J, H, E, B
44	*Euphorbia schlechtendalii* Boiss.	*Sak´chakaj*	Euphorbiaceae	Leaves	Sores, itching, and spots	Decoction of the leaves	J, M, H, E, B
45	*Euphorbia tirucalli* L.	*Árbol de los dedos*	Euphorbiaceae	Latex	Wounds on the lips and insect bites	Latex applied directly to the skin	E, P, B
46	*Gossypium herbaceum* L.	*Taman ch'up*	Malvaceae	Latex	Ulcers, rashes, sores	A poultice of fresh leaves	J, M, P, B
47	*Guazuma ulmifolia* Lam.	*Kabal pixoy*	Malvaceae	Bark, leaves, fruit, and sap	Skin lesions, rashes, itching, leprosy, *forúnculos*	Cook the bark leaves and fruit. The sap is also applied directly	C, M, E, P, B
48	*Hamelia patens* Jacq.	*K'anan*	Rubiaceae	Leaves	Pimples, swelling, wounds, skin infections, cuts, and rash	Decoction of the leaves.	J, E, P, B
49	*Havardia albicans* (Kunth) Britton &Rose.	*Chukum*	Fabaceae	Bark	Insect bites and skin infections.	Bark infusión	M, E, P
50	*Heliotropium angiospermum* Murray.	*Nej ma'ax*	Boraginaceae	Leaves, stems, and roots	Fungal infections and ringworm.	Decoction of leaves, stems, and roots	C, J, M, E, P, B
51	*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose.	*Chac-uob, pitaya*	Cactaceae	Stems	Wounds, sores and tumors.	Poultice	C, J, E, P, B
52	*Jatropha curcas* L.	*Ni in, piñón*	Euphorbiaceae	Resin	Wounds on the lips	The sap is applied directly to the skin.	M, H, E, P, B

53	**Jatropha gaumeri* Greenman.	*Pomolche'*	Euphorbiaceae	Resin	Wounds on the lips, incordium, sores, rashes, and wounds	Sap applied directly to the skin	C, J, M, H, E, P, B
54	*Kalanchoe laetivirens* Desc.	*Tsitsalxiw, siempre viva*	Crassulaceae	Leaves	Wounds, sores, bruises, and blows to the skin	Poultice with fresh leaves	E, P, B
55	*Lepidium virginicum* L.	*Kabal puut*	Brassicaceae	Complete plant	Itching of pustules.	Whole plant decoction.	C, ME, E, P, B
56	*Lonchocarpus punctatus* Kunth.	*Balche'*	Fabaceae	Leaves	Eruptions and sores	Decoction of the leaves.	C, J, M, E, B
57	*Manilkara zapota* (L.) P. Royen.	*Sakya', zapote*	Sapotaceae	Bark	To stop bleeding	Decoction of three pieces of bark	PV, C, M, E, P, B
58	*Mentha spicata* L.	*Menta*	Lamiaceae	Aerial part	Skin infections	Ground and macerated leaves and stems	C, H, E, P, B
59	*Milleria quinqueflora* L.	*Honutolok*	Asteraceae	Leaves	Rash, itching, and fungal infections	Decoction of the leaves.	J, E, P, B
60	*Momordica charantia* L.	*Yakunaj ak', cunde amor*	Cucurbitaceae	Aerial part	*Forúnculos*, benign tumors, and pediculosis	Decoction of the aerial part	J, M, H, E, P, B
61	*Murraya paniculata* (L.) Jack.	*Limonaria*	Rutaceae	Leaves	Fungal infections, itching, and bacterial infection	Decoction of the leaves.	E, P, B
62	*Musa acuminata* Colla.	*H a'as, plátano*	Musaceae	Leaves	Tumors, swelling, pain, sores	Burn the leaves and spread the ashes on the sore	J, M, H, E, P, B
63	*Nicotiana tabacum* L.	*Chama'a, Tabaco verde*	Solanaceae	Leaves	Infected wounds, sores, and swelling	Decoction of the leaves.	PV, C, J, M, H, E, P, B
64	*Ocimum campechianum* Mill.	*Xkakaltuun*	Lamiaceae	Leaves	Wounds, infections, sores, burns,	Decoction and poultice of the leaves	J, M, E, P, B

					cuts, and benign tumors		
65	*Pachyrhizus erosus* (L.) Ur.	*Chicam, jícama*	Fabaceae	Seeds	Scabies	Tincture of the seeds	C, J, E, P, B
66	*Parmentiera aculeata* (Kuth)Seem	*Pepino kat*	Bignoniaceae	Flowers and fruit	Scalp infections	Decoction of flowers and fruit	M, H, E, B
67	*Parthenium alpinum* (Nutt.) Torr. & A. Gray.	*Hauay*	Asteraceae	Young shoots	To dissolve bruises	A poultice of the leaves	J, M
68	*Parthenium hysterophorus* L.	*Altamisa*	Asteraceae	Leaves	Herpes, scabies, and ringworm	Dry leaves are applied as an ointment	C, M, E, P, B
69	*Persea americana* Mill.	*On, Aguacate*	Lauraceae	Leaves and seeds	Bruises, scabies, wounds, scarring, itching	Boiled, browned, and ground leaves.	J, M, H, E, P, B
70	*Petiveria alliacea* L.	*Payche', zorrillo*	Phytolaccaceae	Root and leaves	Burning legs, apostema, pimples, wounds, cancer	Root scraped and ground, leaves crushed and in decoction	C, J, M, E, P, B
71	*Phytolacca icosandra* L.	*Te'elkox*	Phytolaccaceae	Leaves and flowers	Measles and smallpox	Infusion of leaves and flowers	M, E, P, B
72	**Pilocarpus racemosus* Vahl.	*Tamk'ache'*	Rutaceae	Root	Wounds associated with diabetes	Root Decoction	J, E, P
73	*Piper pseudolindenii* C. DC.	*Oclan pich*	Piperaceae	Leaves	Skin rashes and itching	Decoction of the leaves	J, H, E, P
74	*Plantago major* L.	*Xiiw k'iin, llantén*	Plantaginaceae	Leaves	Rashes, grain, ulcers, and sores	Leaves in poultice and decoction	J, M, H, E, P, B
75	*Pluchea odorata* L. Cass.	*Chal che'*	Asteraceae	Leaves	Sores, wounds, and cuts	Decoction of the leaves	C, J, M, E, P, B
76	*Plumeria rubra* L.	*Nikte', flor de mayo*	Apocynaceae	The blossom	Smallpox	Roasted and mashed with honey.	C, J, M, H, E, P, B

				and the leaf			
77	*Porophyllum amplexicaule* Engelm. ex A.Gray.	*Zizim kak*	Asteraceae	Leaves	Ulcers and sores	A poultice of the leaves	J, M, H, E
78	*Porophyllum punctatum* (Mill.) S.F. Blake.	*Uuk ché*	Asteraceae	Leaves	For lice, ringworm, scabies, pus abscess	Poultice with fresh leaves	C, J, M, H, E
79	*Psidium guajava* L.	*Pichi, guayaba*	Myrtaceae	Leaves	Swelling and blows to the skin	Decoction of the leaves	J, M, E, P, B
80	*Punica granatum* L.	*Chayuco, Granada*	Punicaceae	Leaves	Rash, herpes, and chickenpox	Decoction of the leaves	C, J, M, E, P, B
81	*Rauvolfia tetraphylla* L.	*Mucke'*	Apocynaceae	Aerial part	Scabies, syphilis, itching, and vaginal infections	Decoction of the aerial part	E, P, B
82	*Ricinus communis* L.	*X-Koch*	Euphorbiaceae	Leaves	Itching eruption	Macerated with salt	J, E, P, B
83	*Rosmarinus officinalis* L.	*Romero*	Lamiaceae	Aerial part	Burns, pimples, rashes, and stains	Decoction of leaves and stems	J, E, P, B
84	*Ruta chalepensis* L.	*Ruda*	Rutaceae	Leaves	Ulcers, sores, and pimples	Decoction and maceration of the leaves	M, E, P, B
85	*Salvia coccinea* Buc'hoz ex Etl.	*Chak-lol, sábila*	Lamiaceae	Leaves, stems, and roots	Wounds, pimples, spots, and fungal infections	Decoction of the entire plant	J, M, H, E, P, B
86	*Senna villosa* (Mill.) H.S. Irwin & Barneby.	*SaalChe'*	Fabaceae	Aerial part	Rash, itching, infections, wounds, sores, and stains	Crushed or decoction leaves and stems	E, B
87	*Sida abutifolia* Mill.	*Chichibe'*	Malvaceae	Complete plant	Itching rash	Plant poultice	J, M
88	*Solanum americanum* Mill.	*Tu'jabil, yerbamora*	Solanaceae	Aerial part	Pimples and wounds	Boiled branches	M, H, E, P, B
89	Sola*num hirtum* Vahl.	*Put balaam, tomatillo*	Solanaceae	Fruits	*Fogajes*, skin inflammation	Roasted fruits and	M, H, E

						poultice of leaves	
90	*Solanum lycopersicum* L.	*Paa'k, tomate*	Solanaceae	Leaves and leaves	Burns and burning of the skin	Poultice with fresh leaves	M, E, P, B
91	*Spondias purpurea* L.	*Habba'a, ciruela*	Anacardiaceae	Leaves and stems	*Fogajes*, sores, smallpox, itching, and rash	Decoction of fresh leaves and juice of stems	J, M, H, E, P, B
92	*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaerth.	*Ts'Uumyajil*	Talinaceae	Leaves	Wounds, cuts, and sores	Poultice with fresh leaves	E, B
93	*Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth.	*K'aan lool, tronadora*	Bignoniaceae	Leaves	Pimples, infections, and skin rashes	Decoction of leaves	C, J, E, P, B
94	*Tephrosia cinerea* (L.) Pers.	*Sulche'*	Fabaceae	Leaves	Wounds, infections, and scabies	Ground dried leaves and a fresh leaf decoction	J, E, P, B
95	*Thevetia ahouai* (L.) A. DC.	*Je' peek', huevo de perro*	Apocynaceae	Leaves and latex	Grains, infections, and warts	Decoction of leaves and latex applied directly to the skin.	E, P, B
96	*Tithonia diversifolia* (Hemls.) A. Gray.	*Chaksu'um. Arnica*	Asteraceae	Leaves	Grains, wounds, sores, smallpox, swelling, and blows	Poultice and decoction of the leaves	E, P, B
97	*Tournefolia volubilis* L.	*Beek aak',*	Boraginaceae	Leaves	Scabies, skin infections, and sores	Decoction of the leaves	J, H
98	*Tradescantia spathacea* Sw.	*Chakts'am, maguey morado*	Commelinaceae	Leaves	Spots on the skin, bruises	Roasted and boiled leaves	C, J, H, P, B
99	*Trichilia hirta* L.	*K'ulin siis*	Meliaceae	Leaves	Ulcers, wounds, cuts, and sores	Decoction of the leaves	P, B
100	*Trichilia glabra* L.	*K'an lool*	Meliaceae	Root	Bacterial infections	Decoction of the root	B

101	*Varronia curassavica* Jacq.	*Ak' k'opte'*	Boraginaceae	Leaves	Bumps, bruises	Decoction of the leaves	J, E, P, B
102	*Vitex gaumeri* Greenm.	*Ya'axnik*	Lamiaceae	Leaves	Eruption of ulcers or abscesses	A poultice of the leaves	J, E, B
103	*Xanthium strumarium* L.	*Clothbur*	Asteraceae	Complete plant	Ulcers, sores	Plant poultice	E, P, B
104	*Urera baccifera* (L) Gaudich. ex Wedd.	*Chak lalil k'aax*	Urticaceae	Aerial part	Sores, head fungus, and rashes	Decoction of the leaves	C, J, H, E, P, B
105	*Zanthoxylum caribaeum* Lam.	*Sinanche'*	Rutaceae	Leaves	Sores, swellings, scabies, leprosy, and rashes	Decoction of the leaves	C, J, M, E, P, B
106	*Zuelania guidonia* (Sw.) Britton & Millsp.	*Sabak che'*	Salicaceae	Root	Bacterial infections	Decoction of the root	J, P

Bibliographical records: Ethnohistorical records: C = *Chilam Balam*, PV= *Popol Vuh*, J = Book of the Jew, M = Maya Ethnobotany, H = *Historia de las plantas de Nueva España*; **Modern records**: E = Ethnobotany, P = Phytochemistry, B = Biological activity, *=Endemic.

2.3.5. Multivariate analysis

The therapeutic practice of traditional healers is characterized by using several species to treat the same condition. As we are interested in verifying the degree of relationship between the species according to their reported uses, we performed a multivariate analysis using the Principal Component Analysis (PCA) technique.

The 32 dermatological conditions mentioned (both from healers and books) were chosen as variables for designing the binomial system and developing the PCA method. The data set is given by a matrix "X" of dimension n × p, where n (observations) represents the individuals, and p the attributes (the variables). The data matrix X was organized as follows: the species in the rows (n) and the dermatological characteristics of each species in the columns (p). The main components were generated in the order of importance of the total variability that the variables accumulated (Granato *et al.*, 2018).

A PCA diagram was constructed using the principal components 1 and 2. The coefficient of determination or co-phenetic correlation generated with the method was R^2 = 0.976, indicating a strong correlation between the variables. The ethnobotanical interpretation of the ordering of the PCA was established following the criteria reported by Mathur (2012):

1. Variable cloud analysis (dermatological conditions).
    a. The 32 conditions were recorded with their names and classified into three groups (marked circles); these groups contain all the recorded species.
    b. The first two groups (dotted circle and dashed line) are classified according to increasing and decreasing values of the x-axis. The other group (solid line circle) had values relative to the axis and was on the same side near the origin.
2. Point cloud analysis (species)
    a. Each species was registered using a grayscale according to its corresponding number (Table 2.1).
    b. The areas in which the grouped species appear are those where the species were positively correlated. Species that occur in opposite regions were negatively correlated.
    c. In the upper right part of the graph, 14 species were recorded. The closeness between them indicates that they are similar in function according to their

uses. These species were correlated with herpes, chickenpox, and wounds on the lips, blisters, healings, rashes, chafing, smallpox, and warts. In general, these diseases are caused by viruses (Figure 2.5).

d. Most species (within the dotted circle) were grouped on the far left, similar in their uses. These species are correlated with sores, itching, and pimple with pus, fungal infections, and ulcers. Various agents causing some of these conditions include fungi and bacteria (Figure 2.5).

e. The rest of the species are in the lower right part of the PCA plot. These species are positively correlated (solid line circle) with fungus in body, hemorrhoids, *fogajes*, louse, diabetic lesions, insect bites, *forúnculos*, ringworm, leprosy, scabies, burns, etc. The causative agents of these conditions include mites, insects, fungi, and bacteria (Figure 2.5).

The PCA analysis revealed that the species could be classified into three groups based on their uses. The group surrounded by a dotted line contains 66% of the total species, indicating that most species are suitable for curing and treating infections caused by fungi (Figure 2.5).

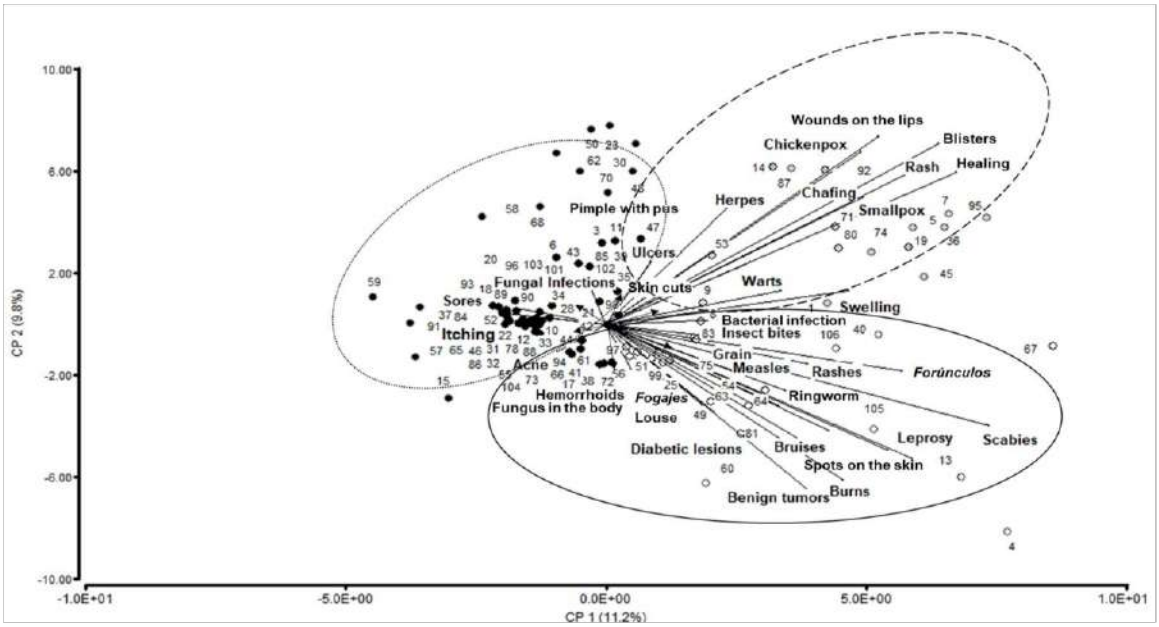


Figure 2.5. PCA analysis of the similarity of species with dermatological relevance used in the traditional Mayan medicine (MTM) of the state of Yucatan. The numbers correspond to the order of the species listed in Table 2.1.

2.4. DISCUSSION

In this research, it was possible to improve the traditional compilation through a quantitative method that aims to quantitatively describe the variables and analyze the patterns observed in the study.

A total of 106 species and 44 families were registered, with 32 dermatological uses. It was also observed that 89 of these species are mentioned in ethnohistorical books; that is, they have been used by the ancient ethnic groups of southern Mexico, a fact that demonstrates how important the transmission of empirical ethnobotanical knowledge has been from generation to generation in these cultures. Different societies have ignored and abandoned these resources, but they constitute a reliable health system (Cahuich-Campos, 2013; Anely 2012; Ochoa and Ladio, 2011).

Similar studies in other regions of the country (Andrade-Cetto, 2009; Heinrich *et al*., 1998) have recorded a higher diversity given the size of the area. Still, they highlight similar results in terms of the presence of species and type of uses. They also concluded that most plants are used to treat skin diseases. Therefore, we can say that dermatological diseases continue to be one of the most important conditions in Mexico, which can be treated with traditional medicine.

On the other hand, traditional Mayan medicine has been enriched with the Spanish and African cultures, creating a medical syncretism (Barrera-Vázquez, 1999).

In recent years, scientists have conducted various studies to find out the chemical composition of the medicinal plants used in the Yucatan Peninsula (Hernández-Bolio and Peña-Rodríguez, 2018; Molina-Salinas *et al*., 2010; Cisneros-Pineda *et al*., 2007), and they found that most of the plant species used by Mayan healers were native (Ortiz *et al*., 2017; Vera-Ku, 2011; Ankli *et al*., 2002).

It has been reported that healers consider most plants used for skin treatments to be cold in nature. Thus most skin diseases are regarded as excess heat in the body requiring cold remedies (Ankli *et al*., 1999); also, they are generally bitter, astringent, and sweet in taste, the latter being the most used to strengthen the skin and blood (Ankli *et al*., 1999a).

According to the interviews, leaves are the part most used for the preparation of medicinal potions, probably because of their active essential oils and other ingredients; there is evidence that compared to the stems and roots, most biological activities are found in leaves (Vera-Ku, 2004). However, it is necessary to mention that traditional healers said that they prefer to use leaves because of their availability throughout the year and because they are easier to collect, store, process, dose, and because they do not kill the plant, showing respect to nature as part of their culture.

In addition to the leaves, the latex of the stems is the second most used tissue. It has been shown in studies of medicinal plants that the frequent use of latex applied directly to the skin positively affects wound healing, mainly due to the presence of flavonoids and alkaloids (Dahanukar *et al*., 2000).

The families with the most significant number of species belong to the Asteraceae, Euphorbiaceae, Lamiaceae, and Rutaceae. In studies of the medicinal flora that cover the entire state of Yucatan, it has been recorded that Asteraceae and Euphorbiaceae have the largest number of medicinal species (Méndez-González *et al*. 2014; 2010). Our findings are also in agreement with what has been published, where it is established that these families have also been registered in studies in other parts of the world, such as China, Ethiopia, and Peru, among others (Teklehaymanot 2009; Weckerl *et al*., 2009; De-la-Cruz *et al*., 2007), which is understandable, considering that these families are the most diverse in the world (Heywood, 1993). These families include species rich in bioactive metabolites such as terpenes, tannins, alkaloids, flavonoids, saponins, and glycosides (Bartolomé *et al*., 2013; Raja, 2012; Mwine and Van Damme, 2011; Rajkumar and Jebanesan, 2008). Plants belonging to these families have antimicrobial, antioxidant, analgesic, anti-inflammatory, anticancer, diuretic, tonic, antispasmodic, and antiseptic properties.

The ethnohistorical sources provide evidence of the timeline-specific use of species over time and show that this oral tradition is effective and remains until our days. *Ageratum littorale*, *P. alpinum*, and *T. volubilis* species have various indications for traditional use that have not been scientifically supported, setting a priority for finding the limits of their therapeutic action, as well as the possible harmful effects associated with the different toxic products that they may have. In this way, science should provide scientific bases to promote their rational use.

Mayan traditional healers have developed extensive knowledge of symptom-based treatments. According to research by Ankli (*et al.*, 1999, 1999a), there have been over 300 reports of use for these conditions, one of the most frequent health conditions being pimples (*saa sak'winkli*). In this work, 32 categories of uses of the skin were registered, and other authors report similar results; in the following studies, respondents identified 14 (Abbasi *et al.*, 2010), 15 (Kingston *et al.*, 2009), 18 (Méndez-González *et al.*, 2014) and 68 (Saikia *et al.*, 2006) different ailments.

In the stages of processing and data analysis, the PCA method was tested with the results obtained from only five informants, obtaining a diagram very similar to the one presented at the end of the article, which points to a close link between the transmission and reception of knowledge between traditional healers in the study area (eastern region of the state of Yucatan), and shows scientific evidence of the accuracy of the orally transmitted knowledge. However, more studies should be made on this subject to determine how far the current knowledge is ancestral.

In the proposed model of PCA, three groups were identified, highlighting the significant relationships of the species according to their similar uses; in traditional Mayan medicine, these combinations of species that make up the same treatment are known as formulations (or potions) (Leonti *et al.*, 2003). Quantitative analysis of the species used in traditional medicine is considered important from a pharmaceutical point of view. However, combining and validating extracts from different species of Mayan herbal medicine will be more useful in developing safer medicines.

Unlike the well-known ancient traditional medicine systems (Ayurveda, Unani, and Chinese) with strong influence on modern medicine, the scientific study of potions from the traditional Mayan medicine and many other Mexican traditional medicine systems is clearly delayed, and it should be a priority for the Mexican government.

2.5. CONCLUSIONS

This study shows that the healers from the selected rural communities depend on a narrow group of plant species to treat skin diseases. In many cases, the species used by Mayan healers are also documented in the scientific literature. However, modern research is based on organic extracts rather than on the traditional formulation used by the Mayan people. Some species used in the Mayan indigenous health system have phytochemical studies, but the traditional remedies are the authentic sources of potential active principles. From the ethnohistoric evidence analyzed, our model's results confirm that the Mayan-Yucatecan healing practices are linked to ancestral Mayan tradition and Spanish conquest influence, establishing that the current Mayan traditional medicine is a product of syncretism and interculturality of indigenous Mayan elements and those brought by the Spanish. This initial work will allow further studies of medicinal species recorded in old recipe books, including those used since pre-Hispanic times and those written during the years after the conquest, when the interculturality happened. The PCA analysis is a powerful tool that helped us to find important species to develop further studies related to the biological activity of their medicinal potions. With the PCA technique applied to our ethnobotanical data, it was possible to describe and quantitatively analyze the patterns of use of medicinal flora that intervenes in the design of dermatological treatments; also, this methodology could be used to evaluate the medicinal flora useful to treat other diseases and to understand the complex interactions between indigenous populations and their environment.

CAPÍTULO III

PERFIL CROMATOGRÁFICO DE LAS FORMULACIONES TRADICIONALES MAYAS USADAS PARA ENFERMEDADES CUTÁNEAS

3.1. INTRODUCCIÓN

Las formulaciones medicinales son mezclas fitoquímicas complejas que presentan una gran ventaja sobre moléculas individuales, ya que no sólo se usan por tiempos moderadamente cortos, sino que no causan efectos secundarios tóxicos (Rajani y Kanaki, 2008).

En los últimos años se ha logrado el reconocimiento por parte de las autoridades de la importancia de la investigación de las formulaciones medicinales, y la determinación tanto de sus huellas cromatográficas como de los componentes potencialmente responsables del efecto farmacológico.

En diferentes partes del mundo, se han aplicado las directrices y regulaciones preexistentes concernientes a la utilización de formulaciones herbales propios de la medicina tradicional. Esta acción se traduce en un fortalecimiento de la credibilidad y la excelencia de tales formulaciones. Un paradigma ejemplar de los resultados de una buena regulación y vigilancia se manifiesta en el contexto de la India. En este escenario, se han materializado instancias de éxito donde se han instaurado programas de investigación colaborativa entre los dos paradigmas de atención médica, lo cual ha habilitado la incorporación de formulaciones derivadas del sistema médico tradicional dentro del repertorio terapéutico destinado a los pacientes (Kumar y Dua, 2016).

Además, en la medicina tradicional tailandesa se han evaluado formulaciones herbales utilizadas contra la malaria (Thiengsusuk *et al*., 2013); en China se han desarrollado métodos para identificar y determinar los componentes de formulaciones compuestas usadas para tratar los resfriados (Lin *et al*., 2002), los trastornos posteriores al accidente cerebrovascular (Rong *et al*., 2008), la dermatitis atópica (Hon *et al*., 2006) y la cardiopatía isquémica (Yu *et al*., 2014), entre otros. Mientras que en la medicina tradicional Santal, en Bangladesh, se han reportado formulaciones para trastornos de la piel (Rahmatullah *et al*., 2012) y en los últimos años se han logrado enormes avances en la comprensión de las formulaciones cosméticas para la piel a base de hierbas (Ashawat *et al*., 2009).

Por otra parte, para la investigación química de formulaciones herbolarias y control de calidad, existe una técnica cromatográfica sofisticada empleada para la estandarización de las formulaciones: la Cromatografía en Capa Fina de Alta Resolución (HPTLC, por sus siglas en inglés). HPTLC presenta un equipo especializado, con un proceso de separación mediante tecnología e instrumentos mecánicos programables. El proceso incluye varias etapas de desarrollo que permiten analizar de forma rápida y sencilla gran cantidad de muestras crudas que contienen múltiples componentes (Ali *et al*., 2017; Jain *et al*., 2012).

Esta técnica permite la detección visual por foto-documentación, ya que es un sistema abierto, dando la posibilidad de tener una comparación paralela. La evaluación de los cromatogramas y su ajuste mediante la combinación adecuada de disolventes y fase móvil dan lugar a los perfiles cromatográficos. Una vez obtenido el perfil específico para un tipo de extracto, se establece su huella cromatográfica mediante pruebas de derivatización con diferentes reactivos para identificar grupos de metabolitos activos. Finalmente, la huella cromatográfica se analiza mediante el programa VisionCATS, permitiendo verificar la identidad de las especies vegetales o extractos medicinales, en relación con sus patrones de referencia y determinar la presencia de contaminantes, adulterantes o simplemente para establecer su huella cromatográfica (Seboletswe, 2019; Preet y Gupta, 2018).

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Investigación etnobotánica

Se realizó un estudio etnobotánico para registrar especies con propiedades dermatológicas y formulaciones utilizadas para tratar enfermedades de la piel en el estado de Yucatán. Se realizaron entrevistas a cinco médicos tradicionales de los municipios de Sotuta (Tibolón), Hunucmá y Yaxcabá.

En este trabajo los médicos tradicionales se consideraron como colaboradores en el proceso de investigación partiendo de un consentimiento previo (Anexo 2, carta de consentimiento informado) por parte de los médicos tradicionales y asesorados por la Oficina de Transferencia de Tecnología del CICY en los aspectos legales complementarios y Derechos de Autor.

El conocimiento acerca de las plantas usadas para el tratamiento de enfermedades de la piel fue documentada mediante entrevistas. Las entrevistas que se aplicaron (Anexo 3,

formato de entrevista), fueron previamente diseñadas y validadas por Vera-Ku (2010) y se hicieron las modificaciones necesarias para investigar enfermedades cutáneas.

Se programaron salidas de campo para visitar a los yerberos o curanderos, para conocer todo lo que compete a la preparación de sus formulaciones. Se registraron las combinaciones de las plantas, la forma de preparación en conjunto y la aplicación del tratamiento.

Los médicos tradicionales mayas que colaboraron en ese trabajo son: Carlos Tuyub Cetina del municipio de Hunucmá; Leticia Elizabeth Jiménez Guzmán, Felipa Cetina Moo y Carmito Antonio Et Catzin, de Sotuta; y Leidy Dorantes, de Yaxcabá.

3.2.2. Colecta y autentificación de plantas

Las especies vegetales se recolectaron en las localidades de Tibolón, Hunucmá y Yaxcabá siguiendo las técnicas de recolección, preservación y herborización establecidas por el CICY. Se recolectó material fértil, en lo posible libres de daño físico, de insectos y de hongos. Después de la recolecta, los ejemplares se prensaron y secaron rápidamente. Para su identificación, los ejemplares fueron inspeccionados por el Biol. José Luis Tapia Muñoz y validados por el Dr. Germán Carnevali Fernández-Concha; posteriormente, fueron depositados en el herbario "*U Najil Tikin Xiw*" del CICY.

3.2.3. Preparación de las formulaciones

Las formulaciones se prepararon de acuerdo con las instrucciones del médico tradicional y se etiquetaron como "F" de formulación seguido del número consecutivo correspondiente a su registro. El proceso se llevó a cabo en el laboratorio de Etnofarmacología y HPTLC ubicado en las instalaciones del Laboratorio Regional para Estudio y Conservación de Germoplasma (GERMOLAB) del CICY, en el Parque Científico Tecnológico de Yucatán. Las formulaciones F4, F9, F21 y F22 fueron preparadas por los curanderos y obsequiadas para su evaluación. Para preparar las formulaciones F1, F7, F11, F12 y F14 se colectó el látex fresco de las especies. Para las formulaciones F3, F5, F8, F13, F15, F16 y F19, se colectaron los tejidos vegetales y se cocieron; mientras que para las formulaciones F2, F6, F10, F17, F18 y F20 se obtuvieron los jugos de los tejidos vegetales con la ayuda de un extractor debido a que se preparan como cataplasmas. Posteriormente, las formulaciones

se congelaron a –20 °C y se resguardaron hasta su uso. Una parte de cada formulación se liofilizó para obtener el extracto seco y obtener el rendimiento y su concentración.

3.2.4. Establecimiento del método cromatográfico por HPTLC

Los extractos acuosos de las formulaciones se aplicaron a una concentración conocida en placas de cromatografía en capa fina (TLC, por sus siglas en inglés), probando combinaciones de disolventes con diferentes grados de polaridad y grupos de selectividad de acuerdo con lo establecido por Reich y Schibli (2007), para obtener una buena huella cromatográfica por HPTLC.

Los pasos involucrados en el desarrollo del método por HPTLC fueron: la selección de la fase estacionaria y fase móvil, la aplicación de la muestra, el desarrollo, la derivatización, la documentación de la placa, el etiquetado y la documentación del trabajo realizado.

3.2.5. Perfiles fitoquímicos de las formulaciones

Para generar el perfil fitoquímico de las 22 formulaciones obtenidas usando HPTLC, se estableció el método con el programa VisionCATS (versión 2.4) del equipo de HPTLC marca CAMAG. Los extractos se aplicaron en forma de banda (entre 3 y 4 mm) de forma semiautomática, esto se realizó con los equipos LINOMAT 5 y Automatic TLC sampler 4 usando nitrógeno de alta pureza como gas de aplicación a una velocidad de 50 nL/s. Una vez obtenido el sistema ideal de disolventes para la separación de los componentes de las formulaciones, el desarrollo se realizó en placas de gel de sílice HPTLC G60 F_{254} de 20 × 10 cm con indicador fluorescente marca Merck®. El frente de disolvente se estableció a una distancia de 7 cm a partir del origen. El tiempo de desarrollo del método fue menor a 45 min, incluyendo la aplicación de las muestras sobre la placa y el proceso de desarrollo (Figura 3.1).

Para el desarrollo cromatográfico se activó la placa durante 10 min con una disolución sobresaturada de KSCN, manteniendo el sistema en un ambiente controlado con una humedad relativa entre 50 y 56%; posteriormente se saturó la cámara usando 25 mL de la misma fase móvil y 10 mL de ésta como eluyente (Srivastava y ManMohan, 2011).

Figura 3.1. Etapas del desarrollo del método HPTLC.

Una vez desarrollado el perfil fitoquímico de las formulaciones, se procedió a documentar el cromatograma usando las longitudes de onda (λ) de 254 y 366 nm, y mediante el software VisionCATS se obtuvieron los valores de R_f de las bandas de interés.

Los perfiles cromatográficos se obtuvieron con un densitómetro (Scanner 4, CAMAG, Muttenz, Basilea-Campiña, Suiza) a una λ de 330 nm, las lecturas se realizaron mediante el barrido lineal de cada carril. Se registraron los cromatogramas y luego se derivatizaron las placas con los respectivos reactivos químicos.

Las imágenes se corrigieron mediante el software del equipo (VisionCATS, versión 2.4) para la normalización del color, eliminación de fondo y captura de las densidades ópticas (Ram *et al.*, 2011).

3.2.6. Revelado con reactivos específicos

3.2.6.1. Detección de terpenoides, saponinas y carbohidratos

Se implementó el proceso de derivatización para detectar todos los componentes de las formulaciones al convertirlos en derivados detectables. Debido a la naturaleza polar de los componentes de las formulaciones, se eligió derivatizar la placa primeramente con el reactivo ácido sulfúrico-*p*-anisaldehído, que detecta núcleos químicos tipo terpenoides y saponinas. La derivatización se realizó sumergiendo la placa en el reactivo, éste se preparó mezclando 10 mL de ácido acético glacial, seguido por 85 mL de metanol y 5 mL de ácido sulfúrico al 98% (modificado de Preet y Gupta, 2018). La placa se calentó a 100 °C durante 5 min. Después del desarrollo y la derivatización de la placa, se evaluó nuevamente bajo luz UV a 365 nm y se registraron las observaciones.

Si la reacción es positiva, se observan manchas azules para monoterpenos, manchas moradas para triterpenos, manchas grises para esteroides y manchas rosadas, rojas y amarillas para carbohidratos (González Dueñas, 2023).

3.2.6.2. Detección de flavonoides y compuestos polifenólicos

Se preparó el reactivo NP (difenilborinato de 2-aminoetilo) disolviendo 1 g de NP en 200 mL de acetato de etilo (Jug *et al.*, 2018). Este reactivo fue utilizado específicamente para la determinación densitométrica de flavonoides y compuestos polifenólicos, registrándose en la placa zonas fluorescentes de colores amarillo, naranja y verde (Jesionek *et al.*, 2015). Las placas cromatográficas se sumergieron, se secaron con aire frío y documentaron a 366 nm con el software VisionCATS para medir los valores de R_f (factor de reparto).

3.3. RESULTADOS

3.3.1. Formulaciones dermatológicas

Como resultado de las entrevistas y los trabajos de campo realizados con los médicos tradicionales mayas, se obtuvo información de 22 formulaciones medicinales (Tabla 3.1). Las plantas que componen las formulaciones y sus números de colecta se encuentran registradas en el Capítulo II. Las indicaciones dadas por el médico tradicional incluyeron los tipos de plantas, la hora de colecta, la cantidad, la parte de la planta que se usa y el tipo de preparación. La hora de colecta de los tejidos coincidió entre los médicos tradicionales en que sea muy de mañana (6-9 am) y en la tarde (5-7 pm).

Por otra parte, el sistema de medidas que utilizan los hierberos se basa en calcular las cantidades mediante manojos, rajas, ramitas, hojas, o pedazos de corteza. La medida base que se usa para la preparación es el “manojo” o “*chach*”, y depende de la cantidad de remedio que se desee preparar (Vera-Ku, 2011). A continuación, se explicarán las medidas correspondientes de cada una de estas unidades para una adecuada preparación de los tratamientos.

1 manojo = 20 a 40 g

½ manojo = 10 a 20 g

1 ramita = 8 a 15 g

1 raja = 1 a 2 g

1 hoja = 0.3 a 0.6 g (dependiendo del tamaño)

Los pedazos de corteza se calculan por área aproximada o en “rajas”.

Las formulaciones usadas para el tratamiento de enfermedades cutáneas se prepararon como cataplasmas, decocciones de partes vegetales para baños, jabones y jugo o látex aplicado directamente a la piel.

Tras la etapa de formulación, se pudo constatar que 10 de estas composiciones están exclusivamente basadas en una única especie vegetal, mientras que 12 están conformadas por una combinación de dos o más especies botánicas. En lo que respecta a las preparaciones en sí, su notable especificidad se revela en función del problema dermatológico particular para el cual están destinadas. Por lo general, estas preparaciones se elaboran utilizando tejidos vegetales frescos y se destinan exclusivamente para su aplicación tópica.

Es importante que cada formulación se prepare con el total de especies que la integran, ya que puede existir una sinergia entre sus componentes que podrían interactuar entre sí de manera específica y complementaria, lo que puede potenciar sus efectos individuales y lograr un resultado final más completo y efectivo. Se ha documentado que cuando falta un ingrediente clave en una formulación biológicamente activa, sus mecanismos de acción podrían quedar incompletos y reducir su eficacia (Santini *et al*., 2018; Williamson, 2001).

Es importante destacar que algunas de las plantas identificadas para tratamientos tópicos también se utilizan por vía oral para aliviar otras enfermedades. Por lo tanto, es fundamental tener en cuenta las dosificaciones específicas recomendadas por el médico tradicional, ya que las cantidades de los tejidos pueden variar según el método de uso. Esto garantizará una aplicación segura y efectiva de las formulaciones medicinales para el tratamiento de enfermedades cutáneas.

Tabla 3.1. Formulaciones medicinales utilizadas contra enfermedades de la piel obtenidas como resultado de las visitas de campo realizadas en Tibolón (Sotuta), Hunucmá y Yaxcabá.

Formulación	Uso	Especies vegetales	Parte usada, forma de preparación y aplicación
F1	Infecciones cutáneas y granos	*Euphorbia gaumeri* Millsp.	Recolectar el látex que emerge de las hojas y se aplica directamente a la piel
F2	Llagas y golpes en la piel	*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaerth.	Cortar y lavar 10 hojas, se machacan y se aplican sobre la piel. Aplicar dos cataplasmas al día.
F3	Ampolla en la piel, costras, úlceras y varicela.	*Spondias purpurea* L., *Punica granatum* L. y *Tithonia diversifolia* (Hemls.) A. Gray.	Cortar un puño de hojas de cada una de las especies y hervirlas en 20 litros de agua, dejar enfriar para luego bañarse. Hacer un baño al día.
F4	Irritación y granos en la piel	*Asclepias curassavica* (L.), *Parthenium hysterophorus* L., *Rauvolfia tetraphylla* L., *Punica granatum* L., *Hamelia patens* Jacq., *Tithonia diversifolia* (Hemls.) A. Gray., *Psidium guajava* L., *Momordica charantia* L., *Senna villosa* (Mill.) H.S. Irwin & Barneby., *Calea urticifolia* (Millsp.) DC., *Capraria biflora* L., *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants., *Mentha spicata* L., *Ocimum campechianum* Mill., *Croton chichenensis* Lundell., *Cedrela odorata* L. y *Heliotropium angiospermum* Murray; *Pluchea odorata* L. Cass. y *Salvia coccinea* Juss. ex Murray y dos frutos de *Citrus aurantiaca* Swingle.	Hacer una decocción con 8 hojas de cada una de las especies. Agregar los frutos de *Citrus latifolia* Tanaka. y un puño de sal, luego; incorporar jabón neutro. Cocer hasta obtener una mezcla homogénea. El jabón obtenido usarlo diario hasta limpiar la piel.
F5	Picazón en los pies	*Momordica charantia* L.	Hervir una planta y dejar enfriar la decocción. Con eso lavar la parte infectada de hongos, usar las veces que sean necesarias.

F6	Hinchazón e infección de la piel.	*Kalanchoe laetivirens* Desc., *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants. y *Mentha spicata* L.	Formar un cataplasma con las hojas y aplicar una vez al día sobre la piel infectada, repetir por tres días.
F7	Granos en la piel.	*Thevetia ahouai* (L.) A. DC	Aplicar sobre el grano el látex que sale de una hoja y ponerle una pizca de sal.
F8	Heridas en la piel	*Catharanthus roseus* (L.) G. Don. y *Parthenium hysterophorus* L.	Hervir en un litro de agua, 6 hojas de cada una de las especies y lavar la parte afectada.
F9	Sarna, acné, manchas y salpullido en la piel	*Annona muricata* L., *Asclepias curassavica* L., *Azadirachta indica* A. Juss., *Bunchosia swartziana* Griseb., *Calea urticifolia* (Mill.) DC., *Capraria mexicana* Moric. ex Benth., *Cascabela gaumeri* (Hemsl) Lippold., *Catharanthus roseus* (L.) G. Don., *Cedrela odorata* L., *Citrus aurantiaca* Swingle., *Citrus sinensis* (L.) (Osbeck)., *Croton chichenensis* Lundell., *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants., *Ehretia tinifolia* L., *Euphorbia gaumeri* Millsp., *Hamelia patens* Jacq., *Heliotropium angiospermum* Murray., *Mentha spicata* L., *Milleria quinqueflora* L., *Momordica charantia* L., *Murraya paniculata* (L.) Jack., *Nicotiana tabacum* L., *Ocimum campechianum* Mill., *Parthenium hysterophorus* L., *Pilocarpus racemosus* Vahl., *Punica granatum* L., *Rauvolfia tetraphylla* L., *Ruta chalepensis* L., *Salvia coccinea* Buc'hoz ex Etl., *Senna villosa* (Mill.) H.S. Irwin & Barneby., *Thevetia ahouai* (L.) A. DC., *Tithonia diversifolia* (Hemls.) A. Gray., *Tephrosia cinerea* (L.) Pers. y *4* rajas de *Havardia albicans* (Kunth) Britton &Rose.	Hacer una decocción con 8 hojas de cada una de las especies y agregar una pizca de sal. Al extracto obtenido, incorporar el jabón neutro y cocer hasta obtener una mezcla homogénea. El jabón obtenido usarlo diario hasta limpiar la piel.
F10	Manchas en la piel, caspa roja, sal	*Tephrosia cinérea* L. Pers. y *Senna villosa* (Mill.) H.S. Irwin & Barneby.	Se trituran dos manojos frescos de hojas de las especies. Con el jugo de las plantas disolver una pizca de sal y una pizca de cal formando una pasta. Aplicar una vez al día en forma de cataplasma

F11	Fogaje labial, verrugas	*Euphorbia tirucalli* L.	Aplicar el látex que sale de una hoja y ponerlo sobre la verruga o el fogaje labial.
F12	Fogaje labial, heridas y llagas	*Jatropha gaumeri* Greenman.	Colectar la resina que sale de una hoja y ponerlo sobre el fogaje labial
F13	Quemaduras de chechén (*Metopium brownei*)	*Bixa orellana L., Bursera simaruba* (L.) Sarg. y *Tithonia diversifolia* (Hemls.) A. Gray.	Hacer una decocción con las hojas de las especies, dejar enfriar y preparar un baño. Usar las veces que sean necesarias.
F14	Fogaje labial, incordio, llagas y heridas	*Jatropha curcas* L.	Aplicar la resina directamente sobre la piel afectada.
F15	Llagas, tiña de la cabeza y erupciones	*Urera baccifera* (L) Gaudich. ex Wedd.	Cocer una rama y aplicar el agua sobre la parte afectada.
F16	Heridas	*Lonchocarpus punctatus* Kunth., *Nicotiana tabacum* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants. y *Asclepias curassavica* (L.) Kuntze.	En tres litros de agua, hervir 9 hojas de las especies y agregar medio litro de miel. Con la decocción obtenida, lavar la herida cada 3 horas.
F17	Heridas, llagas y tumores	*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose.	Cortar dos pedazos de 20 cm cada uno y obtener la pulpa de los tallos, hacer con eso un cataplasma y aplicar sobre la zona afectada.
F18	Accesos, tiña, sarna, postemas, pediculosis	*Porophyllum punctatum* (Mill.) Blake.	Aplastar hojas frescas y aplicar sobre accesos. Aplicar el jugo sobre el cuero cabelludo para matar los piojos.
F19	Llagas, hinchazones, sarna, lepra y erupciones	*Zantoxylum caribacum* Lam.	Hervir en un litro de agua un ramo de hojas. Aplicar la decocción sobre las partes afectadas.

F20	Quemaduras del sol y ardor en la piel.	*Jatropha gaumeri* Greenm., de *Lycopersicon esculentum* P. Mill. y de *Ehretia tinifolia* L.	Cortar hojas de las especies, machacar hasta obtener el jugo y aplicar sobre la parte afectada.
F21	Cicatrizar heridas, restaurar la debilidad de la piel y normalizar el pH.	*Bunchosia swartziana* Griseb., *Zantoxylum caribacum* Lam., *Ruta chalepensis* L., *Psidium guajava* L., *Hamelia patens* Jacq., *Punica granatum* L., *Calea urticifolia* (Mill.) DC. y *Croton chichenensis* Lundell., y raíz de *Pilocarpus racemosus* Vahl.	Hervir en agua un manojo de hojas de cada especie, luego agregar 2 puñados de raíces de *Pilocarpus racemosus* Vahl. Preparar jabones con la decocción y usar diariamente hasta mejorar.
F22	Lesiones cutáneas asociadas a la diabetes	*Bourreria pulchra* (Millsp.) Greenm., *Bunchosia swartziana* Griseb.; y raíces de *Pilocarpus racemosus* Vahl.	Cortar un manojo de hojas de las especies y agregar un puño de raíces de *Pilocarpus racemosus* Vahl. Hervir en un litro de agua. Usar para curación de las heridas en pie diabético.

La dosis utilizada en una formulación es esencial para garantizar que la fórmula sea activa y efectiva ya que se ha registrado que los organismos biológicos, incluidos los humanos, responden a las sustancias químicas de manera específica en función de la cantidad administrada. La dosis correcta es necesaria para activar los mecanismos biológicos deseados y lograr el efecto terapéutico deseado. Además de la efectividad, la dosis también se relaciona con la seguridad. Administrar una dosis excesiva puede provocar efectos adversos o toxicidad (Sadia *et al*., 2023; Renganathan *et al*., 2020; Parasuraman *et al*., 2014). En contraste, una dosis adecuada busca alcanzar un equilibrio entre la eficacia y la seguridad.

Destacando los resultados presentados en el Capítulo II de la tesis, se observa que las especies más mencionadas por los curanderos tradicionales incluyen *Annona muricata*, *Euphorbia gaumeri*, *Hamelia patens*, *Kalanchoe laetivirens*, *Momordica charantia*, *Punica granatum*, *Senna villosa*, *Spondias purpurea*, *Talinum paniculatum*, *Thevetia ahouai* y *Tithonia diversifolia*. Estos hallazgos indican la importancia de ciertas especies en la preparación de pociones medicinales, especialmente para tratar padecimientos virales, bacterias y hongos.

Se sabe que en los extractos orgánicos de plantas medicinales existen metabolitos responsables de la actividad biológica de dichos extractos; sin embargo, no se tiene información sobre las formulaciones que forman parte de este trabajo. Por lo tanto, se procedió a realizar un análisis químico mediante cromatografía analítica para caracterizar y comprender mejor la composición química de las formulaciones en cuestión.

3.3.2. Perfiles cromatográficos y análisis fitoquímico de las formulaciones

Para el desarrollo del perfil cromatográfico por HPTLC, las muestras se prepararon al 1% (1 g del soluto/100mL de agua), aplicándose volúmenes de 1 y 2 µL (que corresponde a 0.01 y 0.02 mg del extracto). La separación de los componentes se llevó a cabo usando como fase móvil el sistema de disolvente: butanol/isopropanol/H_2O (5:3:2, v/v/v), en una fase estacionaria de gel de sílice HPTLC G60 F_{254} de 20 cm × 10 cm con indicador fluorescente. En las Figuras 3.2 y 3.3 se observan los cromatogramas obtenidos de las formulaciones utilizando los equipos de detección CAMAG. En el Anexo 4 se integra el reporte del análisis generado del método HPTLC para detección de los cromatogramas de las formulaciones.

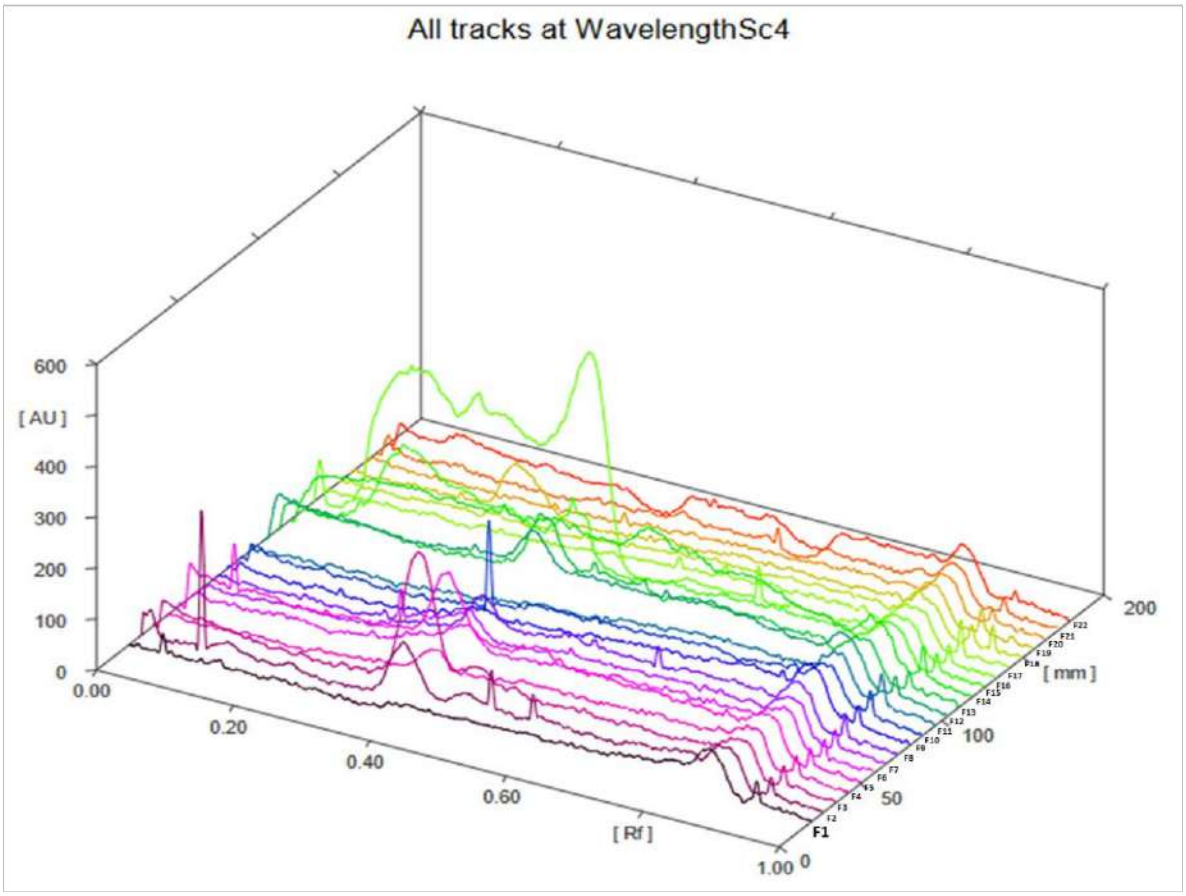


Figura 3.2. Vista 3D de todas las pistas del cromatograma densitométrico de las formulaciones obtenido a una longitud de onda (λ) de 330 nm.

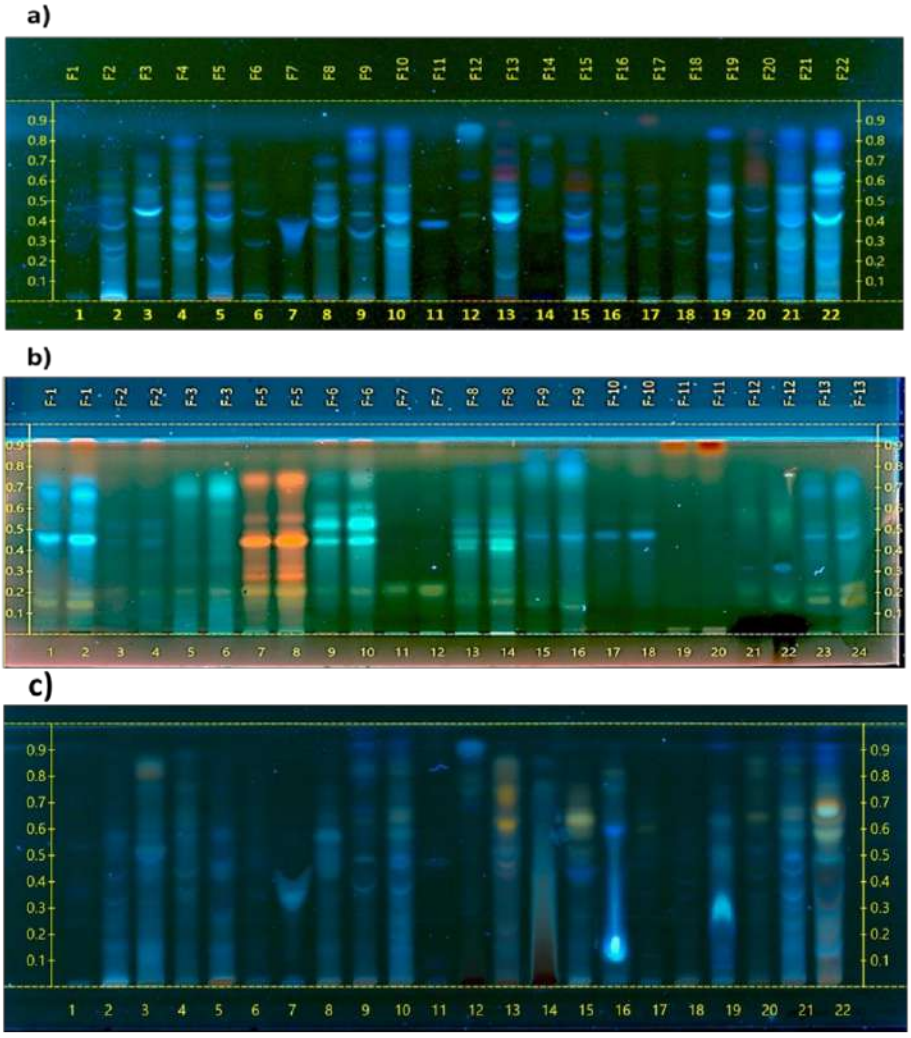


Figura 3.3. Obtención de perfiles cromatográficos de formulaciones medicinales usadas contra enfermedades de la piel. a) Perfiles obtenidos de las 22 formulaciones por HPTLC, λ 366 nm. b) Placa con 13 formulaciones derivatizada con el reactivo ácido sulfúrico-*p*-anisaldehído, UV λ 366 nm. c) Placa de las 22 formulaciones derivatizada con el reactivo NP λ 366 nm.

En la placa de la Figura 3.3b se derivatizaron 13 formulaciones con el reactivo ácido sulfúrico-*p*-anisaldehído (Figura 3.3b), observándose principalmente metabolitos con fluorescencias de coloraciones azules, reacción positiva para terpenos. Las formulaciones que presentaron metabolitos con estas coloraciones fueron: F1 (R_f 0.5), F3 (R_f 0.7), F6 (R_fs 0.4, 0.5, 0.6), F7 (R_f 0.2), F8 (R_fs 0.4, 0.5), F9 (R_f 0.4), F10 (R_f 0.4) y F13 (R_fs 0.1. 0.2). Se observaron manchas amarillas en el R_f 0.2 para F1, F2, F3, F6, F7. F8, F9 y F13, reacción

positiva para carbohidratos y polioles. También F5 mostró manchas rosadas y rojas en los R_f 0.2, 0.3, 0.4, 0.6 y 0.8.

La placa derivatizada con el reactivo NP (Figura 3.3c) se utilizó específicamente para la determinación densitométrica de flavonoides y compuestos polifenólicos, lo que permite registrar en la placa zonas fluorescentes de colores amarillo, naranja y verde, observados en los perfiles cromatográficos de las formulaciones F3, F8, F13, F14, F15 y 16. En la formulación F13, se observaron bandas con fluorescencia naranja y amarilla, especialmente en los R_fs 0.6, 0.7 y 0.8; mientras que F15 presentó una banda en R_f 0.6 (Jesionek *et al.*, 2015).

3.4. DISCUSIÓN

En el trabajo de Mabona y Van Vuuren (2013) se llevó a cabo un examen exhaustivo de la literatura etnobotánica disponible de plantas medicinales con importancia dermatológica del sur de África. Los resultados revelaron que el 41% de las plantas se usa para la curación de heridas, el 32% se utiliza para enfermedades infecciosas causadas por bacterias, hongos o virus y el 25% para el tratamiento de úlceras. El porcentaje restante de las plantas se emplea para tratar crecimientos como verrugas o callos en la piel. Estas clasificaciones coinciden con los usos de las formulaciones que registramos en nuestro estudio, lo que puede deberse a que, tanto en Yucatán como en el sur de África, el clima cálido y húmedo durante la estación de verano favorece el crecimiento de hongos en la piel (Leirana *et al.*, 2009).

El diseño experimental de este trabajo incluyó un conjunto de protocolos, análisis cromatográficos, utilizando TLC (Cromatografía en Capa Fina) y HPTLC (Cromatografía en Capa Fina de Alta Resolución, por sus siglas en inglés), así como análisis de las actividades biológicas así como bases experimentales desarrolladas por Vera *et al.* (2010).

En investigaciones similares a la nuestra, se ha informado sobre la calidad en la identificación y cuantificación de compuestos a partir de mezclas complejas utilizando HPTLC (Ahmad *et al.*, 2013; Patel *et al.*, 2012; Aravind *et al.*, 2008). En esta investigación también se implementó un método HPTLC con la derivatización, lo que nos permitió detectar compuestos con propiedades farmacológicas específicas, tales como terpenos, saponinas y flavonoides, que actúan como marcadores fitoquímicos de actividad biológica.

En el proceso de derivatización, se emplearon los reactivos ácido sulfúrico-*p*-anisaldehído y NP, los cuales, al entrar en contacto con la muestra, modifican químicamente los compuestos para producir derivados que facilitan el análisis. Después de este proceso, se observó una mejora notable en los perfiles cromatográficos de las formulaciones, mostrando bandas con fluorescencias azuladas, naranjas y amarillas. Estos ensayos de identidad de núcleos químicos reflejan la presencia de compuestos como terpenoides, carbohidratos y flavonoides, metabolitos secundarios presentes en las plantas que han ganado una atención significativa debido a sus propiedades farmacológicas y potencial terapéutico.

Los terpenos se encuentran en una amplia variedad de plantas y se utilizan en diversos contextos, incluida la medicina tradicional de algunas culturas. Los terpenos tienen propiedades interesantes y pueden tener beneficios terapéuticos en diversos contextos, tratándose muchas enfermedades inflamatorias, incluida la dermatitis atópica (Kim *et al*., 2020). También tienen potentes efectos antimicrobianos y antivirales (Solórzano-Santos y Miranda-Novales, 2012). Se ha demostrado que el mentol, un metabolito característico del género *Mentha*, tiene una actividad inhibidora significativa contra *Candida albicans* (Norouzi *et al*., 2021). Estos hallazgos resaltan el potencial de los terpenos en la medicina y la investigación en salud, abriendo nuevas perspectivas para su uso terapéutico en el futuro.

De igual forma, los flavonoides son otro grupo de metabolitos secundarios que presentan propiedades farmacológicas sustanciales, incluyendo propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antiproliferativas, fotoprotectoras, despigmentantes y antienvejecimiento. Estas cualidades resultan muy prometedoras en el tratamiento de diversos trastornos de la piel (Tungmunnithum *et al*., 2018; Teixeira *et al*., 2017). Los flavonoides se han estudiado ampliamente en múltiples sistemas de administración tópica (Rivera *et al*., 2021; Nagula y Wairkar, 2019) y son considerados una fuente prometedora de moléculas con un gran potencial para el tratamiento del melanoma, el tipo de cáncer de piel más maligno (De Oliveira *et al*., 2017). Estas investigaciones sugieren que los flavonoides no solo pueden ser beneficiosos en el cuidado y la salud de la piel, sino que también tienen un potencial significativo en la lucha contra enfermedades dermatológicas más graves, como el melanoma.

A pesar de que no hay muchos trabajos que relacionen las formulaciones medicinales con técnicas analíticas cromatográficas como HPTLC, se han desarrollado métodos utilizando TLC y extractos orgánicos semipurificados (Suleiman *et al*., 2010). Estos métodos analíticos

pueden resultar fundamentales en la identificación y cuantificación precisa de terpenos y flavonoides en formulaciones medicinales a base de plantas, lo que contribuye a una comprensión más profunda de su composición y potencial terapéutico en el contexto dermatológico.

La obtención de perfiles cromatográficos, como se ilustra en el trabajo realizado por Cao *et al*. (2006) en el caso de la formulación medicinal china "Shuang-Huang-Lian" (SHL), es fundamental en la investigación de fórmulas medicinales a base de plantas. Este tipo de análisis permite identificar componentes específicos y comprender la composición de estas formulaciones. Se observó que 16 picos comunes en la formulación SHL no tenían homólogos en los extractos orgánicos de las plantas individuales que la componen. Esta diferencia se atribuye a los procesos de elaboración de la fórmula, que difieren de los procesos de obtención de los extractos de las plantas. Es probable que la decocción de las plantas en conjunto dé lugar a la formación de nuevos compuestos o artefactos, que podrían ser los principales responsables de la actividad biológica. Estos resultados subrayan la importancia de un perfil cromatográfico en la adecuada estandarización e investigación de fórmulas medicinales a base de plantas, ya que proporciona información crucial sobre su composición y potencial terapéutico. Además, es esencial considerar técnicas analíticas cromatográficas, como HPTLC y TLC, en la investigación de estas formulaciones para garantizar la calidad y la eficacia de los productos medicinales.

CAPITULO IV

ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE FORMULACIONES UTILIZADAS PARA TRATAR ENFERMEDADES CUTÁNEAS EN LA MEDICINA TRADICIONAL MAYA

4.1. INTRODUCCIÓN

Desde hace varios años la resistencia microbiana es un fenómeno biológico intrínseco, aunque su amplificación se debe a la incorrecta utilización de medicamentos antimicrobianos (OMS, 2000). Desde hace más de una década, en un pronunciamiento, la Organización Mundial de la Salud advirtió sobre la posibilidad de perder la lucha contra infecciones en los próximos 10 a 20 años (Diario de Yucatán, 19 de julio de 2000).

Diversas estrategias se emplean para buscar nuevos agentes con actividad antimicrobiana. Éstas abarcan la exploración de metabolitos activos en fuentes naturales, la modificación química de medicamentos para potenciar su eficacia y la creación de compuestos dirigidos a neutralizar la resistencia bacteriana mediante la inhibición de las enzimas responsables de la desactivación de los fármacos (Heinze-Krauss *et al*. 1998).

La resistencia a agentes antimicrobianos presenta un problema clínico de gran magnitud. Las bacterias farmacorresistentes son una causa importante de aumento en la mortalidad de los pacientes, lo que demanda una constante búsqueda de nuevas estrategias para contrarrestar esta problemática (Spencer, 1993). Los mecanismos por los cuales las bacterias desarrollan resistencia son diversos e incluyen la reducción de la permeabilidad del antibiótico a través de la pared celular, la inactivación del antibiótico, la modificación del sitio de acción del antibiótico o la expulsión del mismo (Anonymous, 2000; Spencer, 1993).

En los últimos años se ha reconocido la importancia de la investigación de las formulaciones medicinales, y la determinación tanto de sus huellas cromatográficas como de los componentes responsables de su efecto farmacológico (Rajani y Kanaki, 2008).

La evaluación antimicrobiana de un extracto herbal nos permite conocer las actividades biológicas que presenta contra los microorganismos causantes de las enfermedades y determinar si el microorganismo es sensible o muestra una resistencia a la formulación. Los antibióticos pueden ser moléculas naturales producidas por una planta vegetal capaz de

producir la muerte o la detención del crecimiento de bacterias, virus u hongos (Pérez-Peña, 2003).

Existen pruebas estandarizadas *in vitro* conocidas como bioensayos de susceptibilidad antimicrobiana, las cuales son ensayos experimentales en la búsqueda de actividades biológicas de nuevos compuestos naturales. Uno de los métodos disponibles para detectar la actividad biológica, es el método de difusión en discos (antibiograma), que es una de las técnicas más utilizadas en laboratorios clínicos de microbiología ya que ofrece muchas ventajas tales como: simplicidad, bajo costo y la capacidad de probar diferentes microorganismos (Alonso *et al*., 2017; Balouiri *et al*., 2016).

También se emplea el método de microdilución en caldo en donde las disoluciones de trabajo son preparadas con diluciones dobles y se distribuyen en pocillos apropiados de placas de microtitulación, registrándose al final del bioensayo la efectividad antimicrobiana de un compuesto en términos de su concentración mínima inhibitoria (MIC) (Kowalska-Krochmal y Dudek-Wicher, 2021; Griffin *et al*., 2000).

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1. Evaluación de la actividad biológica

Las pruebas biológicas se realizaron en las instalaciones del laboratorio de Microbiología del área de posgrado del Instituto Tecnológico de Mérida, Yucatán, bajo la dirección de la Dra. Elizabeth Ortiz Vázquez. Los microorganismos (con marca comercial) seleccionados fueron *Pseudomonas aeruginosa (*ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Candida albicans* (ATCC 10231) y *Cryptococcus neoformans* (ATCC 32045). En la Tabla 4.1 se registran las enfermedades que ocasionan y sus síntomas más comunes.

Tabla 4.1. Lista de patógenos evaluados, enfermedades de la piel en humanos y síntomas relacionados.

Microrganismo	Enfermedad	Síntomas	Área de la afección
Staphylococcus aureus	Foliculitis	Protuberancias rojas e hinchadas	Folículos pilosos
	Forúnculos	Protuberancias rojas y sensibles	Alrededor del cabello
	Carbuncos	Folículo piloso, pequeña raspadura o punción	Superficie de la piel, garganta y nariz
	Ectima	Los ganglios linfáticos se inflaman y duelen	Glúteos, muslos, piernas, tobillos y pies
	Impétigo	Ampollas grandes, amarillas, con apariencia de costra	Cara, brazos y piernas
	Fascitis necrosante	Cambio de color, enrojecimiento, ampolla o sensación de crepitación debajo de la piel	Cualquier parte del cuerpo
Pseudomonas aeruginosa	Foliculitis de la piscina	Pequeñas protuberancias rojas dispersas con picazón o sensibles, folicular con picazón pápulas y pústulas	Cualquier parte del cuerpo
	Quemadura térmica, heridas	Ampolla, piel roja, hinchazón	Piel desprotegida
	Úlceras crónicas en las piernas	Costra superficial verdosa maloliente	Defecto en la piel por debajo del nivel de rodilla
	Ectima gangrenoso	Ampollas, úlceras necróticas	Perineo y axila
Candida Albicans	Candidiasis	Placas blanquecinas, picor, sensación de quemazón	Cualquier parte del cuerpo
	Onicomicosis candidiásica.	Inflamación dolorosa en los bordes de las uñas	Reborde periungueal
	Intertrigos candidiásicos	Piel enrojecida, ligeramente edematosa.	Axilas, ingle, región submamaria, cara lateral de cuello o pequeños pliegues de manos y pies
Cryptococcus neoformans	Criptococosis cutánea primaria	Úlceras, costra o característica verrugosa, paniculitis, celulitis, absceso y vesículas.	Sitio de inoculación o implantación (zonas expuestas)
	Criptococosis cutánea secundaria	Lesiones pápulo-acneiformes, algunas ulceradas en el centro. Tipo molusco contagioso, nódulos subcutáneos con actividad osteolítica, abscesos, úlceras y placas verrugosas	Cabeza, cuello y extremidades

Fuente: Anand *et al.*, 2022; Barbosa-Zamora *et al.*, 2017.

4.2.2. Preparación de los microorganismos

Las suspensiones madres de los microorganismos se activaron tomando una azada y extendiendo en cajas Petri que contenían medio sólido agar de Mueller-Hilton (Merck) preparado de acuerdo con las indicaciones del fabricante. Posteriormente, se incubaron por 24 h a 37 °C. Todos los materiales utilizados fueron esterilizados previamente con vapor caliente en una autoclave y con vapor seco en una estufa.

Para preparar la suspensión de los microorganismos a una concentración conocida, se tomó una azada del cultivo y se disolvió en disolución salina. Luego se midió la densidad óptica de las suspensiones a 600 nm en un biofotómetro Eppendorf™ y se ajustó la absorbancia agregando medio estéril hasta alcanzar valores entre 0.5 y 1.

La concentración del inóculo de las bacterias se ajustó al 0.5 de la escala de McFarland, dando un equivalente de 1×10^8 UFC/mL, y para levaduras al 1 de la escala de McFarland, dando un equivalente a 3×10^8 UFC/mL. Los inóculos se diluyeron en disoluciones que contenían aproximadamente 1×10^6 UFC/mL para *C. albicans* y *C. neuformans* y 3×10^6 UFC/mL para *P. aeruginosa* y *S. aureus.*

4.2.3. Ensayo de difusión en disco

Para el ensayo de difusión en disco, se prepararon las formulaciones a una concentración de 100 mg/mL (0.1 mg/ µL), depositándose 30 µL (3 mg) sobre discos de papel secante impregnados en una superficie de agar de una caja de Petri previamente inoculada con *P. aeruginosa* y *S. aureus*. Se aplicaron 5 µL (1µg/mL) de ampicilina como control positivo y 5 µL de agua estéril como control negativo. Para *C. albicans* y *C. neoformans* se aplicaron 5 µL (1µg/mL) de nistatina como control positivo y 5 µL de agua estéril como control negativo. En cada caja Petri se colocaron discos correspondientes a las formulaciones.

Las placas se incubaron a 37 °C durante 18-24 h, para luego ser registradas las observaciones de inhibición, donde se midió con un vernier el diámetro de la zona de inhibición desde el exterior de la caja.

Los parámetros utilizados en los bioensayos incluyen las concentraciones de los inóculos y los tiempos de incubación de crecimiento de los microorganismos (Tabla 4.2).

Tabla 4.2. Parámetros utilizados para los microorganismos en los ensayos de difusión en discos.

Microorganismo	Concentración del inóculo (UFC/mL)	Tiempo de incubación (h)	Control (+) (1 µg/mL)
Staphylococcus aureus	1×10^6	24	5 µL de Ampicilina
Pseudomonas aeruginosa	1×10^6	18	5 µL de Ampicilina
Candida albicans	3×10^6	24	3 µL de Nistatina
Criptococcus neoformans	3×10^6	48	3 µL de Nistatina

4.2.4. Concentración mínima inhibitoria (MIC) frente *a C. albicans y S. aureus*

Para conocer la concentración mínima de los extractos activos se utilizó la técnica de dilución en caldo, utilizando concentraciones crecientes de cada formulación. Estos dos microorganismos fueron seleccionados debido a la sensibilidad que presentaron a las formulaciones en el ensayo de difusión en disco.

Para determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC), se escogieron placas de 96 pocillos (12 mm × 8 mm), depositando en cada una de ellas 50 µL de medio líquido e inóculo y 50 µL de las formulaciones a las siguientes concentraciones: 400, 200, 100, 50, 25, 12.5 y 6.25 mg/mL. La suspensión de inóculo para levaduras fue de 1×10^6 UFC/mL, y para bacterias, 3×10^6 UFC/mL (Zgoda y Porter, 2001).

Se depositaron 50 µL de la formulación en cada pozo, luego se depositaron 40 µL de caldo nutritivo y 10 µL del inóculo, completando de esta manera 100 µL por pozo (diluyendo de esta manera la formulación a la mitad), seguido se homogeneizó. En el caso de los controles, se agregó el mismo volumen que integraba agua, el medio nutritivo o el antibiótico (10 µL de nistatina para *C. albicans* o 10 µL de amikacina para *S. aureus*). Las placas se incubaron a 37 °C con agitación constante durante 24 h, después de este tiempo se tomó 20 µL de cada pozo de la placa y se incubó en agar Müller-Hilton. Las placas que no presentaron crecimiento indicaron actividad antimicrobiana. Inmediatamente, se tomó 80 µL de la mezcla de cada pozo y se leyó en el biofótometro, para determinar la absorbancia.

Después de transcurrido el tiempo estipulado, se realizó la lectura correspondiente para determinar si la absorbancia había aumentado (indicando crecimiento bacteriano) o se había mantenido (indicando inhibición del crecimiento). De esta manera, se pudo establecer la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) de las muestras evaluadas. Todas las

evaluaciones y lecturas se llevaron a cabo por triplicado y se promediaron para garantizar la precisión y fiabilidad de los resultados (Ramírez y Castaño, 2009).

4.3. RESULTADOS

4.3.1. Actividad biológica de las formulaciones

4.3.1.1. Resultados en el ensayo de difusión en discos

Los resultados obtenidos en el ensayo de difusión en discos contra las cuatro cepas evaluadas se presentan en la Tabla 4.3.

Tabla 4.3. Interpretación cualitativa de los halos de inhibición de las 22 formulaciones usadas en la medicina tradicional maya yucateca contra enfermedades de la piel.

Formulación 30 µL	Patrones del halo de inhibición			
	P. aeruginosa	*S. aureus*	*C. albicans*	*C. neoformans*
F1	-	-	-	-
F2	-	-	-	+
F3	-	+++	++	++
F4	+	-	++	-
F5	-	+	++	-
F6	++	-	+	-
F7	-	-	-	-
F8	-	-	-	-
F9	+	++	+++	-
F10	-	-	-	-
F11	++	-	-	-
F12	++	++	+++	+
F13	-	+++	++	-
F14	-	++	+++	++
F15	++	+	-	++
F16	-	-	-	-
F17	-	-	-	-
F18	-	-	-	-
F19	-	++	++	-
F20	-	-	-	-
F21	++	+	-	-
F22	-	+	+	-

- Ausencia del halo de inhibición, + Halo de inhibición con radio menor o igual a 2 mm, ++ Halo de inhibición con radio mayor a 2 mm y menor o igual a 6 mm, +++ Halo de inhibición con radio mayor a 6 mm.

Trece formulaciones presentaron alguna actividad contra los microrganismos, evaluados a una concentración de 0.1 mg/µL. Diez formulaciones fueron activas contra *S. aureus*, 10 formulaciones contra *C. albicans* y siete contra *P. aeruginosa*; por lo consiguiente el

microrganismo más resistente fue *C. neoformans* ya que sólo cinco formulaciones presentaron actividad.

Las formulaciones más activas contra *P. aeruginosa* fueron F6, F11, F12, F15 y F21; para *S. aureus* fueron F3 y F13; para *C. albicans* F9, F12 y F14 y para *C. neoformans* F3, F14 y F15 (Tabla 4.3). Por otra parte, de acuerdo con el promedio del radio del halo de inhibición, se estableció que la actividad de las formulaciones F3, F9, F12, F13, F14 fue alta, siendo F3, F9, F12 y 14 las únicas que presentaron actividad contra tres microrganismos (Figura 4.1).

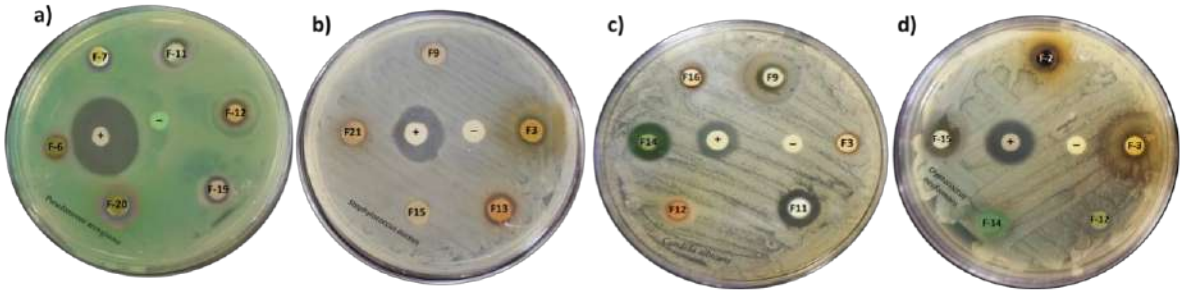


Figura 4.1. Ensayos de difusión en discos de formulaciones más activas. a) *Pseudomonas aeruginosa*, b) *Staphylococcus aureus*, c) *Candida albicans* y d) *Criptococcus neoformans*.

De las formulaciones que presentaron actividad contra tres microrganismos, F12 y F14 ya han sido reportadas. La resina de las hojas de *Jatropha gaumeri* (F12) y el extracto de raíz, han sido evaluados presentando actividad antibacteriana (Vera-Ku *et al.*, 2010; Sánchez-Medina *et al.*, 2001); mientras que para el látex de *Jatropha curcas* (F14) se registra actividad antimicrobiana contra *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. pyogenes*, *C. albicans* y *Trichophyton* sp. (Oyi *et al.*, 2002).

4.3.1.2. Resultados obtenidos por microdilución

La Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) se evaluó contra *S. aureus* y *C. albicans* debido a que los resultados obtenidos en el ensayo de difusión en disco mostraron que un mayor número de formulaciones presentaban actividad contra estos microorganismos. En la Figura 4.2 se presenta una placa del bioensayo después de 24 horas de incubación con *C. albicans*.

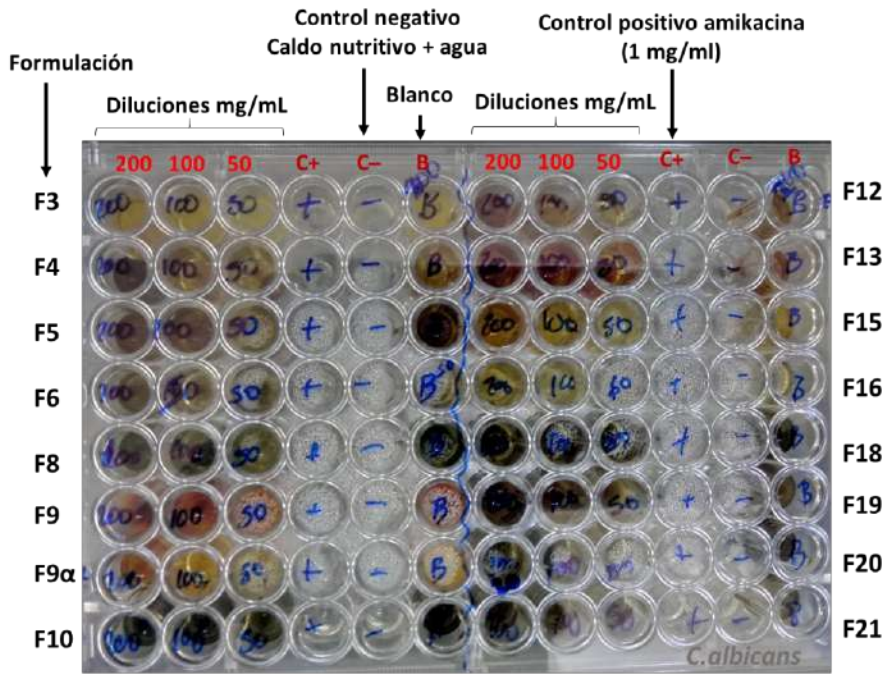


Figura 4.2. Microdilución en placa de 96 pozos después de 24 h de incubación con *C. albicans*. Las filas son las formulaciones para evaluar a 100, 200 y 50 mg/mL, control positivo, negativo y blanco.

Al determinar la MIC con la técnica de la microdilución en caldo, 10 formulaciones presentaron actividad antibacteriana frente *S. aureus,* La Tabla 4.4 presenta los datos detallados de la actividad antibacteriana de cada formulación. Se destaca que F3 y F14 fueron las de mayor actividad antibacteriana (25 mg/mL) ya que su efecto se da a una concentración más baja respecto a los otros extractos. Por otro lado, las formulaciones F5 y F19 mostraron actividad antibacteriana a la concentración más alta evaluada, que fue de 200 mg/mL. Esto indica que estas formulaciones requirieron una concentración más alta para lograr el mismo efecto inhibidor sobre la bacteria en comparación con las formulaciones F3 y F14, lo que sugiere que su actividad antibacteriana es menos potente.

En la evaluación contra *C. albicans*, 13 formulaciones presentaron actividad antifúngica, siendo F9 y F14 las de mayor actividad (25 y 100 mg/mL).

Tabla 4.4. Concentración mínima inhibitoria (MIC) de las formulaciones contra *C. albicans* y *S. aureus*.

	Concentración mínima inhibitoria (MIC, mg/mL)	
Formulación	*S. aureus*	*C. albicans*
F1	-	-
F2	-	-
F3	25	100
F4	-	100
F5	200	100
F6	-	-
F7	-	-
F8	-	100
F9	100	25
F9α	100	50
F10	-	-
F11	-	200
F12	50	100
F13	50	100
F14	25	50
F15	50	-
F16	-	-
F17	-	-
F18	200	200
F19	50	100
F20	-	-
F21	-	-
F22	100	200

Según lo descrito por Grande-Tovar *et al.* (2021), una cepa bacteriana se considera muy sensible cuando la MIC es inferior a 12.5 mg/mL, de mediana sensibilidad cuando la MIC está entre 12.5 y 50 mg/mL, y de baja sensibilidad cuando la MIC se encuentra en el rango de 50 a 100 mg/mL.

En el contexto de los resultados obtenidos en este estudio, podemos considerar que la cepa bacteriana *S. aureus* ha mostrado una baja sensibilidad frente a las formulaciones evaluadas. Es importante destacar que la sensibilidad de las cepas bacterianas puede variar según diferentes factores, como la resistencia intrínseca de la bacteria, la concentración y combinación de compuestos en las formulaciones, y las características específicas del ambiente en el que se desarrollan las pruebas. Por lo tanto, los resultados obtenidos en este estudio proporcionan una indicación inicial de la sensibilidad de *S. aureus* frente a las formulaciones, pero es necesario realizar estudios adicionales para profundizar en el conocimiento de la actividad antimicrobiana de las formulaciones y su potencial aplicabilidad en el tratamiento de infecciones bacterianas.

En este estudio, además de evaluar la actividad antimicrobiana de la formulación F9, se realizaron pruebas específicas para determinar si la actividad estaba asociada al extracto herbal de F9 (F9α) o al jabón neutro que forma parte de la formulación.

Los resultados revelaron que el extracto herbal de F9 (F9α) presentó una actividad antimicrobiana de 50 mg/mL, lo que indica que este componente específico del producto es responsable de la actividad contra el microorganismo estudiado. Por otro lado, el jabón neutro que forma parte de la formulación no mostró actividad antimicrobiana, lo que sugiere que no contribuye directamente a la actividad inhibidora contra el microorganismo evaluado.

Este hallazgo es relevante, ya que permite identificar los componentes activos dentro de la formulación que está contribuyendo a su efecto antimicrobiano. Al determinar que el extracto herbal de F9 es el responsable de la actividad, se destaca la importancia de las plantas en la formulación y su potencial como agente terapéutico contra microorganismos patógenos. Además, el hecho de que el jabón neutro no aporte actividad antimicrobiana sugiere que su función se alinea más hacia un efecto potenciador de la fórmula, ayudando a mejorar la absorción y efectividad del extracto herbal.

4.4. DISCUSIÓN

Los resultados del estudio indican que aproximadamente la mitad de las formulaciones evaluadas demostraron efectos antibacterianos y antifúngicos. Entre las diferentes formulaciones probadas, que incluyeron jabones medicinales, decocciones, jugos, resinas y látex de hierbas, se encontró que 13 de ellas mostraron alguna actividad antimicrobiana. Los microorganismos *C.albicans* y *S. aureus* fueron los más sensibles a las formulaciones, lo que sugiere que estas preparaciones podrían ser efectivas para tratar infecciones causadas por estos microorganismos.

Es relevante mencionar que solo las formulaciones F5, F11, F12 y F14, cada una constituida por una sola especie de planta, cuentan con registros previos en la literatura científica que respaldan sus actividades antimicrobianas. Los resultados obtenidos en el presente estudio respaldan y corroboran las actividades antimicrobianas previamente reportadas para estas formulaciones en la literatura científica.

Las formulaciones F3, F9 y F13 aún no han sido estudiadas, por lo que resultan más interesantes para continuar con su análisis antimicrobiano más detallado y estudios

fitoquímicos al tratarse de decocciones y estar compuestas de dos o más plantas. Además, F9 es un jabón medicinal y F3 y F13 presentan una especie en común: *Tithonia diversifolia*.

El extracto metanólico de *T. diversifolia* fue evaluado por Oso y Ogunnusi (2017), presentando actividad biológica contra *S. aureus* a partir de 30 mg/mL; por lo que esta especie podría tener un papel importante en la actividad biológica.

La formulación F5, que contiene extracto de hojas de *Momordica charantia,* ha sido previamente reportada por Jia *et al.* (2017) como activa contra varios patógenos, incluyendo *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Salmonella* y *Streptobacillus*. Esto indica que la formulación F5 tiene propiedades antimicrobianas de amplio espectro y podría ser efectiva contra diferentes tipos de infecciones causadas por estos microorganismos.

Por otro lado, la formulación F11, compuesta por látex de *E. tirucalli*, también ha sido objeto de investigación en términos de su actividad antimicrobiana. Upadhyay *et al*. (2010) han reportado diversas actividades antimicrobianas de esta formulación contra diversos patógenos. Esto sugiere que la formulación F11 posee un potencial importante para el tratamiento de infecciones causadas por diferentes tipos de microorganismos patógenos.

La formulación F12, que contiene látex de las hojas de *Jatropha gaumeri*, ha sido objeto de evaluación contra microorganismos causantes de enfermedades gastrointestinales. Vera-Ku *et al*. (2010) han documentado su actividad antimicrobiana contra *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. pyogenes*, *C. albicans* y *Trichophyto*n sp. (Oyi *et al*., 2002). Esta amplia actividad antimicrobiana da soporte científico al uso tradicional de la formulación F12 y podría ser útil en el tratamiento de infecciones de la piel, así como en infecciones gastrointestinales y fúngicas.

Esta información novedosa sobre la actividad antimicrobiana de las formulaciones utilizadas en la medicina tradicional maya yucateca es de gran utilidad desde el punto de vista farmacológico, ya que permitió valorar su potencial como agentes terapéuticos para tratar enfermedades de la piel.

Además de la evaluación de la actividad biológica de las formulaciones mediante técnicas de difusión en discos y microdilución del caldo, también se ha establecido la importancia de conocer los componentes responsables de su actividad. Por lo tanto, se requiere aplicar técnicas cromatográficas y análisis fitoquímicos para identificar los compuestos presentes en las formulaciones que podrían ser responsables de su actividad antimicrobiana. Estos análisis ayudarían a comprender mejor la composición química de las formulaciones y

podrían proporcionar información importante sobre los principios activos involucrados en su actividad antimicrobiana.

En general, el análisis del presente trabajo es un paso importante en la investigación de la medicina tradicional y etnobotánica, y podrían contribuir al desarrollo de nuevos enfoques terapéuticos basados en el uso de plantas medicinales.

Además de lo anterior, se debe tener en cuenta que se requieren más estudios para comprender completamente la composición química de las formulaciones y su relación con la actividad antimicrobiana. La validación y respaldo científico adicional son necesarios para confirmar la efectividad y seguridad de estas preparaciones, especialmente si se consideran como tratamientos formales en la práctica médica.

CAPÍTULO V

ANALISIS FITOQUIMICO DE F9, F13 Y F15, FORMULACIONES UTILIZADAS EN LA MEDICINA TRADICIONAL MAYA

5.1 INTRODUCCIÓN

Si bien es cierto que México se destaca como el segundo país más importante del mundo en términos de riqueza biológica, también es cierto que su riqueza cultural es muy grande. Se sabe que aproximadamente sólo el 5% de su flora medicinal ha sido objeto de análisis farmacológico hasta la fecha (Lucía *et al*., 2021). Sin embargo, la cantidad de estudios acerca de los remedios medicinales propios de la cultura indígena mexicana ancestral que han sido estudiados desde su punto de vista farmacológico es prácticamente inexistente. La información disponible sobre las formulaciones de productos herbolarios mexicanos es muy limitada, lo que representa una notable brecha en el conocimiento científico (Rodríguez *et al*., 2022).

En este contexto, es imperativo considerar tanto la importancia de la conservación del patrimonio biocultural, como la diversidad química que ofrecen las plantas mexicanas para uso medicinal. Existe un vasto potencial para explorar y estudiar estas especies y, así, generar nuevos conocimientos valiosos en el campo de la Etnofarmacología, Química y Etnobotánica.

En este capítulo de la investigación, se presentan los resultados de los estudios fitoquímicos de las tres formulaciones que mostraron actividad biológica: F3, F9 y F15, que son utilizadas en la medicina tradicional maya para tratar diversas enfermedades de la piel.

La formulación más activa contra *C. albicans* fue F9, con una MIC de 25 mg/mL; también tuvo actividad contra *P. aeruginosa* y *S. aureus* (MIC de 100 mg/mL). Esta formulación fue recomendada por la Sra. Felipa Cetina Moo, yerbera y partera maya con más de 40 años de práctica, y cuya trayectoria ha sido avalada por el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS-Bienestar), así como el Instituto para el Desarrollo de la Cultura Maya del Estado de Yucatán (INDEMAYA) y el Comité Estatal de Medicina Tradicional Maya y Salud Intercultural.

La formulación F13 fue de las más activas contra *S. aureus* presentando una MIC de 50 mg/mL; también presentó actividad contra *C. albicans* (MIC de 100 mg/mL). Esta formulación fue recomendada por la Sra. Leticia Elizabeth Jiménez Guzmán, partera reconocida por el sistema de seguridad social del gobierno mexicano y autorizada para atender embarazo y parto por el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS- Bienestar).

La formulación F15 presentó actividad contra *P. aeruginosa*, *S. aureus* (MIC de 50 mg/mL) y *C. neoformans*. Esta formulación fue recomendada por la *h'men* Leidy Dorantes Cob, quien dirige el Centro Herbolario de Yaxcabá. Este Centro cuenta con 50 médicos mayas certificados y ofrece tratamientos naturales con base en cremas, ungüentos, entre otros elaborados con plantas medicinales (Rodríguez Jazmín, 2020).

Dado que los resultados indicaron que las formulaciones F9, F13 y F15 poseen propiedades antimicrobianas, resulta importante su análisis fitoquímico, pues es de esperar que sus propiedades antimicrobianas sean causadas por componentes activos presentes en la fórmula.

5.2. MATERIALES Y MÉTODOS

5.2.1. Preparación de las formulaciones medicinales

El proceso de preparación de las formulaciones se describe en el Capítulo III de esta tesis, en el subtema 3.2.3.

La formulación F9 contiene el extracto de 34 especies de plantas más un jabón de base neutro (Zote®). En el Capítulo III, Tabla 3.1 se registran las especies vegetales que la integran, sus usos y su forma de preparación.

Las formulaciones F13 y F15 se prepararon en las instalaciones del GERMOLAB según se describe en el Capítulo III, y en la Tabla 3.1 se registran sus usos y sus formas de preparación. En la preparación de F13, se colectó un puñado de hoja frescas de *Bixa orellana*, *Bursera simaruba* y *Tithonia diversifolia*, preparándose una decocción. En la preparación de F15 se cortó una rama de *Urera baccifera* y se preparó una decocción. Los extractos de las formulaciones se congelaron a –20 ºC, se liofilizaron y se refrigeraron a 4 °C hasta su uso.

5.2.2. Obtención de fracciones de F9, F13 y F15

Para el análisis de muestras y la identificación de los compuestos fitoquímicos, las formulaciones F9, F13 y F15 fueron fraccionadas por partición con disolventes en gradiente de polaridad.

Utilizando 500 mg de extracto liofilizado de cada una de ellas, fueron disueltas en 90 mL de agua para ser añadidos 10 mL de metanol. Dicha fase se colocó en un embudo de separación y fue extraída primeramente con hexano por triplicado, para lo que se utilizaron 200 mL, respectivamente, alcanzando las proporciones 2:1, 2:1 y 2:1. El mismo procedimiento se realizó con acetato de etilo. Las fracciones resultantes de cada extracción se reunieron de acuerdo al disolvente y fueron evaporadas al vacío. Posteriormente se colocaron en viales y se dejaron secar a temperatura ambiente.

En la Figura 5.1 se muestra el diagrama experimental para la obtención de las fracciones correspondientes resultando: la fracción hexánica (1A), la fracción de acetato de etilo (1B) y la fracción acuosa (1C).

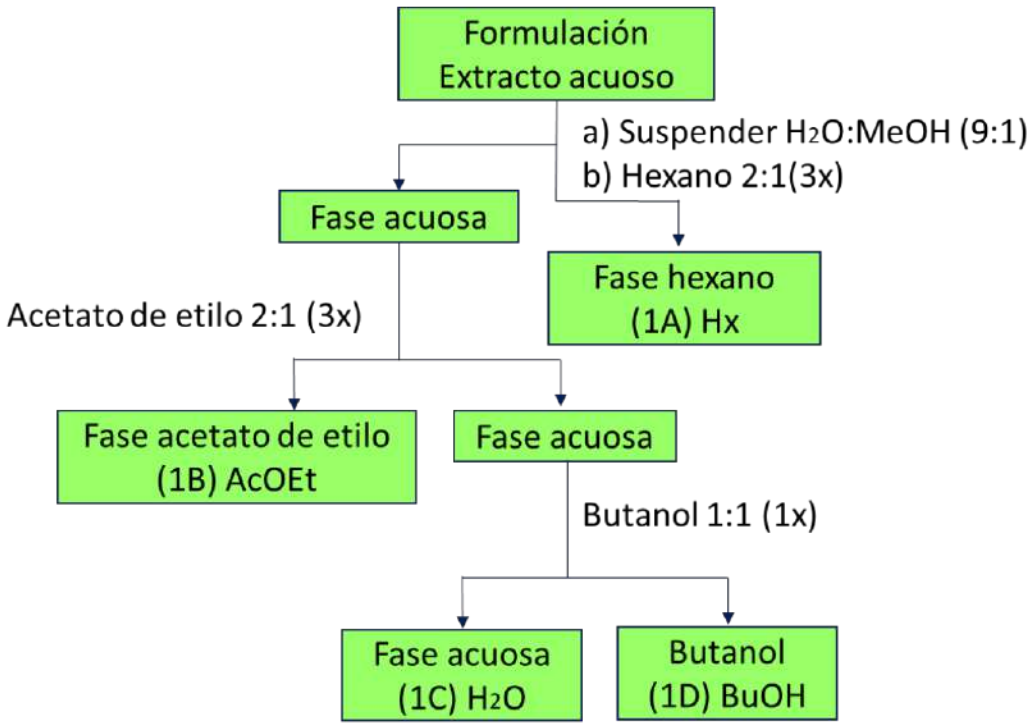


Figura 5. 1. Diagrama de la obtención de fracciones hexánicas, de acetato de etilo, butanóllica y acuosa para las formulaciones F9, F13 y F15 mediante extracciones sucesivas líquido-líquido.

5.2.3. Perfiles por HPTLC de las formulaciones F9, F13 y F15 junto con sus fracciones

Para generar el perfil cromatográfico de las formulaciones y sus fracciones, se aplicó el método descrito y desarrollado en el Capítulo III de esta tesis (sección 3.2.3). Los extractos se prepararon al 1%, aplicándose 2 µL por muestra en cada placa. La separación de los componentes se llevó a cabo utilizando como fase móvil el sistema de disolvente: butanol/isopropanol/H_2O (5:3:2, v/v/v).

5.2.3. Detección fitoquímica de las formulaciones

Una parte del análisis químico de las formulaciones se realizó en un cromatógrafo de gases equipado con un FID (Agilent Technologies® 7890A) y una columna HP-5 con gel de sílice fundido, 30 m × 0.32 mm, espesor de película de 0.25 µm, (5 % -fenilo)-metilpolixiloxano. Las comparaciones de los patrones de fragmentación se obtuvieron a partir de un detector de masas de ionización por impacto de electrones. La configuración del método para el equipo CG-EM fue: temperatura de 220 °C durante 2 min y luego se aumentó la temperatura en gradiente durante 20 min hasta alcanzar 280 °C. Se utilizó helio como fase móvil a una velocidad de flujo de 2 mL/min. Cada muestra se inyectó por triplicado (Burgos *et al.,* 2023).

5.3. RESULTADOS

5.3.1. Obtención de fracciones de F9, F13 y F15

Todas las fracciones obtenidas fueron concentradas y sus rendimientos correspondientes se registran en la Tabla 5.1. Dado que se tratan de extractos provenientes de liofilizados, ricos en componentes polares, las fracciones más abundantes fueron las acuosas. Cabe mencionarse que durante las extracciones sucesivas de F9 y F13 se pudo observar una especie de mucílago de naturaleza polar, cuya presencia dificultó el manejo de las diferentes fracciones de los extractos. Las fracciones butanólicas de las formulaciones (1D) fueron almacenadas en el refrigerador del laboratorio con el propósito de someterlas posteriormente a concentración a presión reducida. Cabe señalar que los análisis detallados de estas fracciones no han sido incluidos en esta tesis.

Tabla 5.1. Rendimientos correspondientes a las fracciones obtenidas a partir de 500 mg de extracto liofilizado de F9, F13 y F15.

Formulación	Fracción	Nomenclatura	Peso del extracto (mg)	Rendimiento (%)
F9	Hexánica	F9-1A	3	0.6
	Acetato de etilo	F9-1B	11	2.2
	Acuosa	F9-1C	318	63.6
F13	Hexánica	F13-1A	2.1	0.4
	Acetato de etilo	F13-1B	22.6	4.5
	Acuosa	F13-1C	416	83.2
F15	Hexánica	F15-1A	1.7	0.34
	Acetato de etilo	F15-1B	2.5	0.5
	Acuosa	F15-1C	467	93.4

5.3.2. Perfiles cromatográficos obtenidos por HPTLC de las formulaciones F9, F13 y F15

La comparación de los perfiles cromatográficos obtenidos por HPTLC permitió identificar similitudes y diferencias entre las formulaciones, lo que puede tener implicaciones significativas para el control de calidad, autenticidad y actividad biológica de los productos. (Figura 5.2).

En los análisis cromatográficos, se prestó especial atención a los patrones de migración (es decir, la ubicación y la distancia de cada mancha en la placa cromatográfica) y a la intensidad de las manchas en las placas. Se comparó la cantidad relativa de los compuestos por medio de la evaluación visual del programa VisionCats.

En el perfil de la fracción de acetato de etilo de F9 (F9-1B) se observó la presencia de un nuevo compuesto a un R_f de 0.8. Mientras que en la fracción acuosa (F9-1C), se observó un metabolito con fluorescencia azul (R_f 0.6) muy bien separado en comparación con el perfil de la formulación F9.

En el perfil de la fracción de acetato de etilo de F13 (F13-1B) se observó un claro patrón de migración de las muestras que facilitaría la identificación de compuestos específicos, ya que no hay duda que están presentes en la formulación pero en menores cantidades.

En el perfil de la fracción F15-1B se observó un metabolito abundante con R_f 0.7, no visible en el perfil de la formulación F15. Mientras que en su fracción acuosa (F15-1C) se observó más claramente los patrones de migración de los compuestos, en comparación con el perfil de la formulación.

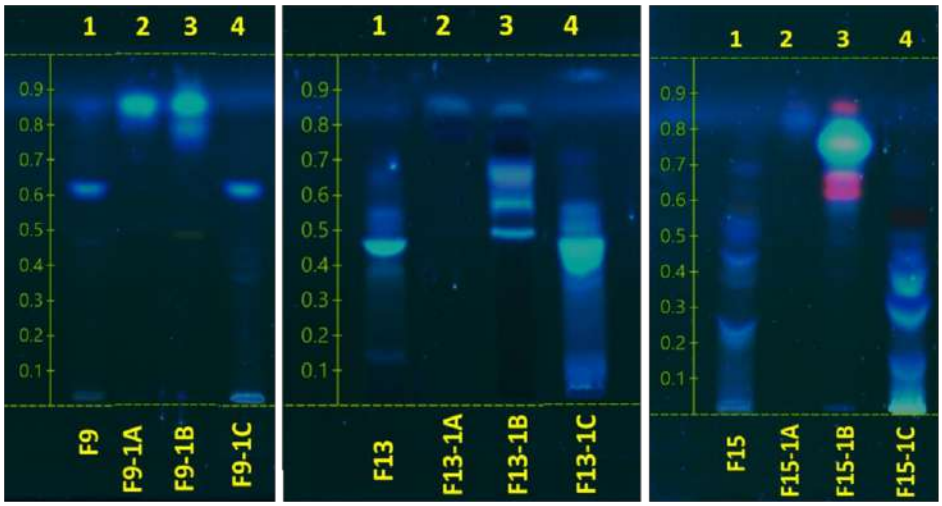


Figura 5.2. Perfiles por HPTLC de F9, F13 y F15 y sus fracciones hexánicas (1A) y acetato de etilo (1B). Sistema de disolvente: butanol/isopropanol/H_2O (5:3:2, v/v/v), placas vistas en UV a 366 nm.

En general, la comparación de los perfiles cromatográficos de las formulaciones en HPTLC, permitió identificar diferencias entre las formulaciones y sus fracciones, además se logró observar nuevos compuestos bioactivos debido a que están enriquecidos por el proceso de extracción por los disolventes orgánicos utilizados.

5.3.3. Análisis fitoquímico de las formulaciones por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM)

5.3.3.1. Análisis fitoquímico de F9

Después de someter a la formulación F9 y sus fracciones al análisis por CG-EM para la caracterización de los compuestos presentes en la muestra, su cromatograma (Figura 5.3a) mostró señales en tiempos de retención (t_R) de 14 a 28 min, presentando un total de 12 señales. Se observaron tres señales principales en tiempos de retención de 17.295, 18.233 y 19.115. Además, los cromatogramas de las fracciones de hexano (Figura 5.3a) y acetato de etilo (Figura 5.3b) mostraron nueve señales a t_R entre 4 y 25 min.

El análisis de las muestras condujo a la identificación y cuantificación de 25 compuestos con un porcentaje de similitud superior al 90%, según la base de datos del NIST (National Institute of Standards and Technology) en el equipo Agilent Technologies 7890A.

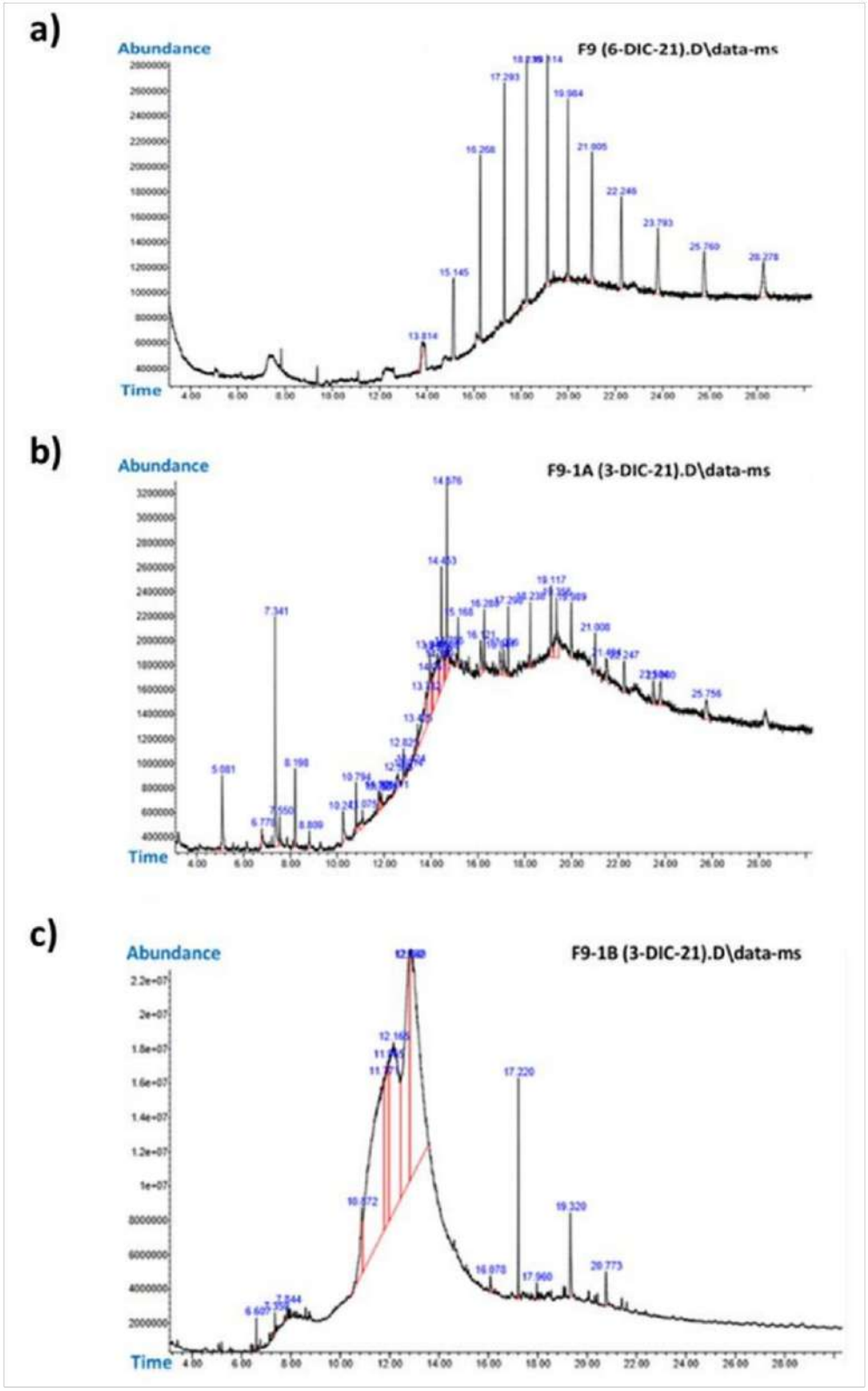


Figura 5.3. Cromatogramas de análisis por CG-EM. a) Formulación F9, b) fracción de hexano (F9-1A), c) fracción de acetato de etilo (F9-1B).

La Tabla 5.2 enumera los compuestos identificados. Los compuestos más abundantes fueron: 2-Fluoro-6-(4-(metilsulfanil) fenoxi) benzonitrilo; isopropil-13-metoxi-podocarpa-8,11,13-trien-3-ona, 2-(fenilo metileno)-octanal; 2-fenil metileno; ácido *n*-hexadecanoico y ácido *cis*-vaccénico.

La mayoría de los compuestos encontrados en F9 ya han sido reportados en otras investigaciones, presentando importantes actividades biomédicas. Se identificó ciclodecasiloxano eicosametilo en el extracto que exhibe actividad antimicrobiana en frutos de *Salvadora persica* (Al Bratty *et al*., 2020). Se identificó 4-Nitro-4'-clorodifenilsulfóxido en el extracto etanólico de *Citrullus colocynthis* (Ahmed *et al*., 2020). 4-Metoxi-7*H*-furo [3,2-g][1] benzopiran-7-ona (bergapteno) ha sido aislado del extracto de cáscara de fruta *Citrus aurantium* y actúa como uno de sus componentes insecticidas presentes (Siskos *et al*., 2008). Se ha identificado 1-metoxi-10*H*-fenotiazina, en los extractos activos de *Ruta graveolens* (Azalework *et al*., 2017), *Vernonia amígdala* (Oyugi *et al*., 2011), y *Eucommia Ulmoides* (Wanxi *et al*., 2014). 4,7,8-Trimetoxi furo[2,3-b] quinolina es un alcaloide característico de las rutáceas utilizado actualmente en preparados dermatológicos para diferentes enfermedades de la piel (Diar *et al*., 2005). El éster bis (2-etilhexílico) del ácido hexanodioico se aisló del extracto de madera nigra de *Populus* (Li *et al*., 2014). Isopropil-13-metoxi-podocarpa-8, 11,13 -trien-3-ona fue identificada mediante el análisis de los compuestos activos del extracto etanólico de *Scambiosa columbabria* (Sagbo *et al*., 2020). Se identificó 7-acetil-6-etil-1,1, 4,4-tetrametiltetralina en hojas, tallos y callos de *Glycyrrhiza glabra* (Vijayalakshmi y Shourie, 2019), mientras que el éster metílico del ácido hexadecanoico, ha sido aislado de hojas de *Annona muricata*, resultando ser un potente antifúngico contra *Alternaria solani*, *Aspergillus erithrocephalus* y *Aspergillus albicans* (Abubacker y Deepalakshmi, 2013).

Se ha identificado el metil éster del ácido *cis*-13-octadecenoico en el perfil fitoquímico de *Leucas lanata* Benth., una importante planta medicinal del Himalaya occidental (Vermaa *et al*., 2020); además, se encontró el 2-(fenilo metileno)-octanal del extracto metanólico de *Corymbia torelliana*, mostrando efecto anti-*Trypanosoma congolense* (Ognbole *et al*., 2017).

Tabla 5.2. Composición química de la formulación F9.

Muestra	Nombre	Similitud (%)	t_R (min)	Abundancia relativa (%)
F9	4-Metoxi-7H-furo[3,2-g][1] benzopiran-7-ona,	98	3.20	6.44
	Ácido 6-octadecenoico	99	3.37	6.82
	1-Metoxi-10*H*-fenotiazina,	91	3.93	2.50
	4,7,8-Trimetoxi-furo[2,3-b] quinolina	93	5.16	2.40
	Hexanodioico, bis (2-etilhexilo) éster	99	5.23	1.88
	2-Fluoro-6-(4-(metilsulfanil) fenoxi) benzonitrilo	90	5.85	25.54
	Isopropil-13-metoxi-podocarpa-8,11,13-trien-3-ona,	98	7.48	21.36
	Trimetil-silano, [[(3β,11β,20S)-p regn-5-eno-3,11,17,20-tetrail]tetrakis(oxi)]tetrakis	95	17.29	10.74
	Eicosametil-ciclodecasiloxano	92	21.004	9.33
	4-Nitro-4'-clorodifenilsulfóxido	91	28.276	6.62
F9-1[a]	Ciclodecano	90	5.082	3.85
	2-(Fenilo metileno)-octanal	99	7.342	7.36
	7-Acetil-6-etil-1,1,4,4-tetrametiltetralina	93	8.197	2.54
	Éster de metilo del ácido hexadecanoico	93	8.807	0.89
	Éster de metilo del ácido *cis*-13-octadecenoico	97	10.796	1.48
	Ácido *n*-decanoico	91	12.413	0.49
	Ácido dodecanoico	94	13.016	0.21
F9-1B	Ácido tetradecanoico	92	13.785	3.84
	2-(Fenilo metileno) octanal	96	7.349	0.14
	Ácido *n*-hexadecanoico	99	11.770	26.88
	Ácido cis-vaccénico	99	12.785	15.90
	Ácido oleico	95	16.079	0.24
	Escualeno	98	17.962	0.14
	17-(1,5-Dimetilhexil)-10,13-dimetil 2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15, 16,17-tetradecahidro-1*H*-ciclopenta [a] fenantreno-3-ol	99	19.320	1.01
	γ-Sitosterol	90	20.772	0.44

F9 = Formulación; F9-1A = fracción hexánica; F9-1B = fracción de acetato de etilo.

Asimismo, se identificó al escualeno que también ha sido identificado en múltiples extractos (desde hojas hasta semillas) de *Terminalia catappa,* mostrando actividad antioxidante (Ko *et al*., 2002). 17-(1,5-Dimetilhexil)-10,13-dimetil 2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahidro-1*H*-ciclopenta [a] fenantreno-3-ol está presente en el extracto metanólico antifúngico de tallos y hojas de *Juncus maritimus* (AlAmery *et al*., 2020).

Por su parte los ácidos grasos como oleico, decanoico, dodecanoico, tetradecanoico, hexadecanoico, *cis*-vaccénico, oleico, el fitosterol y el γ-sitosterol se encuentran naturalmente en animales y plantas, y actualmente se están utilizando en una variedad de aplicaciones, incluidos productos de cuidado personal y cosméticos (Yoon *et al*., 2018).

5.3.3.2. Análisis fitoquímico de F13

Las fracciones de la fórmula F13 se sometieron a análisis por CG-EM para considerar los compuestos presentes. El cromatograma de las fracciones de hexano (Figura 5.4a) mostró señales en t_R de 12 a 22 min, presentando un total de 19 señales. Se observaron dos señales principales con t_R de 14.448 y 21.255.

Por otra parte, las fracciones de acetato de etilo de F13 (Figura 5.4b) mostró 25 señales con t_R entre 8 a 34 min. Se observaron dos señales principales con t_R de 26.452 y 28.153 y muchas señales minoritarias.

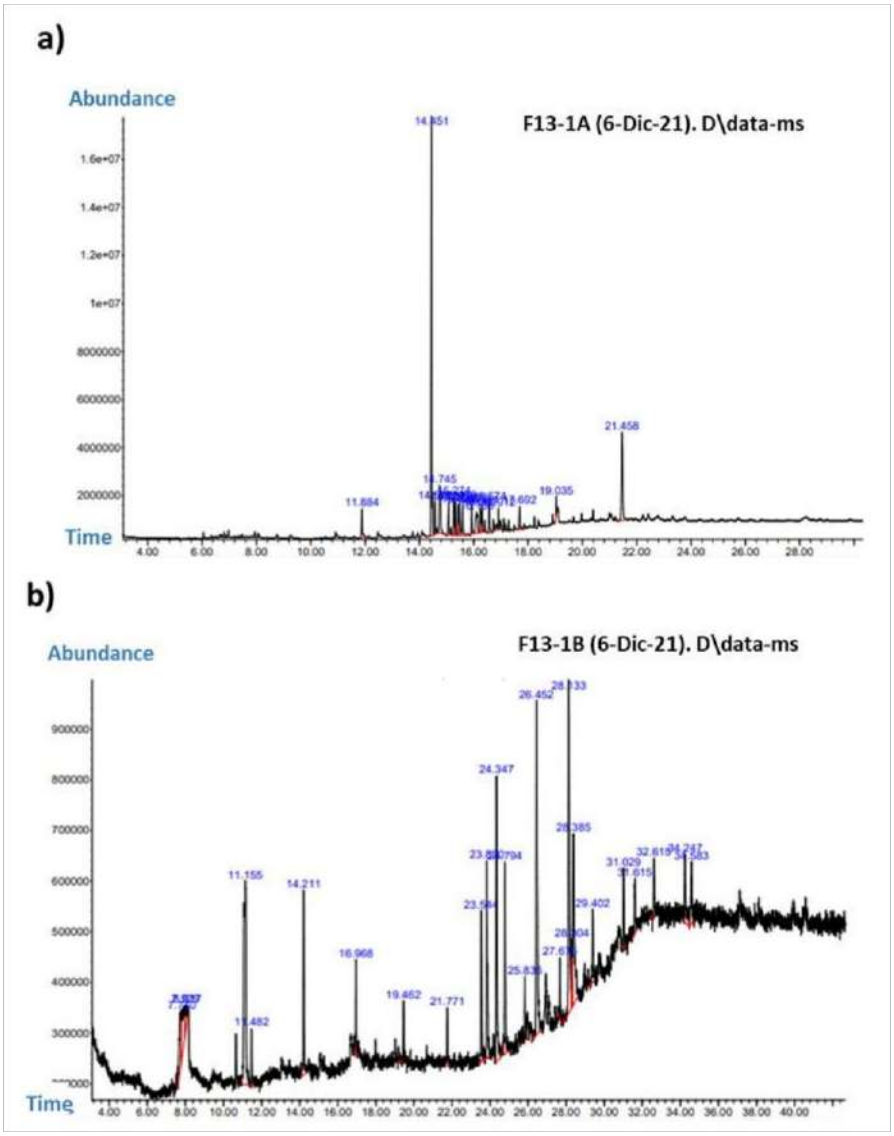


Figura 5.4. Cromatogramas de análisis CG-EM de F13. a) Fracción de hexano (F13-1A), b) fracción de acetato de etilo (F13-1B).

El análisis de las muestras condujo a la identificación y cuantificación de nueve compuestos con un porcentaje de similitud superior al 80%, según la base de datos del NIST (National Institute of Standards and Technology) del equipo Agilent 7890A. Aunque se pudieron identificar varios componentes de la formulación, la mayoría (de acuerdo con la base de datos NIST) arrojó un porcentaje de similitud muy bajo o incluso ninguna coincidencia en comparación con los espectros de referencia, estableciendo que F13 presenta una matriz compleja que puede afectar la separación y la detección de los compuestos, lo que dificulta una identificación precisa. La Tabla 5.3 enumera los compuestos identificados.

Tabla 5.3. Composición química de la formulación F13.

Muestra	Nombre	Similitud (%)	t_R (min)	Abundancia relativa (%)
F13-1A	Éster feniltetradecilo del ácido carbónico,	80	15.476	3.69
	Éster hexadecilfenilo del ácido carbónico	80	15.595	2.77
	Nonacosano	97	17.690	2.03
	Eicosano	96	19.035	1.14
F13-1B	Dodecametilciclohexasiloxano	86	7.933	3.48
	Tetradecametil 1-cicloheptasiloxano	93	11.154	12.68
	Hidroxitolueno butilado	98	11.485	1.54
	Hexadecametil-ciclooctasiloxano	90	14.210	4.53
	1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-Hexadecametil-octasiloxano	92	34.580	2.05

F13-1A= Fracción hexánica de F13; F13-1B = fracción de acetato de etilo.

Los metabolitos identificados en la fracción hexánica de F13 (F13-1A) ya han sido reportados en otras investigaciones. El éster feniltetradecilo del ácido carbónico ha sido reportado como un compuesto volátil presente en mangos infectados por *Colletotrichum gloeosporioides* y *Lasiodiplodia theobromae*, utilizándose como metabolito biomarcador para detectar enfermedades poscosecha o patógenos fúngicos toxigénicos del mango (Parthasarathy *et al*., 2017). El estér hexadecilofenilo del ácido carbónico fue identificado por CG-EM en el extracto hexánico de las semillas de *Parinari excelsa*, presentando efecto larvicida contra larvas de mosquito *Culex spp.* (Dokubo *et al*., 2021).

El éster feniltetradecilo del ácido carbónico, y el éster hexadecilo del ácido carbónico tienen en común que ambos son compuestos químicos que pertenecen a la familia de los ésteres, un grupo importante de metabolitos secundarios con reportes de actividades antimicrobianas, analgésicas y antiinflamatorias, lo que es relevante para comprender su potencial utilidad terapéutica (Huang *et al*., 2021).

De igual forma, se identificó la presencia del nonacosano, alcano que se encuentra en varias especies vegetales (Pantoja *et al*., 2021; Scarpetta-Ramírez, 2017; Espichán-Jáuregui, 2014), algunas ceras naturales y aceites (Bentley *et al*., 1955). Sin embargo, no se han reportado propiedades farmacológicas específicas para este compuesto, ya que su principal función se asocia más con su papel estructural en las ceras y en la protección de plantas y organismos contra la pérdida de agua y el daño ambiental.

También fue identificado el alcano eicosano. Este compuesto ha sido aislado del extracto de diclorometano de *Labisia pumila*, demostrándose que ejerce propiedades para la cicatrización de heridas, antimicrobianas y antiinflamatorias (Chuah *et al*., 2018). En otra investigación fue identificado en el extracto diclorometánico de *Marantodes pumilum* como un componente bioactivo junto con la naringina y el octacosano, mostrando acción antioxidante y propiedades de curación de heridas en ratas diabéticas (Balachandran *et al*., 2023).

El dodecametil-ciclohexasiloxano, también ha sido identificado en un extracto etanólico de *Cola nitida,* que presentó actividad antifúngica eficaz en el tratamiento de infección por hongos (Mebude y Adeniyi, 2017). También ha sido utilizado en productos de cuidado personal, antitranspirantes y antifúngicos de acuerdo con el informe de Adeniyi *et al*. (2016). Recientemente, el dodecametil-ciclohexasiloxano fue identificado en el extracto metanólico de raíces de *Chenopodium quinoa*. Dicho extracto presentó un fuerte potencial antifúngico contra el patógeno más dañino que habita en el suelo, *Macrophomina phaseolina*. Al someter las fracciones obtenidas del extracto a análisis por CG-EM se reveló la presencia de siete fitoconstituyentes antifúngicos incluido el dodecametil-ciclohexasiloxano (Khan y Javaid, 2023).

Asimismo, el tetradecametil 1-cicloheptasiloxano, fue identificado como parte de los compuestos antimicrobianos presentes en *Streptomyces celluloflavus*, una bacteria que ha sido aislada del suelo en Japón (Nguyen y Cao, 2022).

Por otro lado, el 1, 1, 3, 3, 5, 5, 7, 7, 9, 9, 11, 11, 13, 13,15, 15-Hexadecametil octasiloxano ha sido identificado en varias especies vegetales, como *Ficus capensis* y *Justicia secunda*, utilizadas en la preparación de un té ingerible (Uchegbu *et al*., 2023); en el extracto obtenido de éter de petróleo y cloroformo de hojas y semillas de *Canavalia gladiata* (More *et al*., 2022) y en el extracto metanólico de hojas secas de *Chenopodium album* y *Stellaria media* (Chak *et al*., 2021) se detectó actividad antimicrobiana y antioxidante.

Por otra parte, en la fracción de acetato de etilo de F13 (F13-1B), se identificó la presencia del hidroxitolueno butilado, uno de los antioxidantes sintéticos más utilizados y reconocido como seguro para su uso en alimentos, productos farmacéuticos, productos derivados del petróleo, caucho e industrias petroleras (Cantú-Valdéz *et al*., 2020; Yehye *et al*., 2015).

5.3.3.3. Análisis fitoquímico de F15

A continuación, se presentan los resultados obtenidos del análisis por CG-EM de la fracción de acetato de etilo de F15. El cromatograma obtenido (Figura 5.5) mostró señales en t_R de 8 a 32 min, presentando un total de 22 señales. Se observaron dos señales principales con t_R de 11.156 y 12.212.

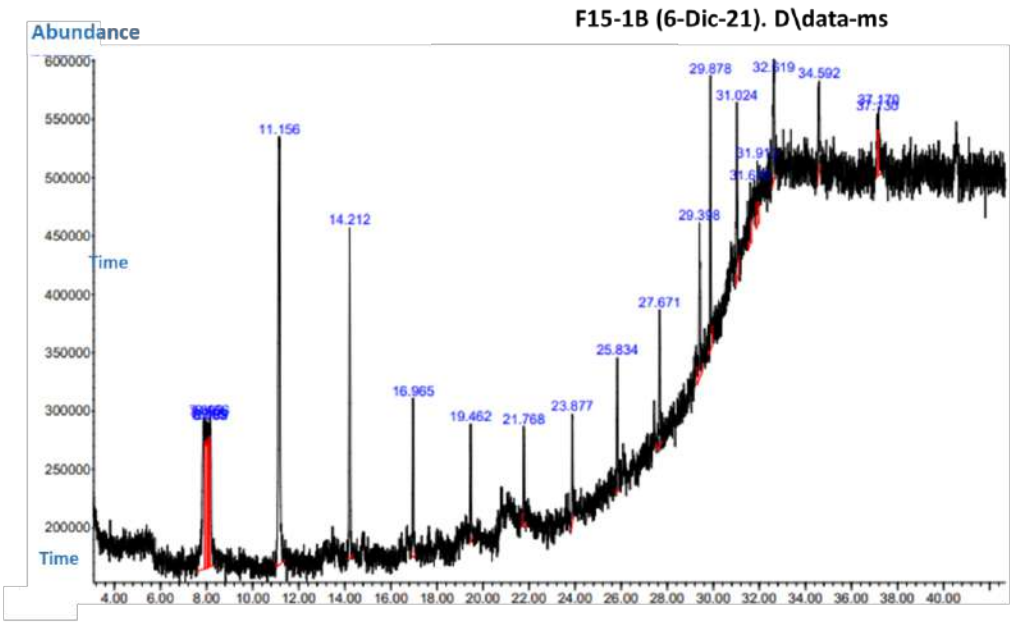


Figura 5.5. Cromatograma de CG-EM de F15. Fracción de acetato de etilo (F15-1B).

El análisis de las muestras condujo a la identificación y cuantificación de cinco compuestos con un porcentaje de similitud superior al 80%, según la base de datos del NIST del equipo Agilent Technologies 7890A (Tabla 5.4). Aunque se pudieron identificar varios componentes de la formulación, los componentes arrojar un porcentaje de similitud muy bajo, por lo que no se registran en la Tabla 5.4. Se espera realizar análisis adicionales para conocer la identidad de dichos compuestos.

Tabla 5.4. Composición química de la formulación F15.

Muestra	Nombre	Similitud (%)	t_R (min)	Abundancia relativa (%)
F15-1B	Dodecametil-ciclohexasiloxano	90	7.946	7.11
	Tetradecametil 1-cicloheptasiloxano	81	11.154	19.80
	Éster octílico del ácido isoftálico y 2-bifenilo	80	29.880	6.41
	Octasiloxano, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9, 11,11,13,13,15,15-hexadecametilo	86	34.593	3.13
	4-Nitro-4'-clorodifenilsulfóxido	80	37.171	2.11

Fracción de acetato de etilo de F15 = F15-1B.

Los compuestos dodecametil-ciclohexasiloxano, tetradecametil 1-cicloheptasiloxano y éster octílico del ácido isoftálico y 2-bifenilo son conocidos como siloxanos y también fueron identificados en la formulación F13, estando presentes en varias especies vegetales, presentando propiedades antifúngicas, antimicrobianas y antioxidantes.

A pesar de la búsqueda realizada, del éster octílico del ácido isoftálico y 2-bifenilo, compuesto químico que pertenece a la familia de los ácidos dicarboxílicos aromáticos y ésteres no se encontró información disponible relativa a su actividad biológica. Sin embargo, los ésteres tienen diversas aplicaciones, utilizándose ampliamente en la industria, y también tienen diversas aplicaciones farmacológicas debido a sus propiedades. Algunas de las propiedades farmacológicas de los ésteres incluyen: anestésicas, inhibidores de enzimas, antiinflamatorios, antieméticos y vasodilatadores (Nesterkina y Kravchenko, 2017).

Por otra parte, el 4-nitro-4'-clorodifenilsulfóxido es un compuesto químico que pertenece a la familia de los derivados de bifenilo y ha sido identificado en el extracto etanólico de *Citrullus colocynthis.* Debido a que no es un compuesto ampliamente estudiado, la información específica sobre sus propiedades y aplicaciones es limitada (Ahmed *et al.*, 2020). Los sulfóxidos en general pueden tener diversas aplicaciones. En la síntesis orgánica y en la industria farmacéutica, algunos de ellos han demostrado tener actividad biológica y propiedades útiles en diferentes campos (Huang *et al.*, 2020).

5.4. DISCUSIÓN

La formulación F9 se destacó por su composición química y los metabolitos identificados, que no sólo mejoran sus cualidades cosméticas, sino que también aportan entendimiento sobre su actividad biológica y potencial para formulaciones similares. Estas investigaciones citadas respaldan su uso en la medicina tradicional y la industria cosmética. Los ácidos grasos, en auge en cosmética y cuidado personal, ofrecen beneficios únicos para la piel y el cabello, respaldados por estudios como el de Yoon *et al*. (2018), lo que impulsa una conexión entre ciencia y belleza, fomentando la innovación en la salud cutánea y capilar.

La composición química de la formulación F13 y las investigaciones sobre sus metabolitos son importantes, porque la descripción de estos elementos le añade valor a la fórmula. La presencia de antioxidantes y otros ingredientes biológicamente activos es señalada como clave para entender la actividad biológica de la formulación. Sin embargo, sería enriquecedor conocer más sobre los tipos específicos de antioxidantes y otros componentes activos presentes en la formulación F13, así como sus beneficios particulares para la piel o el cabello.

Las formulaciones F13 y F15 revelaron una composición química que incluye compuestos conocidos como siliconas cíclicas, caracterizados por distintos tamaños de cadena y grupos metilo unidos a átomos de silicio. Estos compuestos comparten propiedades similares, lo que los convierte en valiosos ingredientes tanto para aplicaciones industriales como en el cuidado personal. Su versatilidad ha sido respaldada por el estudio de Mojsiewicz-Pieńkowska *et al*. (2016). Estas siliconas cíclicas ofrecen un potencial considerable en la mejora de productos cosméticos y también en otros sectores industriales, aunque sería enriquecedor proporcionar ejemplos concretos de sus aplicaciones y las propiedades que les otorgan estas ventajas. En conjunto, ambas formulaciones representan oportunidades prometedoras para innovación y beneficio en una variedad de campos.

También es posible que los metabolitos identificados de las formulaciones provengan de sinergismos entre los extractos vegetales (Isnindar *et al*., 2020; Williamson, 2001). Se ha considerado que los compuestos se pueden complementar entre sí, dando mayor potencia a la formulación. Esta colaboración entre los componentes pudiera resultar en una mejora significativa de la actividad terapéutica, superando a la acción individual de cada extracto.

También es posible la hipótesis de que se formen nuevos componentes activos debido a las condiciones específicas en las que se preparan las mezclas. Esto sugiere que las interacciones químicas y las condiciones de extracción podrían llevar a la creación de moléculas únicas con propiedades terapéuticas adicionales.

También es crucial destacar la particular importancia de los disolventes en las extracciones fitoquímicas de las formulaciones, así como en el proceso de aislamiento, identificación y evaluación de la actividad biológica de los metabolitos presentes en los extractos herbales.

CAPITULO VI

ESTABLECIMIENTO DE UN PROTOCOLO DE TOXICIDAD DÉRMICA AGUDA

6.1. INTRODUCCIÓN

En las comunidades indígenas mayas se siguen utilizando en mayor o menor medida las plantas medicinales. Los curanderos mayas preparan y recomiendan combinaciones de plantas para tratar diferentes trastornos de la piel. Los preparados son recetados tomando en cuenta ciertas recomendaciones que incluyen el modo específico de preparación, el tipo de tejido y la parte usada de la planta, la forma de uso y la permanencia. El conocimiento de los curanderos se ha generado con el paso del tiempo a prueba y error, reconociendo especies que al ser utilizadas de manera equivocada pueden ocasionar efectos indeseables, e incluso la muerte.

El simple pensamiento de que todas las plantas medicinales son seguras para el consumo es arriesgado, ya que los investigadores han descubierto que los compuestos de ciertas plantas pueden provocar toxicidad (Saleem *et al*., 2017; Azubike *et al*., 2015). Para prever nuestra actitud frente a los casos de intoxicación de forma transdermal (a través de la piel), son necesarias las evaluaciones de la toxicidad de extractos herbales usado en la medicina tradicional maya (Ajose, 2007).

Por estas circunstancias, podemos inferir, que algunas de los preparados herbales que se usan para tratar trastornos en la piel, son potencialmente tóxicos. Por ejemplo, el estudio químico de la formulación F15 reveló la presencia de siloxanos. Si bien hasta ahora las formulaciones estudiadas no tienen reportes de toxicidad, es imperativo que se establezcan protocolos para evaluarla ya que algunos siloxanos pueden tener toxicidad (Mojsiewicz-Pieńkowska *et al*., 2016).

En el estado de Yucatán, las formulaciones a base de plantas medicinales prácticamente no están validadas científicamente y “se desconoce si son seguras y eficaces” por lo que deben ser empleadas con cautela.

La toxicidad cutánea se refiere a los efectos adversos que pueden ocurrir cuando una sustancia entra en contacto con la piel. Los efectos de la toxicidad dérmica pueden variar

desde una irritación leve, como enrojecimiento o picazón, hasta daños más graves, como quemaduras o reacciones alérgicas (Karimi *et al*., 2015).

La toxicidad dérmica puede estar influenciada por varios factores que afectan la capacidad de una sustancia para causar daño a la piel. Algunos de estos factores incluyen: la naturaleza química y física de la sustancia, su concentración, el tiempo durante el cual la piel está en contacto con la sustancia, la rapidez de la absorción y la condición de la piel en el área de contacto, el pH de la sustancia, el tamaño de la partícula y la sensibilidad individual (De Paz *et al*., 2015).

También las sustancias pueden clasificarse según su toxicidad dérmica en diferentes categorías, dependiendo de los efectos que produzcan en la piel. Algunas de las clasificaciones más comunes son las siguientes: no irritante dérmico (que no causan irritación en la piel después de una exposición aguda), irritante dérmico (que causan enrojecimiento, hinchazón, descamación o picazón después de una exposición aguda), sensibilizante dérmico (que pueden provocar una reacción alérgica en la piel) y corrosivo dérmico (que causan daño grave y destrucción de la piel después de una exposición aguda) (Pratt, 2002).

La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD) y otras agencias reguladoras de salud y medio ambiente han desarrollado directrices y pruebas estandarizadas para evaluar la toxicidad dérmica y para garantizar la seguridad de las personas y el medio ambiente frente a la exposición a diversas sustancias químicas y materiales (OECD, 2023; Casati *et al*., 2018).

Existen varios métodos para la evaluación de la toxicidad dérmica utilizados en estudios de laboratorio. Algunos de los métodos más comunes son los siguientes:

1. Prueba de Irritación Cutánea (OECD 402): se lleva a cabo en animales, como conejos, para evaluar el potencial de irritación dérmica aguda de una sustancia. Se aplica la sustancia en la piel intacta o afeitada y se observa y registra cualquier reacción cutánea, como enrojecimiento, hinchazón o descamación (Padilla-Camberos *et al*., 2022).

2. Prueba de Sensibilización Cutánea (Método de Buehler): generalmente se realiza en conejos, y tiene como objetivo evaluar la capacidad de una sustancia para causar sensibilización cutánea. Implica la aplicación repetida de la sustancia en la piel y la posterior observación de reacciones alérgicas (Gilmour *et al*., 2020).

3. Prueba de Penetración Cutánea (*in vitro*): este método in vitro evalúa la capacidad de una sustancia para penetrar a través de la barrera cutánea y alcanzar las capas más profundas de la piel. Se utilizan células o tejidos de piel reconstituida en un sistema de laboratorio para realizar la evaluación (Zsikó *et al*., 2019).

Es importante destacar que se están desarrollando cada vez más métodos alternativos *in vitro* que reducen o eliminan la necesidad de pruebas en animales para la evaluación de toxicidad dérmica. Estos métodos son más éticos y permiten un mayor ahorro de tiempo y recursos.

La directriz de la OCDE 402 define la toxicidad cutánea aguda como un conjunto de efectos adversos observados en un período corto después de la aplicación cutánea de una dosis única de una sustancia de ensayo. Para la toxicidad dérmica subaguda, la directriz 410 de la OCDE considera que una sustancia de prueba es tóxica cuando es probable que surjan riesgos potenciales para la salud debido a exposiciones repetidas a la sustancia de prueba por vía cutánea durante un período limitado. Para ambos estudios, la observación de cualquier cambio físico y de comportamiento en los animales de experimentación es crucial, mientras que la evaluación de las alteraciones de los parámetros sanguíneos y el examen histológico de la piel y órganos vitales seleccionados son importantes en particular para el estudio de la toxicidad subaguda, donde la evaluación de los compuestos tóxicos presentes en los productos vegetales aplicados sobre la piel durante un período prolongado podría evaluarse minuciosamente (Reduan *et al*., 2020; OECD, 2002).

Para llevar a cabo adecuadamente los experimentos se requieren seres vivos. ¿Por qué las tecnologías de evaluación *in vitro* aún no han reemplazado a la evaluación *in vivo*? porque la mayor limitante es que las metodologías para medir la toxicidad *in vitro* no están completamente aceptadas por la comunidad científica y la comunidad regulatoria; pues es imposible simular por completo la complejidad de un ser vivo, ya que se tendría que tener un cultivo para ver el efecto en cada célula del cuerpo y no se tendría la posibilidad de saber cómo el daño en un grupo de células puede afectar a otro grupo. También habría que pensar en cómo medir la toxicidad crónica, el cambio de peso, ¿cómo observar la recuperación de las células después de recibir un daño? Y lo más difícil será ¿cómo extrapolar los resultados a un cuerpo vivo? (Calder *et al*., 1990). Finalmente, todas estas cuestiones se resuelven de forma más económica, exacta y aceptable para publicaciones con el uso racional de seres vivos. Además, para un producto ingerible o tópico para uso humano, la toxicidad *in vivo* debiera ser un análisis ineludible por norma (EFSA, 2009).

Para el cuidado del uso adecuado de los seres vivos para experimentación existen los comités de bioética, un grupo multidisciplinario de expertos que se encargan de revisar y dictaminar los protocolos de investigación científica que involucren a seres humanos o animales. Trabajar con los comités de bioética y responder a sus comentarios y sugerencias mejora la calidad y la integridad de la investigación y fortalece la confianza en los resultados obtenidos (Das y Sil, 2017).

Existen algunos reportes de estudios de especies que componen las formulaciones que hemos registrado, sin embargo, no hay reportes que estudien la toxicología de las plantas participantes y los registros encontrados que se hayan evaluado de forma oral. Al no existir datos sobre toxicidad, establecer un protocolo de toxicidad dérmica es esencial para garantizar la seguridad y la calidad de las formulaciones, proteger a los consumidores y cumplir con las regulaciones y normativas establecidas. Además de contribuir al avance de la ciencia y la mejora continúa de las formulaciones de la medicina tradicional.

6.2. MATERIALES Y MÉTODOS

El diseño experimental para el establecimiento de un protocolo de toxicidad dérmica para la evaluación de formulaciones utilizadas en la medicina tradicional maya se presenta en la Figura 6.1.

La investigación bibliográfica abarcó buscadores en línea y bases de datos científicas. La búsqueda de información se realizó utilizando los siguientes términos y palabras clave para obtener resultados relevantes: “protocolo de toxicidad dérmica aguda”, “irritación cutánea”, “sensibilización cutánea”, “prueba de irritación cutánea”, “prueba de sensibilización cutánea”, “evaluación de la toxicidad dérmica en animales”, “normas y regulaciones de toxicidad dérmica” y “evaluación de seguridad de productos para el cuidado de la piel”,

El protocolo se desarrolló a partir de la prueba de Toxicidad Dérmica aguda OECD 402: 2017 que proporciona información sobre los riesgos para la salud de la exposición a corto plazo de un producto químico de prueba por vía dérmica. Para las clasificaciones de las sustancias se tomó en cuenta lo establecido por el Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (GHS, por su acrónimo en inglés).

También se realizó una investigación exhaustiva sobre las regulaciones y directrices establecidas por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) y los requisitos éticos y de protección a los participantes establecidos por los comités de Bioética.

De igual forma, se realizaron consultas de protocolos de investigación en bases científicas que incluyeron PubMed, Scopus, Web of Science y Google Scholar. Los artículos de toxicidad dérmica consultados se clasificaron utilizando diferentes criterios para organizar la información y facilitar la búsqueda de estudios específicos.

En los artículos consultados se prestó especial atención al tipo de estudio desarrollado (modelos de piel), tipo de sustancia utilizada (productos químicos, medicamentos y extractos herbales), tipo de efecto (irritación dérmica, sensibilización dérmica y corrosión dérmica), y al objeto de estudio (protocolos y artículos que presentan los resultados de estudios previos de toxicidad dérmica).

Los comités de bioéticas participantes fueron: el comité de bioética del Centro Regional de Investigaciones “Dr. Hideyo Noguchi” de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY) y el comité de bioética del Colegio de Postgraduados campus Montecillo (COLPOS).

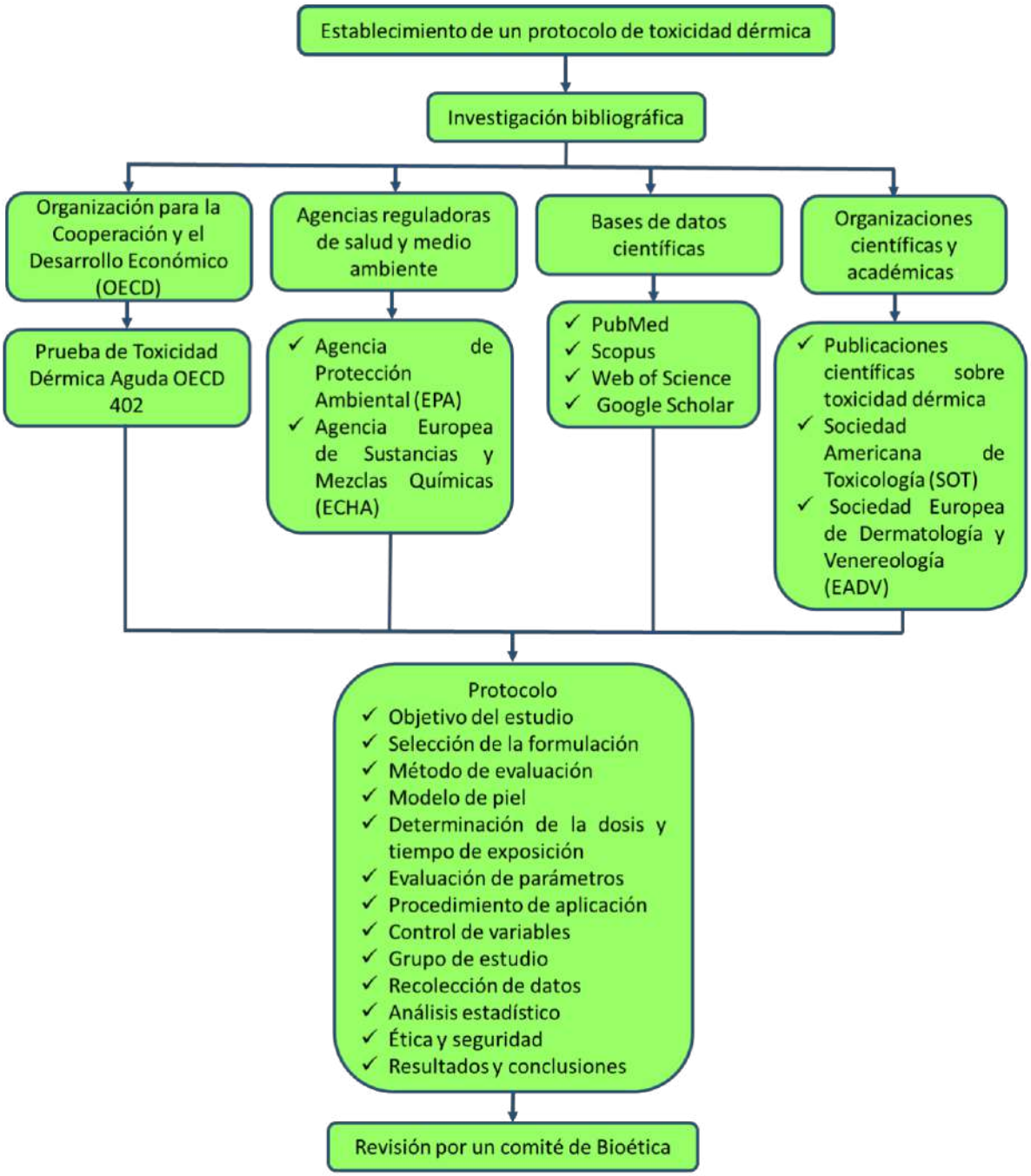


Figura 6.1. Diseño experimental para el establecimiento de un protocolo de toxicidad dérmica para la evaluación de formulaciones utilizadas en la medicina tradicional maya.

6.3. RESULTADOS

En PubMed se registraron 929 resultados referentes a artículos científicos que incluyen el término “toxicidad dérmica aguda”; en Google Scholar, fueron 206,000 resultados, lo que evidencia un aumento en la investigación sobre toxicidad dérmica aguda en los últimos años. Esta tendencia se debe a varios factores: al desarrollo de métodos de investigación más precisos y sofisticados para evaluar la toxicidad dérmica aguda, a una mayor preocupación por la seguridad de los productos que entran en contacto con la piel, al aumento de los requisitos para la aprobación y comercialización de productos químicos y a la creciente popularidad de productos naturales y a base de hierbas.

A continuación, y como resultado de la búsqueda, se presenta el protocolo de toxicidad dérmica aguda que ha sido sometido y corregido por el comité de bioética de la Universidad Autónoma de Yucatán (CIR-UADY) y actualmente se encuentra sometido a revisión por el comité de bioética del Colegio de Postgraduados campus Montecillo (COLPOS). Este protocolo tiene como objetivo la evaluación de formulaciones utilizadas en la medicina tradicional maya para el tratamiento de problemas cutáneos.

6.3.1. Formatos que solicita el Comité

Por lo general los comités de bioética solicitan dos formatos, uno para el comité interno para el uso y cuidado de animales de laboratorio (CICUAL) y otro para el comité de ética en investigación (CEI). Cada comité solicita diferentes datos para sus registros y evaluaciones. Los formatos incluyen un resumen ejecutivo del proyecto donde se describe con amplios detalles la parte experimental, la hipótesis y los objetivos del estudio, mientras que la introducción y antecedentes del proyecto son muy breves.

6.3.2. Formato administrativo

Número de protocolo_____

Fecha de recepción del protocolo: 6 de junio de 2023.

Título del protocolo

PROTOCOLO UNICO PARA DETERMINACION DE TOXICIDAD CUTANEA DE FORMULACIONES MEDICINALES EN RATONES BALB/c

Investigador responsable del proyecto[1]

Nombre: Dr. Israel Castillo Juárez.

Laboratorio de Investigación y Aplicación de Fitoquímicos Bioactivos, Posgrado en Botánica. Campus y Programa de Posgrado: Montecillo, Posgrado en Botánica.

Firma:

Teléfono fijo/Teléfono móvil: 01 595 9520200 ext. 1300/5524317723.

Correo electrónico institucional o personal: israel.castillo@colpos.mx

Persona que realizará la investigación (indicar: estudiante, personal académico: categoría)

Estudiante de maestría del Posgrado en ciencias biológicas del CICY

Estudiante de Doctorado del Posgrado en ciencias biológicas del CICY

Nombre: Biol. Brandon Arturo Gual Orozco/ M. en C. Zurisadai Escobar Chan

Mar Anabel Pérez Povedano/ Laureni Ferrer Lino

Correo electrónico: bran_gual@outlook.com; zurisadaiescobar@hotmail.com. perezpovedanomaranabel@gmail.com; laureni.ferrer@cicy.mx.

Teléfono fijo/Teléfono móvil: 01 595 9520200 ext. 1300/552441481781

01 999 9428330/9991 940748

Fecha de inicio del proyecto

Dia:1 Mes: Julio Año:2023

Fecha tentativa para concluir el proyecto:

Dia:1 Mes: Diciembre Año:2023

[1]El *responsable del proyecto* debe ser en el caso de estudiantes el Profesor consejero.

Figura 6.2. Formato administrativo de protocolo de toxicidad dérmica.

6.3.3. Protocolo para el uso de animales en investigación y tesis

Para evitar que el protocolo sea condicionado o rechazado, es importante conocer claramente el diseño del experimento y el manejo adecuado de los animales de laboratorio (Figura 6.3).

PROTOCOLO PARA EL USO DE ANIMALES EN INVESTIGACIÓN Y TESIS
Mencione brevemente el objetivo y describa el experimento
En México, el conocimiento médico tradicional se ha transmitido por generaciones y sigue desempeñando un papel muy importante en los cuidados de la salud y por ello en el CICY, se han realizado trabajos de la flora peninsular con enfoques fitoquímicos, farmacológicos y afines, sin embargo, el estudio de las formulaciones herbolarias de los yerberos para el tratamiento de enfermedades aún está iniciando. Afortunadamente, en la península de Yucatán se ha conservado una buena parte del conocimiento ancestral acerca de las plantas. A partir de la investigación de validación de formulaciones antidisentéricas de la medicina tradicional maya-yucateca y el análisis de las actividades biológicas contra algunos agentes causantes (Vera-Ku *et al*., 2010), en nuestro equipo de trabajo ha existido un creciente interés en respaldar el conocimiento de formulaciones usadas para tratar afecciones dermatológicas, ya que la incidencia de estas afecciones es elevada en la población. Actualmente, y derivado del estudio etnobotánico realizado por nuestro grupo, se obtuvo información de más de 100 especies vegetales y más de 20 pociones herbolarias tradicionales mayas usadas para tratar padecimientos cutáneos, respiratorios y gastrointestinales que son utilizados por la población como remedio para sus problemas de salud. Dichas formulaciones no han sido evaluadas para conocer su toxicidad, y dado que se trata de remedios que la población consume regularmente, consideramos de crucial importancia su evaluación para la validación de su no-toxicidad con el fin de respaldar y preservar las prácticas de los médicos tradicionales y proveer evidencia de que sus medicinas son seguras (o no), utilizando un protocolo estandarizado y aprobado por un comité de bioética. Dicho protocolo será utilizado todas las veces que se requiera evaluar la toxicidad oral aguda de formulaciones tradicionales o extractos de plantas medicinales.

En esta ocasión se evaluarán tres formulaciones tradicionales usadas para enfermedades cutáneas.

Los resultados derivados de este trabajo sustentarán (o no) el uso seguro de las formulaciones tradicionales mayas y contribuirán al desarrollo del estudio científico y sistemático de la medicina tradicional maya-yucateca.

Referencias:

1. Draize, J. H. (1944). Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. J. Pharmacol. Exp. Ther., 82, 377-390.

2. Roux, S., Sablé, E., & Porsolt, R. D. (2004). Primary Observation (Irwin) Test in Rodents for Assessing Acute Toxicity of a Test Agent and its Effects on Behavior and Physiological Function. Curr Protoc Pharmacol, 27. https://doi.org/doi:10.1002/0471141755.ph1010s27.

Hipótesis 1

Sí los preparados medicinales se usan para el tratamiento de enfermedades cutáneas, entonces es posible que no sean tóxicos en piel.

Objetivo general

Evaluar la toxicidad cutánea de preparados medicinales tradicionales usados contra padecimientos de la piel.

Objetivos específicos

1. Establecer un protocolo único para la evaluación de formulaciones de aplicación cutánea.
2. Evaluar la toxicidad dérmica aguda de las fórmulas usadas contra enfermedades cutáneas.

Para las pruebas de Toxicidad cutánea *in vivo* se utilizarán un total de 12 ratones de la cepa BALB/c hembras de entre 8 y 10 semanas de edad. Los animales serán empleados para las pruebas de toxicidad cutánea.

La distribución de los animales en los ensayos y grupo experimental será de la siguiente manera:

- 9 ratones de prueba
- 3 ratones para control

Los extractos serán preparados en el laboratorio según las instrucciones del médico tradicional, o se prepararán junto con el médico tradicional. Para todos los casos se ha pedido permiso por escrito a cada informante para el uso de sus conocimientos con fines de investigación. Las formulaciones se secarán por liofilización hasta obtener un peso constante y se conservarán en envases herméticos sellados en refrigeración (4 °C) hasta su uso. Esta prueba se realizará para establecer qué tan seguros son los extractos y confirmar que la actividad biológica es debida a los metabolitos activos y no debida a una toxicidad general. Se realizará la prueba de toxicidad cutánea utilizando una dosis de 2000 mg/Kg de peso, usando como vehículo solución salina o agua purificada, según la solubilidad de cada extracto. La formulación por evaluar será aplicada vía cutánea en dos partes del ratón (piel del dorso y oreja derecha). En el dorso se aplicará a una dosis del 100% del extracto en el 10% de la superficie dérmica del ratón, y en la oreja se aplicará una dilución de 10mg/µL del extracto. Se evaluarán los signos de toxicidad observando signos clínicos de irritación en piel e inflamación en oreja y dorso. Pasados los 14 días de observación los animales serán sacrificados humanitariamente y se evaluará, la función hepática mediante punción cardiaca y se observará si hubo daño en la piel y órganos internos mediante histopatología.

Tipo de estudio
Experimental

Duración del experimento con los animales vivos
15 días por ensayo

Justificación de la cantidad de los animales participantes en el estudio
Cantidad de animales en el estudio: Total 12 animales, 3 animales por condición. Dosis: 100%del extracto aplicado en el 10%de superficie de la piel. Justificación del uso: Para esta prueba solo se requerirán 12 ratones. Se considera que tres ratones por extracto de prueba son suficientes, dado que no existen reportes por parte del médico tradicional de alguna toxicidad de las formulaciones a evaluar. Consideramos innecesario causar la muerte de seis ratones para una prueba que se puede hacer con tres ratones.

En caso de transportar o movilizar a los animales, ¿cómo se realizará?
Se utilizarán ratones de la cepa BALB/c con edades comprendidas entre 4 a 6 semanas, obtenidos mediante compra en el Bioterio General de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México. Serán trasladados al Colegio de Postgraduados en jaulas de acrílico tamaño cría ratón con máximo 10 animales, con alimento (Laboratory rodent diet) y agua *ad libitum*. Los animales serán revisados visualmente a su llegada y serán transportados usando un vehículo particular con aire acondicionado, para protegerlos del calor y de los ruidos circundantes.

Sujetos de estudio

Especie	Cantidad	Rango de peso (Kg)	Rango de edad
BALB/c (hembras)	12	0.03 a 0.05	8 a 10 semanas
# de grupos experimentales		4	
# de animales por grupo:		3	
# total de animales:		12	

Describir características de alojamiento (tipo, dimensiones, número de animales por unidad de alojamiento, luz, tipo de alimentación y bebida, etc.) así como el tiempo que permanecerán en ese lugar.
Los animales serán alojados en un cubículo de bioterio con ciclos de luz/oscuridad de 12 h a 24 ± 2 °C, alimentados con alimento especial para roedor y agua ad libitum. El manejo de los animales será llevado a cabo de acuerdo con los lineamientos establecidos en la Norma Mexicana para el uso de animales de laboratorio (Norma Oficial Mexicana-062-ZOO-1999). Los animales tendrán un periodo de aclimatación de una semana antes de comenzar los experimentos, para disminuir el estrés, se les adicionará enriquecimiento físico mediante tubos de cartón y papel de baño sin olor. Las jaulas en las que se mantendrá a los animales son de acrílico transparente con tapas de acero inoxidable, distribuidor de comida y agua. Los animales serán alimentados ad libitum con dieta especial para roedores de la marca Harlan (2018-S, México) y se les administrará agua potable en frascos bebederos que serán lavados semanalmente. El material de cama será el Aspen Beta-Chip, el cual será cambiado semanalmente para la higiene de los animales. El bioterio cuenta con un sistema de aire acondicionado que permite mantener la temperatura (24 ± 2 °C) y la humedad (60-80%) dentro de límites confortables para los animales. También cuenta con un extractor de aire controlado automáticamente que renueva el aire periódicamente, favoreciendo la eliminación de los olores y gases nocivos (amoníaco) que pudieran generarse por la descomposición bacteriana de la orina y heces de los animales. La iluminación (menos de 100 lux) está por debajo de los límites que causan daño retiniano a los roedores. Dado que la actividad motora de los *Mus musculus* tiene variaciones circadianas, el sistema de iluminación está controlado por un reloj electromecánico que apaga y enciende las luces cada 12 horas (7 a.m. y 7 p.m.). Para el ensayo de toxicidad los animales serán alojados individualmente en jaulas cría-ratón (19 x 29 x 12 cm). Los ratones para emplear durante la evaluación de la toxicidad oral aguda serán mantenidos en bioterio durante 19 días (5 días previos al ensayo con el fin de favorecer su aclimatación y 14 días para el desarrollo de las pruebas y observaciones).

Describa el tipo de enriquecimiento animal o ambiental, si es que se dará a los animales:
Como enriquecimiento social los animales serán alojados en grupos de 3 durante el período de aclimatación y para la prueba se mantendrán en jaulas individuales. Como enriquecimiento físico ocupacional se les proporcionará tubos de cartón y papel sanitario libre de olor para hacer nido.

Encargado(s) del cuidado y manejo de los sujetos de estudio	
Nombre(s) completo(s)	Experiencia en el cuidado, manejo y salud de los animales (especialidad, diplomados, cursos, tiempo de experiencia, etc.)
Dr.Israel Castillo Juárez	Cuenta con más de 20 años en el desarrollo de modelos de infección en ratones. Sus estudios de licenciatura y posgrado, así como estancias posdoctorales han incluido esta clase de modelos.
Candidato a doctor José Luis Díaz Núñez	Estudiante de doctorado cuenta con la experiencia en el manejo y cuidado de los animales. En todo momento es supervisado por el Dr. Israel Castillo.

Descripción detallada y precisa de los procedimientos a realizar (toma de muestras, frecuencia y número de veces de muestreo)
Para evaluar la toxicidad dérmica aguda se seguirán los lineamientos de la OECD (2017), Test No. 402: Acute Dermal Toxicity, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. En el día 1 del período de prueba, las formulaciones se humedecerán con agua destilada y serán aplicadas a una dosis del 100% a los grupos de prueba en el 10% de la superficie de la piel del ratón previamente afeitada. Asimismo, una concentración de 10 mg/mL de cada extracto también serán aplicados a su respectivo grupo de prueba en la región ventral de la oreja izquierda, siendo la derecha el control sin tratamiento. El grupo control será tratado con el excipiente. De este modo, cada extracto será probado en dos regiones del ratón: dorso y oreja izquierda. Así se tendrán cuatro grupos: uno de control y tres de prueba.

Confinamiento o aislamiento por más de 20 días	No aplica
Sustancias químicas tóxicas	No aplica
Otros (especificar)	

Agentes analgésicos, anestésicos y/o tranquilizantes que se utilizarán				
Especie animal	Agente	Dosis	Vía de administración	Frecuencia de administración
BALBC/c (hembras)	Xilacina-ketamina presentación de 20/100 mg/mL.	10/100 mg/Kg	Intraperitoneal (día 15 para eutanasia).	

¿Cuáles parámetros se evaluarán para conocer el grado de anestesia o analgesia?
Inducción rápida de inconsciencia del animal. Ausencia de respuesta refleja principalmente a través de la comprobación del reflejo de pinzamiento podal y de la cola. Se prestará especial atención en la frecuencia respiratoria a través de la observación del movimiento de la pared torácica, el cese de la respiración, y del latido cardiaco.

En caso de llevar a cabo procedimientos invasivos como cirugías, ¿qué cuidados post-operatorios se tendrán? (utilización de antibióticos, analgésicos, limpieza y desinfección, estudios clínicos, etc.)
No aplica.

¿Qué medidas se tomarán con los animales que presenten complicaciones o deterioro en su salud a consecuencia del experimento?
Los animales serán inspeccionados diariamente para verificar la posible evolución de lesiones en la piel como llagas, ampollas, enrojecimiento, etc.; y para asegurar el buen estado físico de los individuos se pondrá especial atención en el mantenimiento del peso corporal, así como la visualización de la locomoción, aspecto del pelaje y consistencia de las heces. En caso de observar deterioro físico del animal como un 20% en la pérdida de peso, piloerección, deshidratación hasta de un 10% (evaluada mediante la técnica de pliegue cutáneo) o presencia de dolor por una ampolla o lesión cutánea, se procederá a la eutanasia de los animales.

Al finalizar la experimentación ¿cuál será el destino de los animales?
Al final de las evaluaciones se conservarán los órganos en formol al 10% para los estudios histológicos. Los cuerpos serán colocados en bolsas de plástico transparente y guardados en un congelador hasta su recolecta para envío a incineración. En apego a la NORMA Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002 Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo, para el desecho de residuos peligrosos biológico-infecciosos, en este caso residuos patológicos sólidos, los animales serán colocados en una bolsa de polietileno de color amarillo bajo los protocolos de la Faculta de Estudios Superiores-Iztacala.

Eutanasia o matanza (en el caso de que el procedimiento experimental exija la muerte del animal)
Se realizará anestesiando al animal y posteriormente se hará la dislocación cervical.

¿Por qué se requiere la muerte de los animales?
Debido a que para el ensayo de toxicidad aguda en piel, es necesaria la extirpación de la parte de la piel que estuvo en contacto con la formulación, así como los órganos internos (riñón, hígado, pulmón, bazo, corazón, cerebro y estómago) para hacer estudios histopatológicos en busca de señales de toxicidad a nivel de tejidos internos y cerebro. Por ello es necesario practicar la eutanasia de los animales.

Describir el método de muerte
Primero se aplicará anestesia y posteriormente se procederá a la dislocación cervical.

Personal responsable de la eutanasia o matanza
Dr. Israel Castillo Juárez y candidato a doctor José Luis Díaz Núñez

Instalaciones o establecimiento donde se llevará a cabo la eutanasia o matanza de los animales
Cuarto de experimentación animal del Edificio de Botánica del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.
He leído y llenado verazmente este formulario y me comprometo a conducir mi proyecto de investigación de acuerdo con el Reglamento para el uso y cuidado de animales destinados a la investigación en el Colegio de Postgraduados, y con los lineamientos éticos y humanitarios que rigen la experimentación con animales, así como cumplir los aspectos relativos al cuidado, manejo y uso de los animales.

Nombre y cargo:

Dr. Israel Castillo Juárez Investigador Conahcyt

Fecha: 6 de junio de 2023

Firma:

[2]para fines de este documento, se define *animal* como "todo vertebrado no humano: pez, anfibio, reptil, ave o mamífero.

Figura 6.3. Protocolo para el uso de animales e investigación y tesis.

6.4. DISCUSIÓN

La investigación en toxicidad dérmica aguda ha experimentado un impulso en los últimos años debido a los avances científicos, la conciencia sobre la seguridad de los productos, las regulaciones más estrictas y el creciente interés en productos naturales. Este enfoque en la seguridad y la salud del consumidor es fundamental para garantizar que los productos que entran en contacto con la piel sean seguros y no causen efectos adversos en la salud.

La incidencia de efectos adversos derivados de los productos a base de hierbas es menos frecuente cuando se utilizan adecuadamente en comparación con las drogas sintéticas comerciales (Karimi *et al*., 2015). Sin embargo, se ha informado efectos adversos de moderados a graves después del consumo de productos a base de hierbas en la mayoría de los casos, los cuales se auto recetaron, se compraron sin receta o se obtuvieron de fuentes no confiables (Ajose, 2007).

El establecimiento de un protocolo para la evaluación de toxicidad dérmica en formulaciones mayas es fundamental para tratar problemas de la piel. Algunos estudios han señalado ciertas formulaciones a base de hierbas como "potencialmente tóxicas", como el *Aloe vera*, eucalipto, alcanfor, henna, yohimbina y aceite graso de la fruta de *Pistacia lentiscus*, que han sido asociadas con dermatitis alérgica y dermatitis granulomatosa (Reduan *et al*., 2020). El protocolo ayudará a establecer dosis seguras y óptimas para el uso de estas formulaciones y garantizar la seguridad de los usuarios.

El protocolo que se presenta está siendo evaluado actualmente por el comité de bioética de COLPOS Montecillo. Sin embargo, previamente, este protocolo fue evaluado y corregido por el comité de bioética de la UADY, el cual lo rechazó por la observación de que hace falta infraestructura para desarrollar la prueba. En el proceso de la evaluación del protocolo se han obtenido diferentes puntos de vista, lo que puede conducir a una revisión más completa y detallada del estudio, que permitirá identificar diferentes aspectos del estudio que pueden necesitar mejoras o ajustes para el fortalecimiento de la integridad científica de este trabajo.

CAPITULO VII

DISCUSIÓN, CONCLUSIONES GENERALES Y PESPECTIVAS

7.1. DISCUSIÓN

La medicina tradicional maya, con su rica historia respaldada por fuentes coloniales y su vigencia contemporánea (Cahuich-Campos, 2015; CONAPO, 2015), se basa en una particular clasificación de objetos, seres vivos y no vivos, incluyendo medicamentos y enfermedades, en términos de sus atributos de "frío" y "calor", conceptos no ligados a la temperatura física, sino a una energía o cualidad difícil de definir (Ankli *et al*., 1999). Esta cosmovisión marca la diferencia en los padecimientos. Los problemas tildados como "fríos" o "frescos", como hinchazón, parálisis y ciertas imperfecciones, como el reumatismo, diarrea, cataratas y desmayos, se enfrentan de manera distinta a aquellos que sugieren una distribución deficiente de "calor" solar en el cuerpo, manifestados como afecciones cutáneas, como la sarna o los granos de fuego extremadamente pruriginosos, así como tumores supurantes y dolores de cabeza (Chávez-Guzmán, 2011).

Este enfoque se apoya en plantas medicinales que poseen cualidades especiales otorgadas por la divinidad solar (*kinam*), utilizadas para mitigar estas dolencias y otros problemas de salud (Chávez-Guzmán, 2011). Los resultados de esta tesis subrayan la significativa prevalencia de enfermedades cutáneas en la población maya. Estudios de registros coloniales arrojan luz tanto sobre las condiciones de vida y la higiene de los mayas como sobre el impacto patológico y social de enfermedades traídas por los españoles, como la viruela y el sarampión, a las cuales carecían de inmunidad (De Landa, 2020; Ochiai-Kazuyasu, 2006).

Estas historias antiguas recalcan la importancia de abordar las enfermedades cutáneas desde una perspectiva holística y culturalmente sensible, considerando factores higiénicos, medioambientales y los efectos del contacto con patologías desconocidas. La propagación de enfermedades infecciosas por los colonizadores españoles marcó un hito crucial en la historia de la salud maya, resaltando la importancia de contextualizar el estudio de afecciones cutáneas en esta comunidad, tomando en cuenta tanto su pasado histórico como las interacciones culturales (Chávez-Guzmán, 2011).

Por otra parte, el libro del Judío (Osado *et al*., 1834) revela más de 100 recetas para tratar una gama de afecciones cutáneas. Se emplean términos mayas específicos para describir diferentes tipos de dermatosis. Los diferentes términos para cada afección indican una observación detallada y comprensión precisa de los síntomas y características específicas de cada condición cutánea (Chávez-Guzmán, 2011). Este estudio etnobotánico recopiló información sobre más de 100 especies y 22 formulaciones herbales empleadas para combatir estas afecciones cutáneas. La validez de las prácticas tradicionales se corroboró mediante análisis etnohistórico, donde se confirmó la semejanza entre las formas de uso de las plantas medicinales y las prácticas ancestrales. Las preparaciones se aplican sólo tópicamente, utilizando infusiones, decocciones, jabones, cataplasmas y látex directo en la piel.

En este estudio se clasificaron las especies en función de su uso registrado mediante el Análisis de Componentes Principales (PCA), lo que permitió una evaluación objetiva y una visión de la combinación de múltiples hierbas y sus aplicaciones. Estudios similares en etnobotánica, basados en análisis estadísticos y multivariados, se están llevando a cabo globalmente para comprender mejor los conocimientos tradicionales y su pertinencia en la investigación contemporánea (Ahoyo *et al*., 2018; Dicko *et al*., 2017; Mathur-Manish, 2012).

Además, la evaluación de la actividad antimicrobiana de las formulaciones basada en ensayos de difusión y microdilución en caldo, reveló una alta actividad inhibitoria contra microorganismos patógenos comunes (Sánchez *et al*., 2016). La similitud de la actividad entre las formulaciones y los antifúngicos actuales sugiere potenciales compuestos terapéuticos. Por ejemplo, la anfotericina B y los imidazoles funcionan de manera respectiva al alterar la membrana citoplasmática del hongo o reducir la concentración de ergosterol (Thompson *et al*., 2009; Hamdan y Hahn, 2006).

Sin embargo, y a pesar de la información química, biológica y etnobotánica obtenida, aún quedan muchas preguntas por responder. ¿Cuántas formulaciones medicinales existen en México? ¿Cuántas existen por cada uno de los más de mil grupos étnicos mexicanos? ¿Qué porcentaje de todas esas formulaciones hemos validado?

Ralph Roys (1930) reporta más de 700 formulaciones de la etnobotánica maya. Nuestra evaluación de 22 formulaciones sólo representaría poco más del 3%, sin embargo, pocas de las formulaciones evaluadas se encuentran registradas en la etnobotánica de Roys, por lo que nos queda la pregunta ¿Cuántas formulaciones medicinales existen realmente?

7.2. CONCLUSIONES GENERALES

Tras llevar a cabo diversos análisis, se concluye que el objetivo general establecido en la tesis se ha alcanzado satisfactoriamente. Los resultados obtenidos constituyen un sólido fundamento para una ulterior exploración del potencial terapéutico de las formulaciones, encaminándose hacia su integración en la práctica clínica y en la medicina tradicional. La valiosa información derivada de este estudio contribuirá a la mejora de la salud cutánea y brindará opciones más seguras y eficaces para pacientes en busca de soluciones naturales respaldadas por evidencia científica para sus dolencias dermatológicas.

La mayoría de las especies investigadas cuentan con registros etnohistóricos, subrayando la urgente necesidad de conservar estos recursos esenciales y preservar el conocimiento tradicional vinculado a su preparación y uso en la atención primaria de la salud. Dado que las enfermedades cutáneas a menudo son ocasionadas por microorganismos como bacterias, virus y hongos, es esencial continuar con la exploración fitoquímica de los componentes activos en estas especies, acompañada por estudios de actividades biológicas y ensayos clínicos para demostrar su eficacia y seguridad en la terapia dermatológica. Estos esfuerzos poseen una relevancia global, ya que pueden conducir al desarrollo de tratamientos naturales y efectivos para una amplia gama de afecciones de la piel.

Sin embargo, y mucho más allá del resultado de la actividad biológica y el análisis químico, este estudio demuestra el gran vacío de conocimiento que existe respecto a la medicina tradicional maya, y la gran necesidad de atender y conservar, registrar, aprender y validar su conocimiento ancestral así como el de todos los grupos étnicos mexicanos. Con base en lo anterior, consideramos que apenas hemos empezado a rascar la superficie en ese inestimable campo de investigación y para entender la complejidad de la medicina tradicional maya que aún prevalece.

7.3. PERSPECTIVAS

Análisis de los componentes de las formulaciones activas con técnicas cromatográficas como TLC, HPLC y HPTLC, así como con técnicas de identificación y cuantificación recomendadas para el análisis de principios activos como CG-EM. Estos análisis permitirán caracterizar y cuantificar los componentes presentes en las formulaciones, lo que es esencial para comprender su composición y potencial actividad biológica.

Llevar a cabo estudios de toxicidad de las formulaciones más activas F3, F9, F13, F14 y F15. Estos estudios pueden incluir pruebas *in vitro* e *in vivo* para evaluar la toxicidad dérmica aguda y crónica, así como posibles efectos irritantes o sensibilizantes en la piel. La información obtenida a partir de estos estudios es crucial para establecer dosis seguras y determinar posibles efectos adversos asociados con el uso de las formulaciones.

Realizar pruebas de eficacia y actividad biológica de las formulaciones más activas. Estas pruebas pueden incluir la medición de la inhibición de la inflamación, la capacidad antimicrobiana, la estimulación de la cicatrización de heridas y otros parámetros relevantes para su aplicación tópica.

Considerar el impacto ambiental de las formulaciones a base de hierbas. Además de la seguridad para los seres humanos, es fundamental evaluar el impacto ambiental de las formulaciones, especialmente si contienen especies de plantas en peligro de extinción o se obtienen de recursos naturales sensibles. Un enfoque sostenible y responsable en la recolección y producción de estas formulaciones es esencial para preservar la biodiversidad y los ecosistemas naturales.

En conjunto, estas perspectivas enriquecerán la investigación y el desarrollo de la validación científica de formulaciones hechas con plantas, proporcionando una visión más completa de su composición, seguridad y eficacia para el tratamiento de problemas de la piel. Un enfoque integral que incluya análisis de componentes, estudios de toxicidad, pruebas de eficacia y consideraciones ambientales es clave para garantizar la calidad y la seguridad de estos productos.

REFERENCIAS GENERALES

Abbasi, A. M., Khan, M. A., Ahmad, M., Zafar, M., Jahan, S., & Sultana, S. (2010). Ethnopharmacological application of medicinal plants to cure skin diseases and folk cosmetics among the tribal communities of North-West Frontier Province, Pakistan. *Journal of Ethnopharmacology,* 128, 322-335.

Abubacker, M. N., & Deepalakshmi, T. (2013). In vitro antifungal potential of bioactive compound methyl ester of hexadecanoic acid isolated from *Annona muricata Linn* (Annonaceae) leaves. *Bioscience Biotechnology Research Asia,* 10(2), 879-884.

Adeniyi, B., Mebude, O., Lawal, T., & Nwanekwu, K. (2016). In-vitro antifungal activities of *Cola nitida Schott & Endl.* (Sterculiaceae) against five *Candida* species and four dermatophytes. *British Microbiology Research Journal,* 14(2), 1-8.

Ahmad, W., Zaidi, S. M. A., Mujeeb, M., Ansari, S. H., & Ahmad, S. (2013). HPLC and HPTLC methods by design for quantitative characterization and in vitro antioxidant activity of polyherbal formulation containing *Rheum emodi*. *Journal of Chromatographic Science,* 52(8), 911-918.

Ahmed, M., Peiwen, Q., Gu, Z., Liu, Y., Sikandar, A., Hussain, D., & Ji, M. (2020). Insecticidal activity and biochemical composition of *Citrullus colocynthis*, *Cannabis indica*, and *Artemisia argyi* extracts against cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae L.*). *Scientific Reports,* 10(1), 1-10.

Ahoyo, C. C., Houehanou, T. D., Yaoitcha, A. S., Prinz, K., Assogbadjo, A. E., Adjahossou, C. S., & Houinato, M. R. (2018). A quantitative ethnobotanical approach toward biodiversity conservation of useful woody species in Wari-Maro forest reserve (Benin, West Africa). *Environment, Development and Sustainability,* 20(5), 2301-2320.

Ajose, F. O. (2007). Some Nigerian plants of dermatologic importance. *International Journal of Dermatology,* 46, 48-55.

Al Bratty, M., Makeen, H. A., Alhazmi, H. A., Syame, S. M., Abdalla, A. N., Homeida, H. E., & Khalid, A. (2020). Phytochemical, cytotoxic, and antimicrobial evaluation of the fruits of miswak plant, *Salvadora persica L. Journal of Chemistry,* 2020, 1-11.

AlAmery, S. F., & AlGaraawi, N. L. (2020). Phytochemical profile and antifungal activity of stems and leaves methanol extract from the *Juncus maritimus Linn*. Juncaceae family against some dermatophytes fungi. In *AIP Conference Proceedings*, 2290(1), 020034.

Ali, A., Qadir, A., Khan, M. A., Al-Otaibi, F. O., Khan, S., & Abdin, M. Z. (2017). A simple validated HPTLC method for simultaneous analysis of colchicine and gallic acid in polyherbal formulation: *Habb-E-Irqun-Nisha*. *Food Analytical Methods,* 10(9), 2934-2942.

Almaguer, G., Garcia, R., Vargas, V., & Lugo, M. (2013). Dirección de Medicina Tradicional y Desarrollo Intercultural.

Alonso, C. A., Domínguez, C., Heras, J., Mata, E., Pascual, V., Torres, C., & Zarazaga, M. (2017). Antibiogramj: A tool for analyzing images from disk diffusion tests. *Computer Methods and Programs in Biomedicine,* 143, 159-169.

Anand, V., Gupta, S., Koundal, D., Nayak, S. R., Nayak, J., & Vimal, S. (2022). Multi-class skin disease classification using transfer learning model. *International Journal on Artificial Intelligence Tools*, 31(02), 2250029.

Andrade-Cetto, A. (2009). Ethnobotanical study of the medicinal plants from Tlanchinol, Hidalgo, México. *Journal of Ethnopharmacology,* 122, 163-171.

Anely, N. (2012). Medicinal plants from an old Bulgarian medical book. *Journal of Medicinal Plants Research,* 6(12), 2324–2339.

Ankli, A., Heinrich, M., Bork, P., Wolfram, L., Bauerfeind, P., Brun, R., & Sticher, O. (2002). Yucatec Mayan medicinal plants: evaluation based on indigenous uses. *Journal of Ethnopharmacology,* 79, 43-52.

Ankli, A., Sticher, O., & Heinrich, M. (1999). Medical ethnobotany of the Yucatec Maya: healers' consensus as a quantitative criterion. *Economic Botany,* 53(Saikia 2), 144-160.

Ankli, A., Sticher, O., & Heinrich, M. (1999a). Yucatec Maya medicinal plants versus nonmedicinal plants: indigenous characterization and selection. *Human Ecology,* 27, 557-580. https://doi.org/10.1023/A:1018791927215.

Anonymous. (2000). Drug resistance threatens to reverse medical progress. World Health Organization Bulletin, June 12, 1-4. http://www.who.int/inf-pr-2000/en/pr2000-41.html.

Aravind, S. G., Arimboor, R., Rangan, M., Madhavan, S. N., & Arumughan, C. (2008). Semi-preparative HPLC preparation and HPTLC quantification of tetrahydroamentoflavone as marker in *Semecarpus anacardium* and its polyherbal formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis,* 48(3), 808-813.

Arellano-Rodríguez, J. A. (2003). Nomenclatura, forma de vida, uso, manejo y distribución de las especies vegetales de la Península de Yucatán. Universidad Autónoma de Yucatán, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. ISBN 9706980385. Disponible en: https://www.worldcat.org/es/title/nomenclatura-forma-de-vida-uso-manejo-y-distribucion-de-las-especies-vegetales-de-la-peninsula-de-yucatan/oclc/175317471.

Arzápalo Marín, R. (2005). La ciencia médica del maya peninsular: Perspectivas sincrónica y diacrónica. *Península,* 1(0), 17-28.

Ashawat, M., Banchhor, M., Saraf, S., & Saraf, S. (2009). Herbal Cosmetics: "Trends in Skin Care Formulation". *Pharmacognosy Reviews,* 3(5), 82.

Atoche-Diéguez, C. E., Torres-Guerrero, E., López-González, R., & Arenas, R. (2016). Panorama epidemiológico de la cromoblastomicosis en el Centro Dermatológico de Yucatán. *Dermatología Revista Mexicana*, 60(6), 459-466.

Avocévou-Ayisso, C., Avohou, T. H., Omorou, M., Dessou, G., & Sinsin, B. (2012). Ethnobotany of *Pentadesma butyracea* in Benin: A quantitative approach. *Ethnobotany Research and Applications,* 10, 151-166.

Azalework, H. G., Sahabjada, A. J., & Md Arshad, T. M. (2017). Phytochemical investigation, GC-MS profile and antimicrobial activity of a medicinal plant *Ruta graveolens L.* from Ethiopia. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research,* 9(6), 29-34.

Azubike, N. C., Okwuosa, C. N., Achukwu, P. U., Maduka, T. C., & Chike, O. (2015). Acute toxicity and histopathological effects of crude aqueous extract of *Jatropha curcas* leaves in mice. *Research Journal of Medicinal Plant,* 9(7), 340-346.

Balachandran, A., Choi, S. B., Beata, M. M., Małgorzata, J., Froemming, G. R., Lavilla Jr, C. A., ... & Okechukwu, P. N. (2023). Antioxidant, wound healing potential and in silico assessment of naringin, eicosane and octacosane. *Molecules,* 28(3), 1043.

Balam, C., & Bolio, A. M. (1973). Libro de Chilam balam de chumayel. Universidad Nacional Autónoma de México.

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis,* 6(2), 71-79.

Balzarini, M., Bruno, C., Córdoba, M., Teich, I. (2015). Herramientas en el análisis estadístico multivariado. Escuela Virtual Internacional CAVILA. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina. URL:

https://www.researchgate.net/publication/286931204_Herramientas_en_el_Analisis_Estadistico_Multivariado.

Barbosa-Zamora, A., de la Herrán-Millán, P., & Bonifaz, A. (2017). Criptococosis cutánea: una revisión. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica,* 14(4), 330-341.

Bárcenas, A. L., Diéguez, C. A., Cerón, J., Domínguez, N. R., & Arenas, R. (2009). Epidemiología de la tiña de la cabeza en Yucatán. Estudio de 114 casos. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica,* 7(2), 87-90.

Barrera-Vázquez, A. (1999). Las fuentes para el estudio de la medicina nativa de Yucatán. *Revista Biomédica,* 10(4), 253-261.

Bartolomé, A. P., Villaseñor, I. M., & Yang, W. C. (2013). *Bidens pilosa* L. (Asteraceae): botanical properties, traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 340215.

Bascones-Martínez, A., & Pousa-Castro, X. (2011). Herpesvirus. *Avances en Odontoestomatología,* 27(1), 11-24.

Bentley, H. R., Henry, J. A., Irvine, D. S., Mukerji, D., & Spring, F. S. (1955). Triterpenoids. Part XXXII. cyclo laudenol, a triterpenoid alcohol from opium. *Journal of the Chemical Society* (Resumed), 596-602.

Bolognia, J. L., Schaffer, J. V., & Cerroni, L. (Eds.). (2018). *Dermatología*. Elsevier Health Sciences. 2(4).

Burgos-Pino, J., Gual-Orozco, B., Vera-Ku, M., Loría-Cervera, E. N., Guillermo-Cordero, L., Martínez-Vega, P. P., & Gamboa-León, R. (2023). Acute oral toxicity in BALB/c mice of *Tridax procumbens* and *Allium sativum* extracts and (3S)-16, 17-didehydrofalcarinol. *Journal of Ethnopharmacology,* 2023, 301: 115840.

Caamal-Fuentes, E. E., Peraza-Sánchez, S. R., Torres-Tapia, L. W., & Moo-Puc, R. E. (2015). Isolation and identification of cytotoxic compounds from *Aeschynomene fascicularis*, a Mayan medicinal plant. *Molecules,* 20(8), 13563-13574.

Cahuich-Campos, D. (2013). Los artrópodos utilizados en la medicina tradicional Maya mencionados en los libros de Chilam Balam de Chan Cah, Tekax y Nah e Ixil. *Etnobiología,* 11(2), 16-23.

Calder, W. A., Calder, L. L., & Fraizer, T. D. (1990). The hummingbird's restraint: a natural model for weight control. *Experientia*, 46, 999-1002.

Cantú-Valdéz, J. A., Gutiérrez-Soto, G., Hernández-Martínez, C. A., Sinagawa-García, S. R., Quintero-Ramos, A., Hume, M. E., & Méndez-Zamora, G. (2020). Mexican oregano essential oils as alternatives to butylated hydroxytoluene to improve the shelf life of ground beef. *Food Science & Nutrition,* 8(8), 4555-4564.

Canul, M. E. A., Rocher, C. C., Zapata, H. R., Trujillo, H. P., López, N. E., Gómez, A. P., & Espinosa, J. C. (2015). Cáncer de piel en Yucatán: un estudio epidemiológico de 10 años. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica,* 13(1), 7-12.

Cao, Y., Wang, L., Yu, X., & Ye, J. (2006). Development of the chromatographic fingerprint of herbal preparations Shuang–Huang–Lian oral liquid. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis,* 41(3), 845-856.

Carnevali, F. C. G., Tapia-Muñoz, J. L., de Stefano, R. D., & Morillo, I. R. (2010). Flora ilustrada de la Península de Yucatán: Listado florístico. Centro de Investigación Científica de Yucatán, AC Yucatán, México.

Casati, S., Aschberger, K., Barroso, J., Casey, W., Delgado, I., Kim, T. S., & Zuang, V. (2018). Standardisation of defined approaches for skin sensitisation testing to support regulatory use and international adoption: position of the International Cooperation on Alternative Test Methods. *Archives of Toxicology,* 92, 611-617.

Castañeda Sifuentes, R. Y. (2014). Comparación de tres índices de significancia. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/8795.

Castillo-Bautista, C. M., Torres-Tapia, L. W., Rangel-Méndez, J. A., Peraza-Sánchez, S. R., Cortés, D., Velasco, I., & Moo-Puc, R. E. (2019). Neuroprotective effect of Mayan medicinal plant extracts against glutamate-induced toxicity. *Journal of Natural Medicines,* 73(3), 672-678.

Cetina Chan, A., et al. (2015). Guía de la colección de Plantas Medicinales del Jardín "TSU'U KAAX U BU' TUNI TI TSAK" (El cerro de las medicinas). Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., Instituto para el Desarrollo de la Cultura Maya del Estado de Yucatán. Mérida, Yucatán, 123.

Ceylan, S., Cetin, S., Camadan, Y., Saral, O., Ozsen, O., & Tutus, A. (2019). Antibacterial and antioxidant activities of traditional medicinal plants from the Erzurum region of Turkey. *Irish Journal of Medical Science* (1971-) 188, 1303-1309.

Chak, P., Chaudhary, D., Jain, S., Soni, P., Jain, P. K., Dwivedi, J., & Sharma, S. (2021). Phytochemical and Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis of *Chenopodium album* and *Stellaria media*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences,* 83(6).

Chávez Guzmán, M. (2011). Médicos y medicinas en el mundo peninsular maya colonial y decimonónico. *Península*, 6(2), 71-102.

Chen, S. C., & Sorrell, T. C. (2007). Antifungal agents. *Medical Journal of Australia, 187*(7), 404.

Chiller, K., Selkin, B. A., & Murakawa, G. J. (2001). Skin microflora and bacterial infections of the skin. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings,* 6(3), 170-174.

Chuah, X. Q., Okechukwu, P. N., Amini, F., & Teo, S. S. (2018). Eicosane, pentadecane and palmitic acid: The effects in *in vitro* wound healing studies. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine,* 8(10), 490.

Cisneros-Pineda, O., Torres-Tapia, L. W., Gutiérrez-Pacheco, L. C., Contreras-Martín, F., González-Estrada, T., & Peraza-Sánchez, S. R. (2007). Capsaicinoids quantification in chili peppers cultivated in the state of Yucatan, Mexico. *Food Chemistry,* 104, 1755-1760.

CNDH. Comisión Nacional de los Derechos Humanos (2018). https://www.cndh.org.mx/. [Acceso 5 agosto 2023].

Cock, I. E., & Van Vuuren, S. F. (2020). A review of the traditional use of southern African medicinal plants for the treatment of fungal skin infections. *Journal of Ethnopharmacology,* 251, 112539.

Colop, L. E. S. (1999). *Popol wuj: versión poética kiche'*. Cholsamaj Fundacion.

CONAPO. Datos abiertos del índice de marginación 2015. URL: http://www.conapo.gob.mx/es/CONAPO/Datos_Abiertos_del_Indice_de_Marginacion.

Concha, C. F., de Stefano, D., & Ramírez Morillo, I. M. (2010). Flora ilustrada de la Península de Yucatán listado florístico (No. Y/581.97265 F5). Disponible en: https://www.cicy.mx/sitios/flora%20digital/documentos/Listado_floristico.pdf.

Cook, R. J., & Farewell, V. T. (1995). Conditional inference for subject-specific and marginal agreement: Two families of agreement measures. *Canadian Journal of Statistics,* 23, 333–344.

Corell-Vilata, J. J. (2006). *Micosis cutáneas*. Madrid, España: Ed. Médica Panamericana.

Cuidate Plus (2021). Hongos https://cuidateplus.marca.com/enfermedades/enfermedades-del-pie/hongos.html.

Dahanukar, S. A., Kulkarni, R. A., & Rege, N. N. (2000). Pharmacology of medicinal plants and natural products. *Indian Journal of Pharmacology,* 32, 81–118.

Das, N. K., & Sil, A. (2017). Evolution of ethics in clinical research and ethics committee. *Indian Journal of Dermatology,* 62(4), 373.

De La Garza, M., Portilla, M. L., & Recinos, A. (Eds.). (1992). *Literatura maya*. Fundacion Biblioteca Ayacuch. 57.

De Landa, Diego (1938). *Relación de las Cosas de Yucatán*. México, editorial Pedro Robredo.

De las Mercedes Rodríguez, L. (2015). Etnobotánica maya: Algunas plantas de uso medicinal en estomatología. *Revista ADM,* 72(1).

de Oliveira Júnior, R. G., Ferraz, C. A. A., Silva, M. G., de Lavor, É. M., Rolim, L. A., de Lima, J. T., Fleury, A., Picot, L., Quintans, J.S.S., Almeida J.R. & Quintans Junior, L. J. (2017). Flavonoids: Promising natural products for treatment of skin cancer (melanoma). In Badria, F. A. (Ed.), *Natural Products and Cancer Drug Discovery*, 2017, 161-210.

Dearborn, Frederik. M. (1999). *Enfermedades de la piel*. B. Jain Publishers.

De-la-Cruz H., G. Vilcapoma, P. A. Zevallos. (2007). Ethnobotanical study of medicinal plants used by the Andean people of Canta, Lima, Peru. *Journal of Ethnopharmacology,* 111, 284-294.

Diar, A., Enas, J., Ekbal, A. K., & Ali, A. S. (2005). Qualitative and quantitative investigations of furocoumarin derivatives (psoralens) of *Haplophyllum tuberculatum* (Rutaceae). *Al-Mustansiriyah Journal of Pharmaceutical Sciences,* 2(2), 24-36.

Diario de Yucatán (2022). Yucatán, 2o. lugar nacional en dermatitis atópica: qué la causa y qué se puede hacer. https://www.yucatan.com.mx/central-9/2022/9/1/yucatan-2o-lugar-nacional-en-dermatitis-atopica-que-la-causa-que-se-puede-hacer-344111.html.

Dicko, A., Biaou, H. S. S., Natta, A. K., & Gouwakinnou, G. (2017). Quantitative ethnobotany of *Lophira lanceolata* Tiegh. ex Keay (Ochnaceae) in Benin (West Africa). *International Journal of Biological and Chemical Sciences,* 11(3), 1236-1253.

Dokubo, A., Obomanu, F. G., Ebere, N., & Ndukwe, G. I. (2021). Chemical constituents and larvicidal properties of n-hexane extract of *Parinari excelsa* seeds. *Annual Research & Review in Biology*, 14-23.

Draize, J. H. (1944). Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics,* 82, 377-390.

Echevarría-Keel, J., Villela-Segura, U., Proy-Trujillo, H., Moreno-Coutiño, G., & Eljure-López, N. (2020). Multiple leiomyomas and their clinical associations, a 10-year experience from a dermatological center of Yucatan. *Dermatología Revista Mexicana,* 64(1), 3-7.

Eskinazi, D. P., & Jobst, K. A. (1996). National institutes of health office of alternative medicine-food and drug administration workshop on acupuncture. *Journal of alternative and complementary medicine (New York, NY), 2*(1), 3-6.

Espichán Jáuregui, F. F. (2014). Aislamiento y caracterización de compuestos activos anti-helicobacter pylori a partir de la planta *Otholobium Mexicanum* (LF) JW Grimes. . Disponible en: https://hdl.handle.net/20.500.12866/1323.

Estrada-Castillón, E., Soto-Mata, B. E., Garza-López, M., Villarreal-Quintanilla, J. Á., Jiménez-Pérez, J., Pando-Moreno, M. & Cotera-Correa, M. (2012). Medicinal plants in the southern region of the State of Nuevo León, México. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine,* 8(1), 1-13.

European Food Safety Authority (EFSA). (2009). Guidelines on submission of a dossier for safety evaluation by the EFSA of active or intelligent substances present in active and intelligent materials and articles intended to come into contact with food. *EFSA Journal*, 7(8), 1208.

Fariñas, M. C., Fernández-Sampedro, M., & Armiñanzas, C. (2012). Formas clínicas y tratamiento de las infecciones causadas por otros hongos filamentosos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica,* 30(7), 414-419.

Fitzpatrick, Thomas. B. (2009). *Dermatología en medicina general*. Ed. Médica Panamericana.

Gaoue, O. G., Coe, M. A., Bond, M., Hart, G., Seyler, B. C., & McMillen, H. (2017). Theories and major hypotheses in ethnobotany. *Economic Botany,* 71, 269-287.

Garribo, G. T. P. (2016). Estudio etnofarmacológico de la flora medicinal empleada por los médicos tradicionales mayas para el tratamiento de la diabetes en el estado de Yucatán. Tesis de doctorado. Centro de Investigación Científica de Yucatán.

Garza-González, E., Perez-Perez, G. I., Maldonado-Garza, H. J., & Bosques-Padilla, F. J. (2014). A review of Helicobacter pylori diagnosis, treatment, and methods to detect eradication. *World Journal of Gastroenterology: WJG,* 20(6), 1438.

Geck, M. S., Cristians, S., Berger-Gonzalez, M., Casu, L., Heinrich, M., & Leonti, M. (2020). Traditional herbal medicine in Mesoamerica: toward its evidence base for improving universal health coverage. *Frontiers in Pharmacology,* 11, 1160.

General Directorate of University Repositories. UNAM. (2019). UNAM Institutional Repository. https://repositorio.unam.mx. [Acceso 2 julio 2023].

Germosén Robineau, L., García González, M., Morón, F., Costaguta, M., Delens, M., Olmedo, D. & Peguero, B. (2017). *Farmacopea Vegetal Caribeña*. http://repositorio.colciencias.gov.co:80/handle/11146/22069.

Giday, M., Asfaw, Z., Elmqvist, T., & Woldu, Z. (2003). An ethnobotanical study of medicinal plants used by the Zay people in Ethiopia. *Journal of Ethnopharmacology,* 85(1), 43-52.

Gilmour, N., Kern, P. S., Alépée, N., Boislève, F., Bury, D., Clouet, E., and Klaric, M. (2020). Development of a next-generation risk assessment framework for the evaluation of skin sensitisation of cosmetic ingredients. *Regulatory Toxicology and Pharmacology,* 116, 104721.

González Dueñas, L. F. (2023). Sustancias naturales con actividad antimicrobiana y/o antibiofilm del extracto etanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) frente a *Pseudomonas aeruginosa*. https://ciencia.lasalle.edu.co/biologia/158.

González, Jarvis. Y. T. (2006). Uso tradicional de plantas medicinales en la vereda San Isidro, municipio de San José de Pare-Boyacá: un estudio preliminar usando técnicas cuantitativas. *Acta Biológica Colombiana,* 11(2), 137-146.

Goodwin-Meredith (2021). *MedicalNewsToday*. Síntomas, causas y tratamiento para el herpes. https://www.medicalnewstoday.com/articles/es/323873#tratamiento, [Consultado el 7 de julio de 2023].

Granato, D., Santos, J. S., Escher, G. B., Ferreira, B. L., & Maggio, R. M. (2018). Use of principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) for multivariate association between bioactive compounds and functional properties in foods: A critical perspective. *Trends in Food Science & Technology,* 72, 83-90.

Grande-Tovar, C., Araujo-Pabón, L., Flórez-López, E., & Aranaga-Arias, C. (2021). Determinación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de residuos de mora (*Rubus glaucus* Benth). *Informador Técnico,* 85(1), 64-82.

Griffin, S. G., Markham, J. L., & Leach, D. N. (2000). An agar dilution method for the determination of the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of Essential Oil Research,* 12(2), 249-255.

Gubelin, H. W., de la Parra, C. R., & Giesen, F. L. (2011). Micosis superficiales. *Revista Médica Clínica Las Condes,* 22(6), 804-812.

Hamdan, J. S., & Hahn, R. C. (2006). Antifungal drugs for systemic mycosis: an overview of mechanism of action and resistance. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry (formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Infective Agents),* 5(4), 403-412.

Hassan, A., & Ullah, H. (2019). Antibacterial and antifungal activities of the medicinal plant *Veronica biloba*. *Journal of chemistry,* 2019, 1-7.

Hay, R., Bendeck, S. E., Chen, S., Estrada, R., Haddix, A., McLeod, T., & Mahé, A. (2006). Skin diseases. *Disease Control Priorities in Developing Countries. 2and edition. Washington (DC): The International Bank for Reconstruction and Development / The World Bank*.

Heinrich, M., Ankli, A., Frei, B., Weimann, C., & Sticher, O. (1998). Medicinal plants in Mexico: healers' consensus and cultural importance. *Social Science & Medicine,* 47(12), 1859-1871.

Heinze-Krauss, I., Angehrn, P., Charnas, R. L., Gubernator, K., Gutknecht, E. M., Hubschwerlen, C., & Winkler, F. (1998). Structure-based design of β-Lactamase inhibitors. 1. Synthesis and evaluation of bridged monobactams. *Journal of Medicinal Chemistry*, 41, 3961-3971.

Hernández F., I. Ochoterena. (1942). Historia de las plantas de Nueva España, Volumen 1. Translated by J. Rojo. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología, México. http://www.ibiologia.unam.mx/plantasnuevaespana/prologo.html. [Consultado el 2 de septiembre de 2021]

Hernández, B., Lorena, Y., Atoche Diéguez, C., Eljure López, N., & Vega Memije, M. E. (2018). Foliculitis por *Malassezia spp.*: características clínicas y epidemiológicas de pacientes del Centro Dermatológico de Yucatán. *Scientia fungorum,* 47, 67-71.

Hernández-Bolio G. I., L. M. Peña-Rodríguez. (2018). NMR Identification of Biologically Active Natural Products: Strategies and Challenges. In *Natural Products as Source of Molecules with Therapeutic Potential*, 2018962876, 465-494.

Heywood V. H. (1993). Flowering Plants of the World. Oxford Univ. Press. New York, USA.

Himanshu, S., & Ashwani, K. (2011). Ethnobotanical studies on medicinal plants of Rajasthan (India): A review. *Journal of Medicinal plants research,* 5(7), 1107-1112.

Höft, M., Barik, S. K., & Lykke, A. M. (1999). Quantitative ethnobotany. Applications of multivariate and statistical analyses in ethnobotany. *People and Plants working Paper,* 6, 1-49.

Hon, K., Lee, V. W., Leung, T. F., Lee, K. K., Chan, A. K., Fok, T. F., & Leung, P. C. (2006). Corticosteroids are not present in a traditional Chinese medicine formulation for atopic dermatitis in children. *Annals-Academy of Medicine Singapore,* 35(11), 759.

Huang, L., Zhu, X., Zhou, S., Cheng, Z., Shi, K., Zhang, C., & Shao, H. (2021). Phthalic acid esters: Natural sources and biological activities. *Toxins,* 13(7), 495.

Huang, S. H., Wu, C. H., Chen, S. J., Sytwu, H. K., & Lin, G. J. (2020). Immunomodulatory effects and potential clinical applications of dimethyl sulfoxide. *Immunobiology,* 225(3), 151906.

INPI (2020). Sistema Nacional de Información y Estadística sobre los Pueblos y Comunidades Indígenas y Afromexicanas, con base en: INEGI. Censo de Población y Vivienda, México. Muestra censal 2020, microdatos. https://www.inpi.gob.mx/indicadores2020/.[Consultado el 4 de septiembre de 2021].

Instituto Nacional de los Pueblos Indígenas (2020). Atlas de los pueblos indígenas de México. http://atlas.inpi.gob.mx/. [Consultado el 10 de julio de 2023].

Intriago, L. F. Z., Allauca, M. P. B., Rodríguez, N. J. M., & Romero, E. J. (2015). Estudio etnobotánico de plantas medicinales utilizadas por los habitantes del área rural de la Parroquia San Carlos, Quevedo, Ecuador. *Universidad y Salud,* 17(1), 97-111.

Isnindar, I., & Luliana, S. (2020). Synergism of antioxidant activity combination of buas-buas (*Premnaserratifolia* Linn.), meniran (*Phyllanthusniruri* L.), secang

(*Caesalpiniasappan*) and roselle (*Hibiscus sabdarifa*) extracts. *Majalah Obat Trad,* 25(3), 140-145.

Jain, P. S., Patel, M. K., Bari, S. B., & Surana, S. J. (2012). Development and validation of HPTLC method for simultaneous determination of amlodipine besylate and metoprolol succinate in bulk and tablets. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences,* 74(2), 152.

Jamshidi-Kia, F., Lorigooini, Z., & Amini-Khoei, H. (2018). Medicinal plants: Past history and future perspective. *Journal of Herbmed Pharmacology, 7*(1), 1-7.

Jesionek, W., Majer-Dziedzic, B., & Choma, I. M. (2015). Separation, identification, and investigation of antioxidant ability of plant extract components using TLC, LC-MS, and TLC–DPPH. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies,* 38(11), 1147-1153.

Jia, S., Shen, M., Zhang, F., & Xie, J. (2017). Recent advances in *Momordica charantia*: functional components and biological activities. *International Journal of Molecular Sciences,* 18(12), 2555.

Jug, U., Glavnik, V., Kranjc, E., & Vovk, I. (2018). HPTLC-densitometric and HPTLC–MS methods for analysis of flavonoids. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies,* 41(6), 329-341.

Karimi, A., Majlesi, M., & Rafieian-Kopaei, M. (2015). Herbal versus synthetic drugs; beliefs and facts. *Journal of Nephropharmacology,* 4(1), 27.

Karimkhani, C., Dellavalle, R. P., Coffeng, L. E., Flohr, C., Hay, R. J., Langan, S. M., & Naghavi, M. (2017). Global skin disease morbidity and mortality: an update from the Global Burden of Disease Study 2013. *JAMA Dermatol,* 153(5), 406-412.

Khan, I. H., & Javaid, A. (2023). Antifungal potential of *Chenopodium quinoa* root extract against *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. *Allelopathy Journal,* 58(1), 60-70.

Kim, T., Song, B., Cho, K. S., & Lee, I. S. (2020). Therapeutic potential of volatile terpenes and terpenoids from forests for inflammatory diseases. *International journal of molecular sciences*, 21(6), 2187.

Kingston C., S. Jeeva, G. M. Jeeva, S. Kiruba, B. P. Mishra, D. Kannan. (2009). Indigenous knowledge of using medicinal plants in treating skin diseases in Kanyakumari district, Southern India. *Indian Journal of Traditional Knowledge, 8*, 196-200.

Kleinman, K., McDaniel, L., & Molloy, M. (2021). *Manual Harriet Lane de Pediatría: Manual para residentes de pediatría*. Elsevier Health Sciences.

Ko, T. F., Weng, Y. M., & Chiou, R. Y. Y. (2002). Squalene content and antioxidant activity of *Terminalia catappa* leaves and seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 50(19), 5343-5348.

Kowalska-Krochmal, B., & Dudek-Wicher, R. (2021). The minimum inhibitory concentration of antibiotics: Methods, interpretation, clinical relevance. *Pathogens,* 10(2), 165.

Kumar, N. K., & Dua, P. K. (2016). Status of regulation on traditional medicine formulations and natural products: Whither is India?. *Current Science,* 111(2), 293-301.

Kunow, M. A. (2003). Maya Medicine: Traditional Healing in Yucatan. UNM Press.

Leirana-Alcocer, J. L., Hernández-Betancourt, S., Salinas-Peba, L., & Guerrero-González, L. (2009). Cambios en la estructura y composición de la vegetación relacionados con los años de abandono de tierras agropecuarias en la selva baja caducifolia espinosa de la Reserva de Dzilam, Yucatán. *Polibotánica,* (27), 53-70.

Leonti M., O. Sticher, M. Heinrich. (2003). Antiquity of medicinal plant usage in two macro-Mayan ethnic groups (Mexico). *Journal of Ethnopharmacology,* 88 (2-3), 119-124.

Li, D., Peng, W., Ge, S., Mo, B., Zhang, Z., & Qin, D. (2014). Analysis on active molecules in *Populus nigra* wood extractives by GC-MS. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences,* 27(6), 2061-65.

Lin, R., Tian, J., Huang, G., Li, T., & Li, F. (2002). Analysis of menthol in three traditional Chinese medicinal herbs and their compound formulation by GC-MS. *Biomedical Chromatography,* 16(3), 229-233.

Lucía, C. P. A., Jacqueline, B. R., Alberto, B. R. L., David, B. A., & Beatriz, R. A. (2021). Actualized inventory of medicinal plants used in traditional medicine in Oaxaca, Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine;* 17(1), 1-15.

Mabona, U., Viljoen, A., Shikanga, E., Marston, A., & Van Vuuren, S. (2013). Antimicrobial activity of southern African medicinal plants with dermatological relevance: from an ethnopharmacological screening approach, to combination studies and the isolation of a bioactive compound. *Journal of Ethnopharmacology,* 148(1), 45-55.

Martín, C. P., Rebolledo, S. E., Yoisura, S. V., & Larqué-Saavedra, A. (2020). Las plantas de los libros sagrados mayas: *Popol Vuh* (*Pop Wuj*) y *Chilam Balam*. Universidad Nacional Autónoma de México.

Martín-Aragón, S., & González, J. B. (2004). Antimicóticos dermatológicos: revisión. *Farmacia profesional,* 18(7), 38-48.

Mateos de la Higuera J (2022). La escritura jeroglífica de los antiguos Mayas. https://historia.nationalgeographic.com.es/a/escritura-jeroglifica-antiguos-mayas_18579 [Consultado el 11 de julio de 2023].

Mathur, M. (2012). Use of quantitative ethnobotany for assessing potential and conservation priorities of the Indian Thar desert medicinal plants claimed for central nervous disorders. *Medicinal Plants: International Journal of Phytomedicine and Related Industries,* 4(3), 143-153.

Mebude, O. O., & Adeniyi, B. (2017). GC-MS analysis of phyto components from the stem bark of *Cola nitida* Schott & Endl. *Journal of Plant Sciences,* 5(4), 99-103.

Méndez González, M., García, D., Argáez, B., Sánchez, P., Euan, D., Muñoz, T., & Luiscoaut, J. (2012). Flora medicinal de los mayas peninsulares (No. CY/581.634097265 F4).

Méndez M., R. Durán, S. Campos, A. Dorantes. (2010). Usos de la biodiversidad, Flora medicinal: In: *Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán*. Edited by R. Durán and M. Méndez. Pp. 349-352. CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA, Yucatán, México. https://www.cicy.mx/sitios/biodiversidad-y-desarrollo-humano-en-yucatan.

Méndez-González M. E., W. M. Torres-Avilez, A. Dorantes-Euán, R. Durán-García. (2014). Medicinal gardens in Yucatan: an alternative for the conservation of the medicinal flora of the Maya. *Mexican Phytotechnic Magazine,* 37(2), 97-106.

Micozzi, Marc. S. (2018). *Fundamentals of Complementary, Alternative, and Integrative Medicine-E-Book*. Elsevier Health Sciences.

Mojsiewicz-Pieńkowska, K., Jamrógiewicz, M., Szymkowska, K., & Krenczkowska, D. (2016). Direct human contact with siloxanes (silicones)–safety or risk part 1. Characteristics of siloxanes (silicones). *Frontiers in pharmacology,* 7, 132.

Mok, D. K., & Chau, F. T. (2006). Chemical information of Chinese medicines: A challenge to chemist. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems,* 82(1-2), 210-217.

Molina-Salinas G. M., J. Bórquez, A. Ardiles, S. Said-Fernández, L. A. Loyola, A. Yam-Puc, L. M. Peña-Rodríguez. (2010). Bioactive metabolites from the *Andean flora*. Antituberculosis activity of natural and semisynthetic azorellane and mulinane diterpenoid Sivagnaname ds. *Phytochemistry reviews,* 9(2), 271-278.

More, K., Tayade, S., Gawande, P., Manik, S., & Shelke, D. (2022). Antioxidant and antimicrobial potential of *Canavalia gladiata* (Jacq.) DC. leaves and seeds: GC-MS based metabolic profiling. *Indian Journal of Natural Products and Resources (IJNPR)* [Formerly Natural Product Radiance (NPR)], 13(2), 163-169.

Morgado-Carrasco, D., Piquero-Casals, J., & Podlipnik, S. (2022). Tratamiento de la escabiosis. *Atencion primaria,* 54(3), 102231.

Morley, S. and Sharer, R. (1994). *The ancient Maya*. Stanford University Press.

Mwine, J. T., P. Van Damme. (2011). Why do Euphorbiaceae tick as medicinal plants? A review of Euphorbiaceae family and its medicinal features. *Journal of Medicinal Plants Research,* 5, 652-662.

Nagula, R. L., & Wairkar, S. (2019). Recent advances in topical delivery of flavonoids: A review. *Journal of controlled release,* 296, 190-201.

Nava F. (2008). Programa de revitalización, Fortalecimiento y Desarrollo de las Lenguas Indígenas Nacionales, 2008-1012, INALI. IEPSA, Instituto Nacional de Lenguas Indígenas. México. 2008. URL: https://www.inali.gob.mx/pdf/PINALI-2008-2012.pdf.

Navarro-Céspedes J. M., Casas-Cardoso J. M., E. González-Rodríguez. (2010). Main Component Analysis and Regression Analysis for categorical data. Application in HTA. *Revista de Matemáticas: Teoría y aplicaciones, 17*, 199-230. Disponible en: https://doi.org/10.15517/rmta.v17i2.2128.

Nesterkina, M., & Kravchenko, I. (2017). Synthesis and pharmacological properties of novel esters based on monoterpenoids and glycine. *Pharmaceuticals,* 10(2), 47.

Nguyen, H. T., & Cao, D. N. (2022). Antimicrobial compounds of one *Streptomyces celluloflavus* strain isolated from can Gio mangrove soil, Vietnam. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences,* 19(3), 120-126.

Niquinga, G., & Margoth, L. (2009). Creación e introducción del manejo de la historia clínica, el parte diario y el concentrado mensual de medicina tradicional andina, en un servicio de salud del Ministerio de Salud Pública (Bachelor's thesis, Quito: USFQ).

Nogales-Gaete, J. (2004). Medicina alternativa y complementaria. *Revista chilena de neuro-psiquiatría,* 42(4), 243-250.

Noriega, J. Á. V., Hernández, G. B., & Quintana, J. T. (2017). Condicionantes de la satisfacción con la vida de los pueblos originarios en México. *Acta de investigación psicológica,* 7(3), 2783-2792.

Norouzi, N., Alizadeh, F., Khodavandi, A., & Jahangiri, M. (2021). Antifungal activity of menthol alone and in combination on growth inhibition and biofilm formation of *Candida albicans*. *Journal of Herbal Medicine,* 29, 100495.

Ocampo-Palacio, A., Castrillón-Spitia, J. D., Rivera-Echeverry, C. I., Londoño-Montes, J., Martínez-Betancur, S., & Machado-Alba, J. E. (2018). Prescripción de antibióticos en infecciones de piel y tejidos blandos en una institución de primer nivel. *Ces Medicina,* 32(1), 3-13.

OCDE. OCDEiLibrary, Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. French OECD, 2023. Disponible en: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects_20745788.

Ochiai Kazuyasu. (Ed.). (2006). *El mundo maya: miradas japonesas* (Vol. 1). UNAM.

Ochoa, J. J., & Ladio, A. H. (2011). Pasado y presente del uso de plantas silvestres con órganos de almacenamiento subterráneos comestibles en la Patagonia. *Bonplandia*, 265-284. URL: https://www.jstor.org/stable/41941399.

OECD, Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Human Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation, OECD Series on Testing and Assessment , No. 19 . Paris, OECD, 2002. Disponible en: https://doi.org/10.1787/9789264078376-en.

Ognbole, E., Daben, J. M., Dashak, D. A., Nvau, J. B., Ekwenchi, M. M., Ikyase, C., & Igweh, A. C. (2017). Chemical and Mass Spectra Analysis of Fractions Obtained from Methanol Leaf Extract of *Corymbia torelliana* with *Trypanosoma congolense* Effect. *New York Science Journal,* 10(5):60-75.

Oluwajobi, I., Kabiru, Y. A., & Jigam, A. A. (2019). Antibacterial and Antifungal activities of aqueous leaves extract of some medicinal plants. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences,* 9(1), 062-069.

Ortiz G., W. Aguilar-Cordero, R. R. Morales. (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, 67-89.

Osado, R., Steininger, G. R., J. Rafael de Regil C., & de Valladares, P. C. (1834). *Medicina domestica: y descripción de los nombres y virtudes de las yerbas indígenas de Yucatán y las enfermedades a que se aplican*. Xalapa, Veracruz: Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos.

Oso, B., & Ogunnusi, T. (2017). Antibacterial Activity of methanolic extracts of *Euphorbia heterophylla* and *Tithonia diversifolia* against some microorganisms. *European Journal of Medicinal Plants,* 20(3), 1-8.

Oyi, A. R., Onaolapo, J. A., & Adigun, J. O. (2002). Phytochemical and antimicrobial screening of the latex of *Jatropha curcas* Linn (*Euphorbiaceae*). *Journal of Phytomedicine and Therapeutics,* 1(1-2), 63-74.

Oyugi, D. A., Ayorinde, F. O., Gugssa, A., Allen, A., Izevbigie, E. B., Eribo, B., & Anderson, W. A. (2011). Biological activity and mass spectrometric analysis of *Vernonia amygdalina* fractions. *Journal of BioSciences and Technology,* 2(3), 287-304.

Padilla-Camberos, E., Juárez-Navarro, K. J., Sanchez-Hernandez, I. M., Torres-Gonzalez, O. R., and Flores-Fernandez, J. M. (2022). Toxicological Evaluation of Silver Nanoparticles Synthesized with Peel Extract of *Stenocereus queretaroensis*. *Materials,* 15(16), 5700.

Paek, S. Y., Koriakos, A., Saxton-Daniels, S., & Pandya, A. G. (2012). Skin diseases in rural Yucatan, Mexico. *International journal of dermatology,* 51(7), 823-828.

Pantoja Sánchez, A. J., Acha de la Cruz, O., & Collantes Díaz, I. E. (2021). Estudio de la variación de la composición química del aceite esencial de las partes aéreas de *Nasa ranunculifolia* (Kunth). *Revista de la Sociedad Química del Perú,* 87(2), 120-127.

Parasuraman, S., Thing, G. S., & Dhanaraj, S. A. (2014). Polyherbal formulation: Concept of ayurveda. *Pharmacognosy Reviews*, 8(16), 73.

Parthasarathy, S., Thiribhuvanamala, G., Subramanian, K., Paliyath, G., Jayasankar, S., & Prabakar, K. (2017). Volatile metabolites fingerprinting to discriminate the major post harvest diseases of mango caused by *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. and *Lasiodiplodia theobromae* Pat. *Annals of Phytomedicine,* 6(2), 55-62.

Patel, D. K., Patel, K., Duraiswamy, B., & Dhanabal, S. P. (2012). Phytochemical analysis and standardization of Strychnos nux-vomica extract through HPTLC techniques. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2, S56-S60.

Peña Kumul, M. S. (2020). *La medicina tradicional Mayaen Maxcanú, Yucatán: una aportación al desarrollo sustentable y la innovación social*.

Pérez Peña, J. (2003). Eficiencia en el uso de los medicamentos. *Revista Cubana de Farmacia,* 37(1), 0-0.

Phillips, O., & Gentry, A. H. (1993). The useful plants of Tambopata, Peru: I. Statistical hypotheses tests with a new quantitative technique. *Economic Botany,* 47(1), 15-32.

Prats-Guillem. (2006). *Microbiología clínica*. Madrid, España. Ed. Médica Panamericana.

Pratt, I. S. (2002). Global harmonisation of classification and labelling of hazardous chemicals. *Toxicology Letters,* 128(1-3), 5-15.

Preet, R., & Gupta, R. C. (2018). HPTLC Analysis of *Solanum xanthocarpum* Schrad. and Wendl., a Siddha Medicinal Herb. *Advances in pharmacological sciences, 2018*.

QI, Zhang. (2013). WHO Traditional Medicine Strategy. 2014-2023. Geneva: World Health Organization.

Rahmatullah, M., Hasan, A., Parvin, W., Moniruzzaman, M., Khatun, A., Khatun, Z., & Jahan, R. (2012). Medicinal plants and formulations used by the Soren clan of the Santal

tribe in Rajshahi district, Bangladesh for treatment of various ailments. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines,* 9(3), 350-359.

Raja, R. R. (2012). Medicinally potential plants of Labiatae (*Lamiaceae*) family: an overview. *Research journal of medicinal plant,* 6(3), 203-213.

Rajani, M., & Kanaki, N. S. (2008). Phytochemical standardization of herbal drugs and polyherbal formulations. In *Bioactive molecules and medicinal plants*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 349-369.

Rajkumar S., A. Jebanesan. (2008). Bioactivity of flavonoid compounds from *Poncirus trifoliata* L. (Family: Rutaceae) against the dengue vector, *Aedes aegypti* L. (*Diptera: Culicidae*). *Parasitology Research,* 104: 19-25.

Ram, M., Abdin, M. Z., Khan, M. A., & Jha, P. (2011). HPTLC fingerprint analysis: a quality control for authentication of herbal phytochemicals. *High-Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC)*, 105-116.

Ramírez, L. S., & Castaño, D. M. (2009). Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et technica,* 15(42), 263-268.

Rangel-Landa, S., Casas, A., García-Frapolli, E., & Lira, R. (2017). Sociocultural and ecological factors influencing management of edible and non-edible plants: the case of Ixcatlán, Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine,* 13(1), 1-43.

Reduan, F. H., Shaari, R. M., Sayuti, N. S. A., Mustapha, N. M., Abu Bakar, M. Z., Sithambaram, S., and Hamzah, H. (2020). Acute and subacute dermal toxicity of ethanolic extract of *Melastoma malabathricum* leaves in Sprague-Dawley rats. *Toxicological Research,* 36(3), 203-210.

Reich, E., & Schibli, A. (2007). *High-performance thin-layer chromatography for the analysis of medicinal plants*. Thieme.

Renganathan, S., Srivastava, A., & Pillai, R. G. (2020). Dhanwantaram kashayam, an ayurvedic polyherbal formulation, reduces oxidative radicals and reverts lipids profile towards normal in diabetic rats. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 22, 100755.

Revenga Arranz, F., Paricio Rubio, J. F., & Álvarez García, M. M. (2002). Parasitosis cutáneas. *Medicina integral (Ed. impr)*, 260-367.

Rivera-Yañez, C. R., Ruiz-Hurtado, P. A., Mendoza-Ramos, M. I., Reyes-Reali, J., García-Romo, G. S., Pozo-Molina, G., ... & Rivera-Yañez, N. (2021). Flavonoids present in propolis in the battle against photoaging and psoriasis. *Antioxidants,* 10(12), 2014.

Rodríguez J. (2020). Ven en extinción medicina maya. Disponible en: https://www.eluniversal.com.mx/estados/ven-en-extincion-medicina-maya/.[Consultado el 13 de julio de 2023].

Rodríguez-Hernández, A. A., Flores-Soria, F. G., Patiño-Rodríguez, O., & Escobedo-Moratilla, A. (2022). Sanitary Registries and Popular Medicinal Plants Used in Medicines and Herbal Remedies in Mexico (2001–2020): A Review and Potential Perspectives. *Horticulturae,* 8(5), 377.

Rong, J., Cheung, C. Y. H., Lau, A. S. Y., Shen, J., Tam, P. K. H., & Cheng, Y. C. (2008). Induction of heme oxygenase-1 by traditional Chinese medicine formulation ISF-1 and its ingredients as a cytoprotective mechanism against oxidative stress. *International Journal of Molecular Medicine,* 21(4), 405-411.

Roux, S., Sablé, E., & Porsolt, R. D. (2004). Primary Observation (Irwin) Test in Rodents for Assessing Acute Toxicity of a Test Agent and its Effects on Behavior and Physiological Function. *Current Protocols in Pharmacology, 27*. https://doi.org/doi:10.1002/0471141755.ph1010s27.

Roys, R. L. (1931). *The Ethnobotany of the Maya*. The Tulane University of Louisiana. Middle American Research Series Publication, 2, 213-316.

Sadia, H., Naveed, S., Rehman, H., Usman, R., Qamar, F., Yasmeen, S. & Razzaq, G. (2023). Toxicity profiling and antihyperuricemic activity of Goubion: A polyherbal formulation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2023.

Sagbo, I. J., Kola, E., & Otang-Mbeng, W. (2020). Phytochemical screening and gas chromatography-mass spectrometry analysis of ethanol extract of *Scambiosa columbabria* L. *Pharmacognosy Research,* 12, 35-9.

Saikia A. P., V. K. Ryakala, P. Sharma, P. Goswami, U. Bora. (2006). Ethnobotany of medicinal plants used by Assamese people for various skin ailments and cosmetics. *Journal of Ethnopharmacology,* 106: 149-157.

Saleem, U., Amin, S., Ahmad, B., Azeem, H., Anwar, F., and Mary, S. (2017). Acute oral toxicity evaluation of aqueous ethanolic extract of *Saccharum munja Roxb.* roots in albino mice as per OECD 425 TG. *Toxicology Reports,* 4, 580-585.

Sánchez Miranda, L., & Peña Rodríguez, J. (2016). Actividad antimicrobiana de cepas de *Lactobacillus spp.* contra patógenos causantes de mastitis bovina. *Revista de Salud Animal,* 38(2), 85-92.

Sánchez-Medina, A., García-Sosa, K., May-Pat, F., & Peña-Rodríguez, L. M. (2001). Evaluation of biological activity of crude extracts from plants used in Yucatecan Traditional Medicine Part I. Antioxidant, antimicrobial and β-glucosidase inhibition activities. *Phytomedicine,* 8(2), 144-151.

Santini, A., Cammarata, S. M., Capone, G., Ianaro, A., Tenore, G. C., Pani, L., & Novellino, E. (2018). Nutraceuticals: Opening the debate for a regulatory framework. British *Journal of Clinical Pharmacology*, 84(4), 659-672.

Scarpetta Ramírez, L. M. (2017). Phytochemical and ethnobotanical recognition of *Erythroxylum coca* in the Nasa population of the Department of Cauca–Colombia.

Seboletswe, P. S., Mkhize, Z., & Katata-Seru, L. M. (2019). HPTLC Fingerprint Profiling of *Protorhus longifolia* Methanolic Leaf Extract and Qualitative Analysis of Common Biomarkers. *International Journal of Materials and Metallurgical Engineering,* 13(12), 553-557.

Secretaria de salud (2017). Manual de Procedimientos de la Dirección General de Epidemiología. https://epidemiologia.salud.gob.mx [Acceso 6 agosto 2023].

SEGOB. (2014). Programa Especial de los Pueblos Indígenas 2014-2018. *Diario Oficial de la Federación*.

Siskos, E. P., Mazomenos, B. E., & Konstantopoulou, M. A. (2008). Isolation and identification of insecticidal components from *Citrus aurantium* fruit peel extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 56(14): 5577-5581.

Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Sistema único de información. Boletín epidemiologia. Semana 34, del 22 al 28 de agosto de 2010. http.//www.dgepi.salud.gob.mx/boletin/2010/sem34/index.htm.

Solórzano-Santos, F., & Miranda-Novales, M. G. (2012). Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology,* 23(2), 136-141.

Srivastava, M. (Ed.). (2010). *High-performance thin-layer chromatography (HPTLC)*. Springer Science & Business Media.

SSY, Servicios de Salud de Yucatán (2019). salud.yucatan.gob.mx [Consultado el 6 de agosto de 2023].

SSY-Secretary of Health of the State of Yucatan. Número de fallecimientos registrados en el estado mexicano de Yucatán en 2020, según las principales causas de mortalidad. URL: https://es.statista.com/estadisticas/650267/principales-causas-de-mortalidad-en-el-estado-de-yucatan/ 2019. [Acceso 2 septiembre 2021].

Standley, P. C., & Steyermark, J. A. (1946). *Flora of Guatemala*. Fieldiana (Botany), 24(Pt V). Available at https://www.biodiversitylibrary.org/item/19662#page/1/mode/1up.

Statista Research Department (2023). Principales causas de enfermedad en México en 2020, por número de casos (en miles) https://es.statista.com/estadisticas/1149318/principales-causas-enfermedad-mexico/ [Acceso 29 junio 2023].

Statista Research Department, (2022). Ranking de los países de la OCDE con mayor número de muertes por enfermedades de la piel y el tejido subcutáneo en 2019 [Acceso 30 junio 2023].

Spencer, R. C., & Grupo de Estudio Internacional. (1993). Susceptibilidad cruzada de aislados de las unidades de hematología/oncología y terapia intensiva a la cefpiroma y otros cuatro antibióticos beta-lactámicos. Scandinavian *Journal of Infectious Diseases*, 91, 1-59.

Suleiman, M. M., McGaw, L. I., Naidoo, V., & Eloff, J. (2010). Detection of antimicrobial compounds by bioautography of different extracts of leaves of selected South African tree species. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 7*(1).

Swanson, E. (2020). Morphology Of Primary And Secondary Skin Lesions. Dermatology Secrets E-Book.

Teixeira, T. S., Vale, R. C., Almeida, R. R., Ferreira, T. P. S., & Guimarães, L. G. L. (2017). Antioxidant potential and its correlation with the contents of phenolic compounds and flavonoids of methanolic extracts from different medicinal plants. *Revista Virtual de Química,* 9(4), 1546-1559.

Teklehaymanot, T. (2009). Ethnobotanical study of knowledge and medicinal plants use by the people in Dek Island in Ethiopia. *Journal of Ethnopharmacology,* 124, 69-78.

The Plant List. (2013). Version 1.1. http://www.theplantlist.org/. [Acceso 2 julio 2023].

Thiengsusuk, A., Chaijaroenkul, W., & Na-Bangchang, K. (2013). Antimalarial activities of medicinal plants and herbal formulations used in Thai traditional medicine. *Parasitology research,* 112(4), 1475-1481.

Thompson, G. R., Cadena, J., & Patterson, T. F. (2009). Overview of antifungal agents. *Clinics in chest medicine,* 30(2), 203-215.

Tropicos.org. (1982). Missouri Botanical Garden. http://legacy.tropicos.org/home.aspx?langid=66. [Acceso 2 julio 2023].

Tungmunnithum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A., & Yangsabai, A. (2018). Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. *Medicines,* 5(3), 93.

Uc-Cachón, A. H., de Jesús Dzul-Beh, A., Palma-Pech, G. A., Jiménez-Delgadillo, B., Flores-Guido, J. S., Gracida-Osorno, C., & 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, 114369.

Uchegbu, N. N., Fasuan, T. O., & Onuoha, N. L. (2023). Quantification of phytochemicals, and compounds' identification in functional tea from *Ficus capensis* and *Justicia secunda*. *Journal of Food Science,* 88(3), 1004-1018.

Uicab, G., y Juárez, M. (2017). Factores que determinan que las mujeres embarazadas de bajos recursos seleccionen el modelo de partería tradicional para la atención de su parto en zonas rurales del estado de Yucatán. URL: https://omm.org.mx/blog/factores-que-determinan-que-las-mujeres-embarazadas-de-bajos-recursos-seleccionen-el-modelo-de-parteria-tradicional-para-la-atencion-de-su-parto-en-zonas-rurales-del-estado-de-yucatan/. [Consultado el 6 de septiembre de 2023].

Upadhyay, B., Singh, K. P., & Kumar, A. (2010). Ethno-Medicinal, Phytochemical and Antimicrobial Studies of *Euphorbia tirucalli* L. *Journal of Phytology*. 2(4): 65-77.

Urzaiz-Jiménez, C. (2002). Los recursos terapéuticos empleados en la medicina antigua de Yucatán. *Revista biomédica,* 13 (1), 59-68.

Vega, M. (2016). Indígenas y salud. Aquí no hay clínicas, ni médicos, ni medicinas. https://panel.animalpolitico.com/indigenasysalud/aqui-no-hay-medico-ni-clinica-ni-medicinas.html [Consultado el 6 de julio de 2023].

Vega, M. (2016a). Indígenas y salud. No es discriminación, es un tema cultural, responde el gobierno. https://panel.animalpolitico.com/indigenasysalud/no-es-discriminacion-es-un-tema-cultural.html [Consultado el 6 de julio de 2023].

Vera-Ku, B. (2011). Analysis of the biological activity of an antidisenteric formulation of traditional Mayan medicine. Doctoral Centro de Investigación Científica de Yucatán. Repositorio Institucional del CICY. Disponible en: http://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1003/342.

Vera-Ku, M., M. Méndez-González, R. Moo-Puc, M. Rosado-Vallado, P. Simá-Polanco, R. Cedillo-Rivera, S. R. Peraza-Sánchez. (2010). Medicinal potions used against infectious bowel diseases in Mayan traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology,* 132, 303-308.

Vera-Ku, B. (2011). Análisis de la actividad biológica de una formulación antidisentérica de la medicina tradicional maya. Tesis de doctorado. Centro de Investigación Cientifica de Yucatán.

Vera-Ku, B. M. (2004). Evaluation of biological activity in native medicinal plants of the Yucatan Peninsula. Master thesis, Centro de Investigación Científica de Yucatán. Repositorio Institucional del CICY. Disponible en: https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1003/341.

Vera-Ku, M., Méndez-González, M., Moo-Puc, R., Rosado-Vallado, M., Simá-Polanco, P., Cedillo-Rivera, R., & Peraza-Sánchez, S. R. (2010). Medicinal potions used against infectious bowel diseases in Mayan traditional medicine. *Journal of ethnopharmacology,* 132(1), 303-308.

Verma, R., Tapwal, A., Kumar, D., & Puri, S. (2020). Phytochemical profiling and biological activity of *Leucas lanata* Benth. an important ethnomedicinal plant of Western Himalaya. *Ecology, Environment and Conservation,* 26, 169-175.

Vijayalakshmi, U., & Shourie, A. (2019). Comparative GC-MS analysis of secondary metabolites from leaf, stem and callus of *Glycyrrhiza glabra*. *World Journal of Pharmaceutical Research,* 8, 1915-1923.

Wanxi, P. E. N. G., Shengbo, G. E., Dongli, L. I., Bo, M. O., Daochun, Q., & Ohkoshi, M. (2014): Molecular basis of antibacterial activities in extracts of *Eucommia ulmoides* wood. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences,* 27, 2133-2138.

Weckerle, C. S., Cabras, S., Castellanos, M. E., & Leonti, M. (2011). Quantitative methods in ethnobotany and ethnopharmacology: Considering the overall flora - Hypothesis testing for over-and underused plant families with the Bayesian approach. *Journal of Ethnopharmacology,* 137, 837-843.

Weckerle, C. S., Ineichen, R., Huber, F. K., & Yang, Y. (2009). Mao's heritage: Medicinal plant knowledge among the Bai in Shaxi, China, common widespread practice. *Journal of Ethnopharmacology,* 123, 213-228.

Williamson, E. M. (2001). Synergy and other interactions in phytomedicines. *Phytomedicine,* 8(5), 401-409.

World Health Organization. (2005). Epidemiology. Management of common skin diseases in children in developing countries. World Health Organization. Geneva, WHO/FCH/CAH/05.12.

World Health Organization. (2015). WHO traditional medicine strategy 2014–2023. Geneva: World Health Organization.

World Health Organization. (2019). WHO global report on traditional and complementary medicine 2019.

Xiu-Chacón, G. (1998). El arte curativo de los Mayas y los primeros médicos de la Península de Yucatán, México. *Revista Biomédica,* 9, 38-43.

Yehye, W. A., Rahman, N. A., Ariffin, A., Abd Hamid, S. B., Alhadi, A. A., Kadir, F. A., & Yaeghoobi, M. (2015). Understanding the chemistry behind the antioxidant activities of butylated hydroxytoluene (BHT): A review. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 101, 295-312.

Yoon, B. K., Jackman, J. A., Valle-González, E. R., & Cho, N. J. (2018). Antibacterial free fatty acids and monoglycerides: Biological activities, experimental testing, and therapeutic applications. *International Journal of Molecular Sciences,* 19(4), 1114.

Yu, L., Qin, Y., Wang, Q., Zhang, L., Liu, Y., Wang, T., & Xiong, H. (2014). The efficacy and safety of Chinese herbal medicine, Rhodiola formulation in treating ischemic heart disease: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Complementary Therapies in Medicine,* 22(4), 814-825.

Zgoda, J. R., & Porter, J. R. (2001). A convenient microdilution method for screening natural products against bacteria and fungi. *Pharmaceutical Biology, 39*(3), 221-225.

Zsikó, S., Csányi, E., Kovács, A., Budai-Szűcs, M., Gácsi, A., & Berkó, S. (2019). Methods to evaluate skin penetration in vitro. *Scientia Pharmaceutica,* 87(3), 19.

ANEXOS

ANEXO 1. Pruebas de Hipótesis

Hipótesis

Premisa

De acuerdo a las siguientes fuentes confiables, hay una problemática de salud vigente en zonas rurales de Yucatán: las afecciones cutáneas.

Referencia	Estudio realizado	Afección cutánea reportada
Perdigón *et al.*, 2008	Principales causas de mortalidad general e infantil en México que abarcan el periodo de 1922-2013.	La viruela y los tumores malignos.
Ankli *et al.*, 1999	Principales causas de morbilidad y mortalidad que afectan a la población maya.	Enfermedades gastrointestinales, respiratorias y las de la piel.
SAEH/SEDESA, 2017	Principales causas de egreso hospitalario y de consulta externa.	Candidiasis urogenital, escabiosis, escarlatina, leishmaniosis cutánea, mal de pinto, lepra, leptospirosis, mordedura de animales ponzoñosos y sarampión
Morbilidad Estatal, 2019	Principales causas de enfermedad en Yucatán. Anuario de morbilidad 1984-2019.	La escabiosis y la varicela
Paek *et al.*,2012	Consultas de pobladores de 8 lugares rurales de Yucatán.	Infecciones parasitarias, virales y fúngicas, la dermatitis y el eczema, seguidas por trastornos de los apéndices cutáneos.

Centro Dermatológico de Yucatán Bárcenas *et* al., 2009; Güémez *et* al., 2015; Atoche *et* al., 2016; Hernández *et* al., 2018.	Enfermedades de la piel más comunes que padece la población.	Cromoblastomicosis, el cáncer de piel, la tiña de la cabeza y la foliculitis.

Consultando en registros mayas de recetas medicinales se describen las plantas que se usaban para aliviar estos padecimientos.

Referencia	Libro	Algunas especies registradas
De La Garza *et al*., 1834	Libro del Judío	*Capraria mexicana* L., para combatir infecciones vaginales. *Pithecellobium albicans* (kunth) Benth. Para picaduras de insectos. *Urtica dioica* L. Para cauterizar llagas podridas. *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants. Para desinfectar llagas. *Annona muricata* L. para verrugas.
Roys-Ralph, 1931	Etnobotánica de los mayas	*Spondias purpurea* L. para tratar la sarna *Bursera simaruba* (L.) Sarg. para la comezón y úlceras. *Bravaisia berlandieriana* (Nees) T.F. Daniel. para quemaduras. *Morella cerífera* (L.) Small., para picaduras.

También, en investigaciones etnobotánicas generales que se han publicado en Yucatán, se encuentran registros de algunas especies usadas en las comunidades indígenas mayas para este mismo fin.

Referencia	Estudio realizado	Especies con propiedades dermatológicas
Ankli *et al*., 1999	Medical ethnobotany of the Yucatec Maya: healers' consensus as a quantitative criterion.	*Psidium guayaba* L. *Punica granatum* L. *Hamelia paters* Jacq.

		Kalanchoe integra Kuntze. *Calea urticifolia* Millsp.var yucatanensis.
Leonti y Heinrich, 2003	Antiquity of medicinal plant usage in two Macro-Mayan ethnic groups (Mexico).	*Pinus oocarpa* *Thevetia ahouai* *Calea zacatechichi* *Diphysa* sp. *Heliocarpus donell-smithii & Heliocarpus americanus.*
Méndez *et al.*, 2014	Jardines medicinales en Yucatán: una alternativa para la conservación de la flora medicinal de los mayas.	*Aloe vera* (L.) Burm. f. *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. *Ocimum campechianum* Mill *Ruta chalepensis* L. *Azadirachta indica* A. Juss. *Jatropha gaumeri* Greenm.

Por lo consiguiente, los curanderos que viven en los pueblos de Hunucmá, Sotuta y Yaxcabá deben de haber heredado de sus antepasados o generado de sus prácticas empíricas, conocimientos aplicables a esta problemática y practicarlos hasta hoy.

Por lo tanto…

Predicciones		Pruebas
1	Predigo que los médicos tradicionales de las zonas de estudio usan especies específicas para tratar afecciones cutáneas. #Sí resulta que los médicos tradicionales NO están capacitados para tratar estos padecimientos, se rechaza la hipótesis.	Se somete a prueba registrando entrevistas con los médicos tradicionales, durante las cuales se incluyen cuestionarios detallados sobre la flora que utilizan.

2	Predigo que los curanderos tienen ciertos conocimientos de los tipos de enfermedades de la piel que existen. #Sí resulta que los médicos tradicionales NO tienen conocimiento de los tipos de enfermedades de la piel que sufran los miembros de su comunidad, se rechaza la hipótesis.	Se somete a prueba a los curanderos haciendo preguntas que incluyen los síntomas y las características de ciertas enfermedades de la piel, con el fin de evaluar su conocimiento en este campo.
3	Predigo que entre los curanderos habrá coincidencia en cuanto al conocimiento de las especies. Si resulta que el conocimiento entre ellos NO es homogéneo, se rechaza la hipótesis.	Se somete a prueba comparando sus respuestas con el objetivo de determinar si son coherentes o no.
4	Predigo que las especies que utilizan los curanderos tienen registros en los recetarios mayas. Sí resulta que las especies que manejan NO son las mismas especies descritas en la literatura etnohistórica, se rechaza la hipótesis.	Se somete a prueba verificando las identidades de las especies actualmente utilizadas a través de una comparación con la literatura científica disponible.

Las predicciones se validarán a través de un estudio sobre el conocimiento tradicional, el cual consistirá en un estudio etnobotánico que empleará metodologías cualitativas y cuantitativas. Estas metodologías comprenderán el establecimiento de un consenso entre los informantes, el uso de diversos índices y la aplicación de métodos estadísticos multivariados.

Objetivo: Realizar un estudio etnobotánico cuantitativo de plantas medicinales, en municipios del estado de Yucatán.

Preguntas de investigación

Pregunta de investigación	Metodología
¿Qué especies usan los médicos tradicionales de los municipios para tratar problemas dermatológicos?	Entrevista y cuestionarios. Recopilación de herbario.
¿Cuáles son las familias más representativas? ¿Cuáles son las principales especies medicinales usadas para las dolencias?	Observación participante. Sistematización de encuestas. Tabulación y generalización de los datos obtenidos de las entrevistas y

¿Éstas pertenecen a la misma familia o a distintas?	sus análisis con métodos estadísticos.
¿Cuáles son las formas de preparación y que tejidos son los que se usan? ¿Qué afecciones dermatológicas atienden? ¿Habrá alguna especie que tenga un mayor número de usos en comparación con las demás? Entre los médicos tradicionales, ¿Cuál es el nivel de coincidencia en cuanto al conocimiento de las especies?	Entrevistas y cuestionarios. Criterios cuantitativos: índice de usos y RFC.
Las especies reportadas ¿están descritas en los libros mayas de medicina herbolaria? ¿Has variaciones en los usos de las especies con el paso del tiempo? ¿Con la modernidad, se han incorporado nuevas especies a las prácticas medicinales? o, ¿han desaparecido algunos usos?	Análisis etnohistórico. Análisis geoespacial.
Las especies, ¿presentan reportes de usos etnobotánicos, de carácter fitoquímico, de ensayos biológicos y reportes toxicológicos?	Revisión de literatura.
Se pueden agrupar las plantas en función de sus usos para diversas enfermedades relacionadas con la piel? ¿Utilizan varias especies para tratar una misma afección? ¿Utilizan un solo tipo de especie para tratar diferentes afecciones? ¿Existen combinaciones de plantas para tratar una misma afección?	Entrevistas. Análisis cuantitativo (PCA).

ANEXO 2. Formato de consentimiento informado

Centro de Investigación Científica de Yucatán
Unidad de Recursos Naturales

Fecha: ____/____/_____
(Día/Mes/Año)

CARTE DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo_____, estoy de acuerdo en participar en el proyecto de investigación sobre enfermedades de la piel. Que como primera etapa es la búsqueda de formulaciones medicinales mayas utilizadas para el alivio de estos padecimientos.

En esta ocasión me preguntaron sobre plantas que utilizo para tratar los padecimientos de la piel y como preparo mis recetas, así como las cantidades que utilizo.

Me han explicado los objetivos y procedimientos del estudio y mi incorporación será voluntaria y gratuita; he podido hacer todas las preguntas y dudas con respecto a mi participación; también entiendo que mi participación es plenamente voluntaria sin ninguna obligación y el no aceptar esta entrevista no me afectaría en ningún aspecto y puedo retirarme o retractarme en cualquier momento que así lo decida.

Los académicos de esta investigación utilizaran esta información estrictamente para aumentar sus conocimientos tradicionales y aplicarlos en la transmisión de los conocimientos de las enfermedades de la piel que padecen las poblaciones mayas y como se curan. Comprometiéndose a mantener anónimo de las entrevistas y el uso de estos datos será solo para fines educativos y de investigación.

Acepto participar en esta investigación ____

No acepto participar en esta investigación ____

_____ _____
Nombre, firma o huella del colaborador Nombre y firma del facilitador

ANEXO 3. Formato de entrevista

CICY

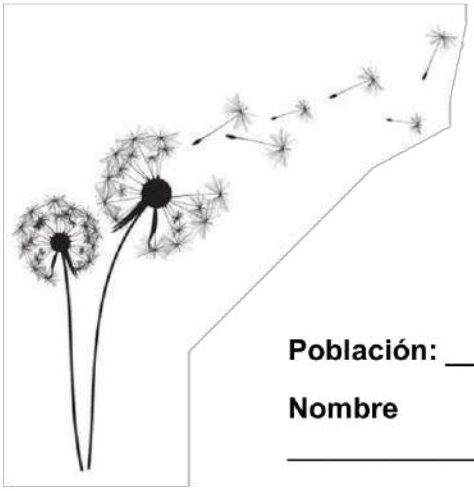
Unidad de Recursos Naturales

No._____

Vengo del Centro de Investigación Científica de Yucatán.

La razón de esta visita es para entrevistarle y conocer un poco de lo mucho que usted sabe acerca de las plantas y sus usos medicinales.

El objetivo de la entrevista es para preguntarle acerca de los diferentes remedios que utiliza para el tratamiento de las diferentes enfermedades cutáneas que tanto sufre nuestra gente.



Fecha: _____

Población: _____

Nombre del médico tradicional: _____

Datos generales

1. Edad _____

2. Lugar de nacimiento _____

3. ¿Asistió usted a la escuela?
(En caso de que la respuesta sea no, salta a la pregunta 5)
Sí_____ No_____

4. ¿Cuál fue el último año que estudio?_____

5. Trabajo _____

6. ¿Habla maya?
Sí_____ No_____
Sí la respuesta es sí indique el porcentaje _____

7. ¿Habla español?
Sí_____ No_____
Sí la respuesta es sí indique el porcentaje _____

Problemas de salud local y su tratamiento

Haciendo uso de una descripción de los síntomas, se determinará el nombre de la enfermedad.

8. Descripción de los síntomas:

_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____

9. Nombre local del problema de salud

_____
_____

10. Nombre del remedio

_____
_____
_____

11. Nombre de la planta o plantas usadas

Nombre(s) común(es)	Nombre científico	Registro	
		Ej. de Herb.	Foto

12. Cómo se prepara el remedio

¿Qué componentes integran la fórmula: ingredientes, sus cantidades y estado de los mismos?

Planta	Parte usada (H, T, R)	Cantidad	Estado del ingrediente	
			Seco	Fresco

13. ¿Qué tipo de preparación se obtiene?

_____
_____
_____

14. Procedimiento de preparación

_____
_____
_____
_____
_____
_____

15. ¿Existe un orden para colocar las plantas?

_____
_____
_____
_____

Forma de uso

18. ¿Cómo se usa el remedio?

_____
_____
_____
_____
____

19. ¿Qué cantidad se toma cada vez?

_____
_____
_____
_____
____

No. De veces por día	Por cuantos días

20. ¿Cuál es la dosis para los niños?

_____
_____
_____
_____
____

No. De veces por día	Por cuantos días

16. ¿Dónde encuentra usted la planta o plantas usadas y a qué hora del día son las colectas?

Planta	Hora de colecta	Sitio de colecta

17. ¿En qué época del año se debe colectar la planta, o las plantas usadas?

Planta	Época del año para colectar

Toxicidad

21. ¿Puede ser peligroso este medicamento?

Sí_____ No_____
¿Porque?

_____
_____
_____
_____
_____
_____

_____
_____
_____
_____

Notas

ANEXO 4. Reporte del análisis generado del método HPTLC para la obtención de perfiles cromatográficos de las formulaciones

winCATS Planar Chromatography Manager

Analysis Report

SOP document		
Validated	Design	
Description :	Extractos de plantas medicinales	
Analysis	D:\D-CICY\Documentos-CICY\Scanner4\Analisis\Zuri\plantas-medicinales\Zuri-001-prueba-300nm.cna	
Created/used by	administrator 01:15:45 p. m.	jueves, 15 de septiembre de 2022
Current user	Miriam Monforte Gonzalez	

Stationary phase

Executed by	administrator p. m.	jueves, 28 de octubre de 2021 12:34:47
Plate size (X x Y)	20.0 x 10.0 cm	
Material	HPTLC plates silica gel 60 F 254	
Manufacturer	E. MERCK KGaA	
Batch		
GLP code		
Pre-washing	No	
Modification	No	

Definitions - Screening

Executed by	administrator	jueves, 28 de octubre de 2021 12:36:13 p. m.

Sample application - CAMAG Linomat 5

Instrument	CAMAG Linomat 5 "Linomat5_200150" S/N 200150 (1.00.13)	
Executed by	administrator	miércoles, 3 de noviembre de 2021 11:16:52 a. m.
Linomat 5 application parameters		
Spray gas :	Inert gas	
Sample solvent type :	Water	
Dosage speed :	50 nl/s	
Predosage volume :	0.2 ul	
Sequence		
Syringe size:	100 µl	
Number of tracks:	22	
Application position Y :	10.0 mm	
Band length :	4.0 mm	

No.	Appl. position	Appl. volume	Vial #	Sample ID	Active
>1	20.0 mm	2.0 µl	1	F1	Yes
>2	27.6 mm	2.0 µl	2	F2	Yes
>3	35.2 mm	2.0 µl	3	F3	Yes
>4	42.8 mm	2.0 µl	4	F4	Yes
>5	50.4 mm	2.0 µl	5	F5	Yes
>6	58.0 mm	2.0 µl	6	F6	Yes
>7	65.6 mm	2.0 µl	7	F7	Yes
>8	73.2 mm	2.0 µl	8	F8	Yes
>9	80.8 mm	2.0 µl	9	F9	Yes
>10	88.4 mm	2.0 µl	10	F10	Yes
>11	96.0 mm	2.0 µl	11	F11	Yes
>12	103.6 mm	2.0 µl	12	F12	Yes
>13	111.2 mm	2.0 µl	13	F13	Yes
>14	118.8 mm	2.0 µl	14	F14	Yes
>15	126.4 mm	2.0 µl	15	F15	Yes
>16	134.0 mm	2.0 µl	16	F16	Yes
>17	141.6 mm	2.0 µl	17	F17	Yes
>18	149.2 mm	2.0 µl	18	F18	Yes
>19	156.8 mm	2.0 µl	19	F19	Yes
>20	164.4 mm	2.0 µl	20	F20	Yes
>21	172.0 mm	2.0 µl	21	F21	Yes
>22	179.6 mm	2.0 µl	22	F22	Yes

Post-Chromatographic Derivatization

Instrument

Executed by	administrator	jueves, 28 de octubre de 2021 12:33:25 p. m.
Comment		
Solution		
Volume	mL	
Drying device	Oven	
Temperature	120 °C	
Time	20 Minutes	
Notes		

Detection - CAMAG TLC Scanner

Information

Application position	10.0 mm
Solvent front position	70.0 mm

Instrument

	CAMAG TLC Scanner "Scanner_200627" S/N 200627 (2.01.02)
Executed by	administrator jueves, 15 de septiembre de 2022 01:14:52 p. m.
Number of tracks	22
Position of first track X	20.0 mm
Distance between tracks	7.6 mm
Scan start pos. Y	10.0 mm
Scan end pos. Y	70.0 mm
Slit dimensions	4.00 x 0.20 mm, Micro
Optimize optical system	Resolution
Scanning speed:	20 mm/s
Data resolution:	100 µm/step

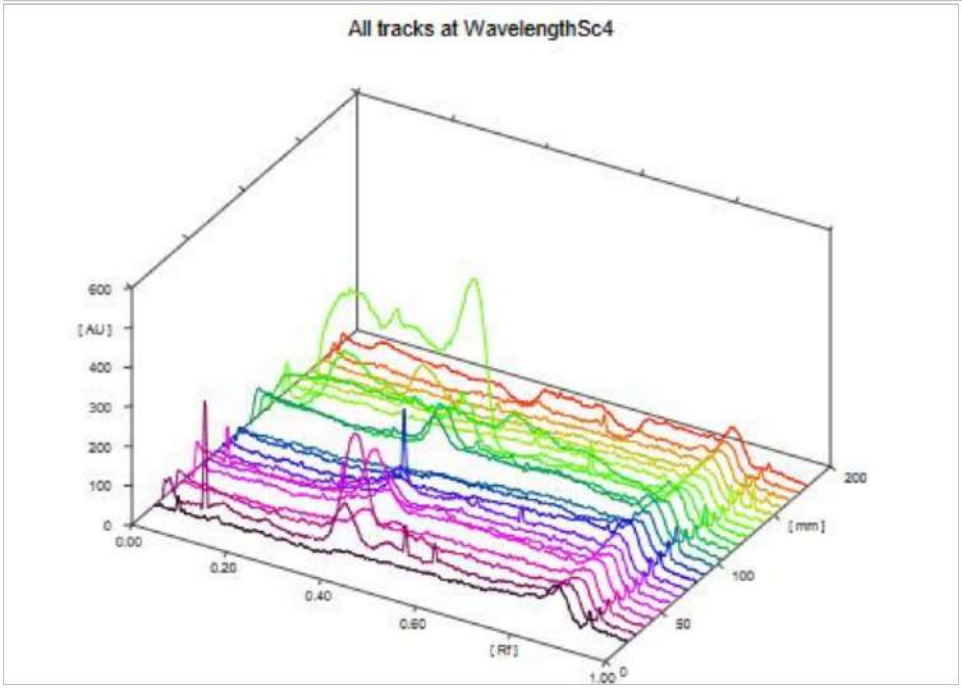
Measurement Table

Wavelength	330
Lamp	Hg
Measurement Type	Remission
Measurement Mode	Fluorescence
Optical filter	K400
Detector mode	Automatic
PM high voltage	338 V

Detector properties

Y-position for 0 adjust	10.0 mm
Track # for 0 adjust	0
Analog Offset	10%
Sensitivity	Automatic (168)

Integration

Properties

Data filtering	Savitsky-Golay 7
Baseline correction	Lowest Slope
Peak threshold min. slope	5
Peak threshold min. height	10 AU
Peak threshold min. area	50
Peak threshold max. height	990 AU
Track start position	10.0 mm
Track end position	70.0 mm
Display scaling	Automatic