

Artículo

Actividad Antiparasitaria *In-vitro* del Extracto Metanólico de *Kalanchoe daigremontiana* (Crassulaceae) en Contra de *Entamoeba histolytica* (Amoebida: Entamoebidae) y *Trichomonas vaginalis* (Trichomonadida: Trichomonadidae)

Abelardo Chávez-Montes ¹, Aldo F. Bazaldúa Rodríguez ¹, Magda E. Hernández-García ¹, Horacio Larqué-García ¹, Guadalupe Gutiérrez Soto ²; Joel H. Elizondo-Luévano ^{2,*}

1 Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Ciudad Universitaria, C.P. 66455, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México; abelardo.chavezmn@uanl.edu.mx (A.C.-M.); aldo.bazalduarg@uanl.edu.mx (A.F.B.-R) magda.hernandezgr@uanl.edu.mx (M.E.H.-G.); horaciolarque@hotmail.com (H.L.-G.)

2 Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Francisco Villa S/N, Col. Ex Hacienda el Canadá, C.P. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México; juanita.gutierrezst@uanl.edu.mx (G.G.-S.); joel.elizondolv@uanl.edu.mx (J.H.E.-L.)

* Correspondencia: joel.elizondolv@uanl.edu.mx (J.H.E.-L.)

Resumen: Introducción: Las infecciones parasitarias como la amebosis y la tricomonosis representan un desafío significativo para la salud pública a nivel global. A lo largo de décadas, el metronidazol ha sido considerado como el fármaco principal para su tratamiento. Sin embargo, el uso descontrolado de este medicamento ha propiciado la aparición de cepas resistentes. Esta realidad ha generado una urgente necesidad de descubrir y desarrollar nuevos tratamientos eficaces contra las parasitosis. **Objetivo:** Evaluar la actividad antiparasitaria de *Kalanchoe daigremontiana* sobre *Entamoeba histolytica* y *Trichomonas vaginalis*. **Metodología:** Se preparó un extracto metanólico de *K. daigremontiana*. El extracto se caracterizó fitoquímicamente de manera cualitativa. Se determinó el efecto del extracto sobre trofozoítos de *E. histolytica* y *T. vaginalis*; finalmente se determinó su toxicidad en eritrocitos humanos. **Resultados:** El análisis fitoquímico del extracto de *K. daigremontiana* indicó que los flavonoides son los compuestos más abundantes. El extracto presentó la capacidad de inhibir el desarrollo de *E. histolytica* y *T. vaginalis* con una DL50 de 71 y 105 µg/mL, respectivamente y presentó baja toxicidad en eritrocitos. **Conclusiones:** El extracto de metanólico de las hojas de *K. daigremontiana* posee actividad en contra de *E. histolytica* y *T. vaginalis*. Sin afectar significativamente los hematíes humanos en concentraciones efectivas frente a los parásitos evaluados.

Palabras Clave: Amebosis; Hemolisis; Parasitosis; Tricomonosis; Trofozoítos.

In vitro Antiparasitic Activity of Methanolic Extract of *Kalanchoe daigremontiana* (Crassulaceae) Against *Entamoeba histolytica* (Amoebida: Entamoebidae) and *Trichomonas vaginalis* (Trichomonadida: Trichomonadidae)

Abstract: Introduction: Parasitic infections such as amoebiasis and trichomoniasis represent a significant global public health challenge. Metronidazole as the drug of choice for decades, and its uncontrolled management has led to the emergence of resistant strains. Thus, the need to find new treatments against parasitosis has arisen. **Objective:** To evaluate the *In-vitro* antiparasitic activity of the plant *Kalanchoe daigremontiana* on *Entamoeba histolytica* and *Trichomonas vaginalis*. **Methods:** A methanolic extract of *K. daigremontiana* was prepared. The extract was qualitatively characterized phytochemically. The effect of the extract on the log-phase trophozoites of *E. histolytica* and *T. vaginalis* was determined; finally, its toxicity in human erythrocytes was determined. **Results:** Phytochemical analysis of *K. daigremontiana* extract indicated that flavonoids were the most abundant compounds. The extract presented the ability to inhibit the growth of *E. histolytica* and *T. vaginalis* with an LD₅₀ of 71 and 105 µg/mL, respectively, and presented low toxicity in erythrocytes. **Conclusions:** *K. daigremontiana* extract possesses antiparasitic activity against *E. histolytica* and *T. vaginalis* trophozoites. It does not significantly affect red blood cells at effective concentrations against the parasites evaluated.

Keywords: Amebosis; Hemolysis; Parasitosis; Trichomonosis; Trophozoites.

1. Introducción

América Latina y México enfrentan una serie de enfermedades parasitarias que afectan significativamente la salud pública (Trejos-Suárez and Castaño-Osorio, 2009; Mitra and Mawson, 2017). La Organización Mundial de la Salud (OMS) identifica una serie de factores clave que contribuyen a la propagación y persistencia de las enfermedades parasitarias como lo son pobreza y condiciones socioeconómicas desfavorables así como condiciones de higiene y saneamiento inadecuadas (James et al., 2018). Existen diversos protozoarios de importancia clínica en el humano entre ellos *Entamoeba histolytica* que puede afectar el intestino humano (Pozio, 2019) y *Trichomonas vaginalis* agente etiológico de la tricomoniasis, la enfermedad de transmisión sexual no viral más prevalente en todo el mundo (Edwards et al., 2014).

El Metronidazol es un fármaco ampliamente utilizado para tratar diversas infecciones parasitarias efectivo contra una variedad de organismos protozoarios anaeróbicos, como *T. vaginalis*, *Giardia lamblia* y *E. histolytica* (Dingsdag and Hunter, 2018). A pesar de ser un tratamiento común, el uso prolongado o inadecuado de metronidazol ha generado resistencia por parte de los parásitos, lo que reduce la eficacia del fármaco y dificulta su capacidad para eliminar las infecciones (Pal et al., 2009). El uso prolongado del metronidazol puede ocasionar efectos adversos que incluyen malestar estomacal, náuseas, vómitos, diarrea, dolor de cabeza, mareos, sequedad bucal y un sabor metálico en boca, también se ha asociado con efectos adversos en el sistema nervioso central, como convulsiones (Hernández Ceruelos et al., 2019). Esto ha llevado a la necesidad constante de buscar alternativas terapéuticas y estrategias para combatir las infecciones parasitarias y fármacos más efectivos.

Por lo cual las plantas representan una fuente para el descubrimiento y desarrollo de tratamientos frente a las enfermedades parasitarias (Rodríguez-Garza et al., 2019) esto debido a que contienen diversos metabolitos con propiedades biológicas (Patel, Patel and Patel, 2011). Las plantas del género *Kalanchoe* son valiosas por que poseen una amplia variedad de propiedades biológicas, las que incluyen actividad frente enfermedades como infecciones virales y bacterianas (Aisyah et al., 2016). Hasta el momento los resultados disponibles en la literatura sugieren que las actividades terapéuticas derivadas de *Kalanchoe daigremontiana* pueden depender en parte de la presencia de los flavonoides como la quercetina (Kolodziejczyk-Czepas and Stochmal, 2017). Por lo anterior este estudio está enfocado en la determinación de la actividad antiparasitaria del extracto metanólico de hojas de *K. daigremontiana*.

2. Materiales y Métodos

Extracción: Se utilizaron hojas frescas de *K. daigremontiana* colectadas en Monterrey, N.L., México en el año del 2019. La identificación taxonómica de la planta se realizó en el Laboratorio de Botánica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León (No. Reg. 029130). La taxonomía de la planta fue cotejada en el sitio web The World Flora Online (WFO) Plant List (<https://wfo.plantlist.org/plant-list/>; accesado el 08/01/2024).

Para obtener el extracto metanólico de *K. daigremontiana*, se usaron 100 g de hojas secas y molidas a temperatura ambiente y se sometieron a extracción por maceración con 300 mL de metanol (MeOH) absoluto en matraz de 1 L el cual fue colocado en un agitador orbital a 250 rpm a temperatura ambiente y recambio de disolvente cada 24 horas durante 3 días consecutivos. El extracto se filtró con papel filtro Whatman N°1, se concentró a presión reducida a 40.0 ± 2.0 °C con un rotavapor. Finalmente, el extracto se pesó para calcular rendimiento de extracción, se etiquetó como KalH y se almacenó en oscuridad a 4.0 ± 1.0 °C hasta su uso. Además, al extracto se le realizaron pruebas fitoquímicas cualitativas (Rodríguez-Garza et al., 2023). Para la determinación del rendimiento, se utilizó la siguiente fórmula (1), en donde PE = Peso del extracto y PI = Peso inicial de planta seca.

$$\text{Rendimiento (\% p/p)} = \frac{P_f}{P_i} \times 100 \quad (1)$$

Actividad Antiparasitaria: La efectividad de KalH contra trofozoítos de *E. histolytica* cepa HM1-IMSS (2×10^4 trofozoítos/mL) y *T. vaginalis* cepa GT15 IMSS:0989 (1×10^5 trofozoítos/mL) en fase logarítmica y se evaluó en medio PEHPS. Este medio consiste en peptona de caseína, extracto de hígado/páncreas, y suero bovino al 10%. La evaluación se realizó utilizando la técnica de microensayo descrita previamente en una publicación anterior (Elizondo-Luévano et al., 2020). *E. histolytica* fue incubada a 36 °C/72 h y *T. vaginalis* fue incubada a 37 °C/24 h. Las concentraciones de los extractos evaluados fueron de 15.63 a 1000 µg/mL (Elizondo-Luévano et al., 2020); se utilizó dimetilsulfóxido (DMSO) absoluto para disolver el extracto (solución stock) de esta solución se tomaron alícuotas para preparar las soluciones de

trabajo y las concentraciones finales nunca superaron el 5% de DMSO. La viabilidad se determinó por conteo en cámara de Neubauer. Los trofozoítos de *T. vaginalis*, se fijaron con formalina 1:10 previo al conteo. Para ambos parásitos, el control positivo (C+) consistió en metronidazol (1.0 µg/mL). Los resultados del porcentaje (%) de inhibición para cada parásito, se utilizaron para determinar la dosis letal media (DL₅₀).

Prueba de hemólisis: La toxicidad de KalH se determinó por la prueba de hemólisis en eritrocitos humanos para lo cual se analizaron distintas concentraciones de KalH (100 a 1000 µg/mL) a 37°C durante 30 minutos. Como C-, se utilizaron eritrocitos sin agregar extracto, se empleó agua destilada como C+, ya que induce hemólisis de células rojas. La evaluación de la hemólisis se realizó espectrofotométricamente a 540 nm, registrando las lecturas como absorbancia para cada tratamiento (Abs Tr) (Elizondo-Luevano *et al.*, 2023). El porcentaje de hemólisis se determinó utilizando la fórmula siguiente (2):

$$\% \text{ Hemólisis} = \frac{\text{Abs}_{\text{Tr}} - \text{Abs}_{\text{C-}}}{\text{Abs}_{\text{C+}} - \text{Abs}_{\text{C-}}} \times 100 \quad (2)$$

Actividad anti-hemólisis: El método empleado en este ensayo fue el descrito por Quintanilla-Licea *et al.*, 2023. Para evaluar el efecto protector sobre los eritrocitos, el extracto se incubó en concentraciones variables de 100 a 1000 µg/mL junto al radical AAPH (2,2'-azo-bis (2-amidino-propano) dihidrocloruro), aplicando agitación de 200 rpm/37°C por 5 horas a en una incubadora de rotación. Estos tratamientos se designaron como (Tr) (Quintanilla-Licea *et al.*, 2023). Como C- de la hemólisis, se empleó PBS (pH 7.4) con eritrocitos, excluyendo el AAPH, como C+ se utilizó AAPH. Tras la incubación, todos los tratamientos se centrifugaron a 13,000 rpm / 4 °C durante 3 minutos. Se extrajeron 200 µL de sobrenadante y se transfirieron a una microplaca de 96 pozos transparente. La hemólisis se determinó siguiendo el mismo procedimiento descrito en el método de hemólisis. El % de protección se determinó con la fórmula (3):

$$\% \text{ Protección} = \left[1 - \frac{\text{Abs}_{\text{Tr}} - \text{Abs}_{\text{C-}}}{\text{Abs}_{\text{C+}} - \text{Abs}_{\text{C-}}} \right] \times 100 \quad (3)$$

Análisis estadístico: Cada ensayo se llevó a cabo en tres repeticiones y se empleó la prueba de ANOVA de una vía para identificar diferencias significativas entre los tratamientos. La determinación de la DL₅₀ se efectuó mediante la prueba estadística de Probit (IC = 95%). Se consideraron diferencias significativas cuando $p < 0.05$. Los análisis estadísticos se determinaron en el software SPSS, ver. 24.

3. Resultados

Análisis fitoquímico: El rendimiento de extracción por maceración del extracto fue del 13 %. Los resultados del estudio fitoquímico básico en cual el extracto mostró respuesta positiva (+) para insaturaciones, quinonas, triterpenos, esteroides, saponinas, carbohidratos y flavonoides siendo estos últimos los más abundantes se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Análisis fitoquímico cualitativo del extracto de *K. daigremontiana*.

Prueba Fitoquímica												
Ins	Gp. Car	Cu	SqL	Qn	Est	Gp. Cxo	Gp. Fn	Spo	Fla	Carb	Alc	Tri
	+	-	-	-	+	+	-	+	+	++	+	-

Ausente: -, Presencia: +. Alc: Alcaloides; Carb: Carbohidratos; Cu: Cumarinas; Est: Esteroides; Fla: Flavonoides; Ins: Insaturaciones; Gp. Car: Grupo carbonilo; Gp. Cxo: Grupo carboxilo; Gp. Fn: Grupos fenólicos; Qn: Quinonas; Spo: Saponinas; SqL: Sesquiterpen-lactonas; Tri: Triterpenos.

Actividad contra *E. histolytica* y *T. vaginalis*: Como puede observarse, el extracto posee la capacidad de inhibir el crecimiento de los trofozoítos, existiendo una relación dosis respuesta ya que el porcentaje de inhibición disminuye con la disminución de la concentración del extracto. La letalidad fue total a una concentración de 1000 µg/mL con un resultado similar a 500 µg/mL. El control positivo, mostró un 100 % de mortalidad, mientras que el control negativo y

el tratamiento blanco, revelaron una inhibición casi nula siendo del 2 y de 1 % para *E. histolytica* y *T. vaginalis*, respectivamente (Figura 1). Los resultados referentes a la DL₅₀ determinada para el metronidazol fueron 0.3 y 0.2 µg/mL contra *E. histolytica* y *T. vaginalis*, respectivamente (tabla 2).

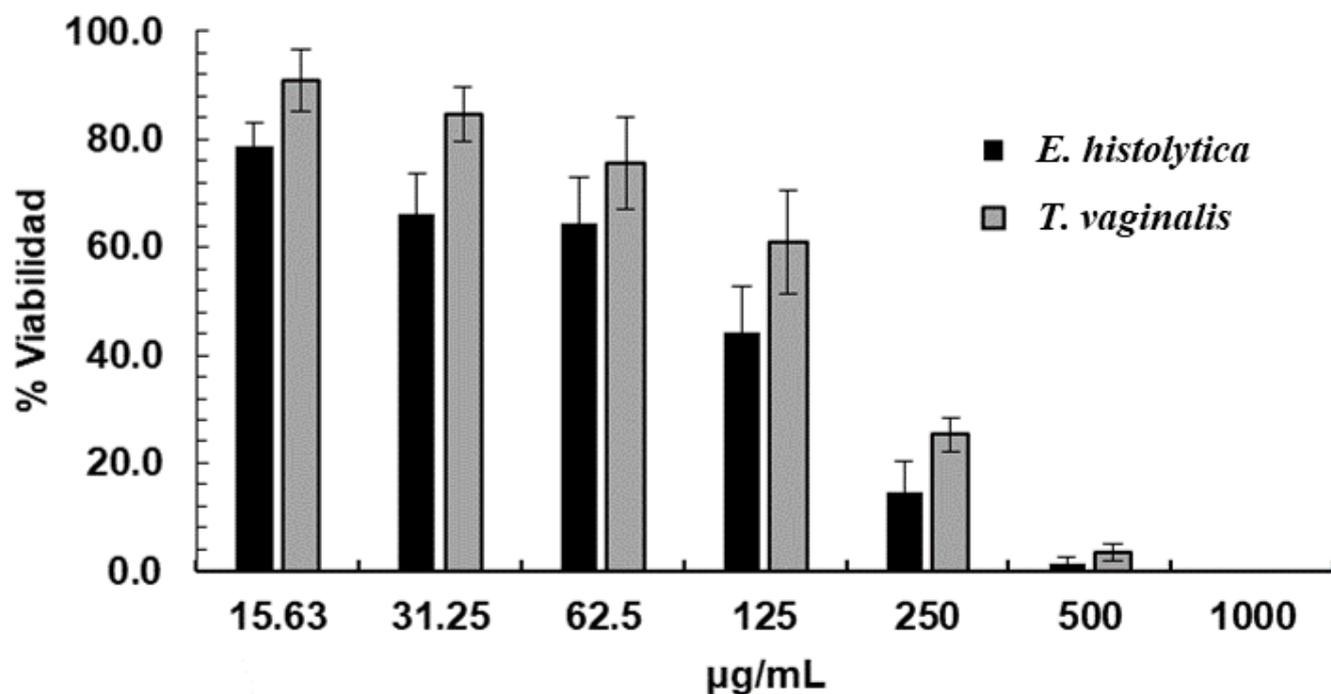


Gráfico 1. % de viabilidad de los parasitos *E. histolytica* y *T. vaginalis* en presencia de KalH. Datos expresados como la Media ± DE. Se utilizó como Tr testigo medio PEHPS sin inóculo, como C- se utilizó DMSO al 5% más inóculo de trofozoítos.

Tabla 2. DL₅₀ de KalH contra *E. histolytica* y *T. vaginalis*

Parasito	DL ₅₀ en µg/mL
	KalH
<i>E. histolytica</i>	71.0 ± 5.4
<i>T. vaginalis</i>	105.3 ± 12.5

Datos expresados como la Media ± DE.

Toxicidad del extracto mediante la prueba de hemólisis: En la figura 2 se observa que el extracto crudo de hoja de *K. daigremontiana* a 1000 µg/mL tuvo una actividad hemolítica de 7.18 % la cual fue descendiendo conforme disminuye la concentración del extracto. En 100 µg/mL (concentración más baja evaluada) la hemólisis en los eritrocitos fue del 0.49 %. El C+ mostró un 100 % de hemólisis mientras que el C- no presentó actividad aparente (datos no mostrados en el gráfico).

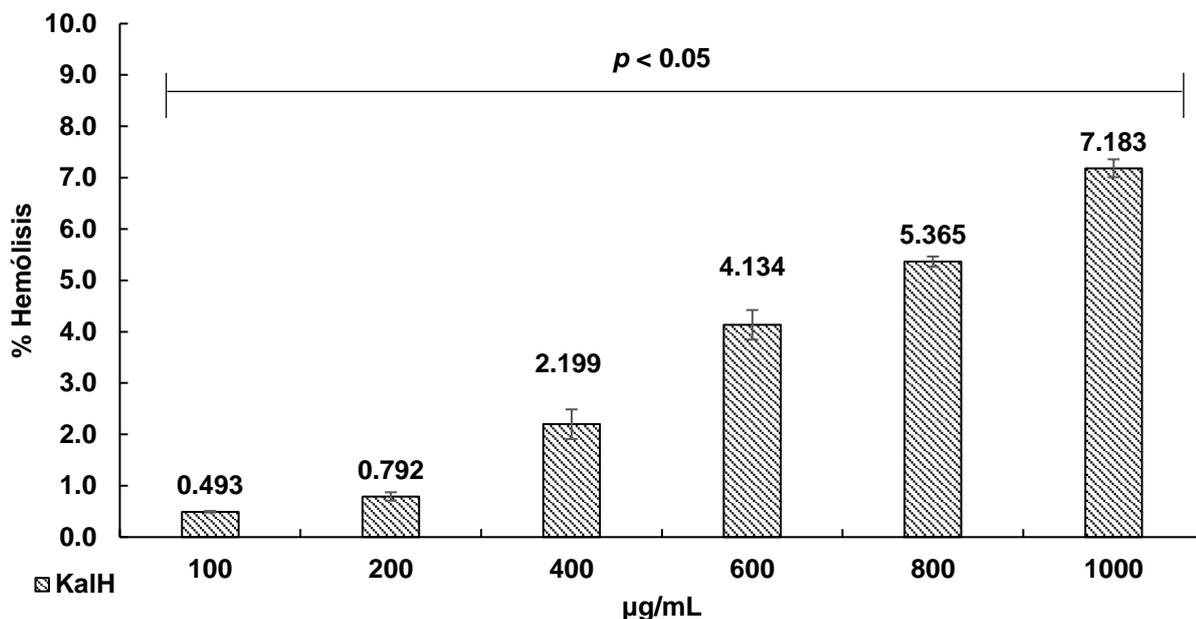


Gráfico 2. Evaluación del efecto hemolítico de KalH mediante la prueba de hemólisis. Valores presentados como la Media ± DE ($p < 0.05$).

Citoprotección del extracto: El extracto KalH, el cual no presentó hemólisis significativa en concentraciones de hasta 1000 µg/mL fue analizado mediante el método de AAPH (Quintanilla-Licea *et al.*, 2023). El extracto presentó citoprotección de manera inversamente proporcional a la concentración, siendo la concentración de 100 µg/mL la más efectiva y la de 1000 µg/mL la menos efectiva con 3.46 y 0.34 % de citoprotección frente a la hemólisis inducida por el AAPH, respectivamente (Fig. 3). El C- no presentó hemólisis detectable y el C+ presentó 100 % de hemólisis (datos no mostrados en el gráfico).

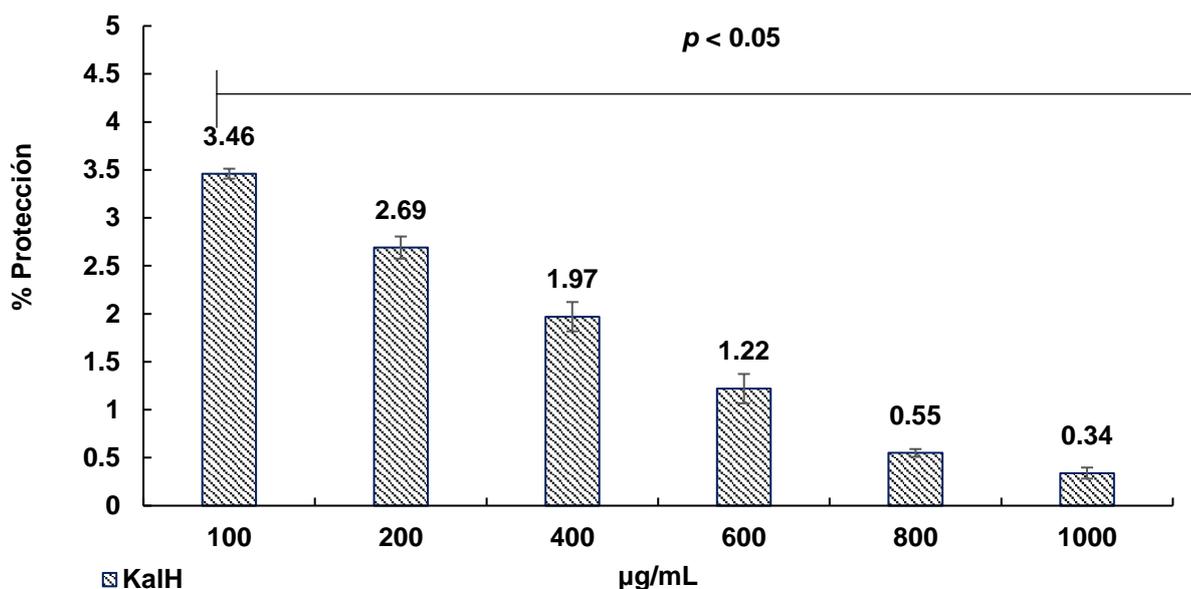


Gráfico 3. Evaluación de la protección de KalH mediante el método de hemólisis inducida por AAPH. Valores presentados como la Media ± DE ($p < 0.05$).

4. Discusión

Hoy en día, se han realizado varios estudios para encontrar nuevas fuentes de compuestos para tratar enfermedades que afectan al hombre; sin embargo, las parasitosis se encuentran entre las enfermedades más olvidadas ya que el desarrollo de nuevas terapias y medicamentos ha recibido muy poca atención. En este estudio, el papel de las hojas *K. daigremontiana* contra trofozoítos de *E. histolytica* y *T. vaginalis* mostró que los extractos exhiben efecto en contra de la viabilidad de ambos parásitos. En este estudio, el papel de las hojas *K. daigremontiana* sobre la viabilidad de *E. histolytica* y *T. vaginalis* mostró que el extracto exhibe un efecto en contra de la viabilidad de los parásitos de forma dependiente del tiempo de exposición y de la dosis evaluada (Fig. 1), además de una baja citotoxicidad (Fig. 2) según el criterio reportado por López-Villarreal *et al.*, en 2022 para productos naturales, lo que le brinda un valor agregado al uso de esta planta (López-Villarreal *et al.*, 2022). Estos resultados eran los esperados debido a los diferentes componentes en la planta detectados en el análisis fitoquímico, como lo son compuestos polifenólicos, saponinas y flavonoides entre otros (Tabla 1), pueden potencializar el efecto en contra de distintos agentes etiológicos (Boyko, Kabar and Brygadyrenko, 2020).

Los presentes hallazgos están en la misma línea de estudios previos que muestran que el grupo de las plantas pertenecientes al género *Kalanchoe* poseen diferentes actividades biológicas tanto *in-vitro* como *in-vivo* (Costa *et al.*, 2008; Elizondo-Luévano *et al.*, 2021). Lo anterior respecto a los diferentes metabolitos presentes en extractos de plantas medicinales en contra de algunos protozoarios, debido a que existen casos en los cuales se puede presentar resistencia por parte de los protozoos o reacciones de hipersensibilidad a los nitroimidazoles, siendo las plantas y sus metabolitos como alternativa en el tratamiento de las parasitosis (Mehriardestani *et al.*, 2017).

En este estudio, se preparó un extracto metanólico a partir de hojas secas trituradas con el objetivo de obtener la mayor variedad de moléculas con diferentes polaridades. Este proceso se llevó a cabo mediante maceración para preservar la integridad de las moléculas, evitando la exposición al calor y la luz (Velázquez-Domínguez *et al.*, 2013). Se logró un rendimiento del 13 % (Tabla 1). El extracto mostró respuestas positivas para Ins, Qn, Tri, Gp, Fn, Spo, Fla y Carb. Estos hallazgos coinciden con estudios anteriores que han informado sobre la presencia de triterpenos, fenoles, carbohidratos y flavonoides en plantas del mismo género, destacando la presencia de flavonoides del grupo de los quercetinoides (Fürer *et al.*, 2016). Sin embargo, es importante tener en consideración que estos metabolitos pueden variar dependiendo de la zona de cosecha o zona geográfica (Escalada, Brumovsky and Hartwig, 2011).

Para tener los parásitos metabólicamente estables (Pires-Santos, Santana-Anjos and Vannier-Santos, 2012); las evaluaciones biológicas se llevaron a cabo en la fase logarítmica. Los bioensayos revelaron la capacidad del extracto metanólico KalH para inhibir el crecimiento de los trofozoítos de ambos parásitos *in vitro*. Como se ilustra en la figura 1, el porcentaje de inhibición aumenta con la concentración del extracto, mostrando un comportamiento dosis-respuesta. A una concentración de 500 µg/mL, la viabilidad fue inferior al 4 % y disminuyó progresivamente en ambos casos. La determinación de la DL50 reveló que KalH tiene una DL50 de 71 y 105.3 µg/mL, respectivamente (Tabla 2), mientras que el metronidazol muestra una DL50 de 0.17 y 0.09 µg/mL, respectivamente. A pesar de la falta de reportes sobre el uso de extractos de *K. daigremontiana* contra los parásitos estudiados, existen investigaciones que evalúan extractos de esta familia de plantas frente a otros microorganismos y virus, incluyendo parásitos como *Bombyx mori*, *Leishmania amazonensis* y *L. chagasi* (Costa *et al.*, 2008; El Abdellaoui *et al.*, 2010). Estos estudios informan sobre extractos crudos con concentraciones letales de 500 µg/mL, 400 µg/mL y 16 µg/mL, respectivamente.

La evaluación de la hemólisis causada por extractos se ha utilizado para examinar la posible actividad tóxica de materiales vegetales en los glóbulos rojos; en la presente investigación, se determinó la toxicidad de KalH en concentraciones de 100 a 1000 µg/mL. Como se muestra en la figura 2, el extracto no demostró una toxicidad elevada, registrando alrededor del 7.4 % a 1000 µg/mL, lo que sugiere que KalH posee una toxicidad mínima o nula (López-Villarreal *et al.*, 2022). El radical AAPH, al reaccionar con el oxígeno molecular, genera radicales peróxilo que, al entrar en contacto con los eritrocitos, afectan sus membranas plasmáticas desencadenando la hemólisis (Shiva Shankar Reddy *et al.*, 2007; Chisté *et al.*, 2014). Esta prueba se ha convertido en un modelo ampliamente empleado para estudiar el comportamiento de las membranas eritrocitarias. Además, este modelo se ha utilizado para determinar la capacidad inhibitoria de radicales libres de ciertos antioxidantes (Pieroni *et al.*, 2011).

En estudios *in vitro* e *in vivo* se ha demostrado que los polifenoles juegan un rol en la resistencia al estrés oxidativo (Sandner, Heckmann and Weghuber, 2020). Además, se ha sugerido que polifenoles y flavonoides, pueden distribuirse en las membranas celulares debido a su naturaleza anfipática. Esta distribución conlleva a una restricción en la fluidez

de dichas membranas, lo que obstaculiza la difusión estérica de los radicales libres, disminuyendo así la cinética de las reacciones de oxidación (Chaudhuri *et al.*, 2007).

Por ello, si se considera por un lado que el extracto de *K. daigremontiana* no provocó hemólisis significativa y por otro, que no presentó protección sobre la membrana plasmática de estas células eucariotas, aunado al hecho de que el extracto provoca la inhibición del crecimiento de protozoarios dependiente de la dosis, se puede sugerir que dicha acción biológica no se ejerce a nivel de la membrana plasmática y que el principio activo debe ser absorbido y dentro de la célula pudiera presentar un receptor (Halliwell and Gutteridge, 1990). Se ha sugerido que ciertos polifenoles interactúan con el ADN por intercalación impidiendo la correcta replicación provocando la muerte celular (Alam, Bristi and Rafiquzzaman, 2013).

Los productos naturales son una fuente prometedora de moléculas activas (Tienda-Vázquez *et al.*, 2023). Este estudio presenta resultados preliminares sobre la actividad del extracto metanólico de *K. daigremontiana* contra los parásitos *E. histolytica* y *T. vaginalis*. Se sugiere realizar más ensayos para evaluar los fitometabolitos principales de *K. daigremontiana*, ya que la evaluación dirigida de extractos particionados puede revelar una mayor actividad biológica (Bazaldúa-Rodríguez *et al.*, 2021). Además, considerando el comportamiento dosis-respuesta obtenido, se presume la presencia de metabolitos en *K. daigremontiana* que podrían inhibir el crecimiento de varios protozoarios, tales como la quercetina y quercitrina presentes en el género *Kalanchoe*, que han mostrado actividad leishmanicida (Muzitano *et al.*, 2006).

5. Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONACHYT) bajo el proyecto I1200/331/2023 y al PROGRAMA DE APOYO A LA CIENCIA, TECNOLOGÍA E INNOVACIÓN (ProACTI 2023) de la UANL por apoyar con la realización del presente proyecto.

6. Conflictos de intereses

Los autores respaldan plenamente este trabajo y han contribuido de manera significativa que justifica su autoría. No existe conflicto de interés y se han seguido todos los procedimientos éticos y requisitos necesarios.

Referencias

1. El Abdellaoui, S. et al. (2010) 'Bioactive molecules in *Kalanchoe pinnata* leaves: extraction, purification, and identification', *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 398(3), pp. 1329–1338. doi: 10.1007/s00216-010-4047-3.
2. Aisyah, L. S. et al. (2016) 'Flavonoid Compounds From The Leaves Of *Kalanchoe tomentosa* And Their Cytotoxic Activity Against P-388 Murine Leukemia Cell', *Akta Kimia Indonesia*, 1(1), p. 1. doi: 10.12962/j25493736.v1i1.1413.
3. Alam, M. N., Bristi, N. J. and Rafiquzzaman, M. (2013) 'Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity', *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2), pp. 143–152. doi: 10.1016/j.jsps.2012.05.002.
4. Bazaldúa-Rodríguez, A. F. et al. (2021) 'Furanocoumarins from *Ruta chalepensis* with Amebicide Activity', *Molecules*, 26(12), p. 3684. doi: 10.3390/molecules26123684.
5. Boyko, O. O., Kabar, A. M. and Brygadyrenko, V. V. (2020) 'Nematicidal activity of aqueous tinctures of medicinal plants against larvae of the nematodes *Strongyloides papillosus* and *Haemonchus contortus*', *Biosystems Diversity*, 28(1), pp. 119–123. doi: 10.15421/012016.
6. Chaudhuri, S. et al. (2007) 'Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: Antioxidant and antihe-molytic effects', *International Journal of Biological Macromolecules*. Elsevier, 41(1), pp. 42–48. doi: 10.1016/j.ijbio-mac.2006.12.003.
7. Chisté, R. C. et al. (2014) 'Carotenoids inhibit lipid peroxidation and hemoglobin oxidation, but not the depletion of glutathione induced by ROS in human erythrocytes', *Life Sciences*. Pergamon, 99(1–2), pp. 52–60. doi: 10.1016/J.LFS.2014.01.059.
8. Costa, S. S. et al. (2008) 'Therapeutic potential of *Kalanchoe* species: Flavonoids and other secondary metabolites', *Natural Product Communications*, 3(12), pp. 2151–2164. doi: 10.1177/1934578x0800301236.
9. Dingsdag, S. A. and Hunter, N. (2018) 'Metronidazole: an update on metabolism, structure-cytotoxicity and resistance mechanisms', *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 73(2), pp. 265–279. doi: 10.1093/jac/dkx351.
10. Edwards, T. et al. (2014) '*Trichomonas vaginalis*: Clinical relevance, pathogenicity and diagnosis', *Critical Reviews in Microbiology*, 42(3), pp. 1–12. doi: 10.3109/1040841X.2014.958050.
11. Elizondo-Luevano, J. H. et al. (2020) 'In Vitro Effect of Methanolic Extract of *Argemone mexicana* against *Trichomonas vaginalis*.', *The Korean journal of parasitology. The Korean Society for Parasitology and Tropical Medicine*, 58(2), pp. 135–145. doi: 10.3347/kjp.2020.58.2.135.

12. Elizondo-Luevano, J. H. et al. (2023) 'Influence of the Polymer and Solvent Variables on the Nanoencapsulation of the Flavonoid Quercetin: Preliminary Study Based on Eudragit® Polymers', *Applied Sciences*, 13(13), p. 7816. doi: 10.3390/app13137816.
13. Elizondo-Luévano, J. H. et al. (2020) 'Berberina, curcumina y quercetina como potenciales agentes con capacidad antiparasitaria', *Revista de Biología Tropical*, 68(4), pp. 1241–1249. doi: 10.15517/rbt.v68i4.42094.
14. Elizondo-Luévano, J. H. et al. (2021) 'In-Vitro Effect of Kalanchoe daigremontiana and Its Main Component, Quercetin against Entamoeba histolytica and Trichomonas vaginalis', *Iranian Journal of Parasitology*, 16(3), pp. 394–401. doi: 10.18502/ijpa.v16i3.7092.
15. Escalada, G., Brumovsky, L. A. and Hartwig, V. G. (2011) 'Influencia de la zona de cultivo y procesamiento de la yerba mate sobre su contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante effects of growing and processing location on polyphenol content and antioxidant capacity of yerba mate (ilex paraguayensis', *Revista De Ciencia Y Tecnología*, 15(1), pp. 66–74. Available at: <https://www.fceqyn.unam.edu.ar/recyt/index.php/recyt/article/view/498>.
16. Fürer, K. et al. (2016) 'Bryophyllum pinnatum and Related Species Used in Anthroposophic Medicine: Constituents, Pharmacological Activities, and Clinical Efficacy', *Planta Medica*, 82(11/12), pp. 930–941. doi: 10.1055/s-0042-106727.
17. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. (1990) '[1] Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview', *Methods in Enzymology*. Academic Press, 186, pp. 1–85. doi: 10.1016/0076-6879(90)86093-B.
18. Hernández Ceruelos, A. et al. (2019) 'Therapeutic uses of metronidazole and its side effects: an update.', *European review for medical and pharmacological sciences*, 23(1), pp. 397–401. doi: 10.26355/eurrev_201901_16788.
19. James, S. L. et al. (2018) 'Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 Diseases and Injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017', *The Lancet*, 392(10159), pp. 1789–1858. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32279-7.
20. Kolodziejczyk-Czepas, J. and Stochmal, A. (2017) 'Bufadienolides of Kalanchoe species: an overview of chemical structure, biological activity and prospects for pharmacological use', *Phytochemistry Reviews*. Springer Netherlands, 16(6), pp. 1155–1171. doi: 10.1007/s11101-017-9525-1.
21. López-Villarreal, S. M. et al. (2022) 'Preliminary Study of the Antimicrobial, Anticoagulant, Antioxidant, Cytotoxic, and Anti-Inflammatory Activity of Five Selected Plants with Therapeutic Application in Dentistry.', *International journal of environmental research and public health*, 19(13), p. 7927. doi: 10.3390/ijerph19137927.
22. Mehriardestani, M. et al. (2017) 'Medicinal plants and their isolated compounds showing anti-Trichomonas vaginalis- activity', *Biomedicine and Pharmacotherapy*. Elsevier Masson SAS, 88, pp. 885–893. doi: 10.1016/j.biopha.2017.01.149.
23. Mitra, A. and Mawson, A. (2017) 'Neglected Tropical Diseases: Epidemiology and Global Burden', *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 2(3), p. 36. doi: 10.3390/tropicalmed2030036.
24. Muzitano, M. F. et al. (2006) 'Quercitrin: An antileishmanial flavonoid glycoside from Kalanchoe pinnata', *Planta Medica*, 72(1), pp. 81–83. doi: 10.1055/s-2005-873183.
25. Pal, D. et al. (2009) 'Giardia, Entamoeba, and Trichomonas Enzymes Activate Metronidazole (Nitroreductases) and Inactivate Metronidazole (Nitroimidazole Reductases)', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(2), pp. 458–464. doi: 10.1128/AAC.00909-08.
26. Patel, B., Patel, P. and Patel, R. (2011) 'Effect of different extracts from Celosia argentea on calcium and phosphate inhibition in vitro', *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(4), pp. 337–339.
27. Pieroni, L. G. et al. (2011) 'Antioxidant activity and total phenols from the methanolic extract of miconia albicans (Sw.) triana leaves', *Molecules*, 16(11), pp. 9439–9450. doi: 10.3390/molecules16119439.
28. Pires-Santos, G. M., Santana-Anjos, K. G. and Vannier-Santos, M. A. (2012) 'Optimization of Entamoeba histolytica culturing in vitro.', *Experimental parasitology*. Elsevier Inc., 132(4), pp. 561–565. doi: 10.1016/j.exppara.2012.09.011.
29. Pozio, E. (2019) 'How globalization and climate change could affect foodborne parasites', *Experimental Parasitology*. Academic Press, p. 107807. doi: 10.1016/J.EXPPARA.2019.107807.
30. Quintanilla-Licea, R. et al. (2023) 'Actividad citotóxica, antioxidante y antihemolítica del extracto metanólico de Cymbopogon citratus (DC.) Stapf', *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 8(1), pp. 957–964. doi: 10.29105/idcyta.v8i1.121.
31. Rodríguez-Garza, N. E. et al. (2019) 'Evaluación in vitro de extractos de plantas medicinales contra Trypanosoma cruzi, agente causal de la enfermedad de Chagas', *Revista Tendencias en Docencia e Investigación en Química*, 5(5), pp. 677–685. Available at: http://zaloamati.azc.uam.mx/bitstream/handle/11191/7893/Evaluacion_in_vitro_de_extractos_de_plantas_medicinales_2019.pdf?sequence=1.
32. Rodríguez-Garza, N. E. et al. (2023) 'In Vitro Biological Activity and Lymphoma Cell Growth Inhibition by Selected Mexican Medicinal Plants', *Life*, 13(4), p. 958. doi: 10.3390/life13040958.
33. Sandner, G., Heckmann, M. and Weghuber, J. (2020) 'Immunomodulatory activities of selected essential oils', *Biomolecules*, 10(8), pp. 1–16. doi: 10.3390/biom10081139.
34. Shiva Shankar Reddy, C. S. et al. (2007) 'In vitro models of oxidative stress in rat erythrocytes: Effect of antioxidant supplements', *Toxicology in Vitro*, pp. 1355–1364. doi: 10.1016/j.tiv.2007.06.010.

35. Tienda-Vázquez, M. A. et al. (2023) 'Antidiabetic Plants for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus and Associated Bacterial Infections', *Processes*, 11(5), p. 1299. doi: 10.3390/pr11051299.
36. Trejos-Suárez, J. and Castaño-Osorio, J. C. (2009) 'Factores de virulencia del patógeno intestinal *Entamoeba histolytica*', *Infectio. Elsevier*, 13(2), pp. 100–110. doi: 10.1016/S0123-9392(09)70731-3.
37. Velázquez-Domínguez, J. et al. (2013) 'Effect of the sesquiterpene lactone incompitine A in the energy metabolism of *Entamoeba histolytica*', *Experimental Parasitology*, 135(3), pp. 503–510. doi: 10.1016/j.exppara.2013.08.015.

Descargo de responsabilidad/Nota del editor: Las declaraciones, opiniones y datos contenidos en todas las publicaciones son responsabilidad exclusiva de los autores y colaboradores individuales y no de SAV y/o el/lo editor/es declinan toda responsabilidad por daños personales o materiales derivados de ideas, métodos, instrucciones o productos a los que se haga referencia en el contenido.

Cita: Chávez-Montes, A., Bazaldúa Rodríguez, A. F., Hernández-García, M. E., Larqué-García, H., Gutiérrez Soto, G., & Elizondo-Luévano, J. H. Actividad Antiparasitaria In-vitro del Extracto Metanólico de *Kalanchoe daigremontiana* (Crassulaceae) en Contra de *Entamoeba histolytica* (Amoebida: Entamoebidae) y *Trichomonas vaginalis* (Trichomonadida: Trichomonadidae). *Scientia Agricolis Vita*, 1(1), 1–9. Recuperado a partir de <https://agricolis.uanl.mx/index.php/revista/article/view/3>.

Editor Asignado: Dr. Celestino García Gómez.

Recibido: 23 de noviembre de 2023.

Revisado: 06 de diciembre de 2023.

Aceptado: 22 de diciembre de 2023.

Publicado: 31 de enero de 2024.



Copyright: © 2023 por los autores. Presentado para su posible publicación en acceso abierto bajo los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).