

Estudio de la actividad antibacteriana y la toxicidad en gambas en salmuera de dos especies de *Polygonum*

Assessment of anti-bacterial activity and brine shrimp toxicity of two Polygonum species

MAZID MA,¹ DATTA BK,² NAHAR L,³ SARKER SD^{3*}

¹Phytopharmacology Research Laboratory, Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, University of Dhaka, Dhaka 1000, Bangladesh

²Department of Pharmaceutical Technology, University of Dhaka, Dhaka 1000, Bangladesh

³School of Biomedical Sciences, University of Ulster, Cromore Road, Coleraine BT52 1SA, Co. Londonderry, Northern Ireland, UK

Autor de contacto: s.sarker@ulster.ac.uk

RESUMEN

Se estudió la actividad antibacteriana de las partes aéreas de *Polygonum barbatum* var. *barbata* y *Polygonum stagninum* (Familia: Polygonaceae) frente a diversas cepas bacterianas mediante el ensayo de difusión en disco, así como la toxicidad en gambas en salmuera mediante el ensayo de letalidad de gambas en salmuera. Todos los extractos/fracciones, a excepción del extracto/fracción de MeOH, presentaron niveles de actividad antibacteriana de bajos a moderados frente a la mayoría de las cepas de la prueba (zona de inhibición = 7-21 mm). Todos los extractos y fracciones presentaron considerable toxicidad general hacia las gambas en salmuera. Los valores de LD₅₀ de los extractos/fracciones de la prueba se encontraron en el rango de 2,19 a 114,81 µg/mL, mientras que la del control positivo (sulfato de vincristina) fue de 0,61 µg/mL.

PALABRAS CLAVE: *Polygonum barbatum*, *Polygonum stagninum*. Plantas de Bangladesh. Antibacteriana. Letalidad de gambas en salmuera.

ABSTRACT

The extracts of the aerial parts of *Polygonum barbatum* var. *barbata* and *Polygonum stagninum* (Family: Polygonaceae) were assessed for anti-bacterial activity against a number of bacterial strains using the disc diffusion assay, and brine shrimp toxicity using the brine shrimp lethality assay. All extracts/fractions, except the MeOH extract/fraction, exhibited low to moderate levels of anti-bacterial activity against most of the test strains (zone of inhibition = 7-21 mm). All extracts and fractions displayed considerable general toxicity towards brine shrimps. The LD₅₀ values of the test extracts/fractions were within the range of 2.19 to 114.81 mg/mL, whereas that of the positive control (vincristine sulphate) was 0.61 mg/mL.

KEY WORDS: *Polygonum barbatum*, *Polygonum stagninum*. Bangladeshi plants. Antibacterial. Brine shrimp lethality.

Fecha de recepción: 26-05-2008

Fecha aceptación: 04-06-2008

INTRODUCCIÓN

Las dos especies de *Polygonum* de Bangladesh, *Polygonum stagninum* Buch.-Ham. ex Meissn., de nombre local común “ratooti sag” o “bara bishkatali”, y *Polygonum barbatum* (L.) Hara var. *barbata*, de nombre común local “bekhanjabaj”, son hierbas perennes pertenecientes a la familia Polygonaceae¹⁻³. Ambas especies crecen con profusión en lugares acuáticos y pantanosos, en las orillas de los ríos, en zanjas a los lados de las carreteras que se inundan estacionalmente y en pequeñas charcas, en Bangladesh, India y Tailandia, así como en numerosos otros países del sudeste asiático¹. El género *Polygonum* es bien conocido por producir componentes farmacológicamente activos, y también por su uso en la medicina oriental tradicional para el tratamiento de diversas afecciones, entre las que se incluyen fiebre, dolor, infecciones, cáncer y tumores (Base de Datos Fitoquímica y Etnobotánica, 2008). Aunque estudios fitoquímicos anteriores de *P. stagninum* revelaron la presencia de derivados del ácido cinámico, flavonoides y polímeros de proantocianidina^{1,5}, no hay información fitoquímica disponible sobre *P. barbatum* var. *barbata*. Como parte de nuestros estudios continuados fitoquímicos y de bioactividad en especies de *Polygonum*⁵⁻¹¹, publicamos los resultados de los estudios de actividad antibacteriana y toxicidad de gambas en salmuera de los extractos de *P. stagninum* y *P. barbatum* var. *barbata*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales de la planta: Se recolectaron las partes aéreas de *Polygonum stagninum* Buch.-Ham. ex Meissn. y *Polygonum barbatum* (L.) Hara var. *barbata* en Kajla, Rajshahi, Bangladesh, que fueron autenticadas por el Profesor Naderuzzaman (Departamento de Botánica, Universidad de Rajshahi, Bangladesh). En el herbario del Departamento de Botánica de la Universidad de Dhaka, Dhaka, Bangladesh, se conservan los especímenes de catálogo BKD2004-1 y BKD2004-2, representativos de esta recolección.

Extracción: Las partes aéreas de *P. barbatum* var. *barbata* (650 g) se secaron al sol y se molieron, y se obtuvo su extracto con metanol (MeOH, 4 L) dejándolas macerar durante 5 días. Las partes

INTRODUCTION

Two Bangladeshi *Polygonum* species, *Polygonum stagninum* Buch.-Ham. ex Meissn., common name ‘ratooti sag’ or ‘bara bishkatali’, and *Polygonum barbatum* (L.) Hara var. *barbata*, common name ‘bekhanjabaj’, are perennial herbs that belong to the family Polygonaceae.¹⁻³ Both species grow widely in marshy and aquatic places, by the sides of the rivers, seasonally flooded roadsides ditches and small ponds throughout Bangladesh, India and Thailand, and also in many other countries in the south-east Asia.¹ The genus *Polygonum* is well-known for producing pharmacologically active compounds, and also for its use in the oriental traditional medicine systems for the treatment of various ailments including fever, pain, infections, cancer and tumor (Phytochemical and Ethnobotanical Database, 2008). While previous phytochemical studies on *P. stagninum* revealed the presence of cinnamic acid derivatives, flavonoids and proanthocyanidin polymers,^{1,5} no phytochemical information is available on *P. barbatum* var. *barbata*. As part of our on-going bioactivity and phytochemical studies on *Polygonum* species,⁵⁻¹¹ we report on the antibacterial activity and brine shrimp toxicity of the extracts of *P. stagninum* and *P. barbatum* var. *barbata*.

MATERIALS AND METHODS

Plant Materials: The aerial parts of *Polygonum stagninum* Buch.-Ham. ex Meissn. and *Polygonum barbatum* (L.) Hara var. *barbata* were collected from Kajla, Rajshahi, Bangladesh and authenticated by Professor Naderuzzaman (Department of Botany, University of Rajshahi, Bangladesh). Voucher specimens, BKD2004-1 and BKD2004-2, representing this collection have been retained in the Herbarium of the Department of Botany, University of Dhaka, Dhaka, Bangladesh.

Extraction: The sun-dried and powdered aerial parts of *P. barbatum* var. *barbata* (650 g) were extracted with methanol (MeOH, 4 L) using maceration for 5 days, and Sun-dried and ground aerial parts of *P. stagninum* (800 g) were cold-extracted successively with *n*-hexane, ethyl acetate (EtOAc) and MeOH, 4 L volume and 5 days duration for each. The extracts were con-

aéreas de *P. stagninum* (800 g) se secaron al sol y se molieron, y se obtuvo su extracto en frío con *n*-hexano, acetato de etilo (EtOAc) y MeOH, 4 L de volumen, y en etapas sucesivas de 5 días de duración. Los extractos se concentraron mediante evaporación a presión reducida a 40 °C.

Fraccionamiento del disolvente: El extracto de MeOH de *P. barbatum var. barbata* se transformó en extracto acuoso al 90% de MeOH, y se sometió a fraccionamiento con éter de petróleo. El extracto acuoso de MeOH resultante se volvió a fraccionar con cloroformo y, por último, con EtOAc. Todas las fracciones del disolvente se concentraron mediante evaporación a presión reducida a 40 °C.

Ensayo antibacteriano: La actividad antibacteriana de los extractos y las fracciones de ambas plantas frente a 19 cepas bacterianas, que incluyeron *Aeromonus hydrophilia* (NCTC 8049), *Bacillus cereus* (ATCC 13061), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Bacillus megaterium* (ATCC 12872), *Escherichia coli* (NCIMB 8110), *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* (NCTC 6750), *Samonella paratyphi A* (NCTC, 5322), *Samonella paratyphi B* (NCTC, 3176), *Salmonella typhi* (NCTC 6585), *Sarcina lutea* (NCTC 196), *Shigella boydii* (NCTC 12985), *Shigella dysenteriae* (NCTC 4837), *Shigella flexneri* (NCTC 24570), *Shigella sonnei* (NCTC 8574), *Staphylococcus aureus* (NCTC 10788), *Vibrio cholerae* (NCTC 6585), *Vibrio mimicus* (ATCC 33653) y *Vibrio parahaemolyticus* (ATCC 43996) se comprobó mediante el ensayo de difusión en disco convencional^{12,13}. Se impregnaron discos estériles de 6,0 mm de diámetro (BBL, Cocksville, EE. UU.) con las sustancias de prueba a dosis de 400 y 200 µg/disco. Estos discos, junto con el disco de control positivo (30 µg/disco) (Kanamicina, Oxoid Ltd., Reino Unido) y los discos de control negativos, se colocaron en placas de Petri que contenían medio de agar Mueller-Hinton en el que se habían sembrado los organismos de la prueba utilizando un bucle de transferencia estéril, y se mantuvieron a 4 °C para facilitar la máxima difusión. Las placas se conservaron en un incubador (37 °C) para favorecer el crecimiento de las bacterias. Las actividades antibacterianas de los agentes de prueba se determinaron mediante la medición del diámetro de la zona de inhibición en milímetros.

centrated by evaporation under reduced pressure at 40° C.

Solvent partitioning: The MeOH extract of *P. barbatum var. barbata* was made to 90% aq. MeOH extract and subjected to solvent partitioning with petroleum ether. The resulting aqueous MeOH extract was further partitioned with chloroform and finally EtOAc. All solvent fractions were concentrated by evaporation under reduced pressure at 40° C.

Antibacterial assay: The antibacterial activity of the extracts and fractions of both plants against 19 bacterial strains including *Aeromonus hydrophilia* (NCTC 8049), *Bacillus cereus* (ATCC 13061), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Bacillus megaterium* (ATCC 12872), *Escherichia coli* (NCIMB 8110), *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* (NCTC 6750), *Samonella paratyphi A* (NCTC, 5322), *Samonella paratyphi B* (NCTC, 3176), *Salmonella typhi* (NCTC 6585), *Sarcina lutea* (NCTC 196), *Shigella boydii* (NCTC 12985), *Shigella dysenteriae* (NCTC 4837), *Shigella flexneri* (NCTC 24570), *Shigella sonnei* (NCTC 8574), *Staphylococcus aureus* (NCTC 10788), *Vibrio cholerae* (NCTC 6585), *Vibrio mimicus* (ATCC 33653) and *Vibrio parahaemolyticus* (ATCC 43996) was tested using the conventional disc diffusion assay.^{12,13} Sterile 6.0 mm diameter blank discs (BBL, Cocksville, USA) were impregnated with test substances at the doses of 400 and 200 µg/disc. These discs, along with positive control disc (30 µg/disc) (Kanamycin, Oxoid Ltd., UK) and negative control discs were placed in Petri dishes containing the Mueller-Hinton agar medium seeded with the test organisms using sterile transfer loop and kept at 4°C to facilitate maximum diffusion. The plates then kept in an incubator (37°C) to allow the growth of the bacteria. The antibacterial activities of the test samples were determined by measuring the diameter of the zone of inhibition in terms of millimetre.

Brine shrimp lethality assay: Shrimp eggs were purchased from The Pet Shop, Kittybrewster Shopping Complex, Aberdeen, UK. The bioassay was conducted following the procedure described by Meyer *et al* (1982).¹⁴ The eggs were hatched in a conical flask containing 300 mL artificial seawater. The flasks were well aerated with the aid of an air pump, and kept in a water bath at

Ensayo de letalidad de gambas en salmuera: Los huevos de gambas se adquirieron a The Pet Shop, Kittybrewster Shopping Complex, Aberdeen, Reino Unido. El bioensayo se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Meyer *et al* (1982)¹⁴. Los huevos se incubaron en un matraz cónico con 300 mL de agua de mar artificial. Los matraces se airearon bien con ayuda de una bomba de aire y se mantuvieron al baño maría a 29-30 °C. Se dejaron bajo una fuente de luz brillante y las larvas se incubaron durante 48 h. Los extractos se disolvieron en una solución acuosa al 2 % de dimetilsulfóxido (DMSO) para obtener una concentración de 1 mg/mL. Ésta se diluyó profusamente para obtener siete concentraciones distintas. Con una pipeta, se transfirió 1 mL de solución de cada concentración a viales universales estériles y se añadió agua de mar aireada (9 mL). Se transfirieron unas 10 larvas a cada vial con una pipeta. Se realizó un recuento de comprobación y se anotó el número de individuos vivos a las 24 h. Los valores de LD₅₀ se determinaron mediante el método de análisis de Probit¹⁵. Como control positivo se utilizó sulfato de vincristina, un agente citotóxico bien conocido.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se evaluaron las propiedades antibacterianas de los extractos y las fracciones de las partes aéreas de *P. barbatum var. barbata* y *P. stagninum* mediante el método de difusión en disco convencional utilizando extractos de 200 y 400 mg/disco, frente a un panel de 19 cepas bacterianas patogénicas, y los resultados se compararon con la actividad del control positivo, kanamicina (30 µg/disco) (Tabla 1). Todos los extractos/fracciones, a excepción del extracto/fracción de MeOH, presentaron niveles de actividad antibacteriana de bajos a moderados frente a la mayoría de las cepas de la prueba (zona de inhibición = 7-21 mm). En ambas plantas, los extractos/fracciones lipofílicos, el extracto de petróleo de *P. barbatum var. barbata* y el extracto de *n*-hexano de *P. stagninum*, presentaron la actividad antibacteriana más potente y de más amplio espectro. Si bien el extracto de MeOH de *P. barbatum var. barbata* no presentó ninguna actividad a las concentraciones de la prueba, el de *P. stagninum* sólo presentó un nivel bajo de actividad frente a *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* y *Shigella flexneri* (zona de

29-30 °C. A bright light source was left on and the nauplii hatched within 48 h. The extracts were dissolved in 2 % aq. DMSO to obtain a concentration of 1 mg/mL. These were serially diluted to obtain seven different concentrations. A solution of each concentration (1 mL) was transferred into clean sterile universal vials with pipette, and aerated sea-water (9 mL) was added. About 10 nauplii were transferred into each vial with pipette. A check count was performed and the number alive after 24 h was noted. LD₅₀ values were determined using the Probit analysis method.¹⁵ Vincristine sulphate, a well known cytotoxic agent, was used as positive control.

RESULTS AND DISCUSSION

The anti-bacterial properties of the extracts and fractions obtained from solvent partitioning of the aerial parts of *P. barbatum var. barbata* and *P. stagninum* were assessed by conventional disc diffusion method using extracts of 200 and 400 µg/disc against a panel of 19 pathogenic bacterial strains, and the results were compared with the activity of the positive control, kanamycin (30 µg/disc) (Table 1). All extracts/fractions except the MeOH extract/fraction exhibited low to moderate levels of anti-bacterial activity against most of the strains (zone of inhibition = 7-21 mm). In both plants, the lipophilic extracts/fractions, e.g. petroleum extract of *P. barbatum var. barbata* and the *n*-hexane extract of *P. stagninum* showed the most potent and the broadest spectrum of anti-bacterial activity. While the MeOH extract of *P. barbatum var. barbata* did not show any activity at test concentrations, that of *P. stagninum* exhibited low level of activity only against *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* and *Shigella flexneri* (zone of inhibition = 8-10 mm). None of the fractions of *P. barbatum var. barbata* was active against *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi B*, *Salmonella typhi* and *Shigella dysenteriae* at test concentrations, but the *n*-hexane extract of *P. stagninum* inhibited the growth of all bacterial strains tested. Overall, the antibacterial profile of *P. stagninum* was much better than that of *P. barbatum var. barbata*. As the nonpolar extracts/fractions showed greater activity than the polar extract, it is likely that the compounds responsible for the antibacterial property of these plants were nonpolar in nature.

inhibición = 8-10 mm). Ninguna de las fracciones de *P. barbatum var. barbata* fue activa frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi B*, *Salmonella typhi* o *Shigella dysenteriae* en las concentraciones de la prueba, pero el extracto de *n*-hexano de *P. stagninum* inhibió el crecimiento de todas las cepas bacterianas analizadas. En general, el perfil antibacteriano de *P. stagninum* fue mucho mejor que el de *P. barbatum var. barbata*. dado que los extractos/fracciones no polares presentaron mayor actividad que el extracto polar, es probable que los compuestos responsables de las propiedades antibacterianas de estas plantas sean de naturaleza no polar. Aunque todos los microorganismos de la prueba eran patogénicos, las especies *Shigella* y *Vibrio* fueron de especial importancia, ya que son una de las principales causas de mortalidad y morbilidad derivadas del cólera, la diarrea y la disentería en Bangladesh, especialmente entre niños menores de 10 años. No son sólo los habitantes de Bangladesh los que sufren estas enfermedades infecciosas, sino también personas de otros países pobres y subdesarrollados. Los países afectados por inundaciones recurrentes, como Bangladesh, están especialmente amenazados por infecciones de *Shigella* y *Vibrio* presentes en el agua y en los alimentos.

Although all test microorganisms were pathogenic, the *Shigella* and *Vibrio* species were of particular importance, as they are one of the major causes of mortality and morbidity resulting from cholera, diarrhoea and dysentery in Bangladesh, particularly among children under 10 years of age. It is not only the people from Bangladesh that suffer from these infectious diseases, people from many other poor and under-developed countries suffer as well. Countries that are affected by recurrent flood, e.g. Bangladesh, are under specific threat from water and food borne *Shigella* and *Vibrio* infections.

TABLA 1. Actividad antibacteriana de los extractos/fracciones de las partes aéreas de *Polygonum barbatum* var. *barbata* y *Polygonum stagninum*.

TABLE 1. Anti-bacterial activity of the extracts/fractions of the aerial parts of *Polygonum barbatum* var. *barbata* and *Polygonum stagninum*.

Cepas bacterianas Bacterial strains	Zona de inhibición en mm Zone of inhibition in mm														
	Extractos de <i>Polygonum barbatum</i> var. <i>barbata</i> (en µg) <i>Polygonum barbatum</i> var. <i>barbata</i> extracts (in µg)							Extractos de <i>Polygonum stagninum</i> (en µg) <i>Polygonum stagninum</i> extracts (in µg)							Control positivo (kanamicina, 30 µg) Positive control (kanamycin, 30 µg)
	Éter de petróleo <i>Pteroleum ether</i>		Cloroformo <i>Chloroform</i>		EtOAc		MeOH		n-hexano <i>n-Hexane</i>		EtOAc		MeOH		
	200	400	200	400	200	400	200	400	200	400	200	400	200	400	
Gram +															
<i>Bacillus cereus</i>	8	10	8	11	-	-	-	-	8	14	10	14	-	-	30
<i>Bacillus subtilis</i>	7	9	8	16	7	14	-	-	11	18	7	10	-	8	32
<i>Bacillus megaterium</i>	10	14	10	18	7	15	-	-	9	14	10	15	-	9	28
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	8	15	-	-	-	-	8	14	-	-	-	-	29
<i>Sarcina lutea</i>	9	12	10	14	7	9	-	-	16	20	8	11	-	-	31
Gram -															
<i>Aeromonas hydrophilia</i>	10	16	9	17	7	10	-	-	15	21	7	10	-	-	25
<i>Escherichia coli</i>	7	9	-	-	7	11	-	-	8	11	9	12	-	-	26
<i>Klebsiella sp.</i>	8	12	7	10	8	11	-	-	7	16	7	17	-	-	29
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	7	12	-	-	-	-	30
<i>Salmonella paratyphi A</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	10	14	-	-	-	-	32
<i>Salmonella paratyphi B</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	10	15	-	-	-	-	31
<i>Salmonella typhi</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	8	11	-	-	-	-	28
<i>Shigella boydii</i>	10	14	8	12	9	11	-	-	12	18	8	12	-	-	27
<i>Shigella dysenteriae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	8	13	-	-	-	-	31
<i>Shigella flexneri</i>	10	12	10	14	8	10	-	-	13	19	10	18	7	10	26
<i>Shigella sonnei</i>	10	12	10	14	9	11	-	-	10	13	7	11	-	-	30
<i>Vibrio cholerae</i>	7	12	-	-	-	-	-	-	8	16	-	-	-	-	30
<i>Vibrio mimicus</i>	13	19	10	18	11	18	-	-	12	21	7	14	-	-	30
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	8	10	7	9	10	12	-	-	11	18	8	12	-	-	31

- = Sin actividad antibacteriana a las concentraciones del análisis.

- = No antibacterial activity at test concentration.

El ensayo de letalidad de gambas en salmuera (BSL) se ha utilizado ampliamente en el análisis primario de extractos crudos y compuestos aislados para evaluar la toxicidad para las gambas en salmuera, que podría también ser indicativa de posibles propiedades citotóxicas de los materiales de la prueba¹⁴. Se ha establecido que los compuestos citotóxicos presentan por lo general una mayor actividad en el ensayo BSL, y este ensayo se puede recomendar como guía para la detección de compuestos antitumorales y pesticidas debido a su simplicidad y bajo coste. Todos los extractos y fracciones de *P. barbatum* var. *barbata* y *P. stagninum* presentaron una toxi-

The brine shrimp lethality assay (BSL) has been used extensively in the primary screening of the crude extracts as well as the isolated compounds to evaluate the toxicity towards brine shrimps, which could also provide an indication of possible cytotoxic properties of the test materials.¹⁴ It has been established that the cytotoxic compounds generally exhibit significant activity in the BSL assay, and this assay can be recommended as a guide for the detection of antitumour and pesticidal compounds because of its simplicity and low cost. All extracts and fractions of *P. barbatum* var. *barbata* and *P. stagninum* displayed considerable general toxic-

cidad general considerable para las gambas en salmuera (Tabla 2). Los valores de LD₅₀ de los extractos/fracciones de la prueba se encontraron en el rango de 2,19 a 114,81 µg/mL, mientras que la del control positivo (sulfato de vincristina) fue de 0,61 µg/mL. En ambas plantas, los extractos/fracciones lipofílicos, el extracto de petróleo de *P. barbatum var. barbata* y el extracto de *n*-hexano de *P. stagninum*, presentaron el mayor nivel de toxicidad con valores de LD₅₀ de 2,40 y 2,19 µg/mL, respectivamente. El extracto/fracción de MeOH de ambas plantas fue el menos tóxico de las muestras de la prueba y, de hecho, los niveles de toxicidad disminuyeron al aumentar la polaridad del extracto/fracción. Por tanto, es razonable suponer que la toxicidad para las gambas en salmuera de dichas plantas se debió a compuestos de naturaleza apolar.

ity towards brine shrimps (Table 2). The LD₅₀ values of the test extracts/fracciones were within the range of 2.19 to 114.81 µg/mL, whereas that of the positive control (vincristine sulphate) was 0.61 µg/mL. In both plants, the lipophilic extracts/fracciones, e.g. petroleum extract of *P. barbatum var. barbata* and the *n*-hexane extract of *P. stagninum* showed the highest level of toxicity with LD₅₀ values 2.40 and 2.19 µg/mL, respectively. The MeOH extract/fraction of both plants was the least toxic among the test samples, and in fact, the levels of toxicity decreased with the increase of polarity of the extract/fraction. Thus, it is reasonable to assume that the brine shrimp toxicity of these plants were due to compounds of apolar nature.

TABLA 2. Toxicidad para gambas en salmuera de los extractos/fracciones de las partes aéreas de *Polygonum barbatum var. barbata* y *Polygonum stagninum*.

TABLE 2. Brine shrimp toxicity of the extracts/fracciones of the aerial parts of *Polygonum barbatum var. barbata* and *Polygonum stagninum*.

Muestras de prueba <i>Test samples</i>		LD ₅₀ (µg/mL)
<i>Polygonum barbatum var. barbata</i>	Éter de petróleo <i>Petroleum ether</i>	2,40
	Cloroformo <i>Chloroform</i>	12,02
	EtOAc	25,70
	MeOH	114,81
<i>Polygonum stagninum</i>	<i>n</i> -hexano <i>n-Hexane</i>	2,19
	EtOAc	9,33
	MeOH	26,3
Sulfato de vincristina <i>Vincristine sulphate</i>		0,61

Los presentes descubrimientos concuerdan con los usos medicinales tradicionales de otras diversas especies de *Polygonum* en el tratamiento de infecciones, cáncer y tumores.

The present findings were in line with the traditional medicinal uses of various other *Polygonum* species to treat infections, cancer and tumor.

BIBLIOGRAFÍA/BIBLIOGRAPHY

1. Balza F, Abramowski Z, Towers GHN, Wiriyachitra P. 1989. Identification of proanthocyanidin polymers as the piscicidal constituents of *Mammea siamensis*, *Polygonum stagninum* and *Diospyros dipehorstii*. *Phytochemistry*. 1989; 28: 1827-1830.
2. GRIN Taxonomy Database. USDA, ARS, Beltsville Agricultural Research Center, Beltsville, Maryland, USA. 2008. Available on-line at: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?448854>
3. Kiritikar KR and Basu BD. 1999. *Indian Medicinal Plants*, 2nd edition, Allahabad, India.
4. Phytochemical and Ethnobotanical Databases. 2008. Dr Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases, USA. Available on-line at <http://www.ars-grin.gov/duke/>
5. Datta BK, Datta SK, Rashid MA, Sarker SD. 2002. Flavonoids from *Polygonum stagninum* (Polygonaceae). *Biochem Syst Ecol*. 2002; 30: 693-696.
6. Datta BK, Datta SK, Rashid MA, Nash RJ, Sarker SD. A sesquiterpene acid and flavonoids from *Polygonum viscosum*. *Phytochemistry*. 2000; 54: 201-205.
7. Datta BK, Rashid MA, Kundu JK, Rouf ASS, Sarker SD, Datta SK. Isolation and structure elucidation of viscoazucine, a novel sesquiterpene from *Polygonum viscosum*. *Pharmazie*. 2001; 56: 578-579.
8. Datta BK, Rashid MA, Datta SK, Sarker SD. Viscozulenolic acid: A novel sesquiterpene acid from *Polygonum viscosum*. *Pharmaceutical Biology*. 2001; 39: 198-201.
9. Datta BK, Datta SK, Khan TH, Kundu JK, Rashid MA, Nahar L, Sarker SD. Anti-cholinergic, cytotoxic and anti-HIV-1 activities of sesquiterpenes and a flavonoid from *Polygonum viscosum*. *Pharmaceutical Biology*. 2004; 42: 18-23.
10. Datta BK, Datta SK, Chowdhury MM, Khan TH, Kundu JK, Rashid MA, Nahar, L, Sarker SD. Analgesic, anti-inflammatory and CNS depressant activities of sesquiterpenes and a flavonoid glycoside from *Polygonum viscosum*. *Pharmazie*. 2004; 59: 222-225.
11. Datta BK, Nahar L, Rahman MM, Gray AI, Auzi AA, Sarker SD. Polygosomic acid, a new cadinane sesquiterpene, from *Polygonum viscosum* inhibits the growth of drug-resistant *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* (MRSA) *in vitro*, *Journal of Natural Medicine*. 2007; 61: 391-396.
12. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Truck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardised single disk method. *The American Journal of Clinical Pathology* 1966; 45: 493-496.
13. Cruickshank R. 1968. *Medical microbiology: A guide to diagnosis and control of infection*, E. & S. Livingstone Ltd., Edinburgh and London, pp. 888.
14. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobson JB, Nicholas DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: a convenient bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*. 1982; 45: 31-34.
15. Finney DJ. 1971. *Probit Analysis*, 3rd Ed., Cambridge University Press, Cambridge.