Tabla de contenido

Biotransformación del 7β,14α,18-triacetilpusillatriol con hongos filamentosos. 3

Aprovechamiento de la cáscara de Rambután (*Nephelium Lappaceum*) como fuente de compuestos antioxidantes. 6

Actividad acaricida de extractos de *Lonchocarpus punctatus* contra *Rhipicephalus sanguíneus* 10

Evaluación del poder antioxidante de compuestos bioactivos purificados de cáscara de mango (*Mangifera indic*a) 13

Extracción de polifenoles de *Capsicum annuum* empleando Química Verde 16

Elaboración de un gel antibacterial humectante con quitosano de camarón como bactericida 19

Desarrollo de un método cromatográfico como ensayo de identidad para el control de calidad de un remedio herbolario para el tratamiento de enfermedad renal. 22

Extracción de pectina a partir de residuos de Agave lechuguilla 26

Estudio fitoquímico preliminar y evaluación de la toxicidad oral aguda de *Aleuritesmoluccana* 30

Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de la cáscara de plátano maduro (*Musa Cavendish*) y evaluación de su actividad antioxidante. 33

Síntesis de análogos fluorados de *Papaverina* 36

Evaluación del rendimiento de material pectínico en cáscara de granadilla *(Passiflora ligularis*) empleando hidrólisis ácida 39

Nicotiflorina, constituyente mayoritario identificado en la fracción acuosa de *Brickellia cavanillesii*, planta utilizada en la medicina tradicional. 42

Evaluación preliminar de la toxicidad y eficacia de tres extractos de *Pachycereus pecten-aboriginum.* 45

Efecto antioxidante de tres extractos de *Pachycereus pecten-aboriginum* 48

Actividad inhibitoria sobre enzimas α-glucosidasas y estudio fitoquímico de *Coreopsis mutica.* 51

Ácido 3-hidroxi-4-isopropilciclohex-1-en-carboxílico monoterpeno aislado de Flourensia resinosa. 54

Determinación de la toxicidad oral aguda de *Guazuma ulmifolia Lam. (Malvaceae/Sterculiaceae)* 57

Obtención del aceite de semillas de dátil (*Phoenix dactylifera*) y su transformación a biodiesel 60

Actividad anti-inflamatoria e identificación de los compuestos contenidos en *Stemmadenia obovata*. 63

Estudio químico y biológico de organismos fúngicos de Cuatro Ciénegas, Coahuila, México 66

Efecto antihiperglucémico del extracto metanólico de *Hamelia patens Jacq.* 70

Completa Asignación Por Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear de Lup-20(29)-eno, Aislado del Extracto Hexánico De *Pilotrichella flexilis* 73

Inhibidores de las α-glucosidasas de *Malbranchea flavorosea* 77

Gel con efecto cicatrizante a base de *Psidium guajava L.* 80

Estudio químico y farmacológico de la corteza de *Brosimum alicastrum* 83

Nuevas glicósidos 22-oxocolestánicos con potencial actividad anticancerígena 85

Estudio fitoquímico de Cordia morelosana 88

Rendimiento de extracción de aceite esencial de toronja (*Citrus paradisi*) en un reactor termo-mecano-químico, en función del tiempo de cosecha 91

Inhibidores de la enzima alfa-glucosidasa de la especie fúngica *Preussia minimoides* 94

El aceite esencial de *Bursera morelensis* y su actividad cicatrizante 98

Determinación de la actividad antidiabética y composición química del propóleo de Chihuahua. 101

Aislamiento de metabolitos secundarios a partir de extractos bioactivos de hojas de *Carica papaya L.* 104

Composición química y propiedades biológicas y del extracto etanólico del Pochote (*Ceiba aesculifolia sub. pavifolia)* en un modelo de colitis experimental 107

Actividad antiinflamatoria y antioxidante del extracto metanólico del "Cuachalalate" en un modelo de colitis inducida por DSS. 110

Tamizaje biodirigido y variación temporal en la composición química de extractos metanólicos de B*ursera aptera Ramírez.* 114

Estudio químico y biológico de la especie fúngica *Malbranchea albolutea* 116

Aceites esenciales de dos especies de Salvia de Michoacán 118

Potencial antimicrobiano de hongos de Cuatro Ciénegas, Coahuila, México. 120

Desarrollo y validación de un método por UPLC-ESI/EM para cuantificar a los componentes activos de la decocción de *Acourtia thurberi* 124

Obtención, purificación y caracterización citotóxica de los compuestos presentes en la anémona *Lebrunia danae* 127

Petiveria alliacea como fuente de terpenos con importancia biológica 130

Diterpenos adicionales de *Salvia polystachya* 133

Cnidoscolus chayamansa McVaugh: Evaluación química del extracto acuoso y nuevas perspectivas en sus aplicaciones 135

Evaluación del potencial farmacológico d*e Zinnia grandiflora* 139

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

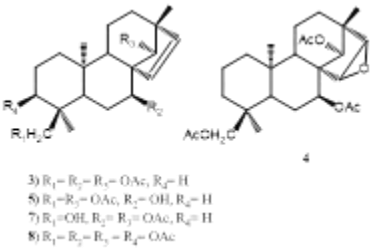
Trabajos estudiantiles

Biotransformación del 7β,14α,18-triacetilpusillatriol con hongos filamentosos.

Javier Gómez y Artruro E. Cano Flores.

FES-Zaragoza, UNAM. J. C. Bonilla No. 66. Col. Ejército de Oriente. Iztapalapa 09230. Cd. de México.
aecanomx@unam.mx

En el presente trabajo se dan a conocer los resultados obtenidos de la biotransformación cualitativa y cuantitativa del 7β,14α,18-triacetilpusillatriol (**1**) con diferentes hongos filamentosos. La caracterización e identificación de los productos mayoritarios (**6**-**8**) de biotransformación se realizó con base en sus propiedades espectroscópicas (IR, RMN ^{1}H y RMN ^{13}C), espectrométricas —EM(IE)— y propiedades físicas. Observándose que la acción de los diferentes hongos en este tipo de sustratos es mediante reacciones de hidrólisis, hidroxilación y epoxidación.



I. Introducción.

Una biotransformación es un proceso químico-biológico por medio del cual puede modificarse un sustrato a través de una o varias reacciones químicas catalizadas por un sistema biológico (cultivo de tejidos, microorganismo, enzimas puras, entre otros). Actualmente existe una considerable información sobre el uso de biocatalizadores para la conversión de productos naturales y sintéticos, y con ello las modificaciones de sus propiedades físicas, químicas y biológicas [1, 2]. En particular, los hongos filamentosos contienen numerosas enzimas de amplio espectro, capaces de catalizar reacciones de inserción de oxigeno a enlaces C-H y C-C, biohidroxilaciones en sitios poco activados químicamente, reacciones de epoxidación, esterificación, hidrogenación, transesterificación, entre otras, las cuales proceden de manera *regio*, *estereo*, *quimio* y enantioespecificas. Por ejemplo, las *biohidroxilaciones* se han desarrollado principalmente en el campo de los esteroides y terpenoides debido a la alta demanda de sus productos finales [3].

Los pusillatrioles son diterpenos tetracíclicos derivados del *ent*-beyereno, los cuales fueron aislados de *Sideritis pusilla.* Los diterpenos en general son metabolitos secundarios de gran interés industrial, farmacológico y taxonómico por su amplio rango de actividades biológicas como antitumorales, antiviral (VHI), antihipertensivos, hormonas de crecimiento, intermediarios en perfumería y edulcorantes, entre otras [4].

Con base en la anterior, en el presente trabajo se dan a conocer los resultados de la biotransformación cualitativa y cuantitativa del 7β,14α,18-triacetilpusillatriol (**1**) con diferentes hongos filamentosos.

II. Parte Experimental.

2.1. Purificación del 7β,14α,18-triacetilpusillatriol (TAPT, **1**).

El TAPT (**1**) fue obtenido de la acetilación de una mezcla de pusillatrioles con anhídrido acético/Py/24 h., figura 1. La mezcla de pusillatrioles fue obtenida del análisis químico de *Sideritis pusilla.*

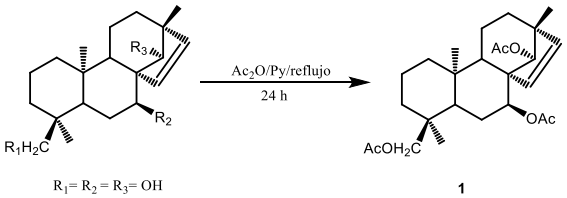


Figura 1. Obtención del triacetilpusillatriol (TAPT).

2.2. Biotransformación cualitativa del TAPT (**1**) [5].

2.2.1. *Resiembra de los hongos*. Se prepararon 25 mL de agar papa dextrosa (DPA) y se distribuyeron en matraces Erlenmeyer de 50 mL (aprox. 8 mL), se esterilizaron a 121ºC/1 lb/15 min y se dejó solidificar el medio para sembrar *Aspergillus niger*, *Fusarium moliniforme*, *Beauveria bassiana*. *Curvularia lunata*, *Rhizopus nigricans*, *Cunninghamella blakesleeana*, *C. echinulata*.
2.2.2. *Preparación de la suspensión de esporas*. Después de cinco días de esporulación de los diferentes hongos a temperatura ambiente, se adicionaron a cada matraz 20 mL de agua destilada esterilizada.
2.2.3. *Preparación del medio de cultivo*. Se prepararon 4 L de medio de cultivo YEPGA [0.1% de peptona, 0.1% de extracto de levadura, 0.1% extracto de carne y 0.5% de glucosa en agua destilada a pH 7] y se distribuyeron en 60 matraces Erlenmeyer (125 mL de medio). Se esterilizaron a 121ºC/1 lb/15 min. Posteriormente, se inocularon con 2 mL de una solución densa de esporas y se incubaron con agitación a 130 rpm, 28ºC durante 72 h.

2.2.4. *Factibilidad de biotransformación del* TAPT (**1**) *en medio YEPGA***.** Se distribuyeron 10 mg de TAPT en 3 mL de acetona, en cuatro matraces Erlenmeyer de 250 (125 mL de medio) previamente inoculados con los diferentes hongos, los cuales fueron incubados con agitación a 120 rpm y 28ºC, siguiendo el curso de la biotransformación por CCF cada 24 h. Para lo cual, se tomaron alícuotas (1 mL) de los diferentes matraces; la fase acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (2). Además, se tomaron alícuotas del blanco del hongo, blanco del medio y blanco de la sustancia.

2.2.5. *Biotransformación cuantitativa del* TAPT (**1**). Con base en los resultados obtenidos en la biotransformación cualitativa de **1**, se procedió a realizar la bioconversión preparativa de **1**, para lo cual se utilizaron 25 matraces Erlenmeyer de 250 mL (125 mL de medio YEPGA) inoculados con 2 mL de solución densa de esporas de los diferentes hongos filamentosos. Después de 48 h se adicionó el TAPT (100 a 200 mg) disuelto en acetona. El proceso se siguió por medio de CCF. Una vez transcurridos los catorce días de incubación, se procedió a la separación de la fase líquida de la biomas por filtración a vacío, la biomasa se lavó con agua, y el sobrenadante se saturó con NaCl. La fase líquida fue extraída con CH_2Cl_2 (5 x 50 mL), mientras la biomasa obtenida fue sometida a diversas extracciones sól-líq con AcOEt. Los residuos obtenidos fueron aplicados en CCF para determinar la presencia de productos de bioconversión, al comparar con los diferentes blancos utilizados en cada una de las biotransformaciones. La separación y purificación de la mezclas de productos se logró por medio de la aplicación de las diferentes técnicas cromatográficas y de cristalización.

III. Resultados y Análisis.

3.1. Factibilidad de biotransformación del TAPT (1).

En la tabla 1 se dan a conocer los resultados obtenidos de la biotransformación cualitativa del TAPT con diferentes hongos filamentosos. El compuesto **2** fue aislado previamente de la transformación de **1** con *A. niger*, lo cual permitió tomarlo como referencia para su identificación en las demás biotransformaciones.

Tabla 1. Resultados de la factibilidad de biotransformación del TAPT (**1**).

Hongo filamentoso	TAPT (**1**)	**2**
A. niger[a]	+++++[c]	
B. bassiana[a]	+++++[c]	___[f]
F. moliniforme[a]	-----[e]	-----[e]
R. nigricans[a]	+++++[c]	___[f]
R. oligosporus[a]	+++++[c]	___[f]
Curvularia lunata[b]	+++++[c]	___[f]
Cunninghamella blakesleeana[a]	+++[d]	___[f]
Cunninghamella echinulata[a]	+++++[c]	___[f]

[a]Medio YEPGA. [b]Medio B. [c]Transformación del TAPT (90%).
[d]Transformación del TAPT (50%). [e]Transformación del TAPT (30%).
[f]Se identificó a **2** por CCF durante el proceso de biotransformación
[e]En la transformación de **1** con *F. moliniforme*, no se observa la presencia de **2**.

3.2. *Biotransformación cuantitativa del* 7β,14α,18-triacetilpusillatriol (**1**). Después de la purificación del residuo obtenido de la biotransformación de **1 (**100.2 mg/10 mL DMSO**)** con *A. niger*, se logró aislar e identificar tres productos mayoritarios **3** (17%), **2**(49.3%) y **4** (10.8%). La caracterización e identificación de los productos se realizó con base en sus propiedades espectroscópicas (IR, RMN ^{1}H y RMN ^{13}C), espectrométricas —EM(IE)— y propiedades físicas, figura 3. Por otro lado, la transformación de **1 (**198.2 mg/15 mL de acetona**)** con *C lunata* se obtuvieron los productos **4** (11.5%) y **2** (51.9%), mientras con *Rhizopus nigricans* la transformación de **3** (200.7 mg/15 mL de acetona) permitió el aislamiento e identificación de **4** (11.5%) y **2**(60.2%).

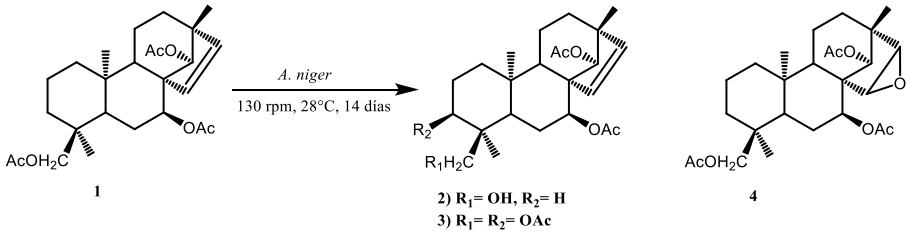
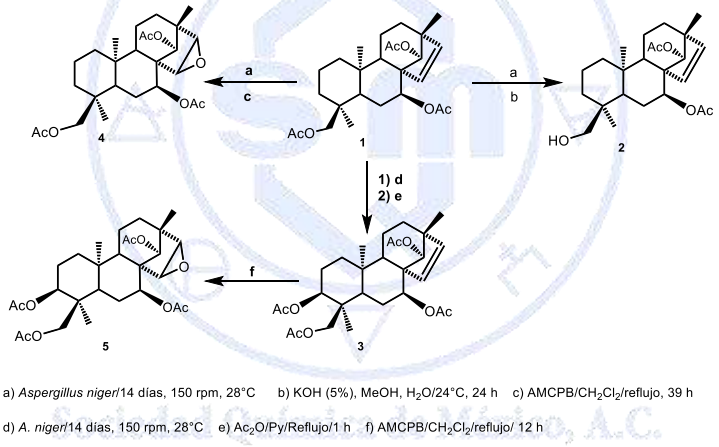


Figura 3. Transformación del TAPT con *A. niger*

La transformación de **1** (100.7 mg/10 mL DMSO**)** con *B. bassiana* permitió exclusivamente el aislamiento del compuesto de hidrólisis en el C-18 (**2**, 60.4%).

Asimismo, se realizó la correlación química entre los diferentes productos de biotransformación a partir de **1,** figura 4.



IV. Conclusiones.

Se logró la biotransformación del TAPT con siete hongos filamentosos, donde el producto mayoritario es el *ent*-7β,14α-diacetil-18-hidroxi-beyer-15-eno (**2**), con rendimientos mayores al 50%. Además, se realizó la correlación química a partir de **1**.

V. Referencias Bibliográficas.

1) Zafar, S.; Ahmed, R.; Khan, R., *Free Radical Research*, **2016**, *50*, 939-948.
2) Sultana, N.; Saeed Saify, Z., J. *Enzym. Inhib. Med. Chem*. **2013**, *28*, 1113-1128
3) Parra, A.; Rivas F.; García-Granados A.; Martínez A., *Mini Rev. Org. Chem.* **2009**, *6*, 307-20.
4) García, P. A.; Braga de Oliveira, A.; Batista, R., *Molecules* **2007**, *12*, 455-483.
5) Cano, A.; Ramirez-Apan, M. T.; Delgado, G.; *J. Braz. Chem. Soc*. **2011**, *22*, 1177-82.

Aprovechamiento de la cáscara de Rambután (*Nephelium Lappaceum*) como fuente de compuestos antioxidantes.

Adriana Méndez-Flores, Ayerim Hernández –Almanza, Aidé Sáenz-Galindo, Juan Ascacio-Valdés*
Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas
adriana_mendez@uadec.edu.mx
*alberto_ascaciovaldes@uadec.edu.mx

Resumen El rambután (*Nephelium lappaceum*) es un fruto tropical originario del continente asiático, específicamente de Indonesia y Malasia. Fue introducido a México y otros países de Centroamérica en los años de 1950 y 1960. Siendo el estado de Chiapas el principal productor del país, ha tenido una excelente demanda de exportación, no obstante su cáscara es un desecho, el propósito de este trabajo es demostrar que es posible aprovechar este recurso debido a sus propiedades antioxidantes. El objetivo de este trabajo fue extraer (mediante ultrasonido) y determinar el contenido de polifenoles totales presentes en la cáscara de rambután, evaluando la relación masa/volumen, tiempo de extracción y porcentaje de etanol /agua. El contenido de polifenoles se determinó mediante las pruebas de Folin-Ciocalteu y HCl-butanol. La determinación de la actividad antioxidante se evaluó mediante los métodos de ABTS y DPPH. La mejor condición de extracción de polifenoles totales fue con una relación masa/ volumen de 1g/7mL de solvente, utilizando Etanol con una concentración de 10%, y con un tiempo de extracción de 10 minutos; teniendo como resultado una concentración de 487.673 mg/g, además se determinó su actividad antioxidante, para ABTS se obtuvo un resultado de 92.5% como % de inhibición, y para DPPH se obtuvo un 73.333% de inhibición.

Introducción

Los compuestos fenólicos son comúnmente encontrados tanto en plantas comestibles como no comestibles, y se ha reportado que tienen múltiples efectos biológicos, incluyendo actividad antioxidante. En los últimos años el interés por los antioxidantes naturales se ha incrementado dramáticamente, debido principalmente a su comparación con el consumo de antioxidantes sintéticos, la eficacia antioxidante de una variedad de agentes fitoquímicos y la idea generalizada de que el consumo de ciertos agentes fitoquímicos pueden afectar de manera positiva la patología de las enfermedades crónicas y el proceso de envejecimiento.

Por lo que el propósito de este trabajo fue evaluar el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante en la cáscara del Rambután (Nephelium lappaceum), para su aprovechamiento como fuente de obtención de compuestos antioxidantes de alto valor agregado a partir de un material que generalmente es desechado.

Materiales

La cáscara de Rambután recolectada en la región de Soconusco, Chiapas. Ácido Gálico, reactivo de Folin-Ciocalteu, HCl-Butanol, Catequina grado analítico, ABTS, DPPH.

Métodos

Preparación de la muestra y extracción de polifenoles.

Las cáscaras de Rambután (Comitán Chiapas) fueron deshidratadas a 60°C por 48 horas, y molidas.

Se llevaron a cabo las extracciones bajo un diseño experimental 3^3, evaluando la relación masa/volumen (1/3, 1/5, 1/7), además del tiempo de extracción (10, 15 y 20 minutos) y el porcentaje de agua/ etanol (10%, 30% y 50%). Todas las determinaciones se realizaron por duplicado y fueron analizadas por ANVA y comparación de medias de Duncan usando el paquete estadístico desarrollado por la UANL.

Determinación de Polifenoles

Una vez determinada la condición de extracción mediante el análisis estadístico, se realizó una cromatografía de líquidos en columna empleando la resina Amberlita XAD-16, específica para polifenoles, realizando una primera elución con agua destilada para eliminar compuestos hidrosolubles no deseados y luego una elución con etanol para recuperar una fracción rica en polifenoles. El solvente fue evaporado y los compuestos fueron recuperados en forma de un polvo fino.

Actividad Antioxidante

Se determinó la actividad antioxidante en el extracto de cáscara de rambután mediante la técnica de ABTS (Yang M.& Rice-Evans C., 1999) y DPPH (Molyneux P., 2004).

Discusión y Resultados

Cuantificación de Polifenoles Hidrolizables Tratables.

La determinación de los polifenoles hidrolizables presentes en los extractos a diferentes condiciones, se llevó a cabo por el método de Folin-Ciocalteu. (Aguilar, C.N., 2009) Resultando como mejor condición el extracto con una relación masa/volumen de 1g/7mL, utilizando como solvente Etanol al 50% y 15 minutos de extracción, obteniendo con una concentración de 95.64 mg/L.

Cuantificación de Taninos condensados por la técnica de HCl-Butanol.

La determinación de los taninos condensados presentes en los extractos a diferentes condiciones, se realizó por medio de la técnica de HCl-Butanol. (Swain, T., & Hillis E. 1959). Con el análisis de los datos obtenidos se encontró como mejor condición la realción masa/volumen 1g/7 mL, utilizando como solvent Etanol al 10% y con un tiempo de extracción por ultrasonido de 10 minutos, como resultado se obtuvo una concentración de 430.36 mg/L.

Total de Polifenoles en la cáscara de rambután

Después de analizar estadísticamente los resultados (Gráfico 1) se obtuvo que la mejor condición de extracción para polifenoles totales fue con una realción masa/volumen 1g/7 mL, utilizando como solvente Etanol al 10% y con un tiempo de extracción de 10 minutos (codificación G1), debido a que presenta diferencias significativas con respecto a las demás condiciones, para esta condición se obtuvo como resultado una concentración de 487.67 mg/g en la cáscara de rambután.

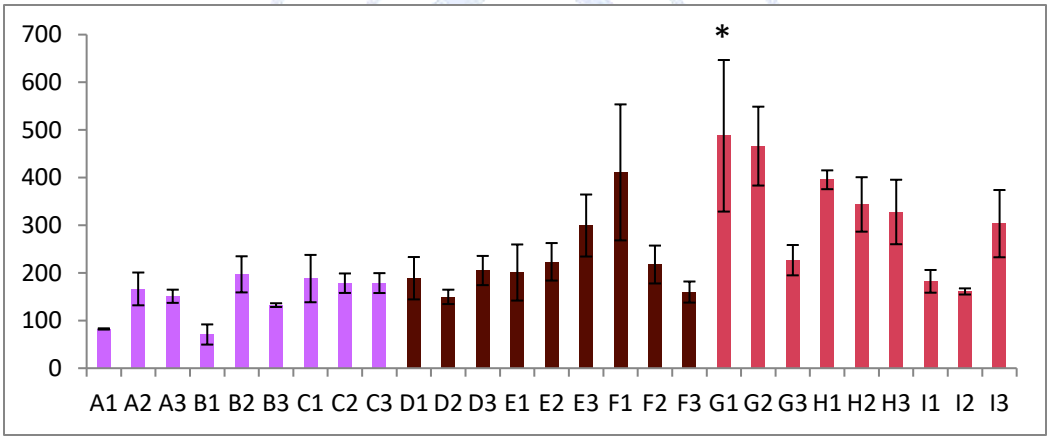


Gráfico 1. Polifenoles totales en la cáscara de rambután (mg/g).

Determinación de la actividad antioxidante mediante DPPH y ABTS

La determinación de la actividad antioxidante en el la cáscara de rambután, se llevó a cabo mediante el reactivo de DPPH y ABTS. Los resultados se muestran en las tablas 1 y 2.

Muestra:	Rambután	Trolox (250 ppm)
Absorbancia Promedio	0.08266667	0.099
Concentración (mg/L)Eq. Trolox	273.833333	257.5
% de Inhibición	73.3333333	68.0645161

Tabla 1. Resultados de la determinación de actividad antioxidante mediante DPPH

Muestra	Absorbancia	Promedio	%Inhibición
Rambután	0.02	0.051	92.5
	0.082		

Tabla 2. Resultados de la prueba de Actividad antioxidante mediante ABTS

Espectro Infrarrojo

Se llevó una muestra del extracto en fase sólida a analizar mediante un espectrofotómetro UV-Vis, del cual se obtuvieron los grupos funcionales que se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Principales grupos funcionales de los compuestos en la cáscara de rambután.

Número de onda (cm^{-1})	Asignación
3235.69	Grupo hidroxi / Estiramiento OH
1702.47	Ácido carboxílico / Estiramiento Carbonilo
1445.47	Estiramiento anillo aromático
1080.80	Alcohol Secundario / Estiramiento C-O
1023.49	Alcohol primario / Estiramiento C-O
760.49	Anillo aromático / Monosustitución (Fenil)

HPLC-Masas

Se inyectó una muestra en el HPLC columna C18 (150x2.1mm) acoplado a detector de masas con rango de 100 a 2000 m/z, y se identificaron los compuestos que se muestran en la tabla 4.

Id	Tiempo de retención (min)	Masa(m/z) $[M-H]^-$	Compuesto	Grupo/Familia
1	3.13	330.8	Gallic acid 3-O-gallate	Hydroxybenzoic acids
2	6.5	168.7	Gallic acid	Hydroxybenzoic acids
3	14.9	152.7	2,3-Dihydroxybenzoic acid	Hydroxybenzoic acids
4	23.15	622.7	Isorhamnetin 3-O-glucoside 7-O-rhamnoside	Methoxyflavonols
5	25.92	290.6	Brevifolin carboxylic acid	Ellagitannins
6	26.66	630.6	Corilagin	Ellagitannins
7	28.46	950.5	Geraniin	Ellagitannins
8	30.1	782.5	pedunculagin I	Ellagitannins
9	31.5	866.3	Theaflavin 3,3'-O-digallate	Theaflavins
10	32.71	300.6	Ellagic acid	Hydroxybenzoic acid dimers

Tabla 4. Compuestos identificados mediante HPLC/MS.

Conclusiones.

Con el presente trabajo se logró encontrar la condición a la que se obtiene un mayor número de polifenoles totales presentes en la cáscara de rambután, siendo ésta de relación masa/ volumen de 1g/7mL de solvente, utilizando Etanol con una concentración de 10%, y con un tiempo de extracción de 10 minutos, la concentración de polifenoles totales para esta condición es de 487.673 mg/g

De igual manera se determinó su actividad antioxidante, para ABTS se obtuvo un resultado de 92.5% como % de inhibición, y para DPPH se obtuvo un 73.333% de inhibición, lo que nos indica que efectivamente la cáscara de rambután presenta diversos compuestos antioxidantes, la cual podría ser aprovechada como fuente de obtención de estos compuestos. El espectro infrarrojo muestra efectivamente presencia de ácidos carboxílicos, anillo aromático monosustituido, entre otros grupos funcionales que confirman la presencia de polifenoles en la cáscara de rambután. Además los compuestos en la cáscara de rambután fueron separados para su identificación mediante HPCL/MS.

Referencias

Belmares, R., Garza, Y., Rodríguez, R., Contreras, J. C. y Aguilar, C. N. (2009). Composition and fungal degradation of tannins present in semiarid plants. Electronic Journal of Enviromental, Agricultural and Food Chemistry. 8, 4, 312-318.

Swain, T., & Hillis E. 1959. The phenolic constituentes of Prunus domestica. The quantitative analysis of phenolic constituents. J. Sci. Food Agric. 10:63-68

Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol. 26 (2): 211-219.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M.& Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free radical biology & medicine. 26: 1231-1237

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

Actividad acaricida de extractos de *Lonchocarpus punctatus* contra *Rhipicephalus sanguíneus*

Rocío de Lourdes Borges Argaéz, Mirbella Del Rosario Cáceres Farfán, **Carlos Garcia Ramos**

Centro de Investigación Científica de Yucatán, Calle 43 #130 por 32 y 34.Chuburná de Hidalgo. C.P 97205. Mérida, Yucatán

Email: rborges@cicy.mx

Resumen

Lonchocarpus punctatus, especie de leguminosa endémica de la península de Yucatán, a mostrado actividad acaricida en garrapatas bovinas siendo los componentes de baja polaridad responsables de dicha actividad. Este extracto natural es prometedor para el control de otras especies de garrapatas presentes en animales domésticos, como *Rhipicephalus sanguíneus*; sin embargo, su forma de aplicación es una limitante por no ser hidrosolubles. En el presente trabajo, se evaluó el efecto del empleo de Tween 20 como vehículo de aplicación, en las propiedades acaricidas y solubilidad de las fracciones de baja polaridad de *L. punctatus.* Se observó una mejoría en la solubilización de las fracciones, lo que permitió observar un efecto sinergista de los componentes de tipo estilbeno presentes en dicho extracto.

Introducción

Las garrapatas se han adaptado a la mayoría de los nichos terrestres del planeta y se han especializado en alimentarse de sangre de mamíferos, aves y reptiles, el mayor impacto de las infestaciones por garrapatas sobre los animales y el hombre es a través de los patógenos que ellas transmiten. A nivel mundial, son los segundos vectores más importantes de enfermedades en humanos después de los mosquitos (De la Fuente et al., 2008). *Rhipicephalus sanguineus* es la garrapata que, por su distribución mundial, con mayor frecuencia afecta a los perros. Se le considera una especie intradomiciliaria, por lo que con frecuencia infesta al humano. El control en las últimas décadas, ha dependido ampliamente del uso de químicos como: arsenicales, organoclorados, organofosforados, carbamatos, formamidinas, piretroides, lactonas macrocíclicas y fenilpirazolonas. Sin embargo, el uso irracional de estos compuestos químicos ha generado el desarrollo de resistencia, (Díaz. A. et al, 2012) lo que conlleva a la necesidad e interés en la búsqueda de nuevos acaricidas. En la búsqueda de nuevas alternativas se han evaluado sustancias de origen vegetal, encontrando actividad en el control de algunas de las especies de ácaros de importancia económica. Tal es el caso de *Lonchocarpus punctatus,* especie de leguminosa endémica de la península de Yucatán. Las inflorescencias de ésta especie han demostrado actividad acaricida en garrapatas bovinas siendo los componentes de baja polaridad responsables de dicha actividad (Méndez-González, et al., 2012). Este extracto natural es prometedor para el control de otras especies de garrapatas presentes en animales domésticos, sin embargo su forma de aplicación es una limitante por no ser hidrosolubles. Estudios iniciales de solubilidad del extracto en agua mostraron formación de precipitados, aún asi con una efectividad del 82% en la mortalidad larval. Con el fin de mejorar la solubilidad de dicho extracto, que permita la evaluación y el aislamiento de los ingredientes activos, en el presente trabajo se empleó un surfactante biodegradable comercial, Tween 20 y se evaluó la efectividad de la fracciones en larvas de garrapatas *R. sanguineus.*

Materiales y Métodos

Colecta y extracción. Inflorescencias de *L. punctatus* fueron colectadas en las instalaciones del CICY entre los meses de octubre y noviembre del 2016, (2.702 Kg). El material vegetal fue macerado en fresco con etanol (EtOH) por 48 horas, posteriormente se filtró y concentró a presión reducida en un rotavapor BUCHI modelo RE-111 obteniéndose 54.46 g de extracto etanólico (2.01 % de rendimiento).

Fraccionamiento. El extracto (29.9 g) se fraccionó por Columna Líquida al Vacío, utilizando un percolador de vidrio de 13 cm de diámetro, empacado con sílica gel marca SIGMA-ALDRICH high-purity grade (tamaño de poro de 60 A° y 2-25 µm) a una altura de 5 cm. Se colectaron volúmenes de 500 ml, empleando como sistema de elución hexano, y mezclas de hexano y acetato de etilo, en gradientes de polaridad. Se colectaron 11 fracciones reunidas según su similitud, en cinco fracciones finales (A1-A5) empleando cromatografía en capa fina (silica gel 60 F254 Aluminun sheets 20x20 cm marca SIGMA-ALDRICH) y como revelador se utilizó ácido fosfomolíbdico.

Preparación de las emulsiones. Se pesaron 50 mg de cada una de las muestras (A1-A5) por duplicado y se disolvieron en la mínima cantidad de diclorometano, posteriormente se incorporó 1 ml de la solución al 2% del surfactante Tween 20 (Sigma-Aldrich) de tal forma que se tenga una concentración al 5% de extracto. Las muestras incorporadas al surfactante se dejaron en agitación en una campana de extracción, hasta lograr la completa eliminación del disolvente, y la incorporación del extracto al surfactante.

Recolección de garrapatas. Las garrapatas hembras de *R. sanguineus* fueron proporcionadas por la MVZ Mayte Pech Haro, propietaria del Hospital Médico Veterinario ubicado en la colonia Limones del municipio de Mérida, Yucatán. Estas se almacenaron en viales de vidrio con un tapón de algodón a 25.7 ±2 °C| y 80% de humedad. La colecta de huevos se realizó a los 14 días, transfiriéndolos en otro vial limpio bajo las mismas condiciones; la eclosión de larvas ocurrió dos semanas posteriores a la oviposición.

Bioensayo de inmersión larval. Se utilizaron larvas de 10-14 días de eclosión, empleándose la técnica de inmersión larval descrita por Soberanes et al., 2002. Posteriormente se transfirieron de 100-200 larvas a cada vial con la muestra a evaluar empleando pinceles No. 4, éstas se sumergieron en la muestra a evaluar por 10 minutos, posteriormente se transfirieron a sobres de papel filtro Whatman No. 1 (4 sobres por vial), los cuales se sellaron con cinta tipo maskin tape. Se incubaron en un recipiente a una temperatura de 25.7±2 °C y humedad de 80% durante 48 horas. Transcurrido el tiempo los sobres se abrieron para contar el número de larvas vivas y muertas. Como control positivo se empleó una solución de Amitraz (2%) marca BAYER y Tween 20 (2%).

Con los resultados obtenidos, se aplicaron las fórmulas de Abbot (Abbot, 1925) recomendada por la FAO (2004):

$$\% \text{ Mortalidad: } \frac{\text{Larvas muertas}}{\text{Total de larvas}} \times 100$$

$$\% \text{ Mortalidad corregida: } \frac{\% \text{ Mortalidad tratada} - \% \text{ Mortalidad del control}}{100 - \% \text{ Mortalidad del control}} \times 100$$

Análisis por Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas. Se empleó un cromatógrafo de gases marca Agilent Tecnologies modelo 6890N Network GC System acoplado a un espectrofotómetro de masas modelo 5975B inert MSDEl, con una columna modelo HP-5MS y velocidad de flujo del aire de 1 ml/min. Se inyectó 1 µl de cada una de las muestras A1-A5, a partir de una solución al 1 % , empleando una temperatura inicial de 50 °C por dos minutos con una doble rampa de temperatura de 8 y 3 °C/min, para llegar a 250 y 300 °C, respectivamente.

Resultados y discusiones

El empleo de surfactantes permitió una mejoría en la solubilización de las fracciones A1-A5. El Tween 20 o polisorbato-20 es un tensoactivo no iónico que tiene un balance hidrofílico-lipofílico de 16.7 por lo que es adecuado para la formación de emulsiones de aceite-en –agua como es el caso de las fracciones poco polares de *L. punctatus*.

Los resultados de porcentaje de mortalidad y la mortalidad corregida, se observan en el Cuadro 1. Como se muestra en el Cuadro 1, se observaron porcentajes de mortalidad corregida en un rango de 10 a 65%. Las fracciones con mayor actividad larvicida fueron las indicadas como A2, A3 y A4, siendo inactivas las fracciones A1 y A5. La fracción que mostró el mayor porcentaje de mortalidad fue A3.

En los análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas (Cuadro 2) las muestras que mostraron más similitud fueron A2 Y A3, ambas coincidiendo en componentes principales con tiempos de retención de 17.466-17.462 min para el óxido de cariofileno, 18.482-18.482 min para Eudesma-4(14),11-dieno y 24.501-25.494 para 3,5-dimetoxiestilbeno respectivamente. Estudios iniciales de actividad acaricida de ésta especie realizados por R. Borges y Colaboradores, contra larvas de *R. microplus*, garrapata del ganado bovino, atribuyeron la actividad acaricida a la presencia de dimetoxiestilbeno. En el presente

trabajo, con larvas de *R. sanguíneus*, se observó que éste metabolito no es el principal responsable del efecto acaricida de *L. punctatus*, ya que las fracción A3 que contenían una mezcla de 3,3',4,4'-tetrametoxiestilbeno, junto con dimetoxiestilbeno fue la que presentó el mayor efecto acaricida, siendo la que contenía sólo el dimetoxiestilbeno, con menor actividad. Este es el primer reporte del efecto sinergista de la mezcla de estilbenos presente en *L. punctatus* contra larvas de garrapatas caninas *R. sanguíneos*. Estudios de evaluación individual de los estilbenos presentes en dicho extracto están en desarrollo, siendo la mezcla de estilbenos activos en proceso de patentamiento.

Cuadro 1. Resultados de la evaluación acaricida de las fracciones de *L. punctatus* (5%) empleando Tween 20 como vehículo.

Muestras (fracciones)	% Mortalidad	% Mortalidad corregida
A1	24.07	16.26
A2	**28.40**	**21.04**
A3	**68.49**	**65.25**
A4	**38.53**	**32.21**
A5	18.39	10
Tween 20 al 2%	9.32	

Tabla 2. Análisis de los perfiles cromatográficos (CG/EM) de las fracciones A2-A3

Muestra	Tiempo de retención (min)	% Área total	Estructura Química (metabolito)
A2	17.466	4.516	Óxido de cariofileno
	18.482	1.891	Eudesma-4(14),11-dieno
	25.501	18.839	3,5-Dimetoxiestilbeno
A3	17.462	1.501	Óxido de cariofileno
	18.482	7.426	Eudesma-4(14),11-dieno
	25.494	6.137	3,5-Dimetoxiestilbeno
	30.379	12.024	*cis* 3,3',4,4'-tetrametoxiestilbeno
	31.448	6.030	*trans* 3,3',4,4'-tetrametoxiestilbeno

Conclusión

El empleo de tween 20 como vehículo para la disolución de fracciones de baja polaridad de *L. punctatus* mostró ser una buena opción para mejorar las propiedades de solubilidad y evaluación acaricida de esta especie, permitiendo observar un efecto sinergista de los componentes de tipo estilbeno presentes en dicho extracto.

Bibliografía

De la Fuente J., Estrada. P.A., Venzal, M.J., Kocan, M.K., Sonenhine, E.D.(2008). Overview: Ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. Frontier in Bioscience. Frontiers in Bioscience. 13:6938-6946

Díaz, R.E. (2012). Mecanismos moleculares y bioquímicos de resistencia a acaricidas en la garrapata común de los bovinos. Revista colombiana de ciencia animal, 5, 72-80.

Méndez, G.M., Durán, G.R., Borges, A.R., Peraza, S.S., Dorantes, E.A., Tapia, M.J., Torres, A.W., Ferrer, C.M. (2012). Flora medicinal. CICY. 1ra. Ed. Mérida, Yucatán.

Evaluación del poder antioxidante de compuestos bioactivos purificados de cáscara de mango (*Mangifera indica*)

Claudia Anahi Ordoñez Torres[1], M.C. Ayerim Yedid Hernandez-Almanza [1], Dr. Tirso Flores Guia[1], *Dr. Juan Alberto Ascacio-Valdes[1]

[1] Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila

*alberto_ascaciovaldez@uadec.edu.mx

claudia.ordonez@uadec.edu.mx

Resumen

Para el presente trabajo se planteó el objetivo de la determinación de la mejor condición de extracción para los componentes fenólicos que se pueden encontrar en la cascara de mango bajo las condiciones de relación de masa-volumen, tiempo de extracción en ultrasonido y porcentaje v/v de solvente (etanol-agua). Para la cuantificación de los resultados se utilizó un diseño de experimento completamente al azar con arreglo factorial 3^3. Se utilizaron las pruebas de HCl-butanol y Folin-Ciocalteu para poder determinar los polifenoles en la muestra. En la determinación de actividad antioxidante se usaron los métodos de ABTS y DDPH. Los residuos de mango son de interés ya que es un material común de obtener, que contiene compuestos que son de alto provecho.

Introducción

El mango se conoce por su sabor tropical pero este fruto no solo contiene un gran sabor si no también se sabe que cuenta con aportaciones a la salud, tales como antioxidantes, fibra y vitaminas entre muchas más. Por otra parte el subproducto de este fruto, que representa aproximadamente el 28-38%, también contiene compuestos de alto interés debido a sus compuestos bioactivos, su contenido de fibra dietaría y actividad antioxidante e antiinflamatoria. Estos compuestos pueden tener un importante impacto en diferentes áreas de salud si se aíslan las fuentes potenciales encontradas en los residuos de mango.

Materiales

Materia prima

Cascara de mango maduro (*Mangifera indica)* deshidratado a una temperatura de 60 °C por un lapso de

Tiempo de 48 horas, posteriormente molidas en Saltillo, Coahuila.

Reactivos

Los siguientes reactivos son de grado analítico y provienen de la marca Sigma Aldrich; Etanol, Catequina, Acido Gálico, Reactivo Folin-Ciocalteau, Reactivo DPPH y Reactivo ABTS.

HCl y Butanol.

Métodos

Preparación de residuo de mango

Se compró un kilo y medio del fruto mango en un mercado local de Ramos Arizpe. Se pelaron los mangos y se recolectaron las cascaras las cuales se almacenaron en el congelador hasta ser llevadas a deshidratar en una estufa a una temperatura de 60°C por 48 horas. Después se molieron para obtener un polvo fino con un peso final de 172.22 gramos.

Extracción y Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar (DCA) con un arreglo factorial 3^3 que correspondió a las diferentes combinaciones de 3 factores con 3 niveles cada uno. Los diferentes factores fueron: Relación masa/volumen de cascara molida en etanol (1/3, 1/5, 1/7), el tiempo en ultrasonido (10, 15, 20 minutos) y por último el porcentaje de etanol que sería involucrado en la solución (10, 30 y 50% v/v). Para cada determinación se realizaron dos repeticiones, los resultados fueron analizados por un cuadro ANVA y una prueba de comparación de medias de Duncan, utilizando el paquete estadístico desarrollado por la UANL versión 1.6 de Emilio Olivares Sáenz.

Determinación de Polifenoles

Para la determinación de Polifenoles se empleó las técnicas de Folin-Ciocalteau[5] y HCl-Butanol[6].

Purificación de compuestos bioactivos

Después de determinar la mejor condición de extracción por medio del análisis estadístico, se continuo con la realización de una cromatografía de líquidos en columna empleando una resina Amberita XAD-16, empezando con una primera elución con

agua destilada para poder eliminar compuestos que fueran hidrosolubles no deseados y se continuo con la elución con etanol para poder recolectar la porción que fuera abundante en poli fenoles.

Determinación de actividad antioxidante

Las pruebas de DPPH y ABTS realizadas fue empleada siguiendo la metodología utilizada en el Departamento de alimentos de Facultad, obteniendo el porcentaje de inhibición con la siguiente formula

$$\%Inhibición = \left[1 - \left(\frac{Absorbanciadelamuestra}{Absorbanciadelcontrol}\right)\right] * 100$$

Resultados y discusión

Contenido de Polifenoles Hidrolizables

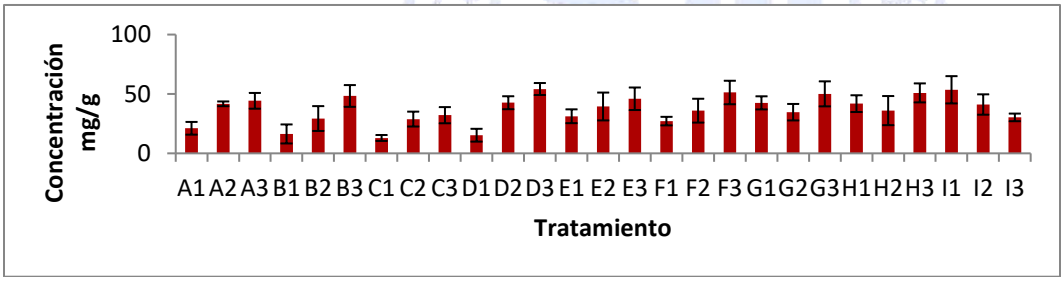
Al analizar los datos de la extracción por medio del diseño de experimentos se determinó que la mejor condición de extracción para polifenoles hidrolizables resulto ser la condición "I1"que tiene una relación masa/volumen de 1/7, con 20 minutos de extracción con ultrasonido y un 10% de etanol/agua.

Contenido de Polienoles Condensados

De la misma manera al realizar el análisis de datos, se concluyó que la mejor condición de extracción de esta prueba fue la condición "A2" que le corresponde una relación masa/volumen de 1/3, con 10 minutos de extracción con ultrasonido y un 30% de etanol/agua.

Polifenoles Totales

Para la evaluación de polifenoles totales, se realizó una sumatoria de las concentraciones obtenidas en las dos técnicas anteriores en cada tratamiento. Se obtuvieron los siguientes resultados.



Después del análisis se determinó que la mejor condición de extracción para polifenoles totales fue la "D3" (relación masa/volumen de 1/5, 10 minutos de extracción con ultrasonido y 10% de etanol/agua) ya que presento diferencias significativas con respecto a todas las demás condiciones.

Actividad Antioxidante

DPPH

DPPH	
Absorbancia del Blanco	0.041
Absorbancia promedio cascara de mango	0.071
% inhibicion	94%

ABTS

ABTS	
Absorbancia del Blanco	0.685
Absorbancia promedio cascara de mango	0.656
% inhibicion	98.52%

Infrarrojo

La muestra fue analizada en un equipo de espectroscopia infrarroja y se pudieron observar las siguientes bandas en su espectro

Numero de onda	Asignación
3344.05	Fenoles, alcoholes
2975.28	Estiramiento CH_3
1647.37	Alquenos monosustituidos
1044.28	Alcoholes primarios,
878.83	Deformación de CH_2 terminal, deformación trans

HPLC

El extracto de cascara de mango se inyecto a un equipo de HPLC con una columna c18 (150 x 2.1 mm) y un detector de masas con rango de 100 a 2000 m/z, los resultados fueron los siguientes.

Tiempo de retencion	masa	compuesto	familia
3.65	331.1	Gallic acid 4-O-glucoside	Hydroxybenzoic acids
26.92	575.1	24-Methylcholesterol ferulate	Methoxycinnamic acids
27.58	321	Gallic acid 3-O-gallate	Hydroxybenzoic acids
30.25	421.1	Mangiferin	Xanthonoid
33.51	879.1	Prodelphinidin trimer C-GC-C	Proanthocyanidin trimers
34.35	787.1	tetragaloil glucosa	hydroxubenzoic acids
35.62	939.1	Pentagalloyl glucose	hydroxubenzoic acids
37.06	545	3,4-Diferuloylquinic acid	Methoxycinnamic acids
38.29	621	Apigenin 7-O-diglucuronide	Flavones
39.61	697.5	Cyanidin 3-O-(6"-malonyl-3"-glucosyl-glucoside)	Anthocyanins

Conclusiones

De acuerdo con los resultados que se obtuvieron en los diferentes análisis se puede concluir que la cascara de mango puede ser utilizada como una fuente de obtención de polifenos que consta con una intensa actividad antioxidante y que la extracción asistida por ultrasonido es una excelente herramienta para obtenerlos. También cabe mencionar el uso de un solvente no toxico como el etanol. Se identificaron compuestos purificados en donde se utilizó un equipo HPLC y se demostró su actividad antioxidante, la cual es la que brinda valor esencial a este residuo que generalmente se desecha. Todo lo anterior se realizó con el propósito de brindar una alternativa de aprovechamiento integral de los recursos naturales.

Referencias.

[1] Salazar-González, C.; Vergara-Balderas, F.T; Guerrero –Beltrán, J.A. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos, 2009, Vol. 3-2,14-25

[2] Marta Coronado H., Salvador Vega y León, Rey Gutiérrez T. Marcela Vázquez F., Claudia Radilla V, Revista Chilena de Nutricion, 2015,Vol. 42, Nº2, 206-212

[3] Víctor Manuel Quesada Ibarguen, Juan Carlos Vergara Schmalbach

Estadistíca básica con aplicaciones en Ms Excell. Edición electrónica gratuita. Texto completo en www.eumed.net/libros/2007a/239/

[4] Antonio Serrano Martínez. Mango:composición nutricional y beneficios, Nutribonum, 2013.

http://www.cocinasalud.com/composicion-quimica-del-mango/, fecha de consulta: Mayo 10, 2017

[5] Belmares, R., Garza, Y., Rodríguez, R., Contreras, J. C. y Aguilar, C. N. (2009). Composition and fungal degradation of tannins present in semiarid plants. Electronic Journal of Enviromental, Agricultural and Food Chemistry. 8, 4, 312-318.

[6] Swain, T., & Hillis E. 1959. The phenolic constituentes of Prunus domestica. The quantitative analysis of phenolic constituents. J. Sci. Food Agric. 10:63-68.

Extracción de polifenoles de *Capsicum annuum* empleando Química Verde

Dra. Lluvia Itzel López López[1], **Diana Celia Salazar Sánchez[1],** Dra. Aidé Sáenz Galindo[1], Dr. Raúl Rodríguez Herrera[2], Dra. Adriana Carolina Flores Gallegos[2], Dr. Juan Alberto Ascacio Valdés[2].

[1] Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Orgánica, Universidad Autónoma de Coahuila

2 Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Investigación en Alimentos, Universidad Autónoma de Coahuila

celiasalazar@uadec.edu.mx.mx

Resumen

Hoy en día existen nuevas tecnologías a favor de la Química verde que pueden ser aprovechadas en la obtención de compuestos de interés, como polifenoles. La especie *Capsicum annuum* es una especie ampliamente cultivada en México, de la cual sólo sus frutos cobran importancia dentro del sector comercial. Sin embargo las hojas de esta planta poseen fitoquímicos, cuya obtención y empleo pueden ser de interés industrial. En este trabajo se realizó la extracción de polifenoles asistida por ultrasonido y microondas como tecnología híbirida, usando EtOH al 70%, en relación de 16 mL por gramo de materia prima. Se caracterizó el extracto por IR y HPLC-MS.

Extenso

Introducción

México es un país caracterizado por su diversidad en flora. Una planta representativa en México es *Capsicum annuum* (Figura 1), más bien conocida como chile serrano y está distribuida en toda la República Mexicana, además es un importante elemento en la gastronomía.[1] El cultivo de esta especie genera empleo rural y representa una fuente de ingresos para familias campesinas.[1] En el año de 2015 se registró una producción de 2.7 toneladas de chile serrano, actividad en la que participan 12 mil productores y 144 mil ha cultivadas.[2]

Figura 1. Hojas y fruto de *C. annuum.*

Exposición

Generalmente de este cultivo se aprovecha más la comercialización de los frutos, mientras que sus hojas cobran importancia solamente dentro del contexto primitivo de la medicina tradicional, esto debido a su contenido de compuestos químicos con diversas propiedades. El valor de las hojas de esta planta radica en su contenido de fitoquímicos, por lo que destaca entonces la importancia de obtener estos productos naturales. En este proceso influyen factores como la capacidad de extracción del disolvente, de la naturaleza de la matriz, la estructura de los compuestos deseados, temperatura, tiempo de extracción, relación sólido-líquido, método de extracción y presencia de interferentes.[3]

Estudios señalan que su follaje contiene compuestos que resultan benéficos para la salud. Iraklis y col. reportan que contiene agentes antivirales.[4] En 2007, se reportan los efectos de fracciones orgánicas de hojas de *C. annuum* contra el radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). Donde las fracciones de acetato de etilo y n-butanol mostraron buen efecto antioxidante. De la fracción de n-butanol se lograron separar cuatro compuestos con columnas de sílica gel y sephadex: apigenina, ácido vanílico, uracilo y apigenina 7-O-β-D-apiofuranosil(1 → 2)-β-D-glucopiranosido.[5]

Para dirigir la obtención de los compuestos dentro del marco de la Química verde, se emplearon tecnologías alternativas como el ultrasonido y las microondas, cuyas características son la reducción en el consumo de tiempo y energía. Además se emplearon solventes amigables con el medio ambiente, que además aseguren la calidad de los extractos.[6]

Materiales

Se recolectó follaje de la especie *C. annuum* cultivado en Celaya, Guanajuato, el cual fue puesto a secar a temperatura ambiente, protegido de la luz solar y almacenado. Los solventes empleados fueron agua destilada y EtOH de grado industrial. Para la determinación de polifenoles hidrolizables se empleó el reactivo Folin-Ciocalteu, ácido gálico como referencia y carbonato de

sodio. La determinación de polifenoles condensados requirió una solución de HCl-butanol (1:9), catequina como referencia y reactivo férrico.

Métodos

Se secaron las hojas de chile y se pulverizaron. Posteriormente pasaron por un colador para descartar tallos y restos de hojas grandes. La obtención de los compuestos de interés se realizó considerando cinco tratamientos distintos, variando relación de masa-volumen (g/ml): 1:8, 1:12 y 1:16, así como la concentración de EtOH en agua: 0, 30 y 70%, con un diseño factorial fraccionado, con lo cual se obtuvieron cinco extractos a)1:8, 0%, b)1:16,0%, c)1:12, 30%, d)1:8, 70%, e)1:16, 70%. Una vez establecidos los tratamientos, se sometieron a sonicación a temperatura ambiente por 20 minutos en un equipo de ultrasonido y posteriormente se les irradió en microondas a 70°C, con una potencia de 800 watts, durante 5 minutos. Finalmente se filtraron y reservaron en frascos de vidrio cubiertos de la luz y refrigeración.

Para determinar polifenoles hidrolizables, se empleó la técnica de Folin-Ciocalteu y los valores se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico/g de materia prima seca. Así también se empleó la técnica de HCl-butanol para polifenoles condensados, donde se usó catequina como referencia. Las mediciones se hicieron por triplicado.

Con el fin de descartar azúcares, aminoácidos y otros compuestos de alta polaridad, se realizó una separación cromatográfica de los extractos, con resina de Amberlita® como fase estacionaria y agua y etanol como fases móviles. De esta manera se descartó la fase acuosa y se reservó la fracción etanólica, de la cual posteriormente se eliminó el solvente para recuperar el extracto seco en polvo, los cuales se caracterizaron por cromatografía de HPLC y espectroscopia de IR.

Discusión y resultados

Los valores promedio obtenidos de polifenoles hidrolizables y condensados se grafican anexos en la Figura 2, donde se observa que los más altos rendimientos se alcanzan al emplear la relación de 1 g de materia vegetal por 16 mL de solvent, donde se obtuvo un valor de polifenoles hidrolizables de 19.48 ±6.75 mg equivalente a ácido gálico y un total de polifenoles condensados de 55.44 ±1.70 mg equivalents a catequina. Esto se puede deber a que un aumento del volumen previene la saturación del solvente, incrementando así el rendimiento.[7] Cabe señalar que la extracción de polifenoles se favorece al emplear etanol al 70%, ya que esta sustancia permite aumentar la solubilidad del material orgánico con menor polaridad que el agua,[3] sin embargo se debe evitar el uso de etanol puro como solvente, ya que una pequeña porción de agua añadida, ocasiona el hinchamiento del tejido vegetal, consiguiendo incrementar la superficie de contacto entre la matriz y el solvente.[8]

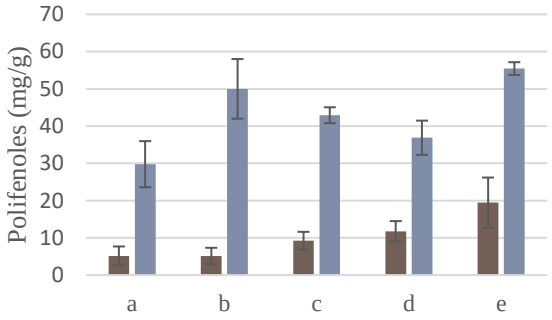


Figura 2. Polifenoles hidrolizables y condensados.

A continuación se muestra el espectro de IR obtenido del extracto con mayor cantidad de polifenoles (Figura 3) y la tabla con las bandas de absorción respectivas (Tabla 1), así como los compuestos encontrados por HPLC (Tabla 2).

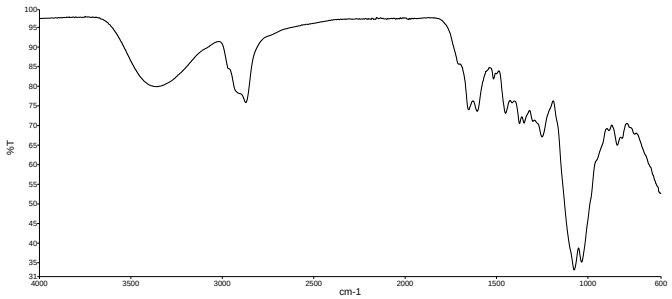


Figura 3. Espectro de IR obtenido del extracto de tratamiento e).

Tabla 1. Bandas de absorción de IR de extracto de tratamiento e).

Banda (cm^{-1})	**Asignación**	**Banda (cm^{-1})**	**Asignación**
3460	O-H	1450 débil	C-H
2860 media	$-CH_2-$	1250 media	C-O Fenol
1690 media	C=O	1100 fuerte	Alcohol C-O
1600	C=C		

Tabla 2. Compuestos encontrados en el extracto del tratamimento e).

t_R (min)	**m/z**	**Compuesto**	**Familia**
16.44	578.80	Luteolin 7-O-(2-apiosyl-glucoside)	Flavonas
30.99	578.80	Kaempferol 3-O-xylosyl-glucoside	Flavonoles
32.48	578.90	Naringin	Flavanonas
33.44	578.80	Narirutin	Flavanonas
34.56	620.80	Apigenin 7-O-diglucuronide	Flavonas
34.91	562.80	Apigenin arabinoside-glucoside	Flavonas
40.39	284.70	Kaempferol	Flavonoles

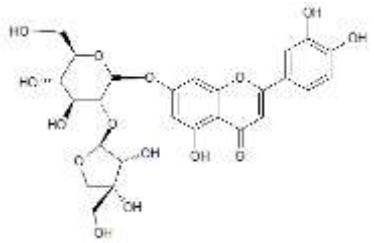


Figura 3. Estructura química de luteolin 7-O-(2-apiosyl-glucoside)

Conclusiones

El tratamiento que favorece la extracción de compuestos de interés es el e), debido al volumen y concentración del solvente empleado. Su composición son principalmente flavonas, flavanonas y flavonoles. El extracto ofrece la confianza de poder emplearse en la industria farmacéutica,[7] y alimenticia, ya que se extrajo con un solvente amigable con el medio ambiente y de grado alimenticio.

Referencias

1. Valentín, M. C. 2011. Crecimiento y extracción de macronutrientes del chile de agua (*Capsicum annuum* L.) Tesis de maestría. Universidad Autónoma Chapingo.
2. México, líder mundial en la exportación de chile: SAGARPA. 2015. Disponible en (http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa/2012/Paginas/2015B721.aspx#) (Fecha de consulta: Mayo 30, 2017).
3. Guntero, V.A. et al.. Asociación Argentina de Ingenieros Químicos. Córdoba.
4. Iraklis, B., Kanda, H., Nabeshima, T., Onda, M., Ota, N., Koeda, S., Hosokawa, M. 2016. Plant Cell Rep. 35: 1617-1628.
5. Choi, J. G., Hur, J. M., Cho, H. W., Park, J. C. 2007. Saengyak Hakhoechi, 38(3), 258-262.
6. Saini, R.K., Shetty, N.P., Giridhar, P. 2014. GC-FID/MS analysis of fatty acids in Indian cultivars of *Moringa oleifera*: Potential sources of PUFA, JAOCS J. Am. Oil Chem. Soc. 91 1029–1034.
7. Wong, J. E., Muñiz D. B., Martínez G., Belmares, R. E., Aguilar, C. N. 2015. Ultrasonics Sonochemistry. 22:474–481.
8. Pavasant, P., Shotipruk, A. 2007. Separation and Purification Technology 54 44–50.

Elaboración de un gel antibacterial humectante con quitosano de camarón como bactericida

Estephany Alejandra León Garcés, *Alejandra Castro Lino, Javier Martínez Juárez, Lidia Meléndez Balbuena, Martha Alicia Salgado Juárez, Guadalupe López Olivares.

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla Facultad de Ciencias Químicas, departamento de Química Inorgánica, calle 14 sur y Boulevard circunvalación, Colonia san Manuel edificio 105

*Autor para correspondencia: alcastro1228@yahoo.com.mx

Resumen

Debido la contaminación cruzada de enfermedades en lugares concurridos como los hospitales o lugares públicos, se tiene la necesidad de mejorar e innovar el uso de un producto que ayude a la prevención **y** eliminación de microorganismos por lo que el objetivo de este trabajo es elaborar un gel antibacterial en el cual se pretenderá sustituir el triclosan por quitosano obtenido a partir de la cascara de camarón el cual se sabe que presenta una función de bactericida siendo este evaluado por un reto antimicrobiano, además el gel debe de contener humectantes y emolientes que ayuden al cuidado de las manos, ya que en la actualidad existen geles antibacteriales pero que resecan las manos.

Introducción. Por generaciones el lavado de manos con agua y jabón ha sido considerado como parte de la higiene personal; uno de los primeros en reconocer el valor del lavado y la limpieza de las manos para mantener una buena salud, fue un médico judío, cuyo nombre era Musaiba Maimum, mejor conocido como Maimonides en 1199, dio esta lección: "Nunca olvide lavar sus manos después de tocar a una persona enferma". (Valderrama, 2002). Las infecciones relacionadas con la atención sanitaria son una de las principales causas de muertes de pacientes de todas las edades, y sobre todo de los individuos más vulnerables. Cuanto más enfermo esté el paciente, mayor es el riesgo de que contraiga alguna infección de este tipo y muera por causa de ella. La higiene de las manos es la medida primordial para reducir dichas infecciones. Aunque se trata de una acción sencilla, su incumplimiento entre los dispensadores de atención sanitaria representa un problema en todo el mundo. (Organización Mundial de la Salud, 2005)

Exposición: Gel Antibacterial

Es un producto antiséptico empleado para detener la propagación de gérmenes. (Baralt, et al., 2014); los geles a base de alcohol han sido postulados como una buena alternativa de uso para mejorar la higiene de las manos, dado que han mostrado tener una buena eficiencia antimicrobiana (Boyce y Pittet 2002; Widmer et al., 2007) ***Gel.*** Es una red tridimensional de cadenas flexibles, constituida por segmentos conectados de una determinada manera e hinchada por un líquido. (Castro y Moran 2011). Un gel también puede estar formado por macromoléculas dispuestas en forma de hebras enredadas y entrelazadas unas con otras, muchas de estas unidades están entrelazadas entre sí por los tipos de fuerzas de Van der Waal, dando lugar a unas regiones amorfas y otras cristalinas a través de todo el sistema; ***Mecanismo de acción de los desinfectantes***Los principales mecanismos de acción son los siguientes: daño de la pared celular, alteración de la permeabilidad de la membrana y la pared celular, alteración de las moléculas de proteínas y ácidos nucleicos, inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos, inhibición enzimática. (Díaz, et al 2008) ***Reto antimicrobiano.*** El antibiograma tiene como objetivo evaluar la respuesta de un microorganismo a uno o varios antimicrobianos, y traducir, en una primera aproximación, su resultado como factor predictivo de la eficacia clínica. En el método de Kirby Bauer, el microorganismo es inoculado en la superficie de una placa de agar, sobre el cual se colocan discos impregnados con una concentración conocida del antibiótico, las placas se incuban por 16-18 horas a 35- 37°C. (Petrique, 2002) ***Interpretación del antibiograma Kirby Bauer.*** La interpretación de los resultados del antibiograma (sensible, intermedio o resistente) se realiza en función de los valores establecidos por diferentes comités, como el Clinical and Laboratory Standards Institute en Estados Unidos. El medio estandarizado para la realización del antibiograma es el medio Mueller Hilton, la CMI es la dilución más baja de antimicrobiano en la que no se observa crecimiento bacteriano. Halos pequeños se relacionan con valores altos de CMI (resistentes) y halos grandes con CMI bajas (sensibles). (Cercenado y Saavedra, 2009) ***Quitosano.*** El quitosano es un poli-(b-1/4)-2-amino-2-deoxi-Dglucopiranosa, este biopolímero ha sido catalogado como el segundo más abundante en la naturaleza después de la celulosa, el quitosano presenta una serie de características únicas tales como biodegradabilidad, biocompatibilidad y no toxicidad, tienen la doble propiedad de inhibir el crecimiento de hongos, bacterias(Rodríguez et al., 2009) ***Efecto antimicrobiano del quitosano.*** Una de las principales razones para que el quitosano

posea actividad antimicrobiana es la presencia de un grupo amino con carga positiva a pH inferior a 6.3(carbono 2) el cual interactúa con las cargas negativas de la pared celular de los microorganismos, generando un rompimiento o lisis de estas estructuras, (Chen et al 1998, Rabea et al 2003)

Materiales:

Ácido clorhídrico, peróxido de hidrogeno, hidróxido de Sodio, ácido acético, matraz Erlenmeyer de 500 mL, bisulfito de sodio, vasos de precipitados, agua destilada, pipetas, alcohol etílico, carbopol, alcohol cetilico, aceite mineral, cutina, glicerina, eutanol g, trietanolamina, miristato de isopropilo, sensidiscos de papel filtro, agar Muller Hilton, pinzas, cajas Petri, cepas ATTC, solución Salina Isotonica, hisopos estériles.

Métodos: Se recolecto las cascaras de camarón, se lavaron con hipoclorito de sodio y agua poniéndose a secar a temperatura ambiente por 48 horas. Posteriormente se molió para obtener un polvo fino y se pesaron 50 gramos y se puso en un matraz Erlenmeyer de 500ml y se le humedeció con agua destilada, agregando enseguida 100 ml de ácido clorhídrico al 30 % estos fueron agregados de 5 en 5 ml para tener cuidado de no derramarse la muestra, posteriormente se puso en calentamiento a 90 °C por un tiempo de 90 minutos una vez transcurrido el tiempo se hizo un lavado con agua destilada y se filtró, realizándose la desmineralización. El siguiente paso es la decoloración en peróxido de hidrogeno al 30 % a una temperatura de 70 °C por un tiempo de 60 minutos con agitación constante hasta apreciar un color amarillo- claro. Una vez terminada la decoloración en seguida se le hace la desproteinización con hidróxido de sodio a una concentración del 12% agregando 5 gr de hidrosulfito de sodio, y se pone a calentar a una temperatura de 75°C durante un tiempo de 120 minutos, hasta este momento se llega a la obtención de la quitina, la cual se filtra y se pone nuevamente a reaccionar agregando una solución de hidróxido de sodio al 2% a 40°C por un tiempo de 120 minutos, para llevar a cabo la purificación de la muestra y se filtra. Por último se desacetila la quitina para llegar a la obtención del quitosano poniendo a reaccionar con una solución de hidróxido de sodio a una concentración del 70% a una temperatura de 100°C por un tiempo de 120 minutos, y con agitación constante una vez terminado el proceso, se somete a lavado con agua destilada hasta obtener un pH neutro y el quitosano obtenido se filtra y se pone a secar por un tiempo de 24 horas a temperatura constante. ***Elaboracion del gel humectante*** para la elaboración del gel primero se pesa la parte oleosa y se pone en calentamiento suave hasta derretir teniendo cuidado de no sobrecalentar. Por otro lado se miden 30 ml de agua y se pesan 0.4 gramos de carbopol 940, y se mezcla hasta hidratarse completamente en seguida se mezcla con la parte oleosa hasta obtener un gel uniforme en seguida se le agregan 70 ml de alcohol etílico y se sigue mezclando con agitación suave hasta que se hayan integrado todos los ingredientes finalmente se le agregan gotas de trietanolamina para que tome la consistencia de gel, finalmente se disuelve el quitosano obtenido en ácido acetico al 3% y se adiciona al gel humectante realizado. ***Reto antimicrobiano al gel humectante*** para elaborar el reto antimicrobiano se obtuvieron las cepas ATCC (American type culture collection) las cuales sirvieron como cepas de referencia, las cepas fueron E.coli, Bacillus, Klebsiella, Listeria, Candida, Staphylococcusaureus, Salmonella, Pseudonomonas, se resembraron en caldos soya tripticasa esterilizados y se dejaron incubar por 24 horas en una estufa a 37 °C. Se preparó el agar Muller Hilton y la solución salina al 0.9% de NaCl de la cual se le agregaron 2 mL a ocho tubos de ensaye los cuales fueron tapados con torundas de algodón, por separado se prepararon los discos de papel filtro en una caja petri de vidrio sellándose con cinta masking tape, a continuación se llevaron a esterilizar en un autoclave a 120°C por 15 minutos, y se vertió en las cajas petri de poliestireno estériles, hasta que se solidificara, se tomaron cepas de caldo soya tripticasa que se preparó previamente, y se diluyeron en 2 ml de solución salina isotónica al 0.5 del nefelómetro de Mc Farland, a partir de esta dilución se tomó una alícuota y se inoculo con un hisopo en el agar Mueller-Hilton, por estría masiva en toda la placa y se dejó reposar por 5 min, una vez pasado el tiempo se colocaron los discos de papel filtro impregnados del gel con quitosano por triplicado, metiéndose a incubar por 24 horas a 37°C a las 24 horas, se sacan de la incubadora y se procede a la lectura de los resultados.

Discusión y resultados: ***Prueba de solubilidad***. El quitosano que se obtuvo fue caracterizado con la prueba de solubilidad en ácido acético al 3%, y 6% ya que esta prueba confirma la presencia de este al observar que la solución queda transparente y viscosa. ***Espectroscopia de infrarrojo*** Para la caracterización de la muestra se empleó el equipo CARY 630 FTIR de punta de diamante. En los espectros de IR que se muestra en la figura 1 se observan las bandas características de los grupos funcionales del quitosano, tales como la banda de las aminas que se encuentra en la región de los 3600 cm^{-1} y 1550 cm^{-1}; de igual manera se observa la banda del grupo amida en la región de los 1600 cm^{-1}.

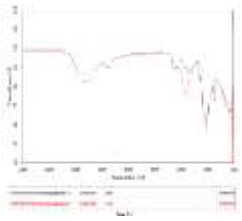


Figura 1 espectro de Infrarrojo que se realizó al quitosano obtenido en el laboratorio

En cuanto al gel obtenido presento buena consistencia y al aplicarse en las manos presentaba buena absorcion sin resequedades las manos teniendo buena apariencia, como se puede observar en la fugura 2

Figura 2 gel antibacterial humectante

Figura 3 Resultados de E. coli

Ayala Valencia menciona que el quitosano es un biopolímero que puede tener actividad antibacteriana y antifúngica, su efecto inhibitorio puede depender de cuatro factores: microorganismo (especie y fase de desarrollo), factores intrínsecos del quitosano (peso molecular, solubilidad, grado de desacetilación, densidad de carga positiva y capacidad quelante), estado físico del quitosano (en estado líquido o sólido) y factores ambientales (pH, temperatura y tiempo). Es por ello que se pudo observar que el gel humectante que se realizó y evaluó la actividad antimicrobiana solo en *Escherichia coli, klebsellia y Staphylococcus* **fueron fue más susceptible al contacto del gel con quitosano. Figura 3**

Conclusiones

En cuanto a la inhibición del crecimiento bacteriano, se observó que la efectividad del alcohol-gel como antimicrobiano depende de diversos factores.

Con base en las evidencias y análisis de resultados, se considera, pertinente continuar o profundizar en el trabajo.

Referencias.

1.- Álvarez Rivera, R.2004 Formulación y Evaluación de un gel antiperspirante, antiséptico y refrescante para el cuidado de los pies Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer, Facultad de Química y Farmacia-Biología , Pág. 6-42.

2.- **Tesis** Universidad De El SalvadorFacultad De Quimica Y Farmacia Propuesta De Una Formulacion De Alcohol Gel Y Su Respectivo Procedimiento De Registro Trabajo De Graduacion Presentado Por Lisseth Carolina Castro Morales, Mario Ernesto Moran AguilarLicenciatura En Quimica Y FarmaciaJunio, 2011.

3. - Boyce J, Pittet D. 2002 Guideline for hand hygiene in Health care settings: recommendations of the HealthcareInfection Control Practices Advisory Committee andthe HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene TaskForce. Infect Control HospEpidemiol, 23:1-44.

4.- Rafael María Baralt Libia Vera, Erick Ríos, Kiara Núñez, Yarley Vázquez, 20014 San Francisco, Noviembre De República Bolivariana De Venezuela, Universidad Nacional Experimental

Desarrollo de un método cromatográfico como ensayo de identidad para el control de calidad de un remedio herbolario para el tratamiento de enfermedad renal.

Guadalupe Yáñez Ibarra[1,3], M en C. Angélica Nallelhy Rodríguez Ocampo[1], M en C. Ana María Hanan Alipi[2], Dr. Javier German Rodríguez Carpena[3], Dr. en F. Gabriela María Ávila Villarreal[1,3].

[1] Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas y Farmacéuticas, [2] Unidad Académica de Agricultura, [3] Unidad Especializada en I+D+*i* en Calidad de Alimentos y Productos Naturales - CENiT[2], Universidad Autónoma de Nayarit.

gpe.yanez12@uan.edu.mx

Resumen

El uso de plantas medicinales sigue siendo una de las primeras opciones de tratamiento para la población a nivel mundial, por lo que garantizar su calidad, eficacia y seguridad resulta una prioridad. Es por ello que se han establecido métodos estándar que pueden ser utilizados como herramientas para la determinación del control de calidad, uno de ellos es la cromatografía en capa fina, método descrito en las farmacopeas como una alternativa para implementar posibles ensayos de identidad. En el presente trabajo se llevará a cabo el desarrollo de un método cromatográfico como control de calidad de un remedio herbolario a base de mezcla de plantas medicinales que se utiliza ampliamente en la medicina tradicional como auxiliar del tratamiento en enfermedades renales.

Introducción

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la medicina tradicional (MT) como todo el conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, sean o no explicables, usados para el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales[1]; la MT es utilizada para tratar una variedad de enfermedades, incluyendo las enfermedades renales. Datos reportados por la OMS indican que 80% de la población mundial utiliza plantas medicinales para satisfacer o complementar sus necesidades de salud; recomendando una evaluación científica de las propiedades y control de calidad de los extractos para determinar su seguridad y corroborar científicamente su eficacia farmacológica[2]. De acuerdo al Reporte de Salud Mundial de la OMS y al proyecto de Carga Global de la Enfermedad, las enfermedades renales y del tracto urinario contribuyen con aproximadamente 850,000 muertes cada año[3]. Según datos del INEGI (2009), estas enfermedades son la 10° causa de muerte en nuestro país contribuyendo con el 28% de todas las muertes. Existen diversas alternativas en la MT para tratar estas afecciones, una ampliamente utilizada en México es complementar el tratamiento con infusiones a base de una mezcla de plantas medicinales[4]. El objetivo de este trabajo fue definir un ensayo de identidad y control de calidad para un remedio herbolario (RH) comercializado en mezcla vegetal para infusión y cápsulas, el cual declara contener: Guásima (*Guazuma ulmifolia Lam;* Sterculiaceae/Malvaceae *Juss*[5]), Cola de caballo (*Equisetum hyemale L;* Equisetaceae), Tres costillas (*Serjania triquetra;* Sapindaceae) y Pingüica (*Arctostaphylos pungens;* Ericaceae). El RH en cápsulas fue evaluado conforme a los numerales 8 y 10 de la NOM-073-SSA1-2015, estabilidad de fármacos y medicamentos, así como de remedios herbolarios, almacenado bajo condiciones críticas 40ºC ± 2ºC /75% HR ± 5% HR mediante perfiles cromatográficos con una frecuencia de

[1] OMS, 2017.
[2] OMS, 2004
[3] Schieppati, 2005
[4] GPC, 2009
[5] Barajas, 2014

análisis de 0, 1, 2, 3, 6 y 9 meses. La mezcla vegetal para infusión fue evaluada macroscópicamente y conforme a lo establecido en los MGA-FH 0040 y 0050 de la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos.

Exposición

A pesar de que la información sobre plantas medicinales ha sido transmitida de generación en generación, demostrar su calidad, seguridad y eficacia resulta primordial, las técnicas científicas actuales nos permiten obtener la información necesaria para poder estandarizar sus contenidos y demostrar científicamente su seguridad y eficacia farmacológicas[6]. Los productos a base de plantas medicinales tienen que cumplir requisitos legales relacionados con su fabricación, constitución, control, almacenamiento y distribución[7].

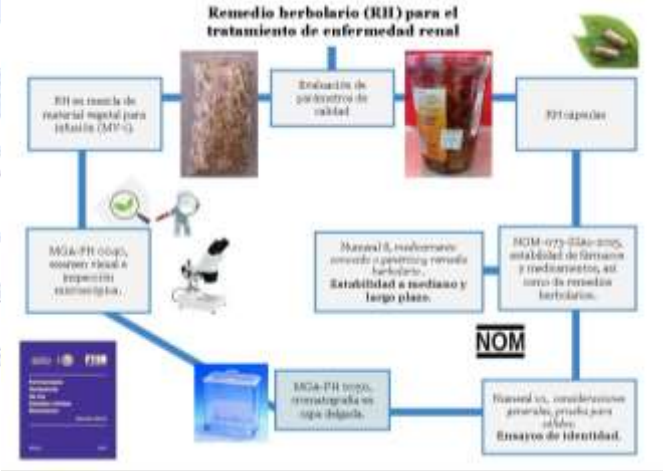
Materiales

El remedio herbolario objeto de estudio se adquirió de manera comercial en la ciudad de Tepic, Nayarit en dos presentaciones. La identificación de las especies vegetales contenidas en la mezcla del MV-i (Figura 1a) se realizó separando por similitud morfológica y acorde a lo establecido en el método general de análisis MGA-FH 0040, examen visual e inspección microscópica de la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos y en colaboración con la M.C. Ana María Hanan Alipi por medio de métodos macroscópicos.

Métodos

Preparación de Extractos: El MV-i se pulverizó en un molino de cuchillas, posteriormente se realizó la extracción (sólido-líquido por triplicado) vía maceración con una solución hidroalcohólica (85:15 etanol-agua) y se dejó en reposo por un periodo de 72 horas a temperatura ambiente. El disolvente se decantó y se eliminó por destilación rotatoria a presión reducida hasta obtener el extracto seco. En el caso de las cápsulas, desde un inicio se mantuvieron en un horno a 40ºC ± 2ºC /75% HR ± 5% HR, tomándose muestras con una frecuencia de análisis de 0, 1, 2, 3, 6 y 9 meses, realizando la extracción de la misma forma que en el MV-i.

Ensayo de identidad MGA-FH 0050, cromatografía en capa delgada (CCF): Definición del perfil cromatográfico por (CCF)**.** Se llevó a cabo un análisis cromatográfico preliminar de los extractos para la obtención de la fase móvil. Con el objetivo de determinar cuál es la fase óptima para la elución. En placas con base de aluminio gel de sílice 60 F_{254} con 0.2 mm de espesor de capa; una vez obtenida la fase móvil ideal se procedió a evaluar todas las muestras por CCF. Las placas se observaron bajo luz UV y posteriormente se revelaron con ácido sulfúrico al 10% a 100ºC.



Discusión y resultados

[6] OMS, 2000

[7] Bauer y Tittel, 1996

Al analizar el RH conforme a lo recomendado por el MGA-FH 0040, se identificaron los 4 de los componentes mayoritarios reportados como contenidos en el MV-i: Guásima (*Guazuma ulmifolia Lam;* Sterculiaceae/Malvaceae *Juss*[8]), Cola de caballo (*Equisetum hyemale L;* Equisetaceae), Tres costillas (*Serjania triquetra;* Sapindaceae) y Pingüica (*Arctostaphylos pungens;* Ericaceae) como se observa en la Figura 1. El control de calidad de las muestras de cápsulas se llevó a cabo por comparación cromatográfica con el extracto obtenido de la mezcla de material vegetal de la cual se corroboró su identidad o especie, utilizándose la mezcla de MV-i como control. Se realizaron diferentes CCF utilizando los extractos y diferentes fases móviles hasta la obtención de la fase ideal (Diclorometano:Acetato de etilo, 9:1), en la cual al realizar la CCF se pudo corroborar la identidad de la muestra al compararla con la referencia (MV-i); así como también evidenciar que no se generaron productos de degradación derivados del almacenaje a condiciones críticas (tiempo o temperatura[9]) al obtener en la cromatoplaca manchas similares en cuanto a color y ubicación en cada una de las muestras obtenidas por frecuencia de análisis (Figura 2).

Figura 1: Vista en microscopio estereoscópico a) Fruto de guásima, b) Tallo de cola de caballo, c) Bejuco de tres cosillas, d) Tallo y hoja de pingüica.

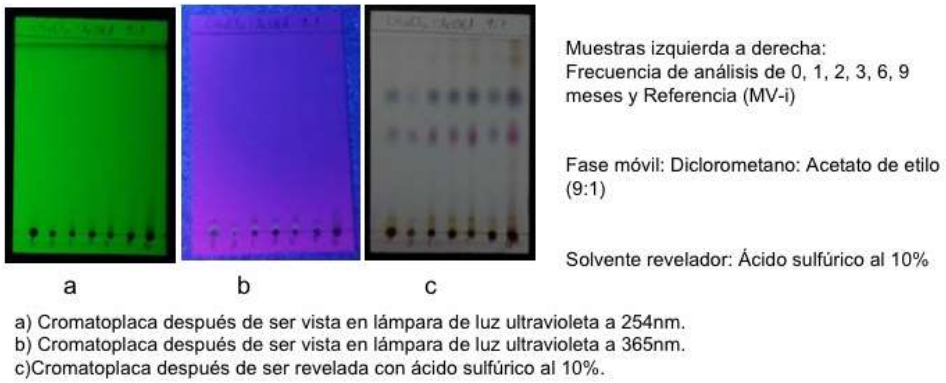


Figura 2: CCF 1-6 muestras de cápsulas, 7 referencia MV-i

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

Conclusiones

Se identificaron los cuatro componentes mayoritarios del MV-i acorde a lo establecido en el MGA-FH 0040. Como ensayo de identidad se propone una determinación por cromatografía en capa fina, que para esta mezcla en específico la fase móvil ideal a utilizar es diclorometano: acetato de etilo 9:1. El RH en cápsulas cumple con el ensayo de identidad al no presentar variaciones en los compuestos obtenidos en la CCF bajo las condiciones de temperatura y humedad indicadas en el numeral 8.5.1 de la NOM-073-SSA1-2015. Proponiendo así un ensayo de identidad para evaluar el control de calidad de productos que contengan la mezcla de *Guazuma ulmifolia*, *Equisetum hyemale*, *Serjania triquetra* y *Arctostaphylos pungens* conforme a los paramétros establecidos por la FHEUM.

Referencias

[8] Barajas, 2014

[9] Norma Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-2015

1. OMS. MEDICINA TRADICIONAL: DEFINICIONES. [online]: http://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/
2. **OMS (2004). NUEVAS DIRECTRICES DE LA OMS PARA FOMENTAR EL USO ADECUADO DE LAS MEDICINAS TRADICIONALES. [online]: http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr44/es/**
3. **Schieppati A, Remuzzi G. (2005). CHRONIC RENAL DISEASE AS A PUBLIC HEALTH PROBLEM: EPIDEMIOLOGY, SOCIAL, AND ECONOMIC IMPLICATIONS. KIDNEY INTERNATIONAL; 68 (Supplement 98): pp. S7–S10, DOI: 10.1111 / j.1523-1755.2005.09801.x.**
4. **Guía de Práctica Clínica (2009). PREVENCIÓN, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA TEMPRANA. México; Secretaría de Salud (pp 7-10). Link: http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/335_IMSS_09_Enfermedad_Renal_Cronica_Temprana/EyR_IMSS_335_09.pdf**
5. **León Jiménez, Vianey (2005). Tesis de grado: ELABORACIÓN DE UNA BASE DE DATOS DE PLANTAS UTILIZADAS EN LA MEDICINA TRADICIONAL DE MÉXICO. Pachuca, Hidalgo. [Online]: https://repository.uaeh.edu.mx/bitstream/bitstream/handle/123456789/10960/Elaboracion%20base%20de%20datos%20medicina%20tradicional.pdf?sequence=1**
6. **OMS, (2000). GENERAL GUIDELINES FOR METHODOLOGIES ON RESEARCH AND EVALUATION OF TRADITIONAL MEDICINE. Link: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/66783/1/WHO_EDM_TRM_2000.1.pdf**
7. **Bauer, R, Tittel, G. (1996). QUALITY ASSESSMENT OF HERBAL PREPARATIONS AS A PRECONDITION OF PHARMACOLOGICAL AND CLINICAL STUDIES. Phytomedicine vol. 2 (3), pp. 193-198.**
8. **Barajas Villamizar, Leidy *[et al]* (2014). GUÁSIMO. *Guazuma ulmifolia.* Fundación Universitaria Juan N. Corpas. Bogotá. Link: http://www.biocomerciocolombia.com/docs/biocomercio_andino/Componente%201/Monografias/Monografia%20Guazuma%20ulmifolia.pdf**
9. **Norma Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-2015, estabilidad de fármacos y medicamentos, así como de remedios herbolarios.**

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

Extracción de pectina a partir de residuos de *Agave lechuguilla*

Joaquín Gaona Vázquez[1,*], Leopoldo Rios-Gonzalaez[2], Lourdes Morales-Oyervides[1], Julio C. Montañez[1]

[1] Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Coahuila

[2] Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma de Coahuila

* joaquin_gaona@uadec.edu.mx

Resumen

En la actualidad existen muchas alternativas para el uso del material de residuo entre las que destacan metodologías como el de las tres R que consiste en reducir, reusar y reciclar la mayor proporción de materiales usados en los diferentes procesos de producción agrícola. El *Agave lechuguilla* es una planta muy común en las áreas semiáridas y áridas del centro y norte de México y suroeste de Estados Unidos. Sin embargo, esta planta hasta hace pocos años solo se utilizaba para extraerle la fibra necesaria para elaborar ciertos productos (tapetes, cuerdas, entre otros) y al residuo no se le daba ningún uso. Es por ello la importancia de poder aprovechar al máximo este residuo como la extracción de pectina. El objetivo de este estudio fue optimizar la extracción de la pectina del residuo de Agave lechuguilla utilizando un tratamiento térmico utilizando únicamente agua como medio de extracción. Para ello se evaluó el efecto de diversos factores (relación sólido-líquido, la temperatura y el tiempo de tratamiento) en el rendimiento total de pectina.

Introducción

En el norte de México, una de las principales actividades económicas en las zonas áridas y semiáridas es la recolección y venta de productos de origen vegetal.[1]

El uso de residuos agroindustriales se presenta como una alternativa para la obtención de fitoquímicos con valor activo.[2]

Figura 1. Planta de *Agave Lechuguilla*

La fibra de *Agave lechuguilla* (Figura 1), con fines comerciales se obtiene del cogollo, formado por las hojas más tiernas de la planta, que se encuentran agrupadas al centro de ésta, y del cual proviene la fibra de mayor calidad y valor comercial, ya que poseen una menor lignificación en comparación con las hojas laterales.[3] Es por esta razón que es muy importante saber aprovechar no solo la parte más importante de la planta sino tambien saber aprovechar los residuos generados.[4]

Se han realizado diversos estudios con el objetivo de aprovechar al máximo los residuos tanto del agave lechuguilla como de otros residuos vegetales y en algunos casos los resultados desafortunadamente no han sido los esperados, sin embargo, en otros casos los resultados han sido muy alentadores.[5] En el presente estudio se propone aprovechar el residuo del agave lechuguilla mediante la extracción de peptina de los mismos. La pectina es un polisacárido de importancia industrial que se ha utilizado como agente gelificante y espesante en la industria de los alimentos.[6]

En el 2016, Diego Giordani y colaboradores, extrajeron pectina a partir de cascara de maracuyá, solo que en el caso de ellos en vez de utilizar solo la temperatura como es en el caso de este documento, ellos utilizaron ultrasonido, obteniendo resultados favorables al final de su experimento.[7]

Para hacer un mejor aprovechamiento del material de residuo del agave lechuguilla, se trabajó con diferentes factores (tiempo, temperatura y relación sólido-líquido) para así poder hacer un estudio detallado sobre el rendimiento de extracción de pectina de *A. lechuguilla*.

Materiales y métodos

Materiales

El residuo de *A. Lechuguilla* fue obtenido de un proveedor local, el cual fue secado a temperatura ambiente durante 3 días. El material seco fue reducido de tamaño en un molino (Rest, Alemania). Posteriormente, el residuo fue tamizado utilizando una malla #100 con un tamaño de partícula de 0.15 micras.

Extracción de pectina

El tratamiento térmico se realizó en un volumen de 100 mL de agua destilada y se llevo a cabo en un baño tipo 180 Water Bath. El método de superficie de respuesta con Box-Behnken fue utilizado para encontrar las condiciones óptimas del proceso de extracción. Los factores evaluados fueron relación sólido-líquido (2, 4 y 6 % m/v), la temperatura (70, 80 y 90˚C) y el tiempo de tratamiento (20, 40 y 60 minutos). Los factores, los códigos asignados y los niveles se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Factores evaluados, niveles y códigos asignados.

Factor	Niveles		
	-1	0	1
S/L (%, X_1)	2	4	6
Tiempo (min, X_2)	20	40	60
Temperatura (ºC, X_3)	70	80	90

Métodos analíticos

La recuperación de la pectina se realizó siguiendo la metodología reportada por Diego Giordani y colaboradores.[7] Finalizando el tratamiento térmico, las muestras fueron filtradas con ayuda de un papel filtro de 7 µm de porosidad (hecho a base de celulosa) y se agregó etanol al 96 % a una relación 1:1 v:v. Posteriormente, se realizó una segunda filtración (con el mismo tipo de filtro que la primera). El sólido recuperado se secó a una temperatura de 60 ºC por un tiempo de 12 horas en un horno tipo mufla. El rendimiento de extracción (*Y*, %) fue calculado como sigue:

$$Y = \frac{m_p}{m_o} \qquad \text{Eq. (1)}$$

donde m_p es la masa del producto seco obtenido (g) y m_o la masa inicial de la muestra (g).

Análisis de datos

El análisis estadístico se realizó mediante el software STATISTICA 7.1. (StatSoft, Inc., 2005, USA) y Excel (Microsoft, 2010, USA).

Discusión y resultados

Los resultados de extracción de pectina de lechuguilla se observaron en un rango de 6.855 – 12.95 % (Tabla 2). De acuerdo al análisis estadístico, solo mostraron un efecto significativo ($P < 0.05$) el efecto lineal y cuadrático de la temperatura y la interacción entre X_1X_2.

Estos resultados se aprecian en el gráfico de Pareto mostrado en la Figura 2, donde se puede observar que el mayor efecto sobre la extracción de pectina lo tiene la interacción entre los factores S/L y el tiempo.

Tabla 2. Matriz experimental Box-Behnken y resultados del rendimiento de extracción de pectina de *A. lechuguilla*.

Experimento	**X_1**	**X_2**	**X_3**	**Y**
1	1	0	-1	6.855
2	1	-1	0	9.933
3	1	1	0	9.727
4	1	0	1	9.716
5	0	-1	-1	8.008
6	0	1	-1	7.966
7	0	0	0	11.2
8	0	-1	1	10.95
9	0	1	1	10.741
10	-1	0	-1	1.183
11	-1	-1	0	10.4
12	-1	1	0	12.95
13	-1	0	1	10.033

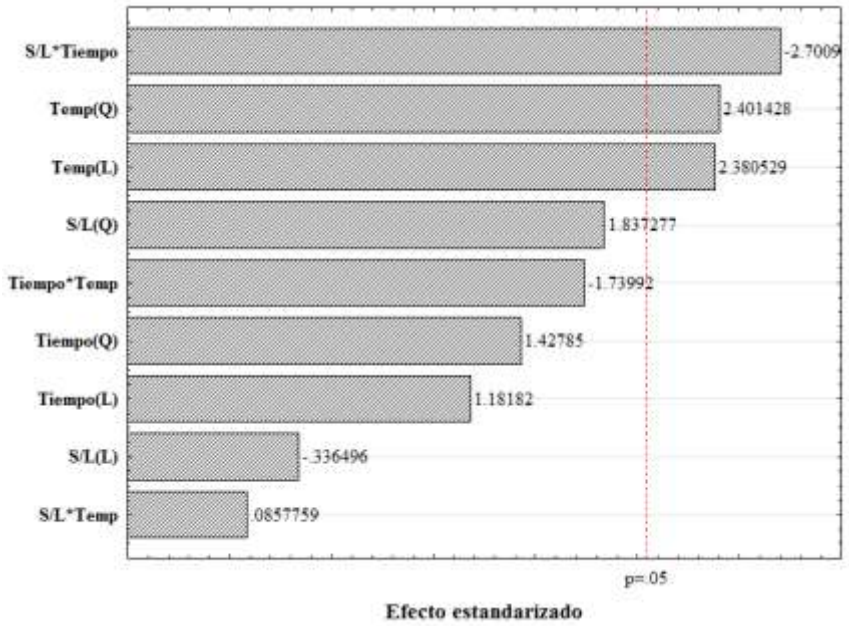


Figura 2. Gráfico de Pareto mostrando el efecto estandarizado de las variables independientes y sus interacciones sobre el rendimiento de la extracción de la pectina.

El siguiente polinomio de segundo orden que incluyó solo los factores significativos fue determinado para describir el efecto de los factores sobre el rendimiento de extracción de la pectina.

$$Y = 11.20 + 0.54X_3 - 1.03{X_3}^2 - 0.88X_1X_2 \qquad \text{Eq. (2)}$$

donde Y es el rendimiento de la pectina (%), X_1, X_2 y X_3 son los factores expresados en códigos de los tres factores independientes que corresponden a S/L, tiempo y temperatura, respectivamente. Los gráficos 3D de superficie de respuesta fueron obtenidos mediante esta ecuación (Figura 3).

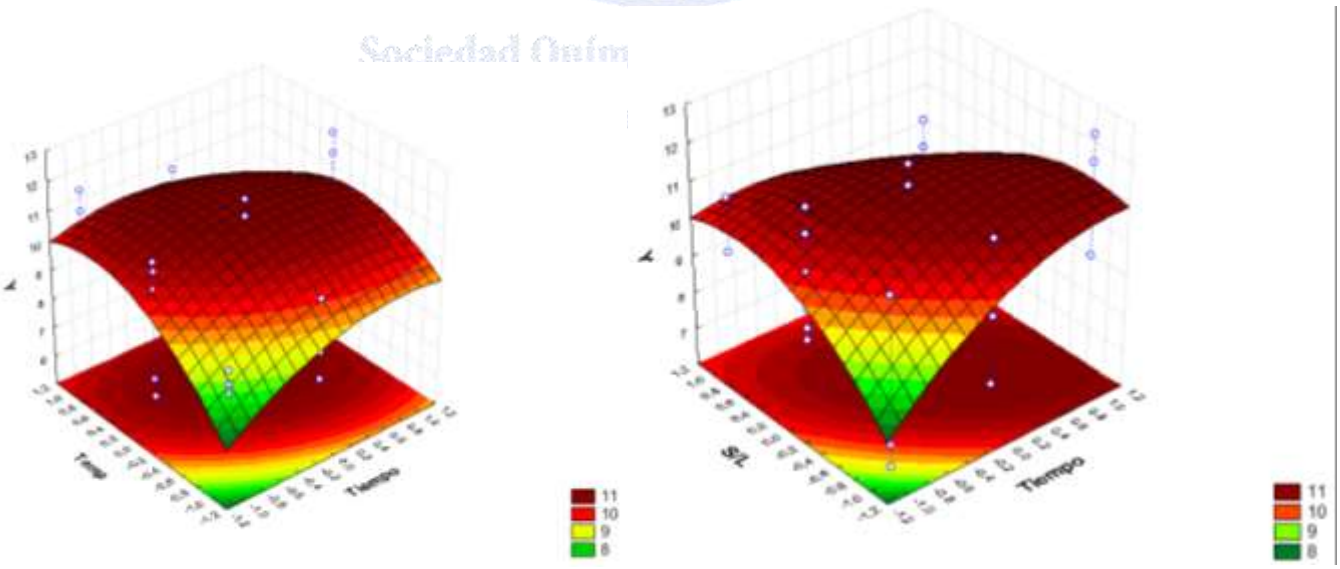


Figura 3. Superficies de respuesta mostrando los efectos entre dos factores (el factor no mostrado se mantuvo en 0).

Con ello se puede observar de manera mas clara que a medida que se incrementa la temperatura y el tiempo, también se incrementa el rendimiento de extracción de peptina. Por otro lado, cuando se analiza el efecto de la relación S/L vs el tiempo, se puede observar claramente el efecto interactivo entre los factores. Es decir, si el tratamiento se lleva acabo con el mínimo nivel de tiempo evaluado (20 min), el rendimiento de extracción disminuye a medida que se disminuye la relación S/L. En cambio, si se utiliza el máximo nivel de tiempo (60 min), el punto óptimo se obtiene en un nivel intermedio de la relación S/L.

De acuerdo al análisis de datos, los niveles óptimos de los factores evaluados en el proceso de extracción de peptina fueron: X_1= -0.20, X_2 = 0.28, X_3 = 0.19, los cuales corresponden a una relación S/L de 3.5 % m/v, un tiempo de 45.58 min y una temperatura de 81.86 ºC. Utilizando estas condiciones optimas se espera obtener un rendimiento de extracción de 11.29 ± 1.24 %. Estos valores se encuentran en rango con lo reportado para la extracción de peptina de diferentes fuentes utilizando un tratamiento térmico en hornos tipo mufla.

Conclusiones

Las mejores condiciones de extracción de pectina de residuos de *A. lechuguilla* fueron empleando un tiempo de extracción de 45.58 min, a temperatura de 81.86 ºC y relación sólido-líquido de 3.5 g/100 mL, obteniéndose un rendimiento del 11.29 ± 1.24 %. La pectina obtenida presenta una alternativa para su uso como aditivo en la industria alimentaria, y al mismo tiempo permitirá valorizar los residuos generados en el proceso de extracción de fibras de lechuguilla generando un valor agregado a los productores de la región.

Referencias

9. Marta C. Cervantes Ramírez. *Anais do X Encontro de Geógrafos da América Latina*, 2005, 3388-3407.
10. Villarreal R., L. y R. K. Maití. *Turrialba*. 41(3), 1989, 423-429.
11. Amado, T.J.C, S.B. Fernandez y J. Mielniczuk. *Journal of Soil and Water Conservation* 53(3),1998, 268-271.
12. Castro Filho, C., O. Muzilli y A.L. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 22, 1988, 527-538.
13. Reyes A. J. A; J. R. Aguirre, R. y C. B. Torr. *Bol. Soc. Bot*. 2000, 67:75-88.
14. Josep Yuste Puigvert, Salvador Garza. Tecnología e higiene de los alimentos. 2003, 93-98.
15. Diego Giordani; Rafael Lutckemier Poliana; Deyse Gurak. *El Sevier*. 2016, 110-115.

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

Estudio fitoquímico preliminar y evaluación de la toxicidad oral aguda de *Aleuritesmoluccana*

José Becerra González[1,2], Dr. Javier Germán Rodríguez Carpena[2], Dra. Angélica Berenice Aguilar Gudarrama[3], Dr. en F. Gabriela María Ávila Villarreal[1,2].

[1] Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas y Farmacéuticas, [2] Unidad Especializada en I+D+*i* en Calidad de Alimentos y Productos Naturales - CENiT[2], Universidad Autónoma de Nayarit. [3]Centro de Investigaciones Químicas IICBA, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

jose.becerra@uan.edu.mx

Resumen

Se evaluó la toxicidad oral aguda (TOA) de un extracto hidroalcohólico de semillas *Aleurites moluccana* siguiendo un protocolo modificado de la guía 420 de la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos (OECD). Los resultados de TOA demuestran que un extracto hidroalcohólico de semillas *Aleurites moluccana* es potencialmente tóxico al ser consumida por el humano, dado que se clasifica dentro de la categoría 4 de la GHS "nocivo en caso de ingestión". Estos resultados preliminares indican la necesidad de determinar su toxicidad en modelos sub-crónicos de evaluación. Adicionalmente con objetivo de determinar los componentes mayoritarios se inició con un fraccionamiento cromatográfico del extracto hidroalcohólico para determinar el número de componentes mayoritarios presentes en la muestra.

Introducción

Aleurites moluccana (L.), Euphorbiaceae, conocido popularmente como "Candlenuttree", "IndianWalnut". Es árbol originario de Malasia, Polinesia y las Islas del Mar del Sur, sin embargo, fue introducido en la década de los "80" a Brasil como una planta de uso ornamental[10]. Actualmente en la ciudad de Tepic, Nayarit se encuentra disponible en el mercado un producto denominado "almendra quema grasa" (semillas *Aleurites moluccana*) al cual se le atribuyen múltiples efectos benéficos. Sin embargo, no se han reportado estudios preclínicos oclínicos que puedan validar dichas declaraciones hechas por algunas compañías o distribuidores sobre el valor terapéutico de las semillas, incluyendo su uso para bajar de peso[11].

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la toxicidad oral aguda del extracto obtenido se las semillas*A. moluccana* que permita determinar el rango de toxicidad mediante una metodología aceptada por la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos (OECD), así como clasificarla acorde al Sistema Globalmente Armonizado (GHS); así mismo, determinar los componentes responsables de la toxicidad de las semillas *Aleurites moluccana*.

Materiales y métodos

Material vegetal: Se obtuvieron de manera comercial las muestra en establecimientos en la ciudad de Tepic, Nayarit. Las semillas fueron identificadas por comparación morfológica microscópica y macroscópica con la descripción de la especie[12].

Animales de experimentación: se utilizaron ratones hembra CD-1 de 25 semanas de edad. Los animales fueron mantenidos bajo las condiciones establecidas por la NOM-062-ZOO-1999 para el cuidado y uso de animales de laboratorio.

Preparación del extracto orgánico: la obtención del extracto hidroalcohólico de semillas *Aleurites moluccana*(EEAm) se obtuvo mediante maceración, seguido a esto, el producto resultante se colocó en un frasco estéril con una solución de etanol-agua proporción 85:15 respectivamente por 72 h. Finalmente el disolvente fue filtrado y evaporado con un rotaevaporador BUCHI® a presión y temperatura reducida. El proceso se realizó por triplicado para cada etapa de maceración.

Fraccionamiento cromatográfico: Para el aislamiento de los componentes mayoritarios de las semillas *Aleurites moluccana* se utilizaron técnicas cromatográficas convencionales como cromatografía en columna abierta (CC) monitoreada mediante cromatografía en capa fina (CCF). En CC, como fase estacionaria se utilizó gel sílice 60 (70:230) con un tamaño de partícula

[10]Quintao, et al., 2011.

[11]González-Stuart, 2013.

[12]Duke, 1985.

de 0.063-0.200mm Merk®, como fase móvil se utilizaron; cloroformo, acetato de etilo, metanol y agua. Se colectaron fracciones de 25 mL que fueron todo el tiempo monitoreadas por CCF con cromatoplacas base de aluminio kieselgel 60 F_{264} con un milímetro de espesor Merk®.Ensayo de toxicidad oral aguda: El ensayo consistió en dos pasos, de acuerdo como lo dicta el protocolo 420 de laOECD. En la primera etapa, se administró a un solo animal una dosis única de 300mg/Kg, la cual fue seleccionada por la escasez de datos reportados acerca de estudios de toxicidad del extracto de las semillas*A. moluccana*.En la segunda etapa, 10 animales hembra fueron divididos en grupos de 5 animales (un grupo control y de ensayo). El grupo de ensayo fue administrado con una dosis de 300mg/Kg de peso corporal con EEAm intragástrica usando como vehículo solución salina (SS). Mientras que el grupo control se administró únicamente con SS (1 mL/kg). Durante todo el ensayo, fueron monitoreados signos evidentes de toxicidad y mortalidad de los animales durante 24 h posteriores a la administración y se mantuvieron por 14 días.Peso relativo de órganos: El peso de los órganos de todos los ratones se registró al final del experimento. Se disecaron el riñón, el hígado y el corazón y en los grupos de ensayo y control. El peso relativo del órgano (ROW) se calculó con la siguiente fórmula: ROW = (peso del órgano / peso corporal) x100.Evaluacióndelapérdida/gananciadepesoenratones: El peso inicial, peso intermedio y peso final se registraron durante el estudio para el grupo de ensayo y control. Se calculó la diferencia de peso final menos la inicial.Análisis estadístico: El análisis estadístico se realizó con el programa Microsoft Excel® complemento “Herramientas para análisis y Solver” con un nivel de significación de $p<0.05$, utilizando la prueba *t*Student para dos muestras suponiendo varianzas desiguales. Los datos se analizaron de manera independiente para cada grupo (control y ensayo) relativo a la evaluación de pérdida o ganancia de peso; y contrastados el grupo control y ensayo para el porcentaje de peso relativo por cada órgano.

Resultados

Se realizó un primer estudio preliminar en un animal con una dosis exploratoria de 300 mg/kg, el cual mostró signos de toxicidad evidentes, por lo que se decidió utilizar dicha dosis para el estudio principal (Fig. 1). En la segunda etapa, los animales del grupo de ensayo (dosis 300mg/Kg) mostraron apatía moderada e intensa posterior a la administración y que perduró por dos a tres días; se observó disminución del movimiento, disminución de reflejos, desorientación, piloerección, caída de pelaje, disminución de la apertura ocular y moderadas palpitaciones estomacales. Mientras que el grupo control no presentó ninguna alteración clínica observable. A las 22:20 horas posteriores a la administración, un animal del grupo de ensayo presentó convulsiones violentas acompañadas jadeos, por lo cual se procedió a practicarle eutanasia por dislocación cervical utilizando cloroformo como agente sedante.Con base a los signos de toxicidad, el EEAm puede ser clasificado dentro de la categoría 4 acorde al sistema GSH (H302 Código de declaración de peligro) como un extracto Nocivo en caso de ingestión[13]; basado en la directriz 420 de la OCDE.

Sociedad Química de México, A.C.
“La química nos une”

[13]UnitedNations, 2007.

6.1793g de extracto de *A. moluccana* fueron sometidos a CC. Como fase móvil se utilizó un gradiente de polaridad: cloroformo 100%, acetato de etilo-cloroformo 5:5, acetato 100%, acetato de etilo-metanol 98:2, 95:5, 9:1, 5:5, metanol 100% y agua. Se colectaron 208 fracciones de 25mL cada una y éstas fueron monitoreadas por cromatografía en capa fina (Figura 4). Las fracciones que mostraron similitud cromatográfica en sus componentes, fueron mezcladas en 23 reuniones en total y se obtuvo su rendimiento (Tabla 1).

Tabla 1. Rendimiento de las fracciones obtenidas por cromatografía en columna del extracto hidro-alcohólico de las semillas de *Aleuritas moluccana*.

Rendimiento (%)	Peso (mg)	Fracciones mezcladas	Reunión	Rendimiento (%)	Peso (mg)	Fracciones mezcladas	Reunión
0.032	2	117-118	**Rn-13**	0.205	12.7	1-7	**Rn-1**
0.277	17.1	119-124	**Rn-14**	0.163	10.1	12-23	**Rn-2**
0.230	14.2	125-128	**Rn-15**	4.065	251.2	26-31	**Rn-3**
21.300	1316.2	140-141	**Rn-16**	0.168	10.4	32-34	**Rn-4**
31.295	1933.8	142-146	**Rn-17**	0.106	6.6	42-49	**Rn-5**
14.697	908.2	147-154	**Rn-18**	0.859	53.1	50-54	**Rn-6**
14.864	918.5	155-175	**Rn-19**	0.320	19.8	56-58	**Rn-7**
2.822	174.4	176-181	**Rn-20**	1.322	81.7	59-77	**Rn-8**
1.335	82.5	182-195	**Rn-21**	0.032	2	78	**Rn-9**
0.485	30	196-202	**Rn-22**	0.318	19.7	79-83	**Rn-10**
0.053	3.3	203-208	**Rn-23**	0.292	18.1	84-95	**Rn-11**
				0.322	19.9	101-116	**Rn-12**

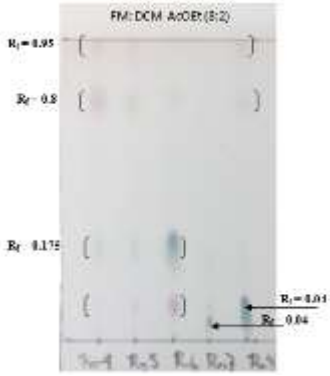


Fig. 4:Cromatografía en capa fina de las reuniones hechas a partir de las fracciones que mostraron similitud cromatográfica. En la imagen se muestran las reuniones (Rn) 4,5,6,7 y 8. Como fase móvil se utilizó diclorometano-acetato de etilo en proporción 8:2 y como revelador ácido sulfúrico al 10% a 100 °C.

Conclusiones

- De acuerdo al ensayo de toxicidad oral aguda realizado las semillas de *Aleuritesmoluccana*, se clasifica en la categoría 4 de toxicidad de acuerdo a la GHS. Dada la toxicidad oral que presenta la semilla, no puede comercializarse como medicamento ni como remedio herbolario debido a que la seguridad de este tipo de modalidad terapéutica es indispensable según el artículo 224° de la Ley General de Salud (LGS) así como el Reglamento de Insumos para la Salud (RIS).
- Es necesario un estudio que nos permita conocer más a detalle los órganos blancos que son afectados por estas semillas comercializadas sin restricciones en la ciudad de Tepic.
- El análisis fitoquímico hasta ahora ha revelado la posible presencia de terpenos y alcaloides en la semilla.

Bibliografía

1.- Quintao, N. L., Meyre-Silva, C., Silva, G. F., Antonialli, C. S., Rocha, L. W., Lucinda-Silva, R. M., . . . Bresolin, T. M. (2011). Aleuritesmoluccana (L.)Willd. Leaves: Mechanical Antinociceptive Properties of a Standardized Dried Extract and Its Chemical Markers. Evidence-BasedComplementary and Alternative Medicine (179890).
2.- Gonzalez-Stuart, A. (2013). Herbal Safety. Recuperado el 30 de agosto de 2016, de www.herbalsafety.utep.edu
3.- Duke, J. (1985). Handbook of Medicinal Herbs. Boca Raton, Flo, USA: CRC Press.
4.- UnitedNations. (2007). Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS). Recuperado el 2 de Noviembre de 2016, de http://www.unece.org/fileadmin/DAM/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev02/English/01e_part1.pdf

Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de la cáscara de plátano maduro (*Musa Cavendish*) y evaluación de su actividad antioxidante.

José Guadalupe Castañeda-Castillo[1], M. en C. Ayerim Yedid Hernández-Almanza[1], Dra. Aidé Sáenz-Galindo[1], *Dr. Juan Alberto Ascacio-Valdés[1]

[1]Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila.

*alberto_ascaciovaldes@uadec.edu.mx
josecastaneda@uadec.edu.mx

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue determinar la mejor condición de extracción para los compuestos fenólicos presentes en residuos de cáscara de plátano, tomando en cuenta las variables de: relación masa/volumen, tiempo de extracción en ultrasonido y porcentaje v/v de solvente (etanol-agua). Se trabajó con un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial 3^3 con dos repeticiones. El contenido de polifenoles se determinó mediante las pruebas Folin-Ciocalteu y HCl-butanol. La determinación de la actividad antioxidante se evaluó con los métodos ABTS y DPPH. El contenido de polifenoles totales promedio fue de 22.8 mg/g de cascara seca. Aprovechar la cáscara de plátano resulta conveniente ya que es un residuo muy común, que puede servir como fuente de extracción de compuestos bioactivos de alto interés.

Introducción

México es un importante productor de plátano a nivel mundial, en 2009 ocupó el 9º lugar con 75.8 mil hectáreas, y una producción de 2.2 millones de toneladas, con una participación en la producción mundial de 2%.[1]El principal subproducto del proceso industrial del plátano, es la cáscara la cual representa aproximadamente el 30% del peso del fruto. La cáscara de plátano es rica en fibra dietética, proteínas, aminoácidos esenciales, ácidos grasos poliinsaturados y potasio. Además se considera que la cáscara de plátano puede ser una fuente potencial de sustancias antioxidantes y antimicrobianas, así como de compuestos fitoquímicos con actividad contra radicales libres.[2]

Materiales

Materia prima

Cáscara de plátano maduro (*Musa Cavendish*) deshidratada a 60 °C por 48 h y molida en Saltillo, Coahuila.

Reactivos

Ácido gálico, Catequina, Reactivo Folin-Ciocalteau, Reactivo DPPH y Reactivo ABTS, todos de grado analítico y de la marca Sigma Aldrich. HCl, Butanol.

Métodos

Preparación de la cáscara y extracción de polifenoles:

Se recolectaron las cáscaras de diferentes puntos comerciales de la ciudad. Se cortaron en trozos pequeños y se deshidrataron en una estufa a 60°C por 2 días y luego se molieron hasta obtener un polvo fino con un peso neto de 216.32 gramos.

Extracción y Diseño experimental

El experimento se realizó con un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial 3^3 correspondiente a la combinación de 3 factores con 3 niveles cada uno. Los factores fueron: Relación masa/volumen de cascara molida en etanol (1/3, 1/5, 1/7), tiempo en ultrasonido (10, 15 y 20 min) y % de etanol (10, 30, 50% v/v).Todas las determinaciones se realizaron por duplicado y los resultados fueron analizados por ANVA y con una comparación de medias de Duncan, utilizando el paquete estadístico desarrollado por la UANL versión 1.6 de Emilio Olivares Sáenz.

Determinación de polifenoles

El contenido de polifenoles fue determinado empleando las técnicas de Folin-Ciocalteau[3] y HCl-butanol[4].

Purificación de compuestos bioactivos

Una vez determinada la mejor condición de extracción mediante el análisis estadístico, se realizó una cromatografía de líquidos en columna empleando la resina Amberlita XAD-16, específica para polifenoles, realizando una primera elución con agua destilada para eliminar compuestos hidrosolubles no deseados y luego una elución con etanol para recuperar una fracción rica en polifenoles. El solvente fue evaporado y los compuestos fueron recuperados en forma de un polvo fino.

Determinación de actividad antioxidante

Se realizaron las pruebas de DPPH[5] y ABTS[6] con la metodología utilizada en el Departamento de alimentos de la Facultad. El porcentaje de inhibición se calculo con la siguiente fórmula:

$$\%Inhibición = \left[1 - \left(\frac{Absorbancia\ de\ la\ muestra}{Absorbancia\ del\ control}\right)\right] * 100$$

Resultados y discusión

Contenido de polifenoles hidrolizables

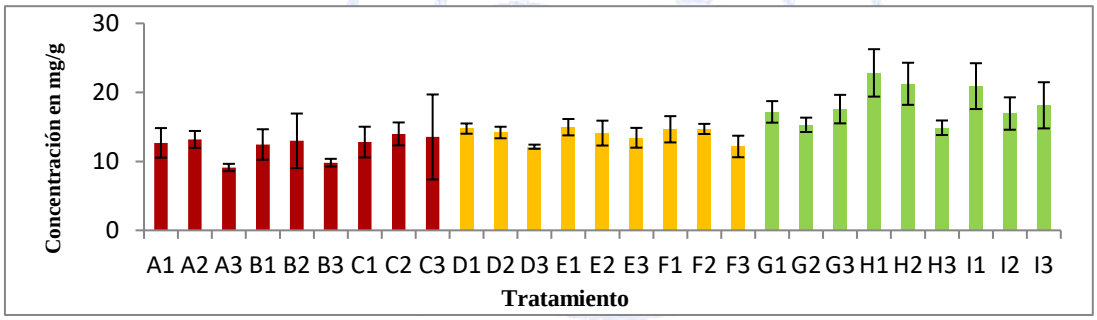
Después del análisis de los datos se determinó que la mejor condición de extracción para polifenoles hidrolizables fue la condición "I1" correspondiente a una relación masa/volumen de 1/7, 20 minutos de extracción con ultrasonido y 10% de etanol/agua.

Contenido de polifenoles condensados

Posterior al análisis de los datos se determinó que la mejor condición de extracción para polifenoles condensados fue la condición "H1" correspondiente a una relación masa/volumen de 1/7, 15 minutos de extracción con ultrasonido y 10% de etanol/agua.

Polifenoles Totales

Para evaluar el contenido de polifenoles totales, se sumaron las concentraciones obtenidas en las dos técnicas anteriores, esto para cada tratamiento. Obteniendo los siguientes resultados.



Posterior al análisis se obtuvo que la mejor condición de extracción para polifenoles totales fue "H1" (relación masa/volumen de 1/7, 15 minutos de extracción con ultrasonido y 10% de etanol/agua) ya que presentó diferencias significativas con respecto a todas las demás condiciones.

Actividad Antioxidante

DPPH

Absorbancia Bco. agua	**0.31**	**Cáscara de Plátano**
	Absorbancia Promedio	**0.127333333**
Concentración (mg/L)Eq. Trolox		**229.1666667**
	% de Inhibición	**58.92473118**

ABTS

ABTS	**Absorbancia**	**Promedio**	**%Inhibición**
Cáscara de plátano	**0.403**		
	0.501	**0.452**	**33.5294118**
Bco. Agua	**0.68**		

Infrarrojo

La muestra fue analizada en un equipo de espectroscopia infrarroja y se observaron las siguientes bandas en el espectro.

Número de onda (cm^{-1})	Asignación
3354.45	Tensión –OH De un alcohol (banda ancha por puentes de hidrogeno)
2977.78	Estiramiento C-H
1647.86	Estiramiento C=C De grupos alqueno de anillo aromático
1043.67	Estiramiento C-O De alcohol primario

HPLC

Se inyecto el extracto de cáscara de plátano en un equipo de HPLC con las siguientes características: columna c18 (150 x 2.1 mm), acoplado a un detector de masas con rango de 100 a 2000 m/z y se obtuvieron los siguientes compuestos:

Id	Tiempo de retención(min)	Masa[M-H] (Gramos)	Compuesto	Familia
1	12.8	304.6	(+)-Gallocatechin	Catechins
2	14.97	304.6	(-)-Epigallocatechin	Catechins
3	31.59	370.9	Sinensetin	Methoxyflavones
4	52.85	310.9	Caffeoyl tartaric acid	Hydroxycinnamic acids

Conclusiones

Con base en los resultados obtenidos se puede concluir que la cáscara de plátano es una excelente fuente de obtención de polifenoles con actividad antioxidante (22.8 mg/g), y que la extracción asistida por ultrasonido es una buena herramienta para obtenerlos. Además del uso de un solvente no tóxico como el etanol. También se identificaron los compuestos purificados mediante un equipo de HPLC y se demostró su actividad antioxidante, lo que brinda un valor agregado a este material vegetal que generalmente se desecha, todo lo anterior, con la finalidad de brindar una alternativa para el aprovechamiento integral de los recursos naturales.

Referencias

1.- Secretaría de economía dirección general de industrias básicas. (2012). Monografía del sector plátano en México: Situación actual y oportunidades de mercado. Recuperado el 28/05/2017, http://www.2006-2012.economia.gob.mx/files/Monografia_Platano.pdf

2.- Lopez, G., Montaño, F. (2014). Propiedades funcionales del plátano (Musa sp). 28/05/2017, de Rev Med UV, Julio - Diciembre 2014, www.medigraphic.com/pdfs/veracruzana/muv-2014/muv142d.pdf

3.- Belmares, R., Garza, Y., Rodríguez, R., Contreras, J. C. y Aguilar, C. N. (2009). Composition and fungal degradation of tannins present in semiarid plants. Electronic Journal of Enviromental, Agricultural and Food Chemistry. 8, 4, 312-318.

4. - Swain, T., & Hillis E. 1959. The phenolic constituentes of Prunus domestica. The quantitative analysis of phenolic constituents. J. Sci. Food Agric. 10:63-68.

5. - Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol. 26 (2): 211-219.

6. - Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. & Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free radical biology & medicine. 26: 1231-1237

7.- Borrero, A., Santacruz S. (2013) Comparación de los contenidos de compuestos fenólicos totales y taninos en la corteza de tres variedades de plátano (*Musa Cavendish, Musa acuminata y Musa cavandanaish)* Universidad San Francisco de Quito. Colegio de Ciencias e Ingeniería, Ecuador.

Síntesis de análogos fluorados de Papaverina

Marco Antonio Ovalle Martínez[1], Dr. Gerardo Aguirre Hernández[1], Dr. Ratnasamy Somanathan[1]

[1]Centro de Graduados e Investigación en Química, Unidad Otay, Instituto Tecnológico de Tijuana. Email: gaguirre777@gmail.com.

Resumen

En las últimas décadas se han aprovechado las propiedades electrónicas y estéricas del flúor, incorporándolo en compuestos orgánicos para el diseño de fármacos nuevos, más potentes y selectivos. Actualmente, en la industria farmacéutica se cuenta con más de 200 medicamentos de este tipo. De acuerdo a lo anterior, resulta de gran interés sintetizar compuestos que tengan átomos de flúor y evaluar su actividad biológica. En este trabajo se establece una ruta de síntesis nueva de análogos fluorados de papaverina. La papaverina es un compuesto orgánico de origen natural que se utiliza tradicionalmente como vasodilatador. Mediante la incorporación de átomos de flúor en el anillo bencílico en la posición 1 del grupo isoquinólico se espera obtener una serie de compuestos con actividad biológica mejorada.

Introducción

La naturaleza especial del flúor imparte una variedad de propiedades a ciertos medicamentos, incluyendo interacciones intermoleculares mejoradas, estabilidad metabólica, cambios en las propiedades físicas y reactividades selectivas. La alta electronegatividad y el pequeño tamaño del flúor, así como su reactividad química muy diferente con respecto al hidrógeno, han dominado las consideraciones de diseño de fármacos. Mientras que el flúor es más grande que el hidrógeno, su radio de Van der Waals está más cerca del oxígeno que su electronegatividad (Figura 1).[1] Esto da como resultado enlaces C-F altamente polarizados y orbitales σ* C-F de baja energía disponibles para donación por hiperconjugación.[2] La sustitución del flúor puede aumentar la potencia del fármaco y tener un impacto en la selectividad al afectar el pKa, modulando la conformación, las interacciones hidrofóbicas y la lipofilicidad, o una combinación de estas propiedades. El flúor también se ha utilizado como una herramienta para abordar problemas asociados con el metabolismo del fármaco.[3] Estas propiedades han enfocado la atención de diversos grupos de investigación, entre ellos el nuestro en el desarrollo de compuestos fluorados nuevos basados en productos naturales para la evaluación de su actividad biológica.

Figura 1. Radio de Van der Waals y electronegatividad del hidrógeno, flúor y oxígeno.

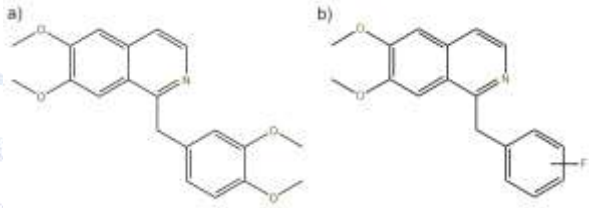


Figura 2. a) Estructura de la papaverina. b) Representación de los análogos fluorados de la papaverina

La molécula blanco en este trabajo es la papaverina, un alcaloide bencilisoquinolínico de la planta del (*Papaver somniferum L.*) que tiene un efecto relajante en músculos lisos, por lo que se ha utilizado como vasodilatador, fármaco para cólicos renales y para tratar la disfunción eréctil. Actualmente, está aprobado en el tratamiento de espasmos del tracto gastrointestinal, los conductos biliares y el uréter. Su actividad biológica se ha atribuido al aumento de los niveles de cAMP intracelular por la inhibición de la fosfodiesterasa.[4] La molécula contiene un esqueleto isoquinólico que esta enlazado al carbono 1 con un anillo aromático que alberga 2 metoxilos en posición 3' y 4' (Figura 2a). En este trabajo se estableció una ruta de síntesis nueva para obtener análogos de papaverina fluorados en el anillo bencílico de la posición 1 del grupo isoquinólico (Figura 2b) con el objetivo de realizar pruebas para medir su actividad biológica. Esta ruta de síntesis es más asequible y cuenta con un número de etapas menor a los métodos tradicionales.

Metodología

En base al análisis retrosintético de la papaverina (Figura 3) se estableció una ruta de síntesis basada en 3 etapas, la primera de ellas es la obtención compuesto **3** partiendo del 3,4 dimetoxibenzaldehido realizando una condensación aldólica con nitrometano para posteriormente proteger el doble enlace con una adición de Michael utilizando tiofenol y reduciendo finalmente con zinc en ácido acético para la formación de la amina. La segunda etapa se centra en el acoplamiento del compuesto **3** con los diferentes ácidos fenilacéticos fluorados para formar las amidas **4a-e**. Finalmente se obtienen los análogos fluorados de papaverina (**5a-e**) mediante la ciclación de Bischler–Napieralski y eliminación *in situ one-pot* de los compuestos **4a-e**.

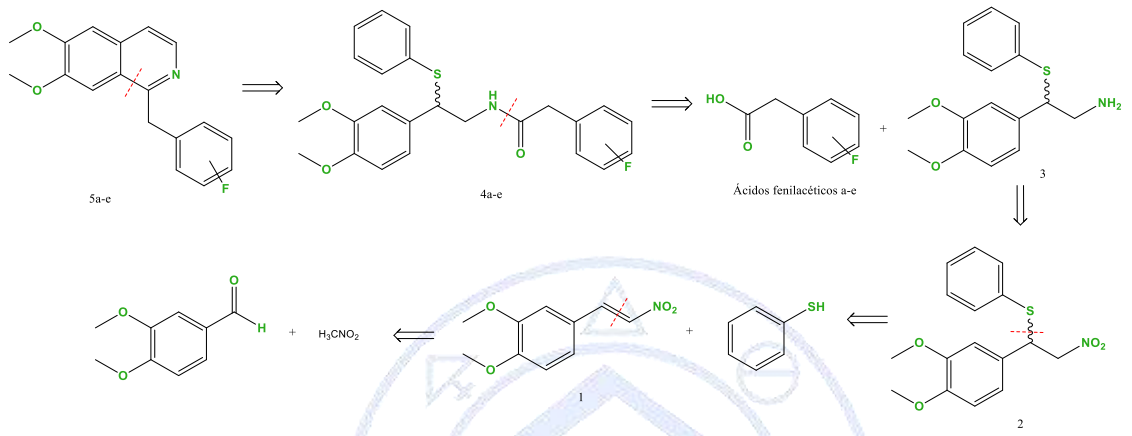


Figura 3. Análisis retrosintético para los análogos fluorados de papaverina

Resultados

Etapa 1) Se logró llevar a cabo la síntesis de la amina **3** con un rendimiento global del 24%. El rendimiento en cada etapa se muestra en la tabla 1 y la resonancia magnética de protón se muestra en la Figura **4a**.

Reacción	Rendimiento
Condensación aldólica	60
Adición de Michael	99
Reducción con Zn	40

Etapa 2) Para la obtención de las amidas **4a-e** se probaron distintos activadores de ácido carboxilíco, entre ellos el cloruro de tionilo, diisopropilcarbodiimida (DIC) e isobutil cloroformato, siendo este último el que mejores resultados presentó, logrando obtener los rendimientos reportados en la tabla 2. De estos compuestos se logró la síntesis de **4a**, **4b** y **4c**, se muestra su espectro de RMN de ^{1}H y la estructura de difracción de **4b** (Figura 4b y 5 respectivamente).

Posición	Compuesto	Rendimiento
Monofluorado 2	**4a**	39
Difluorado 3,4	**4b**	30
Difluorado 2,6	**4c**	39
Difluorado 2,4	**4d**	-

Etapa 3) Mediante la ciclación de Bischler–Napieralski utilizando $POCl_3$ se logró realizar en *one-pot* la ciclación y eliminación del análogo fluorado de papaverina fluorado en

posición 2 (Compuesto **5a**) partiendo de **4a** en un rendimiento del 20%. En la Figura 7 se observa el espectro de resonancia magnética de ^{1}H del compuesto **5a.**

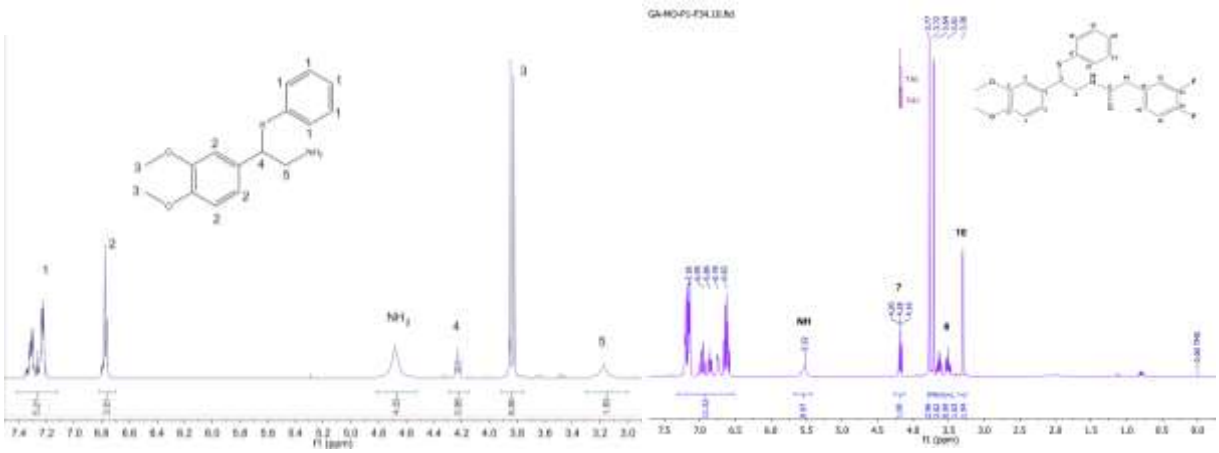


Figura 4. Espectro de resonancia magnética nuclear ^{1}H de a) amina 3 y b) amida 4b.

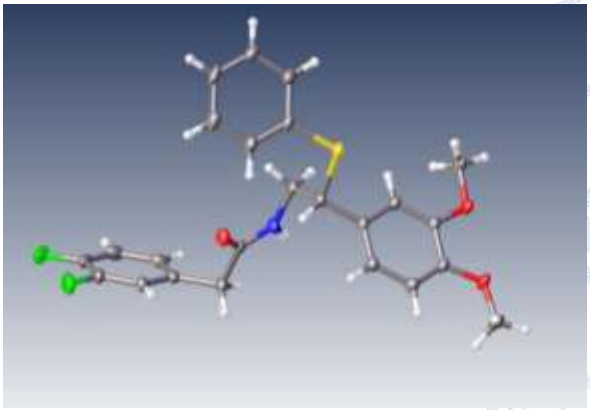


Figura 5. Resultados de difracción de rayos x para la amida **4b**

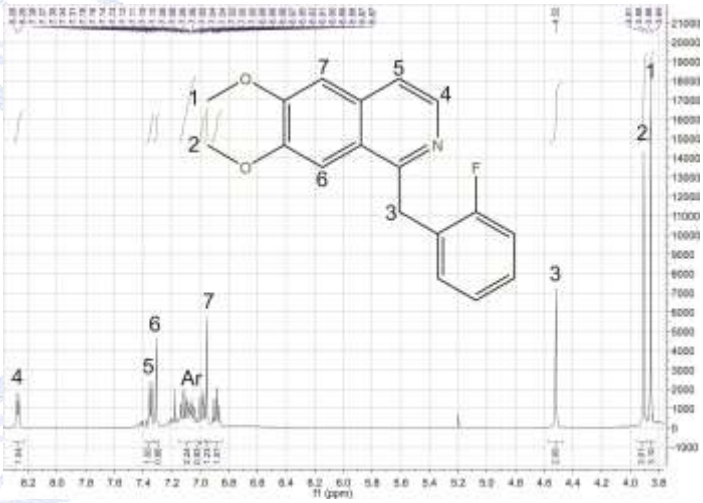


Figura 6. Resonancia magnética nuclear ^{1}H del análogo fluorado de papaverina **5a**

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

Conclusiones

Se logró establecer una ruta de síntesis nueva para el análogo fluorado de papaverina en posición 2 mediante la ciclación y eliminación *in situ* de tipo *one-pot* de la amida **4a**. Las amidas **4a-4c** se obtuvieron a partir de la reacción entre la amina **3** y los ácidos fenilacéticos fluorados usando isobutil cloroformato como activador de ácido. Como trabajo a futuro se tiene el realizar la ciclación con las amidas **4b-4f** para tener una colección de compuestos análogos fluorados de papaverina y realizar pruebas de actividad biológica sobre estos.

Referencias

1) Hagmann, W. K. ChemInform Abstract: The Many Roles for Fluorine in Medicinal Chemistry. *ChemInform* **2008**, *39*.

2) Meanwell, N. A.; Eastman, K. J.; Gillis, E. P. Tactical Applications of Fluorine in Drug Design and Development. *Fluorine in Heterocyclic Chemistry Volume 1* **2014**, 1–54.

3) Park, B. K.; Kitteringham, N. R.; Oneill, P. M. Metabolism Of Fluorine-Containing Drugs. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **2001**, *41*, 443–470.

4) Fusi, F.; Manetti, F.; Durante, M.; Sgaragli, G.; Saponara, S. The vasodilator papaverine stimulates L-Type Ca2 current in rat tail artery myocytes via a PKA-Dependent mechanism. *Vascular Pharmacology* **2016**, *76*, 53–61.

Evaluación del rendimiento de material pectínico en cáscara de granadilla (*Passiflora ligularis*) empleando hidrólisis ácida

Mario Aldair Hernández González[1], Lázaro Gabriel Trujillo Juárez[1], Óscar Hernández Meléndez[2]

[1]Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván, Departamento de Ingenierías, Tecnológico Nacional de México

[2]Facultad de Química, Departamento de Ingeniería Química, Universidad Nacional Autónoma de México

mario.hernandez9620@gmail.com

Resumen

En los últimos años, los productos bionaturales han cobrado importancia debido a sus innumerables aplicaciones. Uno de estos productos es la pectina, un biopolímero constituido principalmente por ácido galacturónico, que por sus propiedades gelificantes y de absorción, se emplea en la industria de los alimentos, cosmética y farmacéutica. En las frutas, la mayoría de los grupos ácidos del ácido galacturónico están esterificados por metanol. Este metanol puede perderse con facilidad por hidrólisis ácida. La granadilla (*Pasiflora ligularis*) es un fruto importante por sus características organolépticas de sabor y color, su valor nutritivo y, alto contenido de fósforo y niacina. Se evaluó el rendimiento del material péctico de la cáscara de la granadilla empleando hidrólisis ácida, con un rendimiento de 20.75 g de pectina/kg de cáscara.

Extenso

Las pectinas son polisacáridos complejos que consisten principalmente en unidades de ácido galacturónico unidas por enlaces α-(1→4). Según la reglamentación de la FAO, la pectina debe contener al menos 65% de ácido galacturónico. Se encuentra comúnmente en las paredes celulares y en la lamela media de las plantas. El grado de esterificación (DE) es una de las propiedades que influyen en la aplicación de pectina, ya que determina la naturaleza gelificante de la pectina.

El porcentaje de DE por encima del 50% se clasifica como pectina de alto metóxilo (HM), mientras que aquellos menos del 50% se conocen como pectina de bajo metóxilo (LM) (Joye *et al.*, 2000). Las pectinas se utilizan ampliamente en alimentos, cosméticos y medicamentos. El rendimiento y el DE de una fuente de pectina necesitan determinarse antes de la producción en masa de pectina y varían con las cáscaras de fruta, los parámetros de extracción y los extractores utilizados.

La extracción es el proceso más importante en la producción de pectina. La extracción de pectina en una solución diluida de un ácido mineral fuerte a alta temperatura, es el método más comúnmente utilizado. Sin embargo, los ácidos fuertes son corrosivos y pueden ser una amenaza potencial para la salud. Además, los residuos líquidos generados por los procesos industriales podrían provocar una carga para el medio ambiente y un alto costo podría incurrir en el tratamiento de los residuos ácidos fuertes (Lúcia *et al*., 2013).

La extracción de pectina a partir de cáscaras de frutas usando un ácido orgánico débil, como el ácido cítrico, se ha llevado a cabo en estudios recientes (Minjares-Fuentes *et al*., 2014; Kulkarni *et al.*, 2010; Pinheiro *et al.*, 2008). La estructura de la pectina es muy difícil de determinar porque la pectina puede cambiar durante el aislamiento de las plantas, el almacenamiento y el procesamiento del material vegetal.

Las pectinas son ésteres metilados de ácido poligalacturónico que contienen residuos de ácido α-D-galacturónico unidos en enlaces α-(1→4). Se sabe que estos polisacáridos consisten en 300-1000 cadenas de unidades de ácido galacturónico. Según la literatura, el material péctico alcanza el 0.5-4.0% del peso fresco del material vegetal (Liew, 2014).

La granadilla *(Pasiflora ligularis)* es un fruto importante por sus características organolépticas de sabor y color, por su valor nutritivo, alto contenido de fósforo y de niacina. Tiene además propiedades medicinales, es un fruto hipoalergénico y laxante. Se puede consumir de diversas formas, como fruta fresca, jugos tropicales, cocteles, helados, yogurt, mermeladas y gelatinas (Chasquibol, 2010).

El agua es el principal componente de la fruta de granadilla dulce, la alta concentración de agua y la baja concentración de sodio hacen de esta fruta un alimento con propiedades diuréticas. Por su alto contenido de carbohidratos, principalmente fructosa, glucosa y sacarosa, es una fuente importante de energía (las personas con régimen alimentario especial deben moderar su consumo). En cuanto a su poder antioxidante, varios estudios muestran efectos preventivos en muchas enfermedades (López *et al*., 2006).

Los flavonoides, los glucósidos, los alcaloides, los compuestos fenólicos y los constituyentes volátiles han sido reportados como los mayores fitoconstituyentes de las especies *Passiflora* (Dhawan *et al.*, 2004). Este trabajo tiene como objetivo extraer la pectina de la cáscara de la granadilla o granada dulce usando ácido cítrico, a temperatura y tiempo de extracción constante,

para validar la escasa información disponible y posteriormente con datos favorables, diseñar un modelo experimental que permita conocer el rendimiento a diferentes condiciones de extracción.

Materiales

La granadilla (*Passiflora ligularis*) se adquirió en un centro de abastos del Puerto de Veracruz. El equipo empleado para realizar la inactivación enzimática y la hidrólisis ácida fue un equipo de vidrio (marca Pyrex) compuesto por un matraz de balón de 1L, un refrigerante lineal y una trampa para gases. Para evitar fugas por evaporación se utilizó un baño con agua fría utilizando una bomba de recirculación (modelo M60A, marca Beckett). Para proporcionar la temperatura necesaria al sistema de extracción, se requirió una parrilla de calentamiento con agitación magnética (modelo Simarec, marca Thermo Scientific). Para filtrar se utilizo una malla de algodón y una rejilla de acero inoxidable. Para el secado se utilizó un secador de convección forzada (modelo MO1430A1, marca Lindberg Blue M) y para la molienda se ocupó un molino (modelo GX410011, marca KRUPS).

Método

La granadilla se segmentó a la mitad longitudinalmente, se corto en cuadros de aproximadamente 1 cm de longitud. Se pesaron muestras de 100 g de material vegetal. Se llevó a cabo una inactivación enzimática a 90 ºC durante 15 min, este proceso se realizó por 4 repeticiones agregando agua a una razón de 6:1 respecto a la cáscara alimentada. Después de cada repetición se filtró para eliminar el líquido.

Después, se llevo a cabo la hidrólisis ácida utilizando ácido cítrico a una concentración de 0.05 N y una razón de 1:6 de agua, sin embargo, para poder tener una hidrólisis eficaz, el material vegetal se separó para llevar a cabo este proceso en dos lotes. El tiempo de hidrólisis fue de 1.25 h, con el propósito de romper la pared primaria liberando el endocarpio que contiene la protopectina.

Al finalizar los dos lotes de hidrólisis, se regresó a un solo lote, se filtró y se recuperó el líquido, desechando el sólido. El líquido obtenido, se mezclo con alcohol 96 ºG.L. a una relación de 1:2 de líquido por 12 h a 5 ºC, para sedimentar el material péctico, el cual pasa por una doble malla, compuesta por una de algodón y otra de acero inoxidable, el gel filtrado se lleva a un secado a 60 ºC por 12 h y después se redujo el tamaño del material mediante molienda y se pesó.

Discusión de resultados

La tabla 1 muestra los resultados obtenidos. Los experimentos se realizaron por quintuplicado con las mismas condiciones de extracción, con diferentes lotes de materia prima para cada extracción, el valor del rendimiento se promedió y se calculó la desviación estándar (4.8) y la varianza (17.19).

Tabla 1. Valores experimentales, teóricos y reportados para la extracción de pectina (material péctico)

	Rendimiento de pectina (g material péctico/kg de cáscara base húmeda)
Valor experimental	20.75
Valor teórico (Liew, 2014)	5.00 – 40.00
Valor reportado (Chasquibol, 2010)	21.60

La tabla 1 expone los valores teóricos reportados para la pectina presente en cualquier matriz vegetal, mostrando los valores máximos y mínimos registrados para tal efecto. También muestra el valor reportado para la pectina obtenida a partir de la granadilla o granada dulce experimental, y el valor obtenido en este trabajo con la misma materia prima y condiciones de extracción similares.

Analizando los resultados, los valores de rendimiento son muy similares, por lo que se considera que aunque es el valor obtenido en este trabajo es menor al reportado, está dentro del intervalo de los valores teóricos. Por lo que se consideran aceptables dichos resultados, y a partir de las condiciones de extracción (concentración del ácido, temperatura y tiempo de extracción), será necesario establecer un diseño experimental para determinar las condiciones necesarias para validar si se puede obtener un mayor rendimiento.

Bibliografía

Chasquibol, N. (2010). Aplicación de la espectroscopía ft-ir en la identificación de polisacáridos obtenidos de los frutos del "níspero de la sierra" y de la "granadilla". *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, *13*(2), 12-21.

Chasquibol, N., Arroyo, E., & Morales, J. (2010). Extracción y caracterización de pectinas obtenidas a partir de frutos de biodiversidad peruana. Redalyc. *Ingeniería Industrial*, *26*, 175-199.

Dhawan, K., Dhawan, S., & Sharma, A. (2004). Passiflora: a review update. *Journal of ethnopharmacology*, *94*(1), 1-23.

Joye, D. D., & Luzio, G. A. (2000). Process for selective extraction of pectins from plant material by differential pH. *Carbohydrate Polymers*, *43*(4), 337-342.

Kulkarni, S.G., Vijayanand, P., 2010. Effect of Extraction Conditions on the Quality Characteristics of Pectin from Passion Fruit Peel (*Passiflora Edulis F.* Flavicarpa L.). Food Science and Technology 43, 1026-1031.

Liew, S. Q., Chin, N. L., & Yusof, Y. A. (2014). Extraction and characterization of pectin from passion fruit peels. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, *2*, 231-236.

López, M., Beltrán, M. C., Cardona, J. E., & Yepes, H. F. (2006). La fruta de la pasión, potencial contribución de la naturaleza a la seguridad alimentaria. *Investigación Andina, XX (8)*, 57-66.

Lúcia, C.V., Reinaldo, F.T., Carmen, L.O.P., 2013. Extraction and Characterization of Pectin from Cacao Pod Husks (*Theobroma cacao* L.) with Citric Acid. Journal Food Science Technology 49,108-116.

Minjares-Fuentas, R., Femenia, A., Garau, M.C., Meza-Velazquez, J.A., Simal, S., Rossello, C., 2014. Ultrasound-Assisted Extraction of Pectins from Grape Pomace using Citric Acid: A Response Surface Methodology Approach. Carbohydrate Polymers 106, 179-180.

Pinheiro, E.R., Silva, I.M.D.A., Gonzaga, L.V., Amante, E.R., Teófilo, R.F., Ferreira, M.M.C., Amboni, R.D.M.C., 2008. Optimization of Extraction of High-Ester Pectin from Passion Fruit Peel (*Passiflora edulis* Flavicarpa) with Citric Acid by using Response Surface Methodology. Bioresourse. Technology 99, 5561–5566.

Nicotiflorina, constituyente mayoritario identificado en la fracción acuosa de *Brickellia cavanillesii*, planta utilizada en la medicina tradicional.

A. Berenice Aguilar-Guadarrama[1], **Mónica Aideé Díaz Román**[2], Gabriela María Ávila Villarreal[3], Samuel Estrada-Soto[2].

[1]Centro de Investigaciones Químicas, IICBA, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

[2]Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

[3]Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas y Farmacéuticas, Universidad Autónoma de Nayarit.

monica.diazr@uaem.edu.mx

Brickellia cavanillesii (Cass.) A. Gray (Asteraceae) es una planta medicinal frecuentemente utilizada en México para el tratamiento de diversas enfermedades, entre ellas la diabetes mellitus y la hipertensión arterial, cuya incidencia ha incrementado en las últimas décadas. Estudios previos de la especie han demostrado su efecto vasorrelajante, hipoglucemiante, antihiperglucémico y ansiolítico; además, se han aislado e identificado algunos de sus constituyentes químicos, entre los que sobresalen compuestos de tipo flavonoide: brickellina y kaempferol, asociándolos con el efecto terapéutico atribuido a la especie. En el presente trabajo se evaluó la actividad inhibitoria de un extracto metanólico (EMBc-2) de *B. cavanillesii*, el cual fue previamente fraccionado mediante bipartición obteniendo de este 3 fracciones de diferente polaridad y el residuo acuoso; asimismo, se aislaron e identificaron los constituyentes químicos de este último mediante técnicas cromatográficas convencionales.

Introducción.

La medicina tradicional es una parte importante y con frecuencia subestimada de los servicios de salud. En algunos países, la medicina tradicional o medicina no convencional suele denominarse medicina complementaria; históricamente, se ha utilizado para mantener la salud y prevenir enfermedades, en particular aquellas que son crónicas. En los últimos años, debido a la alta incidencia de enfermedades crónicas, el consumo de plantas medicinales ha incrementado. De acuerdo a datos de la OMS, se estima que aproximadamente el 80% de la población mundial hace uso de las plantas medicinales para cubrir sus necesidades de salud; siendo México uno de los países con mayor tradición en la medicina herbolaria, ya que cuenta con aproximadamente 30,000 especies de plantas, de las cuales 3,000 son consideradas medicinales[3].

En este aspecto, la especie *Brickellia cavanillesii* (Cass.) A. Gray (Asteraceae), comúnmente conocida como "Prodigiosa", "Atanasia amarga" o "Hierba del becerro" es una planta medicinal frecuentemente consumida en México para el tratamiento de numerosas enfermedades, incluyendo diabetes mellitus, hipertensión y trastornos de ansiedad[2]. Estudios preliminares han descrito y documentado los efectos antihiperglucemiantes de la especie, mismos que se basan en la inhibición de la actividad de las enzimas α-glucosidasas[1]. Asimismo, se han aislado diversos compuestos presentes en extractos acuosos y metanólicos, sugiriendo que compuestos como los flavonoides brickellina y kaempferol son los posibles responsables del efecto terapéutico[1, 2].

Exposición.

En virtud de lo anteriormente expuesto, el principal objetivo del presente trabajo es determinar el contenido metabólico en algunas fracciones polares de un extracto acuoso obtenido a partir de un fraccionamiento por bipartición del extracto metanólico (EMBc-2) de la especie *B. cavanillesii*, y evaluar el efecto inhibitorio del EMBc-2 y su extracto acuoso sobre enzimas α-glucosidasas intestinales.

Materiales y Métodos.

Para el desarrollo del presente trabajo, se trabajó con un extracto acuoso, obtenido previamente a partir del fraccionamiento por bipartición de EMBc-2 de la especie vegetal *Brickellia cavanillesii*; recolectada en el año 2012 en la sierra de Huautla, Morelos.

Para el aislamiento y purificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto se emplearon técnicas cromatográficas convencionales, como la Cromatografía en Columna (CC), utilizando como fase estacionaria gel de sílice 60 (70:230), así como

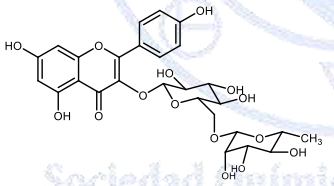
sílice flash (200:400), y como fase móvil una mezcla de disolventes en orden creciente de polaridad; el proceso es monitoreado mediante Cromatografía en Capa Fina (CCF), utilizando cromatoplacas base de aluminio kieselgel 60 F_{264} como fase estacionaria. Las cromatoplacas se observan bajo luz UV y posteriormente se revelan con sulfato cérico amoniacal al 2% en ácido sulfúrico 2N.

La purificación de los compuestos se llevó a cabo mediante diferentes técnicas, como purificación por precipitación, extracción en fase sólida y purificación por cromatografía en capa fina; una vez aislados y purificados los compuestos, se prepararon para su posterior análisis mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas. La determinación estructural de los metabolitos aislados se llevó a cabo mediante el análisis de los datos obtenidos por medio de los experimentos de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (RMN-^{1}H) y de Carbono (RMN-^{13}C) y Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas (CG-MS). Los resultados obtenidos son comparados con datos de reportados en diversas fuentes bibliográficas.

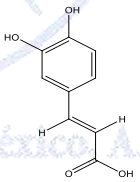
Para evaluar la actividad inhibitoria de los extractos, sobre enzimas α-glucosidasas intestinales se utilizaron ratas de la cepa Wistar, las cuales fueron sacrificadas por dislocación cervical para obtener la mucosa intestinal (con contenido alto de α-glucosidasas). Para medir la actividad enzimática, se utilizó como sustrato almidón de maíz (12.5 mg/ml) en una solución tampón de fosfatos 0.1 M (pH 7.0). Finalmente, la reacción se llevó a cabo por cuadruplicado, adicionando 100 µL de sustrato (almidón a 25 mg/mL) más 60 µL de solución tampón de fosfatos (pH 7), 25 µL de cada muestra de prueba (para una concentración de 1 mg/mL). La reacción se inició con la adición de 50 µL de la enzima, incubando cada tubo en un termoblock durante 10 minutos, la reacción se detuvo con la adición de 2 µL de acarbosa en un baño de hielo. La determinación de glucosa liberada fue cuantificada mediante un kit comercial de glucosa oxidasa (Glucosa GOD-POD, SpinReact), siguiendo las indicaciones del fabricante (relación 1:100 muestra/reactivo; 250 µL de volumen final), en microplacas de 96 pozos, midiendo su absorbancia a 492 nm y restando el valor a 630 nm en un lector de microplacas genérico.

Discusión de Resultados.

Al realizar el fraccionamiento mediante CC del extracto acuoso de *B. cavanillesii*, se obtuvo de manera abundante un precipitado color amarillo, mismo que al ser analizado mediante los experimentos de ^{1}H-RMN y ^{13}C-RMN fue identificado como el flavonoide nicotiflorina **(1)**. Adicionalmente, se identificó mediante CCF la presencia de un compuesto de color café oscuro, y mediante el experimento de RMN-^{1}H se identificaron señales correspondientes al ácido cafeico **(2)**.



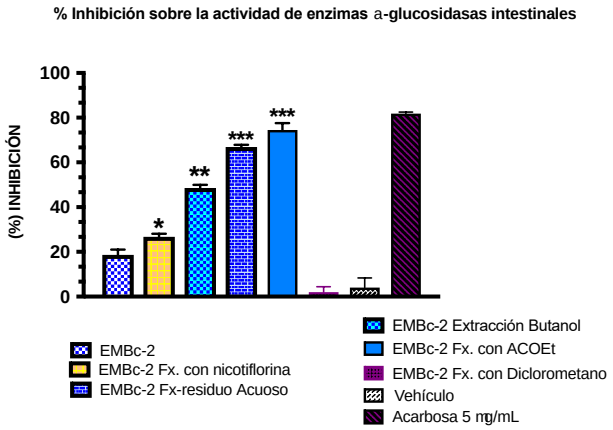
(1)



(2)

Por otro lado, se evaluó la actividad inhibitoria del extracto metanólico (EMBc-2), así como de las fracciones, incluyendo el residuo acuoso, obtenidos a partir de su fraccionamiento por bipartición, utilizando como referencia una solución de 5µg/mL del fármaco acarbosa. Los resultados son mostrados en la gráfica 1, en donde se observa que si bien el EMBc-2 tiene actividad inhibitoria sobre las enzimas de 18.68±2.32%, las fracciones obtenidas a partir de su bipartición presentan una mejor actividad [extracción con butanol (48.53±1.42%), extracción con AcOEt (74.5±3.1%), extracción con Diclorometano (2.0±2.4)]; observando que la extracción con AcOEt presenta la mayor actividad (74.5±3.1%).

De igual forma, se observa además que el compuesto mayoritario aislado a partir del residuo acuoso también tiene actividad inhibitoria sobre las enzimas de 26.73±1.37%, sin embargo, el residuo acuoso presenta una actividad inhibitoria de hasta 66.91±0.95%, por lo que se puede sugerir que, aunque el compuesto nicotiflorina presenta actividad inhibitoria, esta se ve potenciada al encontrarse el compuesto mezclado con otros compuestos minoritarios, como el ácido cafeico que también se encuentra presente en el residuo acuoso del EMBc-2.



Gráfica 1. Porcentaje de inhibición de **EMBc-2** (18.68±2.32%), **EMBc-2 Fx con nicotiflorina** (26.73±1.37%), **EMBc-2 extracción butanol** (48.53±1.42%), **EMBc-2 Fx con AcOEt** (74.5±3.1%), **EMBc-2 Fx con Diclorometano** (2.0±2.4), **EMBc-2 Fx residuo acuoso** (66.91±0.95%)[1 mg/mL], **Acarbosa** (81.8±0.71%) [5 µg/mL]. Cada grupo representa el promedio ± EE de n=8, *p<0.05, **<0.01, ***<0.001 vs vehículo.

Conclusiones.

Los compuestos identificados en la fracción acuosa de *B. cavanillesii* estudiado en el presente trabajo, son nicotiflorina y ácido cafeico; de los cuales nicotiflorina es el constituyente mayoritario; por lo que se atribuye a estos compuestos la actividad terapéutica asociada a la especie. Mediante un ensayo de inhibición sobre enzimas α-glucosidasas intestinales, se determinó que el flavonoide nicotiflorina inhibe de forma significativa la actividad de las enzimas α-glucosidasas; sin embargo, sugiere que la actividad inhibitoria se ve incrementada al encontrarse mezclada con otros compuestos, como el ácido cafeico; ya que el extracto acuoso presentó una actividad inhibitoria superior, lo cual es concordante debido a que existen estudios previos que han mostrado que efectivamente el ácido cafeico presenta actividad inhibidora de α-glucosidasas y α-amilasas[4].

Referencias.

1. Eshiet, Etetor R., Zhu, Jinqiu., Anderson, Todd A., y Smith, Ernest E. **(2014)**. Chemical characterization of *Brickellia cavanillesii* (Asteraceae) using gas chromatographic methods. *Food Science & Nutrition*. **2**(2). 105-113.

2. Mata, Rachel., Cristians, Sol., Escandón-Rivera, Sonia., Juárez-Reyes, Krutzkaya., y Rivero-Cruz, Isabel. **(2013)**. Mexican Antidiabetic Herbs: Valuable Sources of Inhibitors of α-Glucosidases. *Journal of Natural Products*. **76**. 468-483.

3. OMS. **(2013)**. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional.

4. Oboh, G., Agunloye, O., Adefegha, S., et al. (**2014**). Caffeic and chlorogenic acids inhibit key enzymes linked to type 2 diabetes (in vitro): a comparative study. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*. **26**(2). 165-170.

Evaluación preliminar de la toxicidad y eficacia de tres extractos de *Pachycereus pecten-aboriginum*.

Ricardo Rubio-Ledezma[1], Viridiana Villanueva-Castillo[1], Gladys Manzanero[3], Alberto Pérez-Caballero[2], Olivia Soria-Arteche[2], Jaime Pérez-Villanueva[2], Juan Francisco Palacios-Espinosa[2, a]

[1]Licenciatura en QFB, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco (UAM-X), CDMX 04960, México.[2]Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad-Xochimilco, Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Delegación Coyoacán, C.P. 04960. CDMX. [3]Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral, IPN. Regional Unidad Oaxaca. Hornos 1003, Col. Noche Buena, Municipio de Santa Cruz Xoxocotlán, C.P. 71230, Oaxaca.

[1]Dr. Juan Francisco Palacios Espinosa: jpalacios@correo.xoc.uam.mx

rubiochem@icloud.com

Resumen

Pachycereus pecten-aboriginum, conocido como cardón o pitahaya, es un cactus que utiliza con propósitos medicinales. Se emplea para el tratamiento de úlceras gástricas, dolores reumáticos, para aliviar las picaduras de insectos, dolores de muelas, e incluso es usado como alimento o para rituales religiosos. Debido a la amplia distribución y a los usos atribuidos a esta planta, además del poco conocimiento y estudio de la misma, es importante realizar estudios en cuanto al contenido de metabolitos secundarios y sus efectos biológicos. En el presente trabajo se reporta la evaluación preliminar de los efectos antiulcerogénico, antinociceptivo, y antiinflamatorio de tres extractos obtenidos de este cactus.

Introducción

P. pecten-aboriginum es un cactus que se encuentra distribuido en la costa oeste de México. Es ampliamente utilizado en los estados de Chihuahua y Sonora por diversos grupos étnicos como los Pimas, Mayos, Tarahumaras, Yaquis y Guarijíos. Puede ser utilizado para el tratamiento de úlceras gástricas, dolores reumáticos, para aliviar las picaduras de insectos, dolores de muelas, e incluso es usado como alimento o para rituales religiosos. Se trata de un cactus tipo arbóreo, columnar, con espinas, frutos globosos rojizos o rojizos oscuros, crece a elevaciones por arriba de los 1410 metros sobre el nivel del mar en laderas abiertas, colinas bajas y llanuras costeras.[1] Debido a la amplia distribución y a los usos atribuidos a esta planta, además del poco conocimiento y estudio de la misma, en el presente trabajo se reporta la evaluación preliminar de los efectos antiulcerogénico, antinociceptivo, y antiinflamatorio de tres extractos obtenidos de *P. pecten-aboriginum* utilizando los modelos de daño gástrico inducido por etanol en rata, la prueba de estiramiento abdominal inducida por ácido acético y la prueba de edema auricular inducido por TPA, respectivamente.

Materiales y métodos

Extracción del material vegetal

El material vegetal (penca del cactus) fue obtenido de un ejemplar del jardín botánico regional "Cassiano Conzatti" ubicado en el CIIDIR de Oaxaca donde la responsable es la M. en C. Gladys Manzanero. La mitad de la penca fresca se utilizó para preparar el jugo y la otra mitad fue cortada en trozos pequeños y secada a temperatura ambiente. El jugo (PPJ) fue preparado empleando 500 gramos del cactus fresco. Este fue cortado en trozos pequeños y exprimidos de manera mecánica, el extracto fue liofilizado y guardado a -20 °C hasta su uso. Los extractos metanólico (PPMe) y diclorometano-metanol (1:1) (PPDM) fueron preparados mediante maceración exhaustiva con el material vegetal seco. Se maceraron 50 gramos del material vegetal seco y molido en 500 mL del metanol o la mezcla de diclorometano-metanol. Tres días después, los extractos se filtraron y se concentraron por separado a sequedad. Esta operación se repitió al menos cinco veces.

Sustancias químicas, fármacos y animales

Para la actividad antiulcerogénica, se emplearon ratas Wistar macho con peso promedio de 200 g. Para las pruebas de estiramiento abdominal y edema auricular se emplearon ratones CD-1 macho con peso promedio de 25 g, obtenidos de la Unidad de Producción y Experimentación Animal-Bioterio (UPEAL) de la UAM-X a través del protocolo de investigación No. 157 aprobado por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio CICUAL-UAM-X. Como fármacos de referencia se utilizaron carbenoxolona disódica (CAR, 100 mg/kg), ibuprofeno (IB, 100 mg/kg) e indometacina (INDO, 1 mg/oreja). Como agente necrosante se empleó etanol absoluto y como sustancia algogénica e inflamatoria se utilizaron ácido acético al 0.7% en SSI y TPA (13-acetato de 12-tetradecanoilforbol) disuelto en acetona, respectivamente. Todos los compuestos fueron adquiridos a la empresa Sigma-Aldrich.

Pruebas de toxicidad y eficacia

Determinación de la toxicidad aguda empleando el protocolo de la OCDE 423.

Dos grupos de 5 ratones hembra cada uno con 8 horas de ayuno y libre acceso a agua (*ad libitum*) fueron observados durante 30 minutos previos a la administración oral del vehículo (Tween 80 al 2% en solución salina isotónica), y una dosis de 2000 mg/kg de los extractos a probar. Se evaluó el comportamiento de los animales durante las primeras ocho horas y, posteriormente, a diario por un período 14 días con

el objetivo de determinar algún cambio en su patrón conductual, efectos tóxicos o letalidad. De acuerdo al número de animales muertos en esta fase, se elegirán las dosis posteriores de acuerdo a la guía OCDE 423,[2] para determinar la dosis letal 50 del extracto y clasificarlo. Al término del ensayo, los animales que sobrevivieron fueron sacrificados en cámara de CO_2.

Actividad antiulcerogénica.

Se realizó el modelo de ulcera gástrica aguda inducida por etanol en rata. Los animales fueron distribuidos en diferentes grupos con n=6. Cada grupo recibió vehículo (10 mL/kg de SSI más Tween 80 al 5%), PPJ, PPMe y PPDM (31.6-316 mg/mL), o el fármaco de referencia CAR (100 mg/kg) con una sonda gástrica. Después de media hora, todos los grupos recibieron 1 mL/rata por vía oral con etanol absoluto. Los animales fueron sacrificados dos horas después usando una cámara de CO_2. Se obtuvo por disección cada uno de los estómagos, fueron insuflados con 10 mL de formol al 2% y fijados en la misma solución por 15 min. Los estómagos fueron abiertos a través de la curvatura superior. Para la determinación del área ulcerada se empleó el software ImageJ®. La sumatoria del área de todas las lesiones en el *corpus* de cada rata fue calculada y utilizada como el índice de ulceración (UI).[3]

Actividad antinociceptiva

Se utilizó la prueba de estiramiento abdominal inducido por ácido acético al 0.6%. Cada ratón fue administrado vía oral con los extractos PPJ, PPMe y PPDM (100-600 mg/kg), posteriormente cada animal recibió por vía i. p. 10 mL/kg de peso del ácido acético diluido. Los estiramientos abdominales se contaron en períodos de 5 minutos durante media hora inmediatamente después de la inyección. El efecto antinociceptivo se determinó mediante la disminución en el número de estiramientos totales con respecto al grupo que solo se le administró vehículo. Se utilizó ibuprofeno como fármaco de referencia a la dosis de 100 mg/kg de peso.[4]

Actividad antinflamatoria

Se empleó la prueba del edema auricular inducido con TPA en ratón. Brevemente, los animales fueron distribuidos en grupos con ocho ratones cada uno, se les administró ketamina/xilazina [(100/10 mg/kg, i.p.). Una vez anestesiados, en la oreja derecha se les aplicó de manera tópica 20 □L de los extractos de prueba (1 mg/oreja) disueltos en etanol acuoso al 70%. Cinco minutos después, se les aplicó 2.5 □g del TPA disuelto en 20 □L de acetona. La indometacina (1 mg/oreja) se usó como fármacos de referencia. Al grupo control negativo se le administró de manera cutánea acetona o etanol acuoso al 70% en la oreja derecha.[5,6]
Después de 4 horas, los animales se sacrificaron por dislocación cervical y se tomaron biopsias de tejido auricular de 7 mm con ayuda de un sacabocados de ambas orejas. El % de inhibición del edema se calcula con la siguiente expresión:

$$\%\ de\ inhibición\ del\ edema = \frac{Peso\ del\ control - peso\ del\ problema}{peso\ del\ control} x\ 100$$

Discusión de Resultados

El primer paso en cualquier estudio para el desarrollo de un producto destinado al consumo humano debe ser el establecimiento de sus efectos tóxicos.[5] Existen diversos protocolos que persiguen como objetivo principal el establecimiento de los efectos tóxicos agudos de sustancias en modelos animales, empleando para ello el menor número de estos. Los protocolos más aceptados en la evaluación de efectos tóxicos agudos de nuevas sustancias son los editados por la OCDE. En este caso, se utilizó el protocolo 423 donde la administración de la dosis más alta a evaluar (2000 mg/kg) de los tres extractos, no provocó la muerte de ningún animal de experimentación, ni efectos tóxicos visibles significativos cuando se les comparó contra el grupo control que solo recibió SSI y tween 80 al 5%. Lo anterior permite ubicar a los extractos en la categoría 5 con una DL_{50} que fluctúa entre los 2000 y 5000 mg/kg. Esto en espera de realizar la segunda etapa para determinar la DL_{50}. Con estos resultados, se inició la evaluación preliminar de la eficacia preclínica de los tres extractos en cuestión con la finalidad de generar información que pudiera sustentar sus usos tradicionales. En la literatura etnomédica, se menciona que *P. pecten-aboriginum* se emplea para el alivio de distintos síntomas de padecimientos como gastritis y de procesos inflamatorios y dolorosos. De tal forma que propusimos la evaluación de los tres distintos extractos en igual número de modelos biológicos.[4]

Los resultados obtenidos muestran que la administración de dosis de 31.6-316 mg/kg de los tres extractos, solo PPJ mostró tener un efecto protector significativo de la mucosa gástrica a la acción del etanol absoluto. Sin embargo, el efecto no fue dependiente de la dosis (Figura 1a); observando un efecto máximo a la dosis de 31.6 mg/kg con un 77.90 % de gastroprotección. En los casos de los extractos PPDM y PPMe el índice de área ulcerada no fue diferente del mostrado por el grupo que solo recibió SSI (datos no mostrados). El compuesto de referencia CAR mostró un efecto protector de la mucosa gástrica de 76.03% a la dosis de 100 mg/kg.

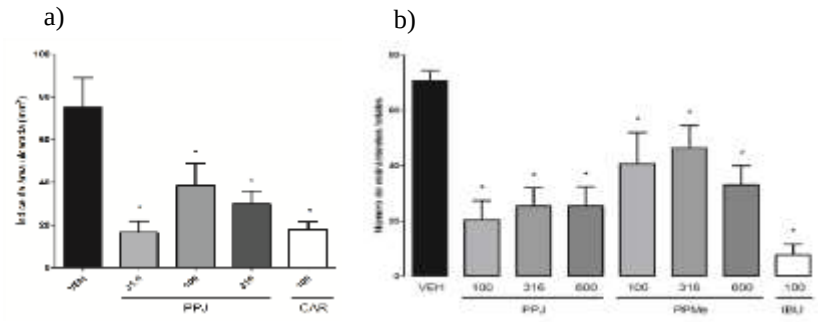


Figura 1. a) Índice de área ulcerada; b) Estiramientos totales

Por otra parte, la administración de dosis crecientes de los tres extractos (100-600 mg/kg) en la prueba de los estiramientos abdominales inducidos con ácido acético al 0.6%, mostró que dos de ellos disminuyeron de manera significativa el número de estiramientos totales cuando se compara contra el grupo del vehículo. Destaca el efecto producido por el extracto PPJ en donde a la dosis de 100 mg/kg redujo en un 70.91% el número de estiramientos. En su caso, el extracto PPMe resultó menos efectivo con un efecto máximo de 53.28% en la reducción del número de estiramientos a la dosis de 600 mg/kg. El fármaco de referencia, ibuprofeno, logró una disminución de 89.15% el número de estiramientos totales. Lo anterior nos indica que PPJ y PPMe podrían contener metabolitos secundarios con actividad analgésica y antiinflamatoria.

Finalmente, la evidencia experimental nos indica que tanto el PPJ como el PPMe poseen un efecto anti-edematogénico muy débil a las dosis evaluadas (1 mg/oreja). El mejor efecto fue logrado por la aplicación tópica de PPMe (26.51% efecto anti-edematogénico), mientras que para PPJ el efecto fue de 15.04%. El fármaco de referencia provocó un efecto antiinflamatorio de 90.34% (INDO, 1 mg/oreja).

Conclusiones

El extracto PPJ fue el que mostró una actividad gastroprotectora y antinociceptiva significativa. El menos activo fue el PPDM. Estos datos pueden servir como soporte de sus usos etnomédicos y también provee datos que sustentan la realización de próximos estudios enfocados a la búsqueda de los efectos farmacológicos *P. pecten-aboriginum.*

Referencias

1. Arias S.; Terrazas, T. Taxonomic Revision of Pachycereus (Cactaceae). *Systematic Botany*. **2009**, *34*(1):68-83.
2. Organization for Economic Cooperation and Development. OECD Guideline for testing of Chemicals. Guideline 423: Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method. 2001.
3. Chávez-Piña, A. E., Navarrete, A. Gastroprotective Triterpenoids: Pharmacological Mechanism. En: Medicinal plants: Classification, Biosynthesis and Pharmacology. Editores: Alejandro Varela y Jasiah Ibañez. Editorial Nova Biomedical. 2009.
4. Williamson, E. M., Okpako, D. T., Evans, F. J. Pharmacological Methods in Phytotherapy Research, Vol. 1. John Wiley and Sons, New York, p. 228. 1996.
5. Escobedo-Hinojosa, W. I., Del Carpio, J. D., Palacios-Espinosa, J. F., Romero, I. Contribution to the ethnopharmacological and anti-*Helicobacter pylori* knowledge of *Cyrtocarpa procera* Kunth (Anacardiaceae). *J. Ethnopharmacol.* 143, 363-371. 2012.
6. Palacios-Espinosa, J. F., Arroyo-García, O., García-Valencia, G., Linares, E., Bye, R., Romero, I. (2014). Evidence of the anti-Helicobacter pylori, gastroprotective and anti-inflammatory activities of *Cuphea aequipetala* infusion. *J. Ethnopharmacol*. 151, 990-998.

Efecto antioxidante de tres extractos de *Pachycereus pecten-aboriginum*

Viridiana Villanueva-Castillo[1], Ricardo Rubio-Ledezma[1], Gladys Manzanero[3], Alberto Pérez-Caballero[2], Olivia Soria-Arteche[2], Jaime Pérez-Villanueva[2], Juan Francisco Palacios-Espinosa[2, a]

[1]Licenciatura en QFB, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco (UAM-X), CDMX 04960, México.[2]Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad-Xochimilco, Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Delegación Coyoacán, C.P. 04960. CDMX. [3]Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral, IPN. Regional Unidad Oaxaca. Hornos 1003, Col. Noche Buena, Municipio de Santa Cruz Xoxocotlán, C.P. 71230, Oaxaca.

[a]Dr. Juan Francisco Palacios Espinosa: jpalacios@correo.xoc.uam.mx, viryvc94@gmail.com

Resumen

Pachycereus pecten-aboriginum, conocido como cardón o pitahaya, es un cactus que se encuentra distribuido en la costa oeste de México y es ampliamente utilizado por sus propiedades medicinales en los estados de Chihuahua y Sonora por diversos grupos étnicos. Se emplea para el tratamiento de úlceras gástricas, dolores reumáticos, para aliviar las picaduras de insectos, dolores de muelas, e incluso es usado como alimento o en rituales religiosos. Debido a la amplia distribución y a los usos atribuidos a esta planta, además del poco conocimiento y estudio de la misma, es importante realizar estudios en cuanto al contenido de metabolitos secundarios y sus efectos biológicos. En el presente trabajo se reporta la evaluación de la cantidad total de compuestos fenólicos y flavonoides, además del potencial antioxidante de tres extractos obtenidos de *P. pecten-aboriginum* utilizando los métodos de DPPH y ABTS.

Introducción

P. pecten-aboriginum es una de las 29 especies de cactáceas mexicanas llamadas "pitahayas" que son de utilidad alimenticia y medicinal. Desde el punto de vista medicinal, diversas partes del cactus son muy apreciadas para tratar padecimientos urinarios, enfermedades digestivas como gastritis, úlceras y colitis, además como analgésico, antiinflamatorio y febrífugo. Existen algunos reportes de actividad anti-cancerígena y efectos sobre el sistema nervioso central (narcótico).[1] En el norte, la medicina tradicional Guarijía emplea el jugo de una penca para las picaduras de alacrán o avispas, el cual se ingiere y un poco de ese jugo se pone sobre la picadura. También se utiliza para el salpullido y granos en la piel.[2,3] El jugo de la pulpa se utiliza para el "mal de orín" y padecimientos relacionados con la próstata. Además, unas gotas de este jugo ayudan a detener el sangrado de heridas.[4] En la comunidad de los Tarahumaras asentados en Batopilas, Chihuahua, emplean a la pitahaya con diversos propósitos medicinales,[5] destaca el consumo de una bebida preparada a base de las pencas jóvenes del cactus que denominan "wichowaka" durante la tesgüinadas el cual refieren tiene efectos narcóticos.[6]

Materiales y métodos

Extracción del material vegetal

El material vegetal (penca del cactus) fue obtenido de un ejemplar del jardín botánico regional "Cassiano Conzatti" ubicado en el CIIDIR-IPN de Oaxaca donde la responsable es la M. en C. Gladys Manzanero. La mitad de la penca fresca se utilizó para preparar el jugo y la otra mitad fue cortada en trozos pequeños y secada a temperatura ambiente. El jugo del cactus (PPJ) fue preparado empleando 500 gramos de la penca fresca. Para ello, este fue cortado en trozos pequeños y exprimidos de manera mecánica, el extracto fue liofilizado y guardado a -20 °C hasta su uso. Los extractos metanólico (PPMe) y diclorometano-metanol (1:1) (PPDM) fueron preparados mediante maceración exhaustiva con el material vegetal seco. 50 gramos del material vegetal seco y molido se maceraron con 500 ml del metanol o la mezcla de diclorometano-metanol. Tres días después, los extractos se filtraron y se concentraron por separado a sequedad. Esta operación se repitió al menos cinco veces.

Sustancias químicas y fármacos

Para la evaluación de la actividad antioxidante se utilizaron los compuestos DPPH (1,1-difenil-2-picril hidrazilo), ABTS (ácido 2,20-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico), $K_2S_2O_8$ como agente oxidante y BHT (butilhidroxitolueno) como referencia. Para el contenido de fenoles totales y flavonoides se utilizaron los siguientes reactivos: Folin-Ciocalteu, $AlCl_3$, $NaNO_2$, NaOH, Quercetina y Ácido Gálico. Todos los compuestos fueron adquiridos a la empresa Sigma-Aldrich.

Actividad antioxidante

Ensayo DPPH

Se mezclaron 100 µL de solución metanólica de DPPH 0.208 mM y 100 µL de los extractos (7.8–500 µg/mL). Después de 20 minutos en la oscuridad, se registró la absorbancia a 517 nm usando un espectrofotómetro.[7]

Ensayo de atrapamiento de radical ABTS

Se mezclaron cantidades iguales de las soluciones de ABTS 7 mM y persulfato de potasio a 2.45 mM y se dejó reaccionar por 12 horas en la obscuridad. En placas de 96 pozos se mezclaron 20 µL de diferentes concentraciones de los extractos (7.8–500 □g/mL) y 180 □l de la solución de ABTS. Se incubó en la oscuridad a temperatura ambiente durante 10 minutos y se determinó la absorbancia a 734 nm.[7]

En ambos casos, se utilizó como estándar BHT (0.97–62.5 g/mL) y se calculó el porcentaje de atrapamiento de radicales con la siguiente ecuación:

$$\% = \frac{Ac - Ap}{Ac} x100$$

Donde Ac es la absorbancia del control, Ap es la absorbancia del problema. Metanol y agua fueron usados como blancos.

Análisis del extracto acuoso de P. pecten-aboriginum.

Para la determinación de flavonoides, al extracto se le agregó limadura de Mg y HCl concentrado. En la determinación de polifenoles se agregó solución de $FeCl_3$ al 1%. Para alcaloides se usó una prueba modificada de Dragendorff, PPJ (10 mg/mL), 1 mL de HCl 2M y 2 mL de reactivo de Dragendorff. Así mismo, se realizó la prueba general de Dragendorff como se describió anteriormente, pero sin HCl. La prueba para determinar taninos se realizó agregando 2 mL de una solución de $FeCl_3$ etanólico al 10% a 2 mL del extracto PPJ. Para determinar la presencia de saponinas se disolvieron 50 mg del extracto en agua y se agitó hasta observar la formación de burbujas.[8,9]

Determinación del contenido total de fenoles y flavonoides

Fenoles totales.

La mezcla de reacción consistió en 800 µL de agua desionizada, 100 µL del reactivo de Folin-Ciocalteou (2 N), y 100 µL del extracto de prueba a una concentración de 0.1 mg/mL. Después de ocho minutos en la oscuridad se agregaron 50 µL de Na_2CO_3 (7.5%) y se mezcló. Esta solución se incubó por una hora nuevamente en la oscuridad y se determinó la absorbancia a 760 nm. Se realizó una curva estándar con ácido gálico (12.5–300 µg/mL). Los resultados fueron expresados en mg de equivalentes de ácido gálico (AEG)/g de extracto en peso seco (EPS).[7]

Flavonoides

Una alícuota del extracto de prueba (1 mg/mL) o solución estándar de quercetina (20–100 µg/mL) se mezclaron con 4 mL de agua destilada en un matraz volumétrico de 10 mL. Posteriormente, se añadieron 0.3 mL de $NaNO_2$ al 5%, 5 min después 0.3 mL de $AlCl_3$ al 10%, 5 min después fueron añadidos 2 mL de NaOH (1M), y finalmente se llevó al aforo con agua destilada. La solución se mezcló y se determinó la absorbancia a 510 nm. El contenido de flavonoides fue expresado como mg equivalentes de quercetina (EQ)/g de EPS.[7]

Discusión de Resultados

Los resultados obtenidos del análisis fitoquímico realizado al extracto PPJ se muestran en la Tabla 1. Los resultados obtenidos indican que el jugo del cactus contiene polifenoles, saponinas, taninos y alcaloides. La presencia de alcaloides en el extracto acuoso encontrados en esta investigación concuerda con lo reportado previamente,[10] donde se describe la presencia de los alcaloides arizonina, solsolina, heliamina e isosalsolina. En el caso de la determinación de alcaloides se tuvo que realizar una variante para identificar alcaloides libres agregando HCl y el reactivo de Draggendorff. En cuanto a los demás grupos de metabolitos secundarios, este es el primer reporte de la presencia de estos en la especie objeto de estudio. Actualmente se trabaja en el estudio fitoquímico de los otros dos extractos.

Tabla 1. Determinación de la composición química del extracto PPJ

Prueba	Resultado
Polifenoles	Positivo
Draggendorff modificada (Alcaloides)	Positivo
Taninos	Positivo
Saponinas	Positivo
Flavonoides	Positivo
Dragendorff (Alcaloides)	Negativo

Los resultados obtenidos de la cuantificación del contenido total de compuestos fenólicos y flavonoides se muestran en la Tabla 2. Estos indican que los tres extractos de *P. pecten-aboriginum* contienen importantes cantidades de estos compuestos. Destaca la gran cantidad de compuestos de tipo flavonoide en el PPJ.

Una vez cuantificadas las cantidades de compuestos polifenólicos y de flavonoides, se determinó su potencial antioxidante. En la Tabla 2 se muestran los resultados de la actividad antioxidante *in vitro* empleando dos de las metodologías más utilizadas en la literatura para evaluar extractos de origen vegetal. Como se puede observar, en la prueba de decoloración del radical DPPH, el extracto metanólico con una IC_{50} de 44.05 □g/ml, fue el que presentó la mayor actividad. Mientras que el PPJ y el PPDM, con IC_{50} muy parecidas, fueron menos activos. Por su parte, en la prueba de ABTS, el extracto con mejor actividad fue el PPJ, en seguida el PPMe y por último el PPDM. En general, la actividad antioxidante fue mejor en los extractos polares debido a que se concentra la mayor cantidad de compuestos polifenólicos y flavonoides, lo que los hace fuentes potenciales de estos metabolitos secundarios y podría explicar algunos efectos biológicos relacionado con la presencia de especies reactivas como los radicales libres.

Tabla 2. Resultados obtenidos de la actividad antioxidante y el contenido de fenoles y flavonoides de los extractos de *P. pecten-aboriginum*.

		Actividad antioxidante		Cuantificación de Fenoles y flavonoides	
Extracto	Rendimiento (%)	Actividad atrapadora de radicales (IC_{50} µg/mL)		Fenoles Totales (mg de EAG/g de EPS)	Flavonoides (mg de EQ/g de EPS)
		ABTS	DPPH		
PPJ	10	224.08	75.76	171.11	364.86
PPMe	9	379.05	44.05	179.44	270.20
PPDM	15	424.51	75.5	163.70	270.20
BHT					
		46.56	16.62		

Conclusiones

Se demostró la presencia de una cantidad considerable de compuestos fenólicos, entre los que destacan los flavonoides, los que podrían contribuir a la actividad antioxidante encontrada en los dos ensayos empleados. Los resultados podrían dar soporte al uso de *P. pecten-aboriginum* como remedio natural contra enfermedades causadas por estrés oxidativo. También resulta interesante caracterizar las estructuras de los compuestos responsables de los sus usos en la medicina tradicional.

Referencias

1. Batis, A. y Rojas, M. El peyote y otros cactos alucinógenos de México. CONABIO. **2002**. *Biodiversitas*. *40*, 12-17.
2. Zizumbo-Villarreal, D. y García-Marín, P. C. Los huaves: la apropiación de los recursos naturales. Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Sociología Rural. México. 1982.
3. Argueta, A., Aguilar, A., y Cano, L. Flora medicinal indígena de México. Tomo I. Instituto Nacional Indigenista. México. 1994.
4. Paredes, R., Van Devender, T. R., y Felger. R. S. Cactáceas de Sonora, México: Su Diversidad, Uso y conservación. ASDM Press. 2000.
5. Bye, R. Plantas vasculares de la Sierra Tarahumara-Informe final florístico e histórico. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. X006. México, D. F. 2004.
6. Bye, R. Hallucinogenic plants of the Tarahumara. *J. Ethnopharmacol*. **1979**, *1*, 23-48.
7. Palacios-Espinosa, J. F.; Arroyo-Garcia, O.; Garcia-Valencia, G.; Linares, E.; Bye, R.; Romero, I., Evidence of the anti-*Helicobacter pylori*, gastroprotective and anti-inflammatory activities of *Cuphea aequipetala* infusion. *J. Ethnopharmacol.* **2014,** *151* (2), 990-998.
8. Sasidharan, S.; Chen, Y.; Saravanan, D.; Sundram, K. M.; Yoga Latha, L., Extraction, Isolation and Characterization of Bioactive Compounds from Plants' Extracts. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines* **2011,** *8* (1), 1-10.
9. Roopalatha, U. C.; Vijay, M., Phytochemical analysis of successive reextracts of the leaves of *Moringa oleifera* Lam. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **2013**, *5* (suppl. 3), 629-634.
10. Stromböm, J.; Bruhn, G, Alkaloids of *Pachycereus pecten-aboriginum*, a Mexican cactus of ethnopharmacological interest. *Acta Pharmaceutica Suecica* **1978a**, *15* (2), 127–132.

Actividad inhibitoria sobre enzimas α-glucosidasas y estudio fitoquímico de *Coreopsis mutica*.

A. Berenice Aguilar Guadarrama[1], **Zurisaday Villegas González[2]**, Guillermo Julio Ramírez-Ávila[3], María Yolanda Rios[1]

[1]Centro de Investigaciones Químicas, IICBA, Universidad Autónoma de Estado de Morelos.

[2]Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

[3]Centro de Investigación Biomédica del Sur, IMSS

baguilar@uaem.mx

Coreopsis mutica es una especie compleja y variable en México, se le conoce con los nombres comunes de nopala, y manzanilla silvestre. En estudios previos de las partes aéreas, de *C. mutica* fueron aislados tres fenil propanoides (cumarato de bornilo, ferulato de bornilo y cafeato de bornilo), los cuales tuvieron un efecto antiinflamatorio en un modelo de edema en oreja de ratón inducido por TPA, de manera dosis dependiente. Se ha reportado que especies del género *Coreopsis* han presentado actividad anti-inflamatoria, anti-oxidante, anti-hiperlipidemia y anti-hiperglucémica. En el presente trabajo se evaluó el efecto de los extractos orgánicos de *C. mutica* por la actividad inhibitoria sobre enzimas α-glucosidasas y se identificaron los metabolitos secundarios presentes en el extracto acetónico.

Introducción

Durante las últimas décadas, el uso de las plantas medicinales y productos que se originan de ellas se ha extendido en el mundo y ha ganado una gran popularidad, sin embargo, muy pocas especies y sus productos se han estudiado con fines médicos, y un número aún menor cuenta con estudios realizados sobre su seguridad, eficacia y calidad (1).

México cuenta con gran tradición en el empleo de las plantas medicinales, principalmente en comunidades que aún realizan prácticas curativas populares. Se calcula que la flora medicinal mexicana contiene entre 3,000 y 5,000 plantas con potencial terapéutico, de las cuales aproximadamente el 1% han sido estudiadas de manera exhaustiva (2).

Coreopsis es un género que pertenece a la familia Asteracea (Compositae). Incluye alrededor de 100 especies, que se distribuyen principalmente en América, al sur de África y las islas hawaianas, y en China. Especies de *Coreopsis* han demostrado un perfil químico caracterizado principalmente por compuestos acetilénicos, fenil propanoides, flavonoides, quinonas y derivados de tiofeno. Estudios previos de varias especies del género han presentado actividad anti-inflamatoria, anti-oxidante, anti-hiperlipidemia y anti-hiperglucémica (3).

Coreopsis mutica es una especie compleja y variable en México. Se compone de arbustos que alcanzan los 3 metros de altura y habitan en zonas montañosas del centro de México, hacia el sureste en el Salvador y Honduras. Se le conoce con los nombres comunes de nopala y manzanilla silvestre. En estudios previos de *C. mutica* fueron aislados de las partes aéreas tres fenil propanoides: cumarato de bornilo (cristales blancos), ferulato de bornilo (aceite incoloro) y cafeato de bornilo (cristales blancos), los cuales fueron evaluados por su actividad anti-inflamatoria en un modelo de edema en oreja de ratón inducido con TPA. Los tres compuestos mostraron actividad anti-inflamatoria de manera dosis dependiente (4).

Exposición

El objetivo de este trabajo es evaluar la actividad inhibitoria sobre enzimas α-glucosidasas intestinales de los extractos acetónico, hidroalcohólico, metanólico y hexánico de *C. mutica*, así como aislar mediante técnicas cromatográficas convencionales, los metabolitos secundarios presentes en su extracto acetónico.

Metodología

Las partes aéreas de *C. mutica* fueron recolectadas el 27 de octubre de 2014 al noroeste de Orizabita, camino a Banxu, municipio de Ixmiquilpan, Hidalgo. 1.1 Kg de las partes aéreas se dejaron secar a temperatura ambiente durante 30 días, se trituraron, y se sometieron a un proceso de maceración por 72 hrs, utilizando como disolventes hexano, acetona, metanol, y

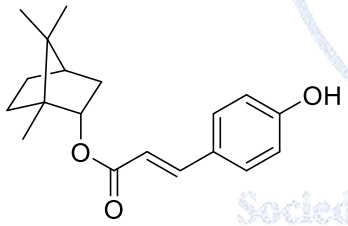
metanol al 85%. Los extractos correspondientes fueron obtenidos una vez que los disolventes fueron evaporados con ayuda de un rotaevaporador. Este proceso fue realizado por triplicado.

El aislamiento de los metabolitos secundarios presentes en el extracto acetónico de *C. mutica* se realizó mediante diferentes técnicas cromatográficas, como la cromatografía en columna; en la cual se utilizó gel de sílice 60 (70:230) de 0.063-0.200 mm y sílice flash (200:400) como fases estacionarias, usando como fase móvil una mezcla de disolventes en orden ascendente de polaridad. Estos procesos fueron monitoreados mediante cromatografía en capa fina, las placas cromatográficas se observaron bajo luz ultravioleta para después ser reveladas con sulfato cérico amoniacal al 2% en ácido sulfúrico 2N. La elucidación de los compuestos obtenidos del extracto acetónico se realizó mediante Resonancia Magnética Nuclear de protón (^{1}H-RMN) y carbono trece (^{13}C-RMN).

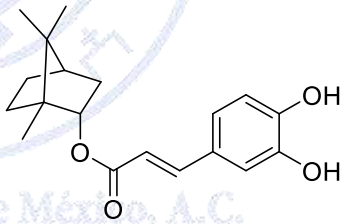
Por otra parte, se llevó a cabo un ensayo de inhibición de la actividad enzimática de α-glucosidasas intestinales. Los extractos hidroalcohólico, hexánico, acetónico y metanólico de *C. mutica* fueron evaluados a una concentración de 1 mg/mL, para lo cual se utilizaron ratas de la cepa Wistar, mismas que fueron sacrificadas por dislocación cervical para obtener la mucosa intestinal, que tiene un alto contenido de enzimas α-glucosidasas. Posteriormente, se evaluó la actividad inhibitoria de los extractos, utilizando como sustrato almidón de maíz en una solución tampón de fosfatos 0.1 M a pH 7. La reacción se llevó a cabo por cuadruplicado, adicionando 100 µL de sustrato más 60 µL de Buffer de fosfatos pH 7 y 25 µL de cada muestra de prueba. La reacción se inició con la adición de 50 µL de la enzima, incubando cada tubo durante 10 minutos, la reacción se detuvo por la adición de 2 µL de acarbosa en un baño de hielo. La determinación de glucosa liberada se cuantificó mediante un kit comercial de glucosa oxidasa, siguiendo las indicaciones del fabricante, en microplacas de 96 pozos, y se midió su absorbancia a 492 nm en un lector de microplacas.

Discusión de resultados

Mediante técnicas espectroscópicas de ^{1}H-RMN y ^{13}C-RMN se lograron identificar en el extracto acetónico dos compuestos: cumarato de bornilo (**1**) y cafeato de bornilo (**2**), los cuales ya habían sido reportados en estudios previos para esta especie.

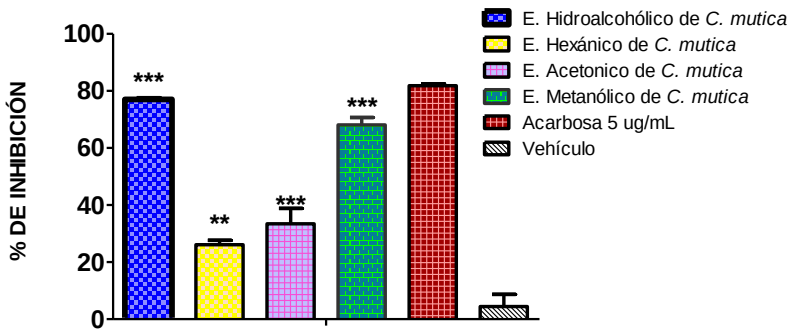


1



2

Se evalúo la actividad inhibitoria sobre enzimas α-glucosidasas intestinales; en este ensayo se observó que el extracto metanólico muestra un porcentaje de inhibición de 68.12 ± 2.58 % de la actividad enzimática, mientras que el extracto hidroalcohólico mostró un porcentaje de inhibición de 77.0 ± 0.632 %. Como se puede observar en la gráfica 1, los extractos hidroalcohólico y metanólico demostraron el mayor porcentaje de inhibición, comparados con los extractos hexánico, que tuvo una actividad inhibitoria de 26.1 ± 1.548 % y el extracto acetónico, que inhibe 33.4 ± 5.37 %.



Gráfica 2. Inhibición (%) de los extractos de *C. mutica* (1 mg/mL) sobre α-glucosidasas intestinales.
Cada grupo representa el promedio ± EE de n=8, p*:* *<0.05, **<0.01, ***<0.001 vs vehículo.

Conclusiones

El estudio fitoquímico del extracto acetónico de *C. mutica* condujo a la obtención e identificación de cumarato de bornilo y cafeato de bornilo. Actualmente, se continúa analizando el resto del contenido químico.

Los extractos hidroalcohólico y metanólico de *C. mutica* presentan una importante actividad inhibitoria sobre enzimas α-glucosidasas, siendo el extracto hidroalcohólico el que mostró la mayor actividad. Las enzimas α-glucosidasas tienen un papel importante en la digestión de carbohidratos, los que posteriormente son absorbidos a nivel intestinal, repercutiendo en el nivel de glucosa en sangre posterior a la ingesta de alimento. De este modo, *C. mutica* demuestra sus efectos sobre uno de los blancos terapéuticos más importantes en el tratamiento de la diabetes tipo 2. Además, especies del mismo generó han sido reportadas por su actividad antihipertensiva, antidiabética y antiinflamatoria. Esto permite concluir que *C. mutica* contiene compuestos químicos de interés para ser evaluados en ensayos dirigidos a la diabetes tipo 2.

Referencias

1. González- Ramírez M., Remirez D., Jacobo O.L. **(2007)**. Antecedentes y situación reguladora de la medicina herbaria en Cuba. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, **6**(4), 118-124.

2. Esquivel E.R., Noriega R., Bello M.A., Saavedra A., Salgado R. **(2012).** Plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana con propiedades antidiabéticas y antihipertensivas. *Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias*, **14**(1), 45-52.

3. Crawford D.J. **(1970).** Systematic studies on mexican *Coreopsis* (compositae). *Coreopsis mutica*: flavonoid chemistry, chromosome numbers, morphology, and hybridization. *Brittonia*. **22**, 93-111.

4. Maldonado E., Ramírez Apan M.T., Pérez-Castorena A.L. **(1998).** Anti-Inflammatory Activity of Phenyl Propanoids from *Coreopsis mutica* var. *mutica*. *Planta Med*., **64**, 660-661.

Ácido 3-hidroxi-4-isopropilciclohex-1-*en*-carboxílico monoterpeno aislado de *Flourensia resinosa*.

A. Berenice Aguilar-Guadarrama[1], **Itzel Berenice Morales-Montesinos**[2], María Yolanda Rios [1].

[1] Centro de Investigaciones Químicas, IICBA, Universidad Autónoma del Estado de Morelos

[2] Facultad de Farmacia, UAEM.

itzel.moralesm@uaem.edu.mx

En este estudio se analizaron las fracciones polares del extracto metanólico de *Flourensia resinosa*. Por medio de técnicas cromatográficas y espectrometricas se identificó el monoterpeno ácido 3-hidroxi-4-isopropilciclohex-1-*en*-carboxílico además de una serie de metabolitos que son probables responsables de las diferentes actividades encontradas en especies pertenecientes al género *Fluorensia*. Se evalúo el extracto en modelos *in vitro* para determinar su potencial antiinflamatorio e *in vivo* para el efecto antidiabético. El extracto metanólico muestra una importante inhibición de α-glucosidas.

Extenso

Introducción

Las plantas del género *Flourensia* son exitosas ya que emplean varios mecanismos de protección, como la formación de una película cerosa en sus partes aéreas para protegerlos de la deshidratación.[1] Esta película contiene compuestos capaces de inhibir el crecimiento de otras plantas y de actuar como agentes alelopáticos y herbicidas, así como inhibidores de la germinación. Sin embargo, estas plantas también han sido utilizadas para tratar reumas en la medicina tradicional.

Exposición

Hasta ahora, solo se ha determinado la composición química de los extractos de baja y mediana polaridad de *Flourensia resinosa*, por lo que resulta interesante conocer el contenido metabólico de sus fracciones polares a fin de complementar su estudio fitoquímico y determinar que moléculas son las responsables de las diferentes actividades biológicas mostradas.

Materiales

La especie *F. resinosa* fue recolectada en octubre del 2007 en una zona semidesértica llamada "Cerro del Señor" ubicada en la ciudad de Ixmilquilpán, Hidalgo.

Metodología general

La purificación de los metabolitos secundarios se realizó mediante técnicas cromatográficas convencionales, como son la cromatografía en capa fina (CCF) y cromatografía en columna (CC).

Para la elucidación estructural de los metabolitos aislados, se utilizaron las técnicas espectroscópicas de Resonancia Magnética Nuclear de protón (RMN^{1}H) y de Carbono trece (RMN^{13}C) y Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM).

Ensayo de inhibición de la actividad de α-glucosidasas

Se usaron ratas de la cepa Wistar que se sacrificaron para obtener su intestino. Éste fue enjuagado en una solución de NaCl 0.9%, con una solución tampón Na_3PO_4 10 mM a pH 7 y ampicilina (1 mg/mL). La proteína total se cuantificó por el método de Lowry. Para medir la actividad enzimática se utilizó almidón como sustrato, preparando una solución de 12.5 mg/mL en una solución de fosfatos 0.1 M a pH 7. Finalmente, la reacción se lleva a cabo por cuadruplicado, adicionando 100 µL de sustrato (almidón a 25 mg/mL) más 60 µL de Buffer de fosfatos pH 7, así como 25 µL la muestra (1 mg/mL). La reacción se inicia con 50 µL de la enzima y se incuba cada tubo durante 10 minutos, luego la reacción se detiene con 2 µL de acarbosa en un baño de hielo. La determinación de glucosa liberada se cuantifica mediante un kit comercial de glucosa oxidasa (Glucosa GOD-POD, SpinReact) (relación 1:100 muestra/reactivo; 250 uL volumen final), en microplacas de 96 pozos, midiendo su absorbancia a 492 nm, restando el valor a 630 nm, en un lector de microplacas genérico.[2]

Evaluación de la actividad antiinflamatoria mediante edema inducido en oreja de ratón con TPA.

Para el ensayo de edema inducido con TPA (2.5 µL en 10µL de acetona Sigma Aldrich) se emplearon 5 ratones machos de la cepa CD1 (por dosis), que fueron alimentados con dieta estándar. Se prepararon estandares del extracto metanólico de *F. resinosa* a concentraciones de 1 y 10 mg/mL, que fueron diluidas en agua. Se aplicó en la oreja derecha de cada raton 10µL de TPA, 10 minutos después se aplicó 10 µL del extracto. Para el grupo control positivo, se utilizó como referencia indometacina, administrada a la misma concentración que el extracto. Al grupo control solo se aplicó 10µL de TPA en la oreja derecha. Después de 4 horas, los animales se sacrificaron por dislocación cervical, se cortaron ambas orejas y se tomaron muestras circulares de 6 mm de diámetro. La inhibición del edema se calculó con la fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\Delta Wc - \Delta We}{\Delta Wc} \times 100$$

Donde:

ΔWc es el peso de los halos auriculares del grupo control.

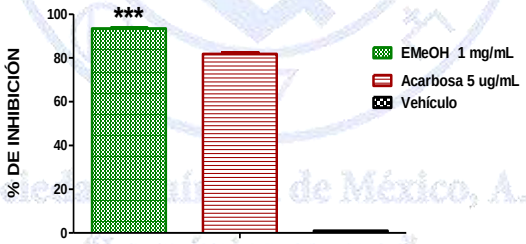
ΔWe es el peso de los halos auriculares del grupo tratado.

Discusión de resultados

Del análisis fitoquímico del extracto polar de *F. resinosa* fue posible identificar al ácido 3-hidroxi-4-isopropilciclohex-1-*en*-carboxílico mediante experimentos de RMN^{1}H y ^{13}C. La identidad del resto de compuestos se realizó mediante análisis de los cromatogramas obtenidos por CG-EM y de los espectros de masas. Se determinaron los valores de índice de retención lineal (LRI) y se compararon con los reportados en la literatura y con los de la biblioteca NIST con la que cuenta el cromatógrafo de gases. Los compuestos identificados de mayor interés, por tener propiedades insecticidas y por ser inhibidores de la germinación, son 4-vinilguaiacol y ácido *O*-cumarico, mientras que erucilamida y tetradecanamida son conocidos por ser antifúngicos y antimicrobianos.

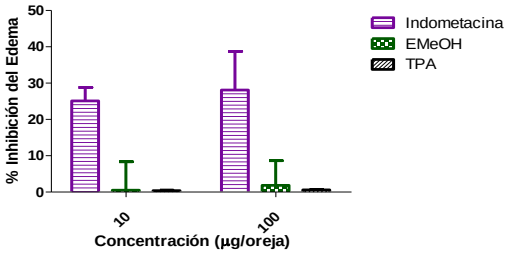
Evaluación de la actividad inhibitoria del extracto metanólico de *Flourensia resinosa* sobre las enzimas α-glucosidasas intestinales.

El extracto metanólico de *F.resinosa* resultó ser un potente inhibidor de α-glucosidasas intestinales frente a acarbosa, lo que podría explicarse debido a la presencia del ácido *O*-cumarico, pues se sabe que la adición de grupos OH a la estructura de ácido cinámico potencia su efecto como inhibidor de α-glucosidasas.[3]



Grafica 1. Porcentaje de inhibición sobre las enzimas α-glucosidasas intestinales EMeOH (93.4%), Acarbosa (80%), Vehículo (<0.001%)

Determinación de la actividad antiinflamatoria del extracto metanólico de Flourensia resinosa



Grafica 2. Efecto antiinflamatorio del Extracto Metanólico de F. resinosa en modelo de inducción del edema por TPA. Extracto Metanólico de Flourensia resinosa (EMeOH), Acetato de Tetradecanoil-forbol (TPA).

El extracto metanólico no mostró actividad antiinflamatoria significativa comparado con indometacina en ninguna de las dos dosis analizadas. Esto puede explicarse debido a que los metabolitos identificados en las fracciones del extracto metanólico fueron el 4-Vinilguaiacol y la Erucilamida, los cuales ya han sido reportados por causar irritación en piel y mucosas de manera tópica y oral.[4,5]

Conclusiones

En el estudio químico del extracto metanólico de *F.resinosa* se identificó el monoterpeno ácido 3-hidroxi-4-isopropilciclohex-1-*en*-carboxílico. De los constituyentes identificados mediante análisis por CG-EM, la mayoría tienen potencial herbicida, insecticida y algunos son utilizados como inhibidores de la germinación. En este estudio se identificaron metabolitos que han sido reportados con actividad herbicida e insecticida. Adicionalmente, se corroboró por ensayos *in vitro* que el extracto total posee actividad antidiabética como potente inhibidor de α-glucosidasas, mientras que los resultados de la actividad antiinflamatoria *in vivo* indican que el extracto es un agente pro-inflamatorio.

Bibliografía

1. Rios, M. Y., Estrada-Soto, S., Flores-Morales, V. & Aguilar, M. I. Chemical constituents from Flourensia resinosa S.F. Blake (Asteraceae). *Biochem. Syst. Ecol.* (2013). doi:10.1016/j.bse.2013.09.005
2. Ramírez, G., Zavala, M., Pérez, J. & Zamilpa, A. In Vitro Screening of Medicinal Plants Used in Mexico as Antidiabetics with Glucosidase and Lipase Inhibitory Activities. *Evidence-Based Complement. Altern. Med.* **2012,** 1–6 (2012).
3. Adisakwattana, S., Chantarasinlapin, P., Thammarat, H. & Yibchok-Anun, S. A series of cinnamic acid derivatives and their inhibitory activity on intestinal α-glucosidase. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 1195–2000 (2009). doi:10.1080/14756360902779326
4. Ma, X. *et al.* Influence of sulfur fumigation on volatile oil constituents of Codonopsis radix (dangshen) by GC-MS method. *African J. Tradit. Complement. Altern. Med.* **13,** 197 (2016).
5. Oleofine Organics. Material Safety Data Sheet. (2005).

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

Determinación de la toxicidad oral aguda de *Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae/Sterculiaceae)

Gabriela Victoria Ruiz Castillo[1, 4], M. C. Ana María Hanan Alipi[2], Dra. Angélica Berenice Aguilar Guadarrama[3], Dr. Javier Germán Rodríguez Carpena[4], Dr. en F. Gabriela María Ávila Villarreal[1, 4]

[1]Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas y Farmacéuticas, [2]Unidad Académica de Agricultura, [4]Unidad Especializada en I+D+*i* en Calidad de Alimentos y Productos Naturales - CENiT[2]; Universidad Autónoma de Nayarit.

[3] Centro de Investigaciones Químicas IICBA, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

victoria.ruiz@uan.edu.mx

Resumen

Guazuma ulmifolia es un árbol originario de América y ampliamente distribuido en la república mexicana. En la medicina tradicional es utilizado empíricamente para el tratamiento de diversas enfermedades como gastritis, disentería, sífilis, enfermedades renales y diabetes. Dado que es una planta ampliamente utilizada por la población se llevó a cabo un estudio *in vivo* preliminar para determinar la toxicidad oral aguda con base en un protocolo modificado de la guía 423 para la determinación de la toxicidad oral aguda acorde a los criterios de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD) y así obtener la primera evidencia científica de la seguridad de su uso.

Introducción

En México 306 especies de plantas de 235 géneros y 93 familias están documentadas para el tratamiento empírico de la diabetes mellitus tipo 2. Una de estas plantas es *Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae), cuya corteza, fruto y hojas son utilizadas en forma de infusiones por la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de diabetes mellitus tipo 2.[14] El objetivo de este trabajo fue determinar la toxicidad oral aguda del extracto del fruto de *G. ulmifolia* con el fin de corroborar la seguridad de uso de ésta planta.

Exposición

Guazuma ulmifolia es un árbol mediano que puede llegar a medir hasta 25 m de altura y 80 cm de diámetro en su tronco, pero que generalmente es más pequeño.[15] Es originario de América tropical. Su distribución se extiende desde México hasta el noreste de Argentina, y el Caribe.[16] En México crece a lo largo de la costa del Océano Pacífico hacia el sur, hasta el Istmo de Tehuantepec y a lo largo de la costa del Golfo de México, incluida la Península de Yucatán. Se puede encontrar en los estados de Campeche, Colima, Chiapas, Chihuahua, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Veracruz y Yucatán.[17]

En México, el cocimiento de la corteza, las hojas o el fruto, se emplea de manera externa para dar baños o lavados en afecciones, erupciones y heridas a nivel cutáneo; es recomendado ingerir el cocimiento de la raíz, fruto o corteza en casos de fiebre y tos, también es utilizado como coagulante en casos de hemorragias vaginales, menstruación irregular, para estimular el parto y enfermedades venéreas (sífilis). Así mismo se utiliza para padecimientos del sistema genitourinario; el fruto molido es utilizado como agua de uso para atender enfermedades del riñón como mal de orín, retención de orina y como antiséptico urinario.[18] Se ha reportado que los extractos acuosos de la corteza de *G. ulmifolia* disminuyen los niveles de glucosa en plasma en un 22%

[14] Andrade-Cetto, 2005
[15] CONAFOR
[16] Cristóbal, 1989
[17] CONABIO
[18] UNAM

en conejos sanos.[19] A pesar del extenso uso empírico de *G. ulmifolia* para tratar diversas enfermedades a la fecha no se han realizados estudios que determinen su rango de toxicidad-seguridad.[20]

Materiales

El material vegetal (frutos) se adquirió de manera comercial en Tepic, Nayarit. La identificación de la especie vegetal se realizó conforme a lo establecido en el método general de análisis MGA-FH 0040 de la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos y en colaboración con la M.C. Ana María Hanan Alipi por medio de una comparación morfológica microscópica y macroscópica con una muestra auténtica disponible en el Herbario de la Universidad Autónoma de Nayarit con número de folio 001260, y con la descripción de la especie.

Animales

Se utilizaron ratones de la cepa CD-1, con un peso entre 35-45 g. Los animales se mantuvieron en condiciones estándar de laboratorio a 24-26 °C, humedad 70-75% y ciclo de luz-oscuridad de 12 h con acceso libre a agua y privación de comida 16 h previas al ensayo. Los métodos en este estudio, se realizaron de acuerdo a las especificaciones establecidas por la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999.

Métodos

Preparación de extracto: el material vegetal (fruto) se pulverizó en un molino de cuchillas, posteriormente se realizó la extracción en una proporción 1:3 (sólido-líquido) vía maceración con una solución hidroalcohólica (85:15 etanol-agua) y se dejó en reposo por un periodo de 72 h, todo lo anterior se realizó por triplicado. El disolvente se decantó y se eliminó por destilación rotatoria a presión reducida hasta obtener el extracto seco.

Toxicidad Oral Aguda: el ensayo de la determinación de la toxicidad aguda (TOA) se llevó a cabo siguiendo el protocolo de la OECD 423 con algunas modificaciones. Los animales se separaron en cuatro grupos; se administró una sola dosis vía oral; el vehículo y el extracto EHAGu a dosis de 50, 300 y 2000 mg/Kg de peso, respectivamente. Posterior a la administración aguda, se llevó a cabo la observación de los animales los 14 días posteriores.[21]

Resultados y Discusión.

La identificación de la especie vegetal se realizó mediante la observación y comparación microscópica y macroscópica con una muestra auténtica, se observaron cápsulas ovoides de 3 a 4 cm de largo, con numerosas protuberancias cónicas en la superficie, de color moreno-oscura a negra con olor dulce, coincidiendo con lo reportado.[4]

En el estudio de toxicidad oral aguda de EHAGu, se presentaron signos de letargo con comportamiento errático posterior a la administración durante las primeras cuatro horas. Se registraron tres decesos, el primero en uno de los animales administrados con 300 mg/kg dentro del primer minuto. Dentro del grupo administrado con una dosis de 2,000 mg/Kg se presentó el deceso de 2 animales (figura 5). Al practicar necropsia a los animales no se encontraron alteraciones macroscópicas en los órganos examinados. Lo anterior permitió clasificar al EHAGu en la categoría 4 (300-2000 mg/Kg) acorde al Sistema Globalmente Armonizado (GSH) esta categoría nos indica que puede ser nocivo para la salud en caso de ingestión por periodos prolongados. Basándose en la guía 423 de la OECD, se calculó la DL_{50} del EHAGu correspondiente a 1000 mg/Kg (Figura 1).

[19]Adnyana IK, 2013

[20]Alarcón-Aguilar, 1998

[21] OECD, guía 423

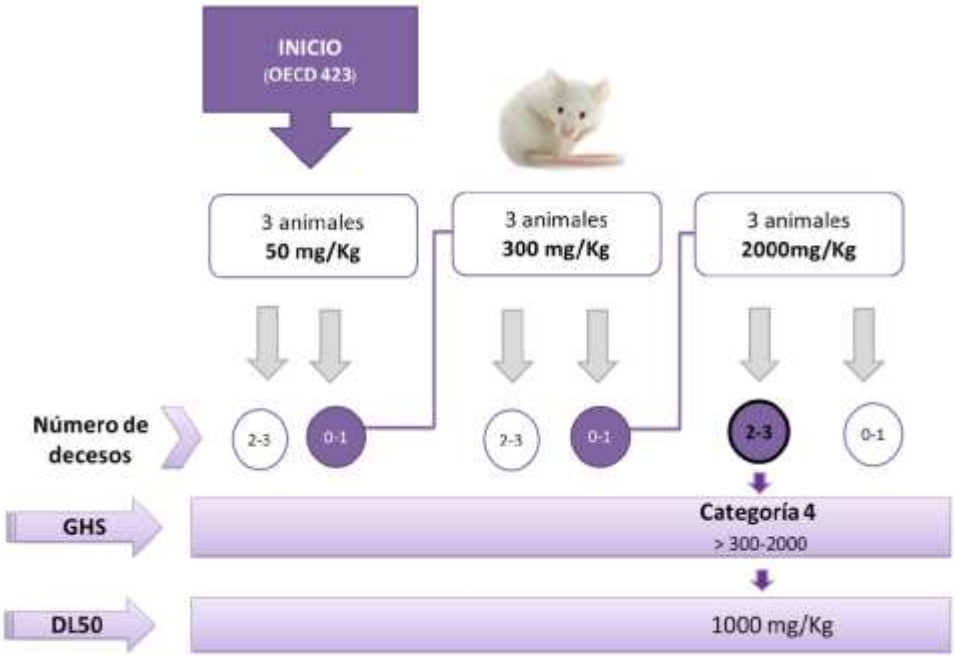


Figura 1. Resultados del ensayo toxicidad oral aguda de EHAGu (Protocolo OECD-423).

Conclusión.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el ensayo TOA, el EHAGu se considera nocivo para la salud en caso de ser administrado por periodos prolongados y se clasifica en la categoría 4 (con posibilidad de efectos irreversibles) acorde al sistema globalmente armonizado, con una DL_{50} calculada de 1000 mg/Kg.

Bibliografía.

1. Andrade-Cetto, Heinrich. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. Journal of ethno-pharmacology. 2005; 99: 325-348.
2. Guazuma ulmifolia Lam. Publicado en: Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) [Online]: (http://www.cnf.gob.mx:8090/snif/especies_forestales/detalles.php?tipo_especie=7
3. Cristobal CL. Comentarios acerca de Guazuma ulmifolia (Sterculiaceae). Bonplandia 1989; 6(3): 183-196. Disponible en J STOR, www.jstor.org/stable/43574297.
4. Guazuma ulmifolia Lam. (1789). Publicado en: Encyclopédie Méthodique, Botanique 3: 52. Link: http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/66-sterc1m.pdf
5. Monografía Guazuma ulmifolia Lam. (2009) Publicado en: Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana de la Universidad Nacional Autónoma de México. Link: http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Guazuma_ulmifolia&id=7657
6. Alarcon-Aguilara, Roman-Ramos. et al. Study pf the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetics. Journal of ethno-pharmacology 1998; 61: 101-110.
7. Adnyana IK, Yulinah E, Yuliet, Kurniati NF. Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Guazuma ulmifolia* Lam., ethanolic extract of *Curcuma xanthorriza* and their combinations in alloxan-induced diabetic mice. World Res J Med Aromat Plants 2013; 7: 158-64.
8. OECD Test Guideline 423 : Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method Link:https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oecd/oecd_gl423.pdf

Trabajos profesionales

Obtención del aceite de semillas de dátil (*Phoenix dactylifera*) y su transformación a biodiesel

Benito Reyes Trejo,[1] Claudia L. Castillo Hernández,[3] Lino Joel Reyes,[3] Diana Guerra Ramírez,[1] Holber Zuleta Prada,[1] Roger Vega Acosta,[2] Germán López Valdez[1]

[1]Laboratorio de Productos Naturales, Área de Química, [2]Area de Física, Departamento de Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, Apartado 74, Oficina de Correos Chapingo, Texcoco, México, 56230, México. benijovi@yahoo.com.mx, [3]Departamento de Química Orgánica, División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química, UNAM, Delegación Coyoacán D.F.

Resumen

Se obtuvo aceite a partir de semillas de dátil, el cuál fue necesario pre tratar con agua a 60° C, ya que su índice de acidez fue de 3.40. El aceite de dátil tiene una entalpía de combustión de 37.47 kJ/g, el cual indica que si es viable la utilización de aceite de dátil para la formación de este biocombustible. Se logró medir la densidad, la viscosidad dinámica y la viscosidad cinemática y se compararon con un petroquímico de referencia. Se transformó el aceite a biodiesel mediante una reacción de transesterificación, con un rendimiento aparente de 56.10%, una densidad a 20°C de 0.8896 g/cm^3, una viscosidad dinámica a 40°C de 4.2658 mPa*s y una viscosidad cinemática de 4.877 mm^2/s. Se propone el uso de biodiesel de dátil mezclado al 10% con diésel en motores de combustión interna.

Introducción

Factores ambientales y la disminución de reservas de petróleo constituyen los principales factores para la búsqueda de combustibles alternativos llamados biocombustibles. El biodiesel es un combustible afín con la ecología, se prepara a partir de aceites comestibles de reuso, dichos aceites provienen de grasas vegetales y animales. Se emplean en motores de diesel como automóviles, autobuses, equipo de construcción, barcos, generadores de corriente eléctrica y en calefactores de los hogares (Tyagi et al, 2013). Actualmente se llevan a cabo estudios sobre la síntesis y caracterización de biodiesel a partir de aceites no comestibles como el de semillas de *Jatropha curcas* y de aceite de cocina recuperado (Babazadeh, 2017). Tomando en cuenta que estos materiales están siendo ampliamente investigados en otros países y de manera incipiente en México, se plantea entonces la búsqueda de otras fuentes alternativas de aceites no comestibles como el obtenido de las semillas de dátil. Las semillas de dátil son consideradas en Egipto como un producto de desecho, se han descartado como forraje para animales domésticos y de granja y potencializado su uso como fuente de antioxidantes y producción de biodiesel (Sanna et al, 2014). Enormes cantidades de semillas de dátil pueden ser recolectadas de las industrias que procesan dicho fruto en otros países como Túnez (Besbes et al, 2005). Este trabajo se enfocó en la obtención de aceite de semillas de dátil (*Phoenix dactylifera*) procedentes de una empresa de San Luis Rio Colorado, Sonora, México y su transformación a biocombustible, así como en la medición de su calor de combustión y otras propiedades fisicoquímicas como su densidad, viscosidad e índice de acidez entre otras.

Discusión de resultados

Características del aceite de semillas de dátil (*Phoenix dactylifera*)

Los rendimientos de aceite fueron bajos tanto por extracción soxhlet (1.96%) como por maceración (2.6%), considerando que las semillas egipcias contienen del 6 del 8 % de aceite (Sanna et al, 2014). El índice de acidez después de un tratamiento de lavado con agua a 60° C, disminuyó de 3.40 a 2.98 mgKOH/g de muestra, mismo que fue adecuado para efectuar la reacción de transesterificación de manera exitosa, de acuerdo a la norma ASTM (Jamil et al, 2016). El índice de yodo es de 189.047 g de I_2/g muestra, y respecto a la norma EN 14214/07 especifica que el limite sugerido debe ser menor a 120 g de I_2/g muestra, y puede indicar un elevado grado de insaturación o que contiene de forma natural compuestos como carotenoides ó tocoferoles. (Enweremadu y Mbarawa, 2009). Otros parámetros medidos fueron la viscosidad dinámica (63.540 mPa*s), la viscosidad cinemática (66.973 mm^2/s) y la densidad (0.9487 g/cm^3), como se observa en la tabla 1, son muy semejantes a los reportados para el aceite de soya de viscosidad 65 mm^2/s a 20° C y densidad 0.92 g/cm^3 (Ramadhas et al, 2005). Como se observa en l tabla 1, al aumentar la temperatura se registran valores disminuidos de estas propiedades fisicoquímicas. En cuanto al calor de combustión del aceite de dátil es de 36.3463 KJ/g,, este resultado indica la energía liberada al someterse a combustión 0.5 g de muestra a una presión y temperatura controlada para obtener CO_2 y agua.

Características del biodiesel obtenido del aceite de semillas de dátil (*Phoenix Dactylifera*)

Al biodiesel de dátil se le determino el parámetro de calidad, índice de acidez, teniendo como resultado promedio de 0.65 mg KOH/g muestra. En cuanto a las viscosidades dinámica, cinemática y densidad del biodiesel de dátil y sus mezclas con diésel

petroquímico se resumen en las gráficas 1, 2 y 3, respectivamente. Tanto la viscosidad dinámica y a la cinemática están relacionadas con su oposición a fluir debido a su resistencia interna. El motivo principal de la obtención del biodiesel (Mezcla de esteres metílicos de ácidos grasos) fue con el propósito de reducir dichas viscosidades (Atadashi, et al, 2013). Dicha reducción afecta positivamente al rendimiento de las bombas y sistemas de inyección a bajas temperaturas, ya que al aumentar la fluidez del combustible, los inyectores rocían el combustible adecuadamente por lo que se logra una mejor combustión (Tariq, et al., 2012), aunque también ésta depende de la composición del combustible y se ve reflejada además en otros parámetros de destilación, propiedades de flujo en frío y en la densidad. Finalmente, el calor de combustión determinado en kJ/g, indica que el estimado para biodiesel de dátil (37.4692), es inferior al diésel de origen fósil (45.6352) en tanto que las mezclas analizadas (90/10, 80/20, 70/30 y 60/40) aportaron valores de 44.0098, 43.5268, 43.3670, 42.6024 kJ/g respectivamente. Estos datos sugieren que se pueden utilizar mezclas de biodiesel/diésel del tipo 90/10, sin modificar significativamente la estructura interna de un motor diésel.

Tabla 1. Valores de Viscosidad dinámica, Viscosidad cinemática y Densidad del aceite de dátil determinados a varias temperaturas

Temperatura (°C)	Viscosidad dinámica (mPa*s)	Viscosidad cinemática (mm^2/s)	Densidad (g/cm^3)
20	63.540	66.973	0.9487
30	39.524	41.987	0.9413
40	25.769	27.589	0.9340
50	17.686	19.085	0.9267
60	12.657	13.767	0.9193
70	9.4413	10.353	0.9119
80	7.2517	8.0180	0.9044
90	5.5586	6.1969	0.8970

Figura 1. Viscosidades dinámicas de biodiesel y sus mezclas con diesel petroquimico a distintas temperaturas

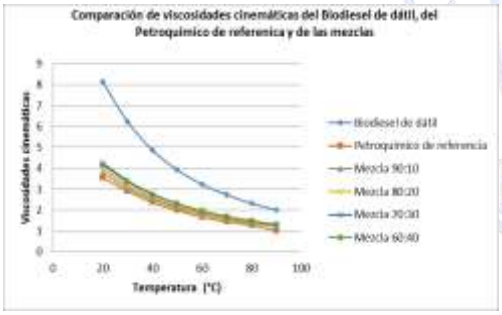


Figura 2. Viscosidades cinematicas de biodiesel y sus mezclas con diesel petroquimico a distintas temperaturas

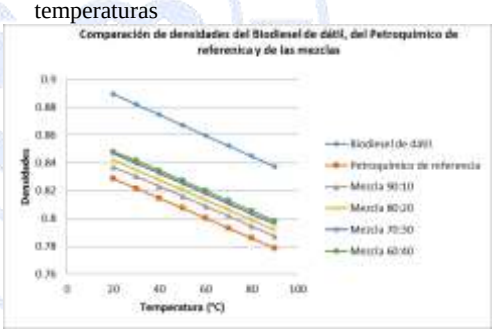


Figura 3. Densidades del biodiesel y sus mezclas con diesel petroquimico a varias temperaturas

Materiales y métodos

Extracción de semillas aceite dátil (*Phoenix dactylifera*)

Un lote de 1.0 kg de semillas fueron molidas empleando una licuadora convencional y de un molino mecánico manual hasta obtener un tamaño de partícula de 1.5 mm, la semilla molida se mantuvo bajo maceración con 2 L de hexano por 9 días, para una vez transcurrido ese tiempo se filtró y concentró el aceite con un rota-vapor a 45°C, esta operación se repitió tres veces o hasta agotar las semillas del aceite para obtener 26 g de aceite. Otro lote de 50 g de semillas molidas se extrajo con hexano durante 18 hrs por el método de soxhlet y por triplicado, una vez filtrado, secado y evaporado, se obtuvieron 1.22 g de aceite.

Obtención del Biocombustible

Una muestra de 9.4 g de aceite de semillas de dátil (*Phoenix dactylifera*) se mezcló con una solución de KOH (0.25 g) en 8 mL de metanol, y se mantuvo bajo reflujo durante 120 min. Para corroborar la obtención de biodiesel, durante el desarrollo de la reacción, se efectuó un monitoreó cada 30 minutos por cromatografía de capa delgada utilizando placas de Silica Gel 60 F_{254}, tomándose como referencia una muestra de aceite (A) y como eluyente una mezcla de Hexano/AcOEt/AcOH [12: 1: 0.1], finalmente se revelaron las placas en una cámara de yodo. Posteriormente el producto de reacción se transfirió a un embudo de separación y se mantuvo en reposo durante toda la noche. Se decantó la parte inferior que contenía glicerina y la fase superior del biocombustible se lavó con una disolución de ácido cítrico al 0.1 % (3 veces) y después con agua caliente (60º C, 3 veces), finalmente se secó con Na_2SO_4 anhidro y se decantó para obtener 5.28 g de biocombustible.

Determinación del grado de acidez libre

La acidez correspondiente a la presencia de los ácidos grasos libres, se estimó utilizando 1g de una muestra de aceite, a la que se le añadió 10 mL de metanol y 3 gotas de fenolftaleína, manteniendo la mezcla a 60°C con agitación constante, posteriormente se procedió a titular con disolución valorada de KOH (0.11092 N) hasta obtener una coloración rosa tenue (Método oficial MGA 001 de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, NMX-F-101-SCFI-2006). Se registró el volumen gastado de KOH y se efectuó el cálculo correspondiente, usando la siguiente ecuación:

$$IA = \frac{(mL\ KOH)(Normalidad\ KOH)(56mgKOH)}{gmuestra}$$

El índice de acidez se expresa en mg de KOH/g de muestra. Esta determinación se hizo por triplicado.

***Índice de Yodo*:** Esta determinación se llevó a cabo pesando 0.5g de muestra en un matraz Erlenmeyer, luego se cubrieron las matraces con papel aluminio, asegurándose de que no hubiera ningún paso de luz, luego se adicionó 5 mL de diclorometano y 5 mL del reactivo de Wijs, los matraces se cubrieron y se dejaron reposar durante 30 min en la oscuridad. Transcurrido el tiempo de reposo, se adicionó 5 mL de yoduro de potasio al 10 % y 50 mL de agua destilada previamente hervida, posteriormente se tituló con una solución valorada de tiosulfato de sodio 0.1N hasta alcanzar una coloración amarillo paja, para posteriormente agregar 1mL de solución de almidón como indicador y continuar la titulación hasta que la solución sea incolora. Finalmente se registró el volumen gastado de tiosulfato de sodio 0.1N.

Se incluyó un blanco, llevándose a cabo todo lo anteriormente descrito, solo que al blanco no se le agrego muestra, al final también se obtiene un volumen de tiosulfato gastado, pero ahora para el blanco. Esta determinación se hizo por triplicado, para calcular el índice de yodo se aplico la siguiente ecuacion:

$$Índice\ de\ yodo = \frac{(V\ blanco - V\ titulación)(12.7g\ I_2)(N\ Na_2S_2O_4)}{Peso\ de\ la\ muestra\ (g)}$$

Determinación de densidad y viscosidad

Al aceite de dátil, al petroquímico de referencia y al biodiesel formado, así como a las mezclas Biodiesel/Diesel; 90/10, 80/20, 70/30, 60/40, se les determinó la densidad, la viscosidad dinámica y la viscosidad cinemática en un viscosímetro de la marca Anton Paar, Stabinger, Viscosimeter SVM 3000, tomando valores de temperatura e incrementando de 10 en 10°C, empezando con 20°C hasta 90°C.

Determinación de calor de combustión

Se determinó en un calorímetro isoperibolico marca Parr, modelo 6400 Calorimeter. Para esta prueba se pesó 0.5g de muestra (aceite o biodiesel).

Conclusiones

Se obtuvo el aceite a partir de semillas de dátil, cuyo calor de combustión es 37.47 kJ/g, el cual indica que si es viable la utilización de aceite de dátil para la formación de este biocombustible. Se determinaron a dicho aceite los parámetros fisicoquímicos de densidad, viscosidad dinámica, viscosidad cinemática y se compararon con un petroquímico de referencia. Se logró obtener biodiesel del aceite de dátil, con ayuda de una reacción de transesterificación, con valores de densidad a 20°C de 0.8896 g/cm^3, una viscosidad dinámica a 40°C de 4.2658 mPa*s y viscosidad cinemática de 4.877 mm^2/s. Se propone el uso de biodiesel de dátil mezclado al 10% con diésel en motores de combustión interna.

Bibliografía

Atadashi, I. M.; Aroua, M. K.; Aziz, A. R.; Sulaiman, N. M. N. (2013*). J. Ind. Eng. Chem*. **19**, 14-26.

Babazadeh, R. (2017). *Renew. Sust. Ener. Rev*. **75**, 1089-1100.

Besbes, S.; Blecker, C.; Deroanne, C.; Lognay, G.; Drira, N. E.; Attia, H. (2005) *Food Chem.*, **91**, 469-476.

Enweremadu, C.C.; Mbarawa, M.M. (2009) *Renew. Sust. Ener. Rev* **13**, 2205-222.

Jamil, F.; Al-Muhtaseb, Ala, H.; Al-Haj, L,; Al-Hinai Mohab, A.; Hellier, P.; Rashid, U. (2016). *Energ. Convers. Manage*. **117**, 264-272.

Ramadhas, A.S.; Jayaraj, S.; Muraleedharan, C. (2005). *Fuel*. **84**, 335–340.

Sanna, M. M.; Eman, A. H.; Emad, A.S. (2014). *Asian J. Biochem.* **9**, 119-130.

Tariq, M.; Ali, S.; Khalid, N. (2012). *Renew. Sust. Ener. Rev*.**16**, 6303-6316.

Actividad anti-inflamatoria e identificación de los compuestos contenidos en *Stemmadenia obovata.*

A. Berenice Aguilar-Guadarrama,[1] Ihtiel Benítez Cortés,[2] Elizabeth Negrete León,[3] Juan José Acevedo,[3] María Yolanda Ríos[1].

[1] Centro de Investigaciones Químicas, IICBA, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

[2] Facultad de Farmacia, UAEM.

[3] Facultad de Medicina, UAEM.

baguilar@.uaem.mx

Resumen

Stemmadenia obovata es una planta de la familia Apocynaceae que se caracteriza por biosintetizar alcaloides indólicos, además de ser ampliamente utilizada en la medicina tradicional.[1] Por ello, en el presente trabajo se determinó la actividad antiinflamatoria de los extractos metanólico y acetónico, en un modelo *in vivo* de inducción de edema auricular con TPA en ratón de la cepa CD1. Los resultados obtenidos indican que los extractos evaluados inhiben la inflamación de manera significativa, comparados con el fármaco de referencia indometacina, y el porcentaje de inhibición es dependiente de la dosis administrada. A través del análisis por CG-EM se identificaron alcaloides indólicos en ambos extractos.

Extenso

Introducción

Una de las bases para realizar la búsqueda de nuevas moléculas con actividad terapéutica es su uso en la medicina tradicional. Este proyecto se basa en ello para analizar *S. obovata*, planta medicinal empleada en el estado de Morelos para reventar granos, como analgésico, cicatrizante y en el tratamiento de bronquitis.[2] En la literatura se encuentra reportado que las moléculas aisladas de este género presentan diversas actividades biológicas. De entre ellas se decidió estudiar la actividad antiinflamatoria, como una alternativa en la búsqueda de nuevas fuentes de fármacos antiinflamatorios que presenten menos efectos adversos que los que se encuentran actualmente en el mercado, así como para contribuir al estudio del contenido metabólico de las plantas de Morelos.

Exposición

Las especies de la familia Apocynacea se caracterizan por contener, entre otros metabolitos secundarios, alcaloides indólicos que poseen diversas actividades farmacológicas. Algunos de ellos se utilizan en el tratamiento de la inflamación. Por ello, resulta importante realizar estudios fitoquímicos y de actividad a los extractos de *S. obovata* (Apocynacea), lo que permitirá demostrar si poseen esta actividad.

Materiales

Los extractos de *S. obovata* fueron fraccionados mediante técnicas cromatográficas convencionales, como cromatografía en columna abierta (CC), utilizando sílice flash 230:400. Las fracciones obtenidas fueron monitoreadas por cromatografía en capa fina (CCF), utilizando cromatofolios de aluminio de 0.20 mm de espesor de gel de sílice 60 con indicador de fluorescencia UV254. Las cromatoplacas fueron observadas bajo una lámpara de luz UV y posteriormente reveladas con sulfato cérico amoniacal en H_2SO_4 2N. Se usaron disolventes deuterados: metanol (CD_3OD), cloroformo ($CDCl_3$) y Tetrametil Silano (TMS) como referencia interna, para disolver las muestras obteniendo los experimentos de ^1H y de ^{13}C a 400 y 100 MHz, respectivamente, en el equipo Varian Mercury 400 MHz (9.4T).

Una columna HP-5MS 30 m x 0.225 mm x 0.25µm, y Helio como gas acarreador fueron empleados para el Cromatógrafo de Gases Agilent Technology modelo 6890 plus, acoplado a un espectrómetro de masas 5973N.

Se utilizó TPA (tetradecanoil forbol, 2.5 µg en 10 µL de etanol) para inducir inflamación en la oreja de ratón. Los disolventes para solubilizar las muestras fueron H_2O destilada y una mezcla H_2O:DMSO (95:5), y el control positivo fue Indometacina. Los ratones fueron anestesiados aplicando 60 µL de una solución stock de pentobarbital sódico al 6.3%.

Métodos

El aislamiento de los compuestos de tipo alcaloide contenidos en *S. obovata* (recolectada en Sierra de Huautla, Morelos) se realizó mediante una fraccionamiento del extracto metanólico por gradiente de pH.[3] El extracto acetónico, así como las extracciones obtenidas a diferente pH, fueron purificados por las técnicas cromatográficas convencionales (CC, CR y CCF). Todas las fracciones obtenidas fueron monitoreadas por CCF. Los compuestos aislados se analizaron medinate técnicas espectroscópicas de RMN, espectrométricas y CG-EM.

La determinación de la actividad antiinflamatoria se llevó a cabo por la inducción de edema auricular en ratón con TPA, con una n=4 ratones, aplicando 5 µL de TPA en cada lado de la oreja izquierda, pasados 10 minutos se aplicaron 5 µL del extracto a evaluar por cada lado de la oreja derecha, posteriormente se dejó actuar por un periodo de 4 horas. Los ratones fueron sacrificados por dislocación cervical. De ambas orejas se tomó un halo de 6 mm de diámetro y se determinó el porcentaje de inhibición con la diferencia de pesos entre las orejas. Los extractos, así como el control positivo Indometacina, fueron administrados a las dosis de 5, 10, 100 y 300 µg/oreja. El análisis estadístico se llevó a cabo en el programa GraphPad Prism 5, utilizando el análisis de Bonferroni, en el cual se comparó cada extracto y cada fracción analizada a las diferentes dosis con el fármaco de referencia, Indometacina.

Discusión y resultados

La muestra IB-So-1 (fracciones 10-17), obtenida del extracto metanólico por extracción a pH 2 (ácida), fue analizada mediante CCF, observando una coloración amarilla cuando fue revelada con sulfato cérico amoniacal. Del análisis de los experimentos de RMN ^{1}H y ^{13}C se pudo determinar que no estaba completamente pura, pero si lo suficiente para identificar señales características de un alcaloide de tipo indólico. Estas señales fueron comparadas y concordantes con las reportadas para Vincamina (**1**).[4]

Adicionalmente, la muestra fue enviada a CG-EM. En la Figura 1 se muestra su cromatograma. Se observa la presencia de 5 compuestos, dos de ellos corresponden a impurezas y tres a alcaloides indólicos, en un tiempo de retención en min (tr): Eburnamonina (**2**) a 94.88, Vincamina (**1**) a 99.23, y Apovincamina (**3**) a 100.35.

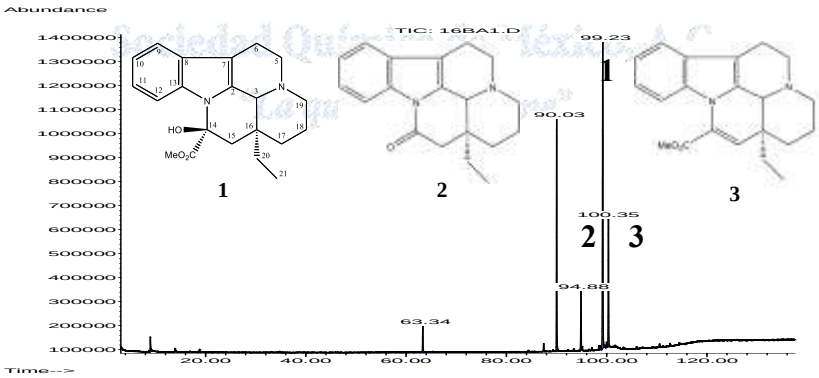


Figura 1. Cromatograma de la muestra IB-So-1, donde se detecta una mezcla de tres alcaloides indólicos.

La actividad antiinflamatoria fue dependiente de la dosis. A mayor dosis menor inflamación. El extracto metanólico integro presenta diferencia significativa respecto de indometaciona, ya que, a las dosis de 5, 10 y 100 µg/oreja, la actividad antiinflamatoria es mayor que la que presentó el fármaco de referencia. Sin embargo, la actividad antiinflamatoria disminuyó a la dosis de 300 µg/oreja.

A una dosis de 5 y 10 µg/oreja, el extracto acetónico no presentó diferencia significativa respecto de indometacina, pero a 100 y 300 µg/oreja aumenta significativamente. Las fracciones ácida y 27-39 no presentan diferencia significativa con indometacina a las dosis analizadas. Sin embargo, en la Figura 2 se observa que tienen efecto antiinflamatorio semejante al fármaco de referencia.

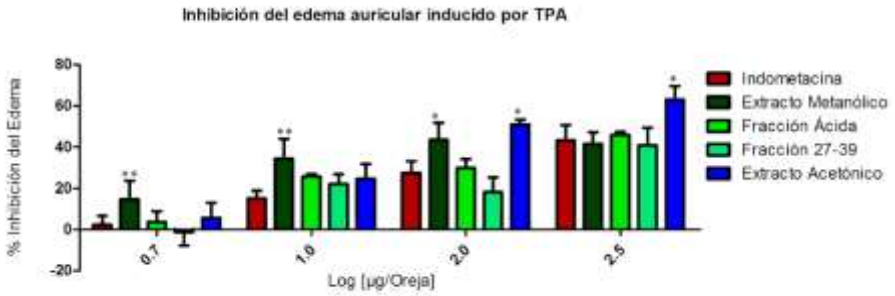


Figura 2. % de inhibición de la inflamación mostrada por los extractos y fracciones de *Stemmadenia obovata*.

Conclusiones

Stemmadenia obovata biosintetiza alcaloides indólicos, los cuales son característicos en la familia Apocynaceae. De manera adicional, se identificaron algunos compuestos de tipo terpenoide. Los alcaloides indólicos aquí caracterizados no han sido identificados en esta especie, pero son similares a los reportados en otras especies de este género. Los compuestos de tipo alcaloide se identificaron en la fracción obtenida a pH ácido del extracto metanólico. Los extractos metanólico y acetónico, así como las fracciones evaluadas, muestran actividad inhibidora de inflamación cuando son comparados con indometacina.

Referencias

1. Zocoler, M. A., de Oliveira, A. J., Sarragiotto, M. H., Grzesiuk, V. L., & Vidotti, G. J. (2005). Qualitative determination of indole alkaloids of *Tabernaemontana fuchsiaefolia* (Apocynaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 16(6B), 1372-1377.

2. Monroy-Ortíz, C., & Castillo España, P. (2007). *Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos*. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

3. Madinaveitia, A., Reina, M., de la Fuente, G., Gonzalez, A. G., & Valencia, E. (1996). Obovamine, a new indole alkaloid from *Stemmadenia obovata*. *Journal of Natural Products*, *59*(2), 185-189.

4. Ayyad, S. E. N., Basaif, S. A., Al-Saggaf, A. T., & Alarif, W. M. (2012). Vincamine and 14-epi-vincamine indole alkaloids from Ambelania occidentalis. *Journal of Saudi Chemical Society*, 16(4), 419–422.

Estudio químico y biológico de organismos fúngicos de Cuatro Ciénegas, Coahuila, México

Carlos Antonio Fajardo-Hernández[1], Mario Figueroa[1]

[1]Facultad de Química, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional Autónoma de México

carlosantoniofajardo@hotmail.com

Como parte de un proyecto de investigación enfocado a la búsqueda de nuevas entidades químicas bioactivas a partir organismos fúngicos, se realizó la evaluación del potencial antimicrobiano (ensayo de microdilución con MTT) y los análisis de derreplicación (UPLC-PDA-HRESIMS-MS/MS) sobre una serie de hongos saprótrofos aislados de la reserva de Cuatro Ciénegas, Coahuila. Los resultados de estos análisis permitieron identificar algunos taxones que inhibieron el crecimiento de las bacterias Gram positivo (*B. subtilis* y *S. aureus*), Gram negativo (*E. coli* y *S. typhi*), y el de la levadura *C. albicans*, a las concentraciones de 20 y 200 μg/mL, además de que producen algunos metabolitos como el altenueno, la carbonarona, la *epi*-pestalamida A, el ácido absícico, la fonsecina, dicetopiperazinas, entre otros.

Introducción

Históricamente, los productos naturales han sido la base de la terapéutica contra distintas enfermedades debido a su selectividad, potencia, diversidad química-estructural y gran capacidad para penetrar las membranas celulares e interactuar con las proteínas blanco.[1-3] Además de ser fármacos *per se*, éstas moléculas son prototipos ideales para el desarrollo de análogos sintéticos y semisintéticos que pueden ser utilizados contra distintas padecimientos emergentes, como son las infecciones y el cáncer resistentes a los medicamentos actuales.[4] Cabe destacar que de los 250,000 productos naturales reportados en el Diccionario de Productos Naturales, únicamente cerca de 14,000 se han obtenido a partir de hongos.[5,6]

Se ha estimado que el número de especies fúngicas que existen en el planeta varía entre los 1.5 y 5 M.[7–9] Nuestro país hospeda cerca del 10% de esta diversidad, aproximadamente 200,000 especies, de las cuales se han descrito taxonómicamente solo alrededor de 8,000 (4%).[10,11] En este sentido, México representa un excelente candidato para la bioprospección de especies fúngicas, sobre todo las provenientes de zonas inexploradas.[11] Así, la reserva de Cuatro Ciénegas (CC) en el estado de Coahuila es un importante reservorio de biodiversidad dentro del desierto de Chihuahua, con niveles altos e inusuales de endemismo.[8] Cabe destacar que en esta región, las condiciones ambientales difieren significativamente por la composición del agua, la velocidad de flujo y el volumen de descarga temporal, debido a que la regresión final del mar se produjo durante el Paleoceno tardío, y el aislamiento completo del Valle de Cuatro Ciénegas del Golfo de México ocurrió con el levantamiento de la Sierra Madre Oriental durante el Eoceno Medio. La alta diversidad biológica existente es comparable a la de las islas Galápagos, y sus ecosistemas poseen un bajo contenido de nutrientes (extremadamente oligotróficos) debido a los niveles de fósforo casi imperceptibles.[11-13]

Discusión de Resultados

A partir de los fermentados en medio sólido (arroz húmedo) de 24 taxones fúngicos aislados de una muestra de placa microbiana recolectada en la base de la montaña Becerra en CC, se prepararon los correspondientes extractos orgánicos en pequeña escala mediante maceración y procesos de partición. Todos los extractos fueron evaluados contra una batería de bacterias Gram positivo (*Bacillus subtilis* y *Staphilococcus aureus*), Gram negativo (*Escherichia coli* y *Salmonella typhi*) y la levadura *Candida albicans*, además de ser sometidos a un proceso de derreplicación vía UPLC-PDA-HRMS/MS contra una base de datos *in-house* que contiene más de 300 micotoxinas comunes y otros metabolitos de origen fúngico. Los resultados de los ensayos se resumen en la **Tabla 1** y **Figura 1**. Se puede observar que la mayoría de las cepas fueron activas principalmente contra *B. subtilis* y *S. aureus*, además de que mediante el análisis de los tiempos de retención, perfiles en el UV y espectros de masas de alta resolución masas/masas (MS^2) por electrospray (ESI) en los modos positivo y negativo de los extractos, se identificaron una serie de metabolitos secundarios de tipo policétido, terpenos y péptidos producidos por estos organismos.

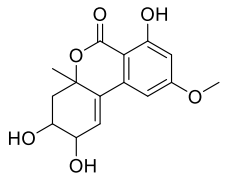
Conclusiones

Los organismos fúngicos aislados de la reserva de CC mostraron una actividad biológica significativa contra la batería de organismos ensayados. Además, se logró identificar mediante los estudios de derreplicación, una serie de metabolitos secundarios pertenecientes a las categorías de los policétidos, terpenos y péptidos, y que pueden ser responsables parcialmente la actividad. La selección de los taxones más activos nos permitirá obtener nuevas moléculas biodinámicas con potencial para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos.

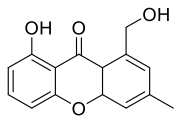
Tabla 1. Potencial antimicrobiana de los organismos fúngicos de CC.

Extracto	Peso (mg)	*B. subtillis*	*S. aureus*	*E. coli*	*S. typhi*	*C. albicans*
CC6-1	159.8	I	I			
CC6-4	125		IP			I
CC6-5	74.2		IP			
CC6-6	30.8	IP	IP			
CC6-7	69.2		IP			
CC6-8	45.2	I				
CC6-9	103.9		IP			I (IP)
CC6-12	90.0		IP			
CC6-14	51.6	**I**	IP	IP		
CC6-15	112.2			I	I	
CC6-16	261.0		IP			I
CC6-17	75.0		IP			I
CC6-18	42.8	I				
CC6-21	112.2		IP		IP	
CC6-22	247.4		IP		IP	
CC6-23	231.1				IP	
CC6-24	29.9					
Control positivo CIM (µg/mL)		0.8	0.2	3.9-7.8	1.6	12.5
Criterios de actividad:		**I**	inhibición total a 200 y 20 µg/mL			
		I (IP)	inhibición total a 200 e inhibición parcial a 20 µg/mL			
		I	inhibición total a 200 µg/mL			
		IP	inhibición parcial a 200 µg/mL			

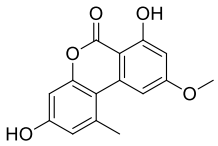
Figura 1. Resultados positivos de los estudios de derreplicación.



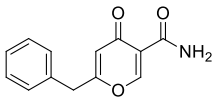
Altenueno (**CC6-1**)



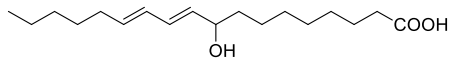
1-Hidroxi-6-metil-8-hidroximetilxantona (**CC6-1**)



Alternariol monometil éter (**CC6-1** y **CC6-16**)

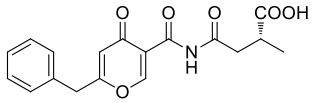


Carbonarona A (**CC6-4**)

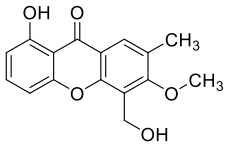


Ácido (10*E*,12*E*)-9-hidroxioctadeca-10,12-dienóico

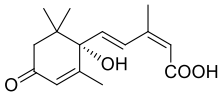
(**CC6-1**)



epi-Pestalamida A (**CC6-4**)

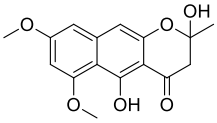


1-Hidroxi-5-(hidroximetil)-6-metoxi-7-metil-9H-xanten-9-ona (**CC6-4**)



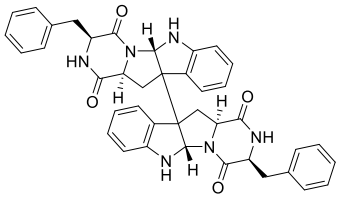
Ácido absícico (**CC6-15**)

$C_{15}H_{20}O_4$



Fonsecina (**CC6-16**)

$C_{15}H_{14}O_6$



Dímero de dicetopiperazina

(**CC6-17**) $C_{40}H_{36}N_6O_4$

Materiales y métodos

- *Aislamiento de las especies fúngicas:* Los organismos fúngicos se aislaron a partir de una muestra de placa microbiana provenientes del pie de la Montaña, Becerra, CC (26°52'53'' N; 102°8'11'' O, 825 msnm), utilizando el método de dilución sobre cajas de Petri con medio PDA con estreptomicina (500 mg/L). - *Cultivos en pequeña escala y obtención de los extractos orgánicos:* Cada cultivo axénico (24 taxones, códigos CC6-1–CC6-24) fue cultivado sobre un substrato sólido (15 g de arroz/30 mL agua) a partir de un inóculo de en medio líquido YESD. El proceso de fermentación fue por 21 días a temperatura ambiente y con fotoperiodos de luz-obscuridad 12/12 h. Posteriormente, los fermentados fueron macerados con 90 mL de $CHCl_3$-MeOH (1:1) por 6 h. La mezcla se filtró y al extracto obtenido se adicionaron 60 mL de H_2O y 40 mL de $CHCl_3$. La fase orgánica se llevó a sequedad a presión reducida y se desgrasó con hexano. La fracción libre de grasas se evaporó a sequedad.- *Actividad antimicrobiana:* EL potencial antimicrobiano de los extractos se determinó utilizando el método de microdilución en placas de ELISA de 96 pozos con el colorante MTT. Los organismos de prueba fueron las bacterias Gram positivo [*B. subtilis* (ATCC6633) y *S. aureus* (ATCC25923)], Gram negativo [*E. coli* (ATCC10536) y *S. typhi* (ATCC9992)], y la levadura *C. albicans* (ATCC10231). Todos los extractos se disolvieron en 10% DMSO acuoso a las concentraciones finales de 20 y 200 µg/mL, y como control positivo se utilizó ampicilina (bacterias) y nistatina (levadura). Al término de la incubación se adicionaron 5 µL del colorante MTT (5 mg/mL en MeOH). - *Estudios de derreplicación:* Los estudios de derreplicación se realizaron por la técnica de cromatografía de líquidos de ultra eficiencia acoplada a la espectrometría de masas de alta resolución (UPLC-PDA-HRESIMS-MS/MS). Para los análisis se utilizó un UPLC Acquity (Waters) equipado con un detector de arreglo de fotodiodos (200-500 nm) y con el software Empower 2.0. Todos los análisis se registraron a 40°C en una columna BEH C_{18} (1.7 µm, 2.1 × 10 mm); la elución se realizó con MeCN (A)-ácido fórmico 0.1% acuoso (B), utilizando el gradiente de 15% A → 100% A en 8 minutos, 100% A por 1.5 min, y regresando a las condiciones iniciales en 0.5 minutos. Los análisis por HRMS se realizaron por la técnica de electrospray (ESI) en los modos positivo y negativo en un espectrómetro de masas Thermo LTQ Orbitrap XL. Las condiciones del equipo fueron las siguientes: temperatura del capilar, 275°C; fuente de voltaje, 4.5 kV; voltaje del capilar, 20 V; y lente del tubo, 95 V. Se utilizó nitrógeno como gas acarreador. El control del instrumento y el análisis de datos se realizaron utilizando el programa Xcalibur 2.1. Para cada análisis se disolvió 1.0 mg de cada extracto en 0.5 mL de una mezcla de MeOH-dioxano (1:1), y 10 µL fueron inyectados al sistema. Los perfiles cromatográficos de cada muestra fueron comparados con una base de datos *in-house* que contiene alrededor de 300 micotoxinas conocidas.

Referencias

1. Lam, K.S. *Trends Microbiol.* 2007, 15, 279–289.

2. Harvey, A.L. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2007, 11, 480–484.
3. Butler, M.S., Buss, A.D. *Biochem. Pharmacol.* 2006, 71, 919–929.
4. Baker, D.D. et al. *Nat. Prod. Rep.* 2007, 1225–1244.
5. Cragg, G.M., Newman, D.J. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* 2013, 1830, 3670–3695.
6. Harvey, A.L. *Drug Discov. Today* 2008, 13, 894–901.
7. Mishra, Y., Singh, A. *J. Microb. Biochem. Technol.* 2014, s8-01.
8. Sette, L.D. et al. *Fungal Genet. Biol.* 2013, 60, 2–8.
9. Blackwell, M. *Am. J. Bot.* 2011, 98, 426–438.
10. Guzmán, G. *Biodivers. Conserv.* 1998, 7, 369–384.
11. Escalante, A.E. et al. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2008, 65, 50–60.
12. Elser, J.J. et al. *Freshwater Biol.* 2005, 50, 1808–1825.
13. Souza, V. et al. *Astrobiology*, 2012, 12, 641–647.

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

Efecto antihiperglucémico del extracto metanólico de *Hamelia patens* Jacq.

M en C. Catalina Rugerio Escalona[1], L. B. Esteban Juan Cruz Romero[2], Dr. Aarón Mendieta Moctezuma[3], Dra. Cynthia Ordaz Pichardo[4], Dra. Elvia Becerra Martínez[5], Dra. María del Carmen Cruz López[6], Dra. Fabiola Eloísa Jiménez Montejo[7].

[1,2,4,5] Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Instituto Politécnico Nacional.

[3] Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía, Instituto Politécnico Nacional.

[5] Centro Nacional de Micro y Nanotecnología, Instituto Politécnico Nacional.

ccruz25@hotmail.com

Los extractos metanólicos de hojas de *H. patens* fueron administrados en ratas Wistar con hiperglucemia inducida para evaluar su efecto antihiperglucémico. Se encontró que la administración de dosis repetidas de extracto, ocasionaron una disminución significativa de glucosa en sangre comparable con el efecto de la metformina. El análisis bioquímico muestra que el extracto también ocasiona una disminución de triglicéridos. No se observó la alteración de las enzimas hepáticas, ni alteración en otros parámetros como creatinina o urea lo que sugiere que los componentes del extracto no afectan hígado o riñón. Por lo que esta planta presenta un efecto antihiperglucémico y aparentemente escasa toxicidad. Dentro de los compuestos mayoritarios presentes en el extracto metanólico se encuentra la epicatequina y dos flavonoides que pueden estar relacionados con el efecto antihiperglucémico.

Introducción

De acuerdo a datos de la OMS, se estima que hay más de 347 millones de personas en todo el mundo que tienen diabetes, lo que convierte a esta enfermedad en un problema de salud que impacta a nivel laboral, social y económico. También se ha calculado que en los próximos 10 años el número de muertes relacionadas con esta enfermedad, se incrementará en un 50%, colocando a la diabetes como una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial.1 Por lo que resulta necesario, buscar alternativas de tratamiento para disminuir la prevalencia. Cabe mencionar que el control de la diabetes requiere de cambios en el estilo de vida, pero también del uso de fármacos. Actualmente, el principal tratamiento de la diabetes es el uso de fármacos orales entre los que se encuentran sulfonilureas, biguanidas, tioglit+azonas, inhibidores de glucosidasa. No obstante, una gran parte de la población recurre al uso de plantas o hierbas como terapia alternativa. Existen diversas especies vegetales consideradas antidiabéticas o con efecto hipoglucemiante, que desafortunadamente carecen de estudios que avale tal efecto.2 Hamelia patens Jacq, es una especie de la familia Rubiaceae sobre la cual se han realizado algunos estudios fitoquímicos en los que se reporta la presencia de alcaloides, triterpenos y fenoles3; estudios biológicos describen actividad antioxidante, antifúngica4, antidiarreica5, antiinflamatoria6 y se ha reportado que el extracto metanólico inhibe a la alfa-glucosidasa.7 Por lo que el propósito del presente trabajo fue evaluar el efecto antihiperglucémico en un modelo murino y hacer un análisis de los componentes presentes en el extracto mediante cromatografía y técnicas espectroscópicas.

Exposición

La diabetes representa una problemática a nivel mundial de manera que buscar alternativas de tratamiento para disminuir su prevalencia, resulta necesario. Sobre Hamelia patens, se sabe que el extracto metanólico inhibe a la alfa-glucosidasa, por lo que se consideró podría presentar efecto antihiperglucémico. Por ello, el extracto metanólico de las hojas se administró vía intragástrica a ratas con hiperglucemia inducida con estreptozotocina.8 Se monitoreo la glucosa y se encontró que el extracto ocasionó una disminución de la glucosa en las ratas diabéticas comparable a la metformina utilizada como fármaco de referencia.

Figura 1. *Hamelia patens*

Materiales

Las hojas de *Hamelia patens* fueron recolectadas en el municipio de Ahuacatlan, en la sierra norte de Puebla. La estreptozotocina fue adquirida en Sigma-Aldrich Co.; metanol y propilenglicol fueron grado analítico, la metformina y solución salina fue adquirida en una farmacia. Se utilizaron ratas macho Wistar del bioterio de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala de la UNAM.

Métodos

Extracción

Las hojas secas de *Hamelia patens* (500 g) fueron molidas en un molino mecánico y fueron extraídas por maceración en forma consecutiva con hexano, diclorometano y metanol (1:3 planta disolvente). También se obtuvo un extracto metanólico total a partir de 300 g de hojas. Todos los extractos se evaporaron en un rotavapor y posteriormente fueron liofilizados para el ensayo biológico.

Actividad antihiperglucemiante

Los experimentos se llevaron a cabo bajo los protocolos aprobados por el Comité de Cuidados y Uso de Animales de Laboratorio con base en las Normas Oficiales (NOM-062-ZOO-1999 y NOM-033-Z00-1995). Durante todo el experimento, los animales tuvieron libre acceso a agua y alimento. Se llevó un registro del peso y cantidad de alimento y agua consumida diariamente. Se utilizaron 60 ratas macho de la cepa Wistar con un peso de 180 ± 30 g. Se mantuvieron en jaulas a temperatura de 23±3°C y ciclos de 12 horas luz/oscuridad. se formaron 6 grupos de 10 ratas (Control sano (CS), Control diabético CD), Vehículo (PPG), Fármaco de referencia (metformina), extracto 1 (BHmt) y extracto 2 (BHmc). Con excepción del grupo control sano, todas las ratas fueron administradas con una dosis de estreptozotocina (50 mg/Kg) para la inducción de hiperglucemia. Después de tres días de la administración de estreptozotocina, se midió la glucosa con tiras reactivas y las que presentaron valores superiores a 200 mg/dL de glucosa se incluyeron en los grupos para el ensayo. Se administró vehículo (300 µl), metformina (100 mg/Kg) y extractos (150 mg/Kg) por vía orogástrica cada tercer día, haciendo un monitoreo de la glucosa periférica 24 h después de cada administración. Después de 15 dosis los animales fueron sacrificados y se obtuvo una muestra sanguínea para análisis de biometría, química sanguínea con perfil lipídico y hepático. Se extrajeron órganos como riñón, hígado y bazo para el estudio histopatológico posterior. Se hizo un análisis estadístico de comparación de varianzas múltiple de Bonferroni con un nivel de significancia de 0.05, utilizando el programa Graph Pad. Los valores se expresan como la media ± error estándar de la media.

Discusión y resultados

La administración de la dosis de estreptozotocina en las ratas indujo un incremento de glucosa a más de 200 mg/dL por lo que las ratas presentaron hiperglucemia. La administración de una dosis de 150 mg/Kg de los extractos cada tercer día, mostró una disminución gradual de los niveles de glucosa, observando que después de 6 dosis, el valor de glucosa era igual al del control sano. La administración de un número mayor de dosis mantuvo los niveles de glucosa en valor cercano al del control sano, por lo que no se ocasiona hipoglucemia. Como puede verse en el gráfico 1, los valores de glucosa al final de la administración de 15 dosis, muestran el efecto antihiperglucémico de los extractos metanólicos de *H. patens*. El análisis estadístico arrojo que no hay diferencia entre el efecto de los extractos y el de metformina, lo que sugiere que la disminución de glucosa ocasionada por los extractos es quizá por el mismo mecanismo de este fármaco.

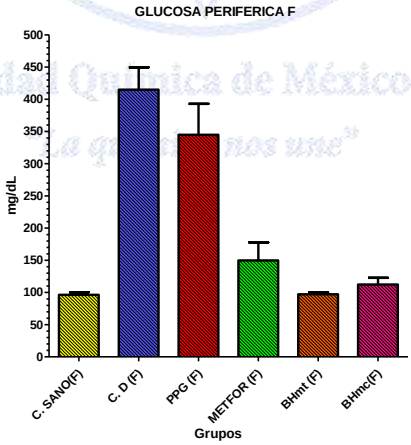


Gráfico 1. Efecto antihiperglucémico de extractos y metformina

Se hizo un análisis cromatográfico de los extractos y se determinó la presencia de tres componentes mayoritarios. Mediante cromatografía en columna abierta se realizó la separación de los compuestos mayoritarios. Se obtuvieron los datos

espectroscópicos de RMN y Espectrometría de masas de uno de ellos y se identificó a la epicatequina (Figura 2). Se están obteniendo los datos que permitan la identificación inequívoca de los otros dos compuestos.

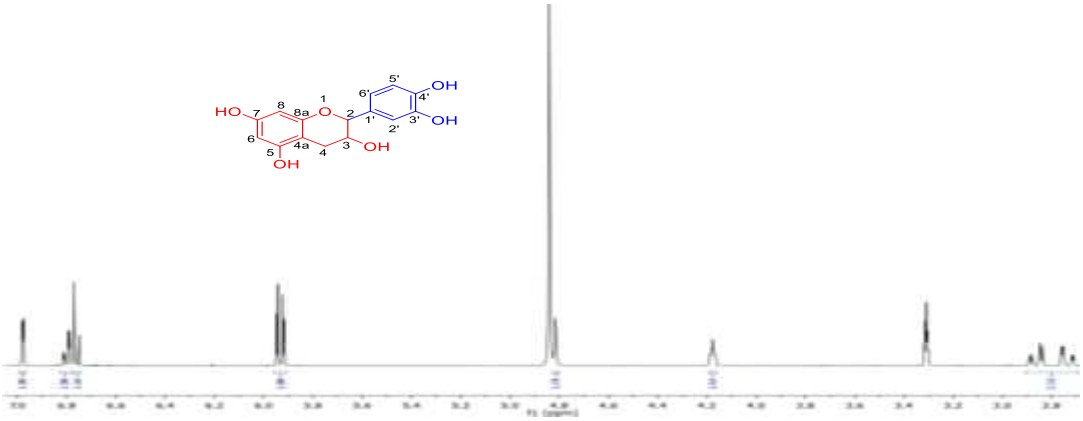


Figura 2. Espectro de RMN-^{1}H de epicatequina de *H. patens* (400 MHz, CD_3OD)

Conclusiones

El extracto metanólico total y metanolico consecutivo de *H. patens*, mostraron efecto antihiperglucémico en ratas Wistar con hiperglucemia inducida. Al presentar un efecto comparable a la metformina, se sugiere que el mecanismo de acción sea por la inhibición de absorción de glucosa. No hay diferencia significativa entre el efecto mostrado por el extracto total y el consecutivo, de manera que los componentes más polares de esta planta representan una alternativa para el tratamiento de la hiperglucemia. El efecto biológico puede estar relacionado con la presencia de epicatequina.

Referencias.

1. a) Guariguata, L., Whiting, D. R., Hambleton, I., Beagley, J., Linnenkamp, U., & Shaw, J. E. (2014). Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Research and Clinical Practice*, *103*(2), 137–149. b) Florez, H., Palacio, A., & Tamariz, L. (2008). Síndrome metabólico, diabetes y enfermedades cardiovasculares: seriamente vinculados. *Diabetes' Voice*, *53*, 21–24.
2. Andrade-Cetto, A., & Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, *99*(3), 325–348.
3. Karou, S. D. (2011). "Sub-Saharan Rubiaceae: A Review of Their Traditional Uses, Phythochemistry and Biological activities". *Pakistan Journal of Biological Sciences. , 14* (3), 149-169. B) Ríos, M. A. (2006). "Alcaloides Indólicos, terpenos, esteroles y flavonoides de las hojas de *Hamelia patens* Jacquin (Rubiaceae)". *Revista Cubana de Plantas Medicinales. , 11* (1), 1-5.
4. Khandelwal, S. S. (2012). "Anthelmintic and antimicrobial activity of *Hamelia patens* Jacq. (Rubiaceae)". *International Journal of Natural Products Research. , 1* (3), 54-56.
5. Salud-Pérez, G. Z. (1996). "Antidiarrhoeal activity of *Hamelia patens* methanol extract in rats and mice". *Phytotherapy research.* (10), 686-688.
6. Sosa, S. B. (2002). "Screening of the topical anti.inflammatory activity of some Central American plants". *Journal of Ethnopharmacology. , 81*, 211-215.
7. Jiménez-Suárez,V.,Nieto-Camacho,A.,Jiménez-Estrada,M.,AlvaradoSánchez,B.Anti-inflammatory,free radical scavenging and alpha-glucosidase inhibitory activities of Hamelia patens and its chemical constituents (2016). *Pharmaceutical Biology*, 54, 1822-1830.
8. Gong L., Yu C., Pei Y., and Shang C. (2016). Antihyperglycemic and antioxidant activities of twig extract from *Cinnamomum osmophloeum . J Tradit Complement Med*. (2016) Jul; 6(3): 281–288.

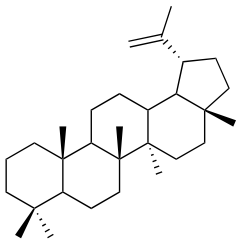
Completa Asignación Por Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear de Lup-20(29)-eno, Aislado del Extracto Hexánico De *Pilotrichella flexilis*

Cintia Mejía Lara[1], Holber Zuleta Prada[*],[1] Benito Reyes Trejo,[1] Jose Enrique Herbert Pucheta[2].

1. Laboratorio de Productos Naturales, AP 74 Oficina de Correos Chapingo, Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco. Texcoco, Estado de México, 56230 hozuleta_13@hotmail.com

2. Laboratorio Nacional de Investigación y Servicio Agroalimentario y Forestal (LANISAF), AP 74 Oficina de Correos Chapingo, Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco. Texcoco, Estado de México, 56230

En el presente trabajo, se logró el aislamiento y caracterización del triterpeno: Lup-20(29)-eno,(**1**) además de β-sitosterol y estigmasterol, del extracto hexánico del musgo *Pilotrichella flexilis*. El hidrocarburo aislado, se reporta por primera vez para esta especie de musgo. El trabajo de asignación se realizó del análisis de los técnicas espectroscópicas de IR, ^{1}H RMN, ^{13}C RMN, DEPT, COSY HMBC, HSQC y EM. Las propiedades ecológicas que el musgo posee, ha despertado el interés ha realizar el estudio fitoquímico de tipo de especies.



1

INTRODUCCIÓN.

La demanda de nuevos compuestos bio-activos que contribuyan al tratamientos de enfermedades, ha estimulado una búsqueda continua de compuestos derivados de plantas. Muchos de estos compuestos obtenidos en años recientes, han servido de base por la industria farmacéutica, como parte del desarrollo de nuevas moléculas farmacológicamente activas. Ante esta demanda, en los últimos años los briófitos (musgos) han sido estudiados, comprobando su actividad biológica como antimicrobianos, antioxidantes, antitumorales, antidotales, antipiréticos, diuréticos y antisépticos, entre otras[1]. Lo anterior ha postulado a los briofitos como plantas posibles para la obtención muchos compuestos bioactivos.

En las últimas dos décadas, se han aislado varios compuestos de bryophytas que han demostrado excelente actividad biológica. La mayor dificultad por la cual estas especies no se han estudiado en intensidad se debe a su pequeño tamaño y problemas de identificación. recientemente se han publicado trabajos sobresalientes en identificación, caracterización de metabolitos secundarios de musgos, además de su evaluación de bioactividad de un gran número de compuestos biológicamente activos[2]. La distribución de los musgos (Bryophyta) es amplia, incluye una gran variedad de hábitats. Aunque los briófitos sean plantas muy comunes, sus propiedades no han sido completamente explotadas con fines medicinales importantes. Son principalmente usados en propósitos domésticos, horticultura, productos farmacéuticos y como indicadores de buenas condiciones ambientales, también son ecológicamente significativos

RESULTADOS Y DISCUSION.

Del extracto hexánico de *Pilotrichella flexilis* se aislaron además de la mezcla de β-sitosterol y estigmasterol, el hidrocarburo tipo triterpeno Lup-20(29)-eno (**1**). El compuesto novedoso reportado en este trabajo se identifico por el análisis de los datos obtenidos en los espectros de IR, RMN que incluye IR, ^{1}H RMN (figura 1) ^{13}C RMN, DEPT, COSY HMBC, HSQC y EM. Es importante, resaltar que se hicieron experimentos de detección directa de ^{13}C RMN cuantitativos, variando el tiempo de relajación longitudinal de toda la serie, además de los tiempos de adquisición y otros parámetros de adquisición (figura 2). Por

otro lado, la asignación completa de las señales en los espectros mono y bidimensionales, se soportó en el uso de sistemas de procesamiento de datos NMRPIPE, Sparky y TOPSPIN versión 3.1.

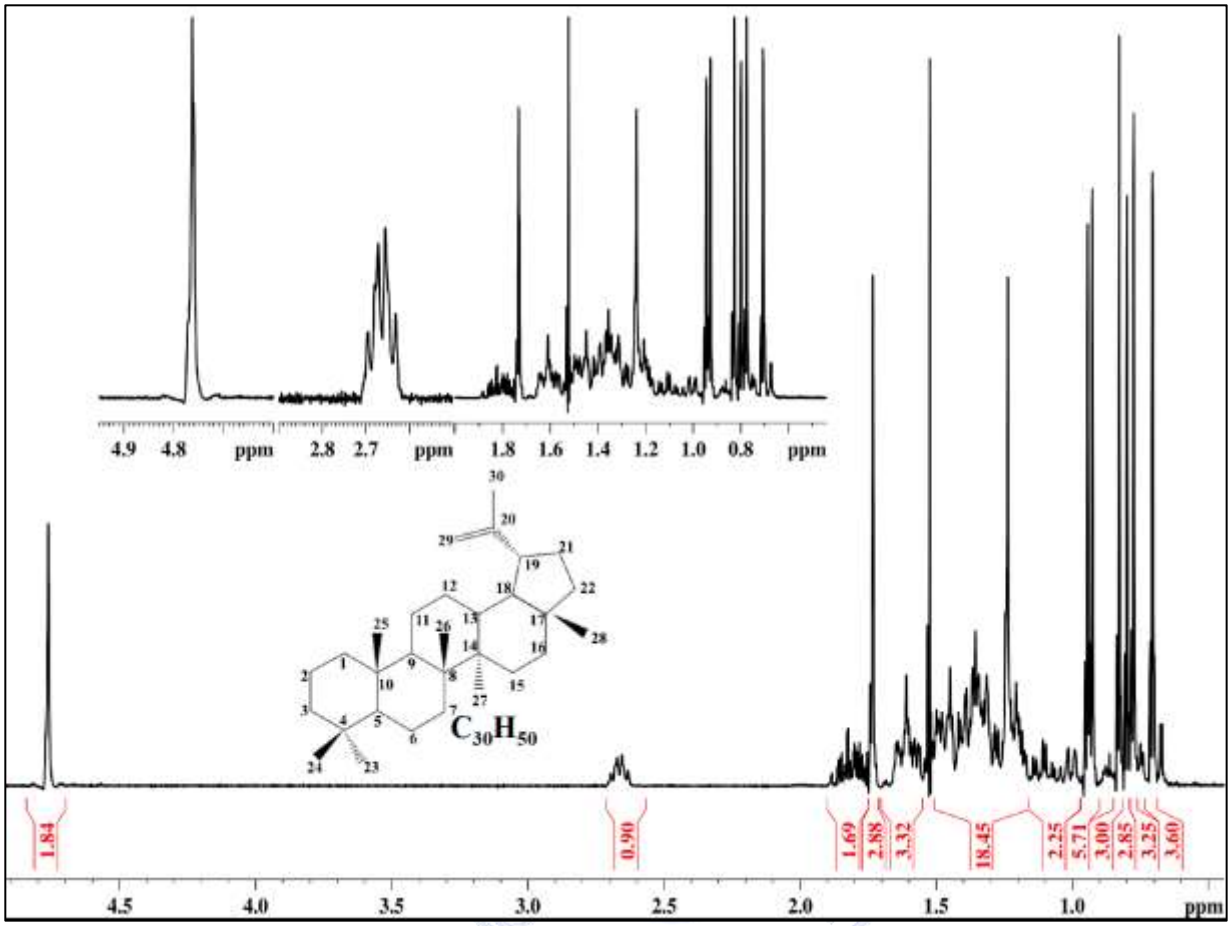


Figura 1, espectro de ^{1}H RMN de Lup-20(29)-eno

Adicionalmente los datos de EM. Permitieron corroborar la formula molecular de $C_{30}H_{52}$, para una masa de 410. Aunque se han reportado el aislamiento de diversos metabolitos en estas especies, es la primera vez que se reporta este derivado de lupeno en esta especie.

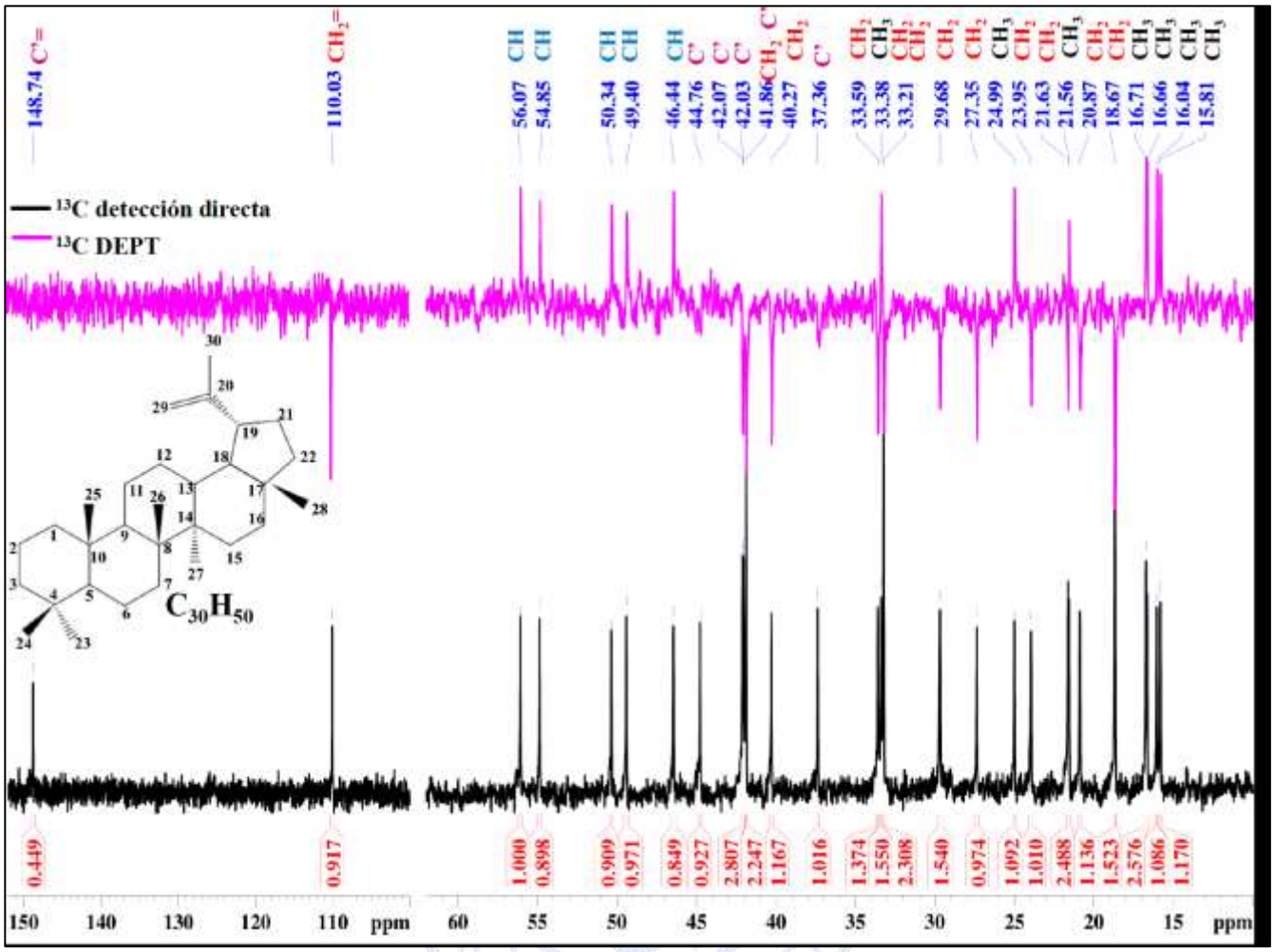


Figura 2. Espectros de ^{13}C RMN, DEPT procesados en la asignación de Lup-20(29)-eno

MATERIALES Y MÉTODOS

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

Obtención del material vegetal

El material fue colectado en la localidad "La Mojonera" municipio de Zacualtipán de Ángeles, en las coordenadas geográficas: 20° 38' 0.33"N, 98°35'51.8" E y una altitud que oscila entre los 1,780-1,950 msnm. La colecta se realizó a nivel morfológico y las determinaciones taxonómicas ya fueron realizadas, el material se dejó secar durante cinco días.

Extracción: El material seco de *Pilotrichella flexilis* se pulverizó mecánicamente mediante un procesador "Nutribuller". Obteniéndose 850 g de material seco, se le adicionaron 3 litros de metanol y se dejó macerar por tres días, se decantó el metanol y se concentró en un evaporador rotatorio esta misma operación se repitió cuatro veces para obtener el extracto metanólico. Se realizaron particiones del extracto metanólico disuelto en agua, primeramente con hexano y luego con acetato de etilo como disolventes. Tanto el extracto hexánico y de acetato de etilo se evaporaron a sequedad obteniéndose 5.2 g del hexánico y 0.76 g del de acetato de etilo.

Aislamiento y purificación

El extracto hexánico de *Pilotrichella flexilis* se fraccionó mediante cromatografía por columna a gravedad empacada con gel de sílice 60 (0.040-0.063mm., malla 230-400 ASTM) como fase estacionaria. Se eluyó inicialmente con hexano y se aumento la polaridad gradualmente con acetato de etilo hasta llegar al 100% de este. Se colectaron fracciones de 30 mL en total se obtuvieron 1023 fracciones que se analizaron por CCD y se reunieron las que mostraron una composición semejante. De las fracciones eluídas con hexano al 100 % se obtuvo, después de purificar por cromatografía de columna flash (CCF), El compuesto Lup-20(29)-eno, como sólido amorfo de color blanco. De las fracciones eluídas con mezcla hexano-acetato de etilo (95-5) se obtuvieron los esteroles β-sitosterol y estigmasterol. Estos compuestos se identificaron de acuerdo a sus datos espectroscópicos y por comparación con los datos de la literatura.

CONCLUSIONES

El extracto hexánico de *Pilotrichella flexilis*, contiene β-sitosterol, estigmasterol y Lup-20(29)-eno (**1**). En el caso del lupeno, la asignación fue posible por la implementación de experimentos en la adquisición de datos de RMN y el uso de programas de asignación como herramienta novedosa en la caracterización de estructuras de alta complejidad como lo es el caso del Lup-20(29)-eno.

BIBLIOGRAFÍA

1. Asakawa, Y. *In Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, and Structural Determination*, S. M. Colegate, R. J. Molyneux (Eds.), CRC Press, Boca Raton, 1993 pp. 319–347.

2. Asakawa, Y.; Ludwiczuk, A.; Nagashima, F. *Chemical Constituents of Bryophytes: Bio- and Chemical Diversity, Biological Activity, and Chemosystematics (Progress in the Chemistry of Organic Natural Products)*; Springer: Vienna, Austria, 2013; p. 796.

3. Rawani A, Pal S, Chandra G. *Evaluation of antimicrobial properties of four plant extracts against human pathogens*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine S71-S75

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

Inhibidores de las α-glucosidasas de *Malbranchea flavorosea*

Daniela Rebollar Ramos, Ana Laura Martínez, Rachel Mata

Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México 04510, México

danyreb93@gmail.com

Como parte de una investigación enfocada al descubrimiento de nuevos inhibidores de las enzimas α-glucosidasas, útiles para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 (DMT 2), a partir de fuentes naturales, en el presente trabajo se describe el estudio químico y farmacológico de *Malbranchea flavorosea* Sigler et Carmichael (ATCC 34529). El fraccionamiento de un extracto orgánico activo obtenido a partir del medio de cultivo sólido del organismo fúngico permitió el aislamiento y caracterización de varios metabolitos secundarios inhibidores de las α-glucosidasas de mamíferos, incluyendo el xylarinol A (**1**), y las massarigeninas B (**2**) y C (**3**). El efecto inhibitorio del producto **3** contra las enzimas α-glucosidasas se comprobó *in vivo* durante una prueba de tolerancia a la sacarosa.

Introducción

El género *Malbranchea* fue descrito en 1899; e inicialmente solo incluía a la especie *Malbranchea pulchella* Saccardo & Penig; sin embargo, en 1976, Sigler y Carmichael propusieron nuevas especies con características morfológicas similares a *M. pulchella*, de tal forma que el número de especies del género incrementó hasta 15.

De acuerdo con los reportes descritos en la literatura, las especies del género *Malbranchea* son una fuente importante de compuestos con actividad biológica. Los metabolitos más importantes del género incluyen alcaloides de tipo indólicos de la familia de las malbranqueamidas con propiedades vasorelajantes e inhibidoras de la calmodulina[1,2], alcaloides pirrólicos[3], esteroides citotóxicos[4]; terpenoides con actividad antifúngica[5]; y policétidos antivirales, antioxidantes y vasorelajantes, entre otros[6-8].

Exposición

La diabetes mellitus tipo 2 (DMT 2) representa uno de los problemas de salud más grave a nivel global. El control exitoso de la enfermedad se basa en el tratamiento con fármacos con distintos blancos terapéuticos y hábitos de vida saludables. Un grupo importante de fármacos para el tratamiento de la DMT2 son los inhibidores de las enzimas α-glucosidasas, los cuales disminuyen la absorción postprandial de glucosa; los inhibidores de las enzimas α-glucosidasas de uso actual presentan algunos efectos adversos, lo cual hace necesario la búsqueda continua de nuevas alternativas terapéuticas. En este sentido, la naturaleza, y en particular los microorganismos, representan una fuente invaluable de productos útiles *per se* o de moléculas líderes para el desarrollo de nuevos fármacos. En este marco de referencia, el presente trabajo se generó como parte de un proyecto que pretende descubrir nuevos inhibidores de las α-glucosidasas de origen natural para el posible desarrollo de nuevos fármacos antidiabéticos.

Materiales y métodos

El hongo *Malbranchea flavorosea* Sigler et Carmichael fue adquirido comercialmente de la American Type Culture Collection (ATCC No. 34529). La especie objeto de estudio fue cultivada en medio semisólido de arroz (84 g de arroz y 200 mL de agua destilada) durante un mes, en condiciones estáticas, a temperatura ambiente y con ciclos de luz-oscuridad 12/12 normales.

Una vez transcurrido el tiempo de fermentación, a cada matraz se le adicionaron 350 mL de una mezcla de CH_2Cl_2-MeOH (8:2), y el medio de cultivo se maceró durante siete días; posteriormente el extracto resultante se filtró y secó sobre sulfato de sodio anhidro; y se concentró *in vacuo* obteniéndose un residuo café oscuro. Este procedimiento se repitió en tres ocasiones y se combinaron los extractos debido a su homogeneidad cromatográfica; por lo que al final obtuvieron 21.71 g de extracto desgrasado.

El extracto seco se sometió a un proceso de reparto entre hexano y una mezcla de MeCN-MeOH (1:1) para así generar dos fracciones, una de hexano y la otra de MeCN-MeOH. Ambas fracciones se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron al vacío.

El extracto desgrasado (fracción MeCN-MeOH, 5.85 g) se fraccionó utilizando una cromatografía en columna tipo flash con 80 gramos de sílice y utilizando como sistemas de elución de hexano, mezclas de hexano-$CHCl_3$, $CHCl_3$ y mezclas de $CHCl_3$-MeOH de polaridad creciente. La separación en columna abierta con Sephadex LH-20 se realizó utilizando como fase móvil una mezcla de CH_2Cl_2-MeOH (2:8).

La purificación de los compuestos se llevó a cabo empleando la cromatografía de líquidos de alta eficiencia en fase reversa utilizando un cromatógrafo Waters equipado con una bomba 2535 y un detector PDA 2998, en una columna Gemini 5 μm C18 110A AXIA (21.1 × 250 mm) y un gradiente de elución entre 0.1% de ácido fórmico acuoso y MeCN, con un flujo de 21.24 mL/min.

La evaluación del extracto y los productos puros aislados sobre la actividad de las enzimas α-glucosidasas se realizó utilizando un método espectrofotocolorimétrico bien conocido[9].

El compuesto **3** también se evaluó *in vivo* a través de una prueba de tolerancia a la sacarosa (PTSO) en ratones normoglucémicos e hiperglucémicos, siguiendo un protocolo ya establecido en nuestro grupo de trabajo y reportado en la literatura[10].

Discusión y resultados

La evaluación de la actividad inhibitoria del extracto orgánico de la especie *Malbrancha flavorosea* contra las enzimas α-glucosidasas, permitió establecer que la muestra presenta una actividad significativa.

La fracción primaria de MeCN-MeOH (1:1) también presentó un efecto inhibitorio del 50% a 500 ppm, este efecto fue comparable al de la acarbosa (1 mM), utilizada como control positivo. Este resultado, aunque preliminar, permitió comprobar la presencia en el extracto y fracción primaria de metabolitos inhibidores de estas enzimas y dio la pauta para iniciar el estudio químico de la especie fúngica con el propósito de aislar a los principios activos.

El fraccionamiento secundario de la fracción de MeCN-MeOH (1:1) permitió la obtención de un conjunto de 22 fracciones secundarias (A-V), reunidas con base en su similitud cromatográfica. A partir de las fracciones secundarias H, J y K se aislaron e identificaron los compuestos xylarnol A (**1**)[11], massarigenina B (**2**) y massarigenina C (**3**)[12] (Figura 1).

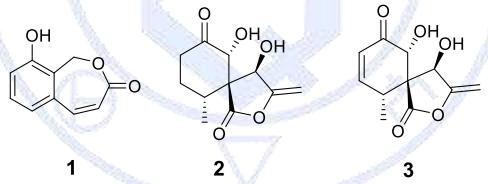


Figura 1. Compuestos obtenidos a través del fraccionamiento de *Malbranchea flavorosea*.

A partir de la fracción H, cristalizó de manera espontánea un sólido blanco, que fue purificado mediante un lavado con hexano y posterior recristalización con una mezcla de Hex-CH_2Cl_2-MeOH, obteniéndose el compuesto **1**, identificado como xylarinol A (15.0 mg). La resolución de las aguas madres de la fracción H por cromatografía de líquidos de alta eficiencia permitió el aislamiento del producto **2**, caracterizado como massarigenina B (16.8 mg, t_R 7.30 min).

En las fracciones J y K se observó la presencia de un compuesto mayoritario; por lo que ambas fracciones se combinaron y fraccionaron mediante una CCA de Sephadex. Este procedimiento cromatográfico permitió la separación de 120 mg del compuesto **3**, massarigenina C.

Por otra parte, la resolución de las fracciones secundarias M y N por HPLC en fase reversa en modo preparativo permitió la separación de dos compuestos mayoritarios que se encuentran en proceso de caracterización.

Finalmente, la evaluación del potencial inhibitorio de los productos **1**–**3** como inhibidores de las enzimas α-glucosidasas permitió establecer que solo los compuestos **1** y **3** presentan una actividad importante (CI_{50} 1.07 ± 0.01 y 1.25 ± 0.015 mM, respectivamente).

Con base en los resultados previos se procedió a realizar la evaluación *in vivo* del compuesto **3**, a través de una prueba de tolerancia a la sacarosa oral. Los resultados obtenidos mostraron la disminución significativa del pico pospandrial a las tres

dosis ensayadas (3.2, 10 y 31.6 mg/kg) tanto en los ratones normoglucémicos (Figura 2a), como en los hiperglucémicos. (Figura 2b). Asimismo, se puede observar que el compuesto tiene un comportamiento parecido al fármaco de referencia en los tiempos siguientes al pico postpandrial.

Con estos resultados se comprobó que la massarigenina C (**3**) inhibe las enzimas α−glucosidasas *in vivo* en un modelo estandarizado de tolerancia a la sacarosa.

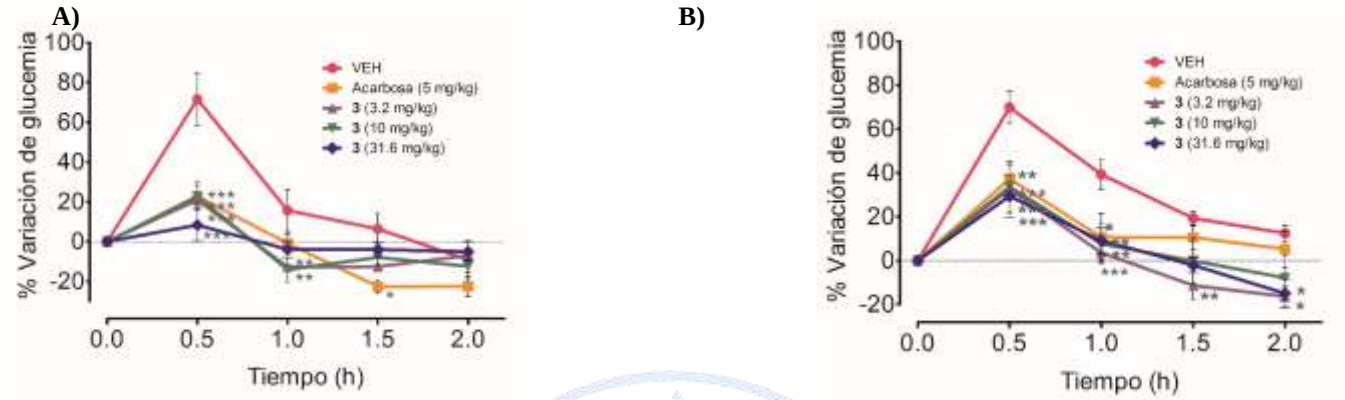


Figura 2. Efecto antihiperglicémico del compuesto **3** en ratones a) normoglucémicos y b) hiperglucémicos en una prueba de tolerancia oral a la sacarosa. *** $p<0.001$, ** $p<0.01$, * $p<0.05$

Conclusiones

Malbranchea flavorosea constituye una fuente importante de nuevos inhibidores de las enzimas α-glucosidasas. De manera adicional, esta investigación constituye el primer estudio químico de la especie objeto de estudio y el primer reporte del aislamiento de metabolitos derivados de la massarigenina en el género *Malbranchea*.

Referencias

1. Martínez-Luis, S., Rodríguez, R., Acevedo, L., González, M. C., Lira-Rocha, A., Mata, R. (2006). Malbrancheamide, a new calmodulin inhibitor from the fungus *Malbranchea aurantiaca*. *Tetrahedron*, 62 (8), 1817-1822.
2. Watts, K. R., Loveridge, S. T., Tenney, K., Media, J., Valeriote, F. A., Crews, P. (2011). Utilizing DART mass spectrometry to pinpoint halogenated metabolites from a marine invertebrate-derived fungus. *J Org Chem*, 76(15), 6201-6208.
3. Yang, Y. L., Liao, W. Y., Liu, W. Y., Liaw, C. C., Shen, C. N., Huang, Z. Y., Wu, S. H. (2009). Discovery of new natural products by intact-cell mass spectrometry and LC-SPE-NMR: malbranpyrroles, novel polyketides from thermophilic fungus *Malbranchea sulfurea*. *Chemistry*, 15(43), 11573-11580.
4. Wakana, D., Itabashi, T., Kawai, K., Yaguchi, T., Fukushima, K., Goda, Y., Hosoe, T. (2014). Cytotoxic anthrasteroid glycosides, malsterosides A-C, from *Malbranchea filamentosa*. *J Antibiot (Tokyo)*, 67(8), 585-588
5. Wakana, D., Hosoe, T., Wachi, H., Itabashi, T., Fukushima, K., Yaguchi, T., Kawai, K. (2009). The cytotoxic and antifungal activities of two new sesquiterpenes, malfilanol A and B, derived from *Malbranchea filamentosa*. *J Antibiot (Tokyo)*, 62(4), 217-219.
6. Schlegel, B., Hänel, F., Gollmick, F. A., Saluz, H. P., Gräfe, U. (2003). New quinones and hydroquinones from *Malbranchea cinnamomea* HKI 286 and HKI 296 and interaction with Tax/CREB expression system in yeast. *J Antibiot (Tokyo)*, 56(11), 917-922.
7. Hosoe, T., Iizuka, T., Komai, S., Wakana, D., Itabashi, T., Nozawa, K., Fukushima, K., Kawai, K. (2005). 4-benzyl-3-phenyl-5H-furan-2-one, a vasodilator isolated from *Malbranchea filamentosa* IFM 41300. *Phytochemistry*, 66(23), 2776-2779.
8. Wakana, D., Hosoe, T., Fukushima, K., Itabashi, T., Kawai, K. (2008). Two new furanone glycosides, malfilamentosides A and B, from *Malbranchea filamentosa*. *Mycotoxins*, 58(1), 1-6.
9. Rivera-Chávez, J., Figueroa, M., González, M.D.C., Glenn, A.E., Mata, R. (2015) α-Glucosidases inhibitors from a *Xylaria feejeensis* associated with *Hintonia latiflora*. *J Nat Prod*, 78, 730-735.
10. Flores-Bocanegra, L., González-Andrade, M., Bye, R., Linares, E., Mata, R. (2017). alpha-Glucosidase inhibitors from *Salvia circinata*. *J Nat Prod*, 80, 1584-1593.
11. Lee, I.K., Jang, Y.W., Kim, Y.S., Yu, S.H., Lee, K.J., Park, S.M., Oh, B.T., Chae, J.C., Yun, B.S. (2009) Xylarinols A and B, two new 2-benzoxepin derivates from the fruiting bodies of *Xylaria polimorpha*. *J Antibiot*, 62, 163-165.
12. Oh, H., Swenson, D.C., Gloer, J.B., Shearer, C.A. (2003) New bioactive rosigenin analogues and aromatic polyketide metabolites from the freshwater aquatic fungus *Massarina tunicata*. *J Nat Prod*, 66, 73-79.

Gel con efecto cicatrizante a base de *Psidium guajava* L.

M. en C. Floribeth León Pérez[1], José Rodrigo Parrao Pacheco [2], José Maximiliano Barrera Peraza[3], Juan Francisco Santana Almeida[4], M. en C. Manuel Chan Bacab[5], M. en C. Josefina Graciela Ancona León[6], M. en C. María Guadalupe Maldonado Velázquez[7], Juan Arana Lezama[8]

[1, 2, 3, 4] Facultad de Odontología, Universidad Autónoma de Campeche.

[5, 6, 7] Facultad de Ciencias Químicas y Biológicas, Universidad Autónoma de Campeche

[8.] Hospital de Especialidades Médicas

florleon@uacam.mx

Psidium guajava L es una planta que posee diversas propiedades, como son sus efectos antioxidante y antiinflamatorio entre otros. **Objetivo**: Elaborar un gel a base de *P. guajava L.* con efecto cicatrizante en piel. **Metodología**: Se preparó un extracto por maceración de hojas. en etanol al 70%, se rotoevaporó y se preparó un gel al 5% en petrolato y glicerina (10:1), mismo que se aplicó durante 15 días en una lesión de 11 mm en la región dorsal de dos grupos de 5 ratones (*Mus musculus*). Grupo 1 (extracto), grupo 2 (placebo). Se midió tamaño de la lesión hasta el cierre (día 2,6, 9 y 12), la eficacia cicatrización al día 15 (Método de Vaisberg) e histología con tinción H.E y Masson. **Resultados**: A los 12 días la lesión en el grupo tratado con extracto había cerrado completamente, mientras que el grupo placebo fue hasta el día 15 ($p \leq 0.001$). El porcentaje de eficacia fue mayor en el grupo tratado con extracto (43%) respecto al grupo placebo (37%). La histología mostró mayor actividad de queratinocitos y fibroblastos con producción de colágeno en el grupo experimental. **Conclusión**. El tratamiento con el extracto promovió cicatrización más rápida y de mayor eficacia respecto al grupo placebo.

Introducción

Psidium guajava, es una especie de gran valor en la medicina tradicional de muchos países, incluyendo el nuestro por lo que tiene un increíble potencial farmacéutico. La investigación tanto *in vitro* como *in vivo*, ha sido utilizada ampliamente para demostrar la actividad biológica de extractos, obtenidos a partir de diferentes partes de planta principalmente de las hojas, algunos de estos extractos, de uso común en la herbolaria para el tratamiento de dolencias, como por ejemplo casos de diabetes mellitus, cáncer, infecciones parasitarias, enfermedades cardiovasculares y de la piel. Tales efectos se han atribuido a la composición fitoquímica de la planta, que contiene metabolitos con características muy diversas como son los aceites esenciales, taninos, flavonoides y ácidos triterpenoides entre otros [(1,2,3)].

Discusión de los resultados

Durante el ensayo los animales tratados no mostraron alteraciones en comportamiento y tenían apariencia sana. Al comparar la reducción del tamaño de la lesión a lo largo del estudio (2, 6, 9 y 12 días) entre los dos grupos (tratado y placebo). Se encontró que para todos los tiempos analizados existió diferencia estadística entre ellos de $p \leq 0.001$. La reducción de la lesión fue siempre más rápida en el grupo tratado, tabla 1.

La inflamación en el borde de la lesión del grupo tratado fue menor respecto al placebo en todos los tiempos de observación. La actividad anti-inflamatoria, ha sido ya observada en ratas Wistar tratadas con carreginina [(3)], así como la actividad analgésica en ratones Balb/c. Los mecanismos que explican la actividad antiinflamatoria consideran por un lado, que algunos extractos de *P. guajava* disminuyen la activación del factor NFκB [(5)] que es una ruta de señalización importante para la división celular de linfocitos, y por otro, la fuerte presencia de los flavonoides del tipo quercetina que pueden inhibir enzimas ciclooxigenasas y con ello disminuir la inflamación [(6,8)].

Por otra parte, la eficacia de cicatrización fue mayor en el grupo tratado con el extracto (43%), mientras que el grupo tratado con placebo fue de un 37%. En la histología se observó mayor actividad celular en queratinocitos y fibroblastos con producción de abundante colágeno, tabla 2. Es posible que el incremento en la celularidad en la epidermis de novo y la producción intensa de colágeno en la dermis favorezca incremento de la fuerza de tensión y por lo tanto mayor eficacia de cicatrización.

Materiales

Para la obtención del extracto fue necesario el empleo de un mortero y un rotovapor, el mantenimiento de 10 animales (*Mus musculus)* en jaulas para roedor individuales con agua y comida ad libitum durante los días del estudio, se requirió también para realizar la incisión una tijera quirúrgica estéril y una regla para control de medida, al igual que un dinamómetro pequeño para medir la fuerza de tensión de la piel por el método de Vaisberg. Los cortes histológicos fueron colocados en formol

amortiguado hasta su inclusión en parafina y posteriormente teñidos con hematoxilina y eosina así como por la tinción de Masson.

Métodos

Es un estudio experimental de fase preclínica en modelo murino que se llevó a cabo en el laboratorio de ciencias básicas de la facultad de odontología en la Universidad Autónoma de Campeche. Obtención del extracto**:** Se recolectaron hojas de guayaba (*Psidium guajava L*) que fueron lavadas y secadas durante 24 horas a temperatura ambiente, posteriormente trituradas en un mortero y mezcladas con etanol al 70. Eliminando el solvente con un rotovapor. Estudio en animales: Se utilizó un total de 10 ratones machos (*Mus musculus*) de 3 meses de edad y 30 gramos de peso, que se dividieron en 2 grupos de estudio a los cuales bajo anestesia general, se les practicó una incisión circular en la parte dorsal de la espalda de aproximadamente 1 cm de diámetro: A un grupo se le aplicó el producto a base de petrolato y glicerina con el extracto de *P. guajava* al 5%, al segundo grupo (placebo) se le aplicó solo el vehículo (petrolato y glicerina). Se utilizó el método de Vaisberg para la determinación de la fuerza de tensión requerida para abrir la piel, al igual que la eficacia de cicatrización [3,4]. Histología: al 15º. día después de la aplicación del producto, se sacrificaron los animales y se realizaron los cortes histológicos de la piel cicatrizada, se fijaron en formol amortiguado al 10%, posteriormente, se realizó la inclusión en parafina y se tiñeron con hematoxilina eosina y la tinción de Masson [3], los criterios a observar fue infiltrado de polimorfos y células mononucleares, así como presencia de fibroblastos y colágeno [7].

Tabla 1. Reducción del tamaño de la lesión durante el tiempo de estudio, los días: 2, 6, 9 y 12: (A-D grupo 1 tratado con *P. guajava*) (E-H grupo 2 tratado con placebo)

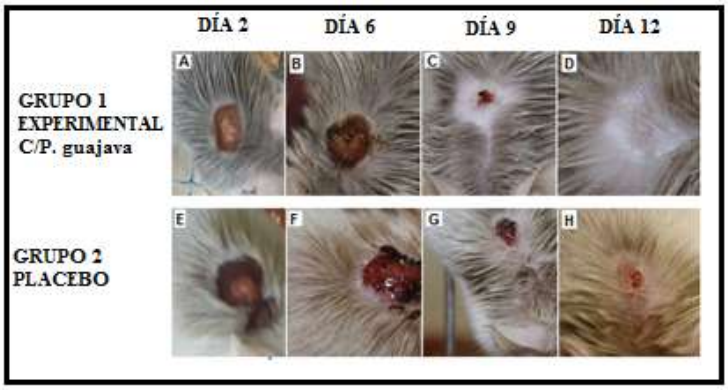
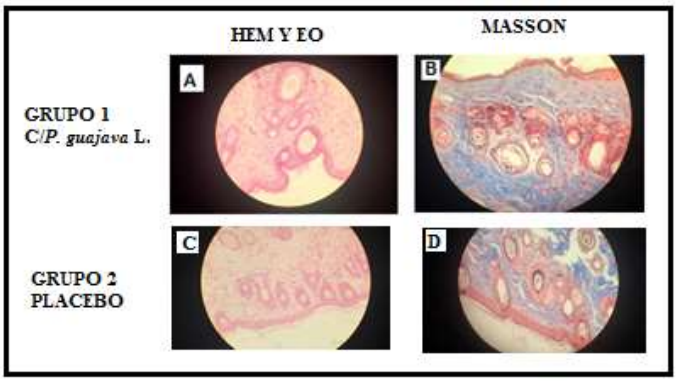


Tabla . Cortes histológicos de piel formada después de aplicado el tratamiento con extracto de *P. guajava* (A y B) y grupo 2 tratados con el placebo (C y D). No se observó infiltrado inflamatorio en ninguno de los grupos, se observa la presencia de abundante colágeno (B).



Conclusiones

El gel a base de extracto de *Psidium guajava* tuvo un mejor efecto antiinflamatorio y un cierre de herida más rápido que el grupo placebo, por lo que consideramos que es útil como cicatrizante.

Referencias

1.- Rodriguez, R. A y cols., 2009. Hojas de *Psidium guajava L*., Ova, Sao Paulo. 32 (9)

2.- Díaz-de-Cerio E, V. V., Gómez-Caravaca, A. M, Fernández-Gutiérrez A y Segura-Carretero A. 2017. Health Effects of *Psidium guajava* L. Leaves: An Overview of the Last Decade. J. Mol Sci. 18 (4).

3. Dutta S y Das S. 2010. A study of the anti-inflammatory effect of the leaves of *Psidium guajava* Linn on experimental animal models. Pharmac Res; 2: 313-317.

4.- Guillermo, F., Bonilla, P., Arroyo, J., 2005. Efecto cicatrizante del tallos subterráneo de *Peperomia scutellaefolia* R. et P. en geles aplicados a *Ratus norvergicus*. Folia dermatol. Arch Preg Res 16 (1): 15-22.

5.- Hee, H. E., Pil, H. Y., Gyun, K. H., Hee, P. J., Ho, Ch. J., Hwan, P. B., Hye, Y. J., Min, Ch. J., Sung-Sik Ch., Kwon, S. J., Chul, Ch. Y., Gwang, J. H. 2011. Ethyl acetate extract of *Psidium guajava* inhibits IgE-mediated allergic responses by blocking FcεRI signaling. Food and Chemical Toxicology. 49 (1): 100-108.

6.- Marmitt, D. J., Rempel, C., Goettert, M. I y Silva, A. C. 2015. Plantas medicinais da renisus com potencial anti-inflamatório: revisão sistemática em três bases de dados científicas. Arca.fiocruz.

7.- Megías, M., Molits, P., Pombal, M. 2014. Atlas de histología vegetal y animal. Disponible en línea http://mmegias.webs.uvigo.es/inicio.html.

8. Ojewole JA. 2006. Antiinflammatory and analgesic effects of *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae) leaf aqueous extract in rats and mice. Methods Find Exp Clin Pharmacol. 28 (7): 441-6.

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

Estudio químico y farmacológico de la corteza de *Brosimum alicastrum*

Rolando Garnica López,[1] Dalia M. Sotelo García,[1] Gustavo A. Hernández Fuentes,[1] Rosa María González González,[1] Rafael Torres-Colín,[2] Mario Alberto Gaitán-Hinojosa,[1] **Hortensia Parra-Delgado**,[1*]

[1] Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Colima, Campus Coquimatlán, Km 9, Carr. Colima-Coquimatlán. C.P. 28400, Colima, México.

[2] Herbario Nacional de México (MEXU), Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, CP 04510, Ciudad de México, México.

hparra@ucol.mx

Brosimum alicastrum es un árbol conocido como mojo o ramón, que crece en el sureste y occidente de México. En Colima, la especie es conocida por sus atributos medicinales. El presente estudio demuestra que el extracto acuoso de la corteza de la especie (40 mg/Kg) tiene propiedades antihiperglucemiantes y hepatoprotectoras en un modelo de diabetes inducida por estreptozotocina en rata. Así al final del tratamiento los valores de glucosa en sangre fueron 111± 16 mg/dL *vs* 424± 75 mg/dL presentado por el grupo sin tratamiento. Por otro lado, el estudio químico de la corteza y su correlación vía HPLC-DAD demuestran que el extracto bioactivo contiene las cumarinas xantiletina, xantoxiletina y 5-hidroxixantiletina, las cuales fueron caracterizadas por técnicas espectroscópicas (IR, UV, RMN ^{1}H y ^{13}C) y espectrométricas.

Introducción

Brosimum alicastrum es una especie endémica de Mesoamérica, comúnmente conocida en Colima con el nombre de mojo. El árbol llega a medir hasta 45 metros de altura, su copa es piramidal y densa, su fruto es de sabor dulce, la semilla es rica en aminoácidos y es empleada para elaborar productos alimenticios. La corteza es áspera de color gris clara a parda.[1, 2]

Tomando en cuenta los antecedentes etnomédicos, que le atribuyen a la corteza del árbol efectos hipoglucemiantes y la poca evidencia científica sobre los metabolitos secundarios que contiene, se propuso el presente estudio con el fin de determinar el potencial farmacológico, así como los componentes mayoritarios de la especie.

Discusión de resultados

Los metabolitos secundarios mayoritarios en la corteza de *Brosimum alicastrum* son cumarinas. El análisis de los extractos orgánicos permitió el aislamiento e identificación de las cumarinas: xantiletina (**1**), xantoxiletina (**2**) y 5-hidroxixantiletina (**3**) (Fig.1) en rendimientos del 0.01, 0.04 y 0.003 % respectivamente con respecto a la corteza.

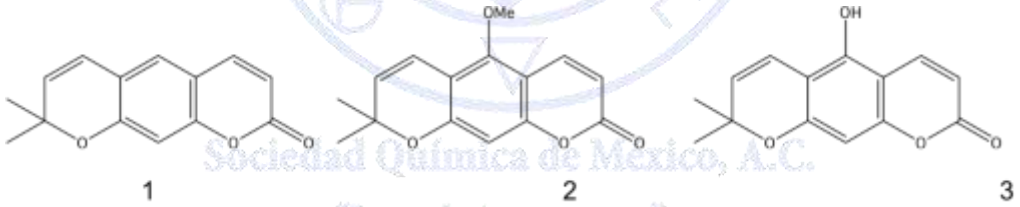


Fig. 1

Por otro lado, la administración del extracto acuoso de la corteza preparado de manera similar a la forma tradicional, no indujo signos de toxicidad aguda ni efectos hipoglucemiantes a ratas Wistar sanas tratadas a la dosis de 40 mg/Kg. Sin embargo, el tratamiento, a la misma dosis, por vía oral durante 45 días a ratas en un modelo experimental de diabetes inducida por estreptozotocina, redujo de manera significativa los valores de glucosa en sangre ($p \leq 0.05$). Así al final del experimento, los animales tratados con el extracto presentaron valores de glucosa de 111± 16 mg/dL *vs* 424± 75 mg/dL que presentaron los animales diabéticos no tratados. Además, en promedio, los animales diabéticos tratados con el extracto disminuyeron sus niveles de fosfatasa alcalina en un 78% (de 546 a 119 U/L), lo que sugiere un efecto hepatoprotector. Finalmente, el análisis comparativo de extractos y los compuestos permitió determinar que **1**, **2** y **3** son componentes edl extracto bioactivo.

Materiales y métodos

La especie en estudio fue colectada en Pueblo Nuevo, Villa de Álvarez, Colima y un ejemplar de herbario fue depositado en el Herbario Nacional de México (Folio 1457305, MEXU). La corteza se secó a temperatura ambiente y se trituró.

El extracto acuoso se preparó de acuerdo a los antecedentes etnomédicos de la especie, se liofilizó y se efectuó el escalamiento alométrico con el fin de determinar la dosis de prueba. Por otro lado, se prepararon extractos orgánicos empleando disolventes en polaridad ascendente (hexano, AcOEt, MeOH). Cada extracto orgánico fue sometido a procedimientos cromatográficos en columna abierta y los compuestos mayoritarios aislados fueron caracterizados empleando técnicas espectroscópicas (IR, UV, RMN^{1}H y ^{13}C) y espectrométricas. Posteriormente, todos los extractos, orgánicos y acuoso, así como los compuestos mayoritarios fueron analizados por Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) empleando un cromatógrafo Alliance con un detector DAD (Waters ®) y una columna XBridge ®, se empleó como fase móvil una mezcla de MeOH/agua (75:25).

Estudios farmacológicos del extracto acuoso

Primeramente, con el fin de determinar los posibles efectos hipoglucemiantes y de toxicidad, se trataron 2 grupos de experimentación empleando ratas Wistar de 200g de peso (n= 4-6) de sexo diferente con una dosis única vía oral de 40 mg/Kg del extracto acuoso. También, se incluyeron los grupos control de cada sexo (2) que fueron tratados con solución salina y se mantuvieron bajo las mismas condiciones. Los niveles de glucemia fueron establecidos para cada individuo en cada grupo durante 6h empleando una muestra de sangre y tiras reactivas y glucómetro Contourtm Ts Bayer ®.

Con el fin de determinar los efectos antihiperglucemiantes, se organizaron 4 grupos de tratamiento empleando individuos hembra de la misma cepa y bajo las mismas condiciones. El grupo control (sano) recibió solución salina, los otros tres grupos se conformaron con individuos que fueron diabetizados en presencia de estreptozotocina (65mg/Kg) y nicotinamida (230 mg/Kg) (i.p.) y presentaban valores de glucosa en sangre superiores a 160 mg/dL. De ahí, se generaron los grupos: diabéticos sin tratamiento, diabéticos tratados con fármaco de referencia (glibenclamida, 15 mg/Kg, v.o.) y grupo experimental de tratamiento con extracto (40 mg/Kg, v.o.). Así, todos los individuos fueron tratados durante 45 días. El peso corporal y los valores de glucosa en sangre fueron determinados cada seis días. El análisis de los datos obtenidos se efectuó mediante un análisis de varianza de un factor y la prueba de Duncan.

Por otro lado, la actividad hepática fue evaluada mediante la determinación de transaminasas y fosfatasa alcalina en muestras de suero de todos los grupos experimentales. Las muestras fueron procesadas en el Analizador de química clínica, Excel De Licon, y para la obtención del suero se utilizaron tubos de ensayo BD ®Vacutainer SST, los cuales fueron centrifugados a 3000 rpm a temperatura ambiente.

Conclusiones

El extracto acuoso de corteza de *Brosimum alicastrum* administrado a 40 mg/Kg reduce la hiperglicemia de ratas diabéticas. Los estudios de toxicidad demuestran que el extracto posee también efectos hepatoprotectores. Por otro lado, el extracto cuando es administrado a ratas sanas, no induce efectos hipoglucemiantes a la misma dosis. El estudio químico de la corteza y la correlación vía HPLC del extracto acuoso demostró que el extracto contiene las cumarinas xantiletina, xantoxiletina y 5-hidroxixantiletina.

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

Agradecimientos

H. Parra-Delgado agradece el financiamiento a través del PFCE 2016 y 2017, así como a la Red PROMEP.

Referencias

[1] Peters M, C., y Pardo Tejeda, E. (1972). *Brosimum alicastrum* (Moraceae): Uses and Potential in México. *Economic Botany*, 168.

[2] Meiners, M., C. Sánchez Garduño, y S. De Blois. (2009). El ramón: Fruto de nuestra cultura y raíz para la conservación. CONABIO. Biodiversitas, 87, pp. 7-10.

Nuevas glicósidos 22-oxocolestánicos con potencial actividad anticancerígena

Hilario Martínez Jazmín Ciciolil[1], Jin Zhendong[2], Sandoval Ramírez Jesús[1], Fernández Herrera María Antonieta [3].

[1]Facultad de Ciencias Químicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. México.

[2]College of Pharmacy. The University of Iowa. USA

[3]Departamento de Física Aplicada, Laboratorio de Biomoléculas. CINVESTAV-Mérida. México.

ciciolil.hilario@correo.buap.mx

Resumen

Con el propósito de generar potentes e innovadores agentes anticancerígenos selectivos, se realizó una síntesis convergente de una nueva familia de glicósidos 22-oxocolestánicos. La síntesis se llevó a través de la transformación del espirostano diosgenina mediante reacciones altamente quimioselectivas que condujeron a la apertura selectiva de los anillos E y F, con excelentes rendimientos. La estructura obtenida contiene grupos hidroxilo en C-3, C-16 y C-26, debidamente protegidos. Por otra parte, se prepararon donadores de glucosa, maltosa y chacotriósido, con la protección adecuada sobre los diversos grupos alcohol. Se desprotegió selectivamente al grupo hidroxilo en C-3 y con éste, se realizó posteriormente el acoplamiento con moni, di y trisacáridos.

Introducción

Actualmente, el cáncer es una de las enfermedades crónico-degenerativas más alarmantes, figurando mundialmente como la segunda causa de mortalidad; así, en el 2015 se reportaron 8.8 millones de defunciones.[1] A pesar de que diversas investigaciones se han desarrollado para combatir este padecimiento, no se ha encontrado una cura efectiva, siendo la radio y la quimioterapia los tratamientos clínicos más empleados. La falta de selectividad de fármacos empleados en la quimioterapia (cisplatino, carboplatino, docetaxel, ifosfamida, 5-fluorouracilo), provoca numerosos efectos secundarios indeseables, que en muchas ocasiones conducen a complicaciones tardías y a la muerte.

En este sentido, uno de los productos naturales sumamente selectivo que ha atraído la atención científica es el potente agente citotóxico OSW-1, aislado de los bulbos de *Ornithogalum saundersiae*.[2] Se ha reportado que su actividad anticancerígena es de 10 a 100 veces más eficaz que la mitomicina C, la adriamicina e incluso el taxol.[3] Sin embargo su limitada disponibilidad en fuentes naturales, ha conducido a la investigación de rutas sintéticas del OSW-1 y de análogos, que permitan obtener agentes anticancerígenos en cantidades significativas.

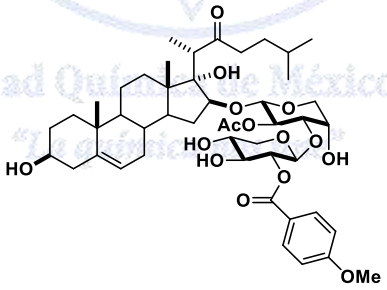


Figura 1. Estructura del OSW-1

Nuestro grupo de trabajo se ha especializado en desarrollar innovadoras metodologías para efectuar la apertura selectiva del anillo E y/o del anillo F de sapogeninas esteroidales, obteniendo estructuras de alto interés en síntesis parcial, análogas a la aglicona del OSW-1.[4] Las estructuras 22-oxocolestánicas que hemos reportado, han presentado importante actividad antiproliferativa contra líneas celulares de cáncer cervicouterino como ViBo, CaSki, y HeLa.[5] Los excelentes resultados obtenidos han puesto de manifiesto que la cadena 22-oxocolestánica juega un papel determinante en la actividad biológica y que ésta puede ser alterada por la inserción de diversos grupos sobre los diferentes entes hidroxilo. Anteriormente, se prepararon glicósidos sobre la posición C-26, los cuales manifestaron buena actividad antiproliferativa pero había quedado relegada la

síntesis de nuevos glicósidos en C-3; ésta fue emprendida y se expone en el presente trabajo. Se ha partido de la hipótesis de que los diferentes carbohidratos, mejorarán la bio-distribución en medios fisiológicos y así, incrementar su actividad.

Métodos

En la figura 2 se muestra la ruta de síntesis de los compuestos 22-oxocolestánicos. El nuevo diacetato de (*25R*)-22,26-epoxicolesta-5,22-dieno-3β,16β-diilo **(2)**, generado a partir de la diosgenina (**1**), se obtuvo mediante la fisión selectiva del anillo E. Un tratamiento ácido posterior permitió obtener la estructura 22-oxo-26-hidroxicolestánica **3**, la cual fue protegida en C-26 y desprotegido selectivamente en C-3.

Posteriormente, a partir de los sacáridos debidamente protegidos, se prepararon los correspondientes tricloroacetimidatos **7**, **8** y **9**.

Para generar el enlace glicosídico en C-3, los glicosildonadores fueron activados mediante la adición de TMSOTf, en condiciones anhidras.

Finalmente, se realizó la desprotección del hidroxilo en C-26 y la de los hidroxilos de los azúcares.

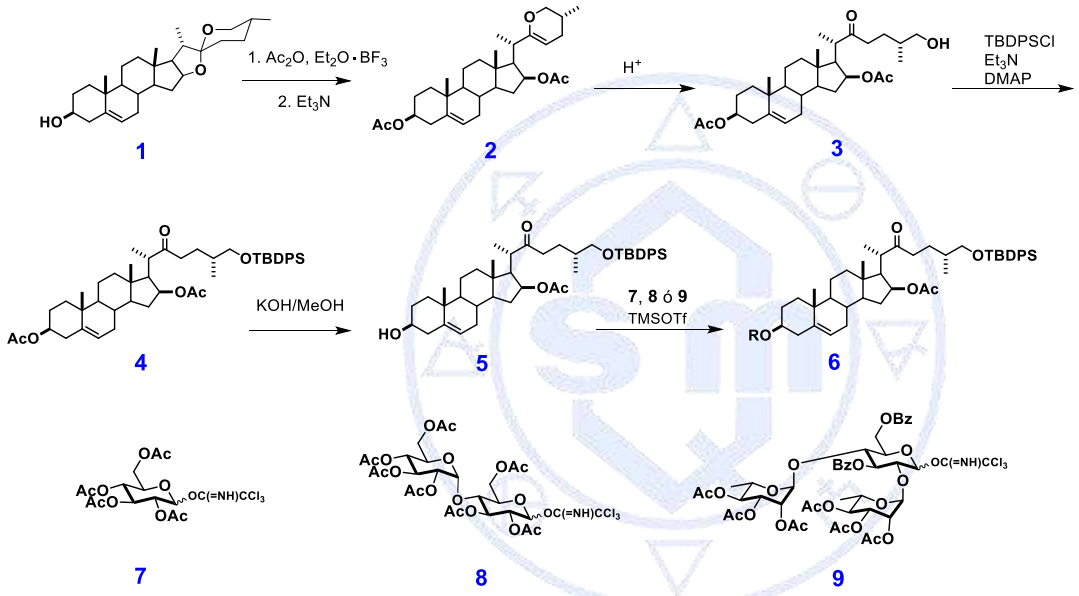


Figura 2. Ruta de síntesis de los glicósidos 22-oxocolestánicos

Discusión de Resultados

Dada la importancia de las estructuras 22-oxocolestánicas, la nueva ruta que implica la generación de estructuras dihidropiránicas resultó ser la más eficaz para la síntesis en gran escala.

Los tricloroacetimidatos sintetizados mostraron excelentes propiedades como donadores, así como mejor facilidad en cuanto a su preparación, reactividad y aplicabilidad en general.

Se observó que el acetato en C-16 es bastante estable en los medios empleados, hecho que permitió efectuar la desprotección selectiva en C-3, de **4,** y la desprotección de los glicósidos.

Las glicosilaciones arrojaron buenos rendimientos y diastereoselectividad, siendo el anómero β el producto mayoritario.

Conclusiones

Se sintetizó una nueva familia de glicósidos 22-oxocolestánicos. Los nuevos glicósidos serán probados en células de cáncer cérvicouterino HeLa, ViBo, CaSki. La ruta mostrada en la figura 2 constituye el camino más corto para la formación de compuestos 22-oxocolestánicos y la más eficiente. El compuesto dihidropiránico **2** es muy versátil, con el cual se puede tener acceso a una diversidad de compuestos 22-oxocolestánicos, que hasta ahora habían sido de difícil obtención.

Referencias

1. http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/, 2017 (último acceso: 13.07.17).

2. Kubo, S.; Mimaki, Y.; Terao, M.; Sashida, Y.; Nikaido, T.; Ohmoto, T. *Phytochemistry* 1992, *31*, 3969.

3. Mimaki, Y.; Kuroda, M.; Kameyama, A.; Sashida, Y.; Hirano, T.; Oka, K.; Maekawa, R.; Wada, T.; Sugita, K.; Beutler. J. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 633.

4. (a) Fernández-Herrera, M. A.; Sandoval-Ramírez, J.; Meza-Reyes, S.; Montiel-Smith, S. *J. Mex. Chem. Soc.* 2009, *53*, 126. (b) Hilario-Martínez, J. C.; Zeferino-Díaz, R.; Muñoz-Hernández, M. A.; Hernández-Linares, M. G.; Cabellos, J. L.; Merino, G.; Sandoval-Ramírez, J.; Jin, Z.; Fernández-Herrera, M.A. *Org. Lett*. 2016, *18*, 1772.

5. (a) Sanchez-Sanchez, L.; Escobar, M. L.; Sandoval-Ramírez, J.; López-Muñoz, H.; Fernández-Herrera, M. A.; Hernández-Vázquez, J. M. V.; Hilario-Martínez, C.; Zenteno, E. *Apoptosis* 2015, *20*, 1623. (b) Fernandez-Herrera, M. A.; Mohan, S.; Lopez-Muñoz, H.; Hernandez-Vazquez, J. M. V.; Perez-Cervantes, E.; Escobar-Sanchez, M. L.; Sanchez-Sanchez, L.; Regla, I.; Pinto, B. M.; Sandoval-Ramirez J. *Eur. J. Med. Chem.* 2010, *45*, 4827. (c) Fernández-Herrera, M. A.; López-Muñoz, H.; Hernández-Vázquez, J. M. V.; López-Dávila, M.; Mohan, S.; Escobar-Sánchez M. L.; Sánchez-Sánchez, L.; Pinto, B. M.; Sandoval-Ramírez, J. *Eur. J. Med. Chem*. 2011, *46*, 3877.

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

Estudio fitoquímico de *Cordia morelosana*

Giles-Rivas Diana Elizabeth[1], Castillo-España Patricia[2], Ramírez-Ávila Guillermo[3], Aguilar-Guadarrama Angelica Berenice[4 *], Estrada-Soto Samuel Enoch[1]

[1]Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), Facultad de Farmacia

[2]Centro de Investigación en Biotecnología, UAEM

[3]Centro de Investigación Biomédica del Sur, IMSS

[4]Centro de Investigaciones Químicas, IICBA, UAEM

grde@uaem.mx

Cordia morelosana es una especie vegetal que se utiliza en la medicina tradicional de Morelos para el tratamiento de enfermedades respiratorias, diarrea, inflamación de riñón, diabetes, dolor de pulmón, bronquitis, asma, ronquera, tos y fiebre. Actualmente, no se cuenta con reportes científicos acerca de sus componentes químicos, por lo cual, el objetivo de este trabajo fue llevar a cabo el estudio fitoquímico para la obtención, aislamiento y purificación de los mismos y, su evaluación sobre blancos terapéuticos implicados en la diabetes. Se aislaron cuatro compuestos, nicotiflorina, 3-O-metil-scyllo-inositol y dos compuestos tipo fenólicos.

Introducción

La diabetes es una de las mayores emergencias mundiales de salud del siglo XXI. Cada año más y más personas viven con esta condición, que puede desencadenar complicaciones a lo largo de su vida (1). Pese al considerable progreso en el tratamiento de la diabetes con agentes antidiabéticos orales, continua la búsqueda de nuevos fármacos debido a que la mayoría poseen efectos adversos y otras limitaciones. Desde la antigüedad, las plantas medicinales han proporcionado valiosos agentes terapéuticos tanto en la medicina tradicional como en la moderna. Los productos naturales han sido la principal fuente de diversidad química que sirven de modelos para el diseño, síntesis y semisíntesis de nuevas moléculas con actividad biológica y, los materiales de partida en el desarrollo farmacéutico. Existen alrededor de 200 compuestos puros obtenidos de plantas, reportados por tener efecto sobre la disminución de los niveles de glucosa en sangre (2).

Cordia morelosana es una especie vegetal comúnmente conocida en el estado de Morelos como: Anacahuite, cáscara de anacahuite, encinillo, palo de anacahuite, entre otros. Se utiliza en la medicina tradicional para el tratamiento de enfermedades respiratorias, diarrea, inflamación de riñón, diabetes, dolor de pulmón, bronquitis, asma, ronquera, tos y fiebre (3). A la fecha, no existen estudios químicos reportados para esta especie.

Exposición

La diabetes ocupa el segundo lugar como causas de mortalidad en México, aunado al impacto social, económico y médico que representa esta enfermedad crónica y de alta prevalencia. México es un país privilegiado en cuanto a biodiversidad y sólo un pequeño porcentaje de especies vegetales con uso medicinal han sido exploradas; por lo que es importante generar investigación científica que permita explorar el potencial farmacológico de las plantas medicinales, extractos o principios activos aislados de las mismas.

Materiales y Métodos

1. Obtención del material vegetal

La especie vegetal *C. morelosana* fue recolectada y proporcionada por la Dra. Patricia Castillo España del CEIB, UAEM.

2. Obtención de los extractos orgánicos

A partir del material vegetal seco y molido, se obtuvieron los siguientes extractos: hexánico, diclorometánico y etanólico de *C. morelosana*, a través un proceso de extracción, vía maceración exhaustiva de 72 horas. Una vez obtenidos, se eliminó por completo el disolvente usando un rota evaporador marca BUCHI.

3. Análisis fitoquímico

El extracto metanólico de *C. morelosana* fue sometido a un estudio fitoquímico utilizando técnicas de cromatografía de adsorción en columna abierta (CCA) con una fase móvil consistente en gradientes de polaridad de disolventes orgánicos. El proceso de separación en la columna es monitoreado mediante cromatografía en capa fina (CCF). Posteriormente, las fracciones de interés han sido sometidas a repetidos procesos cromatográficos, hasta la purificación y/o identificación de los metabolitos. La determinación estructural de los metabolitos secundarios, se realizó mediante técnicas espectroscópicas de Resonancia Magnética Nuclear, de Hidrógeno (^{1}H-RMN), carbono trece (^{13}C-RMN) y experimentos en dos dimensiones (2D): homonucleares (COSY, TOCSY, NOESY) y heteronucleares (HSQC, HMBC).

4. Ensayo de inhibición de enzimas α-glucosidasas intestinales

Se usan ratas de la cepa Wistar, las cuales son sacrificadas por dislocación cervical. Posteriormente, mediante una incisión abdominal, el intestino delgado es removido y enjuagado. El tejido libre de grasa se raspará por la parte interna (sobre una superficie de cristal en un baño de hielo) con la finalidad de obtener la mucosa intestinal. El material obtenido es homogenizado y almacenado a -25 °C. Para medir la actividad enzimática se evalúan las muestras de prueba disueltas en DMSO a una concentración de 1 mg/mL, en presencia de la enzima y, utilizando almidón como sustrato. La reacción se inicia con la adición de la enzima y se incuba cada tubo en un termoblock durante 10 minutos a 37 °C, posterior a los 10 minutos se detienen las reacciones con la adición de 2 µL de acarbosa en un baño de hielo. La determinación de glucosa liberada se mide utilizando un kit comercial de glucosa oxidasa (Glucosa GOD-PAD).

Discusión y resultados

Resultado del fraccionamiento fitoquímico, se obtuvieron un total de 170 fracciones. Que fueron reunidas por similitud cromatográfica observada en CCF. Una vez analizados los resultados y espectros de los análisis por ^{1}H-RMN y ^{13}C-RMN, se identificó un compuesto tipo flavonoide, asignado como Nicotiflorina. Este compuesto se obtuvo por precipitación (precipitado blanco-amarillento) en la fracción 63 de la columna 1, eluida con fase móvil de mediana polaridad (90:10 AcOEt: MeOH). Posteriormente, Se compararon los datos espectroscópicos asignados con los reportados en la literatura para confirmar su estructura (figura 1). Adicionalmente, la reunión de fracciones (70-77) fue sometida a una re-cromatografía utilizando el sistema de vacío para extracción en fase sólida (SVEFS) (imagen1), de lo anterior se obtuvo una muestra a la que se le asigno la clave D16-Cr. Los datos espectroscópicos mostraron la presencia de una mezcla de al menos dos compuestos, incluido Nicotiflorina y un compuesto con probable esqueleto de glicósido de Quercetina.

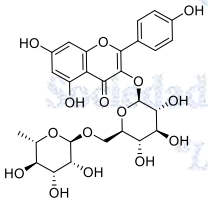


Fig. 1. Nicotiflorina

Imagen 1. Placa de CCF de fase reversa, eluida con 6:4 MeOH:H2O.

Por otro lado, en las fracciones de mayor polaridad, se observó otro precipitado de color blanco de alrededor de 56 mg de peso. Se analizaron los datos espectroscópicos y el compuesto asignado es 3-O-metil-scyllo-inositol (figura 2).

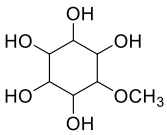


Fig. 2. 3-O-metil-scyllo -inositol

Finalmente, se identificó un compuesto químico con un esqueleto base de tipo fenólico. Se llegó a la conclusión de que este esqueleto base está presente en dos grupos de muestras. Las muestras asignadas con clave: C-3DRy3, C-6(93-97) y D8-7 corresponden al compuesto tipo fenólico con la presencia de un grupo éster metílico (-$COOCH_3$), mientras que las muestras asignadas con clave C-6 Am(191) y D8-5 corresponden al compuesto tipo fenólico con la presencia de un grupo ácido carboxílico (-COOH) (Figura 4).

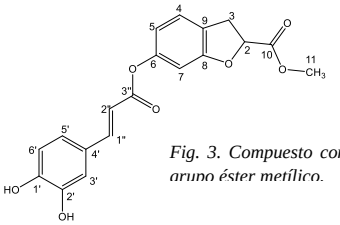


Fig. 3. Compuesto con el grupo éster metílico.

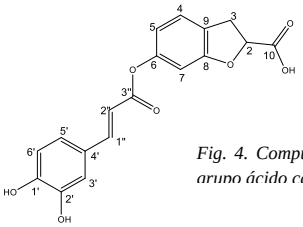
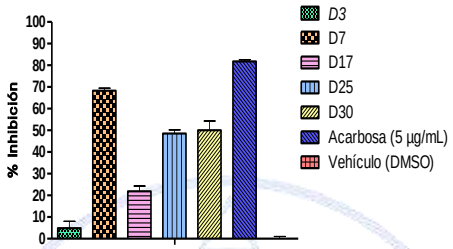


Fig. 4. Compuesto con el grupo ácido carboxílico.

En el ensayo de inhibición de enzimas α-glucosidasas se probaron 5 grupos de fracciones reunidas, donde la fracción con clave D7, D25 Y D30 mostraron el mayor porcentaje de inhibición. Se utiliza como control positivo acarbosa un inhibidor de enzimas α-glucosidasas utilizado en la terapéutica de la diabetes tipo 2.



Conclusión

Resultado del estudio fitoquímico del extracto etanólico de *C. morelosana* se han identificado 4 compuestos químicos. Actualmente estamos en espera de algunos resultados de ensayos en 2D para la asignación inequívoca de las señales y la completa elucidación estructural. Los resultados del estudio fitoquímico serán de gran relevancia ya que C. *morelosana* es una especie vegetal de la cual no se tiene ningún reporte con respecto a su constitución química. Esta planta es utilizada en la medicina tradicional de Morelos para el tratamiento de diversas enfermedades, entre ellas la diabetes. Hoy en día se sabe que la presencia de hiperglucemia, una característica de la diabetes; es la causa principal de la presencia de las complicaciones a largo plazo, tales como: neuropatía, nefropatía, retinopatía, entre otras.

Las enzimas α-glucosidasas son enzimas presentes en el borde del cepillo intestinal, cuya función radica en la digestión y degradación de polisacáridos y disacáridos a la forma de monosacárido, los cuales pueden ser absorbidos a nivel intestinal y, posteriormente pasan a torrente sanguíneo. De tal modo que estas enzimas son consideradas un blanco terapéutico debido a que su inhibición genera una disminución en la absorción de glucosa y, por ende, menores valores de glucemia postprandial.

Sociedad Química de México, A.C.

Referencias

1. Federación Internacional de Diabetes. 2015. Atlas de la Diabetes de la FID. Séptima edición. Consulta en línea en marzo del 2017 en: www.diabetesatlas.org
2. Avendaño López María del Carmen. 2010. Los productos naturales en la búsqueda de nuevos fármacos. Una visión en conjunto. Academia de Número de la RANF. Páginas 12-26.
3. *Monroy O. C., Castillo E. P*. Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos. Cuernavaca, Mor. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. 2007; 1: 96-97.

Rendimiento de extracción de aceite esencial de toronja (*Citrus paradisi*) en un reactor termo-mecano-químico, en función del tiempo de cosecha

Lázaro Gabriel Trujillo Juárez, Óscar Hernández Meléndez y Eduardo Bárzana García
Facultad de Química, Departamento de Ingeniería Química
Universidad Nacional Autónoma de México
ibqgabrieltrujillo@gmail.com

Resumen

El aceite esencial de toronja (*Citrus paradisi*) tiene múltiples aplicaciones en las industrias alimentaria, farmacéutica, química y cosmética. México es uno de los principales productores a nivel mundial de toronja y cuenta con diversas regiones de producción. Derivado de su industrialización, se genera una importante cantidad de residuos, lo que obliga a la búsqueda de procedimientos para su aprovechamiento integral. Se reporta el rendimiento de extracción de aceite esencial de toronja a partir de sus cáscaras utilizando un extrusor de laboratorio de doble tornillo. Se evaluaron dos variables operativas, una térmica y otra mecánica, ~~y~~ así como el mes de cosecha de la materia prima en el ciclo agrícola septiembre-febrero. Los resultados obtenidos superan los valores reportados para las tecnologías tradicionales y el mejor valor corresponde al producto acopiado en el mes de enero.

Introducción

México es importante en la producción de cítricos, al ubicarse como el quinto productor a nivel mundial (4.6% del total) detrás de China (21%), Brasil (18%), Estados Unidos (8%) y la India (6%). El Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) informó que durante el año 2016 se destinaron aproximadamente 18 mil ha para la siembra y cultivo de toronja, actividad agrícola que se realiza principalmente en 19 estados de la república entre los que destacan: Veracruz, Michoacán y Tamaulipas (SIAP, 2017).

Las cáscaras de cítricos son una rica fuente de aceites esenciales; se componen de dos capas, la capa blanca interna se conoce como albedo y la capa externa, o flavedo, el cual contiene aceites esenciales en el intervalo de 0.5 a 3.0 kg/Ton de cítrico (Ahmad, 2006). En la actualidad, los aceites esenciales han ganado gran interés debido a que se consideran sustancias seguras GRAS (Generally Recognized As Safe), su amplia aceptación por los consumidores y su uso multipropósito potencial. Hay reportes donde los aceites esenciales han mostrado propiedades antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes y de eliminación de radicales libres y, en algunos casos se ha probado su aplicación directa en alimentos (Di Vaio, 2010).
La creciente demanda de los aceites esenciales de cítricos, se centra en la elaboración de alimentos y bebidas (jugos, licores, bebidas energizantes, bebidas carbonatadas), así como en la industria cosmética para la elaboración de jabones, cremas, geles y champús con propiedades estéticas. En la industria farmacéutica se utilizan como agentes saborizantes para enmascarar los sabores desagradables de los medicamentos, así como por sus propiedades antimicrobianas; por este motivo también se utilizan en la manufactura de productos de limpieza. En perfumería, forman la base de muchas composiciones aromáticas. Tienen un alto valor comercial, e incluye al aceite esencial de toronja, entre otros cítricos (Lota, 2002).
Las diversas tecnologías implementadas dan diferencias en el rendimiento y en la calidad del extracto. Por destilación es posible obtener un rendimiento un poco mayor al 1 % y para el proceso de prensado en frío el rendimiento es menor al 0.08 %. Esto se explica por la absorción del aceite en el flavedo, ya que altas presiones en el sistema de extracción por prensado, no implica que haya una expresión completa del epicarpio. Por su parte, las temperaturas usadas en el proceso de destilación pueden ocasionar el deterioro químico de algunos de los componentes y de esta manera verse afectado el olor del aceite esencial. De manera análoga, el uso de disolventes en la extracción sólido-líquido ha sido cuestionada debido a la toxicidad de algunos compuestos (por ejemplo, hexano) en alimentos orientados para consumo humano (Poiana, 1998).
Como alternativa de interés, el fraccionamiento de un material vegetal puede llevarse a cabo mediante la combinación de acciones químicas, térmicas y mecánicas, utilizando la extrusión de doble tornillo. La extrusión mejora la ruptura mecánica de las células y es una herramienta eficiente para un conjunto de operaciones con un único dispositivo, por ejemplo (i)

mezclar la materia y el disolvente, (ii) llevar a cabo la extracción sólido/líquido, e (iii) incluir una etapa de separación líquido/sólido (Evon *et al.*, 2009).
Los extrusores de doble tornillo son ampliamente utilizados en el procesamiento de plásticos. También es un equipo básico para las industrias que elaboran productos agropecuarios, tales como alimentos para mascotas, cereales y botanas, que permiten que se lleven a cabo la extrusión y la cocción simultáneamente, en un solo paso (White *et al.*, 1991).
Entre los parámetros fisicoquímicos para determinar la calidad de un aceite esencial se encuentra la rotación óptica. Ésta resulta de la relación de las proporciones entre sus dos componentes mayoritarios (limoneno de naturaleza dextrógira y β-pineno de naturaleza levógira). Los valores de rotación óptica a lo largo de un ciclo agrícola, varían de forma que al inicio, en septiembre, son más elevados que al final, en febrero (Calvarano *et al*. 1988). Sin embargo, este parámetro no es proporcional al rendimiento de aceite.

Existen trabajos reportados en la literatura, donde se utiliza la extrusión en equipo de doble tornillo para la extracción de aceites a partir de matrices vegetales; sin embargo, los sistemas reportados son coloidales (emulsiones), ya que se añade agua al proceso de extracción. (Evon *et al.*, 2009). Se ha probado con éxito la extracción de aceites esenciales de cítricos, incluido el de toronja, utilizando un extrusor de doble tornillo. Sin embargo, no se cuenta con datos sobre el efecto del ciclo agrícola en el rendimiento de aceite. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar la variación en el rendimiento de extracción de aceite de toronja (o productividad técnica) durante el ciclo agrícola septiembre-febrero, utilizando un extrusor de doble tornillo, sin añadir agua al proceso.

Discusión de resultados

La producción de toronja en México se puede dividir en tres principales zonas, a saber: el municipio de Martínez de la Torre, en el estado de Veracruz; el municipio de Victoria, en el estado de Tamaulipas; y, el municipio de Múgica, en el estado de Michoacán. Para este trabajo se eligió trabajar con la toronja de Tamaulipas, porque fue la que más aceite presentó en los experimentos preliminares.

Los rendimientos, expresados como productividad técnica, superan a los rendimientos reportados para las tecnologías de extracción reportadas en la literatura. Esta condición puede deberse al doble efecto que se lleva a cabo en el extrusor de doble tornillo. Un efecto térmico, tal como ocurre en la destilación por arrastre de vapor o en la hidrodestilación, y otro mecánico, como ocurre en el prensado, por lo que la combinación de éstos en un solo equipo ofrece resultados superiores.

Para una temperatura de proceso de 150 ºC y dos valores de rotación de los tornillos, 60 RPM y 80 RPM, la figura 1 muestra que a medida que avanzan los meses durante el ciclo agrícola la productividad de aceite va aumentando hasta alcanzar un máximo en el mes de enero. Dicha variabilidad se puede correlacionar con condiciones ambientales. Las temperaturas mas bajas del año se reportan en enero y la temperatura ambiental influye significativamente en la estabilidad del aceite esencial.

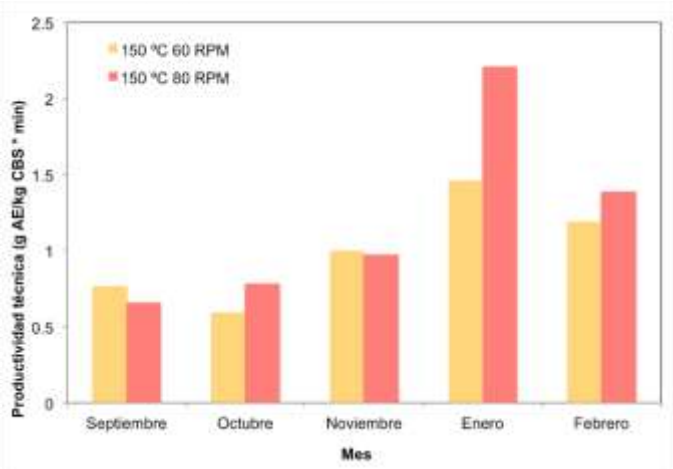


Figura 1. Productividad técnica de aceite esencial de toronja en el ciclo agrícola septiembre-febrero.

La autoxidación y la descomposición de los hidroperóxidos presentes en los aceites esenciales se eleva con el aumento de la temperatura, y es probable que el calor contribuya a la formación inicial de radicales libres (Choe y Min, 2006).

Es conocido que los terpenoides, especialmente monoterpenos y aldehídos, son termolábiles y susceptibles a procesos de modificación a temperaturas elevadas. Se han reportado reacciones de conversión terpénica por calentamiento para compuestos puros y para aceites esenciales (Tomaino *et al.*, 2005), por lo que a temperaturas altas, el aceite esencial de toronja se degrada disminuyendo su contenido en las cavidades oleosas del flavedo de los cítricos y en consecuencia, en el rendimiento de la extracción.

Materiales

La toronja (var. doble roja) se adquirió en la central de abastos de la Ciudad de México. El equipo de extracción del aceite esencial consiste en un extrusor de doble tornillo (modelo Evolum 25, marca Clextral, Fiminyn, Francia). Se empleó una termobalanza (modelo MF-50, marca A&D, Tokio, Japón) para determinar el rendimiento y un baño con recirculación (modelo AT100 marca Heto-Holten, Reino Unido) para el control de la temperatura.

Método

Se retiró la cáscara a la toronja y se cortó en cuadros de ~1 cm de longitud. Se determinó la humedad nativa para establecer la cantidad de cáscara alimentada en base seca (CBS). En el extrusor de doble tornillo se adaptó un filtro en el módulo 4, para la separación sólido/líquido. Las condiciones de extracción (150 ºC, y 60 y 80 RPM) fueron seleccionadas con base en experimentos preliminares, que además reflejaban la importancia de la fecha de cosecha del producto.

En el filtro se colocó un dispositivo de vidrio donde se llevó a cabo la condensación del vapor y la separación del aceite, conectado a un baño con recirculación con agua a 5 ºC para evitar fugas por evaporación. Se hizo un arreglo especial con los segmentos de husillo intercambiables con que cuenta el extrusor. En los primeros módulos se ocuparon husillos de transporte con el propósito de liberar el agua atrapada contenida en los espacios intercelulares y capilares de la matriz vegetal, así como promover el proceso de extracción por arrastre de vapor.

A la mitad del módulo 5 se colocaron cuatro segmentos de husillo “contrafilete” para crear un tapón dinámico que favoreciera el proceso de extracción y facilitara el regreso y salida del vapor-aceite por el filtro. Los cuatro módulos restantes se mantuvieron a temperatura ambiente.

Se alimentaron 500 g por corrida experimental. Se midió la cantidad de aceite extraído (AE), y con los datos de alimentación másica y de humedad de la muestra (H), se determino el rendimiento másico de la extracción, ajustado a valores de productividad en función del tiempo de residencia en el extrusor.

Referencias

Ahmad, M. M., Rehman, S. U., Anjum, F. M., & Bajwa, E. E. (2006). Comparative physical examination of various citrus peel essential oils. *International Journal of Agriculture and Biology*, *8*(2), 186-90.

Calvarano, I., Calvarano, M., & DI GIACOMO, G. (1992). Sull'essenza di limone prodotta industrialmente in Italia da frutti Estivi'. *Essenze e derivati agrumari*, *62*(1), 13-22.

Choe E, Min DB. 2006. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 5:169–86.

Di Vaio, C.,Graziani, G., Gaspari, A., Scaglione, G., Nocerino, S., & Ritieni, A. (2010). Essential oils content and antioxidant properties of peel ethanol extract in 18 lemon cultivars. *Scientia Horticulturae*, *126*(1), 50-55.

Evon, P., Vandenbossche, V., Pontalier, P. Y., & Rigal, L. (2009). Aqueous extraction of residual oil from sunflower press cake using a twin-screw extruder: feasibility study. *industrial crops and products*, *29*(2), 455-465.

Lota, M. L., de Rocca Serra, D., Tomi, F., Jacquemond, C., & Casanova, J. (2002). Volatile components of peel and leaf oils of lemon and lime species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(4), 796-805.

Poiana, M., Sicari, V., & Mincione, B. (1998). Supercritical carbon dioxide (SC-CO2) extraction of grapefruit flavedo. *Flavour and Fragrance Journal*, *13*(2), 125-130.

SIAP, S. (2016). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.

Tomaino A, Cimino F, Zimbalatti V, Venuti V, Sulfaro V, De Pasquale A, Saija A. 2005. Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. *Food Chem*89:549–54.

White, J. L., & Kim, E. K. (1991). *Twin screw extrusion: technology and principles*. Hanser.

Inhibidores de la enzima alfa-glucosidasa de la especie fúngica *Preussia minimoides*

Manuel Eduardo Rangel Grimaldo, Isabel Rivero-Cruz, Abraham Madariaga-Mazón, Mario Figueroa and Rachel Mata
Facultad de Química, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, 04510, México.

manuel_erg_p9@hotmail.com

Resumen

El fraccionamiento biodirigido del extracto orgánico obtenido a partir del medio de cultivo sólido (arroz) del hongo endófito *Preussia minimoides* condujo al aislamiento de dos policétidos con esqueletos novedosos y que se designaron con los nombres triviales de minimoidionas A (**1**) y B (**2**). Las estructuras de **1** y **2** se establecieron mediante el análisis de sus espectros de RMN y cálculos computacionales utilizando la teoría de funcionales de la densidad (DFT). En el caso de **1** la estructura se comprobó mediante el análisis de un cristal mediante difracción de rayos X. Los productos aislados inhibieron de manera significativa la actividad enzimática de la alfa-glucosidasa de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), constituyendo agentes antidiabéticos potenciales.

Introducción

El presente trabajo forma parte de un proyecto enfocado al descubrimiento de inhibidores de la enzima α-glucosidasa a partir de especies fúngicas, potencialmente útiles para el desarrollo de fármacos para el tratamiento de la diabetes. La especie *Preussia minimoides* objeto de estudio fue aislada a partir de las hojas de *Hintonia latiflora* (Rubiaceae), planta medicinal empleada ampliamente para el tratamiento de la diabetes en México[1].

El fraccionamiento biodirigido del extracto orgánico del medio de cultivo de *P. minimoides* derivó en el aislamiento de los compuestos novedosos (7a*S*,8*S*,11a*S*)-3,8-dihidroxi-1,6,11-trimethoxy-7a,11a-dihidro-4*H*-benzo[*de*]antracen-4,9-8*H*-diona (**1**) y 5,7'-dihidroxi-2,4',7,9'-tetrametoxi-1'*H*,4*H*,6'*H*-espiro [naftalen-1,2'-fenalen]-4,6'-diona (**2**), designados con los nombres triviales de minimoidionas A y B. De manera adicional, se aislaron la preusocromona C (**3**)[2], la corimbiferona (**4**)[3] y la 5-hidroxi-2,7-dimetoxi-8-metilnaftoquinona (**5**),[1] siendo este el primer reporte del metabolito **3** en la especie (**Figura 1**). La estructura de los productos novedosos se determinaron mediante métodos espectroscópicos y espectrométricos (**Tablas 1 y 2**) En el caso de **1** la estructura se comprobó inequívocamente mediante un análisis por difracción de rayos X. La determinación del parámetro de Flack y cálculos computacionales del dicroísmo circular permitieron establecer la configuración de los centros estereogénicos de la molécula **1** (**Figura 2**). Para la corroborar la correcta asignación de las señales de RMN se realizó un cálculo teórico de los desplazamientos químicos utilizando DFT y se compararon con los experimentales obteniendo una buena correlacion.[4]

La evaluación del efecto inhibitorio del extracto, fracciones y productos aislados sobre la enzima α-glucosidasa tipo I de *Saccharomyces cerevisiae*, se realizó mediante un ensayo espectrocolorimétrico, empleando como sustrato para la reacción enzimática el α-D-glucopiranósido 4-nitrofenilo.[5] Los compuestos **1-4** presentaron una actividad inhibitoria significativa frente a la enzima, reflejado en los valores calculados de concentración inhibitoria media (CI_{50}) de 95.2, 2.9, 66.5 y 155.5 µM, respectivamente; en los tres casos, la actividad fue mejor que la del fármaco control, la acarbosa (CI_{50}= 876.9 µM).

Para determinar el probable sitio de interacción de los compuestos con la enzima α-glucosidasa se realizaron estudios teóricos de acoplamiento molecular,[6-8] los cuales permitieron proponer que el compuesto **1** así como el isómero ***S*** del compuesto **2** se unen en el sitio catalítico de la enzima formando enlaces de hidrógeno con los aminoácidos Ser-240, His-280 y Gln-353, mientras que el **2-*R*** se une en un sitio alostérico formando enlaces de hidrógeno con los aminoácidos Lys-373 y Lys-568 (**Figura 3**). Por otra parte, la preusocromona C (**3**) y la corimbiferona (**4**) y se podrían unir de manera alostérica, cerca del sitio catalítico.

En síntesis, los compuestos obtenidos de la especie endófita *P. minimoides* representan nuevos prototipos de inhibidores de α-glucosidasas y, por ende, nuevos agentes para el desarrollo de fármacos enfocados al tratamiento de la diabetes tipo 2.

Referencias

(1) Leyte-Lugo, M.; Figueroa, M.; González, M. del C.; Glenn, A. E.; González-Andrade, M.; Mata, R. *Phytochemistry* **2013**, *96*, 273–278.

(2) Zhang, F.; Li, L.; Niu, S.; Si, Y.; Guo, L.; Jiang, X.; Che, Y. *J. Nat. Prod.* **2012**, *75* (2), 230–237.

(3) Overy, D. P.; Zidorn, C.; Petersen, B. O.; Duus, J. Ø.; Dalsgaard, P. W.; Larsen, T. O.; Phipps, R. K. *Medium dependant production of corymbiferone a novel product from Penicillium hordei cultured on plant tissue agar*; 2005; Vol. 46.

(4) Willoughby, P. H.; Jansma, M. J.; Hoye, T. R. *Nat. Protoc.* **2014**, *9* (3), 643–660.

(5) Rivera-Chávez, J.; González-Andrade, M.; González, M. del C.; Glenn, A. E.; Mata, R. *Phytochemistry* **2013**, *94*, 198–205.

(6) Morris, G. M.; Goodsell, D. S.; Halliday, R. S.; Huey, R.; Hart, W. E.; Belew, R. K.; Olson, A. J. *J. Comput. Chem.* **1998**, *19* (14), 1639–1662.

(7) Rudnitskaya, A.; Török, B.; Török, M. *Biochem. Mol. Biol. Educ.* **2010**, *38* (4), 261–265.

(8) Yamamoto, K.; Nakayama, A.; Yamamoto, Y.; Tabata, S. *Eur. J. Biochem.* **2004**, *271* (16), 3414–3420.

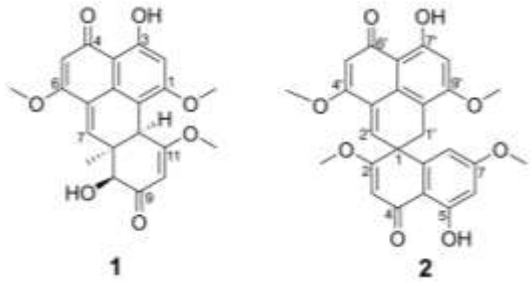


Figura 1. Estructuras de los compuestos aislados de *Preussia minimoides*.

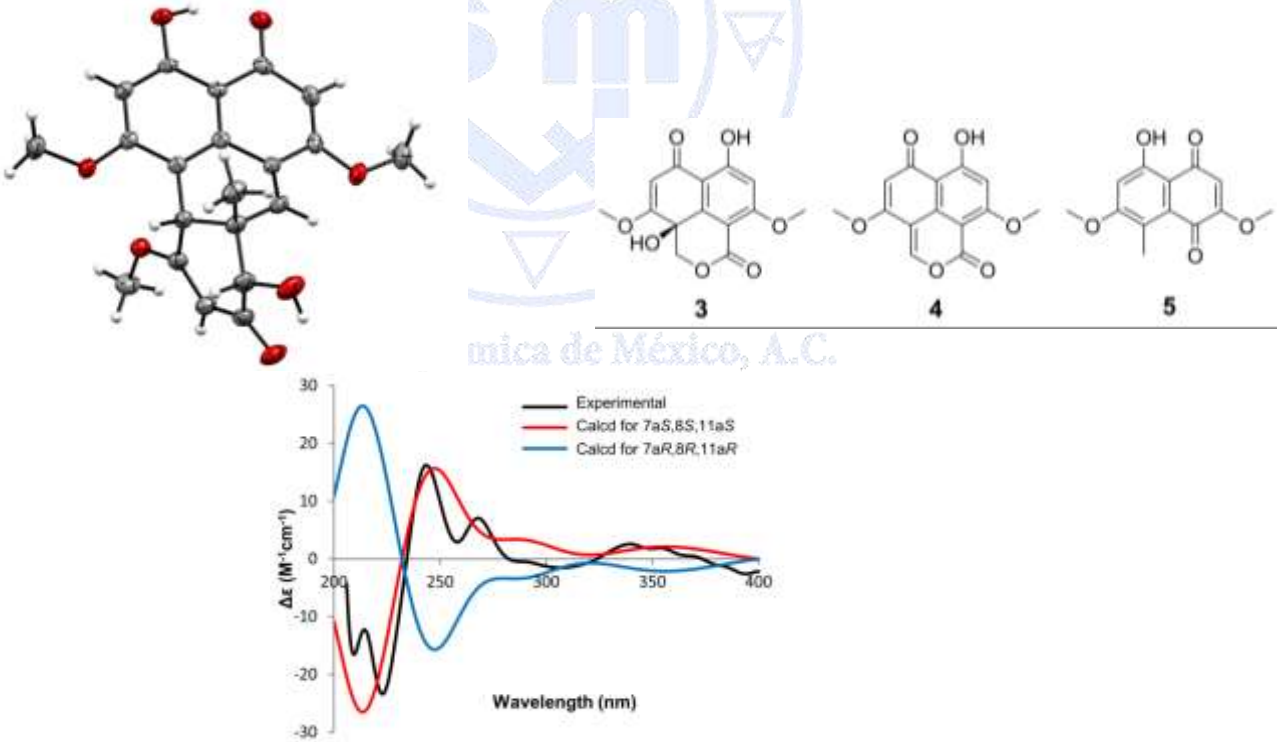


Figura 2. Representación ORTEP del compuesto **1** y comparación del espectro de dicroísmo circular experimental con el calculado para el compuesto **1**.

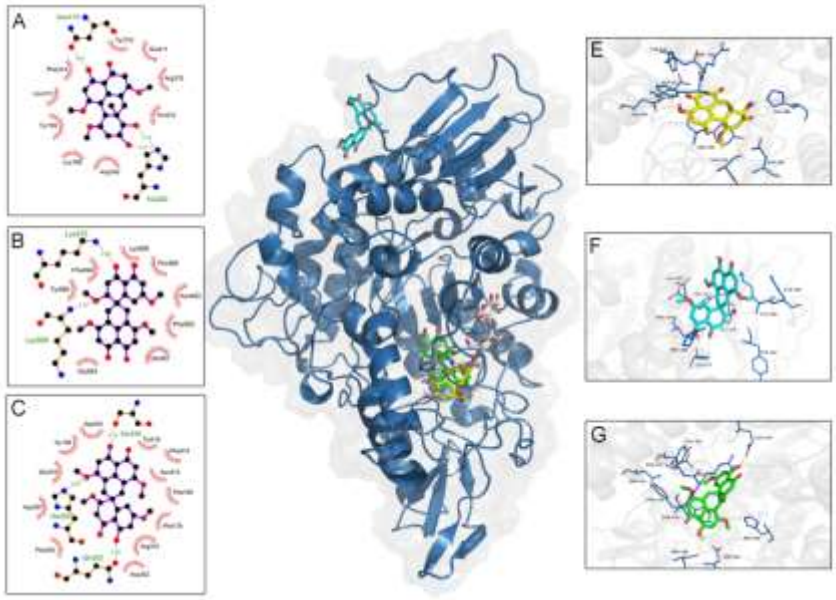


Figura 3. Representación del modelo de unión de los compuestos **1** (A y E), el isómero **2*R*** (B y F) y el isómero **2S** (C y G) con la estructura obtenida por cristalografía de la enzima alfa-glucosidasa de levadura (PDB 3A4A).

Tabla 1. ^{1}H (500 MHz) y ^{13}C (125 MHz) Datos de RMN del compuesto **1** en $CDCl_3$.

Posición	δ_C, tipo		δ_H (*J* en Hz)	HMBC	NOESY
1	163.4	C			
2	99.2	CH	6.49, s	1, 3, 3a, 11b	1-OCH_3
3	163.1	C			
3a	106.8	C			
3a[1]	130.5	C			
4	190.4	C			
5	101.4	CH	5.65, s	3a, 4, 6, 6a	6-OCH_3
6	165.1	C			
6a	125.9	C			
7	138.4	CH	6.98, d (1.5)	3a[1], 6, 7a, 8, 11a	
7a	44.1	C			
8	76.6	CH	4.25, s	7, 7a, 7a-CH_3, 9	7a-CH_3
9	196.6	C			
10	100.4	CH	5.50, d (2.0)	8, 9, 11, 11a	11-OCH_3
11	175.1	C			
11a	41.4	CH	4.28, t (2.0)	1, 10, 11, 11b	7a-CH_3
11b	108.9	C			
1-OCH_3	55.9	CH_3	3.90, s	1	
6-OCH_3	55.8	CH_3	3.80, s	6	
11-OCH_3	56.8	CH_3	3.53, s	11	
7a-CH_3	20.9	CH_3	1.28, s	7, 7a, 8, 11a	8, 11a
3-OH			13.21, s	2, 3, 3a	
8-OH			5.30, s		

Tabla 2. ^{1}H (500 MHz) y ^{13}C (125 MHz) Datos de RMN del compuesto **2** en $CDCl_3$.

Posición	δ_C, tipo		δ_H (*J* en Hz)	HMBC	NOESY
1	44.6	C			
2	177.8	C			
3	100.6	CH	5.70, s	1, 2, 4, 4a	2-OCH_3
4	189.7	C			
4a	106.7	C			
5	164.6	C			
6	99.9	CH	6.35,d (2.5)	4a, 5, 7, 8	7-OCH_3
7	164.7	C			
8	106.4	CH	6.24, d (2.5)	1, 4a, 6, 7	1'
8a	129.2	OCH_3			
2-OCH_3	56.7	OCH_3	3.80, s	2	3
7-OCH_3	55.4	OCH_3	3.67, s	7	6, 8
1'	33.1	CH_2	3.39, d (18) 3.19, d (18)	1, 2, 2', 3a', 8a, 9', 10'	8
2'	135.0	CH	6.67, s	1, 2, 3', 4'	4'-OCH_3
3'	126.5	C			
3a'	147.0	C			
4'	164.8	C			
5'	102.1	CH	5.75, s	3', 4',6', 6a'	4'-OCH_3
6'	190.1	C			
6a'	106.7	C			
7'	162.4	C			
8'	99.3	CH	6.45, s	7', 6a', 10'	9'-OCH_3
9'	161.6	C			
10'	109.8	C			
4'-OCH_3	56.0	OCH_3	3.84, s	4'	5'
9'-OCH_3	55.7	OCH_3	3.79, s	9'	8'
OH-5			13.30, s	5, 6	
OH-7'			13.14, s		

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

El aceite esencial de *Bursera morelensis* y su actividad cicatrizante

M. en C. Judith Salas Oropeza[1]; Dr. Manuel Jiménez Estrada[2]; Dr. Armando Pérez Torres[3]; Dr. Andrés Eliu Castell Rodríguez[3], Lic. Li Erandi Tepepa Flores[1], Dr. Marco Aurelio Rodríguez Monroy[1], Dra María Margarita Canales Martínez[1]

[1]Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM.

[2]Instituto de Química UNAM.

[3]Facultad de Medicina UNAM.

judithsalazo@hotmail.com dra.margaritacanales@gmail.com

Bursera morelensis es usado en medicina tradicional para tratar heridas en la piel, el extracto metanólico es analgésico y antioxidante mientras que el aceite esencial (AE) es antiinflamatorio, antimicrobiano y antifúngico. El objetivo fue determinar las propiedades cicatrizantes del AE de *B. morelensis*. El análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) indica 20 compuestos tipo terpenoides en el AE. En modelo murino se evaluó capacidad cicatrizante (CC); contracción de herida (CH) y actividad analgésica (AA) del AE; *in vitro* se evaluó citotoxicidad (CT) y proliferación celular (PC). Los resultados muestran que el AE tiene una buena CC sin importar la dosis, acelera la CH, tiene una leve AA, no es CT y provoca PC. Por lo que se concluye que AE es un agente pro cicatrización.

Introducción.

En México las plantas medicinales son el recurso material más amplio y valioso de la medicina tradicional (Zolla, 1980). *Bursera morelensis* Ramírez es un árbol endémico que se utiliza tradicionalmente en el tratamiento de heridas en la piel, esta especie posee una alta cantidad de aceite esencial; así mismo, se ha verificado la actividad analgésica y antioxidante de extractos metanólicos así como actividad antiinflamatoria, antimicrobiana y antifúngica, de aceite esencial (Canales et al., 2005; Carretero et al., 2008; Serrano et al., 2012; Carrera-Martínez et al., 2014; Canales-Martínez et al., 2017); características deseables en un producto pro cicatrización; por lo que el objetivo del presente trabajo es evaluar la capacidad cicatrizante del aceite esencial de *B. morelensis.*

Resultados y discusión.

El rendimiento del aceite fue igual a 0.19%. Mediante el análisis de CG-EM se identificaron veinte compuestos en el AE. Los compuestos principales fueron: p-Mentano con 38.41% de abundancia, este es uno de los principales terpenos presentes en el aceite esencial del *Mentha crispa*; recientemente se ha encontrado actividad anti-parasítica de este aceite sobre *Trypanosoma brucei* (de Sousa et al., 2016). El segundo compuesto en abundancia fue el beta.-Felandreno con 35.25% este compuesto ha sido identificado en aceites esenciales de diferentes especies de pinos tales como *Juniperus formosana* (Guo et al., 2016); así mismo, se ha identificado en el aceite esencial de *Zanthoxylum bungeanum*, aceite con potencial en el tratamiento de la psoriasis (Li et al., 2016). Otros componentes importantes del AE fueron: 1R-.alfa.-Pineno (8.37%), Cariofileno (5.19%) beta.-Mirceno (3.6%), Sabineno (3.54%) y p-cimeno (2. 1%). **Prueba de irritación:** con el AE al 25%, se detectó que en las primeras 12 horas hubo un ligero enrojecimiento, el cual disminuyó alrededor de las 24 horas, para cuando se cumplieron las 72 horas ya no se detectaba enrojecimiento, pero se pudo observar una ligera descamación de la piel. Estos resultados nos indican que el aceite puede ser usado en aplicación tópica para las pruebas en heridas. **Actividad cicatrizante:** se pudo observar que piel de los ratones tratados con AE en general cerraron completamente la herida, mientras que en el resto de los tratamientos, las herida no cerro totalmente (Fig. 1A). La eficacia de cicatrización (%EC) se encontró, que la piel sin tratamiento (C^-) mostró 28% de EC, el recoverón NC (C^+) 38%; mientras que los tratamientos con AE arrojaron los siguientes resultados: AE10 36% de EC y AE25 un 34% de EC (Fig. 1B). Así mismo, en el modelo de herida por incisión se observó que las heridas tratadas con AE10 cerraron un 67.2%, las tratadas con AE25 65.3%, mientras que en la piel en la que no se aplicó tratamiento se observó un porcentaje de cierre de 45.01% (Fig. 2A); se observó una apariencia más homogénea de la piel en el caso de las tratadas con AE (10 y 25%), ya que en el día 10 en los ratones sin tratamientos aún se podían observar costras y en los ratones C^+ se observaron costras más grandes (Fig. 2B); esto coincide con la histología ya que en los tratamientos con AE se observa una

mejor estructura del tejido de cicatrización así como un mayor depósito de colágena (Fig. 3); esto es importante, ya que el proceso de cicatrización depende de la biosíntesis y depósito de colágenas y su maduración (Sawatdee et al., 2016).

Figura 1 A) Apariencia de las heridas en el primer y último día de tratamiento. B) porcentaje de eficacia cicatrizante (EC) de los tratamientos herida sin tratamiento (HST), control positivo (C +), Aceite esencial [25%] (AE 25);

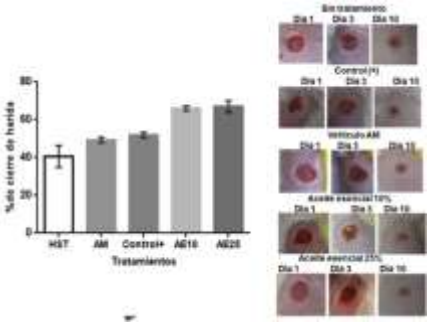


Figura 2 Modelo de herida por incisión. A) Porcentaje de cierre de herida en un periodo de 10 días pos herida. B) apariencia de las heridas en el inmediatamente infringida la herida (día 1) y al finalizar la prueba (día 10).

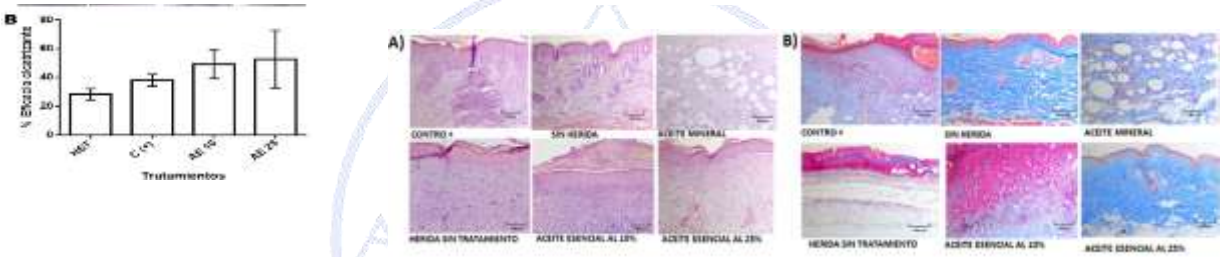
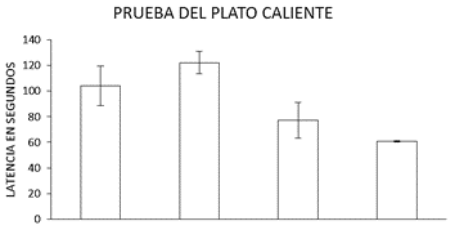


Figura 3 A) Cabios histopatológicos producidos por los diferentes tratamiento al décimo día de aplicación (HE, ×10); B) Efecto de los diferentes tratamientos en el contenido de colágena después de 10 días de aplicación (Tricrómica de Masson 10x)



. Figura 4 Efecto del diclofenaco 1.6% (C+), aceite esencial al 25% (AE), aceite mineral (AM), sobre la latencia de ratones sobre plato caliente.

Prueba del plato caliente: se observó que los ratones tratados con AE25 presentaron un comportamiento similar al del C^+, locual indica que el AE tiene actividad analgésica (Fig. 4).

Material y método.

Aceite esencial de *Bursera morelensis* (AE): El material vegetal (ramas jóvenes) fue recolectado en marzo de 2016, en el municipio de Teotitlán de Flores Magón, Oaxaca, México. Para obtener el aceite se utilizó la técnica de hidrodestilación y se almacenó a -4° C. La composición química fue determinada CG-EM.

Actividad cicatrizante modelo murino: fueron utilizados ratones cepa CD1 de 6 a 8 semanas de edad; los cuales se dividieron en grupos experimentales compuestos por 6 ratones. **Prueba de irritación de piel:** la piel del dorso de los animales fue depilada 24 horas antes de iniciar las pruebas. Se aplicadron 10 µL de AE 25% cada 12 horas, observando si aparecían signos de irritación o eritema en un periodo de 72 horas, transcurrido este tiempo tres ratones fueron sacrificado y la piel recuperada para análisis histológico. Las aplicaciones se continuaron hasta concluir diez días, la piel de estos ratones también fue recuperada para análisis histológico. **Método Tensiométrico de Vaisberg:** se realizó un corte de aproximadamente 1 cm. de largo en la piel depilada. Los tratamientos fueron aplicados por vía tópica cada 12 horas durante 10 días; los ratones fueron sacrificados utilizando una cámara de CO_2. Se midió la fuerza con la que se abre la herida utilizando un dinamómetro. El porcentaje de eficacia de cicatrización se calculó como: % EC (eficiencia de cicatrización)=GC/GS×100, donde: GC = gramos en que abre la piel cicatrizada y GS = gramos para abrir la piel sana. Los tratamientos para las dos pruebas anteriores fueron: piel sin herida (PSH), herida sin tratamiento (HST), control positivo Recoverón NC (C^+), aceite esencial

25% (AE25), aceite esencial 10%(AE10). **Modelo de herida por incisión**: para evaluar la contracción de la herida (CH) se generaron heridas usando un biopsy punch de 5mm, los tratamientos fueron, los mismos utilizados pata medir %EC; aplicación cada 12 horas por 10 días; cada dos día se midió el diámetro de la herida con un calibrador vernier digital y se calculó la contracción de la herida usando la ecuación siguiente:

$$\text{porcentaje de contracción de la herida (\%CH)} = 100 - \frac{Día\ x}{Día\ 0} \times 100$$

donde: Día x = diámetro de herida en día post herida especifico; Día 0 = diámetro de la herida en el día cero. En el décimo día, los ratones fueron sacrificados en cámara de CO_2, la piel del dorso donde se infringió la herida fue retirada, fijada en formol al 10% y procesada para su posterior análisis histológico. **Histología:** se obtuvieron cortes de 4 micras de cada muestra para realizar tinción de hematoxilina-eosina para hacer una exploración histopatológica general y tinción tricromica de Masson para verificar presencia y cuantificación de fibroblastos y para identificar fibras de colágeno. **Prueba del plato caliente:** para evaluar la actividad analgésica del AE, cada ratón fue colocado sobre una superficie del plato caliente, la cual estaba a una temperatura de 50°C±1°C, después de 60 minutos de haber aplicado en las cuatro patas de cada individuo los tratamientos (diclofenaco 0.0116 g/mL, AE25, AM (aceite mineral), sin tratamiento), el tiempo de latencia fue medido con un cronómetro y este fue considerado desde el momento que el individuo fue colocado sobre el plato y hasta que presentó los primeros signos de incomodidad (lamerse o sacudir las patas, saltar). **Pruebas *in vitro*:** para evaluar citotoxicidad se realizó con macrófagos P-388 y tratadas con las diferentes concentraciones del AE (desde 1 mg/mL hasta 0.0004 mg/mL), posteriormente se realizó el método de viabilidad celular usando Cristal Violeta, los ensayos se realizaron por triplicado. Para verificar si el AE causa proliferación celular, se aplicaron tratamientos con AE en diferentes concentraciones (0.0, 0.1, 1, 5 y 10 mg/mL), a cultivos de fibroblastos en andamios de fibrina, durante 24, 48 y 72 horas, estos andamios fueron fijados y se les realizó inmunohistoquímica, para verificar la expresión del marcador de proliferación celular Ki67.

Conclusiones.

El AE de *B. morelensis* favorece el proceso de cicatrización y acelera el cierre de las heridas. Se considera un producto recomendable en el tratamiento de heridas leves o donde es importante cuidar la estética de las cicatrices como en párpapdos y manos.

Literatura citada:

Canales, M.M.M. et al. 2005. J. Ethonpharmacol 97, 429–439.

Carrera-Martínez, C., A., et al. 2014. J of Essential Oil Bearing Plants 17, 758-768.

Carretero, M.E., et al. 2008. J. Ethnopharmacol 116, 11-15.

De Sousa, D.P. et al. D. 2016. Planta Med 116, 11-5.

Guo, S., et al. 2016. Molecules 21, 504.

Li, K., et al. 2016. J Ethnopharmacol 186, 351–361

Serrano-Parrales, et al. 2012. J. Med. Plants Res. 6, 5609-5615

Sawatdee et al. 2016. Acta Pharm. 66 233–244.

Zolla, C. 1980. J. Etnopharmacology 2, 37-41.

Determinación de la actividad antidiabética y composición química del propóleo de Chihuahua.

M. en C. Nelly Rivera-Yáñez[1]; Dr. Marco A. Rodríguez-Monroy[1]; **Dra. María Margarita Canales-Martínez[1]**.

[1] Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

dra.margaritacanales@gmail.com

Resumen

El propóleo es un producto apícola, constituido por una gran variedad de compuestos químicos[1]. Se encontró que el extracto etanólico del propóleo de Chihuahua (EEPCh) disminuye los niveles de glucosa en sangre (alrededor de un 40%) en ratones diabéticos tratados con EEPCh (D/P) durante 15 días. Mediante análisis de HPLC, se identificaron compuestos como pinocembrina, quercetina, naringina, naringenina, kaempferol, acacetina, luteolina, crisina, algunos fenoles, flavonoles y flavanonas. Por histología, los ratones D/P muestran diferencia en el tamaño de los islotes. Por inmunohistoquímica y en suero se detectó insulina en los ratones D/P. El contenido de fenoles y flavonoides totales del EEPCh fue de 314 mg de eqAG/g y de 62.58 µg de eqQ/g respectivamente. La capacidad antioxidante media (CA_{50}) del EEPCh fue de 15.75 µg/mL. Por último, se ve un aumento en la actividad de las enzimas SOD, CAT y GPx de los ratones D/P.

Introducción

El propóleo es un producto apícola resinoso y complejo, recogido y procesado por las abejas, constituido por una gran variedad de compuestos químicos[1]. Tiene diferentes propiedades biológicas como antimicrobiano, antioxidante, antiinflamatorio e inclusive se ha demostrado en estudios que el propóleo tiene actividad antidiabética[2]. La Diabetes Mellitus es una enfermedad caracterizada por hiperglucemia como consecuencia de defectos en la secreción y/o acción de la insulina[1,2]. Además, está asociada con la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) que causan daño oxidativo a diferentes órganos[2]. El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto antidiabético y antioxidante del propóleo de Chihuahua en un modelo experimental de diabetes.

Resultados

En cuanto al efecto del extracto etanólico del propóleo de Chihuahua (EEPCh) en la curva de tolerancia a la glucosa, los ratones diabéticos tratados con propóleo mostraron una reducción notable de los niveles de glucosa (330 mg/dL) con respecto a los ratones diabéticos (570 mg/dL) (Fig. 1).

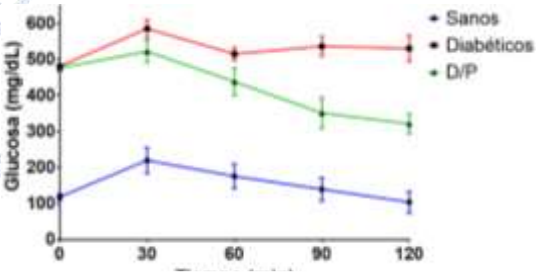
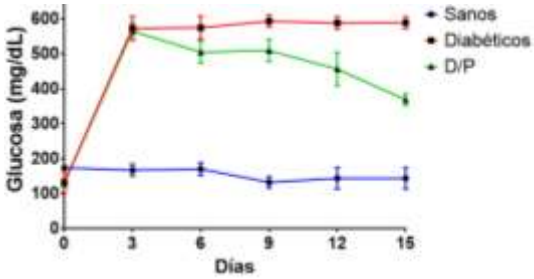


Fig. 1 Curva de tolerancia a la glucosa.

Además, se encontró que el EEPCh disminuye los niveles de glucosa en sangre (alrededor de un 40%) en ratones diabéticos tratados con propóleo durante 15 días, en comparación con los ratones diabéticos sin tratamiento (Fig. 2).



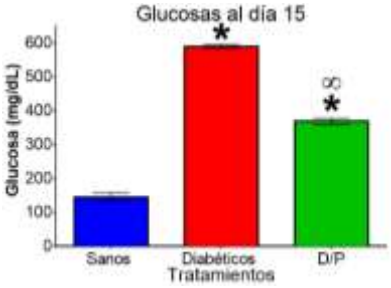


Fig. 2 Efecto del EEPCh sobre los niveles de glucosa en sangre.

Mediante análisis de HPLC, se identificaron compuestos como pinocembrina, quercetina, naringina, naringenina, kaempferol, acacetina, luteolina, crisina, algunos fenoles, flavonoles y flavanonas (Fig. 3).

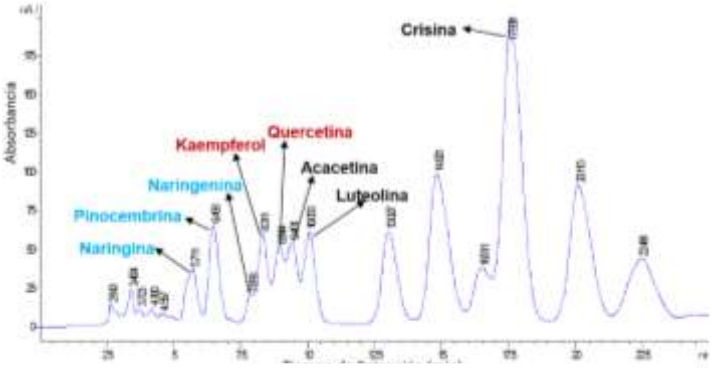


Fig. 3 Cromatograma del análisis por HPLC del EEPCh.

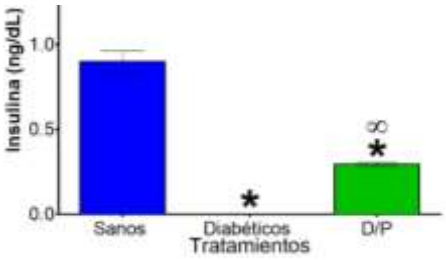


Fig. 4 Niveles de insulina en suero.

Al final del tratamiento, se determinaron los niveles de insulina en suero, observando que los ratones diabéticos tratados con EEPCh registraron 0.3 ng/mL de insulina, mientras que en los ratones diabéticos no hubo detección de esta molécula (Fig. 4).

Por medio de la técnica histológica se observó que la administración de EEPCh muestra una diferencia en el tamaño de los islotes pancreáticos de cada uno de los grupos experimentales (Fig. 5 y 6). Además, mediante inmunohistoquímica se detectó insulina en los islotes de los ratones diabéticos tratados con propóleo (Fig. 7).

Fig. 5 Microfotografías (10X) de páncreas de los diferentes grupos experimentales, tinción de Hematoxilina y Eosina.

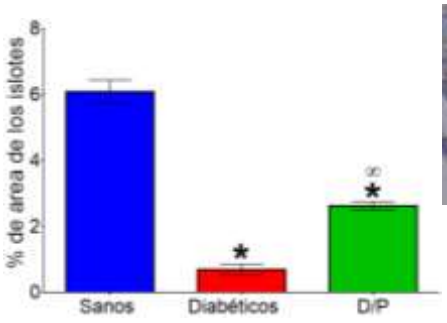


Fig. 6 Efecto del EEPCh en los islotes pancreáticos.

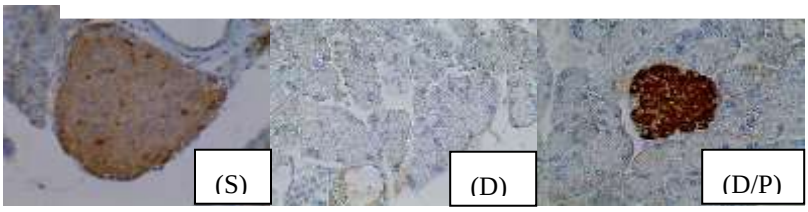


Fig. 7 Microfotografías (40X) de páncreas de los diferentes grupos experimentales, inmunohistoquímica.

En cuanto al contenido de fenoles totales del EEPCh fue de 314 mg de eqAG/g. El contenido de flavonoides totales del EEPCh fue de 62.58 µg de eqQ/g. La capacidad antioxidante media (CA_{50}) del EEPCh fue de 15.75 µg/mL (Fig. 8).

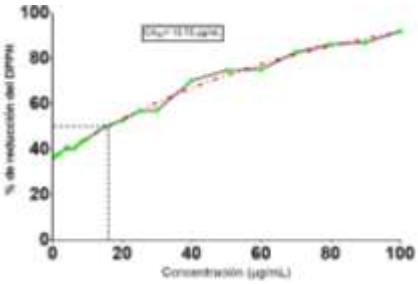


Fig. 8 Capacidad antioxidante del EEPCh.

Por último, se observó que la actividad de las enzimas SOD, CAT y GPx, se ve disminuida en los ratones diabéticos, mientras que hay un aumento significativo en los ratones diabéticos tratados con EEPCh (Fig. 9).

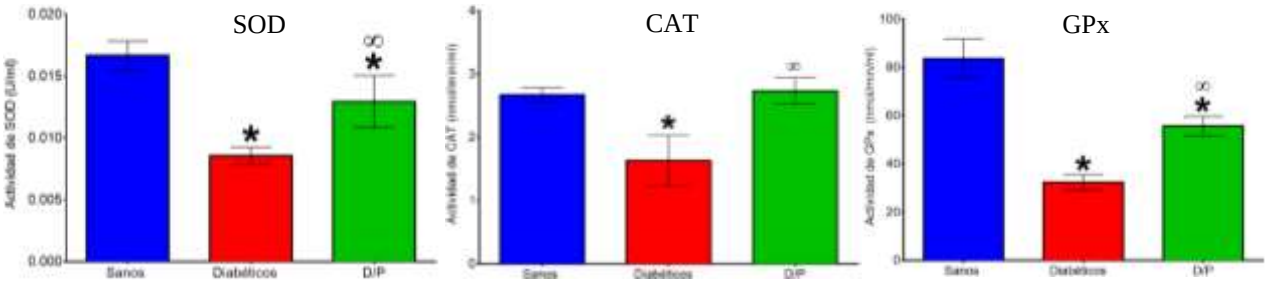


Fig. 9 Efecto del EEPCh sobre la actividad enzimática de las enzimas SOD, CAT y GPx.

Material y Método

Se obtuvo el EEPCh mediante el método de maceración. Se evaluó el efecto del propóleo sobre la curva de tolerancia a la glucosa y sobre los niveles de glucosa en sangre periférica mediante tiras reactivas. Se realizó la caracterización de la composición química del EEPCh mediante el análisis de HPLC. Se determinó el efecto del propóleo sobre los niveles de insulina en sangre mediante la técnica de ELISA. Se evaluó por histología el efecto del propóleo en los islotes del páncreas. Se detectó mediante inmunohistoquímica la presencia de insulina en los islotes pancreáticos. Se determinó

la concentración de fenoles totales y de flavonoides totales mediante métodos colorimétricos, se determinó la capacidad antioxidante por medio del método de reducción del radical DPPH. Y por último, se evaluó el efecto del propóleo sobre algunos parámetros del estrés oxidativo (SOD, CAT y GPx) mediante métodos colorimétricos.

Conclusiones

En esta investigación se encontró que el EEPCh es rico en flavonoides, se demuestra por primera vez que el EEPCh disminuye los niveles de glucosa en sangre en ratones diabéticos tratados con propóleo. También se detectó insulina en los ratones tratados, hubo diferencias en el tamaño de los islotes del páncreas y se observó un aumento en la actividad de las enzimas antioxidantes. Estas propiedades biológicas encontradas en el EEPCh podrían atribuirse al contenido de flavonoides ya que se ha reportado que varios de los compuestos identificados presentan efecto antidiabético y antioxidante[3-5].

Referencias

(1) El-Awady M. S., El-Agamy D. S., Suddek G. M., Nader M. A. 2014. Propolis protects against high glucose-induced vascular endothelial dysfunction in isolated rat aorta. J. Physiol. Biochem. Vol.70, pp. 247–254.

(2) El-Sayed M., Abo-Salem O. M., Aly H. A. y Mansour A. M. 2009. Potential antidiabetic and hypolipidemic effects of propolis extract in streptozotocin-induced diabetic rats. Pak. J. Pharm. Sci., Vol.22, No.2, pp.168-174.

(3) Oršolić N., Sirovina D., Gajski G., Garaj V., Jazvinšćak M. J., Kosalec I. 2013. Assessment of DNA damage and lipid peroxidation in diabetic mice: Effects of propolis and epigallocatechin gallate (EGCG). Mutation Research. Vol.757, pp. 36–44.

(4) Lotti C., Campo Fernandez M., Piccinelli A. L., Cuesta-Rubio O., Marquez Hernandez I., Rastrelli L. 2010. Chemical Constituents of Red Mexican Propolis. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol.58, No.4, pp. 2209-2213.

(5) Unnikrishnan M. K., Veerapur V., Nayak Y., Mudgal P. P. y Mathew G. 2014. Antidiabetic, Antihyperlipidemic and Antioxidant Effects of the Flavonoids. Polyphenols in Human Health and Disease. Capitulo 13. pp. 143-161.

Aislamiento de metabolitos secundarios a partir de extractos bioactivos de hojas de *Carica papaya L.*

Q.F.B. María de Jesús Hernández Hernández[1], Dr. Luis Fernando Roa de la Fuente[2], Dra. Isela Esther Juárez Rojop[3].

[1.2,] División Académica de Ciencias Básicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

[3] División Académica de Ciencias de la Salud, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

qfbmajeh@gmail.com

Carica papaya L. es una planta herbácea de la familia *Caricaceae* que ha mostrado diversos efectos terapéuticos. Debido a la poca información que existe sobre los esteroides contenidos en esta planta, en el presente estudio se determinó la presencia de estos metabolitos en fracciones de extracto clorofórmico. Las distintas pruebas fueron realizadas en hojas secas y molidas que posteriormente se llevaron a extracción mediante equipo Soxhlet, el extracto obtenido fue analizado y separado por cromatografía en columna usando como disolvente hexano-acetato. Dos de las fracciones mayoritarias obtenidas, basadas en perfiles de TLC mostraron presencia de esteroides. La importancia de estudio de estos metabolitos es debido a que se encuentran reportes de efecto terapéutico hipoglucemiante, la presencia de uno o más esteroides permiten análisis posteriores y podrían explicar este efecto en la planta.

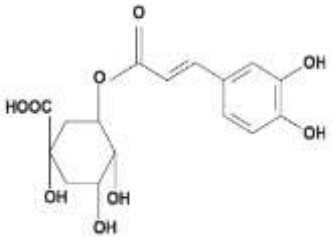
Introducción

Los metabolitos secundarios (fitoquímicos) pertenecen a un subgrupo de componentes químicos de las plantas basado en su estructura y vía metabólica. Estos representan grupos químicos específicos (compuestos fenólicos, terpenos, alcaloides, glucosinatos, compuestos nitrogenados) en bajas concentraciones en comparación con los componentes primarios (carbohidratos, proteínas, lípidos). La extracción de metabolitos secundarios permite el análisis fitoquímico de una planta, con el fin de identificar y aislar los componentes biológicamente activos. En años recientes, la investigación de agentes terapéuticos nuevos a partir de plantas ha sido una alternativa en el tratamiento de la diabetes debido a que es accesible y de bajo costo. En ese sentido, *Carica papaya* (papaya) es una planta herbácea en forma de árbol, pertenece a la familia *Caricaceae*, ampliamente cultivada por sus frutos comestibles originaria de América central y se encuentra en regiones tropicales y subtropicales alrededor del mundo.[1] *Carica papaya* presenta varias propiedades terapéuticas como inmunoestimulantes, antioxidantes, anticancerígeno, abortivas, bacteriostáticas y antihelmínticas en sus componentes (hojas, tallos, látex, frutos y raíz). Estudios realizados con nuestro equipo de trabajo demostraron que los extractos etanólico, hexánico y clorofórmico de *C. papaya* contienen diversos metabolitos (alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos, quinonas, esteroides y/o terpenos). Estudios fitoquímicos demuestran que el extracto clorofórmico contiene una mayor concentración de esteroides y quinonas como componentes principales además de presentar actividad hipoglucemiante.[2]

Fig. 1 Hojas de *Carica papaya L.*

Debido a esta información, actualmente se está trabajando con la separación y aislamiento de esteroides presentes en la hoja de *C. papaya*, ya que no existen evidencias de estos metabolitos secundarios en esta planta, a diferencia de compuestos fenólicos que si han sido reportados.[3]Además se conoce que el γ-sitosterol aislado en la planta de *Lippia nodiflora L.* posee efecto hipoglucemiante.[4] También existen evidencias de otros triterpenos que presentan este efecto.

Métodos y materiales



La recolección de las hojas de *Carica papaya* se llevó a cabo en el Municipio de Cintalapa, Chiapas. Las hojas recolectadas se lavaron para dejarlas libres de impurezas y se secaron al aire libre. Subsecuentemente fueron colocadas a la estufa por 72 horas a 50°C. Las hojas secas de *C. papaya* se pulverizaron hasta obtener una muestra homogénea, fue pesado y guardada en un recipiente de vidrio herméticamente cerrado. Para la extracción de metabolitos secundarios contenidos en la hoja de *C. papaya L.*, se colocó la muestra pulverizada (20g) en el equipo de extracción Soxhlet adicionando 250 mL de cloroformo, se calentó durante 24h.Posteriormente se recupera el cloroformo. El extracto fue sellado, etiquetado y dejado a una temperatura de -20°C en un frasco color ámbar. La separación y purificación de los metabolitos secundarios del extracto clorofórmico de *C. papaya* se realizo mediante una columna, 5 cm de diámetro, utilizando una fase sólida de Gel Sílice Sephadex TM G-60 en proporción 20g de Gel Ssílice por 1g de muestra, con eluyentes (hexano, hexano-acetato, acetato, acetato-metanol) de diferentes órdenes de polaridad con una variación de 5% en los sistemas (hexano-acetato, acetato-metanol).

Discusión y resultados

El extracto clorofórmico es de color verde oscuro, sólido. De cada 10g de hoja seca se obtuvieron 1.11g de extracto mediante equipo Soxhlet.

Fig. 2 Obtención del extracto clorofórmico

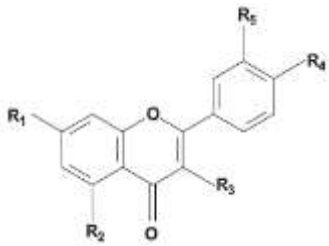
Fig. 3 Fraccionamiento por cromatografía en columna

Las fracciones del extracto clorofórmico de hojas de *C. Papaya* presentaron principalmente esteroides, en comparación con el extracto metanólico que en estudios anteriores demostraron existencia de compuestos fenólicos (Fig. 4)[1,3]. Los resultados podrían deberse a la diferencia de polaridad entre el disolvente metanol y cloroformo, obteniéndose metabolitos más polares y menos polares respectivamente.

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

Ácido clorogénico

Fig. 4 Compuestos fenólicos reportados en extracto metanólico[1,3]



Kaempferol $R_1=R_2=R_3=R_4=OH$, $R_5=H$

Quercetina $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=OH$

Conclusiones

Del fraccionamiento en cromatografía en columna (CC), se obtuvieron 25 fracciones en alícuotas de 100mL de las cuales las fracciones tres a la trece presentaron esteroides. Las fracciones mayoritarias fueron la fracción cuatro y cinco. Actualmente se intenta esclarecer cuál(es) de la mezcla de metabolitos esteroideos podrían ser los responsables de la actividad hipoglucemiante. Lo anterior permite un amplio estudio y análisis posteriores hacia la planta.

Perspectivas

Se evaluará el efecto hipoglucemiante de las fracciones obtenidas en un modelo animal empleando ratas *Wistar* macho, de acuerdo al protocolo establecido en el grupo de investigación.[2]

Referencias.

1. Canini A, Alesiani D, D'Arcangelo G, Tagliatesta P. Journal of Food Composition and Analysis. **2007,** 20:584–590.
2. Juárez Rojop, I. E., A Tovilla Zárate, C., Aguilar Domínguez, D. E., Lobato García, C. E., Blé Castillo, J. L., López Meraz, L., ... & Bermúdez Ocaña, D. Y. Revista Brasileira de Farmacognosia.**2014**, 24(3), 341-347.
3. Gogna, N., Hamid, N., y Dorai, K. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* ***2015***,*115*, 74-85.
4. Balamurugan, R., Duraipandiyan, V., & Ignacimuthu, S.*European journal of pharmacology.****2011***, *667*(1), 410-418.

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

Composición química y propiedades biológicas y del extracto etanólico del Pochote (*Ceiba aesculifolia* sub. *pavifolia*) en un modelo de colitis experimental

Rubén Jiménez-Rivas[1], Ana Judith García-López[1], **Mario Rodríguez-Canales[2],** Claudia Rebeca Rivera-Yáñez[3], Margarita Canales-Martínez[2], Marco A. Rodríguez-Monroy[1]

[1]Laboratorio de Inmunobiología, Carrera de Medicina, FES Iztacala, UNAM, Av. de los Barrios Número 1, Colonia Los Reyes Ixtacala, 54090 Tlalnepantla, MEX, México.

[2] IPN-Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN.

[3]Laboratorio de Farmacognosia, UBIPRO, FES Iztacala, UNAM, Av. de los Barrios Número 1, Colonia Los Reyes Ixtacala, 54090 Tlalnepantla, MEX, México.

mario_afi09@hotmail.com

Resumen

Ceiba aesculifolia es una planta utilizada en la medicina tradicional mexicana para tratar malestares gastrointestinales por lo que se decidió probar su efecto en un modelo de colitis inducido por DSS. Se encontró que el EECa a concentraciones de 500 y 750 mg/Kg posee actividad antiinflamatoria. A 250 mg/Kg prolonga la sobrevida, además disminuye los síntomas generados por el DSS y protege macroscópica y microscópicamente el colon. Estos resultados, probablemente se deben a la concentración de fenoles y flavonoides encontrados las cuales fueron de 36.0 % y 6.5 % respectivamente, así como, a la capacidad antioxidante encontrada 34.809 µg/mL. Dentro de los compuestos encontrados destacan la catequina y el catecol, mismos que han sido reportados con propiedades de importancia para el modelo estudiado.

Introducción

Los metabolitos secundarios son importantes para las plantas, ya que estos son los encargados de conferirles su éxito ecológico. Por otro lado, son una buena fuente para la búsqueda de nuevas alternativas para el tratamiento de diversas enfermedades, tal es el caso de los flavonoides que están caracterizados por poseer un bajo peso molecular y encontrarse ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se ha comprobado que pueden ayudar en la diarrea aguda y crónica, inhibiendo las secreciones y mejorando la motilidad intestinal además de reducir el daño inflamatorio crónico en el intestino protegiendo la mucosa del estrés oxidativo [1]. Es así que son una alternativa para él tratamiento la colitis ulcerosa que se caracteriza por presentar un proceso inflamatorio en el revestimiento del colon, pérdida de peso, diarrea, un aumento de las especies reactivas de oxígeno y múltiples interacciones entre la microbiota y el epitelio del colon [2]. *Ceiba aesculifolia* es una planta utilizada en la medicina tradicional mexicana para tratar malestares gastrointestinales por lo que se decidió probar su efecto en un modelo de colitis inducido por DSS.

Materiales y Métodos

Se utilizaron ratones hembras *Mus musculus* cepa Balb/c de seis semanas. Los grupos experimentales contaron con una *n* de seis; control, DSS y EXT+DSS. El extracto de la corteza se obtuvo por el método de maceración descrito por Domínguez (1979). La actividad antinflamatoria se evaluó utilizando el modelo de edema generado por carragenina [3]. La inducción de la colitis se llevó a cabo mediante DSS al 4% y, como tratamiento se suministraron 100 µL de extracto etanólico de *Ceiba aesculifolia* (EECa) a una concentración de 250 mg/Kg vía oral. Se monitoreo la sobrevida y el índice de la actividad de la enfermedad (DAI). Se obtuvieron los intestinos y, se procesaron para realizar la técnica histológica Rodríguez et al., (2016) [4]. Para la determinación química del extracto se realizó HPLC y CG-EM. Del extracto se determinó la concentración de fenoles, flavonoides y la capacidad antioxidante.

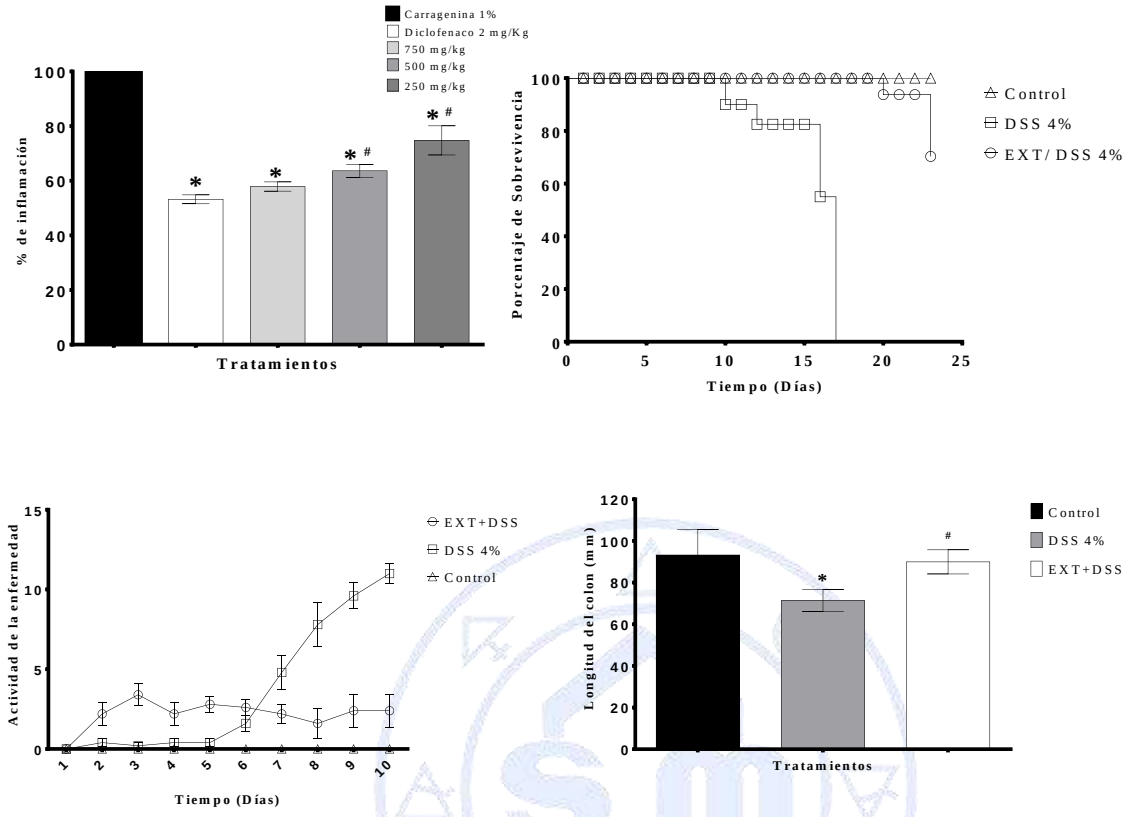


Figura 1. El EECa, reduce los síntomas presentes en la colitis. A) Actividad antiinflamatoria del extracto a diferentes concentraciones frente al diclofenaco en un modelo de inflamación inducido por carragenina al 1%. B) El EeCa prolonga la sobrevida. C) EECa disminuyes los síntomas clínicos producidos por el DSS. D) La administración del extracto mantiene la longitud de los intestinos. DSS al 4%/Kg, la concentración del extracto en el modelo de la colitis fue a 250 mg con una (P<0.05).

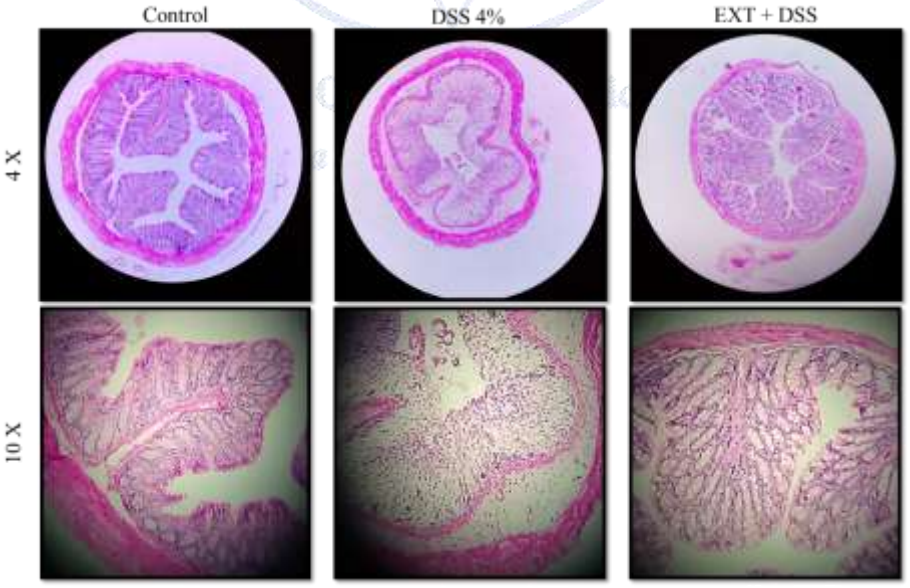


Figura 2. Cortes histológicos. Control 4 X podemos observar en la imagen las crestas sin algún daño visible lo que se corroboro a 10 X. DSS 4% en esta imagen se observa un infiltrado inflamatorio que abarca desde la serosa hasta la mucosa. Ext +DSS hay un infiltrado inflamatorio, pero este no es tan exacerbado como en el DDS además de que no hay erosión del epitelio y se observa la presencia de células caliciformes.

Discusión y resultados

La CU está caracterizada por la inflamación del revestimiento del colón, la cual muchas veces esta incrementada por las especies reactivas de oxígeno y, en su conjunto pueden dañar la integridad de las criptas del colon, por lo tanto, en el presente estudio se determinó la capacidad antiinflamatoria del EECa encontrando que a concentraciones de 500 y 750 mg/Kg de peso, no existen diferencias significativas respecto el control (figura 1 A), lo cual concuerda con otros autores que reportan que diferentes especies pertenecientes al género *Ceiba* posen propiedades antiinflamatorias a concentraciones que van de los 100 a los 800 mg/Kg [3, 5]. En el modelo de colitis inducida por DSS se observó que el EECa prolonga la sobrevida (figura 1 B) y disminuye los síntomas clásicos de la colitis como son la pérdida de peso, diarrea, sangrado (figura 1 C) y mantienen la longitud del colon (figura 1 D). Para saber la razón de los resultados obtenidos, se determinó la concentración de fenoles, flavonoides totales y capacidad antioxidante media, encontrando 36.0 %, 6.5 % y 34.809 µg/mL respectivamente. Según el criterio de Al-Fatimi et al. [6] la capacidad antioxidante del EECa es óptima, debido a que los flavonoides mejoran el daño al tejido causado a las criptas por el estrés oxidativo al reducir la depleción de glutatión del colon [1], dando como consecuencia el mantener en mejores condiciones la arquitectura del colon y la longitud del mismo. Dentro de los compuestos identificados por medio de un HPLC destacan la Catequina y él Catecol ya que estos se han reportado con propiedades antiinflamatorias en modelos de colitis experimental, antiulcerosas, antioxidantes y antibacterianas [7].

Conclusiones

1) El EECa posee una buena actividad antiinflamatoria a concentraciones de 500 y 750 mg/Kg.
2) Disminuye los síntomas de la colitis provocados por el DSS.
3) Los compuestos principales con actividades biológicas de interés para el modelo de colitis son: Catequina, Catecol. Ácido palmítico.

Referencias

1. Ballester I, Camuesco D, Gálvez J, SÁNCHEZ DMF, Zarzuelo A: **Flavonoides y enfermedad inflamatoria intestinal Flavonoides and Infl ammatory bowel disease**. *Ars Pharmaceutica* 2006, **47**(1):5-21.
2. Fakhoury M, Negrulj R, Mooranian A, Al-Salami H: **Inflammatory bowel disease: clinical aspects and treatments**. *J Inflamm Res* 2014, **7**(7):113-120.
3. Itou RDGE, Sanogo R, Ossibi AWE, Ntandou FGN, Ondelé R, Pénemé BM, Andissa NO, Diallo D, Ouamba JM, Abena AA: **Anti-inflammatory and analgesic effects of aqueous extract of stem bark of Ceiba pentandra Gaertn**. *Pharmacology & Pharmacy* 2014, **5**(12):1113.
4. Rodriguez-Canales M, Jimenez-Rivas R, Canales-Martinez MM, Garcia-Lopez AJ, Rivera-Yanez N, Nieto-Yanez O, Ledesma-Soto Y, Sanchez-Torres LE, Rodriguez-Sosa M, Terrazas LI *et al*: **Protective Effect of Amphipterygium adstringens Extract on Dextran Sulphate Sodium-Induced Ulcerative Colitis in Mice**. *Mediators of inflammation* 2016, **2016**:8543561.
5. Khan A, Ch M: **ANTIMICROBIAL, ANTI-INFLAMMATORY AND ANTIPYRETIC ACTIVITY OF CHORISIA SPECIOSA LEAVES.(BOMBACACEAE)**.
6. Al-Fatimi M, Wurster M, Schröder G, Lindequist U: **Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of selected medicinal plants from Yemen**. *Journal of Ethnopharmacology* 2007, **111**(3):657-666.
7. Somani SJ, Modi KP, Majumdar AS, Sadarani BN: **Phytochemicals and their potential usefulness in inflammatory bowel disease**. *Phytotherapy Research* 2015, **29**(3):339-350.

Actividad antiinflamatoria y antioxidante del extracto metanólico del "Cuachalalate" en un modelo de colitis inducida por DSS.

Rodríguez-Canales Mario[1], Jiménez-Rivas Rubén[2], Ana Judith García-López[1], Canales-Martínez María Margarita[2], Rodríguez-Monroy Marco Aurelio[2]

[1]IPN- Escuela Nacional de Ciencias Biológicas.

[2]UNAM-FES Iztacala.

mario_afi09@hotmail.com

El Cuachalalate es una planta comúnmente utilizada en la medicina tradicional mexicana para tratar diversos problemas gastrointestinales. Se decidió probar el efecto del extracto metanólico del Cuachalalate (EMeC) en un modelo murino de colitis experimental. Se administró el extracto diariamente de manera oral a una concentración de 200 mg/Kg. Se evaluaron marcadores de: severidad de la enfermedad, inflamación y estrés oxidativo. El extracto disminuyó la severidad de la colitis, y en la caracterización química se encontraron flavonoides como catecol, catequina, naringenina y pinocembrina, y también algunos ácidos grasos, los cuales tienen diversas actividades, de las que resaltan su actividad como anti-inflamatorio y antioxidante, y son los posibles responsables de los efectos biológicos que mostró tener el extracto en este modelo de colitis.

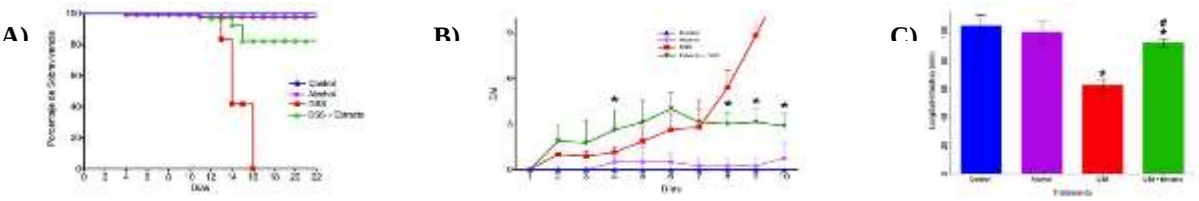
Introducción.- La colitis es una enfermedad inflamatoria del intestino que afecta principalmente la parte terminal del colon. Es considerada un problema de la sociedad moderna, y hasta el momento no se tiene un tratamiento satisfactorio. Recientemente, las plantas medicinales y sus derivados, han sido propuestos como posibles candidatos para nuevos fármacos debido a su amplio espectro terapéutico y a su baja toxicidad. Estas propiedades están dadas por los metabolitos secundarios presentes en las mismas, dentro de los que se pueden destacar los compuestos de naturaleza fenólica, en particular los flavonoides, los cuales han sido descritos como compuestos con diversas actividades, como antimicrobiana, antimicótica, antioxidante y antiinflamatoria [1-2].

El Cuachalalate (*Juliania adstringens*) es una planta comúnmente utilizada en la medicina tradicional mexicana para tratar diversos problemas gastrointestinales. Es por esto que se decidió probar el efecto del extracto metanólico del Cuachalalate en un modelo murino de colitis experimental y caracterizarlo químicamente para encontrar a los compuestos responsables de los efectos biológicos que podría presentar en esta investigación.

Materiales y Métodos.- La colitis fue inducida en los ratones al agregar DSS al 4% en el agua del bebedero desde el inicio hasta el término del experimento. Se formaron aleatoriamente 4 grupos experimentales: DSS (únicamente se les administró el DSS como se menciono anteriormente), DSS + Extracto (Tratamiento de DSS además de administrar el extracto metanólico de Cuachalalate diariamente de manera oral a una concentración de 200 mg/Kg de peso), Alcohol (Agua potable, de manera oral se administraron 100 μL del vehículo [Etanol 50%]) y Control (sin tratamientos). Se evaluó el efecto del extracto metanólico de Cuachalalate sobre la sobrevida, el índice de actividad de la enfermedad (DAI), longitud del intestino y cambios a nivel microscópico en la estructura del intestino. También se determinaron los niveles de las citocinas proinflamatorias TNF-α, INFγ, e IL-1β y la actividad de las enzimas antioxidantes super óxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx), con el fin de conocer el papel del extracto durante la inflamación y el estrés oxidativo que son característicos durante la colitis. Finalmente se hizo una caracterización química del extracto (capacidad antioxidante media, determinación de fenoles y flavonoides totales, HPLC y GC-MS) para tener un acercamiento a los posibles compuestos responsables de las actividades biológicas del extracto.

Resultados y discusión.- La administración del extracto metanólico del Cuachalalate demostró tener un efecto inhibitorio en el establecimiento de la UC. Se observó un incremento en la sobrevida de los animales experimentales, así como disminución en los valores del DAI y acortamiento del colon al ser comparado con el grupo DSS (Figura 1).

Figura 1.- Efecto del extracto metanólico del Cuachalalate en A) sobrevida de los animales



*experimentales, B) DAI y C) longitud de los intestinos. * muestra diferencias significativas (P<0.05) comparado con el control; # muestra diferencias significativas (P<0.05) comparado con el grupo DSS.*

Los resultados del índice de daño histopatológico muestran que el grupo tratado con DSS presentó infiltrado de células inflamatorias y pérdida en la estructura de las criptas, mientras que el grupo al que se le administró el extracto metanólico del Cuachalalate tiene un menor infiltrado inflamatorio y la estructura de las criptas es más conservada con respecto al grupo DSS (Figura 2). Además, con la tinción de azul de Alcian (Figura 2) se observó que también se previene la pérdida de las células caliciformes, las cuales son las encargadas de la secreción de las glicoproteínas que conforman la membrana mucosa del tracto gastrointestinal y la primera línea de defensa del intestino del organismo, por lo tanto, la administración del extracto metanólico del Cuachalalate, al prevenir la pérdida de estas células, está protegiendo al intestino al mantener la formación de la capa mucosa.

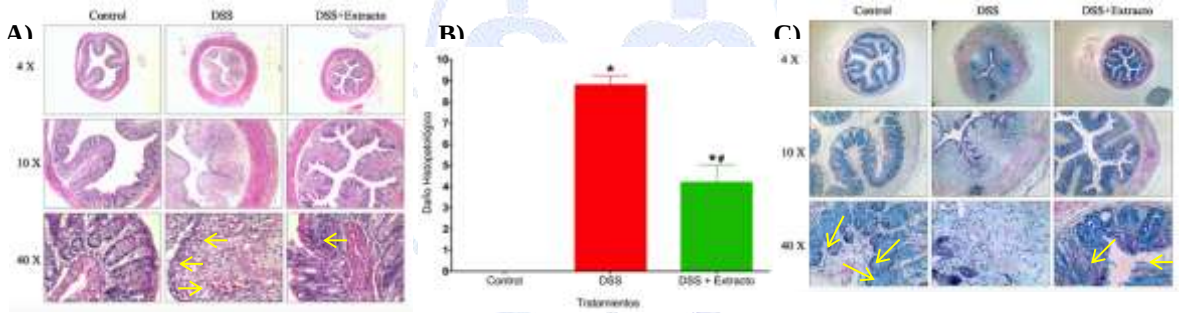


*Figura 2.- A)Cortes histológicos de colon representativos de los grupos experimentales. Tinción H&E. Con flechas se señalan los infiltrados celulares. B) Efecto del extracto metanólico de J. adstringens en el índice de daño histopatológico. * muestra diferencias significativas (P<0.05) comparado con el control; # muestra diferencias significativas (P<0.05) comparado con el grupo DSS. C) Cortes histológicos de colon representativos de los grupos experimentales. Tinción azul de Alcian (células caliciformes).*

El estrés oxidativo y la inflamación son factores que tienen gran importancia en el establecimiento de la colitis.

El intestino está equipado con un complejo sistema de defensa contra las ROS y las RNS, dentro del cual se encuentran compuestos como las enzimas antioxidantes SOD, CAT y GPx, las cuales juegan un papel crucial en la defensa del organismo contra el estrés oxidativo. Así mismo, se ha comprobado que durante la UC, la actividad enzimática de SOD, CAT y GPx es deficiente. En esta investigación, se determinó la CA_{50} del extracto metanólico del Cuachalalate la cual fue de 36.04 µg/mL (Tabla 1), y es considerada una buena capacidad antioxidante siguiendo el criterio de Al-Fatimi *et al* [3]. Esta capacidad antioxidante puede deberse a la presencia de los fenoles y flavonoides totales cuantificados en el extracto, ya que es bien sabido que estos compuestos tienen gran capacidad antioxidante [1-2]. También se demostró que la administración del extracto metanólico del Cuachalalate previene la deficiencia en la actividad de SOD y GPx (Figura 3). Por lo tanto, nuestros resultados parecen indicar que el extracto metanólico del Cuachalalate reduce el daño en el intestino durante la UC debido a su actividad antioxidante.

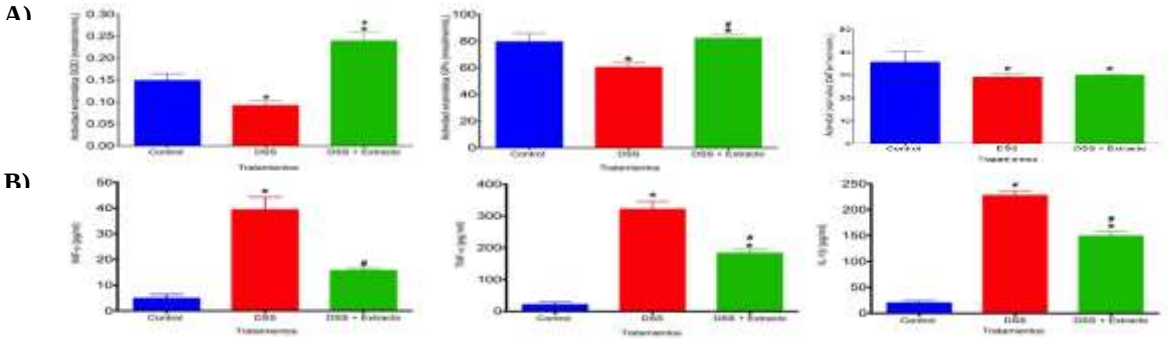


Figura 3.- A) Actividad de las enzimas antioxidantes SOD, GPx y CAT. * representa las diferencias significativas al comparar con el grupo control (P<0.05) y # al comparar con el grupo DSS (P<0.05).

B) Niveles de las citocinas proinflamatorias IL-1β, TNF-α e IFNγ en suero. * representa las diferencias significativas al comparar con el grupo control (P<0.05) y # al comparar con el grupo DSS (P<0.05).

CA_{50}	36.04 µg/mL
Fenoles totales	276 mg EqAG/g
Flavonoides totales	49.4 mg EqQ/g

Tabla 1.- Capacidad antioxidante y fenoles y flavonoides totales presentes en el extracto metanólico del Cuachalalate.

En cuanto a las citocinas proinflamatorias, la administración del extracto disminuye significativamente los niveles de estas (Figura 3), lo cual nos hace suponer que el extracto metanólico del Cuachalalate tiene un efecto antiinflamatorio. Mediante el análisis por HPLC, se lograron identificar flavonoides y otros compuestos de naturaleza fenólica que forman parte de la composición química del extracto, que tienen capacidad antioxidante y/o anti-inflamatoria, y que debido a su acción, o al probable sinergismo entre ellos, pueden ser los responsables de las actividades biológicas descritas en esta investigación.

Por ejemplo, la catequina ha demostrado tener efecto anti-inflamatorio y antioxidante en un modelo de colitis inducido por TNBS, al prevenir la pérdida de células caliciformes, infiltrados inflamatorios en la mucosa del colon, disminuir la expresión de ROS y de citocinas como IL-1β e IL-6, prevenir la disminución de la actividad de las enzimas SOD GPx y al disminuir la peroxidación lipídica; el catecol ha sido reportado como un compuesto con actividad antioxidante y anti-inflamatorio en el sistema nervioso; la catequina ha sido probada en modelos de colitis inducida por ácido acético y por DSS, en donde mostró disminuir los niveles de iNOS y de citocinas como IL-6 y TNF-α, así como también disminuye la translocación de NF-κB al núcleo. También incrementa la producción de moco en el colon y disminuye los niveles de las TBARS, que son un producto de la peroxidación lípidica que se ocurre por el estrés oxidativo.

Otro grupo de compuestos importantes encontrados en la composición química del extracto metanólico del Cuachalalate, son los ácidos grasos, los cuales también es muy probable que sean los responsables de las actividades biológicas descritas en esta investigación, ya que en diversos trabajos se ha comprobado su efecto anti-inflamatorio y antioxidante entre otros. Tal es el caso del ácido α-lonolenico, que en el modelo de colitis inducida por TNBS, disminuye la secreción de TNF-α y regula la expresión de NF-κB e iNOS.

Tabla 2.- Compuestos químicos detectados en el extracto metanólico de *J. adstringens* mediante HPLC y GC-MS.

Compuesto	Tipo de compuesto	Actividad Biológica
Catequina	Flavonoide	Antioxidante, anti-inflamatorio, antibacteriano
Catecol	Compuesto fenólico	Antioxidante, anti-inflamatorio, antibacteriano

Pinocembrina	Flavonoide	Antioxidante, anti-inflamatorio, antibacteriano
Naringenina	Flavonoide	Antioxidante, anti-inflamatorio,, efecto positivo en un modelo de colitis inducida por DSS
Ácido hexadecanoico éster metílico	Ácido graso	Anti-inflamatorio y antioxidante
Ácido palmítico	Ácido graso	Anti-inflamatorio y antioxidante
Ácido α-linolenico	Ácido graso	Anti-inflamatorio y antioxidante

Conclusiones.- El extracto metanólico del Cuachalalate reduce la severidad de la colitis en el modelo murino de colitis inducida por DSS, al disminuir la inflamación y el estrés oxidativo, los cuales son 2 factores cruciales para el establecimiento y progresión de la enfermedad. Esto puede deberse a la presencia de compuestos como catequina, catecol, naringenina y algunos ácidos grasos, de los cuales se ha reportado previamente que tienen actividades biológicas relacionadas con la colitis. Así, si bien el consumo del Cuachalalate no se propone como una "cura" para la colitis, puede ser utilizado junto con los tratamientos clínicos para disminuir los síntomas de la enfermedad y tener una mejor calidad de vida.

Referencias.-

1. Diaz, P., et al., *Antioxidant and anti-inflammatory activities of selected medicinal plants and fungi containing phenolic and flavonoid compounds.* Chin Med, 2012. **7**(1): p. 26.

2. Nijveldt, R.J., et al., *Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications.* Am J Clin Nutr, 2001. **74**(4): p. 418-25.

3. Al-Fatimi, M., et al., *Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of selected medicinal plants from Yemen.* J Ethnopharmacol, 2007. **111**(3): p. 657-66.

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

Tamizaje biodirigido y variación temporal en la composición química de extractos metanólicos de *Bursera aptera* Ramírez.

Biól. Marlene G. Rodríguez López[1,2], Dr. Cesar Mateo Flores Ortiz[1], Dr. Manuel Jiménez Estrada[3], M. en C. Lesslie Espinosa Espinosa[4], Dra Ma. Margarita Canales Martínez[1].

[1] Lab. 5 de Investigación, Universidad Intercultural del Estado de México. Libramiento Francisco Villa s/n, Col. Centro, San Felipe del Progreso, Estado de México, CP 50640.

[2] Lab. Farmacognosia, UBIPRO. FES Iztacala, UNAM. Avenida de los Barrios Número 1, Colonia Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, C.P. 54090.

[3] Lab. de Investigación de Productos Naturales, Instituto de Química, UNAM. Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria. Del Coyoacán, Ciudad de México, C.P. 04510.

[4] Lab. de toxicología de productos naturales. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. Avenida Wilfrido Massieu, Unidad Adolfo López Mateos, Ciudad de México, C.P. 07738.

marlenere9@gmail.com

Resumen

De la especie *B. aptera* se ha reportado el uso tradicional del su exudado para las picaduras de mosquito, así como diferentes actividades biológicas de sus extractos metanólicos. En el presente trabajo se estudio la variación temporal de algunos compuestos de sus extractos metanólicos en lluvias y secas, así como en diferentes épocas de colecta, asociados a la actividad anitimicrobiana, siendo el extracto correspondiente a diferentes épocas de colecta el que mayor actividad presentó, de tal forma que se realizó un tamizaje biodirigido y se encontró que las fracciones que presentaron el mayor efecto inhibitorio sus compuestos son de tipo flavonoide como pinocembrina, naringenina, quercetina. Los cuales ya han sido reportados contra diferentes patógenos.

Introducción

El género *Bursera* ha sido ancestralmente de gran importancia en la cultura mexicana, ya sea por sus usos en rituales o artificios, como también por sus propiedades medicinales[1]. De la especie endémica *B. aptera* se ha reportado su uso tradicional para las picaduras de mosquito y su actividad antibacteriana, antifúngica y antiprotozoaria de su extracto metanólico, siendo los compuestos terpenos, flavonoides y lignanos como los posibles responsables de las actividades biológicas mostradas[2,3]. Sin embargo, se desconoce la variación temporal de estos compuestos, así como su abundancia y la relación que guarda con su actividad biológica. En el presente estudio se realizó la evaluación de esta variación en extractos de la época de lluvias y secas en la región de San Rafael Coxcatlán, Puebla, así como el fraccionamiento biodirigido del extracto perteneciente a diferentes épocas de colecta.

Metodología

Se realizaron diferentes colectas para la obtención de 3 extractos metanólicos mediante maceración. Se evaluó la actividad antibacteriana por el método de Kirby-Baüer, la actividad antifúngica por el método de inhibición del crecimiento radial, la capacidad antioxidante con la reducción del radical DPPH, la cuantificación de fenoles totales con el reactivo de Folin C., la cuantificación de flavonoides totales con el reactivo de $AlCl_3$ y el tamizaje biodirigido contra *Vibrio cholera* CDC V12 (El Tor) a partir de una cromatografía en columna abierta. Las fracciones activas se analizaron por HPLC-ESI-TOF-MS.

Resultados

El mayor rendimiento lo presentó el extracto de la época de lluvias. Se observó una tendencia a una mayor actividad antibacteriana y antifúngica con el extracto de diferentes épocas de colecta seguido del de época de lluvias. De igual forma se confirmó esta tendencia en la capacidad antioxidante, así como contenido de fenoles y flavonoides totales. En el caso del fraccionamiento biodirigido la mayor actividad se presentó en las fracciones de polaridad intermedia (27, 39, 40, 41 y 44).

Estas fracciones al ser analizados mediante HPLC-ESI-TOF-MS mostraron la presencia de ácidos fenólicos y flavonoides en mayor o menor medida, tal es el caso de el ácido gálico, luteolina, quercetina, miricetina y naringenina.

Discusión

Se ha reportado la actividad antibacteriana y antifúngica de fenoles y flavonoides, así como su correlación con la capacidad antioxidante (Rice-Evans et al., 1997). Por otro lado, la mayor actividad en época de lluvias que de secas puede ser debida a que en esta época se favorece el ataque de fitoparásitos en la planta aunado a que se encuentra en su periodo reproductivo (Rzedowsky et al., 2004) promoviendo así una mayor síntesis de estos compuestos para su sobrevivencia.

Conclusión

El estado de resistencia en *B. aptera* no es constante en el tiempo y por ello es importante estudiar la dinámica temporal de sus compuestos y evolución, al estar relacionados con la actividad biológica mostrada, ya que la eficacia podría verse comprometida y con ello el alivio de los padecimientos de los usuarios.

Notas

1 Canales et al., 2005.

2 Nieto-Yañez et al., 2017.

3 Rodríguez-López, 2014.

4 Rice-Evans et al., 1997.

5 Rzedowsky et al., 2004.

Referencias

[1] Canales et al., 2005. Informant consensus factor and antibacterial activity of the medicinal plants used by the people of San Rafael Coxcatlán Puebla, Méx. J. Etno. 97, 426-439.

[2] Nieto-Yañez et al., 2017. *In vivo* and *in vitro* antileishmanial effects of methanolic extract from bark of *Bursera aptera*. Afr J Tradit Com Altern Med. 14(2).

[3] Rodríguez-López, M. G., 2014. Estudio de la actividad antibacteriana y antifúngica del extracto de *B. aptera* Ramírez. Tesis Lic. Biología, FESI. UNAM. 91 pp.

[4] Rice-Evans et al., 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. Tre. Pla. Scie. 2(4), 154-159.

[5] Rzedowski et al, 2004. Las especies de *Bursera* de la cuenca del río Papaloapan, Méx. A. Bot. Mex. 66, 23-151.

Estudio químico y biológico de la especie fúngica *Malbranchea albolutea*

Miriam Díaz Rojas[1], Rachel Mata[1].

Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México 04510, México[1]

diazmiriam17@gmail.com[1]

Resumen

El presente trabajo describe el aislamiento del 1-H-indol-3-carboxaldehído (**1**) y citosina (**2**) a partir de un extracto orgánico activo del medio de cultivo en arroz de *Malbranchea albolutea*. El extracto demostró un efecto antimicrobiano importante contra *Bacillus subtilis* mediante el método de dilución en placa. Por otro lado, el extracto inhibió la actividad enzimática de las α-glucosidasas de raspado intestinal de rata con una IC_{50} 0.2 mM (78 % de inhibición a 200 ppm) mejor a la de la acarbosa (IC_{50}=1 mM), un conocido agente antihiperglucémico utilizado en la terapia de la diabetes.

Introducción

El presente proyecto forma parte de un estudio sistemático conducente a descubrir productos naturales de plantas y microorganismos de utilidad para el tratamiento de la diabetes y enfermedades microbianas. En particular, se pretende descubrir agentes inhibidores de las enzimas α-glucosidasas más eficaces y con efectos secundarios menores a los de uso actual en la terapia de la diabetes (Flores *et al.*, 2017). La búsqueda de nuevos agentes para tratar está enfermedad es una necesidad urgente debido a los estragos que ocasiona esta enfermedad a nivel global (FID, 2015). Por otro lado, el conocido fenómeno de resistencia a los antibióticos de uso actual plantea la necesidad de encontrar nuevas alternativas para el tratamiento de enfermedades infecciosas (Leung, *et al.*, 2011). En este sentido los microorganismos fúngicos han demostrado continuamente ser fuente de productos novedosos con efectos bactericidas y bacteriostáticos. En este marco de referencia se inició el estudio de la especie fúngica *Malbranchea albolutea* Sigler & J.W. Carmichel.

Resultados y Discusión

La evaluación de un extracto orgánico del medio de cultivo sólido de *M. albolutea* indicó su efecto inhibitorio contra las enzimas α-glucosidasas presentes en un raspado comercial de intestino de rata con una concentración inhibitoria media (IC_{50}) de 0.2 mM (78 % de inhibición a 200 ppm), mejor a la de la acarbosa (IC_{50}=1 mM), potente inhibidor de estas enzimas. El extracto demostró también un importante efecto antimicrobianos contra *Bacillus subtillis* a las concentraciones de 200 y 20 ppm. A estas concentraciones el crecimiento del microorganismo se inhibió completamente.

El fraccionamiento del extracto activo condujo aislamiento del 1H-indol-3-carboxaldehido **(1)** (56.3 mg), como un sólido cristalino naranja, con una celda unitaria ortorrómbica y una masa molecular de 145.16 g/mol (Figura 1). De manera adicional fue posible aislar citosina (**2**), que no presentó actividad contra las α-glucosidasas. El compuesto (**1)** fue el responsable de la actividad antibacteriana, sin embargo, fue inactivo contra las α-glucosidasas.

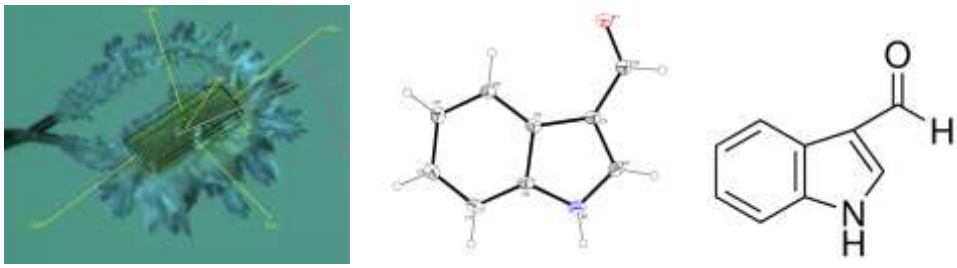


Figura 1. Estructura cristalina 1H-indol-3-carboxaldehido.

Conclusiones

Se logró el aislamiento de dos compuestos a partir del extracto obtenido mediante el cultivo a mediana escala de *Malbranchea Albolutea*, uno de ellos con propiedades antimicrobianas. Se continua con la caracterización de otros compuestos potencialmente activos de las fracciones activas 15 y 17

Materiales y Métodos

Preparación de los cultivos en pequeña escala. El cultivo axénico del microorganismo *Malbranchea albolutea* (ATCC 317119), se inoculo en 15 mL de medio líquido YESD compuesto por extracto de levadura (1%), peptona de soya (2%) y dextrosa (2%) y se dejó fermentar por 5 días a temperatura ambiente y en agitación constante (100 rpm). Transcurrido este período, el cultivo líquido se vertió sobre un sustrato sólido estéril (150 g de arroz y 500 mL agua). El proceso de fermentación se realizó durante 21 días a temperatura ambiente y con fotoperiodos de luz-oscuridad 12/12 horas.

Preparación del extracto orgánico. Una vez trascurrido el tiempo de fermentación a cada matraz (3 de 1.5 L) se le adicionaron 350 mL de una mezcla de CH_2Cl_2-MeOH (1:1); el proceso de maceración se realizó durante 12 horas. Enseguida, los extractos orgánicos resultantes se filtraron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron a sequedad para generar 2.84 g de extracto seco.

Evaluación de los extractos sobre la inhibición de las enzimas α-glucosidasas. La actividad inhibitoria del extracto sobre las enzimas alfa-glucosidasas se evaluó a través de un ensayo enzimático utilizando la metodología descrita en la literatura (Verastegui *et al*., 2017; Flores *et al*., 2017).

Ensayos para determinar la actividad antimicrobiana del extracto fúngico y fracciones. La actividad antimicrobiana se evaluó con las cepas *Bacillus subtillis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella typhi, Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans,* utilizando la metodología descrita en la literatura (Appendino *et al*. 2008)

Fraccionamiento primario del extracto orgánico. El fraccionamiento preliminar del extracto orgánico (2.103 g) se realizó mediante una cromatografía en columna abierta sobre gel de sílice como fase estacionaria y como fase móvil se empleó hexano, mezclas hexano-AcOEt, AcOEt y mezclas de AcOEt-MeOH. Este proceso cromatográfico permitió la obtención de 19 conjuntos de fracciones primarias reunidas con base en su similitud cromatográfica. El fraccionamiento secundario de la fracción primaria activa 6 (113.1 mg), utilizando una columna abierta empacada con Sephadex y MeOH como fase móvil, permitió la separación del compuesto **1**. De la fracción activa 14 cristalizó espontáneamente 11 mg de citosina (**2**).

Referencias

Appendino, G., Gibbons, S., Giana, A., Pagani, A., Grassi, G., Stavri, M., Smith, E. and Mukhlesur, M. (2008). Antibacterial Cannabinoids from Cannabis sativa: A Structure−Activity Study. *Journal of Natural Products*, 71(8), 1427-1430.

FID. (2015). Federación Internacional de la Diabetes (7ª Edición).

Flores-Bocanegra, L., González-Andrade, M,Bye, R., Linares, E., Mata, R. 2017. α-Glucosidase Inhibitors from Salvia circinata. *Journal of Natural Products*, 80(5), 1584-1593.

Leung E., Weil D., Raviglione, M. and Nakatani H. (2011). The WHO policy package to combat antimicrobial resistance. *Bull Word Health Organ*. 89, 390-392.

Melander R., Minvielle M., Melander C. (2014) Controlling bacterial behavior with indole-containing natural products and derivatives. *Tetrahedron*, 70(8), 6363-6372.

Sravanthi, T., Manju, S. (2016) Indoles - A promising scaffold for drug development. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 91(1), 1-10.

Verastegui-Omaña, B., Rebollar-Ramos, D., Pérez-Vásquez, A., Martínez, A.L., Madariaga-Mazón, A., Flores-Bocanegra, L.,Mata, R. 2017. α-Glucosidase inhibitors from Malbranchea flavorosea. *Journal of Natural Products*, 80(1), 190-195.

Aceites esenciales de dos especies de *Salvia* de Michoacán

M. en C. Mónica A. Calderón-Oropeza[1,2], M. en C. Rosa M. Espinoza-Madrigal[2], DQ. Mario Armando Gómez-Hurtado[2], Dra. Beatriz Hernández-Carlos[3], Dra. Brenda Y. Bedolla-García[4], Dr. Sergio Zamudio[5] y Dra. Rosa E. del Río[2]

[1]Universidad del Mar, campus Puerto Escondido, Instituto de Genética, Ciudad Universitaria, Puerto Escondido, Oaxaca 71980,[2] Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Ciudad Universitaria, Morelia, Michoacán 58030, [3]Universidad Tecnológica de la Mixteca, Instituto de Agroindustrias, carretera a Acatlima km 2.5, Huajuapan de León, Oaxaca. 69000, [4]Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío, Pátzcuaro, Michoacán, 61600[5], Dirección actual: Avellanos Núm. 4, colonia Los Nogales, Pátzcuaro, Michoacán, 61608.

monicalderon@zicatela.umar.mx

Resumen

El género *Salvia* es el más diverso de la familia Lamiaceae a nivel mundial. Actualmente se conoce la fitoquímica de los aceites esenciales de pocas de sus especies. En el presente trabajo se realizó un estudio de los aceites esenciales de *Salvia dugesii* y *Salvia gesneriflora* aislados por destilación por arrastre de vapor y se analizaron por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masa. Los componentes principales que se encontraron en ambas especies fueron el cariofileno, óxido de cariofileno, acetato de bornilo, espatulenol, aloaromadendreno.

Introducción

Los aceites esenciales son llamados volátiles o aceites etéreos[1], son líquidos aceitosos aromáticos que se obtienen de las diferentes partes de las plantas. Son una mezcla heterogénea de compuestos químicos orgánicos, provenientes principalmente de la familia de los terpenoides. También se encuentran componentes de baja masa molecular como compuestos alifáticos simples, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos grasos[2,3]. El principal método de obtención es mediante hidrodestilación. La composición de los aceites esenciales de una planta está determinado por la especie y la variedad, pero también por las condiciones ambientales, agronómicas, el tiempo de cosecha y el de procesamiento[4].

El género *Salvia* es el más diverso de la familia Lamiaceae a nivel mundial. México cuenta con aproximadamente 300 especies de las cuales del 85-88 % son endémicas[5]. Su nombre proviene del latín *Salvia*, que significa curar, varias especies son usadas en la medicina tradicional por sus diversas actividades biológicas[6,7]. En 2010 se reportaron 127 compuestos de aceites esenciales de ocho especies de *Salvia* obtenidos por microdestilación.

Exposición

Los aceites esenciales de las plantas poseen propiedades biológicas interesantes. La composición química de aceites esenciales de *Salvia* muestra principalmente monoterpenos y sesquiterpenos que contienen oxígeno[7-11]. Los diterpenos son la segunda clase de importancia química en donde los fenoles son los componentes principales de salvias. Dentro de los componentes principales que se han reportado para este género están el cariofileno, óxido de cariofileno, cadineno y espatulenol. Para dichos compuestos se ha reportado su actividad anticancerosa, antioxidante y antimicrobiana; su efecto analgésico y antiinflamatorio; así como su efecto inmunomodulador de linfocitos; componentes encontrados en diversas especies botánicas.

Discusión de resultados

Los aceites esenciales de *S. dugesii* y *S. gesneriflora* presentaron un rendimiento de 0.0786 y 0.0711 % respectivamente. Del análisis de CG-EM se detectaron 39 componentes con abundancia relativa de 0.60 – 10.04 % para *S. dugesii*; mientras que para *S. gesneriflora* se detectaron 34 componentes con abundancia relativa de 0.55 – 15.68 %. Para *S. dugesii* los componentes principales fueron el cariofileno (10.04 %), γ-Muuroleno (7.97), Espatulenol (7.63 %), óxido de cariofileno (5.84 %), Germacreno D (4.97 %) y otros 34 componentes con una abundancia menor al 4.5 %. Los componentes principales de *S. gesneriflora* son: cariofileno (15.68 %), Hedicariol (7.57 %), γ-Elemeno (7.57 %), Valeranona (6.26 %), Acetato de bornilo (5.8 %), geranil-α-terpineno (5.49 %) y Espatulenol (4.74 %) así como 27 componentes con una abundancia menor al 4.5 %. Las dos especies de *Salvia* comparten seis compuestos con abundancia relativa distinta. Tabla 1.

Tiempo de retención (min)	Componente	*S. dugesii* %	*S. gesneriflora* %
10.3	Cariofileno	10.04	15.68
9.27	Acetato de bornilo	3.35	5.80

11.45	Espatulenol	2.13	4.74
11.15	Óxido de cariofileno	1.12	2.54
10.52	Aloaromadendreno	2.95	0.95
9.99	β-Bourboneno	1.60	1.01

Tabla 1. Componentes de los aceites esenciales de dos especies de *Salvia*.

El perfil químico de ambas especies es diferente con respecto a los componentes minoritarios. La composición química de los aceites esenciales está constituida principalmente por terpenos (mono y sesquiterpenos), ésteres, alcoholes y cetonas; nuestros resultados son semejantes a los reportados para la mayoría de las especies de *Salvia*.

Materiales y métodos

Los ejemplares de dos especies de *Salvia* se recolectaron en el Estado de Michoacán. *S. dugesii (*Voucher: 257299) en alberca de Los Espinos, municipio de Jiménez y *S. gesneriflora* (Voucher: 257298) a las afueras del poblado de Charapan, municipio de Charapan. Los ejemplares se depositaron en el Herbario del Centro Regional del Bajío, Instituto de Ecología A. C. y fueron determinados por la Dra. Brenda Y. Bedolla García. Los aceites esenciales se obtuvieron mediante el método por arrastre de vapor a partir de 135 g de hojas frescas de *S. dugesii* y 200 g de hojas frescas de *S. gesneriflora*. La mezcla del arrastre de vapor de agua y aceites esenciales se condensaron en un refrigerante y se recuperaron en un matraz, se realizaron tres lavados con diclorometano en una proporción 1:2. Se recuperó la fase orgánica y se le adicionó sulfato de sodio anhidro, se filtró y se dejó evaporar el disolvente hasta peso constante. Los aceites esenciales obtenidos se analizaron por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas en un equipo marca Thermo Scientific GC TRACE 1310 EM ISQ LT a 70 eV. Los espectros obtenidos se analizaron con la base de datos NIST MS Search 2.0 (National Institute of Standards and Technology Mass Spectral Database). El porcentaje mínimo de comparación para un componente fue del 70 %.

Conclusiones

Los aceites esenciales de *S. dugesii* y *S. gesneriflora* están compuestos principalmente por mono y sesquiterpenos. Para ambas especies este es el primer reporte de la composición química de sus aceites esenciales. Por lo anterior, es de nuestro interés aportar mayor información de la fitoquímica de estas especies.

Bibliografía

Guenther, E. THE ESSENTIAL OILS. D. Van Nostrand, New York. 1948.

Mesa, A.C., Bueno, J.G. Betancur, L.A. PRODUCTOS NATURALES CON ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA. Revista Española de Quimioterapia. 17: 325-331. 2004.

Schelz, S., Molnar J., Hohmann, J. ANTIMICROBIAL AND ANTIPLASMID ACTIVITIES OF ESSENTIAL OILS. Fitoterapia. 77: 279-285. 2006.

Guillén, M.d., Cabo, N., Burillo, J. CHARACTERIZATION OF THE ESSENTIAL OILS OF SOME CULTIVATED AROMATIC PLANTS OF INDUSTRIAL INTEREST. Journal Science of Food Agriculture. 70: 359-363. 1996.

Cornejo-Tenorio, G., Ibarra-Manríquez, G. DIVERSIDAD Y DISTRIBUCIÓN DEL GÉNERO *Salvia* (LAMIACEAE) EN MICHOACÁN, MÉXICO. Revista Mexicana de Biodiversidad. 82: 1279-1296, 2011.

Med Raâfet Ben Khedher, Saoussen Ben Khedher, Ikbal Chaieb, Slim Tounsi, Mohamed Hammami. CHEMICAL COMPOSITION AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF *Salvia officinalis* ESSENTIAL OIL FROM TUNISIA. EXCLI Journal. 16:160-173. 2017

Kamatou, G.P.P., Makungab, N.P., Ramogolab, W.P.N., Viljoen, A.M. SOUTH AFRICAN Salvia SPECIES: A REVIEW OF BIOLOGICAL ACTIVITIES AND PHYTOCHEMISTRY. Journal of Ethnopharmacology, 119, 664–672. 2008.

Formisano, C., Senatore, F., Apostolides, Arnold. N., Piozzi, F., Rosselli, S. GC AND GC/MS ANALYSIS OF THE ESSENTIAL OIL OF *Salvia hierosolymitana* BOISS. GROWING WILD IN LEBANON. Natural Product Communications, 2, 181-184. 2007.

Rustaiyan. A., Masoudi, S., Tabatabaei-Anaraki, M. TERPENOIDS FROM IRANIAN *Salvia* SPECIES. Natural Product Communications, 2, 1031-1042. 2007.

Schmiderer, C., Grassi, P., Novak, J., Franz, C. DIVERSITY OF ESSENTIAL OIL GLANDS OF SPANISH SAGE (*Salvia lavandulifolia* VAHL, LAMIACEAE). Natural Product Communications, 3, 1155-1160. 2008.

Kamatou, G.P.P., Van Zyl, R.L., David, H., Van Vuuren, S.F., Viljoen, A.M. SYNERGISTIC AND ANTAGONISTIC INTERACTIONS OF ESSENTIAL OILS ON THE BIOLOGICAL ACTIVITIES OF THE SOLVENT EXTRACTS FROM THREE *Salvia* SPECIES. Natural Product Communications, 3, 1111–1115. 2008.

Potencial antimicrobiano de hongos de Cuatro Ciénegas, Coahuila, México.

Osmaly Villedas Hernández[1] , Mario Figueroa[1].

[1]Facultad de Química, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional Autónoma de México.

osmaly.vihe@gmail.com

La búsqueda de nuevos fármacos a partir de fuentes naturales responde a la necesidad global por medicamentos que permitan combatir enfermedades emergentes, como las infecciones por microorganismos resistentes a los fármacos convencionales. Así, los hongos filamentosos provenientes de la reserva de Cuatro Ciénegas, Coahuila, representan candidatos idóneos para la obtención de moléculas bioactivas que pueden ser utilizadas para el desarrollo de nuevos antibióticos. En este proyecto, el estudio químico-biodirigido de una serie de hongos aislados de Cuatro Ciénegas permitió la selección de cinco taxones activos contra una batería de microorganismos, además que con los estudios de derreplicación por UPLC-HRESIMS-MS/MS se logró la identificación de algunos metabolitos secundarios de tipo policétidos, péptidos y terpenoides.

Introducción.

De todos los microorganismos, los hongos constituyen un grupo muy importante para la obtención de nuevas moléculas bioactivas, además de ser megadiverso y cosmopolita. A la fecha se han descrito taxonómicamente alrededor de 150,000 especies y se estima que podrían existir entre 1.5 y 5 millones en el planeta[1,2]. Por otra parte, sólo cerca de 25,000 taxones han sido estudiados químicamente, por lo que este grupo de organismos representa una fuente inagotable de nuevas entidades químicas. Cabe destacar que su adaptación para sobrevivir en numerosos hábitats, como son agua, tierra, aire e incluso dentro de plantas u otros organismos[3], se debe a la compleja maquinaria biosinética que poseen. Estas características, entre otras, justifican que en la actualidad exista un renovado interés en las investigaciones de hongos microscópicos con la finalidad de obtener nuevas moléculas prototipo que sirvan de base para el descubrimiento de nuevos fármacos.

Materiales y métodos.

Diferentes muestras de suelo de la región de Cuatro Ciénegas, Coahuila, se utilizaron para el aislamiento de las especies fúngicas objeto de estudio. La muestra de tierra con el código CC5 fue colectada al pie de la montaña el Charro. El aislamiento de los hongos se realizó utilizando el método de dilución. La muestra colectada (300-500 mg) libre de materiales extraños fue diluida a las concentraciones finales de 1:100, 1:1,000 y 1:10,000 p/v en agua estéril, por triplicado. Enseguida, 500 µL de cada dilución fueron vertidos en cajas de Petri estériles para su posterior inoculación con medio de cultivo PDA adicionado con estreptomicina y el colorante rosa de bengala. Una vez detectado algún crecimiento, se transfirieron en cajas de Petri con medio PDA para su posterior análisis morfológico e identificación molecular.

Una vez obtenidos los cultivos axénicos, se realizó la preparación de los cultivos en pequeña escala en medio sólido. Para ello, cada organismo fue inicialmente cultivado en 15 mL de un medio líquido YESD conteniendo extracto de levadura (1%), peptona de soya (2%) y dextrosa (2%), en agitación constante (100 rpm) por 5 días. Posteriormente, cada cultivo líquido fue vertido sobre un sustrato sólido compuesto por arroz húmedo (20 g de arroz / 30mL agua). El proceso de fermentación se llevó a cabo durante 21 días a temperatura ambiente y con fotoperiodos de luz-oscuridad 12/12 horas. La preparación de los extractos orgánicos en pequeña escala se realizó mediante un proceso de maceración a temperatura ambiente con agitación constante (100 rpm) durante 24 horas y empleando como disolvente de extracción una mezcla de $CHCl_3$-MeOH (1:1) (90 mL). Posteriormente se adicionaron 60 mL de H_2O y 40 mL de $CHCl_3$. El extracto se mantuvo en agitación constante durante 20 minutos y enseguida se separó la fase orgánica y se llevó a sequedad a presión reducida. Esta fracción resuspendida en una mezcla de MeCN-MeOH (1:1) [60 mL] se sometió a un proceso de desgrase con hexano (60 mL), y la fracción desgrasada resultante se evaporó a sequedad. Los cultivos y extractos en mediana escala se realizaron bajo la misma metodología antes descrita pero en una proporción 10×.

La evaluación del potencial antmicrobiano de los extractos y fracciones se realizó con la técnica de microdilución en placas de ELISA de 96 pozos con el colorante bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio[4], y se utilizaron como

organismos de prueba a las bacterias Gram positivas (*S. aureus y B.subtilis*) y Gram negativas (*P. aeruginosa*, *E. coli* y *S. typhi*), y la levadura (*C. albicans*). Como control positivo se utilizó a la ampicilina para el caso de las bacterias y a la nistatina para la levadura. Las muestras se ensayaron a las concentraciones de 20 y 200 μg/μL. De manera simultánea a los ensayos antimicrobianos, los extractos orgánicos fúngicos fueron analizados mediante estudios de derreplicación (metabolómica) por cromatografía de líquidos de ultra eficiencia acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (UPLC-PDA-HRMS-MS/MS), utilizando una metodología previamente descrita[5]. Brevemente, a partir del extracto orgánico total se obtuvo un perfil cromatográfico de UV (200-400 nm) y los correspondientes espectros de HRMS-MS/MS, los cuales fueron comparados con una base de datos construida con alrededor de 300 metabolitos fúngicos y micotoxinas.

Discusión y resultados.

Se determinó la actividad antimicrobiana a los extractos en pequeña escala de los taxones provenientes de la serie CC5. Los más activos, **CC5-5**, **CC5-8**, **CC5-10**, **CC5-11** y **CC5-13**, fueron seleccionados para su escalamiento en mediana escala y continuar con su estudio químico. Se realizó el fraccionamiento primario de los extractos mediante cromatografía tipo Flash y las fracciones resultantes fueron evaluadas biológicamente. Los resultados de la actividad antimicrobiana de los extractos activos y fracciones se muestran a continuación (**Tabla 1**):

Tabla 1. Evaluación del potencial antimicrobiano de los extractos y fracciones obtenidos a partir de la serie de hongos identificada con la clave **CC5**.

Extracto o fracción	***P. aeruginosa***	***B. subtillis***	***S. aureus***	***E. coli***	***S. typhi***
CC5-5 Pequeña escala		I	IP	I (IP)	I (IP)
CC5-5 Mediana escala		IP	IP		
CC5-5 3		IP	IP		
CC5-5 4		IP	IP		
CC5-5 5			IP		IP
CC5-5 6		I	IP		
CC5-5 7		IP	IP		IP
CC5-5 8		IP	IP		IP
CC5-8 Pequeña escala		**I**	I (IP)		IP
CC5-8 Mediana escala		IP	IP		
CC5-8 2		IP	IP		
CC5-8 3		IP	IP		
CC5-8 4		IP	IP		
CC5-8 5		IP	IP		
CC5-8 6		I	IP		
CC5-8 7		I	IP		
CC5-8 8		IP	IP		IP
CC5-8 9		IP			IP
CC5-10 Pequeña escala	IP		I (IP)	IP	IP
CC5-10 Mediana escala		IP	**I**	IP	
CC5-10 4		IP	IP		

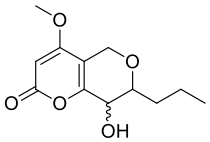
CC5-10 5		**I**	IP		
CC5-10 6		**I**	IP		
CC5-10 7		**I**	IP	IP	
CC5-11 Pequeña escala		IP			IP
CC5-11 Mediana escala		IP	IP		
CC5-11 4			I		
CC5-11 5		I (IP)	I	IP	
CC5-11 6		**I**	I		
CC5-13 Pequeña escala		I	I (IP)		
CC5-13 Mediana escala		I	IP		
CC5-13 4		I	**I**		
CC5-13 5			**I**	IP	
CC5-13 6			I (IP)	IP	
CC5-13 7		I	I (IP)		
CC5-13 8			I (IP)		
CC5-13 9		I	**IP**		
CC5-13 10			**IP**		
Controles MIC (µg/µL)	2.5-1.3	0.8	0.2	7.8-3.9	1.6

Criterios de actividad antimicrobiana:	**I**	Inhibición total del crecimiento a 200 y 20 µg/mL de extracto.
	I (IP)	Inhibición total del crecimiento a 200 e inhibición parcial a 20 µg/m de extracto.
	I	Inhibición total del crecimiento a 200 µg/mL de extracto.
	IP	Inhibición parcial del crecimiento a 200 y 20 µg/mL de extracto.
	IP	Inhibición parcial del crecimiento a la concentración de 200 µg/mL de extracto.

Sociedad Química de México, A.C.

Los resultados de los análisis de derreplicación se muestran en la **Figura 1**. Como se puede observar, algunos taxones producen metabolitos pertenecientes a las categorías de los policétidos, péptidos y terpenoides, sin embargo el estudio químico de estas especies está aún en proceso con la finalidad de obtener los metabolitos responsables de la actividad biológica.

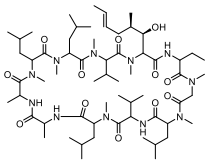
CC5-5



Policétido novedoso

$C_{12}H_{16}O_5$

CC5-5



Ciclosporina A

$C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$

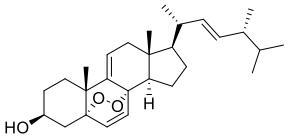
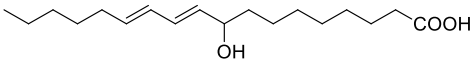
CC5-5	**CC5-13**
	
5,8-Epidioxiergosta-6,9(11),22-trien-3-ol	**ácido (10*E*,12*E*)-9-hidroxioctadeca-10,12-dienoico a**
$C_{28}H_{42}O_3$	$C_{18}H_{32}O_3$

Figura 1. Resultados del estudio de derreplicación de las especies fúngicas de la serie **CC5.**

Conclusiones.

Las condiciones ambientales de la región de CCC[6], como la composición (extremadamente oligotrófica debido a los niveles insignificantes de fósforo) y volumen del agua[7], hacen que los microorganismos que crecen en ese ambiente sean considerados extremófilos y por consiguiente presenten un metabolismo distinto a los mesófilos. Por lo anterior, los hongos provenientes de nichos inexplorados y con condiciones ambientales extremas, son recursos potenciales para la obtención de moléculas bioactivas novedosas con actividad antimicrobiana.

Referencias.

(1) Hawksworth, D. L. *Mycol. Res.* **1991**, *95* (6), 641–655.

(2) Blackwell, M. *Am. J. Bot.* **2011**, *98* (3), 426–438.

(3) Ali, A. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* **2014**, *4* (11), 859–870.

(4) Appendino, G.; Gibbons, S.; Giana, A.; Pagani, A.; Grassi, G.; Stavri, M.; Smith, E.; Rahman, M. M. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71* (8), 1427–1430.

(5) El-Elimat, T.; Figueroa, M.; Ehrmann, B. M.; Cech, N. B.; Pearce, C. J.; Oberlies, N. H. *J. Nat. Prod.* **2013**, *76* (9), 1709–1716.

(6) Stein, B. A.; Kutner, L. S.; Adams, J. S. *Precious Heritage: The Status of Biodiversity in the United States*; Oxford University Press, 2000.

(7) Elser, J. J.; Schampel, J. H.; Garcia-pichel, F.; Wade, B. D. *Freshw. Biol.* **2005**, *50*, 1808–1825.

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

Desarrollo y validación de un método por UPLC-ESI/EM para cuantificar a los componentes activos de la decocción de *Acourtia thurberi*

Rosa Jenifer Muñoz Gómez, Isabel Rivero-Cruz, Ana Laura Martínez, Rachel Mata

Facultad de Química, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México 04510

koopa_jenny@hotmail.com

Resumen

Acourtia thurberi (A. Gray) Reveal & R.M.King (Asteraceae) comúnmente conocida con el nombre de 'matarique' es una planta medicinal Mexicana altamente valorada para el tratamiento de la diabetes mellitus. Recientemente, se evaluó el efecto antidiabético de la decocción y de los compuestos aislados de la planta, caracterizados como la perezona (**1**), el 8-β-D-glucopiranósido de la 5-metil-4-metoxi-cumarina (**2**) y una mezcla de α y β pipitzoles (**3** y **4**). En el presente trabajo, se describe el desarrollo y la validación de un método analítico por cromatografía de líquidos de ultra eficiencia acoplado a espectrometría de masas (UPLC–ESI/EM) para cuantificar a la perezona (**1**) y al 8-β-D-glucopiranósido de la 5-metil-4-metoxi-cumarina (**2**) en la decocción de la planta. Este método será de utilidad para el establecimiento de las pruebas de control de calidad de la especie.

Introducción

La diabetes mellitus es una enfermedad que representa uno de los problemas de salud más grave a nivel global. La prevalencia de la enfermedad a nivel mundial es de aproximadamente un 6% y se pronostica un crecimiento exponencial en pocos años. El tratamiento farmacológico para la diabetes incluye en la mayoría de los casos diagnosticados clínicamente, el uso de agentes hipoglucemiantes orales y/o insulina. Sin embargo, durante muchos años la población de los países en vías de desarrollo ha optado por tratamientos médicos alternativos, que incluyen el uso de plantas medicinales. Esta circunstancia obedece a muchos factores entre los que destacan los de tipo socioeconómico y cultural, la preocupación del público por los efectos secundarios, cada vez más frecuentes, de los medicamentos alopáticos y la continua búsqueda de opciones terapéuticas alternativas[1-7].

En México se encuentran descritas más de 300 especies medicinales para el tratamiento de la diabetes, sin embargo pocas han sido evaluadas desde el punto de vista farmacológico, químico y farmacéutico con el fin de garantizar su uso racional [2]. En este escenario, *Acourtia thuberi* (A. Gray) Reveal y King (Asteraceae)[8] fue seleccionada en primera instancia para comprobar su eficacia como agente antidiabético. Estos estudios permitieron establecer las propiedades hipoglucemiantes y antihiperglucémicas de la deccoción y establecer la naturaleza de sus principios activos: la perezona (**1**), α-pipitzol (**3**), β-pipitzol (**4**) y el 8-β-D-glucopiranósido de la 5-metil-4-metoxi-cumarina (**2**).

Así, con base en los antecedentes expuestos, el presente trabajo, describe el desarrollo y la validación de un método analítico por cromatografía de líquidos de ultra eficiencia acoplado a espectrometría de masas (UPLC–ESI/EM) para cuantificar a la perezona (**1**) y al 8-β-D-glucopiranósido de la 5-metil-4-metoxi-cumarina (**2**) componentes mayoritarios presentes en la decocción de *A. thurberi* con la finalidad de establecer los parámetros de composición de la droga cruda y algunos de sus preparados.

Materiales y métodos

Material vegetal. Las raíces de la especie medicinal *Acourtia thurberi* se recolectaron en la Sierra Tarahumara, Chihuahua, México en abril de 2015. Una muestra de referencia se encuentra depositada en el Herbario Nacional MEXU (Bye 37299).

Preparación del extracto acuoso y fraccionamiento preliminar. La preparación del extracto acuoso de la especie objeto de estudio se realizó a partir de 10 g de las raíces secas y molidas de la planta, mediante la técnica de decocción, utilizando 1 L de agua hirviendo. El extracto acuoso resultante se filtró y se evaporó a sequedad a presión reducida. En un estudio químico previo que le precede al presente trabajo, mediante procesos de reparto y cromatográficos, se realizó el aislamiento y la caracterización de cuatro metabolitos secundarios caracterizados como la perezona (**1**), el 8-β-D-glucopiranósido de la 5-metil-4-metoxi-cumarina (**2**), el α-pipitzol (**3**) y el β-pipitzol (**4**). Todos los productos aislados fueron caracterizados mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas convencionales y mediante la comparación de sus constantes espectroscópicas con las reportadas en la literatura [9].

Desarrollo del método analítico para cuantificar a la perezona (1) y al 8-β-D-glucopiranósido de la 5-metil-4-metoxi-cumarina (2). La identificación de la perezona (**1**) y el 8-β-D-glucopiranósido de la 5-metil-4-metoxi-cumarina (**2**) en la

decocción de *A. thurberi* se realizó mediante el análisis comparativo de sus tiempos de retención y la co-elución de ambos estándares con el preparado bajo análisis. Para ello, las soluciones de la decocción y los estándares se prepararon a una concentración de 1 mg/mL utilizando como disolventes H_2O-MeOH (1:1) en el caso de la decocción y metanol en el caso de los estándares. El análisis se realizó en un cromatógrafo de líquidos de ultra eficiencia UPLC clase H marca Waters (Milford, MA, EE.UU.) equipado con una bomba cuaternaria, un inyector automático, un horno para columna y un detector UV/Visible de arreglo de fotodiodos (PDA) acoplado a un detector de masas SQD2 simple cuadrupolo con una fuente de ionización por electrospray (ESI/EM). El desarrollo del método analítico se llevó a cabo en una columna BEH C-18 (2.1 × 100 mm, 1.7 μm) (Waters, Milford, MA, EE.UU.). La fase móvil empleada consistió en una mezcla binaria compuesta por CH_3CN-H_2O (0.1% ácido fórmico) utilizando un gradiente de elución. La longitud de onda empleada para la detección fue de 270 nm, con un flujo de 0.3 mL/min y un volumen de inyección de 3 μL.

Validación del método analítico. Los parámetros de desempeño evaluados para la validación del método analítico fueron: la precisión y la linealidad del sistema; la especificidad/selectividad; la exactitud y la linealidad y la precisión del método[10].

Discusión y resultados

Para el desarrollo del método analítico, en primer lugar, se establecieron las condiciones cromatográficas para la separación de los componentes mayoritarios presentes en la decocción de *A. thurberi*; estas condiciones incluyeron una columna C18 (Fase reversa), un sistema binario de disolventes (agua acidificada y acetonitrilo) y los detectores de UV (PDA) y EM. La identificación de los marcadores analíticos en el extracto acuoso se realizó mediante la comparación de los tiempos de retención, las absorbancias y los espectros de masas, que presentaron cada uno de los estándares con las señales presentes en el cromatograma obtenido de la decocción. Los tiempos de retención (t_R) obtenidos para cada compuesto, bajo las condiciones de análisis, fueron los siguientes: perezona (t_R 9.22) y el 8-β-D-glucopiranósido de la 5-metil-4-metoxi-cumarina (t_R 3.94). En la **Figura 1** se ilustra el perfil cromatográfico del extracto acuoso utilizado como matriz de trabajo. Como se observa en dicha Figura el compuesto **2** es el que presenta la señal de mayor intensidad.

El desarrollo del protocolo de validación del método analítico permitió establecer que el método desarrollado es lineal, preciso y exacto en el rango de concentraciones analizadas para **1** y **2** (**Tabla 1**). Una vez validado el método analítico, se analizaron las concentraciones de perezona (**1**) y el 8-β-D-glucopiranósido de la 5-metil-4-metoxi-cumarina (**2**), presentes en las decocciones preparadas a partir del material vegetal, y las cantidades de los marcadores cuantificadas fueron de 20.3 ± 0.21 mg/g de **1** y 27.0 ± 0.24 mg/g de **2**. Estos resultados nos permiten establecer que no existen diferencias significativas en el contenido de ambos marcadores en las muestras analizadas, y en ambas muestras se cuantificaron cantidades importantes de ambos marcadores.

Conclusiones

Se desarrolló un método analítico por cromatografía de líquidos de ultra eficiencia acoplado a la espectrometría de masas (UPLC-ESI/MS) para cuantificar a la perezona (**1**) y al 8-β-D-glucopiranósido de la 5-metil-4-metoxi-cumarina (**2**) en la decocción de la especie *A. thurberi*. Éste método fue validado de acuerdo con los estándares que establecen las guías nacionales e internacionales y es adecuado para los fines que se pretenden. Este trabajo constituye una aportación original para el control de calidad de la planta mediante el desarrollo de las pruebas de identidad y composición.

Referencias

[1]World Health Organization. (1999) Definition, diagnosis and classification of Diabetes Mellitus and its complications.

[2]Alarcón A. F.J., Román R. R. Pérez G. S., Aguilar C. A., Contreras W. C.C., Flores S. JL. (1998). Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetics. *Journal of Ethnopharmacology*, 61(2): 101–110.
[3]Arumugam G., Manjula P., Paari N. (2013). A review: Anti diabetic medicinal plants used for diabetes mellitus. *Journal of Acute Disease*, 2(3): 196- 200.
[4]El-Abhar H. S., Schaalan M. F. (2014). Phytotherapy in diabetes: Review on potential mechanistic perspectives. *World Journal of Diabetes*, 5(2): 176-197.
[5]Mukesh R., Namita P. (2010). Medicinal plants with antidiabetic potential - A Review. American-Eurasian *Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 13(1): 81-94.
[6]Patel DK., Prasad SK., Kumar R., Hemalatha S. (2012). An overview on antidiabetic medicinal plants having insulin mimetic property. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(4): 320-330.
[7]Surendran S., Abdul D. S., Vallikattukuzhiyil D., Betty C., Ravindrakurup A. K., Sunil C. (2014). Diabetes mellitus and medicinal plants-a review. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(5): 337-347.
[8]Raymond T. (2001). Bioassay – guided isolation of potential antineoplastic natural products from southwestern plants. Tesis de Doctorado, Universidad de Arizona. 117-119.

[9]Martinez AL., Madariaga A., Rivero I., Bye R., Mata R. (2016). Antidiabetic and anti-hyperalgesic effects of a decoction and compounds from Acourtia thurberi. *Journal of Ethnopharmacolgy*, 83(6): 534-544.
[10]Farmacopea de los Estados Unidos de América (2014). Formulario Nacional, Compendios de normas oficiales. USP 37 – NF, 1140 – 1447.

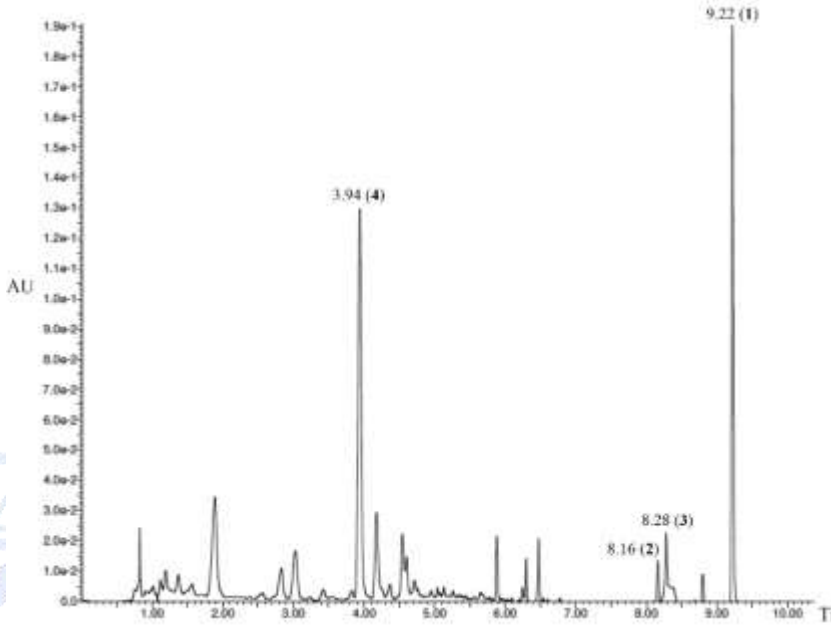


Figura 1. Cromatograma del extracto acuoso de *Acourtia thurberi*. Picos identificados: perezona (**1**), α-pipitzol (**3**), β-pipitzol (**4**) y 8-β-D-glucoiranósido de la 5-metil-4-metoxi-cumarina (**2**).

Tabla 1. Parámetros de validación: regresión lineal, coeficiente de correlación (R^2), límites de detección (LOD: S/N = 3) y cuantificación (LOQ: S/N = 10), recobro y precisión evaluados con la decocción preparada a partir de las raíces de *A. thurberi*.

	1	**2**
Rango de concentraciones (µg/mL)	10–250	1–100
Ecuación de regresión	y = 404.96 (concentración) + 3898.6	y = 1169.7 (concentración) – 94.812
Coeficiente de determinación (R^2)	0.9867	0.9998
LOD (µg/mL)	0.09	0.27
LOQ (µg/mL)	10	2.5
Recobro (%)	99.9–100.2	99.9–100.2
Exactitud (Ecuación de regresión)	y = 0.997 (concentración) + 0.6052	y = 1.0035 (concentración) – 0.0553
Coeficiente de determinación (R^2)	0.9991	0.999
Precisión (%CV)	1.8	0.4

Obtención, purificación y caracterización citotóxica de los compuestos presentes en la anémona *Lebrunia danae*

Sheila Narayan Chávez Villela[1,2], Judith Sánchez Rodríguez[2], José Fernando Lazcano Pérez[3], Roberto Alejandro Arreguín Espinosa de los Monteros[3].

[1] Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, D.F., México.

[2] Laboratorio de Toxinología de Cnidarios, Unidad Académica de Sistemas Arrecifales, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Puerto Morelos, Quintana Roo, México.

[3] Departamento de Química de Biomacromoléculas, Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, D.F., México.

sheila_chavezuaslp@outlook.es

Resumen

El medio ambiente marino posee una gran diversidad de organismos, que lo han convertido en una fuente importante para la búsqueda de productos naturales, y de compuestos bioactivos con fines terapéuticos. En los últimos años se han reportado diversas especies de anémonas que contienen polipéptidos citolíticos con efectos antitumorales, dermatonecróticos, entre otros. Este estudio se enfoca en la búsqueda de compuestos citolíticos presentes en la anémona *Lebrunia danae*, que potencialmente podrían ser usados para provocar la muerte de células cancerosas de manera selectiva.

Introducción

El phylum Cnidaria está comprendido por organismos invertebrados, acuáticos, depredadores, con amplia diversidad morfológica, que se han desarrollado en un ambiente muy agresivo, enfocando sus esfuerzos evolutivos en la creación de toxinas que usan como defensa contra depredadores, y como ataque para cazar a sus presas, para lo cual contienen en el cuerpo y/o tentáculos, células urticantes con organélos (nematocistos), donde se alojan diversas toxinas, que generalmente son clasificadas como neurotoxinas y citotóxinas. Los efectos producidos por estas toxinas los convierte en blanco de investigaciones biomédicas, principalmente con usos farmacológicos, como prototipos para el tratamiento de enfermedades oncológicas, neurológicas, como agentes antimicrobianos, antiparasitarios y antihistamínicos. Dentro de este phylum, la anémona *Lebrunia danae* ha sido descrita como una especie muy ponzoñosa e irritante para humanos (González-Muñoz *et al*., 2012). Usando el extracto crudo obtenido a partir de esta especie, se ha reportado actividad toxica en cangrejo *Ocypode quadrata*, en nauplios de *Artemia salina*, actividad hemolítica (Sánchez-Rodríguez y Cruz-Vazquez, 2006), y actividad antiparasitaria en *Giardia lamblia* (Morales-Landa *et al*., 2007). Los principios activos producidos por esta especie representan una posible alternativa al uso de fármacos con actividad citotóxica y para el posible tratamiento de diversas enfermedades.

Métodos y materiales

Obtención del extracto

La anémona *Lebrunia danae* fue colectada mediante buceo SCUBA en la Laguna Arrecifal de Puerto Morelos, Q. Roo, los especímenes fueron pesados y macerados, el macerado fue centrifugado 30 min a 4,000 rpm, el sobrenadante fue liofilizado para obtener el Extracto Crudo (EC).

Cromatografía líquida de baja presión

Se realizó en una columna de 864 cm^3, usando gel de filtración Sephadex G-50 M, la elución se realizó con ácido acético 0.3 M, a velocidad de 3 mL/min, y se obtuvieron 3 fracciones (F1, F2 y F3).

Electroforesis en gel SDS-PAGE

Se empleó un gel al 12%, siguiendo el método de Laemmli (1970), a un voltaje de 90 V.

Espectrometría de masas MALDI-TOF

Fueron usados 100 µg de muestra en 5 µL de una solución saturada de ácido sinapinico, 1 µL se depositó en

una placa para MALDI. El espectro se registró en modo lineal positivo en un espectrómetro Brucker Microflex® con un láser de nitrógeno a 337 nm.

Actividad biológica

La actividad del EC y fracciones se probó mediante los siguientes ensayos:

a) Fosfolipasas (PL), usando gel de agarosa con yema de huevo (método de Habermann y Hardt, 1972).

b) Fosfolipasa A_2 secretora ($sPLA_2$), empleando el $sPLA_2$ Assay Kit (Cayman Chemical®).

c) Inhibición del crecimiento en seis líneas celulares cancerosas y en una línea celular normal, mediante la técnica estandarizada por Skehan *et al*. (1990). Los cultivos celulares fueron incubados durante 48 h a 37°C en placas de 96 pozos con 100 µL de una solución stock de 50 mg/mL del extracto en medio de cultivo RPMI-1640 (Gibco®). Las células se fijaron *in situ* y el porcentaje de inhibición del crecimiento fue obtenido mediante el ensayo de Sulforrodamina B (SRB).

d) Viabilidad en la línea celular de glioma murino C6. Los cultivos celulares fueron incubados a 37°C durante 24 h en placas de 96 pozos, se emplearon concentraciones normalizadas a cantidad de proteína contenida en cada extracto (50, 100, 150 y 200 µg/mL) en medio de cultivo DMEM (MP BIOMEDICALS®), la viabilidad celular se obtuvo usando el ensayo de Rojo Neutro (RN), seguido del ensayo de Cristal Violeta (CV).

Resultados y discusión

En el gel SDS-Page se observaron bandas desde 10−250 kDa en el EC, de *cca*. 20 y 30 kDa en F1 y F2, y de 20 kDa en F3.

En la Figura 1 se observan los espectros de MALDI-TOF, se observaron señales de alta intensidad de 8.5, 19.1, 31.9 y 42 kDa en EC y F1, de 4.9 y 8.5 kDa en F2, y 4.5 y 5.1 kDa en F3.

Se obtuvo mayor actividad de PLA en la F2 con respecto al veneno de abeja, y menor actividad en el EC. F1 y F3 no presentaron actividad (Figura 2a). A comparación del control positivo, la actividad de $sPLA_2$ de F1−F3 fue nula, no así del EC, que sí presento actividad (Figura 2b).

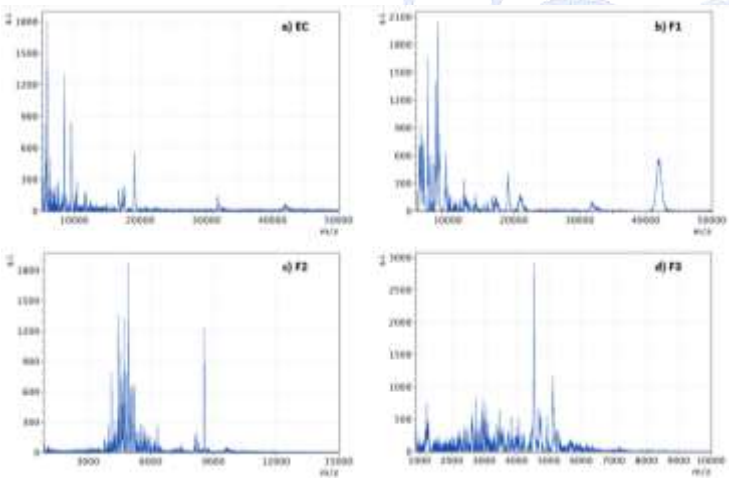


Figura 1. Espectros de masas MALDI-TOF.

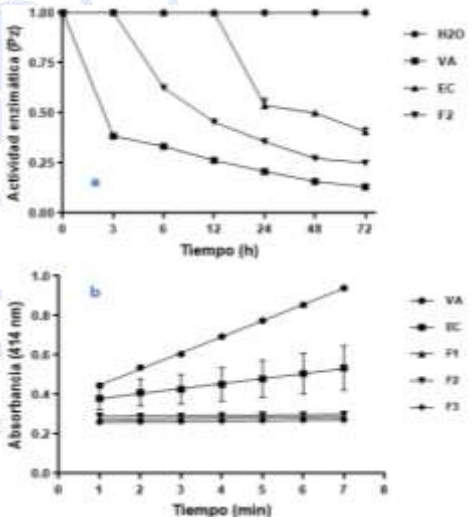


Figura 2. a) Actividad enzimática de PL con respecto del tiempo. 1 representa la menor actividad y 0 la mayor actividad.
b) Absorbancia de $sPLA_2$ con respecto del tiempo. Cada punto representa la media ± la DE de tres ensayos. VA = veneno de abeja, control positivo. H_2O = agua, control negativo.

El EC, F1 y F2 presentaron porcentajes de inhibición de crecimiento celular similares a los del Mitoxantron (control positivo) en 4, 3 y 2 de las 7 líneas celulares usadas respectivamente (Tabla 1). En la línea FGH, EC presentó un porcentaje de inhibición de 84%, mientras que F1, F2 y F3 no mostraron citotoxicidad significativa, esto sugiere cierta selectividad en la citotoxicidad sobre células cancerosas a comparación de la línea celular normal, lo que, a su vez, puede deberse a la presencia de un componente en EC que no se encuentra en las fracciones, o a un efecto de sinergismo, en el que al separarse los componentes se pierde el efecto citotóxico.

Se obtuvo disminución en la viabilidad celular de *cca*. 50% para todos los extractos debido a altas concentraciones de proteína (Figura 3), con excepción de F3, donde se observaron porcentajes de viabilidad de hasta 92%. F3 es la fraccion con mayor concentración de sales y presencia de péptidos de < PM (inferencia a efecto neurotóxico mas que citotóxico).

Tabla 1. Porcentaje de inhibición del crecimiento.

	U251[1]	PC-3[2]	K562[3]	HCT-15[4]	MCF-7[5]	SKLU-1[6]	FGH[7]
EC	61.59	46.78	73.70	18.46	73.59	98.39	84.34
F1	47.10	20.77	76.38	14	85.14	80.16	NC
F2	45.40	14.93	65.34	7.95	62.32	89.71	5.7
F3	12.36	NC	1.0	2.46	6.78	14.08	NC
MITOXANTRON	100	78.12	75.81	87.73	80.34	65.61	86.01

[1]glia de sistema nervioso central, [2]próstata, [3]leucemia, [4]colon, [5]mama, [6]pulmón, [7]cultivo primario de fibroblastos gingivales humanos sanos. NC = no citotóxico.

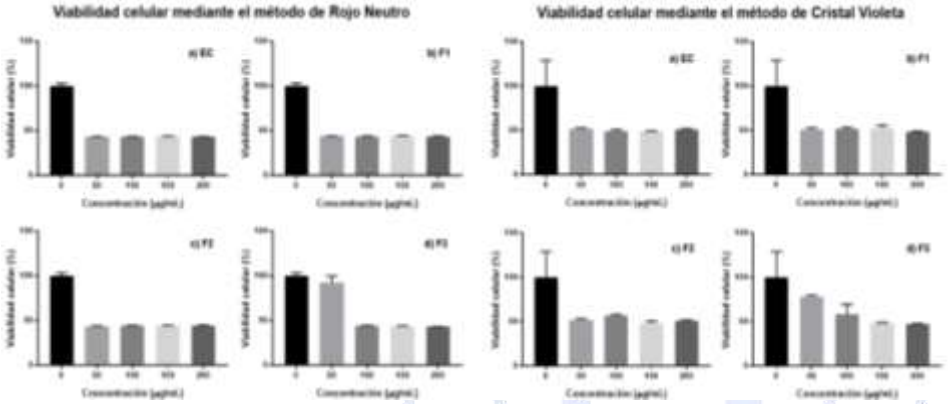


Figura 3. Viabilidad celular del EC y fracciones a diferentes concentraciones de proteína, comparadas con un control (100% de viabilidad), usando el método de RN, seguido del método de CV, cada columna representa la media ± la desviación estándar de tres mediciones.

Conclusiones

El extracto crudo obtenido a partir de la anémona *L. danae* presenta actividad citotóxica en líneas celulares tumorales, se observó selectividad de las fracciones en células tumorales sobre la línea celular normal. Los péptidos de alto peso molecular (*cca*. 20, 30 y 40 kDa) observados mediante gel SDS-PAGE y MALDI-TOF podrían ser responsables de la actividad citotóxica.

Referencias

González-Muñoz, R., Simoes, N., Sánchez-Rodríguez, J., Rodríguez, E., Segura-Puertas, L .2012. First Inventory of Sea Anemones (Cnidaria: Actiniaria) of the Mexican Caribbean. Zootaxa. 3556: 1–38.

Habermann, E., Hardt, K. L. 1972. A sensitive and specific plate test for the quantitation of phospholipases. Analitycal biochemistry. 50: 163–173.

Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of head of bacteriophage-T4: Nature. 227:680-&.

Morales-Landa, J. L., Zapata-Perez, O., Cedillo-Rivera, R., Segura-Puertas, L., Sima-Alvarez, R., Sanchez-Rodriguez, J. 2007. Antimicrobial, antiprotozoal, and toxic activities of cnidarian extracts from the Mexican Caribbean Sea. Pharmaceutical Biology. 45: 37–43.

Sánchez-Rodríguez, J., Cruz-Vázquez, K. 2006. Isolation and biological characterization of neurotoxic compounds from the sea anemone *Lebrunia danae* (Duchassaing and Michelotti, 1860). Arch. Toxicol. 80: 436–441.

Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J., Vistica, D., Warren, T.J., Bokesch, H., Kenney, S., Boyd, R.M. 1990. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. Journal of the National Cancer Institute. 82(13):1107–1112.

Petiveria alliacea como fuente de terpenos con importancia biológica

Teresa Torres Blancas[1], Lizeth M Zavala-Ocampo[2], Verónica Muñoz Ocotero[2], Eva Aguirre Hernández[2], Alejandro Dorazco González[1] y Rubén San Miguel Chávez[3].

[1] Instituto de Química, Departamento de Química Inorgánica, Universidad Nacional Autónoma de México.

[2] Facultad de Ciencias, Departamento de Ecología y Recursos Naturales, Universidad Nacional Autónoma de México.

[3]Posgrado en Botánica, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México.

adg@unam.mx

Resumen

Las plantas medicinales son un recurso importante para el aislamiento y elucidación de compuestos químicos con potencial medico, *Petiveria alliacea* es una planta herbácea distribuida de forma silvestre en las zonas tropicales de México, es conocida como hierba de zorrillo, mapurite o anamú, es usada por curanderos del estado de Veracruz por sus propiedades medicinales. Recientemente se ha evaluado su actividad antiamebiana, sin embargo, se sabe poco de su composición química y de los posibles responsables de su actividad biológica, por ello se determinó la composición de terpenos contenidos en el extracto hexánico de esta planta, encontrándose ácido ursólico y ácido oleanólico y se elucidó el compuesto determinado como isoarborinol, el cual es un potente candidato como responsable de la actividad presente en *P. alliacea.*

Introducción

Petiveria alliacea es una planta herbácea perennifolia distribuida en las zonas tropicales de México, perteneciente a la familia Phytolaccacea, es conocida comúnmente como hierba de zorrillo, mapurite o anamú. Sus estudios etnomédicos-etnobotánicos en el estado de Veracruz reportan que esta planta es usada en la medicina tradicional como antiespasmódico, anticanceroso, antiinflamatorio, antiprotozoario y como cicatrizante. En estudios recientes de ha comprobado su efecto antiamebiano sobre el protozoario *Entamoeba histolytica* y se realizó su perfil fitoquímico (Zavala, et al., 2016), donde se observó la presencia de flavonoides y terpenos y de un compuesto que se presentó en alta concentración en el extracto hexánico y que tuvo un efecto amebicida, por lo tanto el objetivo de este trabajo fue determinar y elucidar los terpenos y el compuesto aislado de la fracción hexánica de las hojas de *P. alliacea.*

Materiales y métodos

Sociedad Química de México, A.C.

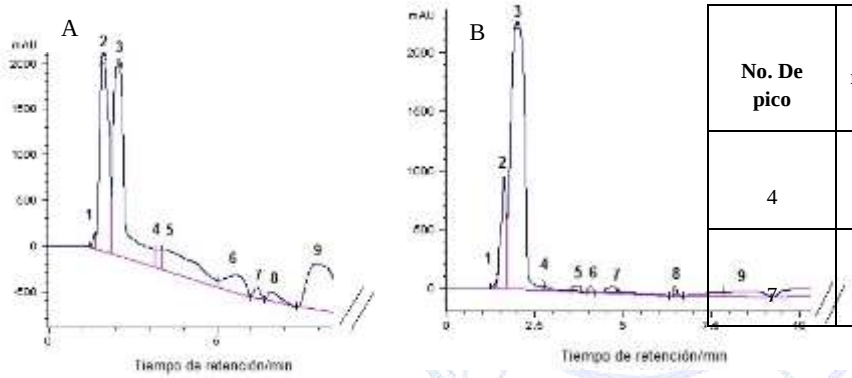
Las hojas de *P. alliacea* fueron colectadas en Catemaco, Veracruz, México, un espécimen de herbario fue depositado en el Herbario Nacional de México (MEXU) con número de voucher 1414464. Las hojas se secaron y trituraron para su uso posterior. El material seco y triturado (1.8 kg) fue extraído por maceración a temperatura ambiente con MeOH. El macerado fue filtrado y evaporado para obtener el extracto seco (133 g, 11.03%). El extracto fue extraído con hexano, acetato de etilo y metanol de forma consecutiva, cada fase orgánica fue colocada en el rotavapor para obtener extractos secos (hexano 35.5 g, 17.37%, AcOEt 42g, 21.14%, MeOH 122,1 g, 61.48%). La fracción de hexano se fraccionó en cromatografía en columna usando como fase estacionaria sílica gel 60 G (200 g, Macherey-Nagel), usando como fase móvil un sistema de gradientes de hexano:AcOEt. La elución comenzó con hexano seguido por mezclas de hexano:AcOEt (9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 6:3, 7:2, 8:1, 9), AcOEt (100%), mezclas de AcOEt:MeOH (8:2 y 6:4) y finalmente con MeOH (100%). Un total de 106 fracciones de 100 mL cada una fueron colectadas de la cromatografía en columna, donde las fracciones con perfil cromatográfico similar determinado por cromatografía en capa fina fueron reunidas. Las fracciones F12-19 (M1); F31-38 (M2); F51-60 (M3) y F87-96 (M4), fueron seleccionadas por mostrar mayor rendimiento. De la fracción M1 un compuesto fue aislado y purificado por medio de la técnica de cristalización obteniendo un sólido blanco (68.3 mg). La determinación de los terpenos de la fracción M1, M2 y M3 se realizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC por sus siglas en ingles) en un cromatógrafo Agilent 1100 provisto con un detector de UV. Para la cuantificación de terpenos se usó una columna Zorbax Eclipse XDB-C8 con una fase móvil de

acetonitrilo-agua 80:20 a un flujo de 1 mL/min y una temperatura de 40 ºC. El equipo se calibró a una longitud de onda de 220 nm. Se pesaron 5 mg de muestra y se disolvió en 1 mL de cloroformo grado HPLC, posteriormente 20 µl de la dilución de cada fracción fue inyectada en el equipo y analizada durante 21 min. Los estándares usados fueron, carnosol, estigmasterol, ácido oleanólico, ácido ursólico, a-amirina, β-sitosterol (Sigma). Para la cuantificación de terpenos se prepararon soluciones stock de tal forma que se inyectaron 5 puntos desde 0.048 µg hasta 0.4 µg de cada compuesto. Se obtuvo la curva estándar correspondiente y las interpolaciones se hicieron con el programa Chem Station de Agilent Co. La estructura y elucidación del compuesto aislado fue identificado por HPLC y Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de hidrógeno (RMN-^{1}H) en un espectometro Bruker, Advance DPX400 MHz a 300 MHz.

Resultados y discusión

El análisis por HPLC de la fracción M1, permitió la determinación del ácido ursólico con un tiempo de retención de 2.837 y una concentración de 194.3575 µg/mg, sin embargo, también se observa una señal importante en un tiempo de retención de 1.907 min, que corresponde al triterpeno aislado de esta fracción.

En la fracción M2 se determinó solamente trazas de la α-amirina, en un tiempo de retención de 6.148 minutos, pico 7 (Figura 1A) y en la fracción M3 se determinó ácido ursólico y ácido oleanólico de acuerdo a su tiempo de retención que fue de 2.826 y 4.581 min, respectivamente. En cuanto a la concentración, se obtuvo 36.1841 µg/mg para el ácido ursólico y 210.8266 µg/mg para el ácido oleanólico (Figura 1B).

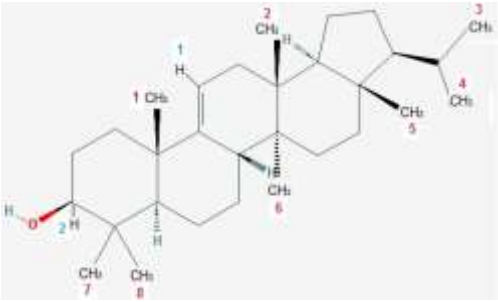


No. De pico	Tiempo de retención (min)	Terpeno	Concentración µg/mg
4	2.826	Ácido ursólico	36.1841
7	4.581	Ácido oleanólico	210.8266

Figura 1. **A**. Cromatograma de la fracción M2. **B.** Cromatograma de la fracción M3.

La elucidación del terpeno aislado se realizó por RMN de ^{1}H, el espectro muestra señales que nos permiten proponer la estructura del isoarborinol (Figura 2A) por la similitud en las señales reportadas por Marcelle, *et al.* (1982), observándose 8 grupos CH_3, los cuales corresponden a los hidrógenos en: 1.06, 1.00, 0.97, 0.92, 0.82 y 0.72 ppm (Figura 2B). También se aprecian señales en 5.2 y 3.2 ppm de los hidrógenos unidos al carbono con doble enlace y al carbono unido al oxígeno respectivamente (Figura 2C).

A



B C

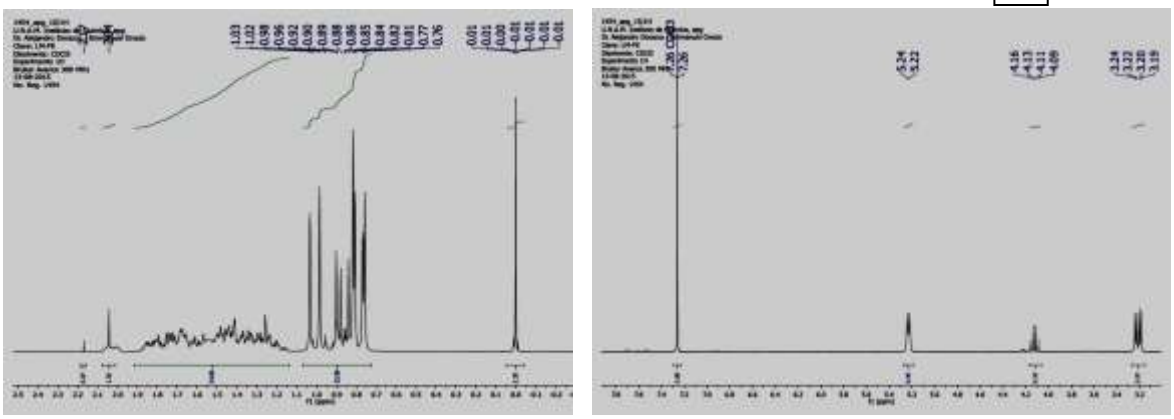


Figura 2. Espectro por RMN -^{1}H del triterpeno aislado. A. Estructura química del Isoarborinol. B. Grupos CH_3. C. Hidrógenos unidos a un carbono con doble enlace o a un oxígeno.

Conclusiones

Los compuestos presentes en la fracción de hexano de *P. alliacea*, corresponden a los triterpenos ácido ursólico y ácido oleanólico, además de que el compuesto mayoritario corresponde al triterpeno isoarborinol, el cual es un compuesto que en estudios previos presentó actividad amebicida y por lo tanto se puede considerar como candidato a futuras investigaciones por su potencial actividad.

Bibliografía

Marcelle, G.B., Cordell, G.A., Farnsworth, N.R. and Fonnegra, R. 1982. Preliminary investigation of *Ectopopterys soejartoi*. Planta Med. 46: 190-192.

Zavala-Ocampo, L.M., Ramírez-Moreno y M.E., Aguirre, H.E., 2016. Evaluación del efecto antiamebiano de un extracto de *Petiveria alliacea* L. sobre *Entamoeba histolytica*. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional.

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

Diterpenos adicionales de *Salvia polystachya*

Alfredo Ortega Hernández[1], **Xóchitl Arévalo Mora**[2], Naytzé Ortiz Pastrana[1], Ruben A. Toscano[1], Elihú Bautista[3]

[1]Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México

[2]Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México

[3]Laboratorios CIIDZA, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A. C.

xochitl.arevalo@gmail.com

Resumen

El estudio fitoquímico de las hojas y flores de *Salvia polystachya* condujo al aislamiento de 11 diterpenos con esqueleto carbonado de *neo*-clerodano, ocho de ellos con estructura conocida y tres más con estructuras novedosas. El establecimiento de la estructura molecular de cada uno de los componentes aislados se determinó a través del análisis de sus datos de RMN y EM. La configuración absoluta de tres de los diterpenos se determinó mediante cristalografía de rayos-X de monocristal.

Introducción

Salvia polystachya es una planta endémica de México, perteneciente al complejo de plantas medicinales conocido como "chía".[1] Las hojas de la planta son empleadas en la medicina tradicional como remedio purgante, diurético y para el tratamiento de disentería.[2] En estudios previos acerca de su composición química se ha descrito la presencia de diterpenos de tipo clerodano como las polistaquinas A-F, linearolactona, dehidrokerlina y salvifarcina,[3] entre otros. Un estudio estudio biodirigido del extracto soluble en acetona obtenido de sus hojas condujo a la identificación del diterpeno linearolactona como el agente responsable de su efecto antiprotozoario.[4] Sin embargo, a pesar del uso tradicional de la planta no existen estudios que validen su uso medicinal; por lo que en el presente profundizamos en su estudio fitoquímico, tendiente a realizar una bioprospección farmacológica de los diterpenos producidos por la planta.

Materiales y métodos

El proceso de aislamiento se llevó a cabo mediante cromatografía en columna, empleando silica Gel 230-400 μm (Macherey-Nagel). El seguimiento cromatógrafico se llevó a cabo por TLC en cromatofolios de aluminio (Macherey–Nagel Sil G/UV254, 0.25 mm) y se visualizaron con luz UV (254 nm) y aspersión de una disolución de $CeSO_4$ en H_2SO_4 2N seguida de calentamiento. Los espectros de RMN se adquirieron en un equipo Bruker Avance III (400 MHz) o en un Varian Unity Plus (500 MHz). Los datos cristalográficos se colectaron en un difractometro Bruker D8 Venture κ-geometry con una fuente de radiación de Cu Kα (λ = 1.54178 Å).

Procedimiento de aislamiento

El material vegetal se colectó cerca de Huitzilac, Morelos en septiembre de 2011. Un ejemplar herborizado se depositó en el Herbario Nacional, Instituto de Biología, UNAM (MEXU-573762).

Las hojas y flores secas (4.25 kg) se extrajeron por percolación con acetona (12 L) para obtener un residuo de 247 g. el extracto soluble en acetona se sometió a extracción líquido-líquido con hexano y MeOH/H_2O 4:1. La fracción hidroalcohólica se concentró para eliminar el metanol de la mezcla, se agregó agua y se sometió a partición de con AcOEt para obtener una fracción rica en diterpenos (68 g). La fr. de AcOEt se sometió a sucesivas cromatografías en columna hasta obtener los componentes **1-11**.

Resultados y discusión

El estudio fitoquímico de las partes aéreas de *S. polystachya* permitió el aislamiento de once diterpenos de tipo *neo*-clerodano, ocho de ellos identificados como: salvifilinas A (**3**) y C (**5**),[5] así como sus respectivos epímeros en C-15 (**4**) o C-16 (**6**);

polistaquinas A (**7**), B (**8**) y E (**9**); y linearolactona (**11**). Los tres diterpenos restantes constituyen diterpenos con estructura novedosa, a los que se llamó polistaquina G (**1**), 15-*epi*-polistaquina G (**2**) y polistaquina H (**10**) (Figura 1).

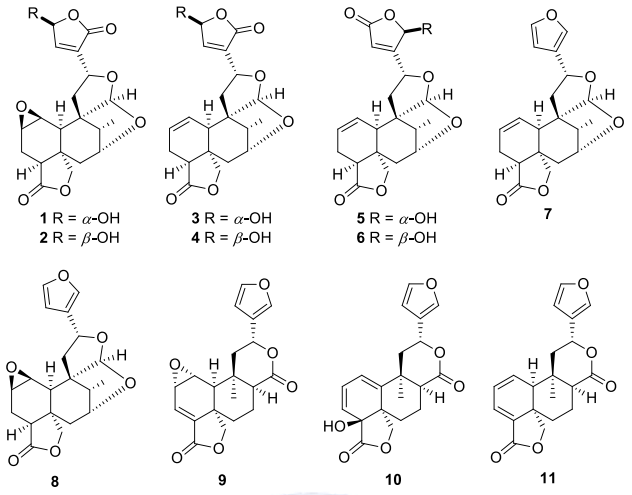


Figura 1. Diterpenos aislados de *S. polystachya*.

La estructura de los nuevos diterpenos (**1**, **2** y **10**) se determinó a través del análisis exhaustivo de sus datos de RMN mono y bidimensional, así como de sus datos de EM. Con el fin de corroborar la estructura y estereoquímica propuesta para los compuestos **1**, **2** y **10**, se realizó un estudio de difracción de rayos X de monoscristal, confirmando su estructura y estableciendo su configuración absoluta (Figura 2).

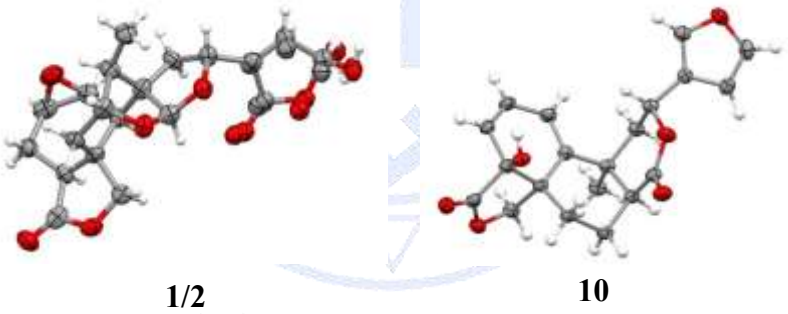


Figura 2. Diagramas ORTEP de los compuestos **1**/**2** y **10**.

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

Conclusiones

El estudio fitoquímico de las partes aéreas de *S. polystachya* permitió el aislamiento de tres nuevos diterpenos con esqueleto carbonado de clerodano, junto con ocho sustancias conocidas más. Cada una de estas sustancias será sujeta a estudios de bioprospección farmacológica.

Referencias

- Jenks, A. A.; Kim, S. C. *J. Ethnopharmacol.* **2013**, *146*, 214-224.
- Maldonado, E.; Ortega, A. *Phytochemistry* **2000**, *53*, 103-109.
- Ortega, A.; Bautista, E.; Maldonado, E. *Chem. Pharm. Bull.* **2006**, *54*, 1338-1339.
- Calzada, F.; Yépez-Mulia, L.; Tapia-Contreras, A.; Bautista, E.; Maldonado, E.; Ortega A. *Phytother. Res.* **2010**, *24*, 662-665.
- Maldonado, E.; Galicia, L.; Chávez, M. I.; Hernández-Ortega, S. *J. Nat. Prod.* **2016**, *79*, 2667-2673.

Cnidoscolus chayamansa McVaugh: Evaluación química del extracto acuoso y nuevas perspectivas en sus aplicaciones

Mayra Maricruz Cauich Díaz, María del Pilar González Muñoz[1], Mercy Sugey Dzul Erosa[1*], Teresa Alejandra Razo Lazcano[1]

[1] División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato

*msdzuler@conacyt.mx

Resumen

México es un país que cuenta con una amplia biodiversidad biológica y es considerado una fuente potencial de plantas medicinales destacando entre ellas *Cnidoscolus chayamansa* McVaugh conocida como la chaya maya. La riqueza química de esta planta la provee de características fotoquímicas y biofuncionales importantes siendo su evaluación indispensable para muchos estudios. En este trabajo se presentan los resultados de la evaluación química (fenoles totales y capacidad antioxidante) de tres extractos acuosos foliares de *Cnidoscolus chayamansa* y su incorporación a nuevos procesos químicos de síntesis de materiales.

Introducción

Cnidoscolus chayamansa McVaugh conocida como la chaya maya, es una planta que pertenece a la familia de las *Euphorbiaceaes* siendo nativa del estado de Yucatán. La riqueza química del contenido de sus metabolitos primarios y secundarios, le proporciona a la planta características químicas, biológicas, farmacológicas y nutritivas únicas; sin embargo, estas características pueden variar de acuerdo a la época de muestreo, el lugar, la madurez de la planta y la especie. Por lo tanto, resulta importante la evaluación química continua de propiedades como el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante de la planta relacionadas directamente con las características medicinales, nutritivas y farmacológicas [1-2].

Hasta este momento, el uso de *Cnidoscolus chayamansa* está enfocada a sectores alimenticios y farmacológicos, sin embargo, actualmente surge la necesidad de desarrollar nuevas alternativas de síntesis en la química que ayuden a minimizar o eliminar residuos en los procesos. En la actualidad el uso de extractos extracelulares de bacterias, hongos, algas o extractos de plantas son de gran interés como alternativa en la síntesis de nuevos materiales. Por lo tanto y con base a estos antecedentes, en este trabajo se estudia la posibilidad del empleo del extracto acuoso de las hojas de *Cnidoscolus chayamanasa* en ese campo de la química [1].

Exposición

El objetivo del trabajo es la evaluación del contenido de fenoles totales y de la capacidad antioxidante de tres extractos acuosos foliares de la chaya, con el fin de incorporar su uso para la síntesis biomimética de nanopartículas de plata. El trabajo se dividió en tres etapas: 1. Etapa de muestreo; 2. Preparación y evaluación de los extractos; 3. Aplicación de los extractos.

Materiales

El material vegetal utilizado para este trabajo se recolectó en el mes de marzo del 2015 en Acanceh Yucatán. Las hojas de *Cnidoscolus chayamansa* colectadas, en su mayoría hojas jóvenes, de color verde oscuro, se lavaron con agua Milli-Q y se secaron en una estufa a 45-50 ºC por 48 horas. El contenido de humedad se determinó por diferencia de peso. Las hojas secas se almacenaron en bolsas de plástico protegidas de la luz.

Métodos

Se prepararon tres extractos acuosos variando la relación masa/volumen (%) de: 0.1, 1 y 10. Las hojas secas y molidas se pesaron en bolsas de papel filtro y se depositaron en 25 mL de agua Milli-Q a una temperatura de 90 ºC por 5 minutos. El extracto acuoso final se llevó nuevamente a un volumen de 25 mL, se filtró y se almacenó a 5 ºC hasta su empleo. Se evaluó el contenido de fenoles totales utilizando el Método de Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante se determinó utilizando el Método de FRAP (Poder reductor/antioxidante férrico) [1]. Los datos se presentan como el promedio ± desviación estándar

(n=3, α=0.05) en mg AG[22]/g de hoja seca para el contenido de fenoles totales y en mg AA[23]/g de hoja seca para la capacidad antioxidante. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, y la prueba de Tukey para comparaciones múltiples para α=0.05, se utilizó el paquete estadístico STATGRAPHICS CENTURIUN versión XVI. Por otro lado, los extractos acuosos se utilizaron como agentes reductores naturales para la obtención y dispersión de nanopartículas de plata (AgNPs). A 10 mL de cada extracto se adicionó 0.5 mL de $AgNO_3$ 1.34 mM. La formación de las nanopartículas de AgNPs se verificó por el cambio de color de los extractos y por la absorción del plasmón superficial entre 400-430 nm por Ultravioleta Visible (UV-Vis).

Discusión y resultados

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos de la cuantificación de los fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu y de la capacidad antioxidante. Se observó un mayor contenido de fenoles para el extracto al 0.1%, este contenido fue disminuyendo conforme se aumentaba la relación masa/volumen en el extracto. El rango de fenoles totales obtenidos fue entre 6.12 ± 0.10 a 17.00 ± 0.28 mg AG/g de hoja seca. El análisis estadístico realizado sugirió diferencias significativas para los tres extractos. Por otro lado, la capacidad antioxidante obtenida para los tres extractos se encontró en un rango entre 3.56 ± 0.44 a 7.50 ± 0.36 mg AA/g de hoja seca. Similar a lo observado para el caso de los fenoles totales, la capacidad antioxidante fue mayor para el extracto con menor contenido de material vegetal. El análisis estadístico sugiere que los extractos al 0.1% y 1.0% no tienen diferencias significativas entre ellos, sin embargo, ambos varían significativamente del extracto al 10%.

El comportamiento observado en la cuantificación de fenoles totales y en la capacidad antioxidante muestra que aumentar la masa no es suficiente para aumentar el valor de ambos parámetros, debido a la saturación del solvente acuoso para romper la membrana celular de las hojas.

Se realizó una correlación entre el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante, donde se obtuvo un valor de R^2=0.9906, indicando que los fenoles totales determinados por el método de Folin-Ciocalteu tiene un rol importante en la capacidad antioxidante de los extractos acuosos de la chaya.

Tabla 1. Contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante de los extracto: 0.1%, 1.0% y 10%.

Extracto (m/V %)	**Fenoles totales**	**Grupos homogéneos***	**Capacidad antioxidante**	**Grupos homogéneo*s**
	mg AG/g de hoja		**mg AA/g de hoja**	
0.1	17.00 ± 0.28	X	7.50 ± 0.36	X
1	15.01 ± 0.37	X	7.17 ± 0.63	X
10	6.12 ± 0.10	X	3.56 ± 0.44	X

*No existen diferencias significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X. Resultados de la prueba de Tukey HSD.

[22] Ácido gálico (AG)
[23] Ácido ascórbico (AA)

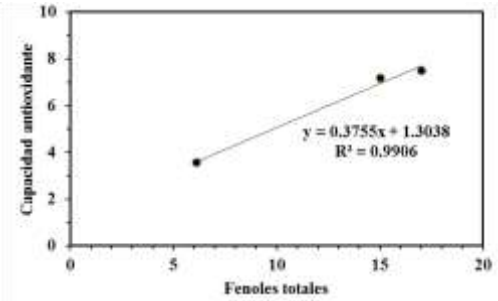


Figura 1. Correlación global entre el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante.

Los extractos obtenidos se emplearon para la síntesis de AgNPs, donde la Figura 2 muestra el cambio de color de los extractos después de 92 horas, evidenciando la formación de las nanopartículas. La señal de absorción del plasmón superficial a través de UV-Vis en un rango entre 400-450 nm confirmó la formación de estas partículas. La Figura 3 muestra el espectro de absorción de la dispersión coloidal de AgNPs en el extracto acuoso de chaya al 0.1% (Fig. 3a), al 1.0% (Fig. 3b) y al 10% (Fig. 3c). La intensidad de absorción del plasmón superficial es mayor para los extractos al 1.0% y al 10% indicando una mayor reducción de Ag(I) a Ag(0). No obstante, se observa de manera general diferencia en la forma del espectro de absorción y desplazamientos del máximo de absorción conforme aumenta el contenido de chaya en el extracto utilizado para la reducción. Este comportamiento se debe a la dispersión de luz de las AgNPs al incrementar su tamaño (> 40 nm) provocando un ensanchamiento de la banda de absorción y el desplazamiento del máximo.

Figura 2. Extracto al 0.1%, 1.0% y 10% antes (a) y después de la síntesis de AgNPs.

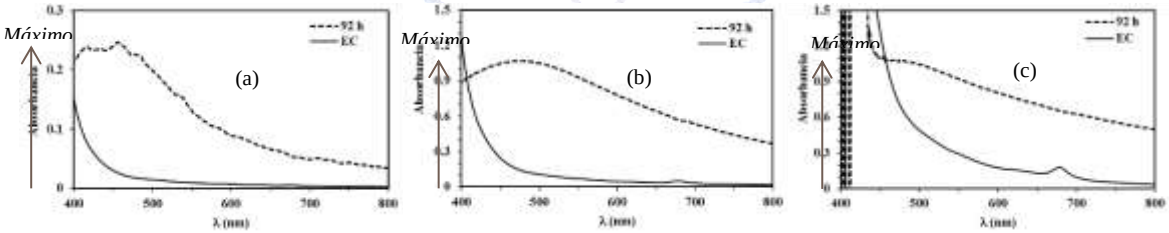


Figura 3. Espectros de absorción de AgNPs sintetizadas con los extractos acuosos 0.1% (a), 1% (b) y 10% (c) de *Cnidoscolus chayamansa* McVaugh.

De manera general, los resultados corroboran que el extracto acuoso de *Cnidoscolus chayamansa* es viable para la síntesis de AgNPs.

Conclusiones

De acuerdo con los resultados obtenidos se pueden formular las siguientes conclusiones: la evaluación química del extracto acuoso de *Cnidoscolus chayamansa* McVaugh mostró que el alto contenido de fenoles totales y la mayor capacidad antioxidante se obtuvo para el extracto al 0.1%; los extractos mostraron diferencias significativas entre sí (α=0.05) para el contenido de fenoles totales; la capacidad antioxidante de los extractos al 0.1% y 1.0% mostraron diferencias significativas con el extracto al 10%; se observa una saturación del solvente de extracción conforme aumenta la masa de las hojas en el extracto, lo que

conlleva a una disminución del contenido de fenoles y de la capacidad antioxidante, este puede mejorare cambiando la polaridad del solvente.

En cuanto a la aplicación de los extractos acuosos de *Cnidoscolus chayamansa* McVaugh para la síntesis de nuevos materiales se concluye que: los extractos acuosos son una alternativa sustentable para la obtención de AgNPs y en los extractos acuosos se tiene la presencia de otros compuestos además de los fenoles que intervienen en la reducción de la plata.

Referencias

[1].- Cauich Díaz M. Caracterización y aplicación del extracto acuoso de "Cnidoscolus chayamansa McVaugh (Chaya Maya)" en la síntesis de nanopartículas. Universidad de Guanajuato. Guanajuato, Gto. 2016.

[2].- García-Rodríguez R. V. *et al*., *Cnidosculus chayamansa* Mc Vaugh, an important antioxidant, anti-inflamatory and cardioprotective plant used in Mexico. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 151, 937-943.

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"

Evaluación del potencial farmacológico de *Zinnia grandiflora*

Valeria Itzel Reyes Pérez[1], Ana Laura Martínez[2], Araceli Pérez Vásquez[3], Robert Bye[4], Rachel Mata[5]

[1,2,3,5] Facultad de Química e [4] Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México 04510, México.

valeitzel9209@gmail.com

Resumen *Zinnia grandiflora* Nuttall (Asteraceae) se utiliza en la Zona norte de México para el tratamiento de la diabetes. El preparado tradicional (la infusión) presento efectos hipoglucemiantes e antihiperglucémicos en ratones macho de la cepa ICR, tanto normoglucémicos como hiperglucémicos [nicotinamida (NA, 50 mg/kg)-estreptozotocina (STZ, 130 mg/kg)], a las dosis de 31.6, 100 y 316.2 mg/kg de peso. De manera adicional, la infusión inhibió la actividad enzimática de una mezcla de α-glucosidasas humanas. A las mismas dosis antes señaladas, la infusión provocó efectos antinociceptivo y antiinflamatorio durante las pruebas de la formalina e inhibición del edema en pata de ratón inducido por carragenina, respectivamente. La infusión de las partes aéreas de no fue tóxica para ratones de acuerdo al método de Lorke (DL_{50} > 5000 mg/kg). Los principales componentes de la infusión son los flavonoides luteolina e isoquercitrina.

Introducción

La diabetes mellitus tipo II (DMT2) es un grave problema de salud global. México ocupa el sexto lugar de prevalencia de la enfermedad a nivel mundial y como en otros países el uso de la fitoterapia para el tratamiento de la enfermedad ha adquirido una enorme importancia en las últimas dos décadas. Las razones son varias: el apego a las tradiciones, la firme creencia de que lo natural es sinónimo de inocuo, la falta de acceso a una atención médica oportuna, y el alto costo de los medicamentos alopáticos. De acuerdo a revisiones recientes, son numerosas las plantas utilizadas en México para tratar la DMT2, entre ellas *Zinnia grandiflora* Nuttall (Asteraceae). Desafortunadamente no se cuenta con la información científica que respalde la eficacia, inocuidad, desarrollo sustentable, composición química y calidad de estos recursos a fin de garantizar su uso racional.[2] De allí la importancia de la presente investigación que pretende demostrar la eficacia e inocuidad a nivel preclínica de un preparado tradicional de *Z. grandiflora.*

Zinnia grandiflora se conoce comúnmente como tepozana del burro o tepozana del becerro. Se distribuye en el sur de los Estados Unidos de América del Norte y México (principalmente en los estados de Chihuahua, Coahuila, Sonora y Tamaulipas), lugares donde se reporta su uso para el tratamiento de la diabetes. También se ha descrito su uso para tratar golpes, dolores de estómago, agruras, fiebre, y problemas de garganta, nariz y riñones[6]. Los estudios químicos previos sobre la especie han permitido el aislamiento de lactonas sesquiterpénicas de los tipos eudesmanólidas, guaianólidas, germacranólidas, *γ*-elemanólidas, y *δ*-elemanólidas. Desde el punto de vista farmacológico se ha reportado la actividad citotóxica de un extracto hexánico y de algunas de sus lactonas sesquiterpénicas.[1]

Materiales y Métodos

La infusión de *Z. grandiflora* se preparó a partir de las partes aéreas secas de la planta (20 g en 1 L de agua). Después de 30 minutos, la infusión se concentró *in vacuo* para obtener 3.64 g de extracto acuoso (Infusión). La infusión resultante se sometió a un proceso de reparto con AcOEt (1 L x 3); la fracción orgánica se concentró *in vacuo* para generar 0.509 g de un residuo café. La identificación y el aislamiento de los compuestos se realizó utilizando cromatografía en columna (CC), capa delgada (CCD) y de líquidos de alta resolución (HPLC); mientras que la elucidación de los mismos se llevó a cabo mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas.

Ensayos farmacológicos. El efecto inhibitorio del extracto, fracciones y compuestos sobre las α-glucosidasas se realizó utilizando un método espectrofotocolorimétrico. Las actividades antihiperglucémica (ensayo de tolerancia a la sacarosa) e hipoglucemiante se establecieron en animales normoglucémicos e hiperglucémicos; el estado de hiperglucemia se indujo con nicotinamida (NA, 50 mg/kg)-estreptozotocina (STZ,130 mg/kg) utilizando protocolos farmacológicos apropiados; el modelo de NA-STZ describe un perfil bioquímico en sangre y una patogénesis similares a la de la DMT2. El efecto antinociceptivo se evaluó mediante la prueba de la formalina, mientras que el efecto antiinflamatorio se estableció midiendo la inhibición del edema en pata inducido por carragenina. En todos los casos se evaluó el extracto acuoso a dosis de 31.6, 100 y 316.2 mg/kg de

peso, en ratones macho de la cepa ICR obtenidos de Envigo. Para los estudios de toxicidad aguda se utilizó el método de Lorke[4].

Discusión y resultados

Se determinó que la DL_{50} de la infusión de *Z. grandiflora* es mayor a 5000 mg/kg peso por lo que se concluye que la infusión de *Z. grandiflora* carece de efectos tóxicos agudos para roedores según los criterios de Lorke. Asimismo, no se encontraron daños macroscópicos a nivel de tejidos, ni cambios en el comportamiento de los animales.

Los agentes inhibidores de α-glucosidasas enzimas constituyen un importante tratamiento para la DMT2[3]. La infusión de *Z. grandifora* inhibió las α-glucosidasas humanas a las concentraciones de 200, 400, 600, 800 y 1000 ppm, logrando con ésta ultima un máximo de inhibición del 44.7 ± 4.3 %. Este efecto se corroboró *in vivo* mediante un ensayo de tolerancia a la sacarosa (OSTT); la infusión de *Z. grandiflora* redujo significativamente la concentración de glucosa en sangre en comparación con el grupo administrado con solución salina, tanto en ratones normoglucémicos (Fig. 1A) como hiperglucémicos (Fig. 1B) tras la administración de una carga de sacarosa. Este efecto fue comparable con el de la acarbosa, un fármaco comercial utilizado como control positivo. Estos resultados permiten establecer el potencial de la infusión para prevenir la hipersecreción postprandial de insulina[5].

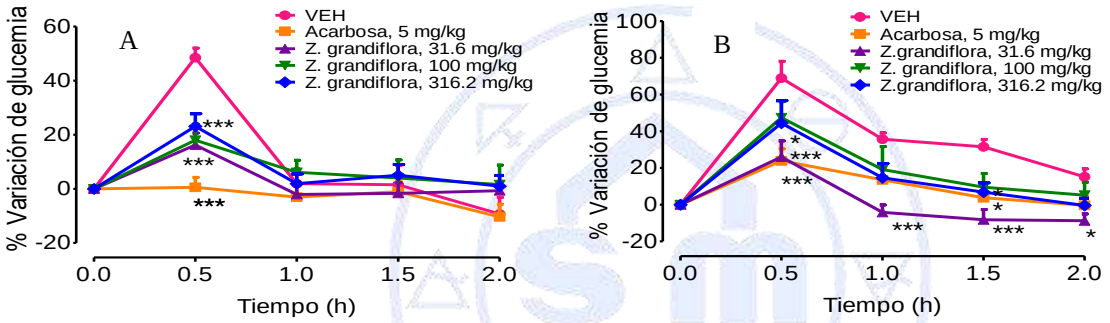


Figura 1. Efecto antihiperglucémico de la infusión de *Z. grandiflora* (31.6 – 316.2 mg/kg) en ratones normoglucémicos (A) y ratones hiperglucémicos (B) durante el ensayo de tolerancia a la sacarosa. VEH: vehículo (Solución salina 0.9%). Cada medición representada como media ± SEM con 6 ratones por grupo. *p < 0.05, **p < 0.01, y ***p < 0.001 de significancia estadística respecto al control negativo (VEH) con ANOVA de 2 vías seguido por test pos hoc de Bonferroni.

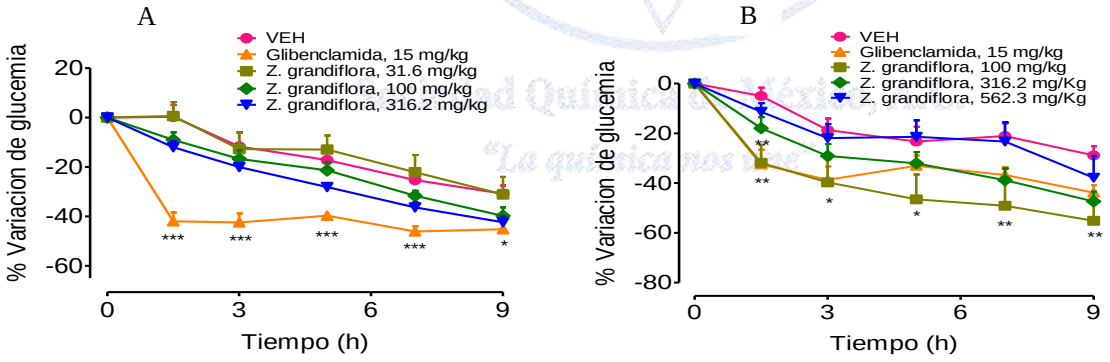


Figura 2. Efecto la infusión de *Z. grandiflora* (31.6 – 316.2 mg/kg) en ratones normoglucémicos (A) y ratones hiperglucémicos (B). VEH: vehículo (Solución salina 0.9%). Cada medición representada como media ± SEM con 6 ratones por grupo. *p < 0.05, **p < 0.01, y ***p < 0.001 de significancia estadística respecto al control negativo (VEH) con ANOVA de 2 vías seguido por test pos hoc de Bonferroni.

Para establecer el potencial hipoglucemiante de la infusión de *Z. grandiflora* se administraron diferentes dosis del preparado a ratones normoglucémicos e hiperglucémicos. Como se puede observar en la Fig. 2A, la administración oral de la infusión en ratones hiperglucémicos reduce los niveles de glucosa en sangre significativamente, superando el efecto de la glibenclamida, el fármaco de referencia.

La infusión de *Z. grandiflora* presentó también un efecto antinociceptivo significativo (Fig. 3), similar al producido por el diclofenaco. El mayor efecto se observó en la fase 2 del ensayo (de los 10 – 30 min) (Fig. 5B), lo cual sugirió un efecto antiinflamatorio del preparado. Por lo tanto, la infusión se evaluó utilizando el ensayo del edema de pata inducido por carragenina. Los resultados que se muestran en la Figura 4 permitieron comprobar el efecto antiinflamatorio de la infusión.

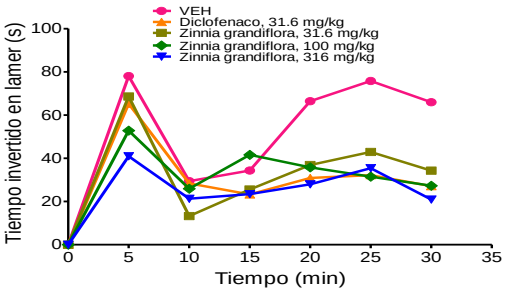


Figura 3. Efecto la infusión de *Z. grandiflora* (31.6 – 316.2 mg/kg) en el modelo de la formalina en ratones. VEH: vehículo (Solución salina 0.9%). Cada medición representada como media ± SEM con 6 ratones por grupo.

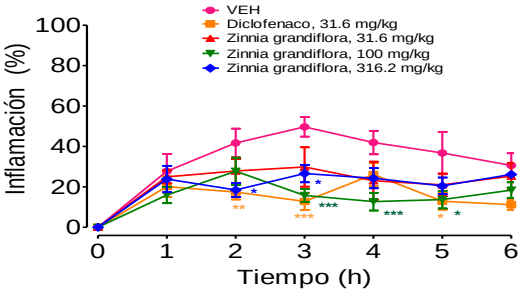
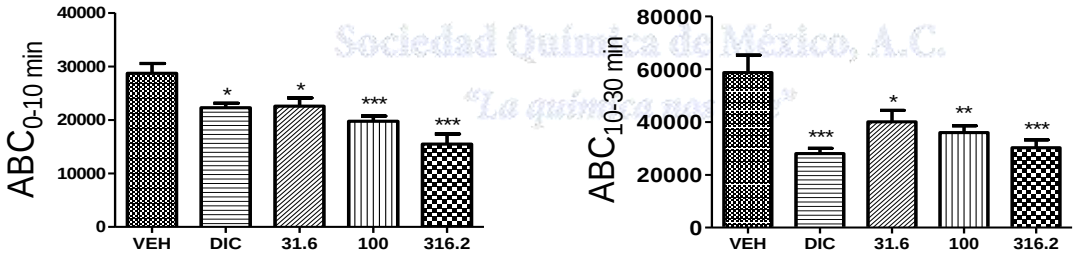


Figura 4. Efecto la infusión de *Z. grandiflora* (31.6 – 316.2 mg/kg) en el modelo de edema de pata inducido por carragenina en ratones. VEH: vehículo (Solución salina 0.9%). Cada medición representada como media ± SEM con 6 ratones por grupo. *p < 0.05, **p < 0.01, y ***p < 0.001 de significancia estadística respecto al control negativo (VEH) con ANOVA de 2 vías seguido por test pos hoc de Bonferroni.

A B

Figura 5. Efecto la infusión de *Z. grandiflora* (31.6 – 316.2 mg/kg) en el ensayo de la formalina representado como área bajo la curva de la Fase 1 (A) y la fase 2 (B) VEH: vehículo (Solución salina 0.9%). Cada medición representada como media ± SEM con 6 ratones por grupo. *p < 0.05, **p < 0.01, y ***p < 0.001 de significancia estadística respecto al control negativo (VEH) con ANOVA de 2 vías seguido por test pos hoc de Bonferroni.



Con la finalidad de obtener los principios activos se inició el estudio fitoquímico de la infusión. A la fecha se ha logrado la separación y caracterización de los flavonoides luteolina (**1**) e isoquercitrina (**2**)

Conclusiones

Los estudios *in vivo* desarrollados permitieron establecer la eficacia preclínica de la infusión de *Zinnia grandiflora* como agente hipoglucemiante, antihiperglucémico, antinociceptivo y antinflamatorio. Los estudios de toxicidad en ratones indicaron que la DL_{50} del preparado es mayor a 5 g/kg. De acuerdo a los estudios químicos iniciales los flavonoides luteolina (**1**) e isoquercitrina (**2**) podrían representar los principios activos mayoritarios de la infusión.

Referencias

1. Bashyal BP., McLaughlin SP., Gunatilaka AAL. (2006). Zinagrandinolides A-C, Cytotoxic δ-Elemanolide-Type Sesquiterpene Lactones from Zinnia grandiflora. Journal of Natural Products, 69, 1820 – 1822.

2. FHEUM, 2013

3. Mata R., Cristians S., Escandon-Rivera S., Juárez-Reyes K, Rivero-Cruz I. (2013). Mexican Antidiabetic Herbs: Valuable Sources of Inhibitors of α-Glucosidasas. Journal of Natural Products, dx.doi.org/10.1021/np300869g.

4. Lorke D. (1983). A new approach to a practical acute toxicity testing. Arch Toxicol 54(4), 275-87.

5. Flores-Bocanegra L., González-Andrade M., Bye R., Linares E., Mata R. (2017). α-Glucosidase Inhibitors from *Salvia circinata*. J. Nat. Prod. DOI:10.1021/acs.jnatprod.7b00155

6. Swank, George R. (1932). The Ethnobotany of the Acoma and Laguna Indians, University of New Mexico, M.A. Disponible en línea: http://naeb.brit.org/uses/search/?string=zinnia+grandiflora. (Fecha de consulta: 26 de mayo de 2017).

Sociedad Química de México, A.C.
"La química nos une"