



**UNIVERSIDAD JUÁREZ DEL ESTADO DE DURANGO**  
FACULTAD DE MEDICINA Y NUTRICIÓN  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**“CARACTERIZACIÓN BIODIRIGIDA DE COMPUESTOS  
ANTIOXIDANTES Y ANTIMICROBIANOS DE *Jatropha Dioica*  
ORIGINARIA DE DURANGO”**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS DE LA SALUD

P R E S E N T A:

**KIMBERLY QUEZADA CÁRDENAS**

DIRECTOR DE TESIS:

DR. EN C. ABELARDO CAMACHO LUIS

VICTORIA DE DURANGO, DGO., 30 ENERO DE 2020



**UNIVERSIDAD JUÁREZ DEL ESTADO DE DURANGO**

FACULTAD DE MEDICINA Y NUTRICIÓN  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**

**“CARACTERIZACIÓN BIODIRIGIDA DE COMPUESTOS  
ANTIOXIDANTES Y ANTIMICROBIANOS DE *Jatropha Dioica*  
ORIGINARIA DE DURANGO”**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS DE LA SALUD

P R E S E N T A:

**KIMBERLY QUEZADA CÁRDENAS**

DIRECTOR DE TESIS: DR. EN C. ABELARDO CAMACHO LUIS.

CO-DIRECTOR DE TESIS: M.C. MARICELA ESTEBAN MÉNDEZ.

ASESOR: DR. EN C. ARMANDO ÁVILA RODRÍGUEZ.

TUTOR: DR. EN C. JOSÉ MANUEL SALAS PACHECO.

VICTORIA DE DURANGO, DGO., 30 ENERO DE 2020

**DR. EN C. JUAN HUMBERTO DÍAZ GARCÍA.**  
**JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION.**  
**FACULTAD DE MEDICINA Y NUTRICIÓN**  
**UNIVERSIDAD JUÁREZ DEL ESTADO DE DURANGO.**

**P R E S E N T E.-**

**At´n. Dra. en C. Martha Angélica Quintanar Escorza**  
**Coordinadora de la Maestría en Ciencias de la Salud**

Por medio del presente nos dirigimos a usted de la manera más atenta con la finalidad de informarle que revisamos y aprobamos el documento de Tesis titulado: **“CARACTERIZACIÓN BIODIRIGIDA DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES Y ANTIMICROBIANOS DE *Jatropha Dioica* ORIGINARIA DE DURANGO”** que desarrolló **KIMBERLY QUEZADA CÁRDENAS**, como proyecto para obtener el **Grado de Maestra en Ciencias de la Salud**. Por lo cual, los abajo firmantes autorizamos que la interesada inicie sus trámites de titulación.

Sin más por el momento, nos despedimos de usted no sin antes agradecerle las atenciones recibidas.

Atentamente.

Victoria de Durango, Dgo., a 24 de Enero del 2020.

Nombre y firma  
Director de tesis



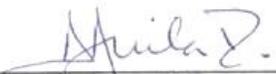
D. en C. Abelardo Camacho Luis.

Nombre y firma  
Co-director de tesis



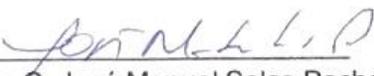
M.C. Maricela Esteban Méndez.

Nombre y firma  
Asesor



D. en C. Armando Ávila Rodríguez.

Nombre y firma  
Tutor



D. en C. José Manuel Salas Pacheco.



**UNIVERSIDAD JUÁREZ DEL ESTADO DE DURANGO**  
FACULTAD DE MEDICINA Y NUTRICIÓN  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**“CARACTERIZACIÓN BIODIRIGIDA DE COMPUESTOS  
ANTIOXIDANTES Y ANTIMICROBIANOS DE *Jatropha Dioica*  
ORIGINARIA DE DURANGO”**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS DE LA SALUD

P R E S E N T A:

**KIMBERLY QUEZADA CÁRDENAS**

JURADO DE EXAMEN:

PRESIDENTE: Dra. en C. Laura Ernestina Barragán Ledezma

SECRETARIO: Dra. en C. Martha Angélica Quintanar Escorza

VOCAL: Dr. en C. Armando Ávila Rodríguez

VICTORIA DE DURANGO, DGO., 30 ENERO DE 2020



**DR. EN C. JUAN HUMBERTO DÍAZ GARCÍA.**

**JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION.**

**FACULTAD DE MEDICINA Y NUTRICIÓN**

**UNIVERSIDAD JUÁREZ DEL ESTADO DE DURANGO.**

**P R E S E N T E.-**

Me es grato comunicarle que después de revisar cuidadosamente y de discutir mis sugerencias y las correcciones realizadas al documento de tesis titulado: **“CARACTERIZACIÓN BIODIRIGIDA DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES Y ANTIMICROBIANOS DE *Jatropha Dioica* ORIGINARIA DE DURANGO”**, que para obtener el grado presenta la alumna **KIMBERLY QUEZADA CÁRDENAS**, inscrita en la Maestría en Ciencias de la Salud, considero que la Tesis reúne los requisitos establecidos y por ello emito mi **VOTO APROBATORIO** para que se proceda a la impresión oficial del documento y se realice la réplica oral.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente.

Victoria de Durango, Dgo., a 27 de Enero del 2020.

Dra. en C. Laura Barragán Ledezma



**DR. EN C. JUAN HUMBERTO DÍAZ GARCÍA.**

**JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION.**

**FACULTAD DE MEDICINA Y NUTRICIÓN**

**UNIVERSIDAD JUÁREZ DEL ESTADO DE DURANGO.**

**P R E S E N T E.-**

Me es grato comunicarle que después de revisar cuidadosamente y de discutir mis sugerencias y las correcciones realizadas al documento de tesis titulado **“CARACTERIZACIÓN BIODIRIGIDA DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES Y ANTIMICROBIANOS DE *Jatropha Dioica* ORIGINARIA DE DURANGO”**, que para obtener el grado presenta la alumna **KIMBERLY QUEZADA CÁRDENAS**, inscrita en la Maestría en Ciencias de la Salud, considero que la Tesis reúne los requisitos establecidos y por ello emito mi **VOTO APROBATORIO** para que se proceda a la impresión oficial del documento y se realice la réplica oral.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente.

Victoria de Durango, Dgo., a 27 de Enero del 2020.

---

Dra. en C. Martha Angélica Quintanar Escorza



**DR. EN C. JUAN HUMBERTO DÍAZ GARCÍA.**  
**JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION.**  
**FACULTAD DE MEDICINA Y NUTRICIÓN**  
**UNIVERSIDAD JUÁREZ DEL ESTADO DE DURANGO.**

**P R E S E N T E.-**

Me es grato comunicarle que después de revisar cuidadosamente y de discutir mis sugerencias y las correcciones realizadas al documento de tesis titulado **“CARACTERIZACIÓN BIODIRIGIDA DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES Y ANTIMICROBIANOS DE *Jatropha Dioica* ORIGINARIA DE DURANGO”**, que para obtener el grado presenta la alumna **KIMBERLY QUEZADA CÁRDENAS**, inscrita en la Maestría en Ciencias de la Salud, considero que la Tesis reúne los requisitos establecidos y por ello emito mi **VOTO APROBATORIO** para que se proceda a la impresión oficial del documento y se realice la réplica oral.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente.

Victoria de Durango, Dgo., a 27 de Enero del 2020.

---

Dr. en C. Armando Avila Rodríguez

## **LUGAR DE REALIZACIÓN DE LA TESIS**

Se realizó en el Centro de Investigación en Alimentos y Nutrición (CIAN) de la Facultad de Medicina y Nutrición de la Universidad Juárez del Estado de Durango y en el Laboratorio de Microbiología y el laboratorio de Farmacogenómica y Biología Molecular del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) del Instituto Politécnico Nacional.

## DEDICATORIA

A Dios, por darme la fuerza para realizar este sueño, gracias por tu amor que me acompaña todos los días.

A mis abuelos: Tita y Tey por ser parte esencial en mi vida, todo es por ustedes y para ustedes, espero que en el cielo estén orgullosos de todos mis logros así como yo estoy orgullosa de tener a los mejores abuelos del mundo.

A mis padres: Lourdes y Jesús que me han apoyado incondicionalmente y me han enseñado el valor de las cosas y sobre todo me han enseñado a ser fuerte en muchas circunstancias de mi vida.

A mi hermano Tadeo por ayudarme y desvelarse conmigo en la escritura de esta tesis.

A mis tíos y primos que hemos sido criados en amor fraterno, gracias por sus muestras de apoyo y cariño.

A mis padrinos: Martha, Víctor, Carmen y Joel por siempre estar cuando los necesito, por ser mis guías y por estirarme las orejas de vez en cuando.

A Alonso por ser mi compañero imprescindible, gracias por la confianza, las noches de desvelo, el tiempo dedicado a buscar a la famosa *Jatropha dioica*, siéntete parte de este logro.

A Bris y al Dr. Jesús Salazar por su apoyo constante, sus muestras de cariño e interés en cada uno de los proyectos que he iniciado.

A mis amigas: Mónica, María Guadalupe por su apoyo incondicional, que a pesar de la distancia u ocupaciones se preocupan por mí.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. en C. Abelardo Camacho Luis por todo el conocimiento brindado, por su dedicación, por los días de chistes y el apoyo para la realización del presente proyecto.

A la M. en C. Maricela Esteban Méndez por el apoyo para realizar pruebas microbiológicas, el conocimiento y amabilidad que siempre me compartió.

A mi asesor, el Dr. en C. Armando Ávila Rodríguez y mi tutor, el D. en C. José Manuel Salas Pacheco por estar presentes y dispuestos a colaborar conmigo en todo momento.

A la Dra. en C. Martha Angélica Quintanar Escorza y a la Dra. en C. Laura Ernestina Barragán Ledezma, por todo su apoyo en los momentos donde me sentía perdida, por sus consejos, su dedicación y paciencia.

A los compañeros de Laboratorio del CIIDIR por compartirme su tiempo y alegría.

A la M. en C. Wendy Elena Rivera Valles por brindarme su amistad y apoyo en todo momento, por los regaños que me enseñaron a entender la etapa en la que me encuentro, su tiempo y consejos.

A mis compañeros de maestría por brindarme su sincera amistad, su alegría, si apoyo, los días difíciles y las salidas, haciendo que el camino fuera más ligero y agradable. Siempre estarán en mi corazón.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca proporcionada para la realización de la maestría. Número de becario: 892284.

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	I
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IV
ÍNDICE DE TABLAS.....	V
ABREVIATURAS.....	VI
RESUMEN.....	IX
ABSTRACT.....	X
I INTRODUCCIÓN.....	1
II ANTECEDENTES.....	3
2.1 Medicina tradicional.....	3
2.1.1 Medicina tradicional en México.....	5
2.2 Plantas medicinales.....	6
2.3 Fitoterapia y metabolitos secundarios.....	9
2.4 Fenología de las plantas.....	11
2.5 Género <i>Jatropha</i> .....	14
2.5.1 <i>Jatropha dioica</i> .....	17
2.5.1.2 Estudios recientes realizados a <i>Jatropha dioica</i> .....	19
2.6 Enfermedades infecciosas.....	23
2.7 Resistencia bacteriana a los antibióticos.....	24
2.8 Cepas de interés.....	26
2.8.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	26
2.8.1.1 Metabolismo.....	28
2.8.1.2 Patogenia.....	29
2.8.1.3 Epidemiología.....	29
2.8.2 <i>Escherichia coli</i> .....	30
2.9 Especies reactivas de oxígeno y radicales libres.....	31
2.9.1 Estrés oxidativo.....	32
2.10 Antioxidantes.....	33
2.11 Capacidad antioxidante.....	34

2.12	Actividad antimicrobiana.....	34
	2.12.1 Método de difusión.....	35
	2.12.2 Método de dilución.....	35
	2.12.3 Concentración mínima inhibitoria.....	35
2.13	Tamizaje fitoquímico.....	36
2.14	Cromatografía.....	36
	2.14.1 Cromatografía Líquida de Ultra Alta Eficacia (UHPLC)...	38
III	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	40
IV	JUSTIFICACIÓN.....	41
V	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	42
VI	HIPÓTESIS.....	42
VII	OBJETIVOS.....	42
7.1	Objetivo General.....	42
7.2	Objetivo Específico.....	42
VIII	METODOLOGÍA.....	43
8.1	Diseño metodológico.....	43
8.2	Lugar y tiempo.....	43
8.3	Materiales.....	43
	8.3.1 Sustancias y/o reactivos.....	44
	8.3.2 Equipo.....	45
8.4	Metodología.....	46
	8.4.1 Recolección e identificación de la planta.....	46
	8.4.2 Obtención de extractos.....	46
	8.4.2.1 Limpieza y trituración de la planta.....	46
	8.4.2.2 Maceración.....	46
	8.4.2.3 Concentración.....	46
	8.4.3 Tamizaje fitoquímico.....	47
	8.4.3.1 Identificación de alcaloides.....	48
	8.4.3.2 Identificación de triterpenos y esteroides.....	49
	8.4.3.3 Identificación de quinonas.....	49
	8.4.3.4 Identificación de cumarinas.....	50

8.4.3.5	Identificación de saponinas.....	50
8.4.3.6	Identificación de resinas.....	51
8.4.3.7	Identificación de azúcares reductores.....	51
8.4.3.8	Identificación de fenoles y taninos.....	51
8.4.3.9	Identificación de aminoácidos libres y aminos.....	52
8.4.3.10	Identificación de glicósidos cardiacos.....	52
8.4.3.11	Identificación de flavonoides.....	53
8.4.3.12	Identificación de carbohidratos y/o glicósidos....	54
8.4.3.13	Identificación de poliurónidos.....	54
8.4.4	Capacidad antioxidante.....	55
8.4.5	Actividad antimicrobiana.....	58
8.4.5.1	Preparación, esterilización de material y medios de cultivo.....	58
8.4.6	Cromatografía Líquida de Ultra Alta Rendimiento (UHPLC).....	59
8.5	Variables de estudio.....	60
8.6	Procedimiento.....	61
8.7	Consideraciones éticas.....	62
8.8	Análisis de datos.....	62
IX	RESULTADOS.....	63
9.1	Tamizaje fitoquímico.....	66
9.2	Capacidad antioxidante.....	67
9.3	Actividad antimicrobiana.....	69
9.4	UHPLC.....	72
X	DISCUSIÓN.....	76
XI	CONCLUSIONES.....	86
XII	PERSPECTIVAS.....	87
XIII	REFERENCIAS.....	88
XIV	ANEXOS (PRODUCTOS DE TESIS).....	100

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Coordenadas de la zona de recolección de <i>J. dioica</i> .....	63
<b>Figura 2.</b>	Voucher de identificación de <i>J. dioica</i> .....	63
<b>Figura 3.</b>	Proceso de separación y secado de <i>J. dioica</i> .....	65
<b>Figura 4.</b>	Proceso de obtención de extractos de <i>J. dioica</i> .....	65
<b>Figura 5.</b>	Tamizaje fitoquímico de extractos de <i>J. dioica</i> .....	67
<b>Figura 6.</b>	Curva estándar de ácido ascórbico.....	67
<b>Figura 7.</b>	Porcentaje de capacidad antioxidante de los extractos de <i>J. dioica</i> contra ácido ascórbico.....	69
<b>Figura 8.</b>	Resultados de capacidad antioxidante de los extractos de <i>J. dioica</i> .....	69
<b>Figura 9.</b>	Resultados de actividad antimicrobiana de los extractos de <i>J. dioica</i> contra <i>S. aureus</i> .....	71
<b>Figura 10.</b>	Resultados de actividad antimicrobiana de los extractos de <i>J. dioica</i> contra <i>E. coli</i> .....	72
<b>Figura 11.</b>	Cromatograma del extracto acuoso parte aérea de <i>J. dioica</i> .	72
<b>Figura 12.</b>	Espectros UV-VIS del extracto acuoso parte aérea de <i>J. dioica</i> .....	73
<b>Figura 13.</b>	Cromatograma del extracto etanólico parte subterránea de <i>J. dioica</i> .....	73
<b>Figura 14.</b>	Espectros UV-VIS del extracto etanólico parte subterránea de <i>J. dioica</i> .....	74
<b>Figura 15.</b>	Cromatograma del extracto metanólico parte subterránea de <i>J. dioica</i> .....	74
<b>Figura 16.</b>	Espectros UV-VIS del extracto metanólico parte subterránea de <i>J. dioica</i> .....	75

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Estudios recientes realizados a <i>Jatropha dioica</i> .....	20
<b>Tabla 2.</b>	Principales especies reactivas de oxígeno.....	31
<b>Tabla 3.</b>	Resumen de ensayos a realizar en el tamizaje fitoquímico a cada extracto.....	47
<b>Tabla 4.</b>	Curva tipo para la determinación de agentes oxidantes totales...	55
<b>Tabla 5.</b>	Curva tipo para ácido ascórbico.....	56
<b>Tabla 6.</b>	Curva tipo para extractos.....	57
<b>Tabla 7.</b>	Rendimiento de cada extracto.....	64
<b>Tabla 8.</b>	Resultados de tamizaje fitoquímico para cada extracto.....	66
<b>Tabla 9.</b>	Resultados de capacidad antioxidante para cada extracto.....	68
<b>Tabla 10.</b>	Resultados de actividad antimicrobiana para cada extracto contra <i>S. aureus</i> .....	70
<b>Tabla 11.</b>	Resultados de actividad antimicrobiana para cada extracto contra <i>E. coli</i> .....	71

## ACRÓNIMOS SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

<b>ABTS</b>	2'2-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)
<b>ACPA</b>	Extracto de Acetato de Etilo Parte Aérea
<b>ACPS</b>	Extracto de Acetato de Etilo Parte Subterránea
<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>AMH</b>	Agar Müller Hinton
<b>APA</b>	Extracto Acuoso Parte Aérea
<b>APS</b>	Extracto Acuoso Parte Subterránea
<b>ATCC</b>	Del inglés: American Type Culture Collection
<b>BHI</b>	Caldo Infusión Cerebro Corazón
<b>cm</b>	Centímetros
<b>CMI</b>	Concentración Mínima Inhibitoria
<b>COLS</b>	Colaboradores
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>EPA</b>	Extracto Etanólico Parte Aérea
<b>EPS</b>	Extracto Etanólico Parte Subterránea
<b>ERO</b>	Especies Reactivas de Oxígeno
<b>G</b>	Gramos
<b>HPA</b>	Extracto Hexánico Parte Aérea

<b>HPLC</b>	Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento
<b>HPS</b>	Extracto Hexánico Parte Subterránea
<b>M</b>	Molar
<b>Min</b>	Minutos
<b>Mg</b>	Miligramos
<b>mL</b>	Mililitros
<b>mm</b>	Milímetros
<b>Mm</b>	Milimolar
<b>MmHg</b>	Milímetros de Mercurio
<b>MPa</b>	Megapascal
<b>MPA</b>	Extracto Metanólico Parte Aérea
<b>MPS</b>	Extracto Metanólico Parte Subterránea
<b>MT</b>	Medicina Tradicional
<b>NaCl</b>	Cloruro de Sodio
<b>Nm</b>	Nanómetros
<b>NaOH</b>	Hidróxido de Sodio
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>Psi</b>	Libra por Pulgada Cuadrada
<b>PUP</b>	Proteína de Unión a la Penicilina
<b>RL</b>	Radicales Libres
<b>SARM</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> Resistente a Meticilina

<b>SAMS</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> Sensible a Meticilina
<b>TR</b>	Tiempo de Retención
<b>UFC</b>	Unidades Formadoras de Colonias
<b>UHPLC</b>	Cromatografía Líquida de Ultra Alto Rendimiento
<b>UJED</b>	Universidad Juárez del Estado de Durango
<b>UMTH</b>	Unidad de investigación Biomédica en Medicina Tradicional y Herbolaria
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>UV-VIS</b>	Espectroscopia ultravioleta visible
<b>VIH</b>	Virus de Inmunodeficiencia Adquirida
<b>°C</b>	Grados Celsius
<b><math>\lambda</math></b>	Lambda (Longitud de onda)
<b><math>\mu\text{g}</math></b>	Microgramos
<b><math>\mu\text{L}</math></b>	Microlitros
<b><math>\mu\text{m}</math></b>	Micrómetros
<b>%</b>	Por ciento
<b><math>\pm</math></b>	Más, menos
<b>+</b>	Presencia
<b>-</b>	Ausencia

## RESUMEN

**Introducción:** El uso de plantas medicinales asume un alto valor en el mundo debido a las propiedades que se le atribuyen, entre las que destacan propiedades antioxidantes dirigidas a la prevención y control de enfermedades debido a la creciente insatisfacción de la población hacia la medicina tradicional, por falta de éxito en tratamientos y efectos secundarios. Una alternativa eficiente y de bajo costo es el uso de plantas en el desarrollo de nuevos agentes para prevención, control y tratamiento de enfermedades. **Objetivo:** Caracterizar los compuestos con actividad antioxidante y antimicrobiana de los extractos de *Jatropha dioica* originaria de Durango. **Material y Métodos:** Estudio experimental en el que se obtuvieron extractos de los solventes: hexano, metanol, etanol, acetato de etilo y agua, separados en parte aérea y parte subterránea, se realizó tamizaje fitoquímico para identificar diferentes metabolitos. Se determinó la capacidad antioxidante por el método de ABTS y se realizó la curva de referencia con ácido ascórbico para comparación. Para evaluar la actividad antimicrobiana contra *S. aureus* (ATCC 6538), *E. coli* (ATCC 25922) se utilizó el método en micropozos. Se identificaron los compuestos de los extractos con mayor actividad antimicrobiana y antioxidante mediante Cromatografía Líquida de Ultra Alta Resolución (UHPLC). **Resultados:** Los extractos presentaron alcaloides, terpenos, fenoles, carbohidratos y flavonoides. Los extractos metanólico y etanólico de parte subterránea presentaron mayor porcentaje de capacidad antioxidante con 90.57 y 89.99 respectivamente, seguido del acuoso de parte aérea con 88.25. Los extractos hexánicos no tuvieron capacidad. El extracto acuoso parte aérea y los extractos metanólicos y etanólicos tuvieron mayor actividad antimicrobiana contra *S. aureus*, sin embargo, ninguno de los extractos probados mostró actividad contra *E. coli*. Los compuestos detectados por medio de UHPLC fueron: ácido shikímico, catequinas y epicatequinas. **Conclusión:** Los resultados de este estudio sugieren que *Jatropha dioica* originaria de Durango es fuente de diversos metabolitos secundarios que poseen actividades tanto antimicrobianas como antioxidantes.

**Palabras clave:** Extracto, antioxidante, antimicrobiana, metabolitos, *Jatropha*.

## ABSTRACT

**Introduction:** The use of medicinal plants assumes high value in the world due to the properties attributed to it, including antioxidant properties aimed at disease prevention and control due to the growing dissatisfaction of the population towards traditional medicine. , for lack of success in treatments and side effects. An efficient and low-cost alternative is the use of plants in the development of new agents for disease prevention, control and treatment.

**Objective:** To characterize the compounds with antioxidant and antimicrobial activity of *Jatropha dioica* extracts from Durango. **Material and Methods:** Experimental study in which solvent extracts were obtained: hexane, methanol, ethanol, ethyl acetate and water, separated in aerial and underground part, phytochemical screening was performed to identify different metabolites. The antioxidant capacity was determined by the ABTS method and the reference curve was performed with ascorbic acid for comparison. To evaluate the antimicrobial activity against *S. aureus* (ATCC 6538), *E. coli* (ATCC 25922) verify the method in micro wells. The compounds of the extracts with the highest antimicrobial and antioxidant activity can be identified by Ultra High Resolution Liquid Chromatography (UHPLC). **Results:** Extracts exposed alkaloids, terpenes, phenols, carbohydrates and flavonoids. The methanolic and ethanolic extracts of underground part located higher percentage of antioxidant capacity with 90.57 and 89.99 respectively, followed by the aqueous of aerial part with 88.25. The hexane extracts had no capacity. The aqueous aerial part extract and the methanolic and ethanolic extracts had greater antimicrobial activity against *S. aureus*, however, none of the extracts tested had activity against *E. coli*. The compounds detected by means of UHPLC were: shikimic acid, catechins and epicatechin. **Conclusion:** The results of this study identified that *Jatropha dioica* from Durango is a source of various secondary metabolites that have both antimicrobial and antioxidant activities.

**Keywords:** Extract, antioxidant, antimicrobial, metabolites, *Jatropha*.

## I.-INTRODUCCIÓN

En la actualidad, existe un interés especial por la medicina herbolaria, retomado el estudio de las propiedades de los extractos naturales y la búsqueda de opciones terapéuticas alternativas debido a la creciente insatisfacción de la población hacia la medicina convencional, por su falta de éxito en la cura de algunas enfermedades, los efectos colaterales que provocan ciertos medicamentos, además de aspectos económicos y la tendencia de adoptar modos de vida más “naturales”. Una de las ventajas principales de los productos naturales es la fácil asimilación por el hombre. La Organización Mundial de la Salud insiste en que el uso de plantas medicinales puede ser de gran aplicación en la atención primaria de los sistemas de salud, con bases científicas que sustenten la seguridad, efectividad y calidad requeridas para la administración en humanos. (1,2)

Las enfermedades infecciosas representan un problema importante de salud y son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo (3). Sin embargo, existen factores como la marginación, falta de cobertura de servicios de salud, así como el aumento a la resistencia microbiana ante los agentes antibióticos de las últimas décadas, que en suma se traduce en un control insuficiente de las enfermedades que siguen causando muertes a un ritmo cada vez más alarmante, que ha generado una intensa investigación para obtener nuevos antibióticos a partir de plantas medicinales (4-6).

Otro problema de suma importancia son las enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. La producción excesiva de radicales libres y los mecanismos desequilibrados de protección antioxidante dan lugar a la aparición de numerosas enfermedades y aceleran el envejecimiento. Los antioxidantes naturales surgen como alternativa superior a los sintéticos donde el reino vegetal ofrece una amplia gama de antioxidantes naturales relacionadas con la presencia de compuestos fenólicos (6).

En México existen cerca de 5000 especies de plantas con uso medicinal lo que representa una fuente potencial de compuestos medicinales poco explorada (7). Por esta razón se llevó a cabo la evaluación fitoquímica de *Jatropha dioica* o “Sangregado” por su nombre común, para conocer sus propiedades y saber si cuenta con actividades antimicrobianas y antioxidantes, apoyando con bases científicas su uso etnobotánico y su potencialidad para obtener nuevos medicamentos a partir de los extractos y compuestos encontrados.

## II.-ANTECEDENTES

### 2.1.-Medicina Tradicional.

De acuerdo a la definición de la Organización Mundial de la Salud (OMS), La medicina tradicional es la suma de conocimientos, técnicas y prácticas fundamentadas en las teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas, y que se utilizan para mantener la salud, tanto física como mental que han pasado de manera informal de generación en generación.

Conviene mencionar que la medicina tradicional, también se conoce como: complementaria, alternativa, popular, blanda, marginal, no oficial, no ortodoxa y no convencional (8).

Sus conocimientos se fundamentan en ideas culturalmente definidas y no en conocimientos científicos. Dentro de la medicina tradicional se engloba un extenso conocimiento herbolario, acupuntura, factores de tipo mágico, religioso e incluso recursos de tipo mineral o animal. Históricamente, la medicina tradicional se ha utilizado para mantener la salud, y prevenir y tratar enfermedades, en particular enfermedades crónicas.

La medicina tradicional se practica en casi todos los países del mundo, y la demanda va en aumento. La medicina tradicional de calidad, seguridad y eficacia comprobadas contribuye a asegurar el acceso de todas las personas a la atención de salud. Muchos países reconocen actualmente la necesidad de elaborar un enfoque coherente e integral de la atención de salud, que facilite a los gobiernos, los profesionales sanitarios y, muy especialmente, a los usuarios de los servicios de salud, el acceso a la medicina tradicional de manera segura, respetuosa, asequible y efectiva. Una estrategia mundial destinada a promover la integración, reglamentación y supervisión apropiadas de la medicina tradicional será de utilidad para los países que desean desarrollar políticas

dinámicas relativas a esta parte importante, y con frecuencia vigorosa y expansiva, de la atención de salud.

Es un hecho que, en las últimas décadas, la medicina tradicional se ha difundido ampliamente a nivel global, incluidos los países desarrollados. La explicación de ello no es una sola, se imbrican varias, principalmente aspectos económicos y, en algunos casos, la ineficacia e ineficiencia de la otra alternativa, la de la llamada medicina “convencional”.

Por lo anterior, surge la necesidad de lograr un control sobre el uso de la medicina tradicional de manera global, dando origen a la Estrategia de la Organización Mundial de la Salud sobre medicina tradicional 2014–2023 que ayuda a las autoridades sanitarias a encontrar soluciones que propicien una visión más amplia respecto del mejoramiento de la salud y la autonomía de los pacientes que puedan aprovechar la posible contribución de la medicina tradicional a la salud, el bienestar y la atención de salud centrada en las personas, y a su vez, promover la utilización segura y eficaz de la medicina tradicional mediante la reglamentación de productos, prácticas y profesionales.

Las ventajas de asegurar un acceso de todas las personas a la medicina tradicional es que para millones de personas los tratamientos tradicionales representan la principal fuente de atención sanitaria, y a veces la única, además es culturalmente aceptada y en ella confían.

Más de 100 millones de europeos utilizan actualmente la medicina tradicional; una quinta parte de ellos recurre de manera regular, y una proporción similar prefiere atención sanitaria que incluya tratamientos tradicionales. El número de usuarios es mucho mayor en África, Asia, Australia y América del Norte que, independientemente de los motivos por los que se recurre a la medicina tradicional, es indudable que el interés por ellas ha aumentado, y seguramente seguirá aumentando en todo el mundo (8).

### **2.1.1-Medicina tradicional en México.**

El estudio y reconocimiento de la medicina tradicional ha tomado mayor fuerza en América Latina y en especial en México ya que es un fenómeno vigente de la cultura nacional que podría definirse más bien como un legado de recursos y prácticas curativas. Puede ser considerado un mosaico de piezas procedentes de culturas diferentes que han determinado históricamente el desarrollo de la cultura nacional. La cultura del México actual se produjo entre las culturas prehispánica y española fusionadas desde fines del siglo XVI que a lo largo del tiempo ha generado una medicina popular donde pueden encontrarse recursos, prácticas o nosologías provenientes de fusiones culturales.

En la práctica, cuando los mexicanos se encuentran enfermos, recurren a muchas y variadas instancias de su medicina tradicional antes de acudir a servicios asistenciales de salud. La combinación de alternativas es una realidad práctica que explica el porqué de la sobrevivencia en México, a pesar de la deficiente cobertura de los programas de atención primaria de salud y de las instituciones médicas, tema que puede ser utilizado para investigaciones posteriores sobre la importancia de combinar la medicina tradicional con la convencional.

El Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), consciente de la trascendencia que tiene una adecuada interacción con la medicina tradicional mexicana en el diseño de acciones de salud más acordes con la realidad social y cultural del país, sobre todo en las zonas rurales, creó la Unidad de Investigación Biomédica en Medicina Tradicional y Herbolaria (UMTH) con el objetivo fundamental de buscar, diseñar y poner en práctica programas de investigación y desarrollo, que permitan a mediano plazo establecer una colaboración entre la medicina tradicional e institucional, y desarrollar un proceso de estudio continuo mediante el cual pueda rescatarse el bagaje médico cultural que durante siglos ha sido preservado por la medicina tradicional.

Los estudios de campo que se han realizado se complementan con estudios de laboratorio sobre plantas medicinales colectadas en ciertas zonas con el

propósito de conocer sus propiedades curativas junto con la creación de una base de datos que incluye información botánica, química y farmacológica de las plantas (9).

Los patrones de utilización de la medicina tradicional dependen de diversos factores tales como la cultura, la importancia histórica y los reglamentos. Las causas más comunes por las que las personas la utilizan son: Debido a que la disponibilidad a servicios de salud es muy limitada a diferencia de la medicina tradicional que puede considerarse de las principales prácticas de atención de salud, por una creciente insatisfacción con los servicios de atención de salud existentes, por influencias culturales e históricas ya que en zonas rurales o indígenas es más común el uso de plantas para curar ciertas enfermedades, y el uso de medicina tradicional como terapia complementaria donde se combina el uso de ciertos medicamentos con alguna terapia herbolaria o acupunturista (10).

## **2.2.-Plantas medicinales.**

Según datos de la Organización Mundial de la Salud, el 80% de la población mundial recurre a la medicina tradicional para atender sus necesidades primarias de asistencia médica (2) y gran parte de los tratamientos tradicionales implica el uso de extractos de plantas o sus principios activos, por lo que su estudio es un objetivo prioritario tanto para la Organización Mundial de la Salud como para numerosas instituciones internacionales (11).

De acuerdo con la OMS una planta medicinal es definida como cualquier especie vegetal que contiene sustancias que pueden ser empleadas para propósitos terapéuticos o cuyos principios activos pueden servir de precursores para la síntesis de nuevos fármacos (2,12).

Los recursos vegetales son utilizados en la actualidad por amplios y diversos sectores de la sociedad. Este consumo puede atribuirse a diversos factores. Todos los pueblos poseen un sistema médico compuesto básicamente por una cosmología que da fundamento a la causa, diagnóstico y tratamiento de la

enfermedad, así como un contexto cultural dentro del cual se desarrollan las actividades médico-terapéuticas junto con un repertorio de sustancias farmacéuticas. En algunos casos, como lo es el de áreas rurales, donde tienen amplia vigencia los sistemas médicos tradicionales, y otras zonas alejadas o excluidas del sistema oficial de salud se apela a las plantas como la principal fuente de elementos terapéuticos.

Las plantas, gracias a su maravilloso y complejo metabolismo, constituyen un verdadero arsenal químico, del cual sólo se conoce con éxito un tercio, considerando la variedad de especies existentes a nivel mundial y aquellas inexploradas hasta hoy, sin considerar aquellas especies ya extintas. Paracelso, el padre de la Farmacología Química, médico y químico suizo en pleno Renacimiento, fue el primero en señalar que las propiedades medicinales de las plantas radican en sus principios activos aislables por técnicas alquímicas (13).

En las últimas tres décadas ha renacido el interés por el estudio y uso de las plantas como recurso terapéutico, así como también una marcada tendencia popular, oficial y comercial en el consumo de productos biológicos naturales sobre la base de la creencia popular referida a la inocuidad de las plantas y su superioridad sobre las drogas sintéticas.

Estas tendencias han motivado la elaboración y comercialización a gran escala de una gran cantidad de productos vegetales de consumo masivo que contribuyen a que la circulación y uso de hierbas medicinales se realicen sin un conocimiento profundo y desprovisto de estricto control oficial, razón por la cual puede implicar peligros para la salud de la sociedad. Tal situación no ha sido comúnmente motivo de reflexión por parte de los consumidores de productos elaborados, pero actualmente es frecuente observar la preocupación de la población por informarse acerca de distintos elementos de origen vegetal empleados con diversos fines, con un énfasis especial en los terapéuticos (14).

Las plantas curativas son el recurso terapéutico por excelencia de la medicina tradicional mexicana, que en gran parte es aún rescatable y puede constituir un

importante elemento para implementar nuevos planes de salud, que combinen el conocimiento popular con el científico (15).

México tiene una gran herencia cultural en el uso de plantas medicinales para tratar diferentes padecimientos, la cual se inició varios siglos antes de la conquista. Se han identificado hasta 5,000 especies que tienen aplicaciones curativas, las cuales son comúnmente utilizadas por más de 60 grupos étnicos (16). Muchos de los usos están restringidos por las autoridades de salud, sin embargo, aún forman parte de la tradición y cultura popular (17).

En el ámbito nacional la comercialización de plantas medicinales y aromáticas endémicas por tradición funciona en mercados locales y pueden ser de gran importancia económica en el ámbito internacional por la amplia gama de principios activos. Se estima que en el “mercado de Sonora” de la Ciudad de México, se venden diariamente 10 toneladas de plantas curativas y 116 toneladas a nivel nacional, a consecuencia de la alta demanda de plantas medicinales, su recolección se ha convertido en una actividad de alta rentabilidad (18).

En lo que se refiere a la recolección de plantas medicinales se ha documentado que más del 85% de las especies que se comercializan en los mercados locales y tiendas naturistas provienen de la recolección silvestre, los que no cuentan con programas de manejo y carecen de control por parte de dependencias gubernamentales como la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) y la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS). Esta situación en algunos casos ha generado reacciones adversas cuando son administradas por personas sin capacitación en medicina tradicional, aunado a que los nombres de las plantas varían considerablemente en cada región, lo que causa confusión al identificar especies (18). Por lo que es necesario elaborar estudios sistemáticos para un mejor aprovechamiento de las especies nativas que se encuentran en los centros bioculturales (19). Otra de las características del mercado nacional de las plantas medicinales es que el 75 % de ellas provienen de comunidades

indígenas y rurales de la región centro-sur de la República Mexicana (16). Estas condiciones hacen que el cultivo de especies con utilidad aromática y medicinal sea cada vez más necesario (20). Los principales motivos de producción son los que se describen a continuación:

1. Contribuir a evitar la sobreexplotación de los recursos silvestres y el peligro de extinción de algunas especies.
2. Disponibilidad de la materia prima vegetal homogénea y libre de contaminantes.
3. Mejorar la calidad y cantidad de los principios activos.
4. Estandarización de la materia prima para los laboratorios fabricantes de medicamentos (21).

Como se menciona anteriormente, las plantas son fundamentales en el desarrollo de la medicina moderna. Su acción preventiva o curativa se debe a sustancias químicas que provocan un efecto fisiológico en el organismo. Estas sustancias se conocen como principios activos y, generalmente, son producto del metabolismo secundario de la planta. Los principios activos tienen propiedades medicinales o preventivas, o funcionan incrementando el bienestar. Algunos actúan como antibióticos o antisépticos, otros son sedantes o analgésicos, u operan como estimulantes sobre el sistema nervioso, o tienen actividad neuromuscular o muscular, entre otros efectos (22).

### **2.3.-Fitoterapia y metabolitos secundarios.**

La fitoterapia es un neologismo empleado por Henri Leclerc, médico francés (1870-1955), en los comienzos de siglo, desde entonces la palabra fitoterapia es utilizada para designar la utilización de las plantas medicinales con fines terapéuticos, que serviría más tarde para diferenciarla de la forma de curar actual; la medicina sintética o convencional. En 1980 ya contaba con una definición más acabada: “terapia complementaria que utiliza plantas o partes de ellas donde el empirismo de la medicina tradicional se transforma en fundamento científico”, en otras palabras, a la medicina tradicional o autóctona

se la pone a prueba en laboratorios siguiendo el método científico para validar o descartar el uso popular. De esta forma organizaciones e instituciones mundiales se han ocupado de este aspecto y divulgan sus resultados para asegurar el correcto uso, eficacia y seguridad de los recursos medicinales vegetales. Aunque es reconocida por la OMS, el problema de cómo armonizar la fitoterapia con la llamada medicina convencional no ha sido resuelto del todo. La OMS reconoce la importancia de las plantas medicinales en el tratamiento y prevención de múltiples enfermedades, como también la relevancia a nivel económico al ser una fuente de descubrimiento de nuevas drogas que en algunos casos tiene un costo muy inferior a la síntesis de nuevos fármacos (13).

A diferencia de la medicina sintética o convencional, la fitoterapia utiliza matrices vegetales complejas. Estas matrices las constituyen plantas enteras, partes de ellas (hojas, raíces, etc), y también productos de éstas, resultados de tratamientos directos con algún disolvente o medio que concentre los compuestos afines y facilite su administración, son los llamados extractos. En cualquier caso, en esta matriz compleja nos encontramos con un sin número de compuestos de diferente naturaleza química, a esta mezcla se la llama fitocomplejo.

El fitocomplejo es la mezcla de sustancias activas y otras acompañantes que actúan en conjunto para lograr un mismo fin terapéutico, que no sería el mismo si se administraran por separado, o sea como monosustancias. Estas sustancias activas son llamadas técnicamente metabolitos secundarios y se refieren a las sustancias que son el producto secundario de la fotosíntesis y que intervienen en procesos vegetales como la defensa frente a patógenos, y protección a los rayos UV, entre otros. La mezcla de metabolitos secundarios es única para cada especie, puesto que su biosíntesis se rige principalmente por la genética vegetal, pero también influyen la fisiología, el estrés, la procedencia geográfica y condiciones de recolección del vegetal, entre otros factores.

Los metabolitos secundarios corresponden a compuestos que dependiendo de la orden genética pueden ser biosintetizados siguiendo diversas rutas

metabólicas, así podemos encontrar compuestos de la familia fenólica como los flavonoides; terpénica como las saponinas y aceites esenciales; alcaloidea (alcaloides varios como la cafeína); esteroidea como los cardiotónicos y fitohormonas, y polímeros heterogéneos como las gomas y mucílagos (14).

#### **2.4.-Fenología de las plantas.**

La fenología estudia los cambios periódicos de la vida vegetal, como la brotación, floración, la maduración de frutos, la caída de hojas, entre otras, que están relacionados con el clima de la localidad en la que ocurren. Este estudio de la fenología permite analizar y comprender las respuestas de los seres vivos a las condiciones ambientales a lo largo de su ciclo de vida, conociendo las fechas de inicio y fin de las fases de crecimiento y desarrollo junto con el registro cronológico de las mismas y la determinación de su posible correlación con los factores ecológicos. De tal manera, que conociendo estas etapas se podrá implementar el uso óptimo de insumos y el aprovechamiento de los factores genéticos y ambientales.

La recolección de las plantas depende en consecuencia de su fenología, para conservar su acción de acuerdo con la época u hora de recolección. Estudios científicos relativos a la fisiología vegetal nos revelan que la composición de una planta cambia a lo largo del día, dependiendo que, si hubo días soleados o nublados, de la estación del año, etcétera; es decir, que la producción cualitativa y cuantitativa de los metabolitos (primarios y secundarios) de una planta va a estar en relación con su fenología.

El producto variará según sean, los factores ambientales o limitantes ecológicos: el suelo, clima, latitud, longitud, la altitud sobre el nivel del mar, la precipitación y la exposición a la que está creciendo. Por ejemplo, una planta utilizada como fuente de importantes alcaloides utilizados como antitumorales (*Catharanthus roseus*) hay una gran variación en la actividad biológica de sus hojas procedentes de la India comparadas con las recolectadas en Canadá, no pudiendo precisar con claridad si la diferencia pudo haber sido debido a las condiciones climáticas o a las del suelo. En ocasiones, los periodos de

descanso de las plantas van de acuerdo con la estación con menos lluvias, mientras que en otras la latencia es favorecida por las heladas.

La época de recolección puede variar de acuerdo a factores fisiológicos y ser, por ejemplo, antes, durante o después de la floración, proceso que depende, entre otras razones, de la acción de factores ambientales como la luz y de la acción de complejos de sustancias que se relacionan con dicha etapa del desarrollo, entre ellas, las de las hormonas, lo que ocasiona que la composición química en general de la planta varíe. Por ejemplo, se han observado mayores rendimientos del aceite esencial de la manzanilla (*Matricaria chamomilla*) cuando el 50% de las flores tubulares se encuentran abiertas, comprobándose que, durante el curso del desarrollo y maduración de las flores, la composición tanto cualitativa como cuantitativa del aceite presenta variaciones.

La floración y diversos procesos vegetales son controlados por la longitud del día o fotoperiodo. A algunas plantas se les denomina de día largo como la lechuga, papa y manzanilla que inician y producen botones florales sólo cuando la longitud del día es mayor que un periodo crítico que oscila entre 12 y 14 horas, que generalmente florecen en el verano. Otras plantas se denominan de día corto, por ejemplo, la flor de nochebuena, los crisantemos y las violetas que comúnmente florecen en primavera o en el otoño, aunque los horticultores controlan de forma artificial la luz que reciben las plantas, para lograr la floración en cualquier época del año. También se encuentran especies de día intermedio, las que sólo florecen cuando la longitud del día se encuentra en cierto margen, permaneciendo sin flores tanto si el día es muy corto o largo. Por el contrario, las plantas como el algodón, el tomate y el diente de león, pueden producir flores durante una amplia variedad de longitudes diarias del fotoperiodo.

Por otra parte, algunas especies originarias de climas fríos requieren para el crecimiento de hojas, flores y frutos, de la presencia de un determinado número de horas frío. Por ejemplo, los duraznos necesitan 400 horas o más de una temperatura de 7°C o inferior, la zarzamora necesita 800 horas y los manzanos

aún más. La temperatura baja es requerida para estimular la formación de yemas florales.

Respecto a la hora de colecta se han realizado estudios con manzanilla que refieren variaciones considerables en el contenido de su aceite como resultado de la variación climática ocurrida durante el tiempo de la investigación, así como cambios diurnos, de acuerdo con el clima, en tiempo claro y caluroso, los máximos rendimientos del aceite ocurrieron a las 8:00 am y a las 14:00 y 17:00 horas, mientras que los mínimos se encontraron a las 11:00 horas y durante la noche. En cambio, durante la época lluviosa, el ciclo fue ininterrumpido. La temperatura óptima para la formación y acumulación del aceite se encontró entre los 20 y 25°C, temperaturas más altas produjeron pérdidas por evaporación. Es creciente la evidencia que la composición de cierto número de metabolitos vegetales secundarios varía apreciablemente del día a la noche.

Para conocer con algún margen de precisión la hora del día y la época estacional y fenológica, de recolección de una especie, se debe saber primero el tipo de hábito de desarrollo de la planta, es decir, si es anual, bianual o perenne, para averiguar la época en la que posee su mayor riqueza en principios activos.

Recomendaciones generales:

- Para encontrar en las plantas una mayor concentración de esencias y alcaloides, su recolección debe hacerse después de días lluviosos o nublados y fríos.
- La riqueza en glucósidos aumentará en los días despejados y con altas temperaturas.
- Si los órganos o partes empleadas son las hojas, deben recolectarse antes de la floración o cuando comiencen a abrirse estas últimas.
- En caso de utilizar la flor, esta variará según la época.

- Las cortezas, por comodidad, se recolectan por lo general tras un periodo húmedo.

Las plantas en general elaboran sustancias no sólo en respuesta a las condiciones meteorológicas o físicas, también el estrés por carencia o exceso de agua, el ataque de una plaga o la falta de abundancia de un elemento en el suelo también influye en su metabolismo y, por tanto, en la producción o no de sus metabolitos secundarios (23).

### **2.5.-Género *Jatropha*.**

*Jatropha* es un género de la familia *Euphorbiaceae* que cuenta con 175 especies, 45 de ellas se encuentran en México, donde el 77% son endémicas (24). Son nativas de América Central y Caribe, aunque también se distribuyen por América del Norte, Asia y África, en zonas tropicales y subtropicales. Generalmente son arbustos o árboles caracterizados por un exudado transparente o coloreado que emana cuando la planta sufre algún daño, sus hojas son alternas y su fruto capsular contiene de una a tres semillas ovoides o subglobosas. Se les conoce comúnmente como “piñoncillo”, “piñón o pistache mexicano” por la forma de sus semillas, o “sangre de grado” aludiendo al abundante exudado que generalmente pinta de color rojo oscuro.

Entre las especies del género destaca *Jatropha curcas*, pues de su semilla, molida y prensada, se obtiene un aceite no comestible, que transesterificado (reacción del aceite con diversos alcoholes —alcoholisis— como metanol o etanol mediante la transesterificación) da lugar a un aceite de diferente color, el aceite de tempate, con características de combustión semejantes al diésel obtenido de combustibles fósiles. Gracias a ello, el aceite tiene gran importancia como un combustible alternativo (biodiesel), y existen en América Central proyectos de investigación dedicados a su explotación (25), y en el caso de ciertas poblaciones, también se emplean en algunos lugares de México para consumo humano, solas tostadas en comal o combinadas con otros ingredientes para la preparación de diferentes platillos (24). En general, sus propiedades medicinales se resumen en el uso de su látex, el cual resulta muy

efectivo para combatir calambres y otras afecciones musculares. En estos casos el procedimiento tradicional, en América Central, consiste en disolver siete gotas del látex en una taza de agua, y la solución se bebe para reducir las contracciones, gracias a su acción cicatrizante. Las semillas, crudas o molidas, junto con una cucharada de látex, tienen efectos purgativos y sirve para combatir el estreñimiento. Para combatir odontalgias (empapando un algodón con el látex y aplicándolo sobre las caries), úlceras estomacales (tomando dicha resina durante quince días por las mañanas), conjuntivitis (aplicando una gota de la resina de la corteza en el ojo afectado), heridas (aplicación del látex directamente sobre la herida), como antiséptico y cicatrizante vaginal (frotando la resina entre las manos hasta obtener una sustancia espumosa que se unta en la zona afectada), etc. De entre las muchas virtudes medicinales, quizá la más significativa sea la anticancerígena, ya que el consumo directo de látex, tres veces al día, parece resultar efectivo en el tratamiento de algunos periodos iniciales del cáncer. Tales propiedades parecen deberse a ciertos compuestos presentes en la corteza como el citrasterol y algunos triterpenos.

Las hojas son especialmente ricas en heterósidos cianogénicos y en flavonoides. De hecho, en Nigeria utilizan el extracto de las hojas y raíces de esta planta en la etnomedicina local, como remedio para el cáncer, y como abortivo, antiséptico, diurético, purgativo y hemostático. En el sur de África se documenta que este árbol sirve para 'controlar la reproducción', por sus capacidades abortivas. Estudios experimentales han demostrado actividad anticonceptiva del látex en esperma de ratas; siendo un jatrofano (diterpeno) el principio citotóxico implicado al interrumpir la división mitótica de los fetos. Sin embargo, el consumo en abundancia de sus semillas puede producir diarreas, espasmos musculares y dilatación de pupilas. En ratas, se ha demostrado cierta capacidad antiinflamatoria del látex de la planta, propiedad que concuerda con las actividades anticoagulante y cicatrizante demostradas. Resulta interesante indicar algunos estudios sobre esta especie (26, 27), que parecen señalar que los extractos acuoso y alcohólico de sus hojas muestran actividad frente al virus del sida (HIV-1), con señaladas propiedades citoprotectivas. El único problema

es que dichos extractos resultan a su vez tóxicos frente a líneas celulares humanas. Diversos compuestos fenólicos, del tipo de las cumarinas, parecen estar implicados en la actividad antivírica.

La principal toxina presente en *Jatropha curcas*, así como en otras especies del género, es un éster del forbol, enormemente tóxico para animales y seres humanos (28). Por su parte, los factores antinutricionales corresponden a un inhibidor de la tripsina, lectinas y fitato (29, 30).

Otra de las especies más estudiadas es *Jatropha gossypifolia* ampliamente distribuida por Centroamérica y América del Sur. Una de las principales aplicaciones medicinales es su uso frente a empachos o indigestiones: se toman tres cogollos verdes, se hierven en un cuarto de un vaso de agua y se toma la decocción. En casos de diarrea se toma una cuarta de agua de una botella de 500 ml, se majan tres raíces medianas, y se suministra al enfermo 2-3 dedos o cucharadas con cada comida. En Nicaragua se ha documentado el uso del látex para sanar y curar quemaduras (31). Este mismo látex se usa en el tratamiento de úlceras epiteliales, mientras que la decocción de las hojas se utiliza como purgativa (32). La decocción de hojas del quelite también puede utilizarse, externamente, en forma de baños, para tratar úlceras, esguinces y erupciones cutáneas; en general ante cualquier afección que implique procesos dolorosos.

Diversos estudios fitoquímicos, de las partes aéreas (hojas y corteza), muestran que en él se encuentran cumarinas de tipo lignoide, como la propacina o la cleomiscosina A con gran valor taxonómico; diterpenos como jatrofona y análogos, y jatrolonas A y B (33-35). En el extracto alcohólico de las hojas abundan flavonoides C-glicósidos tales como vitexina, apinenina e isovitexina (36); mientras que en extractos no polares son los lignanos como el jatroideno, jatrofano, gadaína y venkatasina (33, 37, 38). Este compendio de metabolitos secundarios del quelite, sobre todo los presentes en sus hojas, parece ser el responsable de sus propiedades anticoagulantes (37), purgativas y febrífugas, así como su amplio espectro de acción antibiótica frente a ciertos

microorganismos relacionados con desórdenes estomacales como *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* o *Aspergillus niger* (40).

*Jatropha neopauciflora* es otra de las especies más estudiadas debido a su uso en el tratamiento de llagas e infecciones de la cavidad oral, suelta dientes, pie de atleta y heridas (41, 42). El látex ha mostrado actividad antibacteriana, especialmente contra bacterias Gram-positivas (43). Se analizó el extracto de contra cinco hongos dermatofitos y mostró importante actividad antifúngica (44).

*Jatropha gossypifolia* mostró actividad antibacteriana (45), y el extracto de metanol de las hojas de *Jatropha gaumeri* Greenm mostraron actividad antioxidante significativa (46).

Finalmente, cabe señalar que las especies del género *Jatropha* son bien conocidas por su alta toxicidad, ya que su mayoría cuenta, en su látex, con un cóctel de toxinas muy elevado. A pesar de ello, algunas especies, albergan un potencial medicinal muy particular que merece una atención pormenorizada (25).

### **2.5.1.-*Jatropha dioica*.**

*Jatropha dioica* es una planta originaria de México, también comúnmente conocida como sangre de drago, sangre de grado o sangregado. Es un arbusto de 50 cm a 1.50 m de altura y debe su nombre común a que tiene un jugo incoloro que cambia a oscuro al contacto con el aire. Sus ramas son de color rojizo-moreno con las hojas más largas que anchas. Permanece sin hojas la mayor parte del año. En época de lluvias aparecen las hojas, agrupadas en fascículo, espatuladas a obovadas con borde entero o lobulado. Presenta flores pequeñas (aproximadamente 5 mm), blanquecinas, y tiene frutos asimétricos de aproximadamente 1.5 cm de largo y tienen una semilla en su interior (47).

Categoría taxonómica:

Reino: *Plantae*; División: *Magnoliophyta*; Clase: *Magnoliopsida*; Orden: *Malpighiales*; Familia: *Euphorbiaceae*; Género: *Jatropha* (48).

Se localiza en las zonas áridas y semiáridas del norte del país y de Estados Unidos al centro de México (desde Texas y Chihuahua hasta Oaxaca). Los meses en los que se encuentra mayor cantidad de la planta son en marzo, julio y octubre y en menor cantidad durante mayo y noviembre.

Para lograr la producción de sus frutos es necesario un suelo rocoso, sol de media sombra a sol directo y cantidad moderada de agua. Su proceso de germinación se da en un plazo de un mes (49).

*J. dioica* es comúnmente utilizada en el sector agrícola para protección de cultivos y cercas vivas e incluso es utilizada en los hogares para dar color oscuro al cabello. El uso medicinal que con mayor frecuencia se da a *J. dioica* es para evitar la caída del cabello para lo cual se cuecen los tallos, la planta entera o la raíz machacada en agua, y con este líquido se enjuaga el cabello después de lavarlo, cada tercer día. Otra forma de uso es hervir la planta para aplicarla en forma de cataplasma, o bien sólo se cuece. El agua resultante de la cocción es utilizada en forma de baños para quitar la sarna o en lavados para aliviar la infección de golpes, heridas y granos, aseando previamente con jabón de pasta neutro; para los ojos irritados “mal de los ojos”, eliminar nubes en los ojos y curar la ceguera, se exprime el fruto sobre ellos dejando caer dos o tres gotitas. También se recomienda aplicar una gota de látex sobre la piel para sacar espinas, dos gotas en las muelas picadas para provocar su desprendimiento, frotar en la parte afectada para contrarrestar el efecto de las úlceras, y masticar las raíces o tallos o ambos para amacizar los dientes “dientes flojos” (47).

*J. dioica* es una especie muy poco estudiada. Las únicas investigaciones que existen se han hecho por científicos mexicanos en colaboración con extranjeros, son relativamente antiguas. Sin embargo, de la raíz se han identificado tres diterpenos, la citlalitrona, jatrofona, y riolosatrona y un esteral, el R-sitosterol. De las raíces se obtiene un aceite esencial, resina, saponinas, un alcaloide y ácido oxálico. De los tallos emana un látex rico en taninos.

Además, se ha demostrado que extractos acuosos de la raíz ejercen una actividad antibiótica contra *Staphylococcus aureus* (50).

Recientemente Aguilera y cols. (2008) cuantificaron uno de los taninos presentes en *Jatropha dioica*, específicamente el ácido elágico, reportando una concentración de 0.81 mg de planta por lo que puede ser considerada como una importante fuente alternativa de dicho compuesto debido a sus propiedades relacionadas a la salud, como acciones antiesteroescleróticas, propiedades anticarcinogénicas resultando en una reducción de cáncer de colon humano, próstata, cervical, lengua, esófago y piel y con propiedades en la industria alimentaria como agente antioxidante. A pesar de que esta planta contiene ácido elágico, se podría suponer que éste no es uno de sus compuestos principales debido a las bajas concentraciones en las que se encuentra. Esto realza todavía más la importancia de la investigación de *Jatropha dioica* al pensar en la presencia de compuestos distintos aún no explorados y con mayor relevancia (51) (Tabla No. 1).

#### **2.5.1.2.-Estudios recientes realizados a *Jatropha dioica*.**

Como se menciona anteriormente, es una especie poco estudiada y las investigaciones que existen son relativamente antiguas, sin embargo, en la tabla no. 1 se enlistan las investigaciones más recientes, destacando la presencia de alcaloides, triterpenos y flavonoides en los extractos estudiados (52-54). En capacidad antioxidante, los extractos hexánicos resultaron negativos a las pruebas (52), en extractos etanólicos e hidroalcohólicos la capacidad antioxidante resultó mayor en raíz, atribuyen esta capacidad a polifenoles y terpenos (54). Wong-Paz y cols. en 2015 estudiaron los métodos para cuantificar la capacidad antioxidante resultando el método ABTS como el mejor comparado con DPPH y de inhibición de la oxidación de lípidos (55). En actividad antimicrobiana los extractos hexánicos tuvieron mayor actividad en bacterias grampositivas e inactivos en gramnegativas (56), además los extractos metanólicos resultaron activos (53), atribuyen esta actividad a la presencia de terpenos como  $\beta$ -sitosterol (56). Respecto a los estudios

realizados con HPLC, Wong-Paz y cols. (2015) no detectaron presencia de compuestos fenólicos (55) y en 2018 Vargas-Segura y cols. en HPLC/MS encontraron flavonoides, proantocianidinas, saponinas, fenoles, taninos y cumarinas (57).

**Tabla. 1 Estudios realizados a *Jatropha dioica*.**

Autor	Titulo	Lugar y fecha de recolección	Parte utilizada	Resultados
Aguilera y cols. (2008) (51)	Extraction and analysis of ellagic acid from novel complex sources	Saltillo Coahuila 2007	Extracto etanólico de la planta entera	Se identificó 0.81 mg – 1 g de ácido elágico con propiedades anticarcinogénicas y antioxidantes. No es uno de sus componentes principales
Belmares y cols. (2013) (56)	Antimicrobial and Cytotoxic Activities from <i>Jatropha dioica</i> Roots	Santa Catarina, Nuevo León Junio 2009	Extracto hexánico, metanólico y de acetona de la raíz	Extracto hexánico con mayor actividad en grampositivas, inactivo en gramnegativas. Se atribuye esta actividad a terpenos como $\beta$ -sitosterol.
Martínez y cols. (2014) (52)	Análisis fitoquímico de <i>Jatropha dioica</i> y determinación de su efecto	Colonia de Huitel, Municipio de Tezontepec	Extracto hexánico, metanólico y acuoso de la parte	Presencia de alcaloides, triterpenos, flavonoides y esteroides en todos los extractos.

	antioxidante y quimioprotector sobre el potencial genotóxico de ciclofosfamida, daunorrubicina y metilmetanosulfonato evaluado mediante el ensayo cometa.	de Aldama, Hidalgo. Sin fecha	subterránea	Para el extracto hexánico la capacidad antioxidante resultó negativa.  Flavonoides y terpenos con actividad antioxidante.
Villarreal y cols. (2014) (53)	Potencial antibacterial, actividad citotóxica y mutagénica de <i>Krameria ramosissima</i> , <i>Larrea tridentata</i> , <i>Jatropha dioica</i> y <i>Leucophyllum frutescens</i> .	La Colorada, Santa Catarina Nuevo León Enero 2010	Extracto metanólico de la raíz	En tamizaje se encontraron triterpenos, esteroides, flavonoides y carbohidratos.  Seguida de <i>K. ramosissima</i> , <i>J. dioica</i> presentó mayor actividad antimicrobiana (8.05± 0.40 mm)
Wong-Paz y cols. (2015) (55)	Total phenolic content, in vitro antioxidant activity and chemical composition	Parras de la Fuente, Coahuila Enero 2011	Extracto hidroalcohólico y acuoso de tallo y raíz	Capacidad antioxidante: DPPH: 15.4%; ABTS: 24%; Ensayo de inhibición de la oxidación de lípidos: 13.9%

	of plant extracts from semiarid Mexican region.			En HPLC no se detectaron compuestos fenólicos.
Ramírez y cols. (2017) (54)	Determinación de los compuestos polifenólicos en extractos de <i>Jatropha dioica</i> y su capacidad antioxidante.	Ejido El Manantial, municipio de Matamoros, Coahuila. Mayo 2015	Extracto hidroalcohólico y acuoso de tallo y raíz e infusiones de tallo y raíz	Presencia de flavonoides y triterpenos en raíz. En extracto hidroalcohólico del tallo solo hubo presencia de flavonoides. La concentración de polifenoles fue mayor en raíz. Capacidad antioxidante mayor en raíz. El 89% de la capacidad antioxidante se debe a la presencia de polifenoles en los extractos de la planta.
Vargas-Segura y cols. (2018) (57)	Screening and characterization of medicinal plants extracts with bactericidal activity against	No especificado	Extracto acuoso y etanólico	Ambos extractos tuvieron actividad antimicrobiana. En HPLC/MS se encontraron flavonoides,

	<i>Streptococcus mutans</i>			proantocianidinas, saponinas, fenoles, taninos y cumarinas.
--	-----------------------------	--	--	---

## 2.6.-Enfermedades infecciosas.

Las enfermedades infecciosas son la segunda causa de muerte después de las enfermedades cardiovasculares. Actualmente, amenazan los avances obtenidos en salud y esperanza de vida y son consideradas la primera causa de muerte en niños en el mundo ocasionando más de 13 millones de defunciones al año, es decir, una de cada dos muertes en países en desarrollo (58).

Además de la morbilidad y mortalidad causada por enfermedades infecciosas, existen otros factores que han sido estudiados como parte de las consecuencias colaterales de las enfermedades infecciosas, tales como la magnitud del dolor y sufrimiento individual, la prevalencia y repetición de los procesos infecciosos y su relación con la incapacidad de asistir a trabajar y los daños psicológicos a causa del dolor, la depresión y angustia (59).

Las enfermedades de etiología infecto-contagiosa siguen siendo las principales causantes de las muertes de infantes en México, de hecho, tres de los cinco principales padecimientos que ocasionan las muertes son transmisibles (tipo infecciosas). Un análisis donde se comparan las muertes en 1985 (21.7%) contra 2007 (7.2%) muestra que las muertes por enfermedades infecciosas y parasitarias han disminuido de manera significativa entre los menores de un año, sin embargo, sus cifras siguen siendo alarmantes, siendo las muertes por infecciones intestinales las más destacables. En general, las enfermedades infecciosas en los menores de un año ocupan el cuarto lugar (58, 60).

En la República Mexicana la situación de la mortalidad en edades preescolares es parecida a la infantil. En 2010, las muertes por enfermedades infecciosas y parasitarias representaron 16%, ubicándolas como la segunda causa de defunción, destacando las infecciones respiratorias. En el grupo de niños en

edad escolar (5 a 14 años) por esta causa, se ubica en cuarto lugar en varones y quinto en mujeres con 4.7 y 6.5% de defunciones. Por otro lado, la estadística muestra que mientras aumenta la edad en la población mexicana las enfermedades infecciosas son desplazadas a los últimos lugares siendo prevalentes nuevamente en las edades más adultas.

Aunque las tendencias y niveles de mortalidad son diferentes para cada sexo y grupo de edad, las estadísticas de las defunciones registradas muestran que en las últimas décadas las enfermedades de tipo infecciosas se encuentran entre las cinco principales causas de muerte en México, siendo las enfermedades infecciosas respiratorias e intestinales las más importantes (58 - 60).

### **2.7.-Resistencia bacteriana a los antibióticos.**

Las enfermedades infecciosas siguen siendo, a principios de este siglo, una de las causas más importantes de muerte en la humanidad, aunque su contribución relativa ha ido disminuyendo desde el siglo XIX. La introducción de los antibióticos en la práctica clínica en la década de los cuarenta del siglo XX supuso una de las intervenciones más importantes para su control y aumentó en varios años la esperanza de vida de la población. De hecho, 3 premios Nobel de Medicina y Fisiología, de los años 1939, 1945 y 1952, lo son por descubrimientos de antibacterianos. Otras intervenciones importantes (vacunas, saneamiento del agua de bebida, mejoras higiénicas, mejoras en nutrición. . .) habían contribuido, desde bastantes años antes, a disminuir la prevalencia de las enfermedades infecciosas. Sin embargo, desde hace algunos años, una amenaza creciente deteriora la eficacia de estos fármacos: la resistencia bacteriana a los antibióticos, que se define como la capacidad de una bacteria para sobrevivir en concentraciones de antibiótico que inhiben/matan a otras de la misma especie (61, 62).

La resistencia antibiótica puede ser natural (intrínseca) o adquirida. La resistencia natural es propia de cada familia, especie o grupo bacteriano. Por

ejemplo, todos los gérmenes gramnegativos son resistentes a la vancomicina, y esta situación no es variable. La resistencia adquirida es variable y es adquirida por una cepa de una especie bacteriana. Así, existen cepas de neumococo que han adquirido resistencia a la penicilina, cepas de *Escherichia coli* resistentes a la ampicilina, cepas de estafilococos resistentes a la meticilina. Esta resistencia adquirida es la que estudiamos en el laboratorio e informamos al clínico. La resistencia adquirida es la que puede llevar a un fracaso terapéutico cuando se utiliza un antibiótico supuestamente activo sobre el germen que produce la infección.

Los tipos de estudios que se realizan en el laboratorio clínico sobre la resistencia bacteriana representan el comportamiento in vitro de un inóculo bacteriano preestablecido (una población bacteriana) enfrentado a determinada concentración de un antibiótico, por un período de tiempo determinado (63).

Las bacterias adquieren capacidad de resistir la acción de los antibióticos a través de varios mecanismos como son:

- Su variabilidad genética: nuevos mecanismos de resistencia pueden ser adquiridos mediante mutación o mediante transferencia de material genético entre células bacterianas de especies relacionadas o diferentes. Estos genes de resistencia pueden estar codificados en el material genético cromosómico o extracromosómico (plásmidos).
- Por inactivación enzimática: el principal mecanismo de inactivación es la hidrólisis, como sucede con las betalactamasas y los betalactámicos, pero también pueden ocurrir modificaciones no hidrolíticas tales como las acetilaciones, adenilaciones o fosforilaciones inactivantes de aminoglucósidos.
- Por modificaciones en el sitio blanco: modificaciones en el gen que codifica el propio blanco del antibiótico, como por ejemplo las alteraciones de *Streptococcus pneumoniae* que confiere resistencia a penicilina e incluso a ceftriaxona.

- Por alteraciones de la permeabilidad: dándose alteraciones en las membranas bacterianas (visto mayormente en gramnegativos donde la membrana externa de la envoltura celular rica en lípidos es impermeable a las sustancias hidrofílicas) sin embargo, se considera que este nivel de resistencia no suele ser suficiente como para conferir resistencia absoluta a un antibiótico, debería estar unido a otro mecanismo (63).

Esta resistencia es transmitida entre microorganismos de un mismo género (transmisión horizontal) y entre microorganismos de géneros diferentes (transmisión vertical) (64).

La OMS, así como los Centros de Prevención y Control de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés) han reconocido la necesidad de enfrentar el problema mundial que representan los microorganismos, proponiendo el desarrollo de nuevos productos antibióticos y señalan que en el reino vegetal es posible encontrar moléculas que cumplan con los requisitos químicos y fisiológicos para los productos antibióticos que se necesitan (8, 64).

## **2.8.-Cepas de interés.**

### **2.8.1.-*Staphylococcus aureus*.**

El género *Staphylococcus* está formado por cocos Gram positivos, de 0.5 a 1 µm de diámetro, que se presentan aislados, en pares, tétradas o cadenas cortas y en grupos irregulares o racimos. El nombre del género fue designado por Ogston en 1883 y deriva del griego *staphylé* (“en racimo de uvas”), debido a la morfología que adoptan las células de *Staphylococcus* en las tinciones que se realizan a partir de cultivos en medios de agar (65). Son bacterias catalasa positivas, inmóviles, resistentes a bacitracina, oxidasa negativas y la mayoría de las especies que lo forman son anaerobias facultativas. *Staphylococcus aureus* es una de las 35 especies del género, es un patógeno primario reconocido para el hombre y es uno de los patógenos bacterianos que con mayor frecuencia causa infecciones intrahospitalarias. Se considera la especie más patógena y virulenta para el hombre, pero también puede encontrarse colonizando la piel y

las mucosas. Es parte de la flora normal del hombre, siendo el sitio de portación principal las fosas nasales, por lo que debe ser considerado como un patógeno oportunista.

Las colonias de *S. aureus* presentan un color amarillo dorado característico debido a la producción de carotenoides durante su crecimiento, de ahí su nombre que deriva de la palabra latina con la que se designa el oro, sin embargo, muchas cepas presentan variantes no pigmentadas (66).

Puede causar una amplia variedad de infecciones: lesiones superficiales, infecciones sistémicas con riesgo de vida (endocarditis, osteomielitis, neumonía, abscesos cerebrales, meningitis y bacteriemia), de las cuales es el agente más frecuentemente aislado, pudiendo estas infecciones alcanzar situaciones de gravedad extrema con riesgo de vida, y enfermedades producidas por toxinas como intoxicación alimentaria, síndrome de la piel escaldada o síndrome de shock tóxico. Es también agente de sepsis, neumonías, endocarditis e infecciones del sistema nervioso central. Ha demostrado un gran poder de adaptación a los agentes antimicrobianos, adquiriendo paso a paso resistencia a todos los antibióticos disponibles para el tratamiento de las infecciones que ocasiona (67).

La penicilina demostró inicialmente una alta efectividad contra las infecciones estafilocócicas; pero, cepas de *S. aureus* productoras de penicilinasas emergieron a mediados de la década de 1940 y su prevalencia se incrementó dramáticamente en unos pocos años. Para afrontar este problema, en 1959, fue liberado el  $\beta$ -lactámico semisintético meticilina. Sin embargo, en 1961, se detectó la emergencia de *S. aureus* resistente a meticilina (SARM). El mecanismo de resistencia a meticilina desarrollado por *S. aureus* se basa en la producción de una proteína de unión a la penicilina (PUP) adicional, la PUP2a, la cual es completamente funcional, con actividad transpeptidasa y de baja afinidad por los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, lo que le permite realizar su función fisiológica de síntesis de la pared bacteriana. De modo que la expresión del gen de resistencia a la meticilina implica la resistencia a las drogas betalactámicas

en general, incluyendo penicilinas, cefalosporinas y carbapenems. Esta proteína es codificada por el gen *mecA*, que está localizado en un elemento genético móvil denominado casete de resistencia que se inserta en el ADN cromosómico de una cepa meticilina sensible (SAMS). Además del gen *mecA* contiene un sitio de inserción preferencial para transposones y copias integradas de plásmidos que llevan varios genes de resistencia para antibióticos no betalactámicos. Por lo que una vez adquirida la resistencia a betalactámicos, existe la potencialidad de que sea acompañada o seguida de la resistencia a otros antimicrobianos como eritromicina, tetraciclina, estreptomicina y clindamicina. Los antibióticos glicopeptídicos se han constituido en una excelente herramienta terapéutica para estas infecciones, si bien ya se han descrito cepas resistentes a vancomicina. Desde entonces, la prevalencia de SARM se ha incrementado. En los Estados Unidos se indica que en las unidades de cuidados intensivos el 59,5% de los *S. aureus* aislados son SARM y que la tasa de mortalidad asociada con las infecciones por SARM invasivas es de aproximadamente 20%. Así, claramente se confirma la importancia de este patógeno, que se ha convertido en un problema mayor para los centros de asistencia médica. Estos microorganismos, con sus amplios patrones de resistencia, que incluyen agentes antibacterianos de diversos grupos, han estimulado la búsqueda de tratamientos alternativos constituyendo una extensa línea de investigación en los últimos años (68).

#### **2.8.1.1.-Metabolismo.**

*Staphylococcus aureus* crece bien en los medios de cultivo habituales, muestran  $\beta$ -hemólisis en medios con sangre, y son capaces de desarrollarse a altas concentraciones de NaCl (medio selectivo de Chapman). Crecen en medios pobres y simples, es un anaerobio facultativo, pero crece mejor en condiciones aerobias (69). Los estafilococos crecen en medios químicamente definidos, los cuales contienen glucosa, sales, aminoácidos, tiamina y ácido nicotínico. En medios suplementados, los estafilococos crecen bien en rangos de pH de 4.8 a 9.4 y a temperaturas de 25 a 43 °C (70).

### **2.8.1.2.-Patogenia.**

SARM, al igual que *S. aureus* sensible a meticilina (SAMS), origina enfermedad por invasión directa o mediante la acción de toxinas. La patogenia de las infecciones incluye colonización, invasión epitelial o mucosa, neutralización de las defensas del huésped, destrucción tisular y respuesta inflamatoria local o generalizada. Los principales factores de virulencia de este microorganismo se basan en los componentes de su pared bacteriana, en la gran cantidad de enzimas y toxinas que produce y su capacidad, en determinadas circunstancias, de supervivencia intracelular (71).

### **2.8.1.3.-Epidemiología.**

Forma parte de la microflora humana pudiendo estar colonizada por esta bacteria entre el 30% y el 50% de la población, siendo la localización más frecuente la colonización nasal (72-74).

Por su ubicuidad y en función de los procedimientos médicos y uso de antimicrobianos, se confiere especial énfasis al aislamiento y estudio epidemiológico de *S. aureus*, considerando su rol primordial en las infecciones nosocomiales, especialmente en pacientes sometidos a hemodiálisis, diabéticos tipo I, pacientes con lesiones cutáneas, sujetos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y en adictos a drogas por vía parenteral (ADVP) (75, 76). Actualmente este microorganismo es reconocido como uno de los patógenos más importantes causantes de infecciones nosocomiales en todo el mundo (72).

El principal reservorio de *S. aureus* lo constituye el hombre enfermo o portador (73). Cuando una persona entra en contacto con una cepa de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) puede resultar colonizada, desarrollar infección y/o convertirse en portador (77). Las zonas más frecuentes de colonización son, las lesiones cutáneas, el tracto respiratorio y el tracto urinario (78). La colonización por SARM puede persistir durante meses o años (79). Este dramático aumento en infecciones de cepas SARM se debe a varios

factores, que incluyen el uso de antibióticos de amplio espectro, un mayor número de pacientes inmunocomprometidos en los hospitales y una mayor utilización de medios invasivos, como catéteres y sondas, que facilitan la entrada y colonización de cepas SARM a la sangre y tejidos (80). Este panorama epidemiológico ha obligado a que la mayoría de los países tomen medidas para tratar de controlar las cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina (81).

### **2.8.2.-*Escherichia Coli*.**

La familia *Enterobacteriaceae* está formada por más de 20 géneros bacterianos, aproximadamente 120 especies y miles de serotipos (combinación del antígeno somático y el flagelar). Las bacterias de esta familia son anaerobias facultativas. La mayor parte son de vida libre, algunas son comensales de animales vertebrados e invertebrados. Sin embargo, también pueden ser patógenos causantes de enfermedad. Está presente en el intestino distal de los organismos de sangre caliente.

Forma parte de la flora nativa intestinal pero también es un enteropatógeno, el cual está asociado a múltiples enfermedades incluyendo a la gastroenteritis e infecciones en heridas en los hospitales. Cuando hay una perforación intestinal, es la responsable de peritonitis y es la bacteria responsable del 70 a 90% de las infecciones urinarias. Es la causa más común de diarrea en los países en vías de desarrollo y diarrea de leve a moderada-severa en lactantes. Produce un síndrome similar al cólera en adultos y origina la diarrea del viajero y brotes de diarrea en cuneros (59-61). *Escherichia coli* y otras bacterias son necesarias para el funcionamiento correcto del proceso digestivo, además de ser responsables de producir vitaminas B y K. El tamaño promedio de los bacilos es de 0.5  $\mu\text{m}$  de ancho por 3  $\mu\text{m}$  de largo, cuando se utiliza la tinción de Gram se tiñen de rojo (gramnegativos). Algunas especies son móviles (por flagelos peritricos), no esporuladas, fermenta la glucosa y la lactosa son catalasa positivos, oxidasa negativos y reduce nitratos a nitritos. El género *Escherichia* incluye siete especies (*E. adecarboxylata*, *E. alberti*, *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E.*

*hermannii*, *E. vulneris* y *E. coli*) (82). La bacteria se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como productos de carne picada cruda o poco cocida, leche cruda, y hortalizas y semillas germinadas crudas contaminadas. La resistencia bacteriana de *Escherichia coli* a los antibióticos se relaciona con el consumo de éstos ya que, la presión selectiva que ejercen favorece la creación, adaptación y diseminación de mecanismos de resistencia a los antimicrobianos.

## 2.9.-Especies reactivas de oxígeno y radicales libres.

El término especies reactivas de oxígeno (ERO) es un término colectivo de incluye radicales libres (RL) y ciertas especies no radicales que son oxidantes y/o se convierten fácilmente en radicales libres, como por ejemplo HClO, HBrO, O<sub>3</sub>, ONOO, O<sub>2</sub>, o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

**Tabla 2.- Principales especies reactivas de oxígeno (ERO) (83)**

Radicales		No radicales	
Nombre	Fórmula	Nombre	Fórmula
Hidroxilo	·OH	Peróxidos orgánicos	ROOH
Alcoxilo	RO·	Oxígeno molecular	O <sub>2</sub>
Hidroperoxilo	HOO·	Peróxido de Hidrógeno	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Superóxido	O <sub>2</sub> ·-	Ácido hipocloroso	HClO
Peroxilo	ROO·	Ácido nitroso	HNO <sub>2</sub>
Óxido nítrico	NO·	Catión nitrilo	NO <sub>2</sub> <sup>+</sup>
Dióxido de nitrógeno	NO <sub>2</sub> ·	Peroxinitrito	ONOO <sup>-</sup>
Ozono	O <sub>3</sub>	Ácido peroxinitroso	ONOOH

Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen uno o más electrones desapareados, lo cual los hace altamente inestables y reactivos. Estos radicales recorren nuestro organismo intentando robar un electrón de las moléculas estables, con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica mediante reacciones de óxido-reducción. Una vez que el radical libre ha conseguido robar el electrón que necesita para aparear su electrón libre, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un nuevo radical libre, por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye nuestras células. La vida biológica media del radical libre es de microsegundos; pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un gran daño a las moléculas y a las membranas celulares. (84).

Ante la presencia de radicales libres, el organismo debe neutralizarlos y defenderse, para así evitar la lesión de los tejidos. El problema propiamente dicho, aparece cuando la concentración de estos radicales libres es muy elevada, ya que cuando los mismos se encuentran presentes en el organismo en cantidades adecuadas aportan algunos beneficios como la lucha contra bacterias y virus, regulación de la estructura y función de las proteínas, control del tono muscular, etc. Las consecuencias del exceso de radicales libres en el organismo, afectan directamente nuestro estado de salud favoreciendo el envejecimiento prematuro y problemas en el sistema cardiovascular y nerviosos, entre otros (85).

### **2.9.1.-Estrés oxidativo**

El oxígeno es esencial para los organismos vivos, sin embargo, la generación de especies reactivas de oxígeno y radicales libres es inevitable en el metabolismo aeróbico. Estas especies oxidantes provocan daños acumulativos en moléculas fundamentales para el funcionamiento del organismo, tales como proteínas, lípidos y ADN. No obstante, el organismo tiene sus propios mecanismos de defensa para hacer frente a la acción de las especies oxidantes. En determinadas situaciones las defensas antioxidantes pueden

verse desbordadas por la excesiva generación de especies reactivas de oxígeno. Este desequilibrio entre especies oxidantes y antioxidantes se conoce como estrés oxidativo (86).

El estrés oxidativo se puede definir como el estado en el cual el nivel de especies reactivas de oxígeno sobrepasa las defensas antioxidantes del organismo, como resultado de un desequilibrio entre los sistemas de formación y eliminación de especies oxidantes y son implicadas en la etiología de diferentes enfermedades degenerativas como diabetes, arterioesclerosis, artritis, cáncer, isquemia (cerebro y corazón), inflamación, infecciones, enfermedad de Parkinson, daño reactivo y envejecimiento (87).

### **2.10.-Antioxidantes.**

Un antioxidante es una molécula suficientemente estable como para donar un electrón a un radical libre, capturarlo y neutralizarlo, reduciendo de este modo su capacidad de daño. Los antioxidantes retrasan o inhiben el daño celular a través de su propiedad de eliminación de radicales libres. Son capaces de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Las reacciones de oxidación pueden producir radicales libres que comienzan reacciones en cadena que dañan las células. Los antioxidantes terminan estas reacciones quitando intermediarios del radical libre e inhibiendo otras reacciones de oxidación oxidándose ellos mismos. Debido a esto es que los antioxidantes son a menudo agentes reductores.

Aunque las reacciones de oxidación son cruciales para la vida, también pueden ser perjudiciales, por lo tanto, las plantas y los animales mantienen complejos sistemas de múltiples tipos de antioxidantes, tales como las vitaminas C y E, enzimas (catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa), así como proteínas de unión a metales, etc. (88).

### **2.11.-Capacidad antioxidante.**

El estudio de la capacidad antioxidante de las plantas medicinales y alimenticias ha crecido en las últimas décadas ya que un número importante de productos obtenidos de éstas, como los aceites esenciales, alcaloides y polifenoles, poseen efectos antioxidantes los cuales son evidenciados mediante diferentes ensayos *in vitro* e *in vivo* asociadas a cada uno de ellos. Por su elevado consumo a través de la dieta y la presencia ubicua en muchas especies vegetales, el potencial de los polifenoles como agentes antioxidantes ha sido el más estudiado.

La importancia de los polifenoles en salud humana ha sido ampliamente revisada. No obstante, uno de los aspectos críticos de la investigación sobre la capacidad antioxidante de productos naturales se relaciona con la elección de las herramientas de medición. El uso de radicales estables coloreados como el Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS) se recomienda como criterio preliminar para jerarquizar distintas plantas, extractos o fracciones de éstos, de acuerdo a su poder antioxidante. Como se puede apreciar en muchos estudios, los datos a menudo son cruzados con técnicas de separación con cromatografías que permiten diseccionar de mejor manera la actividad antioxidante y asignarla a un grupo específico de compuestos (88).

### **2.12.-Actividad antimicrobiana.**

Define la actividad *in vitro* de un antimicrobiano o antibiótico frente a un microorganismo determinado y refleja su capacidad para inhibir el crecimiento de una bacteria o población bacteriana. Su resultado, sustenta la elección de los antimicrobianos en el tratamiento de las enfermedades infecciosas. Asimismo, ofrece, en su conjunto, elementos objetivos de actuación en los tratamientos empíricos.

En la actualidad se cuenta con diversos métodos para evaluar la actividad antimicrobiana en plantas como el método de difusión en discos, el método de pozos en agar y el método de dilución en caldo o en agar. Aunque en teoría

cualquiera de los métodos anteriores podría utilizarse para hallar la actividad antimicrobiana de extractos vegetales cada uno posee ciertos inconvenientes, razón por la cual en el momento de realizar las pruebas se hacen modificaciones para que estas metodologías sean adecuadas, reproducibles y fiables (89-91).

Un estudio en 2018 evaluó los métodos actuales para inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* donde concluyen que el método de pozos en agar es el más recomendable para realizar ensayos de actividad antimicrobiana debido a su alta sensibilidad (92).

#### **2.12.1.-Método de difusión.**

El método se basa en la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo adecuado y sembrado homogéneamente con la bacteria a ensayar y sobre la cual se ha depositado un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro, o se ha sembrado en pozo impregnado con una cantidad conocida de la sustancia (93).

#### **2.12.2.-Método de dilución.**

El método de dilución en agar o en caldo como prueba de susceptibilidad microbiana es utilizado para determinar la concentración mínima bactericida (CMB) y la concentración mínima inhibitoria (CMI). En la técnica de dilución en caldo, son utilizados tubos o microplacas (microdilución) que contienen concentraciones crecientes del extracto vegetal. El organismo en estudio es inoculado en los diferentes tubos o pozos de las microplacas y la CMI es determinada después de la incubación (93).

#### **2.12.3.-Concentración Mínima Inhibitoria**

La CMI es considerada como prueba estándar de oro para la determinación de la susceptibilidad de los microorganismos ante los antibióticos (94).

Se define como la concentración más baja a la que un antibiótico inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de ser incubado, es una herramienta de investigación para la determinación *in vitro* de la actividad de nuevos compuestos antimicrobianos.

### **2.13.-Tamizaje fitoquímico.**

El tamizaje fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta y a partir de allí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés.

El tamizaje fitoquímico consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacción de color y precipitación. Debe permitir la evaluación rápida, con reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo. Los resultados del tamizaje fitoquímico constituyen únicamente en una orientación y debe de interpretarse en conjunto con técnicas de separación.

La confirmación de ciertas actividades farmacológica o antimicrobiana justifica la continuación de los estudios. Los principios activos suelen encontrarse en bajas concentración por lo que es importante realizar una perfecta extracción de los mismos, las reacciones de identificación más utilizadas son las de coloración, precipitación y fluorescencia que permiten detectar sustancias químicas características de una planta (95).

### **2.14.-Cromatografía**

En la investigación fitoquímica para la obtención y estudio de los metabolitos secundarios de plantas con actividad biológica incluyen ensayos de extracción con solventes de diferente polaridad, métodos de separación fundamentalmente cromatográficos, métodos de elucidación estructural principalmente espectroscópicos y determinación de actividad biológica a través de numerosas técnicas (96, 97).

La cromatografía es el conjunto de técnicas analíticas más utilizadas por la química y las ciencias biológicas para la separación, identificación y determinación de los componentes químicos de mezclas (98).

La cromatografía es un método físico de separación de los componentes de una muestra en los cuales tienen en común dos factores: una fase estacionaria y una fase móvil. La separación de los compuestos ocurre debido a las propiedades particulares de los compuestos, la capacidad para ser retenidos por la fase estacionaria y en la velocidad de migración entre los componentes de la fase móvil (99).

Los métodos cromatográficos se pueden clasificar según como se coloque en contacto la fase móvil y estacionaria en cromatografía en columna y cromatografía plana, donde:

Cromatografía en columna: la característica fundamental de la cromatografía clásica en columna es que el gradiente de presión necesario para el desplazamiento de la fase móvil a través de la fase estacionaria, está originado por gravedad.

Cromatografía plana: La fase estacionaria está sujeta por una placa plana o en los poros de un papel. En este caso la fase móvil se mueve a través de la fase estacionaria por acción capilar o por la influencia de la gravedad. Las fases estacionarias utilizadas normalmente para cromatografía en capa fina son, alúmina o gel de sílice para cromatografía de adsorción y, celulosa para cromatografía de adsorción o de reparto.

También se puede clasificar según el tipo de fase móvil utilizada:

Cromatografía de gases (GC): Técnica de separación en la que la fase móvil es un gas, se lleva siempre a cabo en columna.

Cromatografía líquida (LC): Técnica de separación en la que la fase móvil es un líquido. Puede desarrollarse en una columna o sobre un plano. La LC en la actualidad, emplea generalmente partículas muy pequeñas y una presión de entrada relativamente alta, denominándose entonces cromatografía líquida de

alta eficacia o de alta presión, cuyas siglas provenientes del inglés son HPLC (98-100).

#### **2.14.1.-Cromatografía líquida de ultra alto rendimiento (UHPLC).**

Es similar a HPLC, es una técnica utilizada para separar diferentes constituyentes de un compuesto. Se utiliza principalmente para identificar, cuantificar y separar componentes de una mezcla mediante el uso de alta presión para empujar los solventes a través de la columna. En UHPLC, se pueden usar tamaños de partícula inferiores a  $2\mu\text{m}$ , lo que proporciona una mejor separación que HPLC donde el tamaño de partícula se limita a  $5\mu\text{m}$ . Estas partículas más pequeñas requieren mayores presiones de bombeo (100MPa frente a 40 MPa), que hace que esta técnica sea muy eficiente con un análisis rápido y una mayor resolución.

Especificaciones técnicas:

- Presión de la bomba - hasta 100 MPa
- Caudal de la bomba: de 0.05 a 8.0 mL / min
- Volumen de inyección - 1 a 100  $\mu\text{L}$
- Temperatura del compartimiento de la columna - 5 a 110 ° C
- Tamaño de partícula de la columna - menos de 2  $\mu\text{m}$
- Detección
  - UV / VIS, 190 a 800 nm
  - Fluorescencia (101).

La tecnología UHPLC se aplica para producir datos de calidad con métodos reproducibles en comparación con el HPLC convencional. Esta técnica logra incrementos en la resolución, velocidad y sensibilidad de la cromatografía líquida, proporcionando ventajas de tiempo, costo y calidad. Ventajas: La sensibilidad del método es aumentado hasta 3 a 5 veces, el consumo de

solvente en fase móvil para el análisis se reduce en gran medida debido al bajo flujo y el corto tiempo de ejecución (102, 103).

El método UHPLC tiene una aplicación importante en el análisis farmacéutico ya que los métodos utilizados en el análisis del producto farmacéutico deben estar bien desarrollados y validados por lo que el UHPLC es un método que implica menos tiempo, buen poder de resolución, reproducibilidad y eficiencia. Además, el estudio de metabolitos en plantas es necesario en el proceso de desarrollo de fármacos, donde se determina el metabolito principal y se identifica su estructura, por lo que esta técnica proporciona la mejor resolución para separar componentes, alta sensibilidad y análisis de componentes de baja concentración, reduciendo el tiempo de análisis (104, 105).

### III.-PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los últimos años, el interés por las plantas medicinales ha ido en aumento, ya que globalmente, las plantas producen más de 100,000 productos naturales conocidos como metabolitos secundarios como parte de un proceso evolutivo para adquirir una defensa contra microorganismos, insectos y animales que han servido para estudiar sus propiedades antiinflamatorias, analgésicas, antimicrobianas y antioxidantes en la población.

Enfermedades como arterioesclerosis, hipertensión arterial, diabetes, artritis y cáncer, son consideradas las principales causas de muerte, solamente en México en 2018 se registraron 101,257 defunciones por diabetes mellitus (14.01%) y 13, 980 defunciones tan solo por cáncer de mama y próstata (1.93%) cifras que han ido en aumento al pasar de los años por lo que la prevención de éstas se han asociado con ingestión de frutas y verduras frescas o infusiones ricas en antioxidantes naturales, los cuales son considerados uno de los componentes principales de las plantas.

Las plantas medicinales han formado parte importante de la historia y cultura en México, considerado como un país con gran herencia cultural en el uso de plantas medicinales para tratar diferentes padecimientos. Se han identificado hasta 4,500 especies con propiedades curativas. Dentro de esas especies destacan las del género *Jatropha* con aproximadamente 175 especies, en México se pueden encontrar cerca de 45 especies, destacando: *Jatropha curcas*, *Jatropha cuneata*, *Jatropha multifida* y *Jatropha dioica*. Respecto a este último, en estudios previos, se han encontrado algunos metabolitos secundarios que proveen cierta actividad antimicrobiana, sin embargo, existe muy poca información científica que avale su uso tradicional e identificación de los metabolitos responsables de su actividad terapéutica.

#### IV.-JUSTIFICACIÓN

El principal interés en el uso de plantas medicinales se basa en la creciente insatisfacción de la población hacia la medicina convencional, por su falta de éxito en la cura de algunas enfermedades, los efectos secundarios de algunos medicamentos y su alto costo, ya que las plantas tienen precios más bajos comparados a los medicamentos, y la tendencia a adoptar estilos de vida más naturales.

Una alternativa de bajo costo y eficiente es el uso de productos naturales de plantas en el desarrollo de nuevos agentes para prevenir y controlar enfermedades. En la actualidad ya existen plantas medicinales identificadas y clasificadas con propiedades tanto antioxidantes como antimicrobianas, sin embargo, existe muy poca información sobre la extracción e identificación de compuestos fitoquímicos de *Jatropha dioica*.

Por lo anterior, es de sumo interés realizar investigaciones relacionadas con la búsqueda y obtención de estos compuestos, con la finalidad de obtener un beneficio para la producción de nuevos agentes bioactivos que sustenten el uso de *Jatropha dioica* como fuente potencial de agentes antimicrobianos y antioxidantes ya que hasta la fecha esta planta sólo se usa de manera empírica.

La información obtenida a partir de esta investigación será de gran importancia ya que al evaluar la actividad antioxidante y antimicrobiana de *Jatropha dioica* se abrirá la posibilidad de nuevas investigaciones para el aislamiento de moléculas para su uso como antibióticos o como agentes antioxidantes más eficaces y seguros que abre el abanico científico para el abordaje de diversos padecimientos.

## **V.-PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.**

¿Cuáles son los compuestos con capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana de los extractos de *Jatropha dioica* originaria de Durango?

## **VI.-HIPÓTESIS.**

Los extractos que presenten mayor capacidad antioxidante de *Jatropha dioica* originaria de Durango presentarán actividad antimicrobiana.

## **VII.-OBJETIVOS.**

### **OBJETIVO GENERAL.**

Identificar y caracterizar los compuestos con actividad antioxidante y antimicrobiana de los extractos de *Jatropha dioica* originaria de Durango.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Obtener extractos hexánico, metanólico, etanólico, de acetato de etilo y acuoso de *Jatropha dioica*.
2. Realizar el tamizaje fitoquímico para identificar metabolitos secundarios presentes en cada extracto.
3. Determinar la capacidad antioxidante de los extractos.
4. Determinar la concentración mínima inhibitoria de los extractos en cultivos de *S. aureus* y *E. coli*.
5. Identificar mediante UHPLC los compuestos del extracto con mayor actividad antimicrobiana y antioxidante.

## VIII.-METODOLOGÍA

### 8.1.-Diseño metodológico.

Experimental.

**8.2.-Lugar y tiempo:** El estudio se realizó en el Centro de Investigación en Alimentos y Nutrición (CIAN) de la Facultad de Medicina y Nutrición de la Universidad Juárez del Estado de Durango y en los Laboratorio de Microbiología y laboratorio de Farmacogenomica y Biología Molecular, del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR), en el periodo comprendido de septiembre del año 2018 a diciembre del 2019.

### 8.3.-Materiales

- Asa bacteriológica redonda.
- Cajas Petri.
- Celdillas para espectrofotómetro.
- Cinta testigo.
- Embudo de vidrio.
- Espátulas.
- Filtro millipore.
- Gasa.
- Gradillas para tubos de ensayo.
- Guantes de asbesto.
- Guantes de látex.
- Cinta maskin-tape.
- Matraz bola.
- Matraz Erlenmeyer de 1000 mL.
- Mechero Fisher.
- Membranas de filtro millipore de 45 µm.
- Papel aluminio.
- Papel estraza.
- Papel parafilm.
- Pinzas.

- Pipetas automáticas (10-100  $\mu$ L y de 100-1000  $\mu$ L).
- Pizeta.
- Plumón.
- Probetas (1000, 100 y 10 mL).
- Puntillas estériles (medidas varias).
- Racks para puntillas.
- Regla (30 cm).
- Tubos de ensayo 13 x 100 con rosca.
- Tubos de ensayo 13 x 100.
- Tubos eppendorf.
- Tubos de centrifuga con tapa rosca.
- Vaso de precipitados (30, 50, 100 mL).

### 8.3.1.-Sustancias y/o reactivos.

- Acetato de etilo ( $C_4H_8O_2$ ).
- Acetato de sodio ( $C_2H_3NaO_2$ ).
- Ácido 2, 2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico ABTS ( $C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$ ).
- Ácido 3,5-dinitrobenzoico ( $C_7H_4O_6N_2$ ).
- Ácido ascórbico ( $C_6H_8O_6$ ).
- Ácido clorhídrico (HCl).
- Ácido nítrico ( $HNO_3$ ).
- Ácido pícrico ( $C_6H_3N_3O_7$ ).
- Ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ).
- Ácido tricloroacético ( $C_2HCl_3O_2$ ).
- Agar Müller Hilton.
- Agua destilada.
- Alcohol amílico ( $C_5H_{11}OH$ ).
- Alfa-naftol ( $C_{10}H_8O$ ).
- Benceno ( $C_6H_6$ ).
- Caldo nutritivo (BHI).
- Carbonato de sodio ( $Na_2CO_3$ ).
- Cloroformo ( $CHCl_3$ ).
- Cloruro de sodio (NaCl).
- Cloruro férrico ( $FeCl_3$ ).
- Cloruro mercuríco ( $HgCl_2$ ).
- Dimetilsulfóxido concentrado (DMSO).
- Etanol ( $C_2H_5OH$ ).
- Fosfato dipotásico ( $K_2HPO_4$ ).
- Fosfato monopotásico ( $KH_2PO_4$ ).
- Hexano ( $C_6H_{14}$ ).
- Hidróxido de potasio (KOH).
- Hidróxido de sodio (NaOH).
- Magnesio metálico.
- Metanol ( $CH_3OH$ ).
- Ninhidrina ( $C_9H_6O_4$ ).
- Nitroprusiato de sodio ( $C_5N_6OFe$ ).
- Peroxidasa.
- Peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ).
- Solución salina fisiológica.

- Solución de gelatina.
- Subnitrito de bismuto ( $\text{NO}_3\text{Bi}(\text{OH})_2$ ).
- Sulfato de cúprico ( $\text{CuSO}_4$ ).
- Tartrato de sodio y potasio ( $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ).
- Trinitrobenceno ( $\text{C}_6\text{H}_3\text{N}_3\text{O}_6$ ).
- Yodo (I).
- Yoduro de potasio (KI).

### **8.3.2.-Equipo.**

- Autoclave.
- Balanza analítica.
- Bomba para vacío.
- Campana de extracción.
- Congelador.
- Espectrofotómetro.
- Estufa.
- Liofilizadora.
- Refrigerador.
- Rotavapor.
- UHPLC Acquity.

## **8.4.-Metodología**

### **8.4.1 Recolección e identificación de la planta**

Se recolectó la planta (parte aérea y parte subterránea) así como una muestra de la misma para su identificación en el herbario del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR). Para transportarla se utilizaron bolsas negras y se llevaron al Laboratorio del Centro de Investigación en Alimentos y Nutrición (CIAN) de la Facultad de Medicina y Nutrición para su limpieza y trituración.

### **8.4.2.- Obtención de extractos**

#### **8.4.2.1.-Limpieza y trituración de la planta.**

Retirar las impurezas u objetos extraños que se encuentran en la planta recolectada, consecutivamente se procede a separar la parte aérea y parte terrestre, triturarla para facilitar su manejo y continuar con el proceso de maceración.

#### **8.4.2.2.-Maceración.**

Se pesa la cantidad de 100g de la parte aérea y la parte terrestre de la planta y se introducen por separado en un matraz Erlenmeyer de 1000mL de capacidad, se agregan 900mL de solvente respectivo a cada matraz y se procede a macerar durante 8 días para los extractos Hexánico, Metanólico, Etanólico, de Acetato de etilo y el extracto Acuoso solamente un día.

#### **8.4.2.3.-Concentración.**

Transcurrida la maceración se procede a filtrar por gravedad para después concentrarlos en el rotavapor a una temperatura de 65°C y presión de 508 mmHg por dos horas aproximadamente. El concentrado obtenido se coloca en viales especiales para liofilizadora y se procede a congelar a -21°C por 12 horas y después a -70°C para su posterior liofilización a temperaturas de -40 a -50°C

y un vacío de 0.1 a 4.0 mmHg. Obtenidos los extractos se almacenan en oscuridad, en tubos de centrifuga, para su uso posterior.

### 8.4.3.- Tamizaje fitoquímico

Se pesan 0.4g de extracto de la planta (parte aérea y parte terrestre) para disolver en 40mL del solvente correspondiente; se realizarán las pruebas con los extractos obtenidos en los diferentes solventes y a partir de estas disoluciones se tomarán las muestras para cada una de las pruebas que se realizarán (Tabla no. 3).

**Tabla 3.- Resumen del análisis fitoquímico para realizar a cada uno de los extractos.**

<b>Metabolitos</b>	<b>Ensayos</b>
Alcaloides	Dragendorff Mayer Wagner
Triterpenos y Esteroides	Solkowsky Rosemhiem
Quinonas	Borntrager
Saponinas	Espuma
Poliuronidos	Poliuronidos
Cumarinas	Baljiat Legal
Resinas	Resinas
Azucres reductores	Fehling Benedict
Fenoles y Taninos	Cloruro Férrico

	Gelatina
Aminoácidos libres y Aminas	Ninhidrina
Carbohidratos	Molish
Glicósidos cardiacos	Kedde
Flavonoides	Ac. Sulfúrico concentrado Shinoda Rosemheim Catequinas

#### 8.4.3.1.-Identificación de alcaloides.

**Ensayo de Dragendorf:** 1 mL de extracto y evaporar solvente, el residuo se disuelve en 1mL de HCl al 1% en agua, y se mezcla con tres gotas del reactivo. Para considerar que la prueba es positiva se toma en cuenta lo siguiente: si hay opalescencia se considera (+), turbidez (++).

**Ensayo de Mayer:** se procede de la misma manera anterior hasta obtener la solución ácida. Se añade una pizca de NaCl en polvo, se agita y se lleva a filtración. De igual manera se colocan tres gotas del reactivo: para considerar que el ensayo es positivo se observará opalescencia (+), turbidez definida (++) o precipitado coposo color crema, blanco, amarillo (+++), indica que la reacción es positiva.

**Ensayo de Wagner:** al igual que en los casos anteriores se parte de la solución acida, añadiéndose tres gotas del reactivo clasificando los resultados de la misma forma. Un resultado positivo se indica por un precipitado carmelita.

Interferencias:

× Proteínas que precipitan por adición de un reactivo que contenga un metal pesado.

× Aminoácidos

- × Aminas metiladas
- × Cumarinas carbohidratos
- × Sustancias albuminosas
- × Sales de amonio
- × Taninos
- × Hidroxiflavonas alquiladas
- × Cardenolicos y bufadienilos

Esta gran cantidad de compuestos no alcaloides y en alguno de los casos no nitrogenados que reaccionan similar a los alcaloides, se cree que deba poseer carbonilos conjugados (cetonas o aldehídos) o funciones lactónicos que funcionen en una materia típica a los mismos.

#### **8.4.3.2.-Identificación de triterpenos y esteroides.**

**Ensayo de Solkowsky:** 1mL de la fracción se disuelve en  $\text{HCCl}_3$ , se coloca en un tubo de ensayo con 1mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado. Un ensayo positivo se indica por la coloración amarilla rojiza.

**Ensayo de Rosemhiem:** 1mL de la fracción de  $\text{HCCl}_3$  se mezcla con 1mL de la solución de ácido tricloroacético al 90% en agua en un tubo de ensayo. La prueba es positiva si se encuentra la presencia de dienos nucleares reales o potenciales y se forma un color violeta que cambia de azul después de 20 minutos.

#### **8.4.3.3.-Identificación de quinonas.**

**Ensayo de Borntrager:** como la alícuota no se encuentra en  $\text{HCCl}_3$ , se evapora el solvente a baño de agua. El residuo se disuelve en 1mL de  $\text{HCCl}_3$ , y se agita con 1mL de la solución de hidróxido de sodio, potasio o amonio al 5% en agua, mezclando las fases y se deja en reposo hasta separación. Si la fase acuosa alcalina (superior) es de color rosado a rojo; coloración rosado (++) , roja

(+++) el ensayo se considera positivo (naftoquinonas y antraquinonas). Un ensayo positivo no excluye la presencia de quinonas ya que pretende que pueden encontrarse en presencia de glicósidos, siendo necesaria la hidrólisis previa de los mismos para su posterior detección (glicósidos antracénicos).

#### **8.4.3.4.-Identificación de cumarinas.**

**Ensayo de Baljet:** permite reconocer en el extracto la presencia de compuestos de agrupamientos lactónicos, en particular cumarinas, aunque puedan dar positivo otros metabolitos.

Si la alícuota del extracto no se encuentra en alcohol se evapora el solvente en baño de agua y se redisuelve en la menor cantidad de alcohol (1mL). En estas condiciones se adiciona 1mL de reactivo considerándose un ensayo positivo la aparición de coloración (++) o precipitado rojo (+++) respectivamente.

Interferencias de la reacción:

- x Lactonas sesquiterpénicas o sesquiterpenlactonas
- x Simarubalidanos y limonoides

**Ensayo legal:** a una solución exacta del extracto disuelto en alcohol etílico se le añadirán dos gotas de nitroprusiano de sodio al 5% en agua y a continuación 1-3 gotas de solución de NaOH 2 M. En caso positivo aparece una coloración roja intensa que desaparece en unos minutos.

Interferencias:

- x Lactonas sesquiterpénicas

#### **8.4.3.5.-Identificación de saponinas.**

**Ensayo de la espuma:** permite conocer la presencia de saponinas tanto de tipo esferoidal como triterpénicas. Si la alícuota no se encuentra en metanol, se diluye en cinco veces su volumen de agua y se agita la mezcla vigorosamente durante 5-20 minutos, dejándose en reposo. El ensayo se considera positivo si

aparece espuma de más de 2mm de altura, en la superficie del líquido y persiste por más de dos minutos.

#### **8.4.3.6.-Identificación de resinas.**

**Ensayo de resinas:** se adicionan 2mL de solución alcohólica y 10mL de agua destilada. La aparición de un precipitado indica un ensayo positivo.

#### **8.4.3.7.-Identificación de azúcares reductores.**

**Ensayo de Fehling:** si la alícuota del extracto no se encuentra en agua se evapora el solvente en baño de agua y el residuo se redisuelve en 1-2mL de agua, se adicionan 2mL del reactivo, se calienta la mezcla en baño de agua durante 10-30 minutos. El ensayo se considera (+) con la aparición de un precipitado rojizo o rojo.

**Ensayo de Benedict:** El residuo se redisolventará 1-2mL de agua si la fracción no es acuosa y se adicionará 1mL del reactivo, se calienta la mezcla en baño de agua durante 10-30 minutos. El ensayo se considerará positivo con la aparición de un precipitado rojizo.

#### **8.4.3.8.-Identificación de fenoles y taninos.**

**Ensayo de Cloruro Férrico:** a la fracción disuelta en 1mL de metanol se le añaden 0.5mL (tres gotas) de una solución de cloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica. La aparición de un precipitado o color verde oscuro indica la presencia de fenoles y taninos.

Si el extracto es acuoso el ensayo se determina principalmente taninos. A una alícuota de extracto se le añade Acetato de sodio, cloruro férrico al 5% en solución salina tres gotas para neutralizar, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

- Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecolicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalataninos.

Interferencias a esta reacción:

- × Todos los compuestos que tengan OH fenólicos.
- × Flavonoides
- × Lignanós
- × Lactonas sequiterpénicas
- × Quinonas
- × Aceites esenciales

**Ensayo de la gelatina:** se concentrará a sequedad 1mL del extracto y se adicionará 1mL de solución salina fisiológica y tres gotas de solución de gelatina recientemente preparada a 0.5%. Un precipitado blanco o turbidez indica un ensayo positivo. Si la fracción es acuosa no es necesario evaporar.

#### **8.4.3.9.-Identificación de aminoácidos libres y aminos.**

**Ensayo de la Ninhidrina:** se tomará una alícuota del extracto metanol, se mezclará con 2mL de la solución al 2% en agua o 0.2% en alcohol de ninhidrina y se calienta de 5 a 10 minutos en baño de agua. Este ensayo se considera positivo cuando se desarrolla un color azul violáceo.

Interferencias:

- × Alcaloides

#### **8.4.3.10.-Identificación de glicósidos cardíacos.**

**Ensayo de Kedde:** la fracción se disuelve en 1mL de etanol, se mezcla con 1mL del reactivo y se deja reposar durante 5-10 minutos. El ensayo da positivo cuando se desarrolla una coloración azul-violeta persistente durante 1-2 horas (cardenólidos y sus agliconas).

**Ensayo de Raymond:** el residuo se disuelve en 1mL de etanol al 50%, se agregan unas gotas de solución de n-dinitrobenceno al 10% en etanol y unas

gotas de solución de NaOH al 20% en agua. Un ensayo positivo se considera por una coloración violeta azul.

Esta prueba la dan positivos sustituyentes con grupo metilenos activos.

#### **8.4.3.11.-Identificación de flavonoides.**

**Ensayo con ácido sulfúrico:** 1mL del extracto se concentrará a sequedad en tubos de ensayo y se agregarán unas gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Un ensayo positivo (+) se indica por una coloración diferente al carmelita claro.

Las siguientes coloraciones también son indicativas de un ensayo positivo:

- ✓ Coloración amarillo intenso es indicativo de flavonas y flavonoides.
- ✓ Coloración anaranjada a guinda es indicativo de flavonas
- ✓ Coloración de guinda o rojo a azulado es indicativo de chalconas o auronas.

Interferencia:

× Quinonas

**Ensayo de Shinoda:** a una alícuota del extracto del alcohol se le adiciona 1mL de HCl concentrado y un pedacito de magnesio metálico o zinc. Cuando la reacción termina se añaden 2mL de alcohol amílico y se agita.

El ensayo se considera positivo cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, rosado, vino, carmelita, o rojo intenso en todos los casos, ocasionalmente verde o azul como reacción positiva para agliconas o heterósidos. Las coloraciones que a continuación se describen son indicativas de determinados flavonoides:

- Coloración amarilla, naranja y hasta rojo son indicativos de la presencia de flavonas.
- Coloración roja a carmesí o rojo a magenta son indicativos de flavol o flavonol.

- Colores carmesíes a magenta; rojo, magenta, violeta, azul son indicativos de flavononas.
- Color amarillo es indicativo de isoflavonas.
- Las isoflavononas, chalconas y auronas no dan coloración.

**Ensayo de Rosemheim:** Permite reconocer en el extracto la presencia de leucoantocianidias y antocianidinas.

1mL del extracto metanol se calienta 10 min con 1mL de HCl concentrado. Se deja enfriar, se añade 1mL de agua y se agita con 2mL de alcohol amílico. Se dejan separar las dos fases. La aparición de color rojo marrón en la fase amílica es indicativa de un ensayo positivo (+).

**Ensayo de Catequinas:** Para ello se toma de la solución del extracto obtenido una gota con la ayuda de un capilar y se aplica la solución sobre el papel filtro. Sobre la mancha se aplica la solución de carbonato de sodio. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz ultravioleta indica un ensayo positivo.

#### **8.4.3.12.-Identificación de carbohidratos y/o glicósidos.**

**Ensayo de Molish:** 2mL del extracto acuoso se coloca en un tubo de ensayo y se le añaden unas gotas de solución de alfa-naftol al 5% en etanol. Se mezclan y por la pared del tubo se adiciona 1mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. La aparición de un anillo violáceo; en la interface indica una reacción positiva.

Interferencia: Todos los metabolitos secundarios que estén en forma de glicosidos: saponinas, quinonas, flavonoides, carotenóidos, cumarinas.

#### **8.4.3.13.-Identificación de poliurónidos.**

**Ensayo de Poliurónidos:** a 2mL del extracto se le adicionan 10mL de alcohol. La evidencia positiva es la aparición de un precipitado.

#### 8.4.4.-Capacidad Antioxidante.

La determinación de la capacidad antioxidante de los extractos se realizará mediante el método del ABTS modificado de Childs y Bardsley (1975) (106), esta técnica se basa en la reacción del ABTS con los radicales libres totales para formar un cromógeno estable que presenta un máximo de absorción a 414nm. Se realizará una curva por duplicado como la que se muestra en la tabla no. 4.

**Tabla 4.- Curva tipo para la determinación de agentes oxidantes totales**

Tubo No.	ABTS 1mM (mL)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 1mM ( $\mu$ L)	Reg de fosfatos 0.1 M pH 6.0 (mL)	Peroxidasa 500 $\mu$ g/mL ( $\mu$ l)
1	0.5	0	1.49	10
2	0.5	10	1.48	10
3	0.5	20	1.47	10
4	0.5	30	1.46	10
5	0.5	40	1.45	10
6	0.5	50	1.44	10
7	0.5	60	1.43	10
8	0.5	70	1.42	10
9	0.5	80	1.41	10
10	0.5	90	1.40	10
11	0.5	100	1.39	10

Se incubarán 10 min a 37° C, se enfriarán en hielo y se examinarán a 414 nm.

Se elaboró una curva patrón como referencia de la actividad antioxidante y su procedimiento se describe a continuación:

Se realizó una curva estándar de ácido ascórbico con las siguientes concentraciones: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 y 20  $\mu\text{L}$  ácido ascórbico, con solución de ABTS,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , regulador de fosfatos y peroxidasa (Tabla no. 5). La absorbancia se midió en un espectrofotómetro Agilent 8453 a una longitud de onda de 414 nm.

**Tabla 5.- Curva tipo para ácido ascórbico**

Tubo No.	ABTS 1mM (mL)	$\text{H}_2\text{O}_2$ 1mM ( $\mu\text{L}$ )	Reg de fosfatos 0.1 M pH 6.0 (mL)	Peroxidasa 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ( $\mu\text{L}$ )	Ácido ascórbico ( $\mu\text{L}$ )
1	0.5	0	1.49	10	0
2	0.5	10	1.46	10	2
3	0.5	20	1.43	10	4
4	0.5	30	1.40	10	6
5	0.5	40	1.37	10	8
6	0.5	50	1.34	10	10
7	0.5	60	1.31	10	12
8	0.5	70	1.28	10	14
9	0.5	80	1.25	10	16
10	0.5	90	1.22	10	18
11	0.5	100	1.19	10	20

Una vez realizada la curva patrón, se determinará la capacidad antioxidante de los diferentes extractos. Primero se obtuvieron las soluciones de los extractos empleados, se pasaron 5 mg de extracto y se disolvieron en 0.1 mL de regulador de fosfatos.

La metodología se inició preparando una solución de ABTS, posteriormente se colocaron 30 µL de las muestras de cada extracto:

**Tabla 6.- Curva tipo para cada extracto**

Tubo No.	ABTS 1mM (mL)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 1mM (µL)	Reg de fosfatos 0.1 M pH 6.0 (mL)	Peroxidasa 500 µg/mL (µL)	Extracto (µL)
1	0.5	0	1.46	10	30
2	0.5	10	1.45	10	30
3	0.5	20	1.44	10	30
4	0.5	30	1.43	10	30
5	0.5	40	1.42	10	30
6	0.5	50	1.41	10	30
7	0.5	60	1.40	10	30
8	0.5	70	1.39	10	30
9	0.5	80	1.38	10	30
10	0.5	90	1.37	10	30
11	0.5	100	1.36	10	30

Enseguida se agitó y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 414 nm.

#### **8.4.5.-Actividad antimicrobiana.**

##### **8.4.5.1.- Preparación, esterilización de material y medios de cultivo.**

En un matraz Erlenmeyer de 1000 mL se prepararon 900 mL de agar nutritivo Müller-Hinton, siguiendo las indicaciones del fabricante. Disolviéndolo calentando con ayuda de una parrilla.

El material que así lo requería era envuelto con papel estraza y cinta testigo, luego todo era esterilizado en autoclave a 121°C a 20 lb de presión por 15 minutos.

Una vez que el agar se enfriaba aproximadamente a 40°C se procedía a vaciar en cajas Petri con aproximadamente 10 mL del medio (en esta acción era requerido un ambiente estéril).

Ya solidificadas las placas eran rotuladas conservándolas para su posterior uso.

Se siembran las cepas de interés: *S. aureus* (ATCC 6538), *E. coli* (ATCC 25922) en 10 mL de caldo BHI para incubar a 37°C por 18-20 horas. De esta suspensión bacteriana se realizaron diluciones para obtener el número de microorganismos existentes, encontrando que se tienen  $1 \times 10^9$  UFC/mL, de este cultivo se tomó 1  $\mu$ L obteniendo  $1 \times 10^6$  UFC/mL.

Se preparan aproximadamente 500 mL de agar nutritivo dividido en dos matraces, esterilizado, se dejó enfriar y se sembraron las cepas ( $1 \times 10^6$  UFC/mL).

Se vacían aproximadamente 10 mL del agar con la cepa a las cajas Petri que se almacenaron anteriormente para obtener un volumen final de 20 mL.

Se realizan las perforaciones en el agar (3 pozos) de aproximadamente 6-7 mm.

La concentración para cada extracto varía dependiendo de la actividad de cada uno: Se pesaron 6.25, 1.25, 25, 50, 100, 125, 200, 250, 400, 500, 750, 1000 y 1250 mg, agregando 500  $\mu$ L de DMSO para hidratarlo. A cada pozo se agregaron 80  $\mu$ L del extracto que correspondía, resultando las concentraciones: 12.5, 25, 50, 100, 200, 250, 400, 500, 800, 1000, 1500, 2000 y 2500  $\mu$ g/ $\mu$ L. Posteriormente se incubaron por 18 horas a 37°C.

Después de la incubación, se examinó si el organismo crece o no en las placas o en los pozos, con lo cual se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) para cada extracto.

El control positivo fue sulfametoxazol/trimetoprim (800mg/160mg) a una concentración de 6.4 $\mu$ g/ $\mu$ L / 1.2 $\mu$ g/ $\mu$ L y como control negativo fue el agar con dimetil sulfóxido al 8.3% (DMSO 8.3%).

La presencia de bacterias en estos medios indicó que los extractos utilizados no inhibieron su crecimiento; por el contrario, si no se observó crecimiento, indicaron que si cuentan con actividad antimicrobiana.

#### **8.4.6.-Cromatografía Líquida de Ultra Alta Eficacia (UHPLC).**

La caracterización de los compuestos presentes en los extractos seleccionados se realizó utilizando el análisis por UHPLC, fueron seleccionados los que obtuvieron mejores resultados de capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana: Acuoso parte aérea, etanol parte subterránea y metanol parte subterránea. Se prepararon pesando 2mg agregando agua para el extracto acuoso y para el etanólico y metanólico se agregó agua: acetonitrilo (50:50).

Los compuestos se determinaron en una columna Acquity UPLC® BEH C18 1.7 $\mu$ m (2.1 x 50 mm). La fase móvil consistió en un sistema isocrático de Agua (A) 90% y Acetonitrilo (B) 10% con los siguientes parámetros: el volumen de inyección fue de 3 $\mu$ L, el flujo se fijó a 0.2 mL/min (muestra previamente filtrada a través de una membrana de nylon de diámetro de poro de 0.2  $\mu$ m), el rango de absorción  $\lambda$  para los espectros UV fue de 200 a 400 nm y el periodo de análisis fue de 5 minutos.

## 8.5.-Variables del estudio

### ***Variable independiente.***

#### Extractos de *Jatropha dioica*:

**Variable:** cualitativa

Para el propósito de este estudio se consideró como extractos de *Jatropha dioica* a la sustancia concentrada que se obtiene de una planta por diversos procedimientos.

**Indicador:** Análisis fitoquímico

**Valor:** Presencia / Ausencia de metabolitos secundarios.

### ***Variable dependiente.***

#### Capacidad antioxidante:

**Variable:** cuantitativa

Se consideró como la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa.

**Indicador:** Presencia de metabolitos secundarios (compuestos fenólicos y terpenoides), prueba ABTS.

**Valor:** Porcentaje de captura y de reacción.

#### Actividad antimicrobiana:

**Variable:** Cualitativa / Cuantitativa

**Indicador:** Presencia de metabolitos secundarios (cumarinas, flavonoides, terpenoides), prueba en micropozos.

**Valor:** Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

## **8.6.-Procedimiento.**

Una vez aprobado por el núcleo básico de la maestría en Ciencias de la Salud de la Facultad de Medicina y Nutrición, de la UJED se realizó la recolección e identificación de *Jatropha dioica* y se llevó a cabo la capacitación para pruebas de laboratorio.

Se limpió la planta y se separó en parte aérea y parte terrestre para secarla en estufa durante 7 días para comenzar los procedimientos de obtención de extractos: maceración, filtración, concentración y liofilización, para almacenarlos en oscuridad.

Para el tamizaje fitoquímico se tomaron muestras de cada extracto para disolver en el solvente correspondiente y realizar las pruebas para la identificación de cada metabolito.

En la capacidad antioxidante se prepararon una serie de tubos con solución ABTS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, reguladora de fosfatos y peroxidasa para una curva de referencia de agentes oxidantes totales, para preparar una serie adicional con los extractos para leer los resultados con un espectrofotómetro a 414 nm. Además, se realizó una curva de referencia con ácido ascórbico que se comparó con cada extracto.

Para la determinación de la actividad antimicrobiana se preparó agar nutritivo Müller-Hinton siguiendo las indicaciones del fabricante, las cepas *S. aureus* (ATCC 6538), *E. coli* (ATCC 25922) se sembraron en caldo BHI incubándolas a 37°C por 18-20 horas, de esa suspensión se realizaron diluciones para obtener el número de microorganismos existentes, obteniendo 1x10<sup>6</sup> UFC/mL. Se

preparó agar y se agregó la cepa para vaciarlas a las cajas Petri. Se realizaron 3 pozos en cada caja de aproximadamente 6-7 mm y se agregó el extracto a diferentes concentraciones. Se incubaron por 18 horas a 37°C. Después de la incubación, se examinó si el organismo crece o no en las placas o en los pozos, con lo cual se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) para cada extracto. El control positivo fue sulfametoxazol/trimetoprim y como control negativo fue el agar con dimetil sulfóxido al 8.3% (DMSO 8.3%).

La determinación de compuestos se realizó por Cromatografía Líquida de Ultra Alta Eficacia (UHPLC), esta identificación sólo se realizó a los extractos que presentaron mejores resultados de capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana: Metanólico y Etanólico parte subterránea y Acuoso parte aérea. Se pesaron 2 mg del extracto agregando agua para el extracto acuoso y para el etanólico y metanólico se agregó agua: acetonitrilo (50:50). La fase móvil consistió en un sistema isocrático de Agua (A) 90% y Acetonitrilo (B) 10% con los siguientes parámetros: el volumen de inyección fue de 3µL, el flujo se fijó a 0.2 mL/min (muestra previamente filtrada a través de una membrana de nylon de diámetro de poro de 0.2 µm), el rango de absorción  $\lambda$  para los espectros UV fue de 200 a 400 nm y el periodo de análisis fue de 5 minutos.

### **8.7.-Consideraciones éticas**

El Presente estudio se apegó a la NOM-087-ECOL-SSA1-2002 para el manejo de bacterias y residuos biológicos infecciosos.

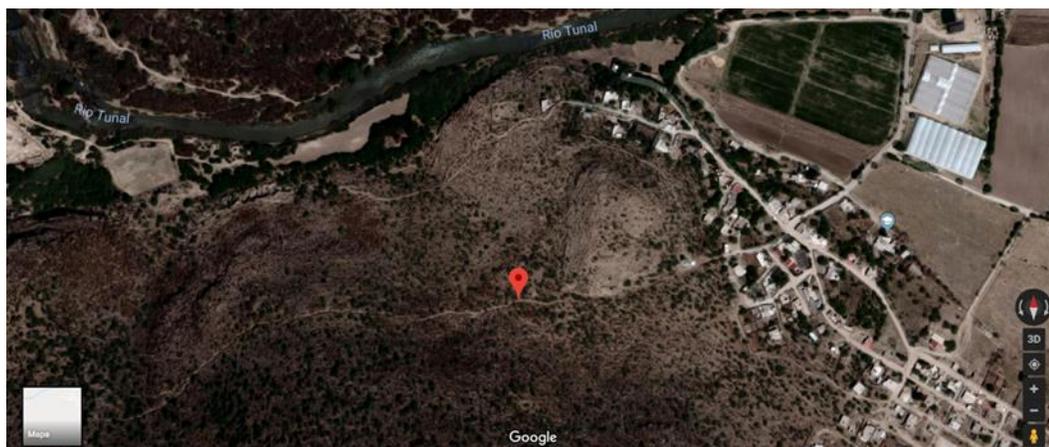
### **8.8.-Análisis de datos**

Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Los resultados se expresaron con medidas de tendencia central y dispersión de acuerdo a la distribución de los datos.

## IX.-RESULTADOS.

Se realizó la recolección de *Jatropha dioica* en noviembre de 2018 en el Poblado el Tunal, perteneciente al municipio de Durango, Dgo, con las coordenadas: 23.961206 N, -104.716720 W. (Fig. 1)



**Figura 1.- Coordenadas de la zona de recolección de *Jatropha dioica*.**

Posteriormente se realizó la identificación botánica en el herbario del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) en el que se depositó un ejemplar de la especie con el número curatorial: 53889. (Fig. 2)

<p>HERBARIO CIIDIR PLANTAS DE DURANGO EUPHORBIACEAE</p> <p><b><i>Jatropha dioica</i> Var. <i>dioica</i></b> MÉXICO. Durango Mpio. Durango. Poblado El Tunal. 23.961206 N,-104.716720 W.</p> <p>Voucher de estudios fitoquímicos.</p> <p>K. Quezada C. 11/11/2018</p> <p>Número curatorial: CIIDIR 53889</p> 	
---	--

**Figura 2.- Voucher de identificación de *Jatropha dioica*.**

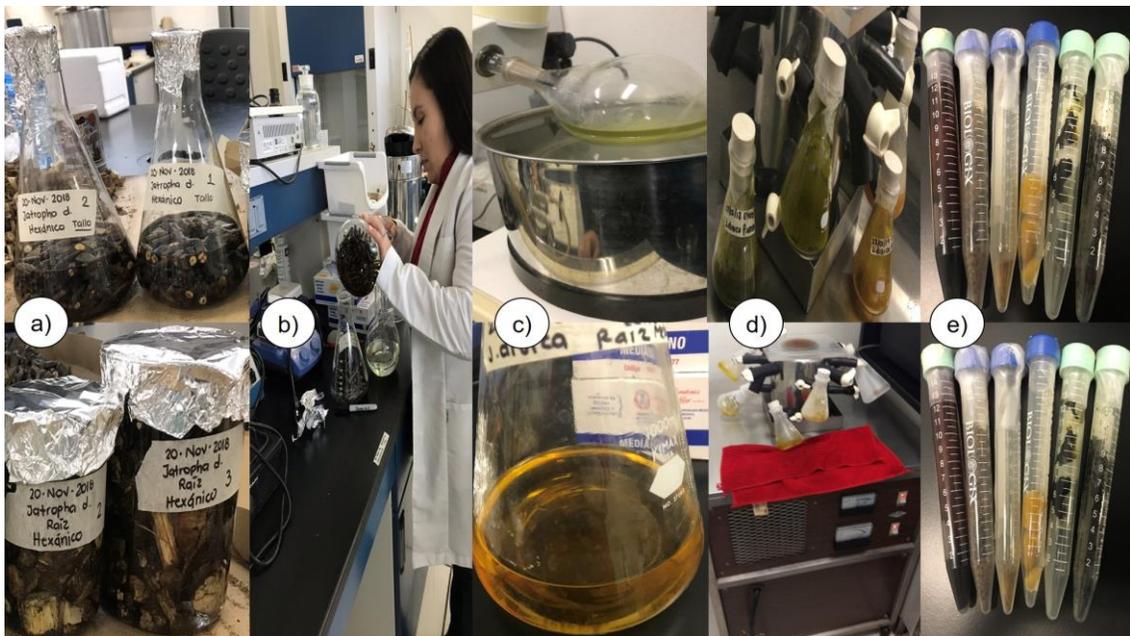
El material vegetal se separó en parte aérea y parte terrestre para secarlo durante 7 días obteniendo 1,397.48 g de parte aérea y 1,323.68 g de parte terrestre, para someterlos al proceso de obtención de extractos (Fig. 3 y 4) obteniendo los rendimientos que se detallan en la tabla 7.

**Tabla 7.- Rendimiento de cada extracto.**

Extracto	Rendimiento (%)
Hexánico parte aérea (HPA)	0.66
Hexánico parte subterránea (HPS)	0.47
Metanólico parte aérea (MPA)	1.16
Metanólico parte subterránea (MPS)	1.67
Etanólico parte aérea (EPA)	0.52
Etanólico parte subterránea (EPS)	0.71
Acetato de etilo parte aérea (ACPA)	0.16
Acetato de etilo parte subterránea (ACPS)	0.21
Acuoso parte aérea (APA)	0.85
Acuoso parte subterránea (APS)	2.03



**Figura 3.- Proceso de preparación y secado de *Jatropha dioica*.** a) *Jatropha dioica* en zona de recolección, b) planta entera, c) limpieza y separación (arriba: parte aérea, abajo: parte subterránea), d) trituración (arriba: parte aérea, abajo: parte subterránea), e) secado.



**Figura 4.- Proceso de obtención de extractos de *Jatropha dioica*.** a) Macerado (arriba: parte aérea, abajo: parte subterránea), b) filtrado, c) concentrado (arriba: parte aérea, abajo: parte subterránea), d) liofilización, e) almacenamiento.

### 9.1.-Tamizaje fitoquímico

En la figura 5 y la tabla 8 se muestran los resultados del tamizaje fitoquímico realizados a cada extracto, todos los extractos presentaron alcaloides, terpenos, fenoles, carbohidratos y flavonoides. Además, los hexánicos tuvieron presencia de resinas, el metanólico parte subterránea presentó resinas, azúcares reductores y aminoácidos, el metanólico parte aérea presentó resinas y azúcares reductores, los Etanólicos tuvieron presencia de azúcares reductores, en acetato de etilo parte subterránea hubo poliurónidos y resinas, en parte aérea resinas, los acuosos presentaron saponinas, azúcares reductores y aminoácidos. Todos los extractos resultaron negativos para quinonas, cumarinas y glicósidos cardiacos.

**Tabla 8.- Resultados de tamizaje fitoquímico para cada extracto.**

Metabolitos	Extractos									
	Hexano		Metanol		Etanol		Acetato de etilo		Acuoso	
	PA	PS	PA	PS	PA	PS	PA	PS	PA	PS
Alcaloides	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	-
Triterpenos y esteroides	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Quinonas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saponinas	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Poliurónidos	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Cumarinas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Resinas	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-
Azúcares reductores	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
Fenoles y taninos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

Aminoácidos libres y Aminas	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
Carbohidratos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicósidos cardiacos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoides	+	+	++	++	+	++	+	+	++	+

El signo (-) indica ausencia de ese metabolito secundario en el extracto. El signo (+) indica presencia de ese metabolito secundario en el extracto.



Figura 5.- Tamizaje fitoquímico de extractos de *Jatropha dioica*.

## 9.2.-Capacidad antioxidante

Para la determinación de la capacidad antioxidante se realizó una curva de referencia con ácido ascórbico que se presenta a continuación:

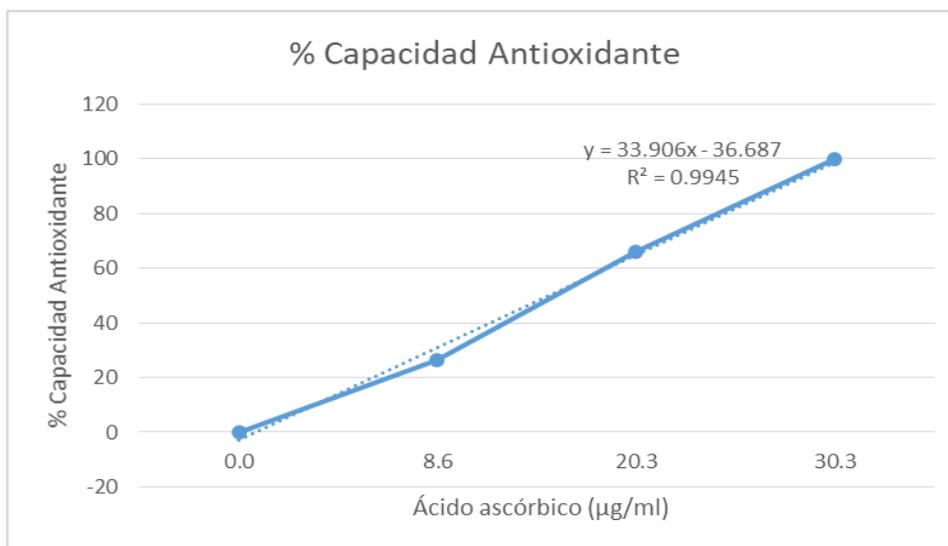


Figura 6.- Curva estándar de ácido ascórbico

La tabla 9 muestra los resultados de capacidad antioxidante de cada extracto, los extractos metanólico y etanólico de la parte subterránea presentaron mayor capacidad con 90.57 y 89.99% respectivamente, seguido del acuoso parte aérea con 88.25%, comparados con ácido ascórbico que representa el 100% de la capacidad antioxidante (Fig. 7).

**Tabla 9.- Resultados de capacidad antioxidante para cada extracto.**

<b>Extracto</b>	<b>Equivalentes de Ácido ascórbico (<math>\mu\text{g}/\mu\text{l}</math>)</b>	<b>Capacidad antioxidante (%*)</b>
MPS	27.47	90.57
EPS	27.29	89.99
APA	26.77	88.25
ACPS	24.69	81.41
APS	22.46	74.03
EPA	22.44	73.97
MPA	21.54	71.03
ACPA	20.68	68.17
HPS	0.20	0.67
HPA	0	0

HPA: Hexánico parte aérea; HPS: Hexánico parte subterránea; MPA: Metanólico parte aérea;

MPS: Metanólico parte subterránea; EPA: Etanólico parte aérea; EPS: Etanólico parte

subterránea; ACPA: Acetato de etilo parte aérea; ACPS: Acetato de etilo parte subterránea;

APA: Acuoso parte aérea; APS: Acuoso parte subterránea. \*Porcentaje comparado respecto al

100% de capacidad antioxidante del ácido ascórbico.

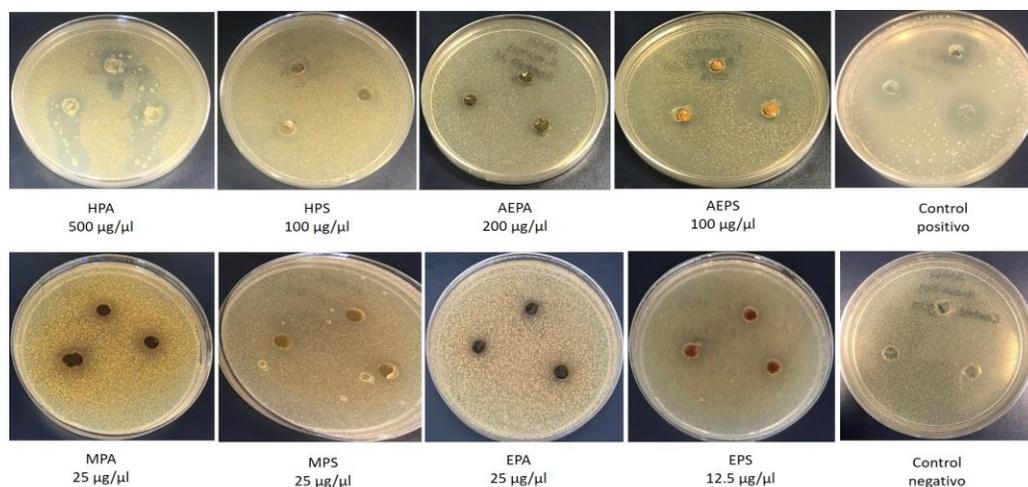


cada extracto con *Staphylococcus aureus*, los extractos etanólicos, metanólicos y acuoso (parte aérea) presentaron mayor actividad obteniendo las CMI más bajas, sin embargo, el extracto etanólico parte subterránea fue el extracto con mayor actividad presentando una CMI de 12.5 µg/µL.

**Tabla 10.- Resultados de actividad antimicrobiana para cada extracto contra *Staphylococcus aureus***

Extracto	CMI (µg/µl)	Diámetro de inhibición (mm)
EPS	12.5	8±1.41
MPS	25	9±1
APA	25	10±1
MPA	25	10.33±2.08
EPA	25	10.66±1.52
ACPA	200	10.33±0.57
HPS	100	13±1.73
ACPS	100	13.66±2.08
HPA	500	11±1
APS	-	NI

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria. NI: No inhibición. Concentración de control positivo (Sulfametoxazol/Trimetoprima): 6.4 µg/µl / 1.2 µg/µL. Diámetro de inhibición de control positivo: 23.66 mm



**Figura 9.- Resultados de actividad antimicrobiana de los extractos de *Jatropha dioica* contra *Staphylococcus aureus*.**

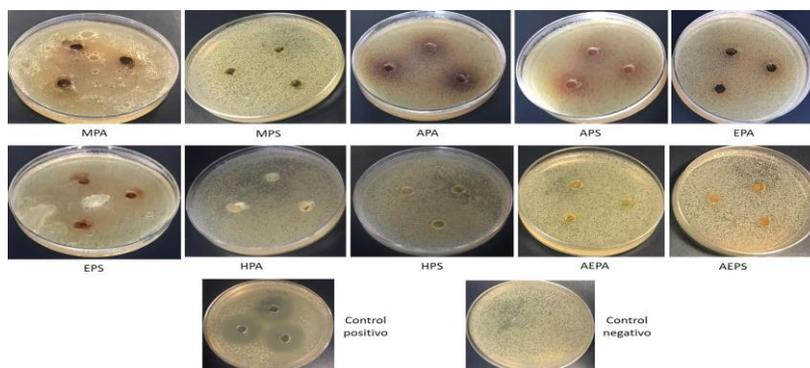
La tabla 11 y figura 10 muestran los resultados de actividad antimicrobiana para cada extracto con *Escherichia coli*, ninguno de los extractos presentó actividad contra esta cepa, a pesar de probar concentraciones desde 12.5 – 2500 µg/µL.

**Tabla 11.- Resultados de actividad antimicrobiana para cada extracto contra *Escherichia coli***

Extracto	Diámetro de inhibición (mm)
HPA	NI
HPS	NI
MPA	NI
MPS	NI
EPA	NI
EPS	NI
ACPA	NI
ACPS	NI

APA	NI
APS	NI

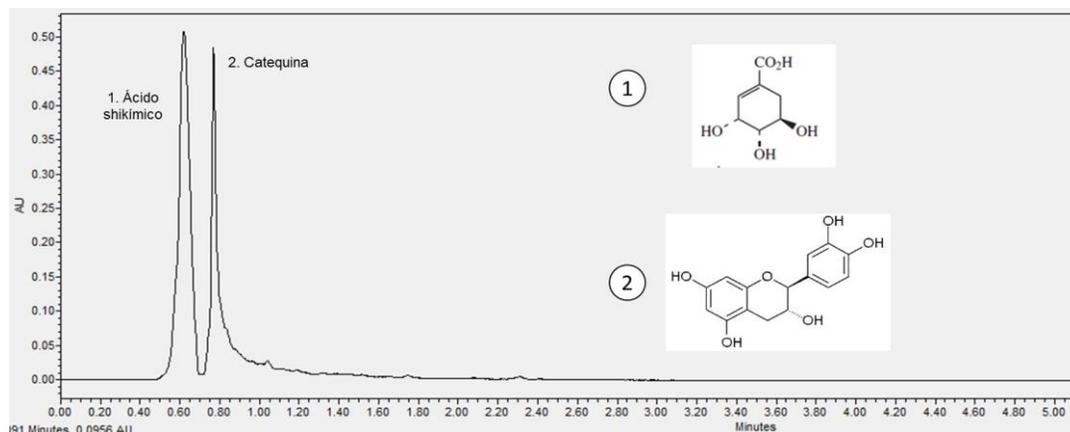
CMI: Concentración Mínima Inhibitoria. NI: No inhibición. Concentración de control positivo (Sulfametoxazol/Trimetoprima): 6.4 µg/µl / 1.2 µg/µL. Diámetro de inhibición de control positivo: 23.66 mm



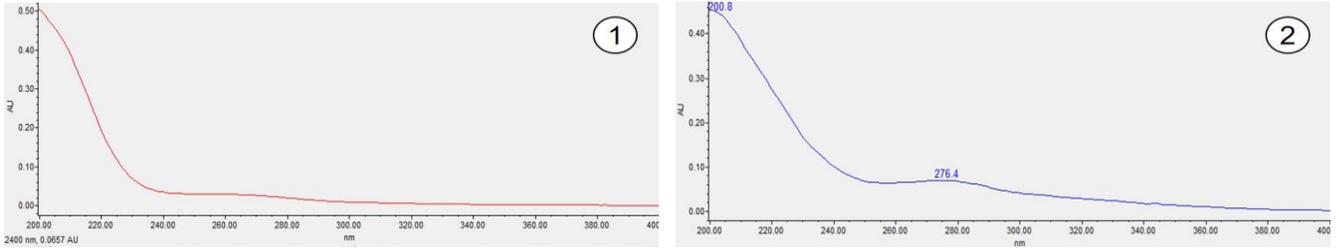
**Figura 10.- Resultados de actividad antimicrobiana de los extractos de *Jatropha dioica* contra *E. coli*.**

#### 9.4.-UHPLC

En la figura 11, se muestra el cromatograma del extracto acuoso parte aérea, donde se detectaron dos compuestos (Ácido shikímico y Catequina), se determinaron los tiempos de retención: 0.622 minutos para Ácido shikímico y 0.773 minutos para Catequina. En la figura 12 se muestran los espectros correspondientes a cada compuesto.



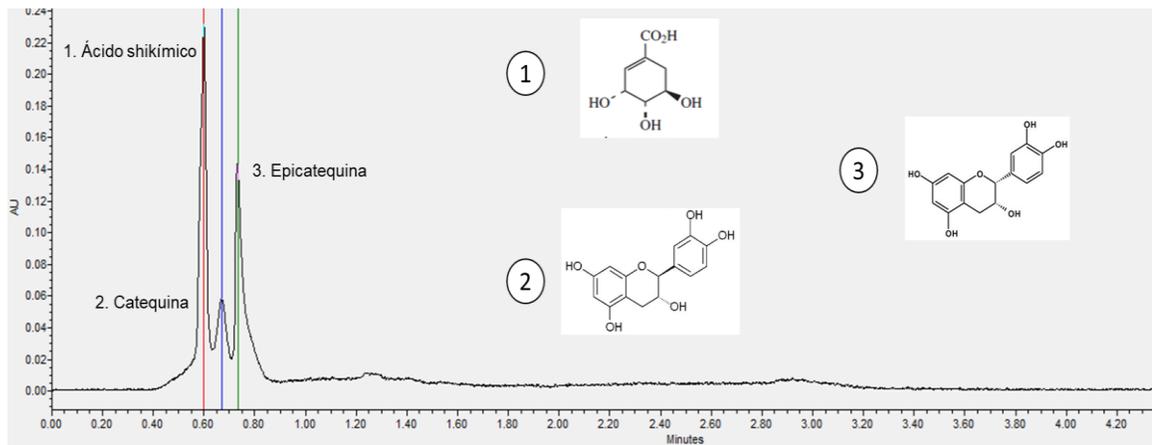
**Figura 11.- Cromatograma del extracto acuoso parte aérea de *J. dioica*.**



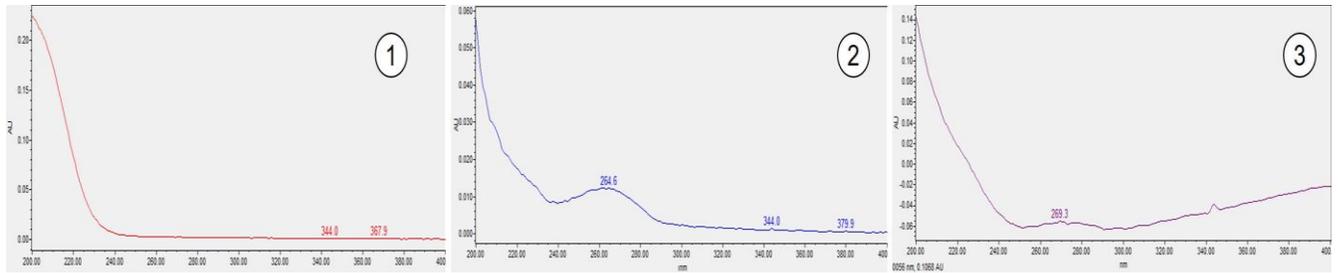
**Figura 12.- Espectros uv-vis del extracto acuoso parte aérea de *J. dioica*.**

1) Ácido shikímico (TR: 0.622), 2) Catequina (TR: 0.773).

En la figura 13, se muestra el cromatograma del extracto etanólico parte subterránea, donde se detectaron tres compuestos (Ácido shikímico y Catequina y Epicatequina), se determinaron los tiempos de retención: 0.602 minutos para Ácido shikímico y 0.670 minutos para Catequina y 0.737 para Epicatequina. En la figura 14 se muestran los espectros correspondientes a cada compuesto.

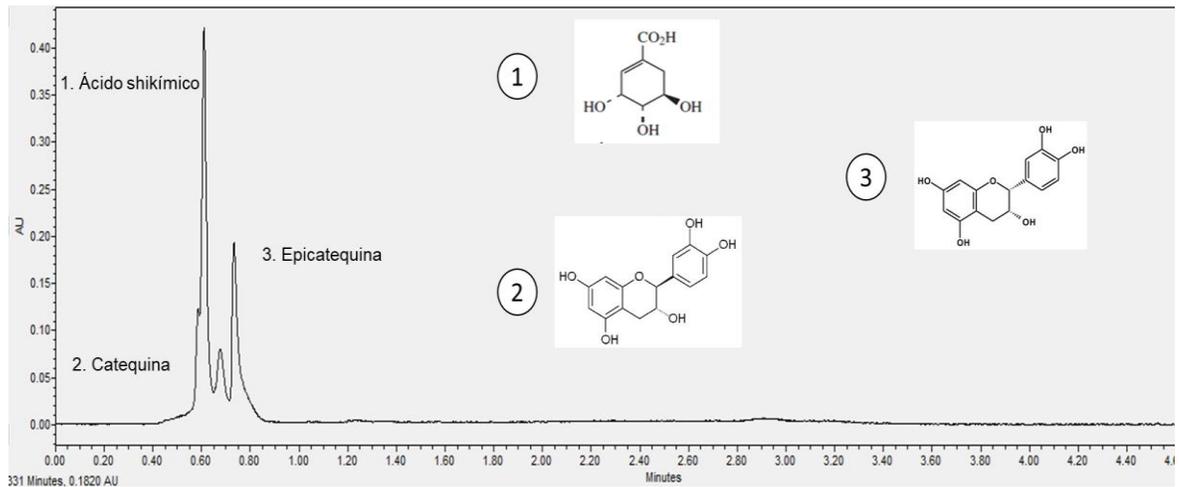


**Figura 13.- Cromatograma del extracto etanólico parte subterránea de *J. dioica*.**

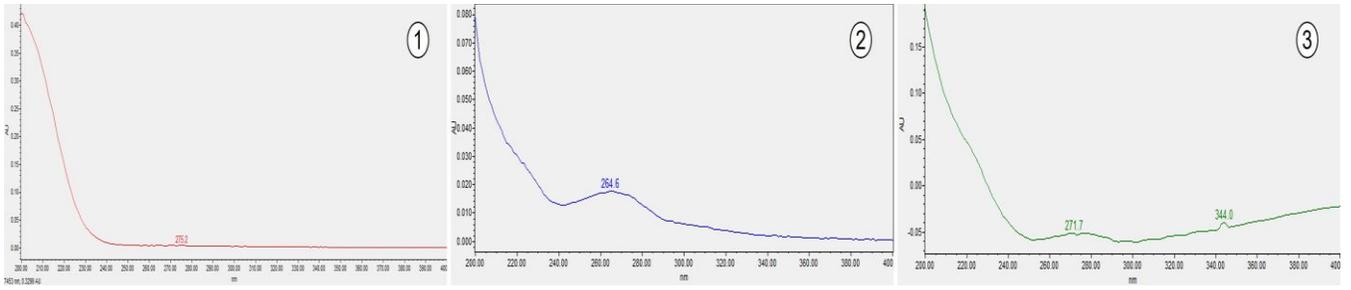


**Figura 14.- Espectros uv-vis del extracto etanólico parte subterránea de *J. dioica*.** 1) Ácido shikímico (TR: 0.602), 2) Catequina (TR: 0.670), 3) Epicatequina (TR: 0.737).

En la figura 15, se muestra el cromatograma del extracto metanólico parte subterránea, donde se detectaron tres compuestos (Ácido shikímico y Catequina y Epicatequina), se determinaron los tiempos de retención: 0.611 minutos para Ácido shikímico y 0.678 minutos para Catequina y 0.733 para Epicatequina. En la figura 16 se muestran los espectros correspondientes a cada compuesto.



**Figura 15.- Cromatograma del extracto metanólico parte subterránea de *J. dioica*.**



**Figura 16.- Espectros uv-vis del extracto metanólico parte subterránea de *J. dioica*.** 1) Ácido shikímico (TR: 0.611), 2) Catequina (TR: 0.678), 3) Epicatequina (TR: 0.733).

En general, los resultados del análisis por UHPLC han confirmado la presencia de compuestos que le otorgan propiedades antioxidantes y antimicrobianas a *Jatropha dioica*.

## X.-DISCUSIÓN

Las propiedades farmacológicas de las plantas se deben principalmente a los metabolitos o compuestos secundarios que contienen, los cuales ejercen sus efectos una vez que han sido ingeridos o aplicados los contenidos en infusiones, cataplasmas y otras preparaciones.

Una de las técnicas más empleadas para conocer cualitativamente el contenido de metabolitos en las plantas es el tamizaje fitoquímico, tal y como se mencionó anteriormente, consiste en una serie de reacciones coloridas para identificar familias de compuestos.

En el tamizaje realizado en este trabajo, se detectó la presencia de alcaloides en la mayoría de los extractos, nuestros resultados concuerdan con los obtenidos por Sabandar y cols (2013), quienes mencionan que en otras especies del género *Jatropha*, incluida *J. dioica*, también han sido aislados, tanto en raíz y en tallo (107).

Estudios con numerosos extractos y compuestos derivados de plantas han demostrado que los compuestos fenólicos y alcaloides son los compuestos más bioactivos que revelan actividad significativa. Algunos de sus componentes actúan como inhibidores del crecimiento bacteriano, algunos como inhibidores de exopolisacáridos y otros inhiben la adherencia bacteriana. Los metabolitos secundarios tienen una amplia gama de actividades según la especie, la topografía y el clima del país de origen y pueden contener diferentes categorías de principios activos, las variaciones en la composición química modifican su actividad antimicrobiana (108).

También se encontraron triterpenos y esteroides en casi todos los extractos, excepto en los hexánicos y en el metanólico parte aérea, las saponinas solo se encontraron en los extractos acuosos y las cumarinas estuvieron ausentes en todos los extractos. Los flavonoides y fenoles se encontraron en todos los extractos siendo más abundantes en los extractos más polares; en cuanto a fenoles y taninos solo en el extracto acuoso parte subterránea no fue detectado. Los taninos se consideran metabolitos con alta eficacia antimicrobiana debido a que existe una fuerte influencia de estructura en función del potencial antimicrobiano. Actúan inactivando y generando la pérdida de función de las proteínas bacterianas como adhesinas, proteínas de transporte y enzimas unidas a la membrana.

Los carbohidratos y azúcares reductores se encontraron presentes en el extracto acuoso y metanólico, aminas en metanólico.

Es importante resaltar que el estudio de diterpenos en diferentes especies de *Jatropha* ha ido en aumento debido a la gran variedad de estructuras encontradas en distintas investigaciones (107,109), considerando estos compuestos como los más activos.

Rech Franke y cols (2006) en su estudio proponen que los compuestos fenólicos y la vitamina C pueden competir durante el ataque de radicales libres (110). Martínez y cols en 2014 estudiaron el efecto antioxidante y quimioprotector de *J. dioica* y reportaron que la presencia en la raíz de compuestos terpenoides, polifenoles, azúcares reductores y alcaloides le dan una gran capacidad antioxidante a los extractos, suficiente para prevenir el daño genotóxico de manera eficaz, siendo mayor sobre aquellos que involucran un incremento en el estrés oxidativo como parte de su efecto tóxico (52).

En base a estudios previos se determinó también en este trabajo, la capacidad antioxidante de los extractos mediante la técnica modificada del radical ABTS

propuesta por Childs y Bradsley, 1975. El orden de actividad antioxidante fue: Metanólico parte subterránea > etanólico parte subterránea > acuoso parte aérea > acetato parte subterránea > acuoso parte subterránea > etanólico parte aérea > metanólico parte aérea > acetato parte aérea > hexánico parte subterránea > hexánico parte aérea.

El efecto antioxidante fue evidente en el extracto acuoso y metanólico, sin embargo, para el extracto hexánico resultó negativo, lo que puede indicar que los compuestos polares son los que le confieren esa propiedad antioxidante (52, 54). A pesar de que se observó la presencia de alcaloides, triterpenos, esteroides, fenoles, taninos y flavonoides, mismos que como se ha mencionado son señalados como responsables de la actividad antioxidante y antimicrobiana, en el caso de flavonoides se realizaron cuatro pruebas, de las cuales dieron negativas las de Rosemheim (para identificar antocianidinas), y la de identificación de Catequinas, ambos compuestos son los que mayor actividad antioxidante presentan; otra razón por la cual no se obtuvo actividad antioxidante y antimicrobiana pudiera ser la baja solubilidad del extracto al momento de realizar las pruebas, puesto que en ambos ensayos se realiza en fase acuosa.

Ramírez y colaboradores en 2016 determinaron el contenido de polifenoles en extractos de *Jatropha dioica*, donde el total de la planta registró presencia de flavonoides, mientras que para los triterpenos no se identificaron en el extracto hidroalcohólico del tallo, coincidiendo los resultados en la cuantificación en un rango de 23.0 a 44.03 µg/mL ac. gal. Siendo el extracto hidroalcohólico de raíz 44.64% mayor a la del extracto hidroalcohólico de tallo. Igualmente, la capacidad antioxidante de la raíz resultó ser 44.67% mayor a la del tallo, concluyendo que el 89% de la capacidad antioxidante se debe a la presencia de polifenoles en los extractos de la planta (54).

Para los extractos hexánicos se observaron resultados negativos de capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana, sin embargo, en el tamizaje fitoquímico se observó la presencia de alcaloides, triterpenos, esteroides, fenoles, taninos y flavonoides, mismos que como se ha mencionado son señalados como responsables de la actividad antioxidante y antimicrobiana, en el caso de flavonoides se realizaron cuatro pruebas, de las cuales dieron negativas las de Rosemheim (para identificar antocianidinas), y la de identificación de Catequinas, ambos compuestos son los que mayor actividad antioxidante presentan; otra razón por la cual no se obtuvo actividad antioxidante y antimicrobiana pudiera ser la baja solubilidad del extracto al momento de realizar las pruebas, puesto que en ambos ensayos se realiza en fase acuosa.

Estudios previos, mostraron que la raíz de la planta presenta flavonoides y terpenos, señalados como posibles responsables del efecto antioxidante y antimicrobiano en extractos acuosos y metanólicos (111). Lo cual podría explicar la alta actividad antioxidante presente en los extractos de raíz obtenidos en este trabajo.

Wong-Paz y cols (2015) señalan que los extractos de raíz de *J. dioica* tienen mayor contenido fenólico que de flavonoides, que puede deberse al hecho de que las raíces de esta planta son los primeros tejidos que detectan una condición de déficit de agua que inducen señales de estrés que se traducen en una mayor concentración de metabolitos secundarios en el que los compuestos fenólicos son incluidos, por esta razón, se considera que la raíz es más activa, coincidiendo con nuestro estudio ya que la parte subterránea tuvo los mejores resultados para capacidad antioxidante y para actividad antimicrobiana (55).

Los estudios realizados demuestran que los metabolitos como alcaloides, flavonoides, taninos, y otros compuestos de naturaleza fenólica son responsables de las actividades antimicrobianas en plantas superiores (112-114). Los flavonoides son sustancias fenólicas hidroxiladas que suelen ser sintetizados por las plantas en respuesta a las infecciones microbianas (115), la actividad antimicrobiana de los flavonoides puede deberse a su habilidad para

formar interacciones proteicas con proteínas intracelulares y por la interacción para la formación de complejos con las paredes celulares bacterianas que involucra la lisis celular (116). Los terpenoides también han sido informados como antimicrobianos debido a la capacidad que poseen de causar una desestabilización en la integridad y permeabilidad de la membrana, al interferir con la disipación de la fuerza de los protones (117). Por lo tanto, la presencia en el tamizaje de terpenoides y compuestos fenólicos podría explicar la actividad tanto antimicrobiana como antioxidante observada en el presente estudio.

Químicamente, los compuestos fenólicos (fenoles y flavonoides) son sustancias químicas que poseen un anillo aromático, con uno o más grupos hidroxilos con derivados funcionales como ésteres, glicósidos entre otros (54). La forma más común de encontrarlos en la naturaleza es en forma de glicósidos, siendo solubles en agua y solventes orgánicos. Son muy importantes para el desarrollo y buen funcionamiento de las plantas, ya que actúan como agentes protectores contra la luz UV o contra la infección por microorganismos fitopatógenos; además estos compuestos presentan propiedades relacionadas con la salud humana, lo cual está basado en su actividad antioxidante. Sin embargo, su estructura influye en la actividad biológica que estos realizan por ejemplo la disposición y números de grupos hidroxilos le otorgan mayor actividad antioxidante, pero la sustitución de grupos hidroxilos por glicosilación disminuye la actividad antioxidante.

Con respecto a la actividad antimicrobiana de los extractos, en un estudio realizado en *Jatropha dioica* del estado de Hidalgo por Cortés Cabrera y cols en 2005 (118) donde se evaluó la actividad antibacteriana de *Jatropha dioica* con el método de inoculación por estría, mostró inactividad para *E. coli* y actividad para *S. aureus* a partir de 1000 µg/mL, la cual estuvo relacionada con la baja concentración de alcaloides, nula de flavonoides, baja en triterpenos y media de saponinas.

Según Maguna (2006) uno de los principales mecanismos de acción propuestos para los terpenoides consiste en la disrupción de la membrana celular bacteriana mediante tres posibles vías: aumentando la permeabilidad de la membrana a iones pequeños, afectando la estabilidad estructural de la membrana y desestabilizando el empaquetamiento de la bicapa lipídica, cualquiera de estos tres efectos produce la muerte en la célula bacteriana (119).

Es importante resaltar que el extracto acuoso de parte subterránea no presentó actividad con ninguno de los microorganismos estudiados, por lo que se deduce que el resultado negativo puede deberse a que los metabolitos con actividad antimicrobiana se encuentran en bajas o nulas concentraciones, evidenciándose en el tamizaje fitoquímico donde no hubo presencia de alcaloides, fenoles y taninos, mismos que se han propuesto como metabolitos con gran actividad antimicrobiana.

Vargas Segura y cols en 2018 realizaron un estudio con diversas plantas medicinales con actividad antibacteriana contra *Streptococcus mutans* y encontraron mediante HPLC que la mayoría de los extractos contenían flavonoides y catequinas (en extracto etanólico y acuoso) que están relacionados al efecto antibacteriano, sintetizados en respuesta a las infecciones microbianas en las plantas (57). Por su parte, Belmares (2013) atribuye la actividad antimicrobiana de *Jatropha dioica* a la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos y otros compuestos fenólicos en sus extractos, destacando que los ácidos fenólicos (polifenoles) como el ácido elágico inhibe microorganismos grampositivos y gramnegativos, sin embargo, en éste estudio, los resultados obtenidos por UHPLC no demostraron la presencia de ácido elágico. (56).

Datos recientes indican que las bombas de eflujo están implicadas en la resistencia de las bacterias gramnegativas a la mayoría de los productos naturales. en un estudio realizado con *J. dioica* los metabolitos encontrados resultaron ser activos contra bacterias grampositivas en particular *S. aureus*, se determinó que estos metabolitos actúan como inhibidores de la bomba de eflujo

y las gramnegativas tienen una resistencia innata a múltiples fármacos debido a la presencia de flujo de salida de las bombas (118).

Dado que la eficacia antimicrobiana de los flavonoides proviene de la capacidad de formar complejos con proteínas solubles y membranas bacterianas, la penetración y mantener su posición en un microorganismo es un punto crítico, por lo tanto, la presencia de bombas de eflujo es esencial para la actividad antimicrobiana de los flavonoides (108).

En un estudio realizado en 2011 por Dhale se encontró que extractos a partir de solventes orgánicos a concentraciones de 20 mg/mL, lograron inhibir *E. coli* con un halo de inhibición de 10 mm. Estos resultados evidencian la necesidad de mayores concentraciones de extracto, además de que los resultados pueden depender del método de extracción y los solventes utilizados (120). Henao y colaboradores en 2010, evaluaron la actividad antimicrobiana de los extractos de la planta *Lippia organoides* y mencionan que los extractos obtenidos por métodos en frío presentan mayor actividad antimicrobiana que los métodos que emplean calor concluyendo que la baja temperatura permite conservar la actividad antimicrobiana de los extractos (121).

Cruz Carrillo y colaboradores (2010) estudiaron el efecto antimicrobiano de los extractos etanólicos de las hojas de algunas plantas de importancia en México, sus resultados mostraron actividad inhibitoria contra *S. aureus*, sin embargo, ningún extracto mostró actividad contra *E. coli* (122). Se puede suponer que los extractos etanólicos no tienen actividad con bacterias gramnegativas, posiblemente porque estos microorganismos presentan compuestos anfipáticos que operan como bombas de expulsión de diversas sustancias, por lo cual, el antibacteriano es expulsado de manera inmediata, sin alcanzar a cumplir su efecto, tal como lo mencionan Domingo y López (2003) (123), otra posibilidad es que el compuesto activo no alcance el sitio blanco de acción o bien, su estructura impida el paso del principio activo al interior de la célula bacteriana (124).

Vallejo y cols (2014) en su estudio sobre tamizaje antimicrobiano a 34 extractos vegetales contra bacilos gramnegativos concluyen que las bacterias gramnegativas poseen una resistencia intrínseca a los antibióticos más alta que la de las grampositivas, al comparar el efecto de extractos etanólicos y hexánicos. Se encontró que solo generaron inhibición significativa en la cepa clínica de *E. coli*, siendo inactivas para otras bacterias gramnegativas, debido a que cada cepa bacteriana posee diferencias tanto fenotípicas como genotípicas que les confieren características propias de respuesta frente a antimicrobianos (125).

Todo, lo anterior puede explicar la inactividad de nuestros extractos contra *E. coli*.

Por su parte, *S. aureus* posee mecanismos de resistencia relacionados con la activación de una síntesis de la pared celular con hiperproducción de proteínas ligadoras de penicilinas, engrosamiento de la pared y el encarcelamiento de fármacos por hiperproducción de los componentes de pared. Otros mecanismos que posee la bacteria son la producción de la enzima coagulasa que hace que se deposite el material de fibrina sobre los cocos protegiéndoles del ataque por las células del hospedador, producción de proteasas, nucleasas y lipasas que sirven para despolimerizar las proteínas del hospedador, los ácidos nucleicos y las grasas, el desarrollo de una vía bioquímica resistente la cual puede tener lugar por intercambio genético bloqueando el agente antimicrobiano y por eflujo donde el microorganismo es capaz de bombear hacia afuera el antimicrobiano que va entrando en la célula. Estudios previos han demostrado que *S. aureus* posee genes que le permiten generar resistencia contra biocidas (Agentes químicos y antibióticos) (126) sin embargo, los extractos de *Jatropha dioica* presentaron actividad contra *S. aureus* hallazgo importante ya que esta bacteria es muy conocida por generar resistencia a múltiples antibióticos del mercado actual.

Se considera que la prueba de difusión en pozo los extractos exhiben mejor desempeño con relación a la difusión en disco, lo que concuerda con la

literatura, donde se indica que la adición de los extractos en pozos realizados en el agar, concentra y difunde mayor cantidad de éste, facilitando la evaluación de su potencial antibacteriano (119). A pesar de ello, se sugiere realizar otros estudios con *J. dioica* que empleen otros procedimientos para la actividad antimicrobiana y conocer si los resultados siguen siendo iguales o mejoran su actividad.

En el presente estudio, los extractos metanólico y etanólico resultaron ser más activos, además en las pruebas de UHPLC se encontraron los mismos compuestos, esto puede deberse a que el metanol y el etanol tienen una polaridad muy parecida, por lo que extraen un rango de compuestos muy similares.

Respecto a los resultados de UHPLC, se logró separar e identificar tres compuestos: ácido shikímico, catequinas y epicatequinas. El ácido shikímico es un intermediario bioquímico importante en plantas y microorganismos, a partir de él se forman aminoácidos y otros compuestos fenólicos aromáticos más complejos (fenilpropanoides, flavonoides y alcaloides) con propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antifúngicas, antitumorales, entre otras. La catequina y epicatequina son compuestos fenólicos que pertenecen al grupo de los flavanoles, siendo los flavonoides más comunes con actividad antioxidante importante. La estructura de los flavonoides influye de manera decisiva en la actividad biológica que estos realizan, por ejemplo, las disposiciones estructurales confieren mayor o menor actividad antioxidante. (127) mencionan estos compuestos con acción antimicrobiana contra *S. aureus* y *E. coli*, aunque en concentraciones muy elevadas en comparación con los antibióticos.

En respuesta a las variaciones de los resultados de este estudio con otras investigaciones estas pueden deberse a las diferencias de recolección y extracción de la planta que influyen en la presencia y conservación de sus compuestos, al método de extracción que también influye en su conservación y determinación química, además los procedimientos que implican altas temperaturas pueden causar modificaciones en los compuestos bioactivos de

los extractos por ejemplo, los polifenoles y flavonoides son térmicamente sensibles y las cantidades de estos compuestos pueden verse afectadas, los cuales son importantes para el mantenimiento de sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Diversos autores concluyen que el contenido fenólico en extractos puede ser afectado por factores extrínsecos tales como la temperatura, pH, luz y contenido de oxígeno, lugar de colecta, entre otros (53-55).

Los resultados de este estudio sugieren que *Jatropha dioica* originaria de Durango es fuente de diversos metabolitos secundarios que poseen actividades tanto antimicrobianas como antioxidantes, estos resultados abren la posibilidad a nuevas investigaciones, donde puedan utilizarse los compuestos detectados para aislarlos y probar su actividad antioxidante y antimicrobiana por separado, siendo compuestos no detectados anteriormente. Además, el uso empírico de *Jatropha dioica* era limitado a caída del cabello y golpes, con esta investigación se comprueban otros usos que se le pueden dar a la planta y aprovecharla como una alternativa accesible y económica al tratamiento de enfermedades relacionadas con estrés oxidativo o con infecciones por microorganismos.

## XI.-CONCLUSIÓN

- Todos los extractos presentaron alcaloides, terpenos, fenoles, carbohidratos y flavonoides. Además, los hexánicos tuvieron presencia de resinas, el metanólico parte subterránea presentó resinas, azúcares reductores y aminoácidos, la parte aérea resinas y azúcares reductores, los etanólicos presentaron azúcares reductores, en acetato de etilo parte subterránea hubo presencia de poliurónidos y resinas, en parte aérea resinas, los acuosos presentaron saponinas, azúcares reductores y aminoácidos.
- Los extractos metanólico y etanólico de parte subterránea presentaron mayor porcentaje de capacidad antioxidante con 90.57 y 98.99 respectivamente, seguido del acuoso de parte aérea con 88.25. Los extractos hexánicos no presentaron capacidad antioxidante.
- El extracto acuoso de parte aérea y los extractos metanólicos y etanólicos tuvieron mayor actividad antimicrobiana contra *S. aureus*, sin embargo, ninguno de los extractos probados mostró actividad contra *E. coli*.
- Los compuestos detectados por medio de UHPLC fueron: ácido shikímico, catequinas y epicatequinas, considerados como compuestos con actividades antioxidantes y antimicrobianas importantes.

## **XII.-PERSPECTIVAS**

La perspectiva de este proyecto es investigar más a fondo sobre la actividad antioxidante y antimicrobiana, empleando otras metodologías y valorar cuál de ellas aumenta su actividad, así como un análisis UHPLC más completo empleando distintos solventes, mayores periodos de análisis y tipos de extractos para conocer otros compuestos que en este estudio no se encontraron. En un futuro, se considera importante aislar estos compuestos y conocer sus actividades por separado.

Se considera de gran importancia proporcionar otras alternativas de tratamiento a la población, que impliquen el uso y aprovechamiento de la riqueza herbolaria de cada país y representen una alternativa accesible y económica.

### XIII.-REFERENCIAS

1. (OMS) OMdIS. Organización Mundial de la Salud: Medicina Tradicional. [Online].; 2018 [cited 2018 Agosto 20. Available from: HYPERLINK "[https://www.who.int/topics/traditional\\_medicine/es/](https://www.who.int/topics/traditional_medicine/es/)" [https://www.who.int/topics/traditional\\_medicine/es/](https://www.who.int/topics/traditional_medicine/es/) .
2. Villarreal-García LE, Oranday-Cárdenas A, De la Garza-Ramos MA, Rivas-Morales C, Verde-Star MJ, Gómez-Treviño JA. Potencial antibacterial, actividad citotóxica y mutagénica de *Krameria ramosissima*, *Larrea tridentata*, *Jatropha dioica* y *Leucophyllum frutescens*. Universidad Autónoma de Nuevo León. 2014 Marzo.
3. Coto C. La globalización y el renacimiento de las enfermedades infecciosas. *Revista Química viva*. 2005; 4(1).
4. (OMS) OMdIS. Organización Mundial de la Salud: Enfermedades infecciosas. [Online].; 2018 [cited 2018 Agosto 25. Available from: HYPERLINK "[https://www.who.int/topics/infectious\\_diseases/es/](https://www.who.int/topics/infectious_diseases/es/)" [https://www.who.int/topics/infectious\\_diseases/es/](https://www.who.int/topics/infectious_diseases/es/) .
5. Ososki AL, Lohr P, Reiff M, Balick MJ, Kronenberg F, Fugh-Berman A, et al. Ethnobotanical literature survey of medicinal plants in the Dominican Republic used for women's health conditions. *Journal of Ethnopharmacology*. 2002; 79.
6. Atoiu AK, Mansouri A, Boskou G, Kelafas P. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*. 2005; 89.
7. Pérez-Escandón B, Villavicencio-Nieto M, Ramírez-Aguirre A. Lista de las plantas útiles del Estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 2003.
8. (OMS) OMdIS. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. *Bibl OMS*. 2013.
9. Argueta VA, Cano L, Rodarte M. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana Vol. II México: Instituto Nacional Indigenista; 1994.

10. Nahin RL. Costs of Complementary and Alternative Medicine (CAM) and Frequency of Visits to CAM Practitioners: United States. National health statistics reports. 2009;(18).
11. Pochettino ML, Arenas P, Sánchez D, Correa R. Conocimiento botánico tradicional, circulación comercial y consumo de plantas medicinales en un área urbana de Argentina. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 2008; 7(3).
12. Bermúdez A, Oliveira-Miranda MA, Velázquez D. La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. Interciencia. 2005 Agosto; 30(8).
13. Avello M, Cisternas I. Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. Rev Med Chile. 2010; 138.
14. Arenas PM. Suplementos dietéticos: estudio etnobotánico en zonas urbanas. Kurtziana. Volumen especial de Etnobotánica. 2007; 33(1).
15. Canales-Martínez M, Hernández-Delgado T, Caballero-Nieto J, Romo de Vivar-Romo A, Durán-Díaz A, Lira-Saade R. Análisis cuantitativo del conocimiento tradicional de las plantas medicinales en San Rafael, Coxcatlán, Valle de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla, México. Acta Botánica Mexicana. 2006; 75.
16. González-Stuart A, Rivera JO. Comparison of herbal products use in two largest border communities between the US and Mexico. Herbalgram. 2009; 81.
17. Juárez-Rosete CR ACJJRMBMRJLPCCE. Herbs and medicinal plants in Mexico: tradition & innovation. Revista Bio Ciencias. 2013; 2(3): p. 119 - 129.
18. Muñetón PP. Plantas medicinales: un complemento vital para la salud de los mexicanos. Revista Digital Universitaria. 2009.
19. Boegue ES. El patrimonio biocultural de los pueblos indígenas de México. Hacia la conservación in situ de la biodiversidad y agrobiodiversidad en los territorios indígenas.. Instituto Nacional de Antropología e Historia, Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas. 2008.
20. Juárez-Rosete CR. Fertilización orgánica e inorgánica en la producción y calidad de aceites esenciales en manzanilla, menta y tomillo. Ciudad de

México: Colegio de Postgraduados; 2010.

21. Bourgaud F, Gravot A, Milesi S, Contier E. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*. 2001; 161.
22. González EM, López EIL, González ESM, Tena FJA. Plantas medicinales del estado de Durango y zonas aledañas. CIIDIR Durango. 2004.
23. Pérez-Amador MC, Romo de Vivar-Romo A. Fitoquímica y fenología de las plantas. In Waizel-Bucay J. *Las plantas medicinales y las ciencias. Una visión multidisciplinaria*. México: Instituto Politécnico Nacional; 2006. p. 587.
24. Rodríguez-Acosta M, Vega-Flores K, Gante-Cabrera VH. Distribución del género *Jatropha* L. (Euphorbiaceae) en el estado de Puebla, México. *Polibotánica*. 2009 Agosto;(28).
25. López-Sáez JA, Pérez-Soto J. Potencial etnomedicinal de dos especies tropicales del género *Jatropha* L. *Med Nat*. 2011; 5(1).
26. Muanza DN, Euler KL, Williams L, Newman DJ. Screening for antitumor and anti-HIV activities of nine medicinal plants from Zaire. *J. Pharmacog*. 1995; 33.
27. Matsuse IT, Lim YA, Hattori M, Correa M, Gupta MP. A search for antiviral propertied in Panamanioan medicinal plants. The effects on HIV and its essential enzymes. *J Ethnopharmacol*. 1999; 64: p. 15-22.
28. Goel G, Makkar HPS, Francis G, Becker K. Phorbol Esters: Structure, Biological Activity, and Toxicity in Animals. *J. Toxicol*. 2007; 26.
29. Makkar HPS, Becker K, Sporer F, Wink M. Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*. *J. Agric. Food Chem*. 1997; 45.
30. Makkar HPS, Becker K. *Jatropha curcas* toxicity: Identification of toxic principle(s). *Toxic Plants and Other Natural Toxicants*. 1998.
31. Pérez-Soto J, López-Sáez JA. *Etnobotánica medicinal de la Isla de Ometepe (Nicaragua)*. INIES-UNAN. 2010.
32. Escala M, Xena N. Estudio morfoanatómico de semillas mirmecócoras en un ecosistema semiárido venezolano. *Orsis*. 1991; 6.

33. Das B, Kashinatham A, Venkataiah B, Srinivas KVNS, Mahender G, Reddy KR. Cleomiscosin A, a coumarino-lignoid from *Jatropha gossypifolia*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2003; 31: p. 1189-1191.
34. Das B, Venkataiah B. A rare diterpene from *Jatropha gossypifolia*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 1999; 27: p. 759-760.
35. Das B, Venkataiah B. A minor coumarino-lignoid from *Jatropha gossypifolia*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2001; 29: p. 213-214.
36. Sankara SS, Nagarajan S, Sulochana N. Euphorbiaceae flavonoids of the leaves of *Jatropha gossypifolia*. *Phytochemistry*. 1971; 10: p. 1690.
37. Chatterjee A, Das B, Pascard C, Prange T. Crystal structure of a lignan from *Jatropha gossypifolia*. *Phytochemistry*. 1981; 20(8): p. 2047-2048.
38. Banerji J, Das B, Chatterjee A, Shoolery JN. Gadain a lignan from *Jatropha gossypifolia*. *Phytochemistry*. 1984; 23(10): p. 2323-2327.
39. Oduola T AOAT. Suitability of the leaf extract of *Jatropha gossypifolia* as an anticoagulant for biochemical and haematological analyses. *African Journal Biotechnology*. 2005; 4(7): p. 679-681.
40. Kumar V CNPHRM. Search for antibacterial and antifungal agents from selected Indian medicinal plants.. *Ethnopharm*. 2006.
41. Canales M. Informant consensus factor and antibacterial activity of the medicinal plants used by the people of San Rafael Coxcatlan, Puebla, Mexico. *J Ethnopharmacol*. 2005; 97(3): p. 429-439.
42. Asprey GF, Thornton P. Medicinal plants of Jamaica parts I and II. *West Indian Medicinal Journal*. 2005; 2,3(3,1).
43. Ubillas R, JR, KM, KS, SD, BM, SC. An antiviral oligomeric proantocyanidin form de latex of *Croton lechleri*. *Phytomedicine*. 2005.
44. Alanís BA, González GM, Salazar R, Waksman N, Rivas VM. Screening of antifungal activity of plants from the northeast of Mexico. *J Ethnopharmacol*. 2007; 114(3): p. 468-471.
45. Alzamora L, Morales L, Armas L}, Fernández G. *Medicina Tradicional en el Perú: Actividad Antimicrobiana in vitro de los Aceites Esenciales Extraídos*

- de Algunas Plantas Aromáticas. Manuales de la Facultad de Medicina. 2001; 62(2): p. 156-161.
46. Can-Aké R, Erosa-Rejón G, May-Pat F, Peña-Rodríguez LM. Bioactive terpenoids from roots and leaves of *Jatropha gaudieri*. Revista Sociedad de Química México. 2004; 48(1): p. 11-14.
47. Wong-Paz JE, Castillo-Inungaray ML, Contreras-Esquivel JC, Nevárez-Moorillon GV, Aguilar CN. *Jatropha dioica* Fuente potencial de agentes antimicrobianos. Revista Científica de la universidad Autónoma de Coahuila. 2010; 2(4): p. 1-5.
48. NatureServe. NatureServe Explorer. An online encyclopedia of life. [Online].; 2018 [cited 2018 Agosto 26. Available from: HYPERLINK "http://explorer.natureserve.org/servlet/NatureServe?searchName=Jatropha+dioica"  
<http://explorer.natureserve.org/servlet/NatureServe?searchName=Jatropha+dioica> .
49. Torres garcía BE. "Generación, cultivo y análisis preliminar de principios activos en raíces transformadas de siete plantas medicinales del estado de zacatecas". Cen.Cien.Med UAG. 2018.
50. Belmares R, Garza Y, Rodríguez R, Contreras JC, Aguilar CN. Composition and fungal degradation of tannins present in semiarid plants. Agricultural and Food Chemistry. 2009; 8(4): p. 312-318.
51. Aguilera AF, AC, PLA, ACNyFE. Extraction and analysis of ellagic acid from novel complex sources. Chemical Papers. 2008; 62(4).
52. Martínez N, Almaguer G, Vázquez-Alvarado P, Figueroa A, Zúñiga C, Hernández-Ceruelos A. Phytochemical analysis of *Jatropha dioica* and determination of its antioxidant and chemopreventive effect on the genotoxic potential of cyclophosphamide, daunorubicin and methyl methane-sulfonate evaluated by the comet assay. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 2014; 13(5): p. 437-457.
53. Villarreal-García LE, Oranday-Cárdenas A, De la Garza-Ramos MA, Rivas-Morales C, Verde-Star MJ, Gómez-Treviño JA. Potencial antibacterial, actividad citotóxica y mutagénica de *Krameria ramosissima*, *Larrea tridentata*, *Jatropha dioica* y *Leucophyllum frutescens*. Universidad

Autónoma de Nuevo León. 2014 Marzo.

54. Ramírez-Moreno A, Serrano-Gallardo LB, Barragán-Ledezma LE, Quintanar-Escorza MA, Arellano-Pérez-Vertti RD, Delgadillo-Guzmán D. Polyphenolic compounds determination in *Jatropha dioica* extracts and total antioxidant capacity. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 2016; 47(4): p. 33-39.
55. Wong-Paz JE, Contreras-Esquivel JC, Rodríguez-Herrera R, Carrillo-Inungaray ML, López LI, Nevárez-Moorillón GV, et al. Total phenolic content, in vitro antioxidant activity and chemical composition of plant extracts from semiarid Mexican region. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2015;; p. 104-111.
56. Belmares R, Garza Y, Rodríguez R, Contreras JC, Aguilar CN. Composition and fungal degradation of tannins present in semiarid plants. *Agricultural and Food Chemistry*. 2009; 8(4): p. 312-318.
57. Vargas-Segura AI, Silva-Belmares SY, Segura-Ceniceros EP, Ascacio-Valdés JA, Méndez-González L, Ilyina A. Screening and characterization of medicinal plants extracts with bactericidal activity against *Streptococcus mutans*. *Natural Product Research*. 2018;; p. 1-5.
58. CONAPO SGdCNdP. Principales causas de mortalidad en México 1980-2007. XLIII Sesiones de la Comisión de Población y Desarrollo. 2010.
59. Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. *Microbiología médica*. 17th ed.: Brooks; 2002.
60. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Microbiología médica*. 6th ed.: Elsevier; 2009.
61. Romero CR. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. In Ed. 3, editor. *Microbiología y Parasitología Humana*.: Editorial Médica Panamericana; 2010.
62. Alós JI. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015 Enero; 33(10).
63. Vignoli R, Seija V. Principales mecanismos de resistencia antibiótica. 4th ed.; 2000.

64. Center for Diseases Control and Prevention C. Center for Diseases Control and Prevention: Antibiotic resistance threats in the United States. [Online]; 2017 [cited 2018 Septiembre 2. Available from: HYPERLINK "http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/pdf/ar-threats-2013-508.pdf" <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/pdf/ar-threats-2013-508.pdf> .
65. Gil de M. M. Microbiology and molecular features of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Rev Chil Infect*. 2000; 17(2).
66. Nabón A. *Staphylococcus aureus* resistente a betalactámicos en infecciones detectadas en la comunidad. *Salud Militar*. 2006 Marzo; 28(1).
67. Bannerman TL. *Staphylococcus*, *Micrococcus* and other catalasa positive cocci that grow aerobically. In Edición 8, editor. *Manual of Clinical Microbiology*. Estados Unidos: Asociación Americana de Microbiología; 2003.
68. Luján-Roca DA. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: molecular and epidemiological aspects. *An Fac Med*. 2013; 74(1).
69. Pérez N, Baquero HG, Rojas SP, Torres HM, Forero LC, Gutiérrez FM, et al. *Staphylococcus aureus* resistente a la metilicina asociado a la comunidad en la Orinoquía colombiana. *Acta Col Cuidado Intensivo*. 2010; 10.
70. Velázquez-Meza ME, Aires de Sousa M, Echaniz AG, Solórzano SF, Miranda NG, Silva SJ, et al. Surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a pediatric hospital in Mexico city a 7 year period (1997 to 2003): clonal evolution and impact of infection control. *J. Clin. Microbiol*. 2004; 42.
71. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. *N Eng J Med*. 1998; 339.
72. Ardura MI. *Staphylococcus aureus*: old bug with new tricks. *Rev Chil Infect*. 2009; 26.
73. Waldvogel FA. *Staphylococcus aureus*. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. *Principles and practice of infectious diseases*. Philadelphia: Fifth; 200. p. Capitulo 183.
74. Chiang MD, Climo M. *Staphylococcus aureus* carriage and health care

- acquired infection. *Curr Infect Dis Rep.* 2002; 4.
75. Hiramatsu K, Suzuki E, Takamayo Y, Katayama Y, Yokota T. Role of penicillinase plasmids in stability of the *mecA* gene in methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agent Chemother.* 1995; 34.
  76. Caswell H, Brault S, Read AJ, Smith TD. HARBOR PORPOISE AND FISHERIES: AN UNCERTAINTY ANALYSIS OF INCIDENTAL MORTALITY. *Ecological Applications.* 1998; 8(4).
  77. Wenzel R, Reagan D, Bertino J, Baron E, Arias K. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* outbreak: a consensus panel's definition and guidelines. *Am. J. Infect. Control.* 1998; 26.
  78. Coello R, Jimenez J, García M, Arroyo P, Minguez D, Fernández C, et al. Prospective study of infection, colonisation and carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* affecting 900 patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1994; 13.
  79. Sanford MD, Widmer AF, Bale MJ, Jones RN, Wenzel RP. Efficient detection and long-term persistence of the carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis.* 1994; 19.
  80. Enright MC. Genome of an epidemic community-acquired. MRSA *Lancet.* 2006; 367.
  81. Dufour P, Gillet Y, Bes M, Lina G, Vandebesch F, Floret D, et al. Community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergency of a single clone that produces Pantom-Valentin leukocidin. *Clin Infect Dis.* 2002; 35.
  82. Farfán-García AE, Ariza-Rojas SC, Vargas-Cárdenas FA, Vargas-Remolina LV. Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. *Rev chilena Infectol.* 2016; 33(4).
  83. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Oxford university press. 1999.
  84. Daglia M, Papetti A, Gregotti C, Berte F, Gazzani G. In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. *J Agric Food Chem.* 2000; 48.

85. Prior RL, Wu XL, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem.* 2005; 53.
86. Lee J, Koo N, Min DB. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. In Lewith G, Aldridge D. *Food Science and Food Safety.: Medicine and the European Community*; 2004.
87. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 2002; 7.
88. Pastene ER. Estado actual de la búsqueda de plantas con actividad antioxidante. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas.* 2009; 8(6).
89. Escobar A. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar. [Online].; 2012 [cited 2018 Septiembre 6. Available from: HYPERLINK "[http://www.ispch.cl/lab\\_sal/doc/man\\_sucep.pdf](http://www.ispch.cl/lab_sal/doc/man_sucep.pdf)" [http://www.ispch.cl/lab\\_sal/doc/man\\_sucep.pdf](http://www.ispch.cl/lab_sal/doc/man_sucep.pdf) .
90. Rojas JJ, García AM, López AJ. Evaluación de dos metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de plantas medicinales. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas.* 2005 Marzo; 4(2).
91. Balouri M, Bouhdid S, Harki E, Sadiki M, Ouedrhiri W. Antifungal activity of *Bacillus* spp isolated from *Calotropis procera* ait rhizosphere against *Candida albicans*. *Asian J Pharm Clin Res.* 2015; 8.
92. Montero-Recalde M, Vayas L, Avilés-Esquivel D, Pazmiño P, Erazo-Gutierrez V. Evaluation of two methods for measuring the sensitivity of growth inhibition of the certified *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* strain. *Rev Inv Vet Perú.* 2018; 29(4).
93. Ramírez LE, Castaño DM. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et Technica.* 2009; 42.
94. Vitek. Guía microbiológica para interpretar la concentración mínima inhibitoria (CMI). Actualización en Diagnóstico. 2018 Octubre.

95. Raphael E. Phytochemical constituents of some leaves extract of plant species. *J. Environ Sci Toxicol.* 2012; 1.
96. Aiyelaagbe OO, Oguntuase BJ, Arimah BD, Adeniyi BA. The antimicrobial activity of *Jatropha multifida* extracts and chromatografic fractions against sexually transmitted infections. *J Med Sci.* 2008; 8(2).
97. Das K, Tiwari RKS, Shrivastava DK. Review techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: current methods and future trends. *Jorunal of Medicinal Plants Research.* 2010; 4(2).
98. Stock R, Rice CBF. *Chromatographic methods* New York, USA: Chapman and Hall; 1974.
99. Rouessac F, Rouessac A. *Análisis químico: Métodos y técnicas intrumentales modernas* España: McGraw-Hill; 2000.
100. Cazes J, Scott RPW. *Chromatography theory* New York: Marcel Dekker; 2002.
101. Snyder LR. *Introduction to modern liquid chromatography.* Wiley interscience. 2009.
102. Hussain S, Shaikh T. Ultra High Performance Liquid Chromatography (UPLC): A new trend in analysis. *World Journal of Pharmaceutical Research.* 2016 Febrero; 5(3): p. 1-8.
103. Zhang B, Xiaofeng L, Bing Y. Advances in HPLC detection - towards universal detection. *Analytical and bioanalytical chemistry.* 2008; 390(1).
104. Wales T. High-speed and high-resolution UPLC separation at zero degrees Celsius. *Analytical chemistry.* 2008; 80(17).
105. Nguyen D. High throughput liquid chromatography with sub-2 $\mu$ m particles at high pressure and high temperature. *Journal of Chromatography A.* 2007; 1167(1).
106. Childs RE, Bardsley WG. The steady-state kinetics of peroxidase with 2,2'-azino-di-(3-ethyl-benzthiazoline-6-sulphonic acid) as chromogen. *Biochem J.* 1975 Enero; 145(1).
107. Sabandar CW, AN, JFM&SI. Medicinal property, phytochemistry and

- pharmacology of several *Jatropha* species (Euphorbiaceae): A review. *Phytochemistry*. 2013; 85: p. 7-29.
108. Savoia D. Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics. *Future Microbiol*. 2012; 7(8).
  109. Devappa RK, Makkar HPS, Becker K. *Jatropha* Diterpenes: a Review. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 2011; 88: p. 301-322.
  110. Rech-Franke SI, Prá D, Giulian R, Ferraz-Dias J, Yoneama ML, Da silva J, et al. Influence of orange juice in the levels and in the genotoxicity of iron and copper. *Food and chemical toxicology*. 2006 Marzo; 44(3).
  111. Martínez N. Evaluación del efecto quimioprotector de la decocción de la raíz de *Jatropha dioica* en ratones albinos suizos cepa ICR mediante ensayo cometa in vivo. ICSA-BD-UAEH. 2013.
  112. Rodríguez-Pava CN, Zarate-Sanabria AG, Sánchez-Leal LC. Antimicrobial activity of four varieties of plants against pathogens clinical significance in Colombia. *Nova*. 2017; 15(27).
  113. Pandey A. Anti-staphylococcal activity of a pan-tropical aggressive and obnoxious weed *Parihenium histerrophorus*: an in vitro study. *National Academy Science Letters*. 2007; 30.
  114. Mahomoodally M, Gurib-Fakim A, Subratty A. Antimicrobial activities and phytochemical profiles of endemic medicinal plants of Mauritius. *Pharmaceutical Biology*. 2005; 43(3).
  115. Dixon RA, Dey P, Lamb C. Phytoalexins: enzymology and molecular biology. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*. 1983; 55.
  116. Tsuchiya H, Sato M, Miyazaki T, Fujiwara S, Tanigaki S, Ohyama M. Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Ethnopharmacol*. 1996; 50(1).
  117. Sikkema J, De bont J, Poolman B. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J Biol Chem*. 1994; 269(11).
  118. Cortés-Cabrera J, Villavicencio-Nieto MÁ. Actividad biológica de extractos de plantas usadas para el tratamiento del cáncer e infecciones en Tepatepec

Hidalgo. Pachuca de Soto: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo; 2005 Noviembre.

119. Maguna FP, Romero AM, Garro OA, Okulik NB. Actividad antimicrobiana de un grupo de terpenoides. *Univ Nac Nord*. 2006; 57(355).
120. Dhale DA. Phytochemical screening and antimicrobial activity of *Bauhinia variegata* Linn. *J. ecobiotechnology*.. 2011; 3(9).
121. Henao J, Muñoz LJ, Ríos E, Padilla L, Giraldo GA. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos de la planta *Lippia organoides* HBK cultivada en el Departamento del Quindío. *Rev Invest Univ Quindio*. 2009; 19.
122. Cruz-Carrillo A, Rodríguez N, Rodríguez CE. In vitro evaluation of the antibacterial effect of *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* and *Silybum marianum*. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*. 2010; 13(2).
123. Domingo D, López-Brea M. Plantas con actividad antimicrobiana. *Rev Esp Quimioterap*. 2003; 16(4).
124. Soto L. Resistencia bacteriana. *Rev. Cubana Med. Milit*. 2003; 32(1).
125. Vallejo A, Feitosa A, Goulart AE, Pires LL, Mosquera OM. Tamizaje de acción antimicrobiana de 34 extractos vegetales contra bacilos gramnegativos. *Salud Soc Uptc*. 2014; 1(2).
126. Tavares W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. *Rev. da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2000; 33(3).
127. Markham KR, Mabry TJ. *The flavonoids*. London: Chapman and Hall; 1988.

## **XIV.-ANEXOS**

# PRODUCTOS DE TESIS



16 al 20 de septiembre de 2019, Palacio de Convenciones de La Habana, Cuba

## XXVIII Congreso Internacional de la Sociedad Italo-Latinoamericana de ETNOMEDICINA

El Comité Organizador otorga el presente certificado

A: \_\_\_\_\_  
Título: \_\_\_\_\_

Por su participación en la modalidad de:

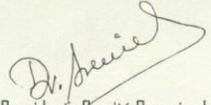
<input type="checkbox"/> Delegado	<input type="checkbox"/> Comité Organizador
<input type="checkbox"/> Conferencista	<input type="checkbox"/> Comité Científico
<input type="checkbox"/> Tema Libre	<input type="checkbox"/> Presidente de sala
<input type="checkbox"/> Póster	<input type="checkbox"/> Invitado
<input type="checkbox"/> Expositor	



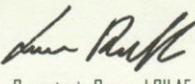
República de Cuba  
SALUS POPULI  
SUPREMA LEX  
Créditos Académicos  
Consejo Nacional de Sociedades Científicas de la Cuba



Fondazione SILAE



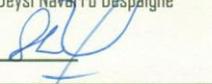
Presidente Comité Organizador  
Msc. Dr. Róldo Arencibia Figueroa



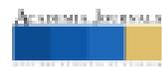
Secretario General SILAE  
Dr. Cs. Luca Rastrelli



Presidente Comité Científico  
Dr. Cs. Deysi Navarro Daspaigne

Dictamen No: 082/19 Créditos académicos: 5/0 otorgados. Firma autorizada 





## CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN ACADEMIA JOURNALS, CELAYA, 2019

OTORGAN EL PRESENTE

### CERTIFICADO

A

**LN. KIMBERLY QUEZADA CÁRDENAS  
DR. EN C. ABELARDO CAMAÑO LUIS  
M.C. MARICELA ESTEBAN MÉNDEZ**

**POR SU PARTICIPACIÓN CON LA PONENCIA TITULADA**

**CARACTERIZACIÓN BIODIRIGIDA DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES DE JATROPHA  
DIOICA ORIGINARIA DE DURANGO**

**VOLUMEN ONLINE CON ISSN 1946-5351 ONLINE, VOL. 11, NO. 9 E INDEXACIÓN  
EN FUENTE ACADÉMICA PLUS (EBSCO) Y LIBRO DIGITAL EBOOK ONLINE INTITULADO  
*DISEMINACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN EN LA EDUCACIÓN SUPERIOR: CELAYA 2019,*  
CON ISBN 978-1-939982-50-6 ONLINE.**

**LA CUAL FUE PRESENTADA EN EL  
TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO EN CELAYA  
LOS DÍAS 6, 7 y 8 DE NOVIEMBRE DE 2019, CELAYA, GUANAJUATO, MÉXICO.**

**DR. RAFAEL MORAS**  
EDITOR, ACADEMIAJOURNALS.COM  
PROFESOR DE INGENIERÍA INDUSTRIAL Y ADMINISTRATIVA  
ST. MARY'S UNIVERSITY, SAN ANTONIO, TX, EEUU.

**M.C. MOISÉS TAPIA ESQUIVIAS**  
COORDINADOR GENERAL DEL  
CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN  
ACADEMIA JOURNALS, CELAYA, 2019.

No. 679

C0692



Firma digital:

<http://aj.itecelaya.edu.mx/folio.html?1-ca9c267dad03e555ebeb6d54cd>