



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA**

**Estudio etnobotánico, hipoglucémico, antioxidante  
y de letalidad de *Tragia nepetifolia* Cav. de  
Cieneguilla, Tierra Blanca, Guanajuato**

**Q U E P R E S E N T A :**

**Nadine Heidi Espíndola Rodríguez**

**P A R A O B T E N E R E L  
T I T U L O D E :**

**Licenciada en Biología**



**DIRECTORA DE TESIS:  
Dra. Jessica Miriam Medrano Hernández**

**Ciudad de México, 2021**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **A MIS PAPÁS:**

Por tomar mi mano desde mis primeros pasos y jamás dejarme caer, por ser la luz en la oscuridad cuando más lo he necesitado, por los consejos personales y profesionales que me han llevado a lograr llegar hasta aquí; pero sobre todo, por el amor.

## **A MIS HERMANOS:**

Por los momentos que hemos compartido hasta el día de hoy, por todas las risas pasadas y las que están por venir, por escuchar mis problemas aun cuando ni yo los entendía. Nunca se rindan hasta alcanzar sus metas, a veces parece que no estamos ni cerca de lograrlo, pero sé que ustedes serán capaces, jamás claudiquen por más difícil que parezca el camino

## AGRADECIMIENTOS

Al **Dr. Jorge Alberto Gutiérrez Gallegos** por ser mi gurú en la Biología y ayudarme a encontrar mi lugar en una ciencia tan diversa, por todo el apoyo brindado a través del tiempo, por preocuparse por mí cuando ni yo sabía qué me pasaba, por creer en mí, por la amistad y la calidez humana con que siempre me ha tratado.

A la **Dra. Jessica Miriam Medrano Hernández** por toda la asesoría brindada, por el constante trabajo en conjunto y los consejos, sin su guía este trabajo no habría podido llegar a término.

Al **Dr. Benito Reyes Trejo** por aceptar integrarme como parte del alumnado de su laboratorio, por los consejos personales que tendré presentes durante mi camino y el apoyo moral en tiempos de crisis.

A los **pobladores de Cieneguilla** por haberme abierto las puertas de su comunidad y compartir su conocimiento conmigo, el tiempo que me brindaron es invaluable por ser la base de toda mi investigación.

A mis mejores amigos de la carrera: **Sofía, Toxtli, David<sup>†</sup> y Estrella**. No importa el momento en el que hayamos coincidido, sin duda alguna todos me han dado recuerdos increíbles dentro y fuera de la Facultad. No hay palabras para describir lo importante que ha sido su amistad para mí en esta trayectoria. Espero que nuestras vidas sigan unidas por mucho tiempo más y poder festejar con ustedes cada una de sus victorias.

A mi amigo incondicional, **Aldo**. Una vez dijiste que siempre estarías para mí y hasta la fecha sigues conmigo sin importar la adversidad. Fuiste un apoyo inigualable durante esta etapa de mi vida y siempre te tendré presente en mi vida por ello. Nunca te alejes de mí. Gracias por recorrer la mayoría del camino a mi lado.

A **Fernando**, por ser un gran compañero de campo y apoyo moral en los últimos años del camino. La atención que me brindaste sin duda fue muy valiosa para mí. Ten por seguro que atesoraré los momentos que compartimos. Mi mayor deseo es que tengas éxito y pronto logres todas tus metas.

# CONTENIDO

<a href="#">ÍNDICE DE CUADROS.....</a>	<a href="#">i</a>
<a href="#">ÍNDICE DE FIGURAS.....</a>	<a href="#">ii</a>
<a href="#">ÍNDICE DE ESPECTROS.....</a>	<a href="#">iii</a>
<a href="#">1. INTRODUCCIÓN.....</a>	<a href="#">1</a>
<a href="#">2. MARCO TEÓRICO.....</a>	<a href="#">3</a>
<a href="#">2.1. Etnobotánica y su importancia.....</a>	<a href="#">3</a>
<a href="#">2.2. Familia Euphorbiaceae.....</a>	<a href="#">4</a>
<a href="#">2.2.1. Género <i>Tragia</i>.....</a>	<a href="#">4</a>
<a href="#">2.2.2. <i>Tragia nepetifolia</i>.....</a>	<a href="#">4</a>
<a href="#">2.2.3. Estudios fitoquímicos realizados en <i>Tragia</i>.....</a>	<a href="#">6</a>
<a href="#">2.2.4. Metabolitos secundarios del género <i>Tragia</i>.....</a>	<a href="#">8</a>
<a href="#">2.3. Medicina tradicional.....</a>	<a href="#">11</a>
<a href="#">2.4. Estrés oxidativo y antioxidantes.....</a>	<a href="#">11</a>
<a href="#">2.4.1. Enfermedades asociadas a las EROs.....</a>	<a href="#">12</a>
<a href="#">2.4.2. Compuestos fenólicos como antioxidantes.....</a>	<a href="#">13</a>
<a href="#">2.5. Diabetes.....</a>	<a href="#">14</a>
<a href="#">2.6. Toxicidad de las plantas medicinales.....</a>	<a href="#">15</a>
<a href="#">3. JUSTIFICACIÓN.....</a>	<a href="#">16</a>
<a href="#">4. HIPÓTESIS.....</a>	<a href="#">17</a>
<a href="#">5. OBJETIVOS.....</a>	<a href="#">17</a>
<a href="#">5.1. Objetivo general.....</a>	<a href="#">17</a>
<a href="#">5.2. Objetivos específicos.....</a>	<a href="#">17</a>
<a href="#">6. MATERIALES Y MÉTODOS.....</a>	<a href="#">18</a>
<a href="#">6.1. Zona de estudio.....</a>	<a href="#">18</a>
<a href="#">6.2. Material vegetal.....</a>	<a href="#">20</a>
<a href="#">6.3. Registro etnobotánico.....</a>	<a href="#">22</a>
<a href="#">6.4. Extractos de <i>Tragia nepetifolia</i>.....</a>	<a href="#">22</a>
<a href="#">6.5. Modelo experimental.....</a>	<a href="#">22</a>
<a href="#">6.6. Efecto hipoglucemiante de extractos.....</a>	<a href="#">24</a>
<a href="#">6.7. Ensayo de letalidad en <i>Artemia salina</i> L. ....</a>	<a href="#">24</a>

6.8.	<u>Obtención de extractos para evaluar la actividad antioxidante.....</u>	<u>25</u>
6.8.1.	<u>Elaboración de extractos de los órganos vegetales.....</u>	<u>25</u>
6.8.2.	<u>Extracción con disolventes orgánicos.....</u>	<u>25</u>
6.9.	<u>Cuantificación de fenoles totales.....</u>	<u>26</u>
6.10.	<u>Ensayo del radical ABTS.....</u>	<u>27</u>
6.11.	<u>Ensayo de poder de reducción antioxidante del ion férrico (FRAP).....</u>	<u>28</u>
6.12.	<u>Análisis estadísticos.....</u>	<u>29</u>
7.	<u>RESULTADOS.....</u>	<u>31</u>
7.1.	<u>Etnobotánica de la ortiguilla.....</u>	<u>31</u>
7.2.	<u>Bioensayos para evaluar efecto hipoglucemiante y letalidad de los extractos de <i>Tragia nepetifolia</i>.....</u>	<u>34</u>
7.2.1.	<u>Efecto hipoglucemiante de extractos de la ortiguilla.....</u>	<u>34</u>
7.2.2.	<u>Ensayo de letalidad en <i>Artemia salina</i>.....</u>	<u>37</u>
7.2.3.	<u>Análisis de los extractos de mayor actividad citotóxica de <i>Tragia nepetifolia</i> por Resonancia Magnética Nuclear (RMN).....</u>	<u>42</u>
7.3.	<u>Determinación del contenido de antioxidantes de la ortiguilla.....</u>	<u>44</u>
7.3.1.	<u>Cuantificación de fenoles totales.....</u>	<u>44</u>
7.3.2.	<u>Ensayo del radical ABTS.....</u>	<u>45</u>
7.3.3.	<u>Ensayo de poder de reducción antioxidante del ion férrico (FRAP).....</u>	<u>46</u>
8.	<u>DISCUSIÓN.....</u>	<u>48</u>
8.1.	<u>Etnobotánica de la ortiguilla.....</u>	<u>48</u>
8.2.	<u>Efecto hipoglucemiante en ratas Wistar.....</u>	<u>49</u>
8.3.	<u>Ensayo de letalidad en <i>Artemia salina</i>.....</u>	<u>50</u>
8.4.	<u>Metabolitos encontrados en los extractos activos de <i>Tragia nepetifolia</i>.....</u>	<u>51</u>
8.5.	<u>Evaluación de la actividad antioxidante.....</u>	<u>51</u>
9.	<u>CONCLUSIONES.....</u>	<u>55</u>
10.	<u>LITERATURA CITADA.....</u>	<u>56</u>
11.	<u>APÉNDICES.....</u>	<u>67</u>
11.1.	<u>Apéndice 1.....</u>	<u>67</u>

## ÍNDICE DE CUADROS

<u>Cuadro 1. Resultados obtenidos en estudios fitoquímicos realizados con especies del género <i>Tragia</i>.....</u>	<u>7</u>
<u>Cuadro 2. Niveles de glucosa sanguínea registrados en diferentes tiempos en ratas Wistar normoglicémicas bajo la administración de distintos extractos de <i>Tragia nepetifolia</i> (dosis 300 mg/kg) Los datos indican la media aritmética y la desviación estándar).....</u>	<u>35</u>
<u>Cuadro 3. Niveles promedio de glucosa sanguínea en mg/dL en ratas Wistar normoglicémicas registrados bajo la administración de distintos extractos (579 mg/kg), obtenidos de <i>Tragia nepetifolia</i> (media aritmética ± desviación estándar).....</u>	<u>37</u>
<u>Cuadro 4. Letalidad de los extractos de <i>Tragia nepetifolia</i> en 24 h expresado en porcentaje de artemias muertas. Se muestra la media aritmética ± desviación estándar (p&lt;0.05).....</u>	<u>38</u>
<u>Cuadro 5. Letalidad de los extractos de <i>Tragia nepetifolia</i> en distintas concentraciones a las 24 h expresado en porcentaje de artemias muertas. Se muestra la media aritmética ± desviación estándar (p&lt;0.05).....</u>	<u>38</u>
<u>Cuadro 6. Letalidad de los extractos de <i>Tragia nepetifolia</i> en 48 h expresado en porcentaje de artemias muertas. Se muestra la media aritmética ± desviación estándar (p&lt;0.05).....</u>	<u>39</u>
<u>Cuadro 7. Letalidad de los extractos de <i>Tragia nepetifolia</i> en distintas concentraciones a las 48 h expresado en porcentaje de artemias muertas. Se muestra la media aritmética ± desviación estándar (p&lt;0.05).....</u>	<u>40</u>
<u>Cuadro 8. Nivel de toxicidad establecido para distintos rangos de concentración letal media (CL<sub>50</sub>).....</u>	<u>41</u>
<u>Cuadro 9. Concentración letal media de los extractos de <i>Tragia nepetifolia</i> a las 24 y 48 h de administración y su nivel de toxicidad.....</u>	<u>41</u>



<b>Cuadro 10.</b> Contenido de fenoles totales en extractos de <i>Tragia nepetifolia</i> . Se muestra la media aritmética $\pm$ desviación estándar ( $p < 0.05$ ).....	45
<b>Cuadro 11.</b> Capacidad antioxidante determinada por ensayo de ABTS en extractos de <i>Tragia nepetifolia</i> . Se muestra la media aritmética $\pm$ desviación estándar ( $p < 0.05$ ).....	46
<b>Cuadro 12.</b> Poder de reducción antioxidante del ion férrico determinado mediante el ensayo FRAP de <i>Tragia nepetifolia</i> . Se muestra la media aritmética $\pm$ desviación estándar ( $p < 0.05$ ).....	47

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Fig. 1.</b> <i>Tragia nepetifolia</i> Cav. Esquema general de la planta, detalles del fruto y las flores masculinas y femeninas.....	5
<b>Fig. 2.</b> Distribución de <i>Tragia nepetifolia</i> Cav. en México.....	6
<b>Fig. 3.</b> Estructura de los metabolitos secundarios presentes en <i>Tragia involucrata</i> .....	9
<b>Fig. 4.</b> Metabolitos secundarios de <i>Tragia plukenetii</i> .....	10
<b>Fig. 5.</b> Estructura de los metabolitos secundarios aislados de <i>Tragia plukenetii</i> .....	10
<b>Fig. 6.</b> Ubicación del municipio de Tierra Blanca en el estado de Guanajuato. Se señala en color verde.....	18
<b>Fig. 7.</b> A) Paisaje de Cieneguilla observado desde “El Mirador”. B) Recolección de ejemplares de <i>Tragia nepetifolia</i> en Cieneguilla. C) Prensado de ejemplares de ortiguilla. D) Determinación taxonómica de los ejemplares herborizados. E) Muestra de un ejemplar herborizado de ortiguilla a una pobladora de la congregación. F) Entrevista a Don Toribio, médico tradicional de Cieneguilla.....	21
<b>Fig. 8.</b> A) Maceración de <i>Tragia nepetifolia</i> con disolvente orgánico. B) Filtración del macerado de ortiguilla. C) Evaporación de disolvente del extracto en rotavapor.....	23

<b><u>Fig. 9.</u></b> A) Ratas Wistar macho alimentadas con Nutricubos Purina® y libre acceso al agua. B) Balanza granataria y trampa empleados en el control de peso de las ratas. C) Lotes de tres ratas para cada tratamiento en ayuno de 18 horas.....	23
<b><u>Fig. 10.</u></b> Secuencia de obtención de extractos. A) Ajuste de pH de las muestras. B) Agitación de las muestras en vortex. C) Sonicación de los extractos. D) Incubación a 30°C (30 min). E) Centrifugado de las muestras a 1300 g. F) Almacenamiento de los extractos.....	26
<b><u>Fig. 11.</u></b> A) <i>Tragia nepetifolia</i> creciendo en suelos pedregosos de Cieneguilla. B) Ejemplar de ortiguilla recolectado con partes aéreas y subterráneas. C) Hojas de ortiguilla que presentan pubescencia fina y borde aserrado. D) Frutos (cápsula) de <i>T. nepetifolia</i> .....	31
<b><u>Fig. 12.</u></b> Porcentajes de la población entrevistada para las preguntas que se tuvieron en común en los tres grupos de edad.....	32
<b><u>Fig. 13.</u></b> Condensación de información botánica obtenida de pobladores entre 18 a 81 años.....	33
<b><u>Fig. 14.</u></b> Niveles promedio de glucosa en la sangre de ratas Wistar bajo efecto de extractos orgánicos de <i>Tragia nepetifolia</i> (dosis 300 mg/kg). Se muestra la media aritmética ± desviación estándar.....	35
<b><u>Fig. 15.</u></b> Niveles promedio de glucosa en la sangre de ratas Wistar bajo efecto de extractos orgánicos de <i>Tragia nepetifolia</i> (dosis 579 mg/kg). Se muestra la media aritmética ± desviación estándar.....	36

## ÍNDICE DE ESPECTROS

<b><u>Espectro 1.</u></b> Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de <sup>1</sup> H del extracto de diclorometano de hojas de <i>Tragia nepetifolia</i> (RMN-1H, 400 MHz, CDCl <sub>3</sub> , TMS).....	42
<b><u>Espectro 2.</u></b> Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de <sup>13</sup> C del extracto de diclorometano de hojas de <i>Tragia nepetifolia</i> (RMN- <sup>13</sup> C, 100 MHz, CDCl <sub>3</sub> , TMS).....	43

**Espectro 3.** Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  del extracto metanólico de hojas de *Tragia nepetifolia* (RMN- $^1\text{H}$ , 400 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS).....44

**Espectro 4.** Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de  $^{13}\text{C}$  del extracto metanólico de hojas de *Tragia nepetifolia* (RMN- $^{13}\text{C}$ , 100 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS).....44

## 1. INTRODUCCIÓN

México es considerado uno de los países con mayor riqueza biológica y cultural en el mundo, cuenta con más de 55 grupos étnicos y 30 tipos de vegetación (Monroy y Ayala, 2003). Dentro del país las plantas medicinales constituyen uno de los principales recursos terapéuticos tanto en el medio rural como suburbano, donde los servicios de atención médica son escasos, acentuándose en las poblaciones más alejadas de los centros urbanos. En el país los terapeutas tradicionales representan la única alternativa médica para más de 40 millones de mexicanos que no tienen acceso a los diferentes centros de salud (Osuna *et al.*, 2005).

La etnobotánica es un campo de la ciencia con un carácter multidisciplinario, que estudia las relaciones entre las sociedades humanas y las plantas, y cuyo campo de acción es muy amplio (Martínez, 1994). La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales ha adquirido especial relevancia como resultado de la pérdida acelerada del conocimiento tradicional y el deterioro de los ecosistemas naturales. La documentación de los usos tradicionales de las plantas medicinales en contextos culturales concretos, revela que las plantas utilizadas en etnomedicina tienen mayor probabilidad de presentar actividad farmacológica que aquellas seleccionadas al azar o por criterios quimiotaxonómicos (Bermúdez y Velázquez, 2002).

Una de las familias vegetales más grandes a nivel mundial es Euphorbiaceae, misma que ocupa el sexto lugar en diversidad y es de suma importancia, ya que muchos de sus miembros se cultivan para uso medicinal, industrial, alimenticio y ornamental. Se considera una de las más grandes y diversas de México, y el país constituye el centro de diversidad para muchos géneros (Steinmann, 2002). Está conformada por alrededor de 300 géneros y aproximadamente 7500 especies de árboles, arbustos, hierbas y enredaderas, las cuales exudan látex lechoso que puede ser venenoso, y es conocido por producir aporfina, piridina, indol, alcaloides tropano, lignanos, derivados de floroglucinol, varios tipos de terpenos, elagitaninos, proantocianidinas, glucósidos cianogénicos, antraquinonas y epóxidos; compuestos que le confieren a los miembros de esta familia su actividad farmacológica. Cerca de 150 especies de plantas pertenecientes a este grupo son utilizadas con propósitos

medicinales, la mayoría para aliviar dolores intestinales, promover la orina, desinflamar y promover la expectoración (Wiart, 2006).

Un género poco documentado en el campo etnobotánico y fitoquímico es *Tragia*, cuyos ejemplares son hierbas o arbustos, que se destacan por su capacidad para aliviar afecciones bacterianas (Swamy *et al.*, 2014; Gobalakrishnan *et al.*, 2013; Reddy *et al.*, 2017), de origen diabético (Farook y Atlee, 2011; Reddy *et al.*, 2017) y como antiinflamatorias (Hosahally *et al.*, 2012) y antioxidantes (Reddy *et al.*, 2017). En México, una de las especies nativas es *Tragia nepetifolia*, que podría tener un elevado potencial medicinal.

En este sentido, al noreste del estado de Guanajuato se localiza la Reserva de la Biósfera conocida como Sierra Gorda de Guanajuato, la cual es reconocida como una zona que conserva una alta biodiversidad de especies y recursos biológicos muchos de estos aún no estudiados para ser aprovechados en sus diversos usos y aplicaciones, que incluyen especies medicinales, alimenticias, recreativas y culturales (Centro de Ciencias de la Atmósfera, 2013).

El municipio de Tierra Blanca colinda con la reserva de la biósfera “Sierra Gorda de Guanajuato”. En este municipio reside la mayor población indígena de todo el estado (Romero, 2016); ésta es una razón que seguramente permite que se siga practicando la medicina tradicional en diversas comunidades, como lo es la congregación de Cieneguilla. En esta investigación, se realizó el estudio etnobotánico en la población antes mencionada, ya que sus habitantes refieren el crecimiento natural y uso tradicional de la ortiguilla para curar diversas enfermedades, aunado a esto, no se encontraron datos bibliográficos que avalaran científicamente los usos de *Tragia nepetifolia* en esta población mexicana.

Los objetivos que se plantearon en el presente estudio son: 1) conocer los usos etnobotánicos de *Tragia nepetifolia* dentro de esta comunidad a través de entrevistas con los pobladores y 2) efectuar ensayos *in vivo* e *in vitro* para validar científicamente su actividad terapéutica.

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Etnobotánica y su importancia**

La etnobotánica es un campo de investigación que busca documentar y comprender lo que las personas saben acerca de las plantas y cómo éstas forman parte de su sistema de creencias, explicaciones y concepciones del mundo, su uso y manejo, así como los propósitos sociales relacionados con estas interacciones (Casas *et al.*, 2016). El hombre ha hecho uso de las plantas o productos derivados de ellas como medicina para desarrollar inmunidad o resistencia a diversas enfermedades. Es de amplio conocimiento que los sistemas de medicina tradicional se basan en la experiencia obtenida del uso de productos de origen natural debido a que buscan la mejoría de afecciones comunes. Actualmente la mayoría de la población, principalmente aquella que carece de servicios públicos de salud, dependen ampliamente de remedios herbolarios (Gupta, 1994).

Durante la última década la medicina tradicional se ha convertido en un tema de importancia global, estimados actuales sugieren que, en muchos países en desarrollo, una gran proporción de la población confía ampliamente en las plantas medicinales y quienes las administran para lograr un estado de salud adecuado. A pesar de que la medicina moderna se encuentre disponible en estos países la herbolaria ha mantenido su popularidad por razones históricas y culturales (Singh, 2015).

México está representado por su gran número de etnias, ecosistemas y especies. Existe una vasta herencia cultural en el uso de plantas aromáticas y medicinales para tratar diferentes padecimientos, la cual se inició varios siglos antes de la conquista y continúa vigente al día de hoy, dados estos factores es de vital importancia conocer, comprender y divulgar la relación de la flora con la sociedad. Actualmente se han identificado hasta 5 mil especies que tienen aplicaciones curativas y son comúnmente utilizadas por más de 60 grupos étnicos. Debido a la alta demanda de estos materiales vegetales dentro de los mercados nacionales se ha documentado que más del 85% de las especies que se comercializan provienen de la recolección silvestre, mismas 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) (Juárez-Rosete *et al.*, 2013).

## **2.2. Familia Euphorbiaceae**

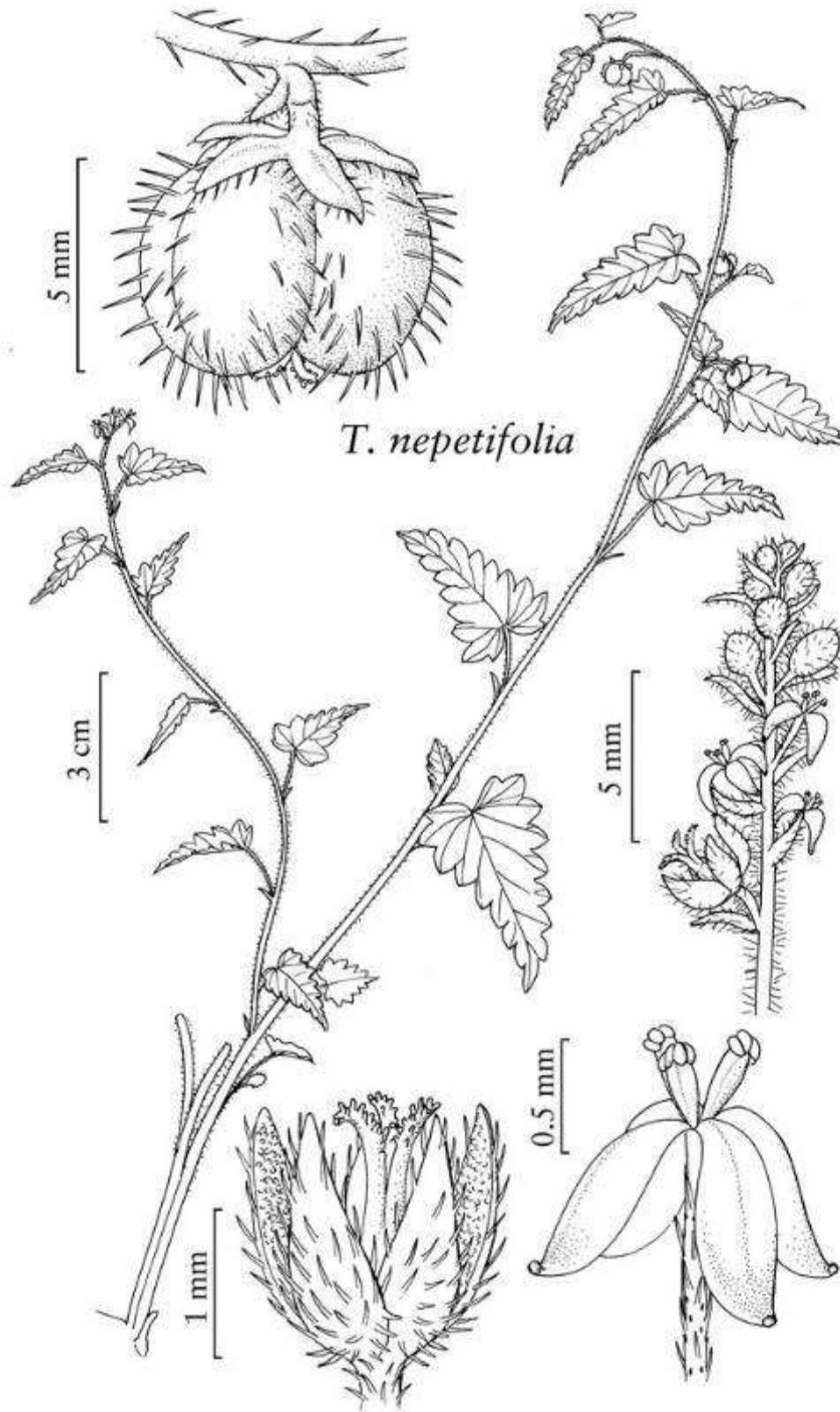
Un ejemplo de la gran variedad de plantas medicinales que se conocen es la familia Euphorbiaceae, la cual contiene diversas especies a las que se le han descubierto propiedades para aliviar múltiples afecciones como esguinces, convulsiones, asma, tumores y cáncer, por mencionar algunas (Mwine y Van Damme, 2011); representantes de esta familia, como las especies del género *Tragia* se han reportado como medicinales debido a las propiedades antibacterianas, antidiabéticas y vasodilatadoras que poseen (Cuadro 1).

### **2.2.1. Género *Tragia***

*Tragia* está representado por hierbas o arbustos. Hojas usualmente pecioladas, la mayoría palmati o triplinervadas, enteras a dentadas, con tricomas que pueden llegar a ser urticantes, algunas veces glandulares. Inflorescencias bisexuales en espigas o racimos. Sus frutos son cápsulas y presentan semillas globosas. Existen alrededor de 170 especies, la mayoría en América y África. Sin embargo, se reporta su presencia en Australia y Asia (Kubitzki, 2014).

### **2.2.2. *Tragia nepetifolia***

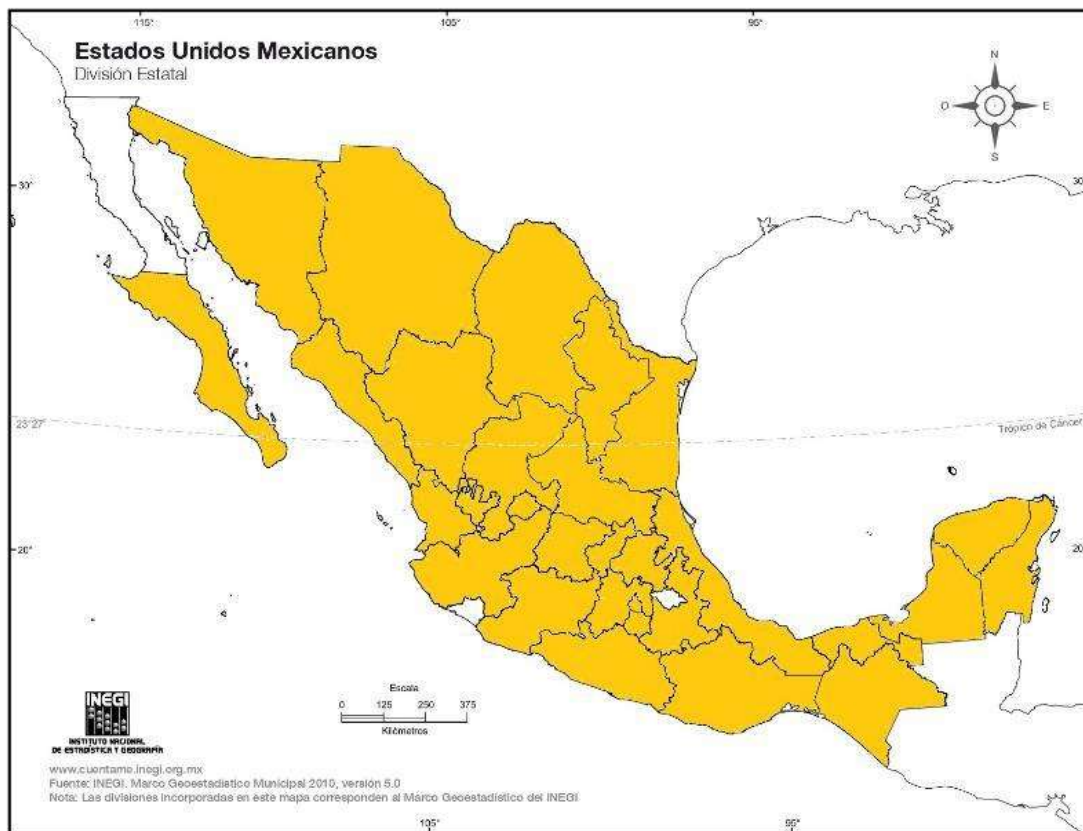
*Tragia nepetifolia* está representada por hierbas perennes, erectas o un poco reclinadas, de 10 a 40 cm de altura, algo urticantes, pubescencia fina, densa; raíz leñosa; tallos delgados, solitarios o ramificados desde la base; estípulas alargadas, triangulares, láminas triangulares o triangular-ovadas a triangular lineares, ápice agudo o acuminado, borde aserrado, base truncada o cordada; inflorescencias opuestas a las hojas, híspidas, las flores sobre pedicelos cortos y delgados; existe una sola flor femenina en la parte inferior de la inflorescencia y varias masculinas en la superior, ovario densamente híspido; cápsula de



**Fig. 1.** *Tragia nepetifolia* Cav. Esquema general de la planta, detalles del fruto y las flores masculinas y femeninas. Modificada de Urtecho (2019).



alrededor de 7 mm de ancho y 5 mm de alto; semillas globosas, de color café, con frecuencia contrastando diferentes tonos dispuestos a modo de retículo (Figura 1) (Rzedowski y Rzedowski, 2005). Suele desarrollarse en matorrales o pastizales con suelos pedregosos. Se considera que es una especie variable cuya presencia se ha registrado desde el sur de Estados Unidos de América hasta Honduras. En México presenta amplia distribución excepto en Baja California, Colima y Tlaxcala (Figura 2) (Tropicos, 2020).



**Fig. 2.** Distribución de *Tragia nepetifolia* Cav. en México. Modificado de INEGI, 2010(a).

### **2.2.3. Estudios fitoquímicos realizados en *Tragia***

Según Swamy *et al.* (2014), Gopalakrishnan *et al.* (2013) y Reddy *et al.* (2017) las especies de *Tragia brevipes*, *T. involucrata* y *T. spathulata* presentan propiedades medicinales para

curar afecciones bacterianas; mientras que *Tragia involucrata* y *T. plukenetii* actúan en el tratamiento de la diabetes (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Resultados obtenidos en estudios fitoquímicos realizados con especies del género *Tragia*

Especies	Resultados	Autores
<i>Tragia brevipes</i> Pax	Actividad antibacterial contra <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> sp., <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Serratia liquefaciens</i> y <i>Proteus vulgaris</i> .	Swamy et al. (2014)
<i>Tragia involucrata</i> L.	Actividad antibacterial contra <i>Escherichia coli</i> .	Gobalakrishnan et al. (2013)
	Actividad antidiabética e hipolipidémica frente a diabetes mellitus.	Farook y Atlee, (2011)
	Efectiva para tratar inflamación, heridas, eccema, infecciones de la piel, dolor, bronquitis, fiebre alta y úlcera del pie causada por diabetes. Actividad antibacterial contra <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> y actividad hepatoprotectora.	Reddy et al. (2017)
<i>Tragia spathulata</i> Benth.	Actividad antibacterial contra <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Klebsiella pneumonia</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Strpetococcus pneumoniae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Candida albicans</i> y <i>Aspergillus flavus</i> .	Reddy et al. (2017)
<i>Tragia plukenetii</i> Radcl.-Sm.	Reduce la agregación de eritrocitos y la fragilidad capilar. Actividad antioxidante, antiúlceras, antitumoral, antihiper glucémica, antipirética, diurética, antiasmática, antiespasmódica. Trata la gonorrea, infección por tenia y gastroenteritis.	Reddy et al. (2017)

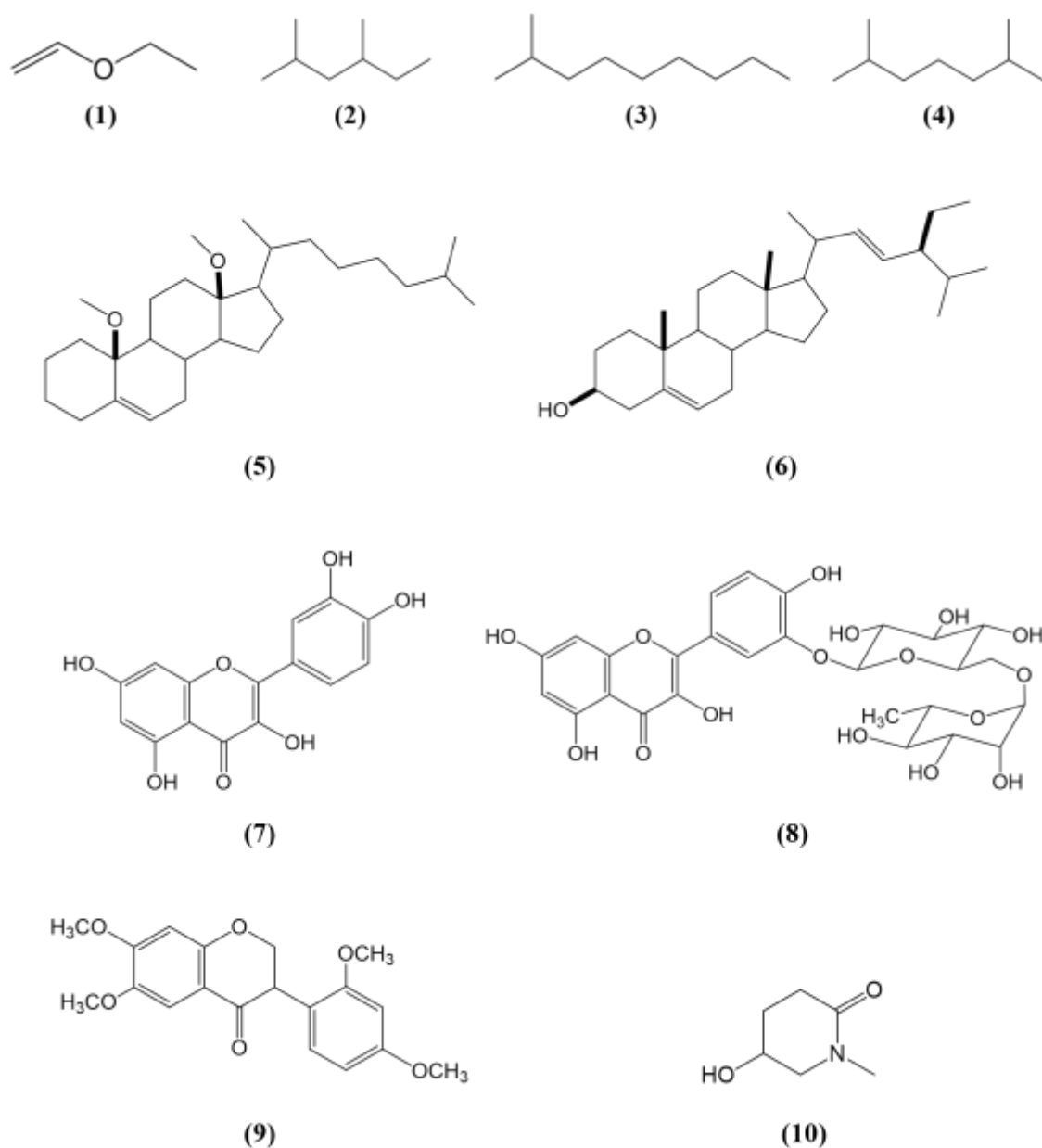
	Actividad antiinflamatoria.	Hosahally <i>et al.</i> (2012)
<i>Tragia benthamii</i> Baker	Abortiva y ayuda en el parto. Útil en el tratamiento de gonorrea, migraña y dolor de cabeza. Actividad antimalárica.	Reddy <i>et al.</i> (2017)

#### 2.2.4. Metabolitos secundarios del género *Tragia*

Los metabolitos secundarios son un grupo heterogéneo de productos metabólicos naturales que no son esenciales para el crecimiento vegetativo de los organismos que los producen, pero pueden funcionar como compuestos de defensa o moléculas de señalización en interacciones ecológicas. Las plantas poseen una gran variedad de metabolitos secundarios como los taninos, terpenoides, alcaloides y flavonoides. Muchos alcaloides son usados en la medicina, algunos ejemplos de ello incluyen la vinblastina (antitumoral), quinina (antipirética y antimalárica) y reserpina (trata la presión alta). Estudios *in vitro* han demostrado que los fenoles naturales tienen actividad antimicrobiana, antiviral, antiinflamatoria y vasodilatadora (Vijayakumar y Raja, 2018). Se sabe que dentro de la familia Solanaceae se encuentran alcaloides de diferentes estructuras moleculares (Bruneton, 2001), en Asteraceae algunas especies de los géneros *Parthenium*, *Helenium* y *Baccharis* (Romo de Vivar, 1985) poseen un sabor amargo en sus hojas debido a la presencia de lactonas sesquiterpénicas, en las semillas de anonáceas como la guanábana y chirimoya se han encontrado moléculas de 35 a 37 átomos de carbono de cadena larga conteniendo una  $\gamma$ -lactona y anillos de tetrahydrofurano (THF) acetogeninas (Reen-Yen *et al.*, 2002).

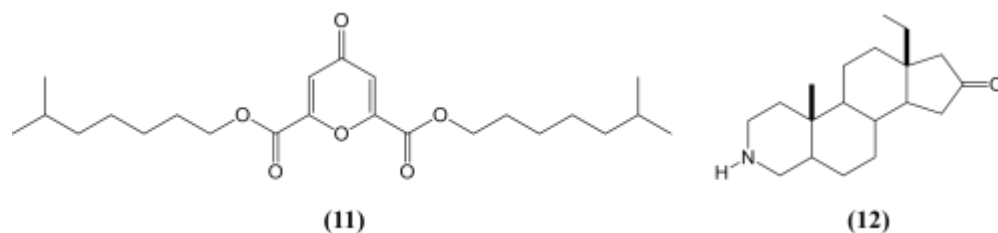
En el caso de *Tragia* se han aislado y caracterizado una cantidad considerable de metabolitos secundarios, ejemplo de ello es *Tragia involucrata* en la cual se identificaron una serie de compuestos volátiles e incoloros como el vinil, etil éter (1), 2,4-dimetil hexano (2), 2-metil nonano (3), 2,6-dimetil heptano (4); del extracto de acetato de etilo de sus hojas se aislaron derivados del ciclopentano fenantreno (5), estigmasterol (6), quercetina (7), rutina (8) y una isoflavanona tetrametoxilada (9) (Panda *et al.*, 2012). En otro estudio fue confirmada la presencia en *T. involucrata* de otros flavonoides como la iridina, dihexosil quercetina, el rutinósido de 3-O-quercetina, ramnosil hexosil metil quercetina, 7-glucósido de gentensteína

y C-(O-cafeoil-hexosil)-O-hexósido de orientina, además de 7-O-hexosil-O-hexósido de tricina (Sulaiman y Balachandran, 2016). Recientemente se confirmó la actividad antihistamínica y antiasmática de las hojas de esta misma especie, siendo la 5-hidroxi-1-metilpiperidin-2-ona (10) la responsable de dicha actividad biológica (Figura 3) (Alagar Yadav *et al.*, 2015).



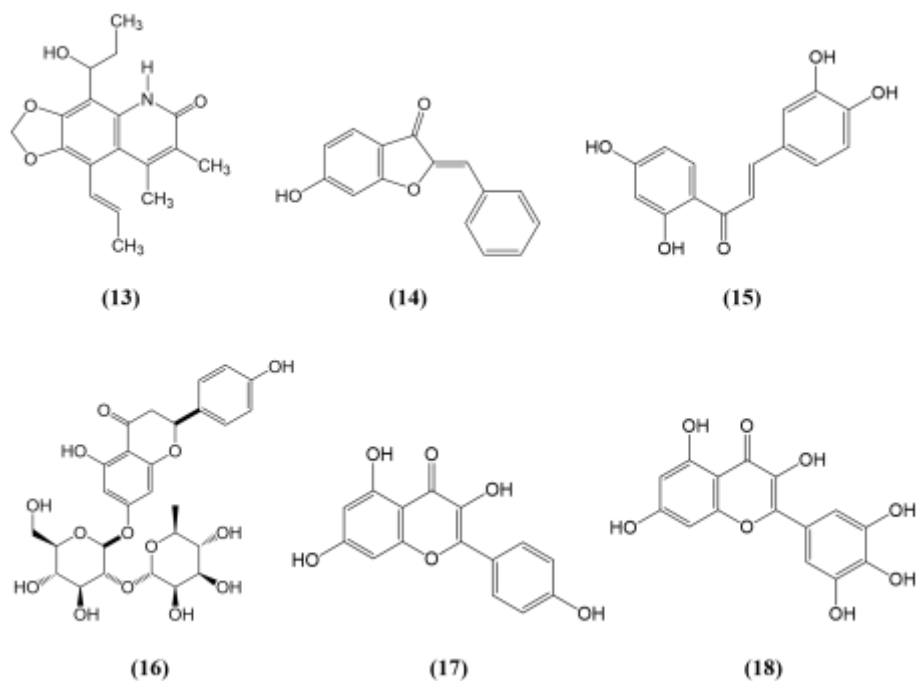
**Fig. 3.** Estructura de los metabolitos secundarios presentes en *Tragia involucrata*.

En el caso de *Tragia plukenetii* se demostró que posee actividad antidiabética y se aisló el principio activo denominado como éster del ácido bis-[6-metil-heptil]-4-oxo-4H-piran-2,6-dicarboxílico (**11**) (Figura 4) (Sivajothi y Dakappa, 2014).



**Fig. 4.** Metabolitos secundarios de *Tragia plukenetii*.

También se aisló una gran cantidad de flavonoides glicosilados. Stanley *et al.* (2012) describieron el aislamiento de 16 derivados incluyendo al esteroide (**12**) (Figura 4) y la isoquinólina (**13**) además de sustancias minoritarias como auronas (sulferetina) (**14**), chalconas (buteína) (**15**) e isoflavonas como la naringinina (**16**) y



**Fig. 5.** Estructura de los metabolitos secundarios aislados de *Tragia plukenetii*.

otros flavonoides en cantidades abundantes que incluyen a la quercetina (7), kaempferol (17) y miricetina (18). Es importante destacar que la quercetina ayuda en la reducción del estado de agregación de los eritrocitos y en el tratamiento de la fragilidad capilar (Figura 5) (Daniel, 1991).

### **2.3. Medicina tradicional**

El uso de plantas como medicinas data al menos del Paleolítico Medio, hace 60 000 años aproximadamente y el desarrollo de sistemas de medicina tradicional que incorporan plantas como terapia se remonta tan lejos como se pueden encontrar documentos con estos registros. Uno de los objetivos al utilizar plantas como fuente de agentes terapéuticos es el aislar principios activos usados en la elaboración de fármacos, tal es el caso de la digoxina, digitoxina, morfina, reserpina, taxol, vinblastina y vincristina (Fabricant y Farnsworth, 2001).

Los métodos de prospección al azar han tenido preferencia en la búsqueda de compuestos activos por parte de la industria farmacéutica, pero en los últimos años se ha prestado especial atención a la utilización de la información etnobotánica para la selección de plantas en la búsqueda de compuestos con actividad biológica (Bermúdez et al., 2005).

### **2.4. Estrés oxidativo y antioxidantes**

El cambio en el balance entre agentes oxidantes y antioxidantes a favor de los primeros es conocido como “estrés oxidativo”. Las especies reactivas de oxígeno (ERO) son producidas por los organismos vivos como resultado del metabolismo celular normal. En concentraciones bajas a moderadas funcionan en procesos fisiológicos en el nivel celular, pero en concentraciones elevadas producen modificaciones adversas de los componentes celulares como lípidos, proteínas y el ADN. El estrés oxidativo contribuye al desarrollo de muchas condiciones patológicas. A pesar de que los organismos aerobios tienen sistemas antioxidantes integrados, incluyendo antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, que

frecuentemente son efectivos para bloquear los efectos dañinos de las ERO, en condiciones patológicas dichos sistemas pueden verse afectados (Birben *et al.*, 2012).

El término “antioxidante” puede ser utilizado para cualquier sustancia cuya disponibilidad, incluso en concentraciones minúsculas, inhibe o retrasa la oxidación de un sustrato. Hay diversas especies de moléculas endógenas (sintetizadas internamente) o exógenas (consumidas) que juegan un papel en la defensa antioxidante y pueden ser consideradas como biomarcadores del estrés oxidativo. Se pueden dividir como interruptores de cadena o preventivos basados en su mecanismo de acción. Los diferentes tipos de antioxidantes biológicos incluyen, por ejemplo glutatión, vitamina C y E, cistina, entre otros (Asmat *et al.*, 2016).

#### **2.4.1. Enfermedades asociadas a las EROs**

Numerosas patologías gástricas, cardíacas, respiratorias, óseas, multiorgánicas, entre otras son resultado de la evolución de alteraciones morfofisiológicas celulares debido a una producción por encima de los niveles fisiológicos normales de ERO. Algunas de las enfermedades en las que se han visto implicadas estos radicales libres son trombosis, hipertrofia, parkinson, demencia, artritis reumatoide, pancreatitis y hepatotoxicidad, cataratas, retinopatía, inflamación, intoxicaciones, envejecimiento, isquemia, cáncer, aterosclerosis, anemia de fanconi, malaria, asma, soriasis y quemaduras, por mencionar las de mayor incidencia (Corrales y Muñoz, 2012).

En el mundo desarrollado predominan las enfermedades crónicas o no transmisibles, entre ellas las cardiovasculares y diversos tipos de cáncer como las dos primeras causas de muerte asociándose a su desarrollo muchos factores de riesgo, considerándose entre una de las principales causas la acción de las sustancias oxidantes en su patogénesis, por lo cual las deficiencias significativas de antioxidantes en la alimentación del ser humano representan uno de los factores más fuertemente relacionado con el incremento de una mayor actividad degenerativa que tienen las sustancias oxidantes en las diferentes células y tejidos. Como medida preventiva algunas personas han iniciado un incremento en el consumo de frutas y vegetales debido al alto contenido de varios antioxidantes que se encuentran presentes en

estos alimentos, los cuales neutralizan la acción de los radicales libres desempeñando una función fundamental en la prevención de éstas enfermedades para lograr un efecto positivo en la salud pública (Zamora, 2007).

Reportes recientes indican que existe una relación inversa entre la ingesta de alimentos ricos en antioxidantes y la incidencia de enfermedades en la población. Sin embargo, los antioxidantes sintéticos como el hidroxitolueno butilado y el hidroxianisol butilado han sido utilizados ampliamente como antioxidantes en la industria alimentaria y pueden ser responsables de dañar el hígado y producir carcinogénesis, por esta razón el interés en el uso de antioxidantes naturales ha aumentado (Krishnaiah *et al.*, 2011).

#### **2.4.2. Compuestos fenólicos como antioxidantes**

Los compuestos fenólicos son un grupo extenso de antioxidantes naturales. Son metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas y actúan como agentes protectores frente a patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa contra condiciones de estrés como infecciones, radiaciones UV, entre otros. Esta síntesis se da a partir de fenilalanina por la vía del shikimato. Juegan un rol vital en las plantas y regulan el metabolismo y síntesis de la lignina, por lo que las plantas presentan un gran número de componentes fenólicos como los flavanoles, flavonoles, chalconas, flavonas, flavanonas, isoflavonas, taninos, estilbenos, curcuminoides, ácidos fenólicos, coumarinas, lignanos, por mencionar algunos (Muñoz *et al.*, 2007).

La actividad antioxidante de los fenoles se atribuye principalmente a sus propiedades redox que les permiten actuar como extintores del oxígeno singulete, agentes reductores y donadores de hidrógeno. Los grupos hidroxilo (-OH) de los fenoles interrumpen el ciclo de generación de nuevos radicales atrapando las ERO (Vuong, 2017). Entre estos compuestos los flavonoides y los taninos, han sido ampliamente estudiados. En el caso de los flavonoides se pueden señalar como ejemplo las antocianidinas (rojo-azulado de las fresas), catequinas (té verde y negro), citroflavonoides (naranja, que da sabor amargo a lo naranja, limón, toronja), isoflavonoides (genisteína y daidzaína presentes en soya y sus derivados), protoantocianidinas en semillas de uva y vino tinto, entre otros (Coronado *et al.*, 2015).



## 2.5. Diabetes

La diabetes ha cuadruplicado sus casos en los últimos treinta años con algunos de los mayores incrementos en países de bajos y medianos ingresos de Asia y Latinoamérica. Más de 80% de los adultos mayores de 50 años en México padecen prediabetes (44.2%) o diabetes (39.4%) (Gilmer *et al.*, 2019). En México la diabetes es una de las principales causas de ceguera, insuficiencia renal crónica y amputaciones no traumáticas y es una de las 10 causas más frecuentes de hospitalización en adultos (Rojas-Martínez *et al.*, 2018).

La diabetes es una enfermedad que se presenta cuando el organismo no es capaz de procesar eficazmente la glucosa debido a que el páncreas no es capaz de producir la suficiente insulina (diabetes tipo 1 o juvenil) o el organismo no es capaz de utilizar de manera óptima la insulina que se produce (diabetes tipo 2) (Beltrán *et al.*, 2018). Los costos de esta afección para los sistemas de salud son muy elevados debido a las múltiples complicaciones que conlleva la enfermedad mismas que requieren hospitalizaciones prolongadas (Rodríguez *et al.*, 2010).

El tratamiento dietético es un pilar fundamental en el manejo de la diabetes y en muchas ocasiones es la única intervención necesaria. La dieta debe ir orientada hacia la consecución y mantenimiento de un peso aceptable y de niveles óptimos de glucosa, lípidos y tensión arterial (Alfaro *et al.*, 2000). Por su parte, el ejercicio físico constituye uno de los métodos más antiguos empleado en el tratamiento de la diabetes. (Hernández y Licea, 2010). El tratamiento farmacológico debe considerarse en el paciente cuando no se consiga un adecuado control de la diabetes con la dieta y el ejercicio físico, si los fármacos pudieran no resolver el problema y ofrecer una mayor calidad de vida al paciente se puede recurrir a la cirugía metabólica (Reyes *et al.*, 2016). A pesar del gran progreso logrado en el tratamiento de la diabetes en las últimas tres décadas, los resultados obtenidos en los pacientes aún están alejados de la perfección; éstos tienen algunas desventajas como lo son la resistencia a drogas, efectos colaterales y hasta toxicidad (Kooti *et al.*, 2016).

El estrés oxidativo juega un papel fundamental en el desarrollo de las complicaciones propias de la diabetes, tanto microvasculares como cardiovasculares. Las anormalidades metabólicas de la diabetes causan sobreproducción de superóxido mitocondrial en células endoteliales así

como en el miocardio, esto causa la activación de rutas involucradas en la patogénesis de las afecciones asociadas a la diabetes (Giacco y Brownlee, 2010).

## **2.6. Toxicidad de las plantas medicinales**

Estudios recientes indican que aunque las plantas sean utilizadas como fuentes alimenticias, existen aquellas que pueden tener potencial mutagénico o genotóxico. Debido a ello numerosas investigaciones se han enfocado recientemente tanto en la farmacología como en la toxicidad de las plantas medicinales utilizadas por el hombre. Esto se considera de suma importancia en orden para obtener tratamientos seguros con productos derivados del mundo vegetal. La toxicidad de tales especies se puede originar de diferentes contaminantes o de compuestos químicos que forman parte de las plantas. Se han realizado ensayos biológicos como acercamiento sobre la toxicidad de los extractos vegetales utilizando como modelo de estudio *Artemia salina* (Hamidi *et al.*, 2014).

Algunas de las ventajas que ofrece este ensayo al tener como modelo experimental los nauplios de artemia son la disponibilidad en tiendas de mascotas, bajo costo, facilidad de almacenamiento, poder realizarse en cualquier momento y tener requerimientos de condiciones ambientales mínimos (Rivas-Morales *et al.*, 2016).

### 3. JUSTIFICACIÓN

La “ortiguilla”, *Tragia nepetifolia*, es utilizada por la gente en Aguascalientes para las afecciones del riñón; en Nayarit se utiliza para tratamiento de las enfermedades venéreas, cuando hay secreción de pus, comezón y sangrado, mezclándola con la planta de cascabel; en dolores reumáticos, aplicada sobre heridas y como antiparasitario (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009); en Baja California Sur se utilizan las raíces para tratar la uretritis y la cistitis, así como para facilitar la expulsión de la placenta (Dimayuga y Agundez, 1986). También se ha registrado como anticancerígena y para tratar llagas (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009).

Los estudios fitoquímicos y etnobotánicos realizados para *Tragia nepetifolia* son escasos, no obstante, se han efectuado diversas investigaciones alrededor del mundo con otras especies del género con el objetivo de conocer sus metabolitos secundarios y la acción biológica de los mismos; como resultado de tales estudios se ha descubierto que las propiedades principales de algunas especies de *Tragia* son antiinflamatorias, antibacteriales y antidiabéticas

*Tragia nepetifolia* se distribuye en el municipio de Tierra Blanca, Guanajuato y particularmente la comunidad de Cieneguilla de este municipio tiene amplia tradición en el uso de plantas medicinales, en este sentido el presente estudio tiene como finalidad documentar el conocimiento etnobotánico enfocado hacia el ámbito medicinal de esta especie, ya que se considera prioritario el resguardar tal información lo antes posible para evitar la pérdida del conocimiento tradicional derivada de la modernización y, por ende, establecer un antecedente para la realización de estudios fitoquímicos que puedan respaldar científicamente su actividad biológica y sus respectivos metabolitos secundarios.

## 4. HIPÓTESIS

Si las especies del género *Tragia* son conocidas por sus usos en medicina tradicional, entonces la información etnobotánica que se obtenga sobre *Tragia nepetifolia* será de índole medicinal y se podrá validar mediante pruebas *in vitro* y bioensayos.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. Objetivo general

- Registrar los usos etnobotánicos de la ortiguilla (*Tragia nepetifolia*) en la comunidad de Cieneguilla, Tierra Blanca, Guanajuato y evaluar su actividad biológica que permita aportar un nuevo recurso medicinal

CL<sub>50</sub>

### 5.2. Objetivos específicos

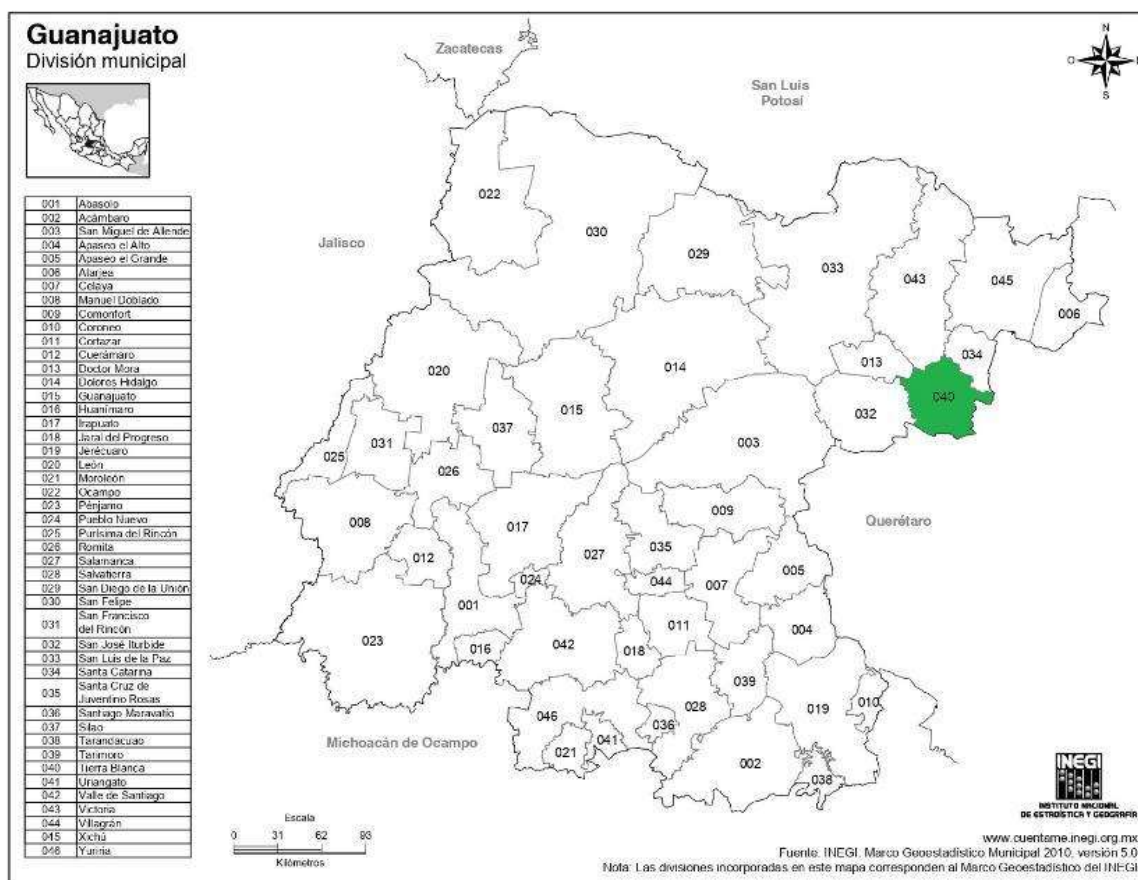
- Caracterizar morfológicamente los ejemplares recolectados en la zona de estudio
- Documentar los usos medicinales de *Tragia nepetifolia* en Cieneguilla mediante entrevistas a pobladores
- Registrar las partes utilizadas y los métodos de preparación de *Tragia nepetifolia* en Cieneguilla
- Estimar el efecto hipoglucemiante de *Tragia nepetifolia* a través de ensayos biológicos en ratas Wistar
- Establecer a través de bioensayos la toxicidad de *Tragia nepetifolia* en *Artemia salina* y su concentración letal media
- Determinar el contenido de fenoles totales y realizar ensayos de ABTS y FRAP que permitan evaluar la actividad antioxidante de *Tragia nepetifolia*

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Zona de estudio

#### Localización geográfica

La localidad de Cieneguilla forma parte del municipio de Tierra Blanca, se localiza entre los paralelos 21° 10' y 20° 55' de latitud norte; los meridianos -100° 00' y -100° 18' de longitud oeste; y a una altitud entre 1600 y 3300 m. Colinda al norte con los municipios de Doctor Mora, Victoria y Santa Catarina; al este con el municipio de Santa Catarina y el estado de Querétaro; al sur con el estado de Querétaro; al oeste con los municipios de San José Iturbide y Doctor Mora (Figura 6) (INEGI, 2009).



**Fig. 6.** Ubicación del municipio de Tierra Blanca en el estado de Guanajuato. Se señala en color verde. Modificado de INEGI, 2010(b).

## Clima

La temperatura de la región oscila entre los 10 y los 20°C, con un rango de precipitación entre los 500 a 800 mm. El clima predominante es el semiseco templado, seguido por el templado subhúmedo con lluvias en verano de menor humedad y el semiseco semicálido, por último, se pueden presentar escasamente el templado subhúmedo con lluvias en verano de humedad media y semifrío subhúmedo con lluvias en verano de mayor humedad (INEGI, 2009).

## Vegetación

En el municipio la vegetación presente son los bosques (de coníferas, de oyamel, de pino, de encino, de pino-encino) (73.7%), los pastizales (13.6%) y matorrales (7.3%) (INEGI, 2009). Las especies forrajeras que predominan son el zacatón (*Sporobolus airoides*), triguillo (*Bromus ciliatus*), lobo ( *Muhlenbergia phleoides*), liendrilla (*Astrophytum ornatum*) y popotillo plateado (*Bothriochloa barbinodis*). Las especies forestales son pino (*Pinus* sp.), encino (*Quercus* sp.) y piñonero (*Pinus cembroides*) (Cuellar, 2018).

## Orografía

El municipio está enclavado en la Sierra Gorda, y sus principales elevaciones son el cerro de Los Caballos, Cóconas, La Concha, Garbanzo y El Zamorano. La altura promedio de estas elevaciones es de 2300 m.s.n.m. (Cuellar, 2018).

## Origen geológico

Su origen data del Neógeno principalmente, y terminó de formarse en el Terciario-Cuaternario y Cuaternario. Se pueden encontrar rocas ígneas extrusivas y rocas sedimentarias (INEGI, 2009).

## Hidrología

En cuanto a su hidrología, Tierra Blanca pertenece en un 99.5% a la región hidrológica Pánuco, mientras que el resto pertenece a la región Lerma-Santiago. (INEGI, 2009). Las principales corrientes de agua del municipio corren de sur a norte, formando el río Pinal del

Zamorano, en el que desembocan los arroyos El Cuervo, Las Peras, El Pino, y Las Moras (Cuellar, 2018).

### Suelo

Con relación al tipo de suelo, presenta una estructura granular, con una consistencia de friable a muy firme, y textura que va de franco arenoso a arcilloso, su pH es de 6.6 a 7 y tiene origen inchu coluvial a aluvial (Cuellar, 2018).

### Demografía

La población en Tierra Blanca según el Censo 2010 es de 18 mil 175 personas que representaban el 0.33% de la población total de Guanajuato, de éstos, 8 mil 765 son hombres (48.22%) mientras las mujeres son 9 mil 410 (51.77%), en número absolutos se observa que predominan las mujeres con 645 más que hombres (Secretaría de Desarrollo Social y Humano, 2012).

### Actividades económicas

La población que ejerce una actividad económica suma un gran total de 4 mil 890 personas, siendo hombres 3 mil 611 y las mujeres 1 mil 279. De esta cifra, 3 917 son trabajadores en la industria; 2 574 son comerciantes y trabajadores en servicios diversos; 688 son profesionistas, técnicos y administrativos; 364 son trabajadores agropecuarios; mientras que sólo 10 habitantes no especifican su ocupación (Secretaría de Desarrollo Social y Humano, 2012).

## **6.2. Material vegetal**

Se recolectaron ejemplares de *Tragia nepetifolia* en Cieneguilla durante el mes de julio del 2019 (Figura 7 A y B) y se herborizaron (Figura 7 C) de acuerdo al método convencional de prensado y deshidratado con papel periódico (Lot y Chiang, 1986) para su posterior determinación taxonómica y cotejo con material previamente depositado en el Herbario-Hortorio “Jorge Espinosa Salas” de la Universidad Autónoma Chapingo (Figura 7 D).



**Fig. 7.** A) Paisaje de Cieneguilla observado desde “El Mirador”. B) Recolecta de ejemplares de *Tragia nepetifolia* en Cieneguilla. C) Prensado de ejemplares de ortiguilla. D) Determinación taxonómica de los ejemplares herborizados. E) Muestra de un ejemplar herborizado de ortiguilla a una pobladora de la congregación. F) Entrevista a Don Toribio, médico tradicional de Cieneguilla.



Se recolectaron ejemplares completos con raíz y estructuras reproductivas hasta alcanzar un peso de aproximadamente 200 g para ser deshidratados a la sombra y a temperatura ambiente para la elaboración de extractos con disolventes orgánicos.

### **6.3. Registro etnobotánico**

Para conocer el uso medicinal de la ortiguilla, se realizaron entrevistas abiertas semiestructuradas a 851 pobladores de la comunidad de entre 6 a 81 años de edad, mostrando un ejemplar para recabar datos relevantes sobre el conocimiento tradicional que aún se preserva en la población (Figura 7 E y F). El cuestionario que se muestra en el Apéndice 1 sirvió como base para la recopilación de la información.

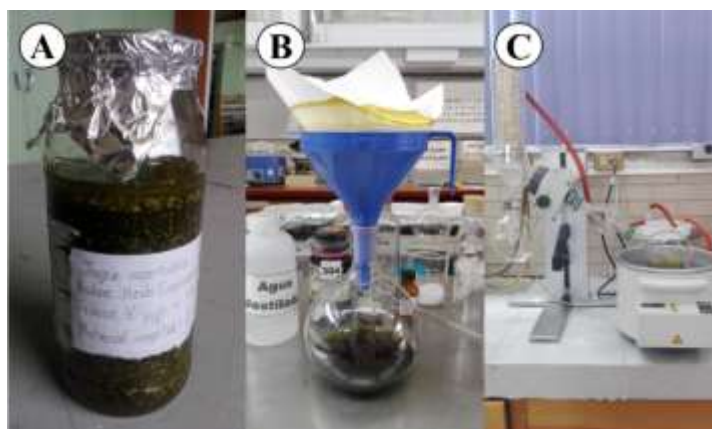
### **6.4. Extractos de *Tragia nepetifolia***

Se secó y trituró 219.7 g de ortiguilla con los que se realizaron tres extractos con disolventes de distintas polaridades vía maceración a temperatura ambiente. Se emplearon los disolventes de menor a mayor polaridad. Se dejó macerar el material vegetal durante dos días para cada disolvente, de este modo el primer disolvente utilizado fue el hexano (570 mL), seguido del diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) (250 mL) y por último el metanol (MeOH) (220 mL). Los disolventes fueron evaporados al vacío empleando un rotavapor BUCHI® (Figura 8). Los extractos obtenidos tuvieron un peso final de 1.8820 g para el hexánico, 3.1655 g en el de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y 5.1284 g del metanólico, de este modo el rendimiento por gramo de ortiguilla seca fue de 8.5662 mg, 14.4082 mg y 23.3427 mg respectivamente.

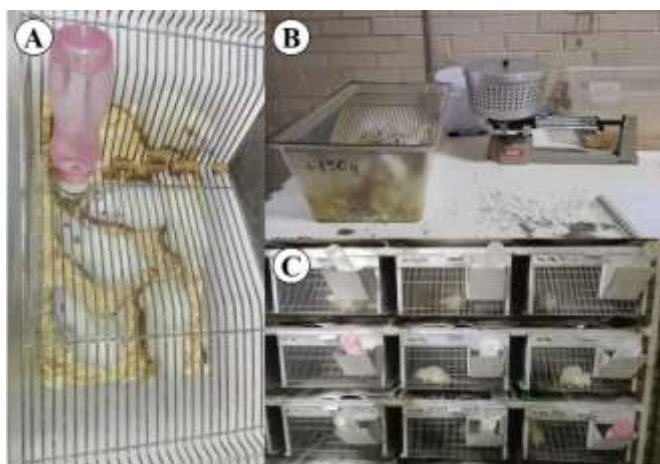
### **6.5. Modelo experimental**

Se emplearon lotes de tres ratas Wistar macho de 180 a 220 g de peso corporal por tratamiento y un total de ocho lotes, incluyendo los extractos hexánico, de diclorometano y metanólico en dosis de 300 y 579 mg/kg según lo establecido por Velázquez *et al.* (2013), así como una solución de agua salina con Tween 80 (0.05%) (v/v) (control negativo) y glibenclamida (300

mg/kg) (control positivo). Las ratas fueron alimentadas con Nutricubos Purina®, fueron mantenidas y cuidadas en el Bioterio del Área de Biología del Departamento de Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo a temperatura ambiente (23 a 25°C), humedad y ciclos de luz y oscuridad ambiental de 12 x 12 horas. Previo al estudio, las ratas se sometieron a un ayuno de 18 horas con libre acceso al agua (Figura 9). El uso y manejo de los individuos se llevó a cabo conforme la NOM-062-ZOO-1999 y de acuerdo con las reglas internacionales relativas al cuidado y manejo de animales de laboratorio.



**Fig. 8.** A) Maceración de *Tragia nepetifolia* con disolvente orgánico. B) Filtración del macerado de ortiguilla. C) Evaporación de disolvente del extracto en rotavapor



**Fig. 9.** A) Ratas Wistar macho alimentadas con Nutricubos Purina® y libre acceso al agua. B) Balanza granataria y trampa empleados en el control de peso de las ratas. C) Lotes de tres ratas para cada tratamiento en ayuno de 18 horas.

## **6.6. Efecto hipoglucemiante de extractos**

Se valoró el efecto hipoglucemiante de los extractos obtenidos en ratas Wistar normoglucémicas. Los extractos se suspendieron en una solución salina de Tween 80 (0.05%) (v/v), mejor conocida como el vehículo empleado para los extractos. Los extractos se administraron por vía oral (0.5 mL/100 g) a ratas con previo ayuno de 18 horas, mediante una sonda flexible Nutricat®.

El efecto hipoglucémico se evaluó mediante el método de la glucosa oxidasa empleando un glucómetro comercial modelo One Touch Ultra II®. Las muestras de sangre se obtuvieron mediante un corte en la vena caudal de la cola de la rata, para lo cual se sumergió previamente la cola de la rata en agua a  $32 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 30 s. Los niveles de glucosa basal se midieron de forma previa a la administración de los extractos y después de ser administrados en los siguientes intervalos de tiempo: 0, 1.5, 3.0, 4.5 y 6.0 h.

## **6.7. Ensayo de letalidad en *Artemia salina* L.**

En una pecera se agregaron 6 L de agua destilada en la que se disolvieron 128 g de sal de acuario, se colocó un calentador de acuario para elevar la temperatura a  $27\text{-}28^\circ\text{C}$ , además de mantener oxigenación e iluminación constante. Una vez que se tuvieron todas las condiciones apropiadas para el desarrollo de las artemias, se vertieron 150 mg de quistes de *Artemia salina* y se dejaron durante 24 h para su eclosión, pasado este tiempo se alimentó a los nauplios con levadura y se mantuvieron durante 24 h más en la pecera para que tuvieran el tamaño adecuado para el bioensayo.

Los extractos a evaluar fueron los de hexano, diclorometano y metanol de la planta completa de *Tragia nepetifolia*, en concentraciones de 10000, 1000, 100 y 10 ppm cada uno utilizando como vehículo acetona (control). En viales de vidrio se colocaron 0.5 mL de cada una de las concentraciones y acetona como control por triplicado y se dejó evaporar el vehículo durante 48 h.

Transcurridas 48 h desde que se vertieron los quistes en la pecera, se procedió a colocar 10 nauplios y se llevó el volumen hasta 5 mL con agua salina en cada uno de los viales con los

distintos tratamientos. Los viales se colocaron en una incubadora a 27-28°C y se evaluó el porcentaje de mortalidad a las 24 h y 48 h.

## **6.8. Obtención de extractos para evaluar la actividad antioxidante**

### **6.8.1. Elaboración de extractos de órganos vegetales**

Se elaboraron extractos de hojas, tallos, y raíces por separado. En tubos Falcon de 50 mL, se pesó 1 g de cada parte del material vegetal por triplicado, se mezcló con MeOH al 80%, en una relación 1:10 (m/v) y se agitó en un vortex VWR® Symphony™ durante 1 minuto. Se ajustó el pH a 3 usando HCl 0.1 N, una vez que el pH se encontró ajustado se agitó nuevamente en el vortex por 3 minutos y se llevó a un sonicador Cole-Parmer® por 15 minutos cada muestra.

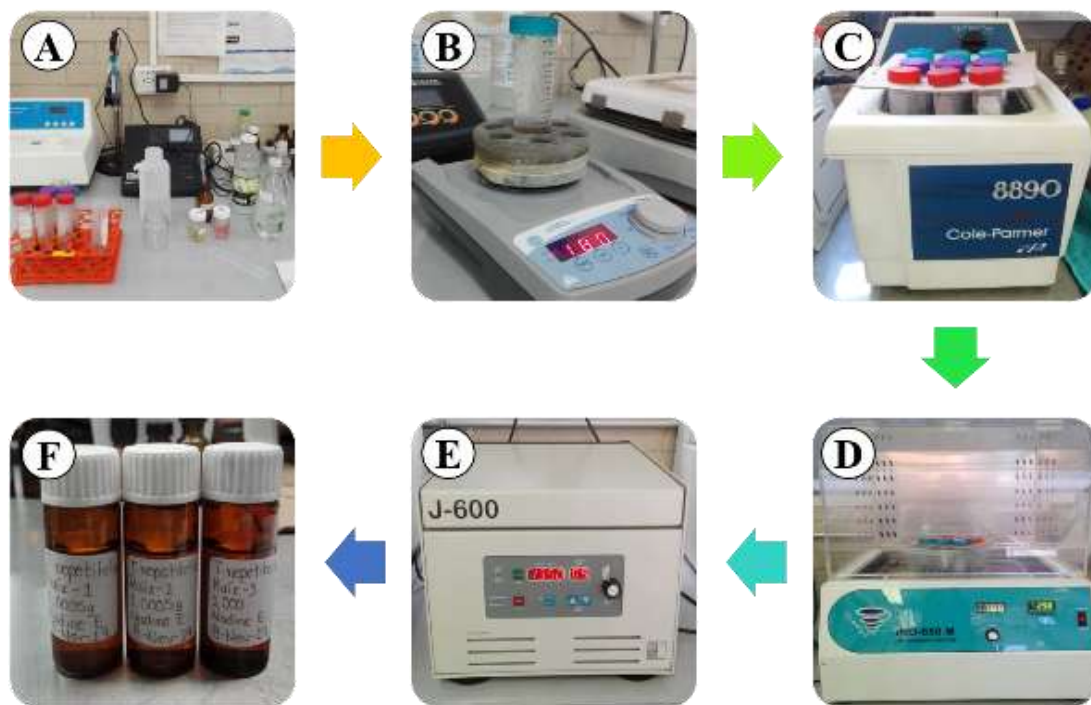
Al concluir la sonicación, se mantuvo en una incubadora Prendo® durante 30 minutos a 30°C, se llevó a una centrífuga SOL-BAT® por 15 minutos a 1300 g y finalmente se filtró el sobrenadante de las muestras. Cada extracto se vertió en un matraz volumétrico de 10 mL para aforarlo con MeOH al 80% y se almacenó en un frasco ámbar en refrigeración para evitar la degradación de los mismos (Figura 10).

### **6.8.2. Extracción con disolventes orgánicos**

En tubos Falcon de 15 mL se pesaron 20 mg de los extractos de diclorometano y metanol respectivamente, dichos extractos fueron obtenidos previamente del vegetal completo. Se mezcló con 2 mL de MeOH al 80% y se llevó a un sonicador Cole-Parmer® durante 15 minutos cada una de las muestras, posterior a ello se vertió cada una en un matraz volumétrico de 5 mL para aforarlo con MeOH al 80% y se almacenó bajo refrigeración a 3 °C en un frasco ámbar. Los extractos se elaboraron por triplicado.

Se utilizó el antioxidante ácido ascórbico Sigma-Aldrich®. En un tubo Falcon se pesaron 50 mg de de L-ácido ascórbico y se disolvieron en 5 mL de MeOH (Zheleva-Dimitrova *et al.*,

2011) por triplicado. Se sonicaron las soluciones durante 15 minutos. Cada una de las muestras se guardó en frascos ámbar, mismos que se mantuvieron en refrigeración hasta su uso.



**Fig. 10.** Secuencia de obtención de extractos. A) Ajuste de pH de las muestras. B) Agitación de las muestras en vortex. C) Sonicación de los extractos. D) Incubación a 30°C (30 min). E) Centrifugado de las muestras a 1300 g. F) Almacenamiento de los extractos.

### 6.9. Cuantificación de fenoles totales

Se realizó por el método colorimétrico Folin-Ciocalteu, que se basa en la reducción de una mezcla reactiva de fosfotungstato-fosfomolibdato por el grupo hidroxilo fenólico de la tirosina, dando como resultado la formación de un producto azul (Vermerris y Nicholson, 2008), para lo cual se prepararon disoluciones de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) al 20%, y de Folin-Ciocalteu en relación 1:10 (v/v).

Para elaborar la curva de calibración de ácido gálico se preparó una concentración de 0.504 mg/mL, a partir de tal disolución se tomaron alícuotas para obtener las siguientes

concentraciones: 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08., 0.09 (mg/mL) respectivamente. Se realizaron respectivas diluciones para encontrar la concentración adecuada para el material vegetal de estudio.

En una microplaca de 96 pozos se colocaron 25  $\mu\text{L}$  de las disoluciones de ácido gálico preparadas anteriormente o diluciones de los extractos de la ortiguilla, 125  $\mu\text{L}$  de agua destilada, 20  $\mu\text{L}$  de la disolución de Folin-Ciocalteu y 30  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20%. Se utilizó como blanco una mezcla de 150  $\mu\text{L}$  de agua destilada, 20  $\mu\text{L}$  de disolución de Folin-Ciocalteu y 30  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20%. Para el caso de las muestras de la curva de calibración, muestras de ortiguilla y el blanco fueron realizadas por cuadruplicado.

Se dejó reposar la mezcla en oscuridad durante 30 minutos, transcurrido dicho tiempo se leyó a 760 nm. A partir de los resultados se calculó el contenido fenólico expresado en miligramos de fenoles equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra seca ( $\text{mg GAE} \cdot \text{g}^{-1}$ ).

#### **6.10. Ensayo del radical ABTS**

Mediante este método, el radical monocatión de 2, 2'-azinobis-3-etil- benzo- tiazolina-6-ácido sulfónico,  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  es generado por la oxidación del radical ABTS con persulfato de potasio y es reducido en presencia de las mezclas de antioxidantes efecto que se mide con la disminución de la absorbancia leída a 734 nm (Ciulu *et al.*, 2018).

Se prepararon disoluciones del radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ , el cual se obtuvo mezclando volúmenes iguales de la disolución A (ABTS) y solución B (persulfato de potasio) en concentraciones de 7.4 y 2.6 mM respectivamente, dejándose incubar a temperatura ambiente durante 16 horas en oscuridad. Al finalizar dicho tiempo se tomaron alícuotas de la mezcla y se aforaron a 10 ml, por lo tanto ésta fue la disolución  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  que se usó para determinar la capacidad antioxidante de *Tragia nepetifolia*.

La solución de Trolox se preparó a una concentración de 998.841  $\mu\text{M}$ , a partir de esta disolución, para la preparación de la curva de calibración de Trolox se tomaron ocho alícuotas para tener concentraciones finales de 49.942, 99.884, 149.826, 199.768, 299.652, 399.536, 499.42 y 599.304  $\mu\text{M}$ .

Para las muestras de la ortiguilla se realizaron diluciones respectivas, la disolución óptima del extracto fue aquella que se encontró dentro del intervalo de absorbancia de las alícuotas 4 y 5 descritas anteriormente.

En una microplaca de 96 pozos, se colocó 20  $\mu\text{L}$  de la disolución del extracto o de las diluciones para la curva de calibración de Trolox y 180  $\mu\text{L}$  de la disolución ABTS $\bullet^+$  y como blanco se usaron 200  $\mu\text{L}$  de disolución de ABTS $\bullet^+$ . Las muestras de la curva de calibración, muestras de ortiguilla y el blanco se realizaron por cuadruplicado.

Se dejó en obscuridad por 10 minutos, se leyó a 734 nm por lo que se registró la disminución de la absorbancia. Con los datos que se obtuvieron se generó la curva de calibración de Trolox, y con base en la ecuación obtenida se determinaron los miligramos de muestra equivalentes de Trolox para capturar el radical libre ABTS. Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra seca ( $\mu\text{mol TE} \cdot \text{g}^{-1}$ ).

#### **6.11. Ensayo de poder de reducción antioxidante del ion férrico (FRAP)**

El método FRAP se basa en la capacidad que presentan los compuestos antioxidantes para donar electrones y reducir el ion férrico a ferroso en medio acuoso. Para ello se provoca una reacción por la adición del compuesto TPTZ (2,4,6 tripiridil-s-triazina), que a pH ácido (pH=3.6) se une al ión ferroso formando un compuesto de color azul que presenta un máximo de absorción a 593 nm (Benzie y Strain, 1996).

Se preparó un buffer de acetatos a una concentración de 300 mM para lo cual se disolvió 4.624 g de acetato de sodio trihidratado en 30 mL de agua destilada y se le agregó 18.2 mL de ácido acético glacial y se aforó con agua destilada a 100 mL. Se ajustó el pH a 3.6. Además, se preparó una disolución de TPTZ a una concentración de 10 mM en el cual se utilizó HCl 40 mM como disolvente. Asimismo, se preparó una disolución de cloruro de hierro (III) hexahidratado ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) a una concentración de 20 mM. Una vez que se tuvieron las tres disoluciones de buffer de acetatos (300 mM), TPTZ (10mM) y la disolución de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (20mM) se preparó la disolución FRAP mezclando 10, 1, 1 mL respectivamente.

Para la preparación de disolución stock de Trolox se preparó a una concentración de 998.84  $\mu\text{M}$  con MeOH al 80%, a partir de esta disolución, para la preparación de la curva de calibración de Trolox se tomaron alícuotas y se aforaron a 1 mL con MeOH para tener concentraciones finales de 49.942, 99.884, 149.826, 199.768, 299.652, 399.536, 499.420 y 599.304  $\mu\text{M}$ .

Se realizaron respectivas diluciones con las muestras de ortiguilla, la disolución óptima del extracto fue aquella que se encontró dentro del intervalo de absorbancia de las alícuotas de 199.768 y 299.652  $\mu\text{M}$  por lo que la coloración fue muy parecida.

En una microplaca de 96 pozos, se colocaron en cada pozo 20  $\mu\text{L}$  de la disolución para la curva de calibración de Trolox o de la disolución óptima del extracto de las partes de la ortiguilla, posteriormente se agregaron 180  $\mu\text{L}$  de la disolución FRAP y finalmente 60  $\mu\text{L}$  de agua destilada; como blanco, se colocaron 260  $\mu\text{L}$  de la disolución FRAP. Para el caso de las muestras de la curva de calibración, extractos de ortiguilla y el blanco se realizaron por cuadruplicado. Se dejó la microplaca en oscuridad por 10 minutos, y se realizó la lectura a una absorbancia de 530 nm con ayuda de un lector de microplacas BioTek®.

Con los datos obtenidos, se generó una curva de calibración de Trolox, y con base en la ecuación obtenida se determinaron los micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra seca ( $\mu\text{mol TE} \cdot \text{g}^{-1}$ ).

## **6.12. Análisis estadísticos**

Se realizaron gráficas en el programa GraphPad Prism® 8. Se efectuó un ANOVA con prueba de Fisher ( $p < 0.05$ ) para cada tiempo en el que se registró la glucosa con ayuda del programa Minitab® Statistical Software.

Para el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante (ABTS y FRAP) se realizó un análisis de varianza de un factor y una prueba de comparación de medias con Tukey ( $p < 0.05$ ) para identificar diferencias estadísticas entre los extractos de la ortiguilla. Los datos fueron analizados con el software estadístico Minitab® Statistical Software.

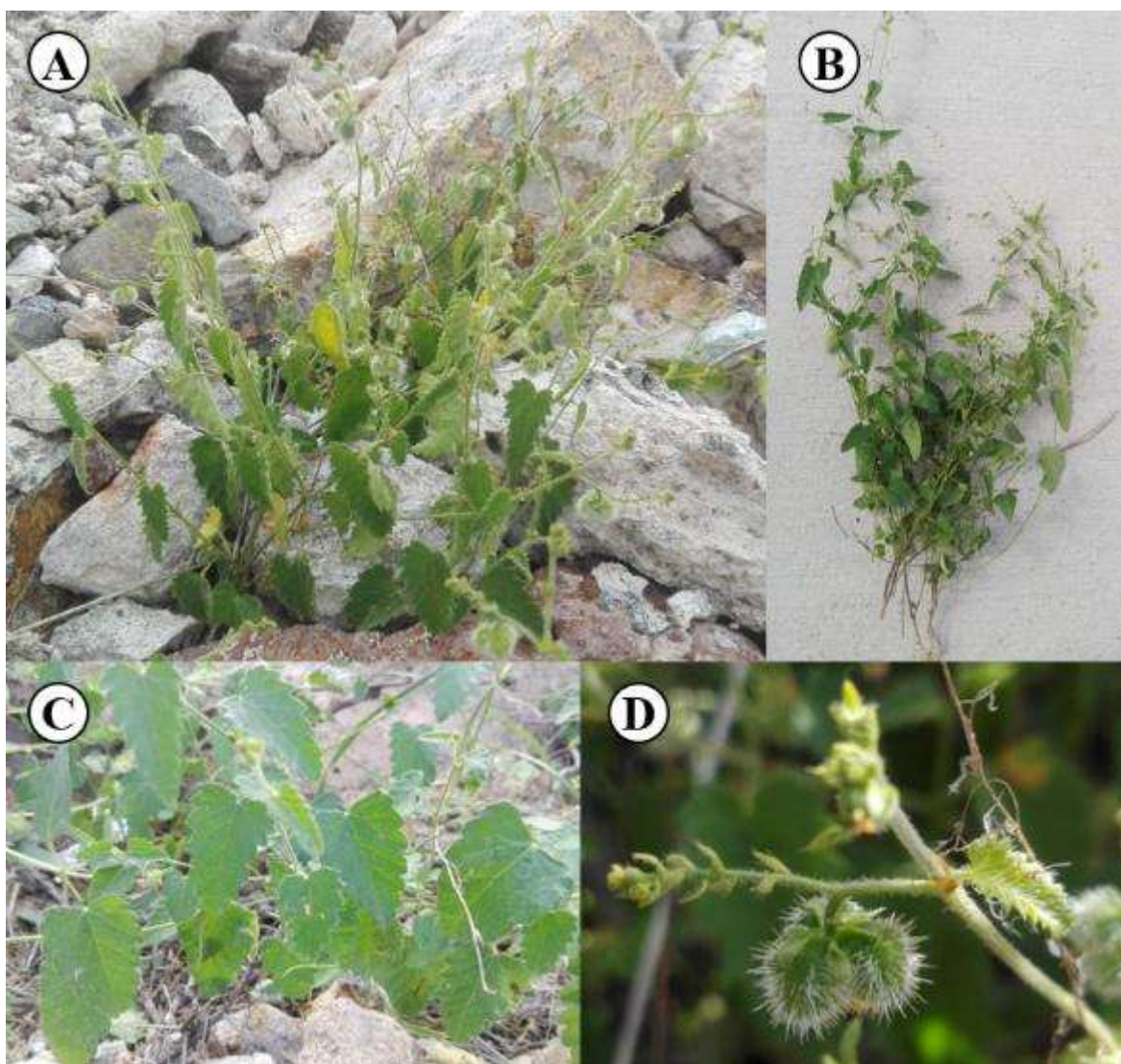


La información obtenida mediante el ensayo de letalidad fue evaluada con un ANOVA de dos vías y se realizó una comparación de medias de Tukey ( $p < 0.05$ ) para determinar si existen diferencias entre las muestras (interacciones entre los extractos y las concentraciones) mediante el paquete Minitab® Statistical Software.

## 7. RESULTADOS

### 7.1. Etnobotánica de la ortiguilla

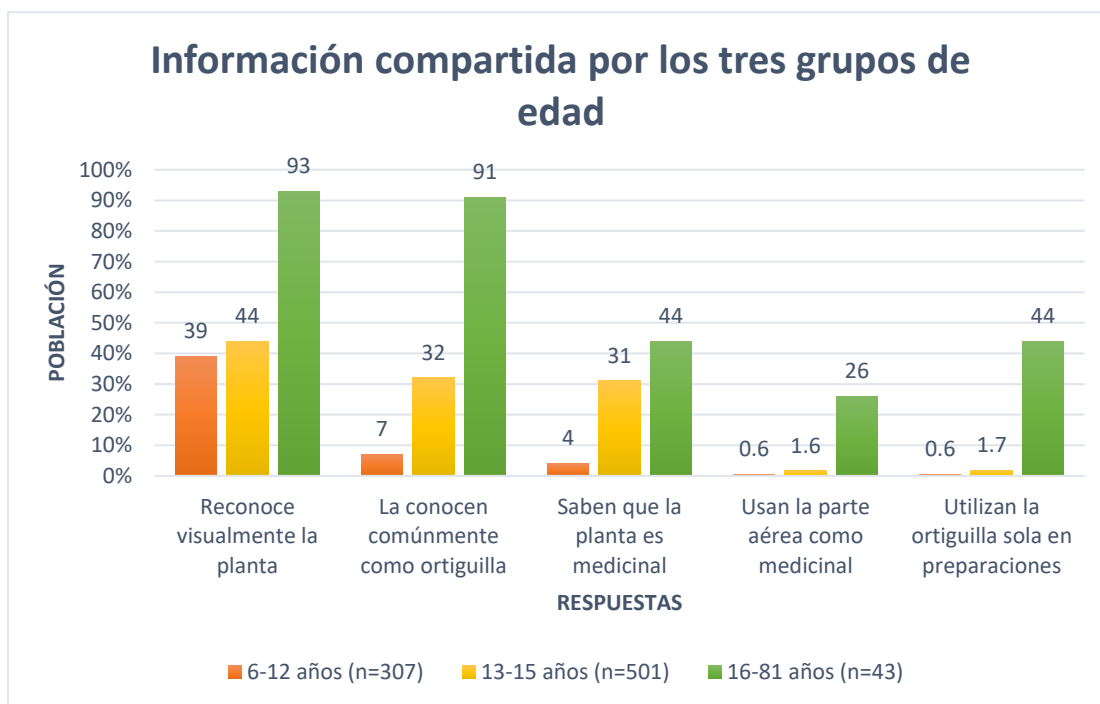
Los ejemplares recolectados fueron determinados como *Tragia nepetifolia* de acuerdo a las claves dicotómica de Rzedowski y Rzedowski (2005), correspondieron a las características morfológicas descritas para la especie (Figura 11).



**Fig. 11.** A) *Tragia nepetifolia* creciendo en suelos pedregosos de Cieneguilla. B) Ejemplar de ortiguilla recolectado con partes aéreas y subterráneas. C) Hojas de ortiguilla que presentan pubescencia fina y borde aserrado. D) Frutos (cápsula) de *T. nepetifolia*.

Se formaron tres grupos de entrevistados de acuerdo a la edad, los cuales fueron de los 6 a 12 años, 13 a 15 años y 16 a 81 años. El grupo de 6 a 12 años estuvo conformado por 307 alumnos de la única escuela primaria, “Miguel Hidalgo”, de la comunidad, el grupo de 13 a 15 años fue representado por 501 alumnos de la única Escuela Secundaria Técnica de la congregación, “E.S.T. No. 23”, mientras que el grupo de 16 a 81 años se integró por 43 pobladores no estudiantes de Cieneguilla.

El 39% del grupo de 6 a 12 años conoce la planta en estudio, mientras que del total del grupo de 13 a 15 años el 44% logró reconocerla, y en el grupo de 16 a 81 años el 93% la identificaron visualmente (Figura 12).



**Fig. 12.** Porcentajes de la población entrevistada para las preguntas que se tuvieron en común en los tres grupos de edad.

El nombre común de *Tragia nepetifolia* en Cieneguilla es “ortiguilla”, aunque algunos pobladores se refirieron a ella como “mala mujer”. Con el nombre de “ortiguilla” se le conoce a dos especies de diferentes géneros de la familia Euphorbiaceae y por consecuencia presentan distintas características morfológicas, los entrevistados destacaron el tamaño para

diferenciarlas; de este modo, se determinó que la “mala mujer” u “ortiguilla grande” se trata de *Cnidocolus* sp. que presenta un mayor tamaño que *Tragia nepetifolia*.

Los pobladores que reconocieron a la ortiguilla como una planta medicinal están representados por el 4% en el grupo de 6 a 12 años, en tanto que en el grupo de 13 a 15 años y de 16 a 81 años tal conocimiento asciende al 31% y 44% respectivamente.

En la población no escolar, es decir, en el grupo de 16 a 81 años se hicieron entrevistas abiertas y se anexaron preguntas sobre cómo se obtiene la planta, si considera que la planta es medicinal, si la ha utilizado y cómo obtuvo el conocimiento de uso de la especie (Figura 13). Se entrevistaron 43 individuos, de los cuales 6.97% indicaron no conocer la ortiguilla, mientras que el resto de los entrevistados señalaron que la obtienen del “monte” o cerros.

Del total de la población entrevistada el 44.18% indicó conocer que *Tragia nepetifolia* es medicinal y el 34.80% señaló que ésta especie cura las enfermedades a las que se le atribuye su uso, la principal fuente del conocimiento tradicional ha sido la comunicación oral, pues 25.60% de los entrevistados hicieron mención de ello; no obstante, sólo 2.32% ha consumido la planta “ortiguilla”.



**Fig. 13.** Condensación de información botánica obtenida de pobladores entre 18 a 81 años.

Los pobladores de Cieneguilla consideran que la ortiguilla puede curar 11 afecciones distintas. Las enfermedades mencionadas son diabetes, tuberculosis, cáncer, presión alta, hemorragias, menstruación, cólicos, mala digestión, reumas, así como problemas de la próstata y riñón. El grupo de entrevistados con mayor conocimiento sobre el uso medicinal de *Tragia nepetifolia* fue el de 16 a 81 años, ya que mencionaron diez de las enfermedades que cura; mientras que los jóvenes de 13 a 15 años conocen cinco de ellas y los niños de 6 a 12 años únicamente dos.

El conocimiento sobre la parte utilizada de la ortiguilla con fines medicinales fue de menos del 1% para los entrevistados de primaria, menos del 2% de los jóvenes de 13 a 15 años tiene la misma información y el 26% de la población de 16 a 81 años comparten un conocimiento similar (Figura 12).

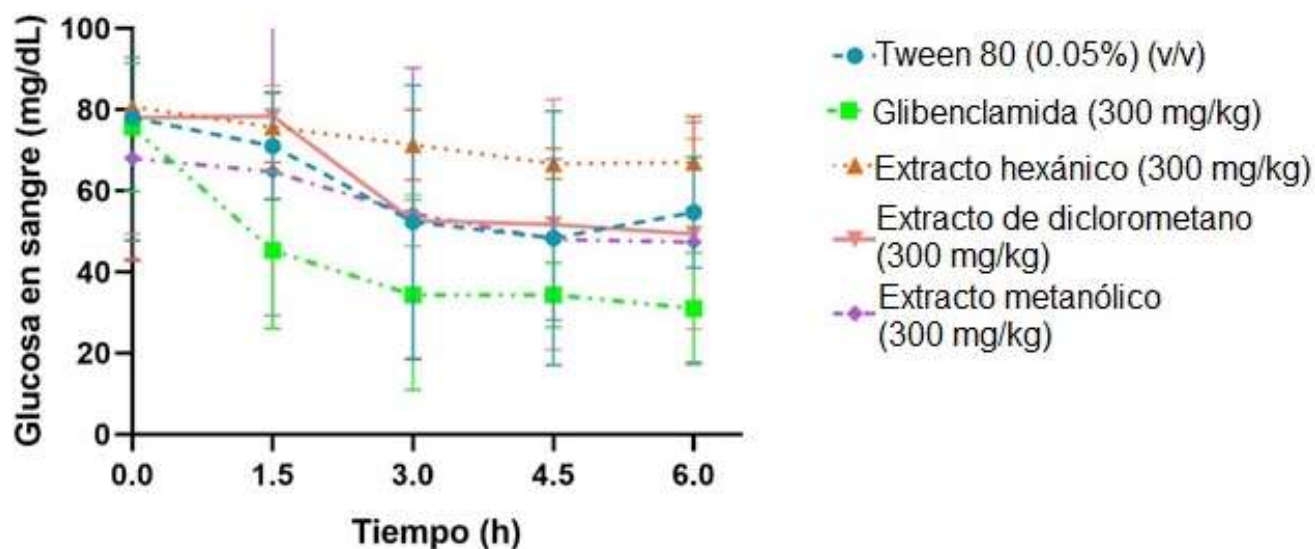
Se documentaron cinco modos de empleo de la ortiguilla, de estos destacó la preparación de infusión para tomarse como agua de tiempo. Esta bebida se utiliza para tratar la tuberculosis, cáncer, presión alta, hemorragias, menstruación, cólicos, diabetes o problemas de próstata y riñón. Otro método conocido por los tres grupos de edad es el frotamiento de las hojas de la planta fresca con el fin de aliviar dolores reumáticos, o bien, puede realizarse una preparación en alcohol para la misma afección. La ortiguilla puede consumirse también mediante ensalada como digestivo, para ello es necesario cocer previamente las hojas de la planta. Por último, las cápsulas pueden ingerirse para aliviar los cólicos menstruales.

## **7.2. Bioensayos para evaluar efecto hipoglucemiante y letalidad de los extractos de *Tragia nepetifolia***

### **7.2.1. Efecto hipoglucemiante de extractos de la ortiguilla**

En la Figura 14 y en el Cuadro 2 se pueden observar los comportamientos a través del tiempo de los niveles promedio de glucosa sanguínea obtenidos durante la prueba de efecto hipoglucemiante a lo largo de 6 horas medidas en intervalos de 1.5 h.

## Niveles de glucosa en sangre con dosis de 300 mg/kg de extractos de *Tragia nepetifolia*



**Fig. 14.** Niveles promedio de glucosa en la sangre de ratas Wistar bajo efecto de extractos orgánicos de *Tragia nepetifolia* (dosis 300 mg/kg). Se muestra la media aritmética  $\pm$  desviación estándar

**Cuadro 2.** Niveles de glucosa sanguínea registrados en diferentes tiempos en ratas Wistar normoglicémicas bajo la administración de distintos extractos de *Tragia nepetifolia* (dosis 300 mg/kg) Los datos indican la media aritmética y la desviación estándar.

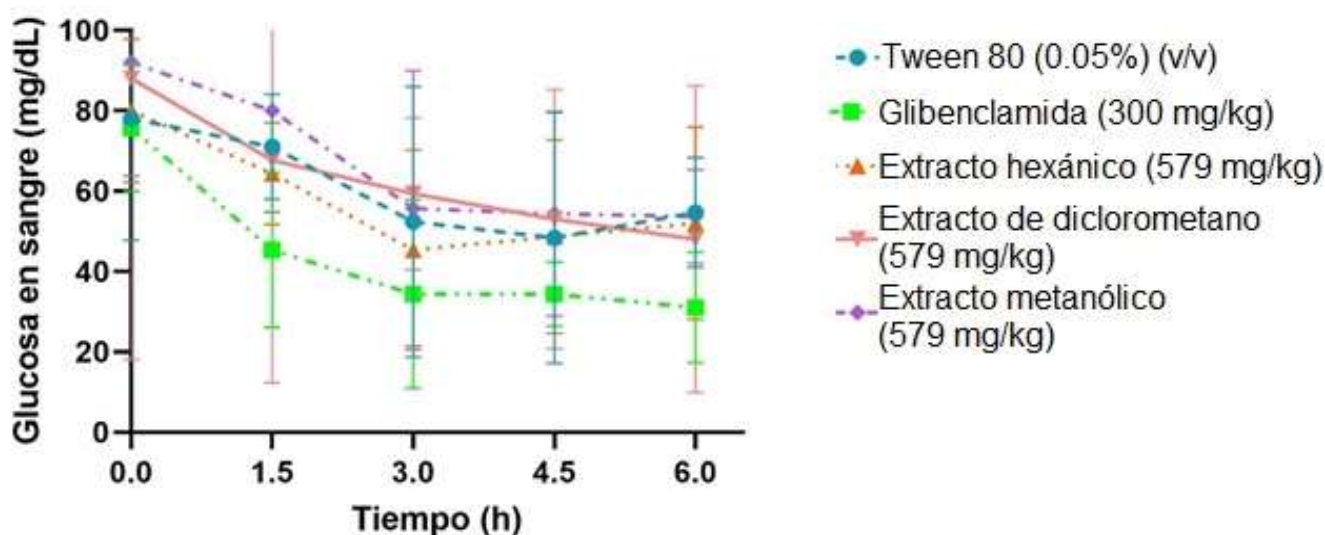
Glucosa en sangre (mg/dL)					
Tratamiento	0 h	1.5 h	3 h	4.5 h	6 h
Tween 80 (0.05%) *	78.00 $\pm$ 12.17 A	71.00 $\pm$ 5.29 A	52.33 $\pm$ 13.58 BC	48.33 $\pm$ 12.58 BC	54.67 $\pm$ 5.51 AB
Extracto hexánico	80.67 $\pm$ 15.28 A	75.67 $\pm$ 3.51 A	71.33 $\pm$ 3.51 A	66.66 $\pm$ 1.52 A	67.00 $\pm$ 4.58 A
Extracto de diclorometano	78.00 $\pm$ 11.53 A	78.33 $\pm$ 3.06 A	52.67 $\pm$ 2.52 B	51.67 $\pm$ 12.42 AB	49.33 $\pm$ 9.45 B
Extracto metanólico	68.00 $\pm$ 10.00 A	64.67 $\pm$ 14.22 A	54.33 $\pm$ 14.47 AB	48.00 $\pm$ 8.00 BC	47.33 $\pm$ 11.93 B
Glibenclamida **	75.67 $\pm$ 6.35 A	45.33 $\pm$ 7.77 B	34.33 $\pm$ 9.45 C	34.33 $\pm$ 3.21 C	31.00 $\pm$ 5.57 C

\* = Control negativo, \*\* = Control positivo

En el Cuadro 2 se muestra el análisis estadístico para cada tiempo en que se midió la glucosa, los datos registrados permitieron observar que no hubo diferencias significativas en los niveles glucémicos antes de la administración de los tratamientos. Después de 1.5 h de administrar los extractos sólo el grupo control positivo mostró un valor significativamente diferente. Durante las próximas tres mediciones de glucosa (3 h, 4.5 h y 6 h) el grupo del extracto hexánico mostró un valor estadísticamente superior, mientras que las ratas tratadas con extracto de diclorometano, metanol y Tween 80 no mostraron diferencias significativas mostrando que el fármaco glibenclamida produce el mejor efecto hipoglucemiante en comparación con los extractos probados al dar los menores niveles glucémicos en sangre.

El efecto ejercido por los extractos de *Tragia nepetifolia* sobre la concentración de glucosa de ratas normoglucémicas en una dosis de 579 mg/kg se muestra en la Figura 15 y en el Cuadro 3 se muestra el análisis estadístico para cada tiempo en el que se midió la glucosa.

### Niveles de glucosa en sangre con dosis de 579 mg/kg de extractos de *Tragia nepetifolia*



**Fig. 15.** Niveles promedio de glucosa en la sangre de ratas Wistar bajo efecto de extractos orgánicos de *Tragia nepetifolia* (dosis 579 mg/kg). Se muestra la media aritmética  $\pm$  desviación estándar

El efecto hipoglucémico y los valores más bajos de glucosa en sangre se obtuvieron en el tratamiento con glibenclamida ( $45.33 \pm 7.7$ -  $31.00 \pm 5.57$  mg/ dL) que fue el control positivo para bajar los niveles de glucosa en sangre. En los tiempos 1.5, 3.0 y 4.5 h el extracto hexánico produjo niveles glucémicos donde el efecto de los tratamientos llegó a mostrar valores similares a los del control positivo y el control negativo donde solo se administró la solución salina de Tween 80 (0.05%) (v/v); para el extracto de diclorometano se observó el mismo comportamiento en el tiempo 4.5 h; sin embargo, extracto metanólico dio como resultado valores similares a los del control negativo durante todos los tiempos de evaluación. De tal modo los extractos de *Tragia nepetifolia* tuvieron nula actividad hipoglucemiante.

**Cuadro 3.** Niveles promedio de glucosa sanguínea en mg/dL en ratas Wistar normoglicémicas registrados bajo la administración de distintos extractos (579 mg/kg), obtenidos de *Tragia nepetifolia* (media aritmética  $\pm$  desviación estándar)

Glucosa en sangre (mg/dL)					
Tratamiento	0 h	1.5 h	3 h	4.5 h	6 h
Tween 80 (0.05%) *	78.00 $\pm$ 12.17 A	71.00 $\pm$ 5.29 A	52.33 $\pm$ 13.58 AB	48.33 $\pm$ 12.58 AB	54.67 $\pm$ 5.51 A
Extracto hexánico	80.00 $\pm$ 7.21 A	64.33 $\pm$ 5.13 AB	45.33 $\pm$ 10.02 AB	48.67 $\pm$ 9.71 AB	52.00 $\pm$ 9.64 A
Extracto de diclorometano	88.00 $\pm$ 28.2 A	67.7 $\pm$ 22.3 A	59.33 $\pm$ 7.64 A	53.00 $\pm$ 13.00 AB	48.00 $\pm$ 15.39 A
Extracto metanólico	92.00 $\pm$ 11.36 A	80.00 $\pm$ 10.15 A	55.67 $\pm$ 13.80 A	54.33 $\pm$ 10.26 A	53.67 $\pm$ 4.73 A
Glibenclamida **	75.67 $\pm$ 6.35 A	45.33 $\pm$ 7.77 B	34.33 $\pm$ 9.45 B	34.33 $\pm$ 3.21 B	31.00 $\pm$ 5.57 B

\* = Control negativo, \*\* = Control positivo

### 7.2.2. Ensayo de letalidad en *Artemia salina*

Se evaluaron los extractos hexánico, de diclorometano y metanólico de las partes aéreas de *Tragia nepetifolia* en concentraciones de 10000, 1000, 100 y 10 ppm durante 24 y 48 h y se utilizó como disolvente acetona (control). Los resultados se expresaron como el porcentaje



de artemias muertas y se calculó la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de cada extracto a 24 y 48 h.

En el Cuadro 4 se puede observar que a las 24 h de evaluación los extractos de diclorometano y metanol no fueron estadísticamente distintos entre sí, mientras que el extracto hexánico fue el menos letal y mostró ser diferente a los anteriores.

**Cuadro 4.** Letalidad de los extractos de *Tragia nepetifolia* en 24 h expresado en porcentaje de artemias muertas. Se muestra la media aritmética  $\pm$  desviación estándar ( $p < 0.05$ ).

Extracto	Artemias muertas (%)
Metanol	48.00 $\pm$ 31.19 A
Diclorometano	45.33 $\pm$ 22.63 A
Hexano	26.66 $\pm$ 21.93 B

**Cuadro 5.** Letalidad de los extractos de *Tragia nepetifolia* en distintas concentraciones a las 24 h expresado en porcentaje de artemias muertas. Se muestra la media aritmética  $\pm$  desviación estándar ( $p < 0.05$ ).

Tratamiento	Artemias muertas (%)
Control extracto hexánico (acetona)	10.00 $\pm$ 0.00 G
Extracto hexánico 10 ppm	10.00 $\pm$ 0.00 G
Extracto hexánico 100 ppm	13.33 $\pm$ 5.77 G
Extracto hexánico 1000 ppm	36.66 $\pm$ 5.77 EF
Extracto hexánico 10000 ppm	63.33 $\pm$ 5.77 BC
Control extracto de diclorometano (acetona)	13.33 $\pm$ 5.77 G
Extracto de diclorometano 10 ppm	30.00 $\pm$ 0.00 F
Extracto de diclorometano 100 ppm	46.66 $\pm$ 5.77 DE
Extracto de diclorometano 1000 ppm	66.66 $\pm$ 5.77 B
Extracto de diclorometano 10000 ppm	36.66 $\pm$ 5.77 EF
Control extracto metanólico (acetona)	10.00 $\pm$ 0.00 G

Extracto metanólico 10 ppm	36.66 ± 5.77 EF
Extracto metanólico 100 ppm	40.00 ± 0.00 EF
Extracto metanólico 1000 ppm	53.33 ± 5.77 CD
Extracto metanólico 10000 ppm	100.00 ± 0.00 A

En el Cuadro 5 se observa que el tratamiento más letal es el del extracto metanólico a 10000 ppm siendo éste diferente estadísticamente de todos los demás tratamientos, mientras que los tratamientos menos letales fueron aquellos del control negativo donde se colocó solo acetona (0 ppm de extractos) y el del extracto hexánico a 10 y 100 ppm. A medida que la concentración de los extractos aumentó también aumentaron los decesos en los nauplios por lo tanto existe una relación directamente proporcional entre la concentración y la toxicidad.

El siguiente tiempo de evaluación fue a las 48 h donde el análisis estadístico realizado (Cuadro 6) mostró que el extracto de diclorometano tuvo el mayor porcentaje de letalidad seguido por el extracto metanólico, éstos dos fueron estadísticamente distintos del hexánico que eliminó 50% de los organismos.

**Cuadro 6.** Letalidad de los extractos de *Tragia nepetifolia* en 48 h expresado en porcentaje de artemias muertas. Se muestra la media aritmética ± desviación estándar ( $p < 0.05$ ).

Extracto	Artemias muertas (%)
Diclorometano	73.33 ± 28.70 A
Metanol	69.33 ± 26.31 A
Hexano	50.00 ± 30.70 B

Tras analizarse la letalidad producida por la interacción de los extractos y cinco concentraciones distintas se determinó que los tres extractos a 10000 ppm fueron los tratamientos más letales puesto que ningún organismo sobrevivió a la exposición durante 48 horas, este grupo fue estadísticamente distinto a todos los demás tratamientos. Dentro de esta evaluación los tratamientos menos letales fueron los del control negativo y el extracto

hexánico a 10 ppm (Cuadro 7). La relación directa entre la concentración y la letalidad de los extractos se mantuvo.

**Cuadro 7.** Letalidad de los extractos de *Tragia nepetifolia* en distintas concentraciones a las 48 h expresado en porcentaje de artemias muertas. Se muestra la media aritmética  $\pm$  desviación estándar ( $p < 0.05$ ).

Tratamiento	Artemias muertas (%)
Control extracto hexánico (acetona)	20.00 $\pm$ 0.00 E
Extracto hexánico 10 ppm	23.33 $\pm$ 5.77 E
Extracto hexánico 100 ppm	43.33 $\pm$ 5.77 D
Extracto hexánico 1000 ppm	63.33 $\pm$ 5.77 C
Extracto hexánico 10000 ppm	100.00 $\pm$ 0.00 A
Control extracto de diclorometano (acetona)	20.00 $\pm$ 0.00 E
Extracto de diclorometano 10 ppm	80.00 $\pm$ 0.00 B
Extracto de diclorometano 100 ppm	83.33 $\pm$ 5.77 B
Extracto de diclorometano 1000 ppm	83.33 $\pm$ 5.77 B
Extracto de diclorometano 10000 ppm	100.00 $\pm$ 0.00 A
Control extracto metanólico (acetona)	23.33 $\pm$ 5.77 E
Extracto metanólico 10 ppm	73.33 $\pm$ 5.77 BC
Extracto metanólico 100 ppm	73.33 $\pm$ 5.77 BC
Extracto metanólico 1000 ppm	76.66 $\pm$ 5.77 BC
Extracto metanólico 10000 ppm	100.00 $\pm$ 0.00 A

Con los porcentajes de letalidad obtenidos se realizaron los cálculos para determinar la concentración letal media ( $CL_{50}$ ) de cada uno de los extractos y conocer su nivel de toxicidad a las 24 y 48 h de su administración. Para establecer el nivel de toxicidad se utilizaron dos criterios distintos: el primero fue establecido por Meyer y colaboradores en 1982 y coloca a las sustancias como tóxicas o no tóxicas; el segundo fue planteado por Marzuki y

colaboradores en el 2019 y propone que un extracto puede ser no tóxico, bajamente tóxico, medianamente tóxico o altamente tóxico (Cuadro 8).

**Cuadro 8.** Nivel de toxicidad establecido para distintos rangos de concentración letal media (CL<sub>50</sub>).

Establecido por Meyer <i>et al.</i> (1982)		Establecido por Marzuki <i>et al.</i> (2019)	
CL <sub>50</sub> (µg/mL)	Nivel de toxicidad	CL <sub>50</sub> (µg/mL)	Nivel de toxicidad
>1000	No tóxico	>1000	No tóxico
		100-1000	Bajamente tóxico
<1000	Tóxico	10-100	Medianamente tóxico
		1-10	Altamente tóxico

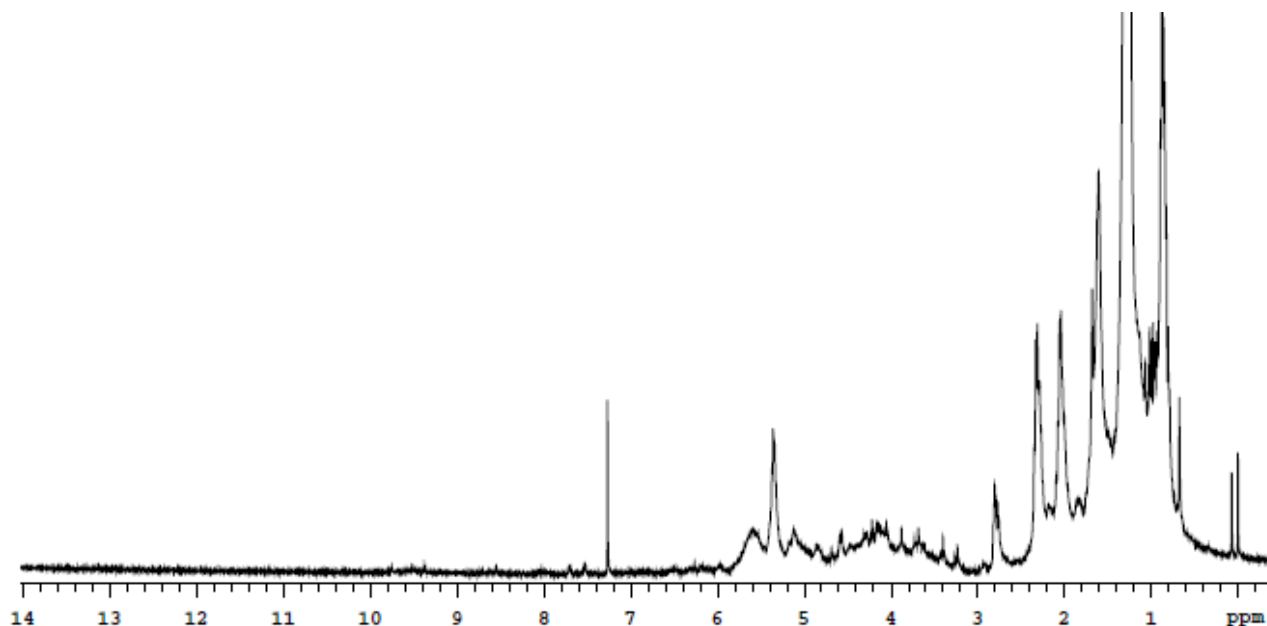
A las 24 h el extracto metanólico fue medianamente tóxico, mientras que a las 48 h el extracto de diclorometano fue altamente tóxico. Se pudo observar que la toxicidad de los extractos aumentó conforme lo hizo el tiempo transcurrido tras iniciar el ensayo, por ello la toxicidad fue mayor a las 48 h (Cuadro 9).

**Cuadro 9.** Concentración letal media de los extractos de *Tragia nepetifolia* a las 24 y 48 h de administración y su nivel de toxicidad.

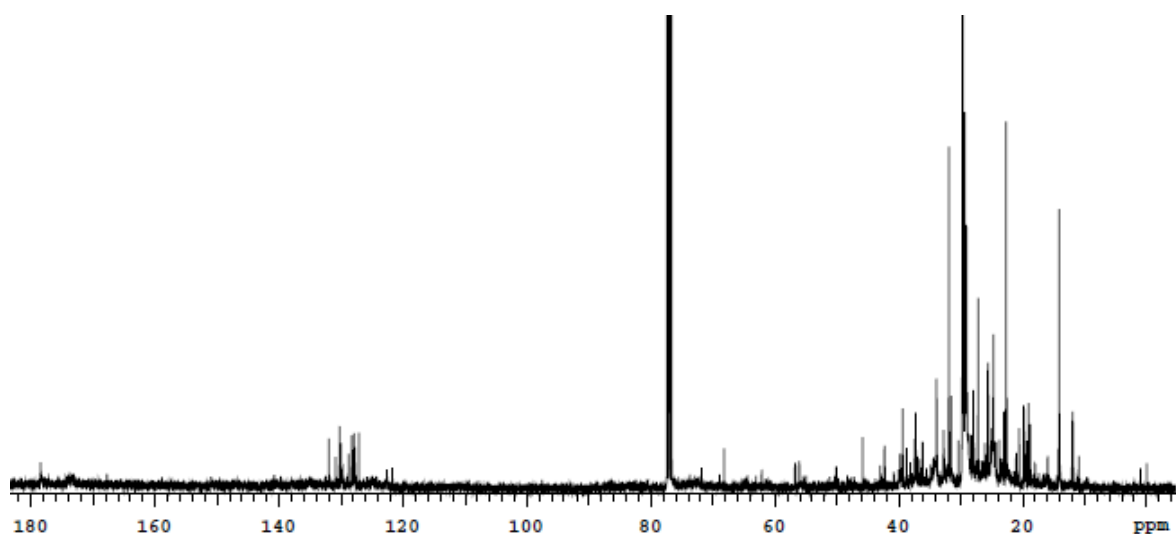
Evaluación	Tratamiento	CL <sub>50</sub> (µg/mL)	Nivel de toxicidad (Meyer <i>et al.</i> , 1982)	Nivel de toxicidad (Marzuki <i>et al.</i> , 2019)
<b>24 horas</b>	Hexano	3716.72	No tóxico	No tóxico
	Diclorometano	178.96	Tóxico	Bajamente tóxico
	Metanol	70.55	Tóxico	Medianamente tóxico
<b>48 horas</b>	Hexano	82.70	Tóxico	Medianamente tóxico
	Diclorometano	4.97	Tóxico	Altamente tóxico
	Metanol	10.83	Tóxico	Medianamente tóxico

### 7.2.3. Análisis de los extractos de mayor actividad citotóxica de *Tragia nepetifolia* por Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Como se observó en el bioensayo de citotoxicidad de *Artemia salina*, los extractos de cloruro de metileno y de metanol, desarrollaron la mayor toxicidad con valores de  $CL_{50}$  de 4.97 y 10.83  $\mu\text{g/ml}$ , respectivamente. De manera exploratoria y con el objetivo de conocer la composición aproximada en metabolitos secundarios de estos extractos, se determinaron los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz (Espectro 1), indicando que el extracto de cloruro de metileno de *Tragia nepetifolia*, exhibió entre 4.0 y 6.0 ppm un conjunto de señales que pueden ser asignables a hidrógenos de alqueno, lo que es confirmado en su espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Espectro 2), al mostrar un grupo de señales de resonancia entre 120 y 140 ppm.

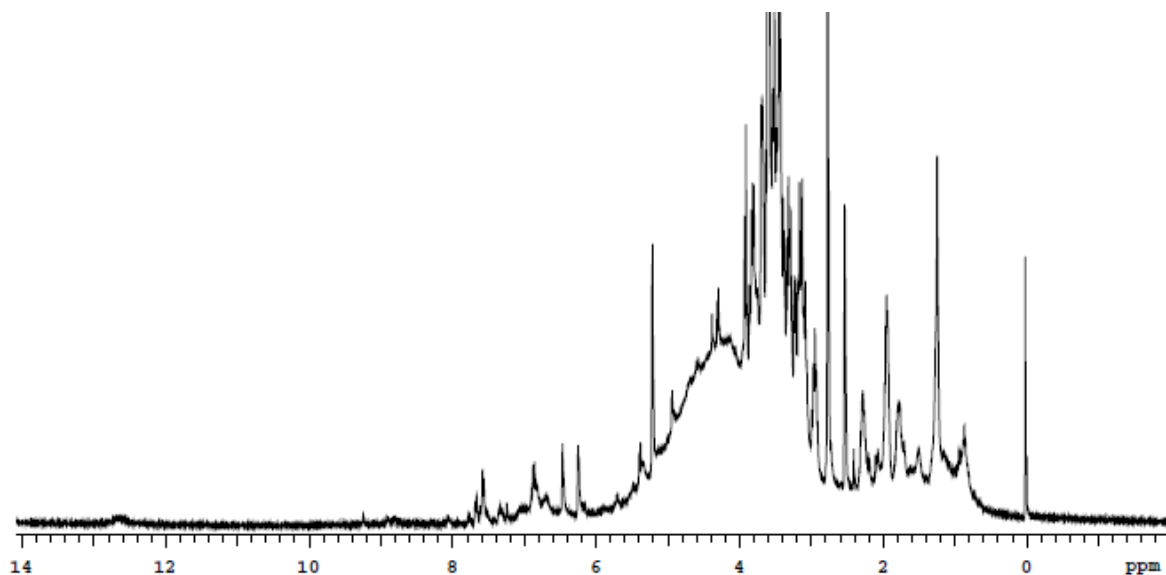


**Espectro 1.** Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  del extracto de diclorometano de hojas de *Tragia nepetifolia* (RMN- $^1\text{H}$ , 400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS).

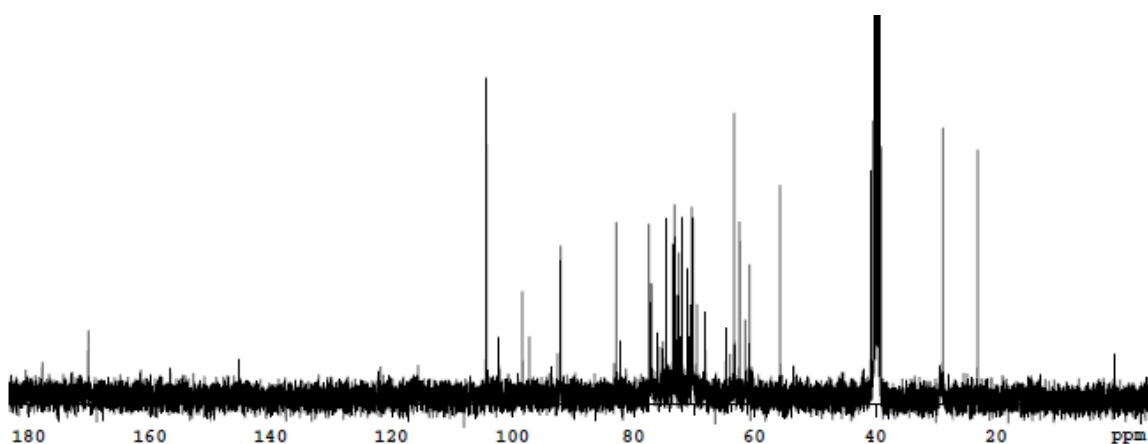


**Espectro 2.** Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de  $^{13}\text{C}$  del extracto de diclorometano de hojas de *Tragia nepetifolia* (RMN- $^1\text{H}$ , 100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS).

El extracto más activo fue el obtenido con metanol de las hojas de *Tragia nepetifolia*, éste también fue sometido a un estudio de Resonancia Magnética Nuclear, sin embargo, al tratarse de un extracto polar se disolvió en Dimetil Sulfoxido hexadeuterado ( $\text{DMSO-}d_6$ ). En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Espectro 3) obtenido se observó una señal ancha a 12.7 ppm que es posible asignar al hidrógeno de un ácido carboxílico ( $\text{R-COOH}$ ); así mismo, entre 1 y 2 ppm se aprecian pocas señales, lo que indica que es poco probable tener cadenas de grupos de hidrocarburos. No obstante, entre 3 y 6 ppm se observan señales que podrían asignarse a hidrógenos pertenecientes a grupos azúcar, de tal modo este extracto puede contener flavonoides glicosilados, como los observados en otras especies del género *Tragia*. Por otro lado, en su espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Espectro 4), es posible corroborar la presencia de grupos azúcar por la observación de una gran cantidad de señales entre 60 y 100 ppm.



**Espectro 3.** Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  del extracto metanólico de hojas de *Tragia nepetifolia* (RMN- $^1\text{H}$ , 400 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS).



**Espectro 4.** Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de  $^{13}\text{C}$  del extracto metanólico de hojas de *Tragia nepetifolia* (RMN- $^{13}\text{C}$ , 100 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS).

### 7.3. Determinación del contenido de antioxidantes de la ortiguilla

#### 7.3.1. Cuantificación de fenoles totales

El contenido de fenoles totales determinado mediante el método de Folin-Ciocalteu en los diferentes extractos de ortiguilla se muestra en el Cuadro 10. Se compararon cinco extractos

diferentes: de planta completa (de diclorometano y metanol), de raíces (metanol), hojas (metanol) y tallos (metanol) de *Tragia nepetifolia*. Los resultados se expresaron en miligramos de ácido gálico equivalentes por gramos de muestra seca (mgGAE/g<sub>s</sub>).

Los resultados mostraron que el mayor contenido de fenoles se encontró en el extracto metanólico de la planta completa cuyo valor fue de  $98.15 \pm 3.65$  mgGAE/g<sub>s</sub>, en tanto que el extracto de raíz fue el que presentó la menor concentración de fenoles mostrando un valor de  $2.55 \pm 0.12$  mgGAE/g<sub>s</sub>. Se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas para los extractos de hoja (metanol), tallo (metanol) y planta completa (metanol); mientras que los extractos de planta completa (diclorometano) y de raíz (metanol) no presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

**Cuadro 10.** Contenido de fenoles totales en extractos de *Tragia nepetifolia*. Se muestra la media aritmética  $\pm$  desviación estándar ( $p < 0.05$ )

Extracto	Fenoles totales (mgGAE/g <sub>s</sub> )
Raíz (metanol)	$2.55 \pm 0.12$ D
Hoja (metanol)	$9.04 \pm 0.67$ B
Tallo (metanol)	$6.68 \pm 0.36$ C
Planta completa (metanol)	$98.15 \pm 3.65$ A
Planta completa (diclorometano)	$3.89 \pm 1.05$ D

### 7.3.2. Ensayo del radical ABTS

El Cuadro 11 muestra la capacidad antioxidante de los cinco extractos evaluados expresada en micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra seca ( $\mu\text{mol TE/g}_s$ ). Se apreció una relación directa con los datos obtenidos en la cuantificación de fenoles totales. De este modo, el extracto metanólico mostró la mayor capacidad antioxidante entre los extractos probados con un valor de  $2302.81 \pm 28.70$   $\mu\text{mol TE/g}_s$ , no obstante, se mantuvo por debajo del ácido ascórbico que mostró poseer  $29380.10 \pm 221.60$   $\mu\text{mol TE/g}_s$ , mientras que el extracto de raíz presentó el menor valor con  $51.09 \pm 0.58$   $\mu\text{mol TE/g}_s$ .



Tras realizar un análisis de varianza ( $p < 0.05$ ) se determinó que el ácido ascórbico es estadísticamente distinto de todos los extractos probados, de igual modo el extracto metanólico fue significativamente diferente de los demás, por último el extracto de hoja también fue diferente del de raíz, como se aprecia en el Cuadro 11.

**Cuadro 11.** Capacidad antioxidante determinada por ensayo de ABTS en extractos de *Tragia nepetifolia*. Se muestra la media aritmética  $\pm$  desviación estándar ( $p < 0.05$ ).

Extracto	Capacidad antioxidante ( $\mu\text{mol TE/g}_s$ )
Raíz (metanol)	$51.09 \pm 0.58$ D
Hoja (metanol)	$185.39 \pm 1.42$ C
Tallo (metanol)	$103.90 \pm 0.68$ CD
Planta completa (metanol)	$2303.81 \pm 28.70$ B
Planta completa (diclorometano)	$86.05 \pm 1.02$ CD
Ácido ascórbico (control)	$29380.10 \pm 221.60$ A

### 7.3.3. Ensayo de poder de reducción antioxidante del ion férrico (FRAP)

El Cuadro 12 muestra el poder de reducción antioxidante del ion férrico de los cinco extractos de ortiguilla. Los resultados obtenidos mediante este ensayo estuvieron relacionados directamente con los mostrados en la cuantificación de fenoles totales y el ensayo del radical ABTS. De tal modo, el extracto metanólico fue el extracto que mostró el mayor poder de reducción antioxidante con un valor de  $825.49 \pm 8.45 \mu\text{mol TE/g}_s$ , a pesar de ello el valor del ácido ascórbico fue superior con  $7423.60 \pm 113.80 \mu\text{mol TE/g}_s$ , mientras que el extracto de raíz mostró el menor valor con  $4.14 \pm 0.05 \mu\text{mol TE/g}_s$ .

Existen diferencias significativas entre el ácido ascórbico y todos los extractos, siendo superior el valor de éste a los tratamientos. El extracto metanólico mostró ser estadísticamente distinto respecto de los demás extractos evaluados. Por su parte el extracto de hoja tuvo diferencia significativa respecto al extracto de raíz.

**Cuadro 12.** Poder de reducción antioxidante del ion férrico determinado mediante el ensayo FRAP de *Tragia nepetifolia*. Se muestra la media aritmética  $\pm$  desviación estándar ( $p < 0.05$ )

Extracto	FRAP ( $\mu\text{mol TE/g}_s$ )
Raíz (metanol)	$4.14 \pm 0.05$ D
Hoja (metanol)	$64.35 \pm 0.66$ C
Tallo (metanol)	$25.43 \pm 0.31$ CD
Planta completa (metanol)	$825.49 \pm 8.45$ B
Planta completa (diclorometano)	$57.60 \pm 0.62$ CD
Ácido ascórbico (control)	$7423.60 \pm 113.80$ A

## 8. DISCUSIÓN

### 8.1. Etnobotánica de la ortiguilla

Los resultados obtenidos para cada pregunta realizada en las encuestas indican que a medida que el rango de edad aumentó en los grupos entrevistados, el conocimiento medicinal sobre *Tragia nepetifolia* incrementó. Existe una clara pérdida de la información etnobotánica entre el grupo de pobladores más jóvenes, mismos que desconocen algunos datos importantes sobre el uso medicinal de la ortiguilla, esto se puede deber a la exposición a culturas modernas, aumento en la transculturación y el acceso a comodidades modernas (incluyendo los fármacos) que han alterado la distribución y extensión del conocimiento local y uso medicinal de las plantas (Caniago y Stephen, 1998). Otro factor que puede tener influencia en la pérdida del conocimiento etnobotánico es el cambio de uso de suelo debido a la urbanización que destruye el hábitat de las plantas útiles, así como la muerte de los médicos tradicionales sin pasar su conocimiento a generaciones más jóvenes (Joshi y Joshi, 2000). Por último, se sugiere que la extinción de las lenguas maternas o indígenas como parte de la modernización favorece la erosión y pérdida de la información etnobotánica (Benz *et al.*, 2000).

A pesar de que no se han realizado estudios fitoquímicos que avalen la actividad medicinal de *Tragia nepetifolia*, se ha registrado actividad antiinflamatoria en algunas especies de *Tragia* (Reddy *et al.*, 2017; Hosahally *et al.*, 2012), mientras que otras especies tienen propiedades antidiabéticas (Farook y Atlee, 2011). El potencial antiinflamatorio se puede aprovechar en el tratamiento de algunas enfermedades reumáticas donde se busca eliminar la inflamación para controlar el dolor y el eventual daño potencial, ya que se pueden generar lesiones a largo término en el organismo afectado por el proceso reumático (Scali, 2018); también puede ser útil para aliviar cólicos menstruales donde se suelen utilizar fármacos antiinflamatorios en su tratamiento debido a que son antagonistas de las prostaglandinas, las cuales incrementan su producción durante la menstruación y se consideran la causa del dolor en casos de dismenorrea primaria (Zdanski *et al.*, 2013).

En algunas comunidades se emplean especies de *Tragia* para el tratamiento de cáncer (Ochwang'i *et al.*, 2014) y tuberculosis (Tabuti *et al.*, 2010); no obstante, se ha demostrado que *Tragia benthamii* favorece el desarrollo de células cancerígenas (Kuate *et al.*, 2015); por ello se considera de vital importancia la realización de estudios fitoquímicos que sustenten el uso farmacológico de las distintas especies de plantas medicinales, así como las dosis apropiadas, una vez que algunas especies presentan potencial tóxico (Mwine y Van Damme, 2011).

Dentro de la medicina tradicional existen diversos modos de empleo para el consumo de plantas con fines terapéuticos, mejor conocidos como preparaciones herbarias. Pueden componerse de material vegetal triturado o pulverizado, o extractos, tinturas y aceites grasos (Zhang, 2019). En Cieneguilla se consume la ortiguilla principalmente en infusión para curar diversas afecciones, este método es ampliamente utilizado por los pobladores ya que las infusiones son preparaciones líquidas que se obtienen al verter agua caliente o hirviendo sobre el material vegetal, de este modo se obtienen los llamados “tés” medicinales; los sabores y nutrientes o agentes medicinales son extraídos de forma previa a la ingesta (Capasso *et al.*, 2003). Una vez que la planta entra al sistema digestivo, el cuerpo comienza a consumirla y a separar los desechos así como los radicales libres limitados a las fibras del vegetal y, en general, purifica el contenido útil dentro de las células (Farzaneh y Carvalho, 2015).

## **8.2. Efecto hipoglucemiante en ratas Wistar**

Los resultados obtenidos en el presente estudio difieren de aquellos reportados para otras especies del género *Tragia*, tal es el caso de los extractos de éter de petróleo, cloroformo y acuoso de raíces de *Tragia involucrata*, mismos que fueron administrados en dosis de 100, 100 y 200 mg/kg respectivamente a ratas Wistar macho con diabetes inducida por aloxano donde se obtuvo como resultado la reducción de los niveles glucémicos en mayor proporción que el fármaco conocido como tolbutamida en una dosis de 80 mg/kg (Venkatrao *et al.*, 2007). Por su parte, Farook y Atlee (2011) reportaron que tras administrar extracto hidroetanólico de plantas completas de *T. involucrata* en dosis de 250 y 500 mg/kg a ratas

Wistar machos y hembras con diabetes inducida por estreptozocina se obtuvieron niveles glucémicos similares a los obtenidos tras administrarles glibenclamida en dosis de 0.5 mg/kg. Otro caso es el de *Tragia tenuifolia* Benth., cuyo extracto etanólico de planta completa administrado en dosis de 26.5, 53 y 106 mg/kg a ratas Sprague Dawley normoglicémicas produjo un efecto hipoglucémico parecido a la glibenclamida (0.14 mg/kg) y mayor que la metformina (12.14 mg/kg) (Koffuor *et al.*, 2011).

El efecto hipoglucemiante que los pobladores de Cieneguilla atribuyeron a *Tragia nepetifolia* puede deberse a la comunicación oral establecida de generación en generación, es decir, que los médicos tradicionales de la congregación han transmitido esta información entre generaciones, ya que durante cientos o miles de años han sido la única fuente para aliviar los problemas de salud. En Cieneguilla vive gente principalmente indígena y parte importante de su población cree que las medicinas naturales son seguras.

### **8.3. Ensayo de letalidad en *Artemia salina***

De acuerdo a los resultados, los porcentajes de letalidad en extractos de ortiguilla evaluados a las 24 h en concentraciones de 10 ppm ( $10.00 \pm 0.00$  -  $36.66 \pm 5.77$ ) y 1000 ppm ( $36.66 \pm 5.77$  -  $100.00 \pm 0.00$ ) fueron superiores a los obtenidos por Jaramillo y colaboradores (2016) para el extracto etanólico de hojas de chaya (*Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I.M.Johnst.), perteneciente a la familia Euphorbiaceae, cuyos porcentajes en las mismas concentraciones fueron de 20 y 76.66% respectivamente. No obstante, el porcentaje de letalidad de extractos de ortiguilla a 100 ppm ( $13.33 \pm 5.77$  -  $46.66 \pm 5.77$ ) fue inferior al obtenido para el extracto de chaya (66.67%) (Jaramillo *et al.*, 2016).

Con los porcentajes de letalidad fue posible calcular la concentración letal media o  $CL_{50}$ . Al llevarse a cabo la primera evaluación el extracto hexánico mostró ser no tóxico al tener una concentración letal media de 3716.72  $\mu\text{g/mL}$ , en tanto que el más tóxico fue el metanólico cuya  $CL_{50}$  fue 70.55  $\mu\text{g/mL}$ , por lo tanto se considera como medianamente tóxico (Marzuki *et al.*, 2019), este valor fue inferior a lo que menciona Jaramillo *et al.* (2016) para el extracto etanólico de las hojas de chaya (*Cnidoscolus aconitifolius*) puesto que su  $CL_{50}$  fue 74.34  $\mu\text{g/mL}$  y por ello es medianamente tóxico, en tanto que Hernández-Ocura *et al.* (2014) reporta

que el extracto metanólico de la parte aérea de hierba de golondrina (*Euphorbia hyssopifolia* L.) tiene una concentración letal media de 263.5 µg/mL siendo así bajamente tóxico; no obstante la CL<sub>50</sub> del extracto metanólico de ortiguilla mostró ser mayor a la señalada por Fabri *et al.* (2015) para la planta coral (*Jatropha multifida* L.), cuyo extracto metanólico de las hojas arrojó un valor de 15.6 µg/mL de acuerdo a Khatun *et al.* (2014) el extracto etanólico de la corteza de uppila (*Macaranga indica* Wight) también posee una menor concentración letal media de 21.71 µg/mL, a pesar de que esas especies tienen una CL<sub>50</sub> inferior su clasificación se mantiene en el rango de medianamente tóxica.

La evaluación realizada a las 48 h mostró que el extracto hexánico aumentó su toxicidad respecto al resultado previo obteniéndose una CL<sub>50</sub> de 82.70 µg/mL por lo que se clasificó como medianamente tóxico, mientras que el de diclorometano tuvo una concentración letal media de 4.97 µg/mL, debido a ello fue el más tóxico y se consideró como altamente tóxico de acuerdo a Marzuki y colaboradores (2019). De este modo se pudo apreciar que la toxicidad de los extractos de ortiguilla aumenta a medida que transcurre el tiempo desde la exposición a los mismos.

#### **8.4. Metabolitos encontrados en los extractos activos de *Tragia nepetifolia***

De acuerdo con los resultados mostrados en los espectros de RMN de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C determinados al extracto de cloruro de metileno de hojas de ortiguilla, las señales de resonancia indican la presencia de carbonos unidos entre sí por un enlace doble (-C=C-) (Silverstein *et al.*, 2005). Dentro de los espectros realizados al extracto metanólico de hojas de *Tragia nepetifolia* se identificó la presencia de compuestos glicosilados, este tipo de metabolitos secundarios podrían ser similares a los reportados por Stanley *et al.* (2012) para el extracto etanólico de *Tragia plukenetii*.

#### **8.5. Evaluación de la actividad antioxidante**

Los datos mostraron que el mayor contenido fenólico estuvo presente en el extracto metanólico de toda la planta con 98.15 mgGAE/g<sub>s</sub>, dicho valor fue superior al obtenido por

Loarca-Piña *et al.* (2010) para el extracto metanólico de chaya (*Cnidoscolus aconitifolius*) que fue de 71.3 mgGAE/g<sub>s</sub>, al contenido fenólico de extracto etanólico y de cloroformo del tártago-enredadera hindú (*Dalechampia indica* Wight) de 71.54 y 35.29 mgGAE/g<sub>s</sub> respectivamente (Sindhura y Eswaraiah, 2017), y a lo reportado por Alhakmani y colaboradores (2013) sobre el extracto hidroetanólico de las flores de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) que tuvo 19.31 mgGAE/g<sub>s</sub>; no obstante, en el caso de la granada (*Punica granatum* L.) arrojó un valor de 413 mgGAE/g<sub>s</sub> en el extracto hidroetanólico de cáscara (Derakhshan *et al.*, 2018).

Los resultados obtenidos mediante el ensayo de ABTS para los extractos de ortiguilla mostraron que la mayor capacidad antioxidante se encontró en el extracto metanólico, el cual presentó un valor de  $2302.81 \pm 28.79$   $\mu\text{molTE/g}_s$ , este dato fue superior al reportado por Mosquera *et al.* (2015) en cuya investigación se probó el extracto de hexano e isopropanol de la parte aérea del lombricero (*Alchornea coelophylla* Pax & K.Hoffm.) y el palo blanco (*Acalypha diversifolia* Jacq.) obteniéndose un valor de 914.76 y 902.93  $\mu\text{molTE/g}_s$  respectivamente, de igual forma la chaya (*Cnidoscolus aconitifolius*) especie de la que Loarca-Piña *et al.* (2010) señaló que el extracto metanólico de las hojas tiene una capacidad antioxidante de  $214.18 \pm 29.4$   $\mu\text{molTE/g}_s$  tuvo un valor menor, Sharma *et al.* (2007) mencionó que el extracto acuoso de las hojas de golondrina (*Euphorbia hirta* L.) contiene 247  $\mu\text{molTE/g}_s$ , otras plantas de uso más frecuente son la hierbabuena (*Mentha spicata* L.) y el orégano (*Origanum vulgare* subsp.*virens*) cuyo extracto hidrometanólico de sus hojas reveló un contenido de 877.93 y 1479.56  $\mu\text{molTE/g}_s$  respectivamente (Gonçalves *et al.*, 2017); estas especies son consideradas como plantas con capacidad antioxidante, sin embargo su capacidad antioxidante no es tan elevada como la del control positivo que fue el ácido ascórbico.

De acuerdo al ensayo FRAP, el contenido de  $\mu\text{molTE/g}_s$  obtenido en el extracto metanólico de *T. nepetifolia* es superior respecto a lo reportado por Godínez-Santillán *et al.* (2019) para el extracto hidrometanólico de hojas de chaya (*Cnidoscolus aconitifolius*) que tuvo 138  $\mu\text{molTE/g}_s$ , por su parte Chirinos *et al.* (2016) menciona que la testa de la semilla del sacha inchi (*Plukenetia verrucosa* Sm.) posee 114  $\mu\text{molTE/g}_s$  en el extracto de acetona, agua y ácido acético, mientras que Surveswaran *et al.* (2007) encontró que los extractos metanólicos

de semillas de mango (*Mangifera indica* L.) y de pericarpio de granada (*Punica granatum*) contienen 25.32 y 90.70  $\mu\text{mol TE/g}_s$ .

En los resultados que fueron obtenidos para la cuantificación de fenoles totales, capacidad antioxidante (ABTS) y poder antioxidante (FRAP) se observó una relación entre los valores obtenidos en cada ensayo y el tipo de extracto de *Tragia nepetifolia*. En los tres casos el extracto con valores más altos fue el metanólico, mientras que el extracto de raíz fue el que mostró la menor actividad. Existe una relación entre la concentración de compuestos fenólicos presentes en los extractos y la captación de radicales libres y la capacidad para reducir el hierro, por lo tanto, la presencia de fenoles en los extractos vegetales contribuye significativamente a su potencial antioxidante. Otro motivo por el que se apreció esta relación es debido a que los tres ensayos realizados están basados en la transferencia de electrones y miden la capacidad de un antioxidante para reducir un oxidante, el cual cambia de color cuando se reduce (Dudonné *et al.*, 2009).

Los fenoles son metabolitos secundarios presentes en las plantas y han sido consumidos por el ser humano a lo largo de muchos años como parte de su dieta normal o tomados como preparaciones medicinales de origen vegetal. Sin embargo, el valor de estos compuestos no yace en su aporte nutricional, sino en la función que cumplen como inhibidores o activadores de una gran variedad de sistemas enzimáticos, como queladores de metales y capturadores de ERO. Los compuestos fenólicos interfieren con las rutas que regulan la división y proliferación celular, la agregación de plaquetas, los procesos de desintoxicación, y la respuesta inflamatoria o inmune. Algunos de los compuestos de los que se sabe que poseen fuertes propiedades antioxidantes son los flavonoides (Sellappan *et al.*, 2002), flavonoles, ácidos cinámicos, cumarinas y ácidos cafeicos (Igbinosa *et al.*, 2011).

Los resultados obtenidos en los ensayos ABTS y FRAP demostraron que *Tragia nepetifolia* puede deber su actividad antioxidante, en parte, a su contenido fenólico y por eso el comportamiento de los datos a lo largo de las tres pruebas fue similar. La información etnobotánica indica que en Cieneguilla se consume la ortiguilla como infusión de la planta completa por el tipo de extracción, además la actividad antioxidante es baja al analizar los órganos por separado. No obstante, es necesario realizar más análisis con el objeto de



determinar cuáles son los principales compuestos presentes en esta especie y si son ellos los que le otorgan a la ortiguilla su actividad antioxidante.

## 9. CONCLUSIONES

*Tragia nepetifolia* es utilizada en Cieneguilla sin raíz en estado fresco o seco como té para padecimientos relacionados con diabetes, vasoconstricción, inflamación o dolor; mientras la unción en fresco es usada para afecciones reumáticas.

A pesar de la información etnobotánica obtenida, el ensayo realizado en ratas Wistar indicó que esta planta no posee un efecto hipoglucemiante.

Los extractos de ortiguilla son más letales conforme la concentración y tiempo de exposición aumenta y son mediana a altamente tóxicos.

La ortiguilla puede ser considerada como una especie antioxidante y posiblemente estos resultados sustentan la apreciación como planta medicinal de *Tragia nepetifolia* que los pobladores de Cieneguilla refieren.

## 10. LITERATURA CITADA

- Alagar Yadav, S., Ramalingam, S., Jabamalai Raj, A. y Subban, R. (2015). Antihistamine from *Tragia involucrata* L. leaves. *Journal of complementary & integrative medicine*, 12(3), 217–226. <https://doi.org/10.1515/jcim-2015-0015>
- Alfaro, J., Simal, A. y Botella, F. (2000). Tratamiento de la diabetes mellitus. *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud*, 24(2), 33-43
- Alhakmani, F., Kumar, S. y Khan, S. A. (2013). Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and antiinflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(8), 623-627. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60126-4](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60126-4)
- Asmat, U., Abad, K. e Ismail, K. (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress - A concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(5), 547-553. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2015.03.013>
- Beltrán, R. J. R., Espinoza, J. J., Maciel, A. M. R., Larios, R. V. M., Martínez, M. J. J. y Zepeda, G. J. R. (2018). Tecnología para la prevención y cuidado de personas con diabetes. *Avances: Investigación en Ingeniería*, 15(1), 194-203. <https://doi.org/10.18041/1794-4953/avances.1.4736>
- Benz, B. F., Cevallos, E. J., Santana, M. F., Rosales, A. J. y Graf, M. S. (2000). Losing knowledge about plant use in the Sierra de Manantlan Biosphere Reserve, Mexico. *Economic Botany*, 54(2), 183-191.
- Benzie, I. F. F. y Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bermúdez, A. y Velázquez, D. (2002). Etnobotánica médica de una comunidad campesina del estado Trujillo, Venezuela: un estudio preliminar usando técnicas cuantitativas. *Revista de la Facultad de Farmacia*, 44, 2-6
- Bermúdez, A., Oliveira-Miranda, M. A. y Velázquez, D. (2005). La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. *Interciencia*, 30(8), 453-459

- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (2009). *Ortiguilla o pica pica. México: Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana.* <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Tragia%20nepetifolia&id=7899>
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S. y Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *The World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9-19. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>
- Bruneton, J. (2001). *Farmacognosia, fitoquímica, plantas medicinales* (2ª ed.). Acribia.
- Caniago, I. y Stephen, F. S. (1998). Medicinal plant ecology, knowledge and conservation in Kalimantan, Indonesia. *Economic Botany*, 52(3), 229–250. <https://doi.org/10.1007/bf02862141>
- Capasso, F., Gaginella, T. S., Graandolini, G. e Izzo, A. A. (2003). *Phytotherapy: A quick reference to herbal medicine.* Springer. p. 52.
- Casas, A., Blancas, J. y Lira, R. (eds.) (2016). *Ethnobotany of Mexico: Interactions of people and plants in Mesoamerica.* Springer. p. 1. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6669-7>
- Centro de Ciencias de la Atmósfera. (2013). *Sierra Gorda. México: Universidad Nacional Autónoma de México.* <http://www.espaciogeo.net/ccybd/index.php/lineas-de-investigacion/sierra-gorda>
- Chirinos, R., Necochea, O., Pedreschi, R. y Campos, D. (2016). Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) shell: an alternative source of phenolic compounds and antioxidants. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(4), 986-993. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13049>
- Ciulu, M., Cádiz-Gurrea, M. L. y Segura-Carretero, A. (2018). Extraction and analysis of phenolic compounds in rice: A review. *Molecules*, 23(11), 2890. <https://doi.org/10.3390/molecules23112890>
- Coronado, H. M., Vega, L. S., Gutiérrez, T. R., Vázquez, F. M. y Radilla, V. C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista chilena de nutrición*, 42(2), 206-212. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182015000200014>

- Corrales, M. L. C. y Muñoz, A. M. M. (2012). Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova*, 10(18), 213-225
- Cuellar, F. J. L. (2018). *Guanajuato – Tierra Blanca. México: Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México*. <http://siglo.inafed.gob.mx/enciclopedia/EMM11guanajuato/municipios/11040a.html>
- Daniel, M. (1991). *Methods in plant chemistry and economic botany*. Kalyani Publishers. pp: 63-64.
- Derakhshan, Z., Ferrante, M., Tadi, M. Ansari, F., Heydari, A., Hosseini, M. S., Conti, G. O. y Sadrabad, E. K. (2018). Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of pomegranate peels, juice and seeds. *Food and Chemical Toxicology*, 114, 108-111. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.02.023>
- Dimayuga, R. E. y Agundez, J. (1986). Traditional medicine of Baja California Sur (Mexico) I. *Journal of Ethnopharmacology*, 17(2), 183- 193. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(86\)90057-7](https://doi.org/10.1016/0378-8741(86)90057-7)
- Dudonné, S., Vitrac, X., Coutière, P., Woillez, M. y Mérillon, J. (2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1768-1774. <https://doi.org/10.1021/jf803011r>
- Fabri, R. L., Sá, D. S. D., Pereira, A. P. O., Scio, E., Pimenta, D. S. y Chedier, L. M. (2015). Antimicrobial, antioxidant and cytotoxicity potential of *Manihot multifida* (L.) Crantz (Euphorbiaceae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 87(1), 303-311. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201520130251>
- Fabricant, D. S. y Farnsworth, N. R. (2001). The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental Health Perspectives*, 109(s1), 69–75. <https://doi.org/10.1289/ehp.01109s169>
- Farook, S. M. y Atlee, W. C. (2011). Antidiabetic and hypolipidemic potential of *Tragia involucrata* Linn. in streptozotocin-nicotinamide induced type II diabetic rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(s4), 103-109

- Farzaneh, V. y Carvalho, I. S. (2015). A review of the health benefit potentials of herbal plant infusions and their mechanism of actions. *Industrial Crops and Products*, 65, 247-258. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.10.057>
- Giacco, F. y Brownlee, M. (2010). Oxidative stress and diabetic complications. *Circulation Research*, 107(9), 1058-1070. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.223545>
- Gilmer, T., Burgos, J. L., Anzaldo-Campos, M. C. y Vargas-Ojeda, A. (2019). Cost effectiveness of a technology-enhanced diabetes care management program in Mexico. *Value in Health Regional Issues*, 20, 41-46. <https://doi.org/10.1016/j.vhri.2018.12.006>
- Gobalakrishnan, R., Kulandaivelu, M., Bhuvaneswari, R., Kandavel, D. y Kannan, L. (2013). Screening of wild plants species for antibacterial activity and phytochemical analysis of *Tragia involucrata* L. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 3(6), 460-465. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2013.07.001>
- Godínez-Santillán, R. I., Chávez-Servín, J. L., García-Gasca, T. y Guzmán-Maldonado, S. H. (2019). Caracterización fenólica y capacidad antioxidante de extractos alcohólicos de hojas crudas y hervidas de *Cnidocolus aconitifolius* (Euphorbiaceae). *Acta Botanica Mexicana*, 126, 1-15. <https://doi.org/10.21829/abm126.2019.1493>
- Gonçalves, S., Moreira, E., Grosso, C., Andrade, P. B., Ventalão, P. y Romano, A. (2017). Phenolic profile, antioxidant activity and enzyme inhibitory activities of extracts from aromatic plants used in Mediterranean diet. *Journal of Food Science and Technology*, 54, 219-227. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2453-z>
- Gupta, S. S. (1994). Prospects and perspectives of natural plants products in medicine. *Indian Journal of Pharmacology*, 26(1), 1-12
- Hamidi, M. R., Jovanova, B. y Kadifkova, T. P. (2014). Toxicological evaluation of the plant products using brine shrimp (*Artemia salina* L.) model. *Macedonian pharmaceutical bulletin*, 60(1), 9-18
- Hernández, R. J. y Licea, P. M. E. (2010). Papel del ejercicio físico en las personas con diabetes mellitus. *Revista Cubana de Endocrinología*, 21(2), 182-201

- Hernández-Ocuna, L., De la Cruz-Galicia, M. G., González-Zavala, M. A., Terrazas-Flores, J. J., López-López, L. I. y Silva-Belmares, S. Y. (2014). Potencial farmacológico de triterpenos presentes en fracciones sólido-líquido de *Euphorbia hyssopifolia* L. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 6(11), 22-27.
- Hosahally, R. V., Seru, G., Sutar, P., Joshi, V., Sutar, K. y Karigar, A. (2012). Phytochemical and pharmacological evaluation of *Tragia cannabina* for anti-inflammatory activity. *International Current Pharmaceutical Journal*, 1(8), 213-216. <https://doi.org/10.3329/icpj.v1i8.11253>
- Igbinsola, O. O., Igbinsola, I. H., Chigor, V. N., Uzunigbe, O. E., Oyedemi, S. O., Odjadjare, E. E., Okoh, A. I., e Igbinsola, E. O. (2011). Polyphenolic contents and antioxidant potential of stem bark extracts from *Jatropha curcas* (Linn). *International Journal of Molecular Sciences*, 12, 2958–2971. <https://doi.org/10.3390/ijms12052958>
- INEGI. (2009). *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Tierra Blanca, Guanajuato*. [http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos\\_geograficos/11/11040.pdf](http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/11/11040.pdf)
- INEGI. (2010a). Mapa de Estados Unidos Mexicanos – División Estatal [mapa]. Geoportal. [http://cuentame.inegi.org.mx/mapas/pdf/nacional/div\\_territorial/nacionalestados\\_sn.pdf](http://cuentame.inegi.org.mx/mapas/pdf/nacional/div_territorial/nacionalestados_sn.pdf)
- INEGI. (2010b). Mapa de Guanajuato – División Municipal [mapa]. Geoportal. [http://cuentame.inegi.org.mx/mapas/pdf/entidades/div\\_municipal/gtomprios.pdf](http://cuentame.inegi.org.mx/mapas/pdf/entidades/div_municipal/gtomprios.pdf)
- Jaramillo, J. C., Jaramillo, E. A., D'Armas, H., Troccoli, L. y Rojas, A. L. (2016). Concentraciones de alcaloides, glucósidos cianogénicos, polifenoles y saponinas en plantas medicinales seleccionadas en Ecuador y su relación con la toxicidad aguda contra *Artemia salina*. *Revista de Biología Tropical*, 64(3), 1171-1184

- Joshi, A. R. y Joshi, K. (2000). Indigenous knowledge and uses of medicinal plants by local communities of the Kali Gandaki Watershed Area, Nepal. *Journal of Ethnopharmacology*, 73, 175-183.
- Juárez-Rosete, C. R., Aguilar-Castillo, J. A., Juárez-Rosete, M. E., Bugarín-Montoya, R., Juárez-López, P. y Cruz, C. E. (2013). Hierbas aromáticas y medicinales en México: tradición e innovación. *Revista Bio Ciencias*, 2(3), 119-129
- Khatun, A., Rahman, M., Akter, A., Islam, S., Akter, M. y Kabir, S. (2014). Bioactivity of the bark of *Macaranga indica* Wight IC (Euphorbiaceae). *World Journal of Pharmaceutical Research*, 3(10), 172-182
- Koffuor, G. A., Woode, E. y Amoateng, P. (2011). Hypoglycaemic activity of *Tragia tennifolia* (Euphorbiaceae) extract in rats. *International Journal of Pharmacology*, 7(6), 704-709. <https://doi.org/10.3923/ijp.2011.704.709>
- Kooti, W., Farokhipour, M., Asadzadeh, Z., Ashtary-Larky, D. y Asadi-Samani, M. (2016). The role of medicinal plants in the treatment of diabetes: a systematic review. *Electronic Physician*, 8(1), 1832-1842. <https://doi.org/10.19082/1832>
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R. y Nithyanandam, R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing*, 89(3), 217-233. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.04.008>
- Kubitzki, K. (Ed.) (2014). *The Families and Genera of Vascular Plants* (vol. 11). Springer. pp. 150-151. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-39417-1>
- Kuete, V., Sandjo, L. P., Mbaveng, A. T., Seukep, J. A., Ngadjui, B. T. y Efferth, T. (2015). Cytotoxicity of selected Cameroonian medicinal plants and *Nauclea pobeguini* towards multi-factorial drug-resistant cancer cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15, 309. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0841-y>
- Loarca-Piña, G., Mendoza, S., Ramos-Gómez, M. y Reynoso, R. (2010). Antioxidant, antimutagenic, and antidiabetic activities of edible leaves from *Cnidocolus chayamansa* Mc. Vaugh. *Journal of Food Science*, 75(2), H68–H72. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01505.x>



- Lot, A. y Chiang, F. (1986). *Manual de herbario: Administración y manejo de colecciones, técnicas de recolección y preparación de ejemplares botánicos*. Consejo Nacional de la Flora de México A. C.
- Martínez, A. M. Á. (1994). Estado actual de las investigaciones etnobotánicas en México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 55, 65-74. <https://doi.org/10.17129/botsci.1450>
- Marzuki, A., Rahman, L. y Mamada, S. S. (2019). Toxicity test of stem bark extract of banyuru (*Pterospermum celebicum* miq.) using BSLT (brine shrimp lethality test) and cream irritation test. *Journal of Physics: Conference Series*, 1341, 1-8. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1341/7/072018>
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E. y McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45(5), 31–34. <https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>
- Monroy, R. y Ayala, I. (2003). Importancia del conocimiento etnobotánico frente al proceso de urbanización. *Etnobiología*, 3(1), 79-92
- Mosquera, O. M., Cortes, Y. J., Ríos, A. M., y Niño, J. (2015). Determination of the antioxidant and antifungal activities of twelve plants belonging to the Colombian coffee region. *Revista Tumbaga*, 2(10), 15-33
- Muñoz, J. A. M., Ramos-Escudero, D. F., Alvarado-Ortiz, U. C. y Castañeda, C. B. (2007). Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 73(3), 142-149
- Mwine, T. J. y Van Damme, P. (2011). Why do Euphorbiaceae tick as medicinal plants? A review of Euphorbiaceae family and its medicinal features. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(5), 652-662
- Ochwang'i, D. O., Kimwele, C. N., Oduma, J. A., Gathumbi, P. K., Mbaria, J. M. y Kiama, S. G. (2014). Medicinal plants used in treatment and management of cancer in Kakamega County, Kenya. *Journal of Ethnopharmacology*, 151(3), 1040–1055. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.11.051>

- Osuna, T. L., Tapia, P. M. E. y Aguilar, C. A. (2005). *Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales: estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico*. Publicacions i Edicions de la Universitat de Barcelona. pp. 16.
- Panda, D., Dash, S. K. y Dash, G. K. (2012). Phytochemical examination and antimicrobial activity of various solvent extracts and the selected isolated compounds from roots of *Tragia involucrata* Linn. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 4(1), 44-48.
- Reddy, B. S., Rao, N. R., Vijeepallam, K. y Pandey, V. (2017). Phytochemical, pharmacological and biological profiles of *Tragia* species (Family: Euphorbiaceae). *African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines*, 14(3), 105-112. <https://doi.org/10.21010/ajtcam.v14i3.11>
- Reen-Yen, K., Fang-Rong, C. y Yang-Chang, W. (2002). Chemical constituents and their pharmacological activities from formosan annonaceous plants. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, 54(3), 155-173
- Reyes, S. F. A., Pérez, Á. M. L., Alfonso, F. E., Ramírez, E. M., y Jiménez, R. Y. (2016). Tratamiento actual de la diabetes mellitus tipo 2. *Correo Científico Médico*, 20(1), 98-121
- Rivas-Morales, C., Oranday-Cárdenas, M. A., y Verde-Star, M. J. (eds.). (2016). *Investigación en plantas de importancia médica*. OmniaScience. pp. 56-57. <https://doi.org/10.3926/oms.313>
- Rodríguez, B. R. Á., Reynales, S. L. M., Jiménez, R. J. A., Juárez, M. S. A. y Hernández, Á., M. (2010). Costos directos de atención médica en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 en México: análisis de microcosteo. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 28(6), 412-420
- Rojas-Martínez, R., Basto-Abreu, A., Aguilar-Salinas, C. A., Zárate-Rojas, E., Villalpando, S. y Barrientos-Gutiérrez, T. (2018). Diabetes por diagnóstico previo en México. *Salud Pública de México*, 60(3), 224-232. <https://doi.org/10.21149/8566>

- Romero, M. U. (2016). Caldos para el Xont'e. La territorialidad simbólica como reto legislativo en Guanajuato. *Acta Universitaria*, 26(NE-2), 109-118. <https://doi.org/10.15174/au.2016.1453>
- Romo de Vivar, A. (1985). *Productos naturales de la flora mexicana*. Limusa.
- Rzedowski, G. C. de y Rzedowski, J. (2005). *Flora fanerogámica del Valle de México* (2ª ed.). Instituto de Ecología A. C.; Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. p. 369
- Secretaría de Desarrollo Social y Humano. (2012). *Perfil Económico de Tierra Blanca. México: Gobierno del Estado*. [https://portalsocial.guanajuato.gob.mx/sites/default/files/documentos/2012\\_SEDES\\_HU\\_Perfil%20Economico%20Tierra%20Blanca-1.pdf](https://portalsocial.guanajuato.gob.mx/sites/default/files/documentos/2012_SEDES_HU_Perfil%20Economico%20Tierra%20Blanca-1.pdf)
- Sellappan, S., Akoh, C. C. y Krewer, G. (2002). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8), 2432–2438. <https://doi.org/10.1021/jf011097r>
- Scali, J. J. (2018). Futuro en el tratamiento a nuevos blancos de enfermedades reumáticas autoinmunes. *Autoinmunidad*, 3(7), 45-52
- Sharma, N. K., Dey, S., y Prasad, R. (2007). In vitro antioxidant potential evaluation of *Euphorbia hirta* L. *Pharmacologyonline*, 1, 91-98
- Silverstein, R. M., Webster, F. X. y Kiemle, D. J. (2005). *Spectrometric identification of organic compounds* (7ª ed.). John Wiley and Sons, Inc.
- Sindhura, S. y Eswaraiah, M. C. (2017). Comparative evaluation of crude extract fractions of the whole plant of *Taxillus heyneanus* and *Dalechampia indica* for antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content. *IOSR Journal Of Pharmacy*, 7(5), 53-60
- Singh, R. (2015) Medicinal Plants: A Review. *Journal of Plant Sciences*, 3(1-1), 50-55. <https://doi.org/10.11648/j.jps.s.2015030101.18>
- Sivajothi, V. y Dakappa, S. S. (2014). In vitro and in silico antidiabetic activity of pyran ester derivative isolated from *Tragia cannabina*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(s1), S455–S459. <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014C1049>

- Stanley, A. L., Charles, A., Ramani, V. A. y Ramachandran, A. (2012). Phytochemical and spectral study of the medicinal plant: *Tragia plukenetii*. *Journal of Pharmacy Research*, 5(3), 1701-1703.
- Steinmann, V. W. (2002). Diversidad y endemismo de la familia Euphorbiaceae en México. *Acta Botánica Mexicana*, (61), 61-93.
- Sulaiman, C. T. y Balachandran, I. (2016). LC/MS characterization of antioxidant flavonoids from *Tragia involucrata* L. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(3), 231-235. <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2016.06.001>
- Surveswaran, S., Cai, Y., Corke, H. y Sun, M. (2007). Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry*, 102(3), 938-953. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.033>
- Swamy, A., Ngule, M. C. y Obey, K. J. (2014). In vitro antibacterial activity of methanolic-aqua extract of *Tragia brevipes* leaves. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, 5(2), 3289-3294
- Tabuti, J. R. S., Kukunda, C. B. y Waako, P. J. (2010). Medicinal plants used by traditional medicine practitioners in the treatment of tuberculosis and related ailments in Uganda. *Journal of Ethnopharmacology*, 127, 130–136. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.09.035>
- Tropicos. (2020). *Tragia nepetifolia* Cav. <http://tropicos.org/Name/12805050?tab=distribution>
- Urtecho, R. J. (2019). *Tragia nepetifolia* [imagen de archivo]. Flora of North America Association. [http://beta.floranorthamerica.org/File:FNA12\\_P23\\_Adelia\\_vaseyi.jpeg](http://beta.floranorthamerica.org/File:FNA12_P23_Adelia_vaseyi.jpeg)
- Velázquez, M. A. M., Reyes, T. B., Álvarez, M. J. G. y Rodríguez-de la O, J. L. (2013). Efecto hipoglucémico de extractos de *Acrocomia mexicana* en ratas Wistar. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 44(1), 39-44
- Venkatrao, N., Benoy, K., Hemamalini, K., Shanta, K. S. M., y Satyanarayana, S. (2007). Anti-diabetic activity of root extracts of *Tragia involucrata*. *Pharmacologyonline*, 2, 236-244
- Vermeris, W. y Nicholson, R. (2008). *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer. p. 152. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5164-7\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5164-7_3)

- Vijayakumar, R. y Raja, S. S. S. (Eds.). (2018). *Secondary metabolites: sources and applications*. IntechOpen. pp. 4-6. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71955>
- Vuong Q. V. (Ed.). (2017). *Utilisation of bioactive compounds from agricultural and food production waste*. Taylor & Francis Group. p. 28
- Wiart, C. (2006). *Medicinal plants of Asia and the Pacific*. Taylor & Francis Group. p. 163
- Zamora, S. J. D. (2007). Antioxidantes: Micronutrientes en lucha por la salud. *Revista chilena de nutrición*, 34(1), 17-26. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182007000100002>
- Zdanski, S. A. D., Costa, M. M., Fragoso, H. G., Melo, S. M., Ceolin, T. y Heck, R. M. (2013). Menstrual cramps: A new therapeutic alternative care through medicinal plants. *Health*, 5(7), 1106-1109. <https://doi.org/10.4236/health.2013.57149>
- Zheleva-Dimitrova, D., Zhelev, I. y Dimitrova-Dyulgerova, I. Antioxidant activity of some *Carduus* species growing in Bulgaria. *Free Radicals and Antioxidants*, 1(4), 15-20. <https://doi.org/10.5530/ax.2011.4.4>
- Zhang, X. (2019). *OMS - Medicina tradicional: definiciones*. [https://www.who.int/topics/traditional\\_medicine/definitions/es/](https://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/)

## 11.APÉNDICES

### 11.1. Apéndice 1

- ¿Qué edad tiene? \_\_\_\_\_
- ¿Conoce la planta que se le muestra? Si / No
- ¿Con qué nombre la conocen? \_\_\_\_\_
- ¿Esta planta cura alguna enfermedad? Si / No
- ¿Qué enfermedad cura? \_\_\_\_\_
- ¿Cómo supo que esta planta es curativa? \_\_\_\_\_
- ¿Usted cree que la planta cura? Si / No
- ¿Usted ha utilizado la planta? Si / No
- ¿Dónde obtienen esta planta? \_\_\_\_\_
- Es cultivada, recolectada o comprada \_\_\_\_\_
- ¿Qué partes de la planta son utilizadas? \_\_\_\_\_
- ¿Se utiliza sola o combinada con otras plantas? \_\_\_\_\_
- ¿Cómo se consume o utiliza? \_\_\_\_\_
- ¿La planta está disponible todo el año? \_\_\_\_\_