



---

---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

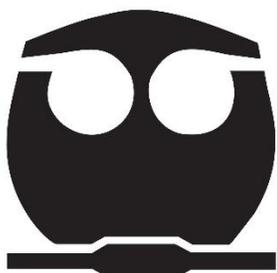
**FACULTAD DE QUÍMICA**

**Estudio químico de la especie medicinal *Justicia spicigera* Schltdl.  
(Acanthaceae).**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA  
YULLET ITZEL MONTAÑO CRUZ**



**Ciudad Universitaria, CD. MX.**

**AÑO 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.

## JURADO ASIGNADO

**PRESIDENTE:** Dra. María Isabel Aguilar Laurents  
**VOCAL:** Dr. Rogelio Gregorio Pereda Miranda  
**SECRETARIO:** Dra. Araceli Pérez Vásquez  
**1er. SUPLENTE:** Dra. Isabel del Carmen Rivero Cruz  
**2° SUPLENTE:** Dr. Mario Alberto Figueroa Saldívar

### SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**LABORATORIO 124, DEPARTAMENTO DE FARMACIA, CONJUNTO E, FACULTAD DE QUÍMICA,  
UNAM.**

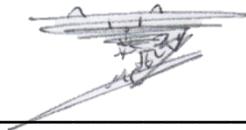
ASESOR DEL TEMA:



---

DRA. ARACELI PÉREZ VÁSQUEZ

SUSTENTANTE (S):



---

YULIET ITZEL MONTAÑO CRUZ

## Agradecimientos

El presente trabajo se realizó gracias al apoyo económico de los proyectos DGAPA PAPIIT IN217320, CONACyT CB A1\_S\_11226 y PAIP-UNAM 5000-9140, de los cuales es responsable la Dra. Rachel Mata Essayag.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química por haberme abierto las puertas y apoyado con mi preparación académica y profesional.

A la Dra. Rachel Mata Essayag por haberme dado la oportunidad de incorporarme en su grupo de trabajo, por el apoyo y el tiempo proporcionado para este proyecto.

A la Dra. Isabel del Carmen Rivero Cruz por su apoyo y asesoría técnica durante el desarrollo de este proyecto.

Agradezco especialmente a mi tutora, la Dra. Araceli Pérez Vásquez, por su tiempo, paciencia y dedicación, por transmitirme parte de sus conocimientos y guiarme en mi desarrollo tanto personal como profesional, muchas gracias Doctora.

A los miembros de mi Jurado, la Dra. María Isabel Aguilar Laurents y el Dr. Dr. Rogelio Gregorio Pereda Miranda, por sus valiosos comentarios y correcciones a este trabajo, enriqueciendo la versión final del mismo.

Al Dr. Rafael Torres Colín del Instituto de Biología-UNAM por la identificación taxonómica de la especie *Justicia spicigera*.

Al personal de la Unidad de Servicio de Apoyo a la Investigación y a la Industria (USAII) de la Facultad de Química de la UNAM: Q. Georgina Duarte Lisci por el registro de los espectros de Masas, Q.F.B. Marisela Gutiérrez, por el registro de los espectros de UV e IR, M. en C. Rosa Isela del Vilar y M. en C. Nayeli Lopez Balbiaux por el registro de los espectros de RMN.

A los chicos y chicas del laboratorio 124, gracias por su ayuda y sus consejos los admiro mucho por quienes son y por lo que han logrado.

A mi mejor amigo Daniel, por apoyarme y ayudarme cuando caía, por ser ese amigo, compañero y mi rival académico, gracias.

A mis mejores amigas Candy y “Lily”, porque me escucharon y apoyaron cuando estaba en momentos malos, gracias por sus consejos y por su amistad. Las quiero mucho.

A mis amigos Rocío, Eduardo, “Joss”, Francisco y “Karlita”, porque ustedes me brindaron de su apoyo cuando estaba en apuros, gracias por esas risas y consejos.

Y por último gracias a todas aquellas personas con las que el destino me permitió cruzarme, porque sea bueno o malo, cada uno me dio un aprendizaje.

## **Dedicatorias**

A Dios por darme la fuerza, voluntad y entendimiento para poder llevar a cabo todo este proceso, gracias por brindarme de tu paciencia y apoyarme en los momentos tan duros que atravesé para poder llegar aquí. Pero principalmente muchas gracias por tu amor, guía y sabiduría sé que aún tienes más proyectos para mí.

A mi mami y papi, Rosa Elia y Francisco Javier, por los regaños y felicitaciones, porque sé que muchas de ellas fueron para que pudiera seguir adelante y no me rindiera, gracias por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, pero sobre todo gracias por apoyarme incondicionalmente, por escucharme y siempre estar ahí cuando más lo necesitaba, gracias por confiar en mí. Los amo demasiado.

A mi hermano Francisco, porque, aunque muchas veces estábamos enojados nunca me dejaste sola, muchas gracias por tus consejos y todo tu apoyo has sido una de las principales personas involucradas en ayudarme a que este proyecto fuera posible. Te quiero mucho hermanito.

A mis abuelitos, gracias por siempre apoyarme en todo momento, por sus sabios consejos, por cuidarme y no dudar de mí. Siempre estarán presente, los quiero mucho.

A mis tíos “Mary” y Roberto, por brindarme su apoyo y ayuda en todo momento, muchas gracias a mis primos y especialmente gracias tía por tus sabios consejos, los quiero mucho.

A mis mejores amigos de la Facultad Erick y Brenda, por esos momentos dentro de la escuela, por el apoyo y la unión en los trabajos en equipo, pero sobre todo gracias por las risas, los consejos, los regaños, por esos momentos que ahora son un tesoro invaluable. Los aprecio mucho.

A Carlos, por ayudarme, apoyarme, preocuparte por mi porvenir y aconsejarme en las malas rachas, gracias por las risas, pero sobre todo gracias por escucharme, ser atento y por estar presente en todo momento. Te amo y aprecio demasiado.

***“Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la electricidad y la energía atómica: La voluntad” Albert Einstein***

## Índice

<b>I. Lista de abreviaturas .....</b>	<b>I</b>
<b>II. Lista de figuras .....</b>	<b>II</b>
<b>III. Lista de cuadros .....</b>	<b>III</b>
<b>V. Lista de tablas.....</b>	<b>IV</b>
<b>VI. Lista de espectros .....</b>	<b>V</b>
<b>1. Resumen.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Antecedentes .....</b>	<b>2</b>
2.1 Datos históricos de <i>Justicia spicigera</i> .....	2
2.2 Taxonomía del género <i>Justicia</i> .....	6
2.3 Taxonomía y etnobotánica de <i>Justicia spicigera</i> .....	8
2.3 Algunas actividades farmacológicas .....	12
2.3.1 Actividad anti-obesidad.....	14
2.3.2 Actividad antidiabética .....	15
2.3.3 Actividad antihipertensiva.....	17
2.3.4 Actividad antiinflamatoria .....	18
2.3.5 Actividad antinociceptiva .....	20
2.3.6 Actividad ansiolítica.....	22
2.3.7 Actividad antibacteriana .....	24
2.3.8 Actividad antiprotozoaria .....	25
2.4 Composición química de <i>Justicia spicigera</i> .....	27
<b>3. Planteamiento del problema .....</b>	<b>29</b>
<b>4. Justificación .....</b>	<b>31</b>
<b>5. Objetivos .....</b>	<b>32</b>
5.1 Objetivo general.....	32
5.2 Objetivos particulares .....	32
<b>6. Procedimientos experimentales .....</b>	<b>33</b>
6.1 Material vegetal.....	33
6.2 Procedimientos generales.....	33
6.2.1 Análisis cromatográficos.....	33
6.2.2 Determinación de constantes espectroscópicas y espectrométricas.....	34
6.3 Preparación de la Fracción de AcOEt.....	34

6.4 Aislamiento de la canferitrina (1) .....	35
6.5 Aislamiento de la Mohuitlinona (7) .....	36
<b>7. Resultados y Discusión.....</b>	<b>38</b>
7.1 Elucidación estructural de la canferitrina (1).....	40
7.2 Elucidación estructural de la Mohuitlinona (7).....	45
7.3 Análisis cromatográfico y por RMN <sup>1</sup> H de la Fracción de AcOEt y de la infusión..	53
7.4 Análisis por cromatografía en capa delgada .....	55
<b>8. Conclusiones .....</b>	<b>57</b>
<b>9. Perspectivas.....</b>	<b>58</b>
<b>10. Referencias .....</b>	<b>59</b>
<b>11. Anexos.....</b>	<b>67</b>

## I. Lista de abreviaturas

Abreviatura	Significado
<b>AgNP</b>	Nanopartículas de Plata
<b>AcOEt</b>	Acetato de etilo
<b>CCA</b>	Cromatografía en Columna Abierta
<b>CCD</b>	Cromatografía en Capa Delgada
<b>CDMX</b>	Ciudad de México
<b>CHCl<sub>3</sub></b>	Cloroformo
<b>CLAE</b>	Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia
<b>COX</b>	Ciclooxigenasa
<b>EtOH</b>	Etanol
<b>FHEUM</b>	Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos
<b>GABA</b>	Sistema ácido γ-aminobutírico
<b><i>G. duodenalis</i></b>	<i>Giardia duodenalis</i>
<b><i>G. lamblia</i></b>	<i>Giardia lamblia</i>
<b>HAS</b>	Hipertensión arterial sistémica
<b>H<sub>2</sub>O<sub>dd</sub></b>	Agua destilada
<b>HPLC</b>	Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución
<b>IDF</b>	Federación Internacional de Diabetes (International Diabetes Federation)
<b>IR</b>	Infrarrojo
<b>IL</b>	Interleucina
<b>IMC</b>	Índice de Masa Corporal
<b>INF</b>	Interferon
<b><i>J. diffusa</i></b>	<i>Justicia diffusa</i>
<b><i>J. flava</i></b>	<i>Justicia flava</i>
<b><i>J. procumbens</i></b>	<i>Justicia procumbens</i>
<b><i>J. spicigera</i></b>	<i>Justicia spicigera</i> Schltld. (Acanthaceae)
<b>KCl</b>	Cloruro de potasio
<b><i>L. mexicana</i></b>	<i>Leishmania mexicana</i>
<b>L-NAME</b>	N-nitro-L-arginina
<b>MeOH</b>	Metanol
<b>MEXU</b>	Herbario Nacional de México
<b>Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Sulfato de sodio
<b>NK</b>	Células natural killer
<b>NOM</b>	Norma Oficial Mexicana
<b>NF-κB</b>	Factor nuclear kappa B
<b>RMN</b>	Resonancia Magnética Nuclear
<b>OMS/WHO</b>	Organización Mundial de la Salud / World Health Organization
<b>TNFα</b>	Factor de necrosis tumoral α
<b>UV/Vis</b>	Luz ultravioleta/visible

## II. Lista de figuras

	Página
<b>Figura 1.</b> Mohuitli. <i>Jacobinia spicigera</i> (Schl.).	2
<b>Figura 2.</b> <i>Justicia coccinea</i> .	3
<b>Figura 3.</b> Imagen del muicle tomada de: Thomas, 1866	5
<b>Figura 4.</b> <i>Justicia spicigera</i> Schltld. (Acanthaceae)	9
<b>Figura 5.</b> Mapa de distribución de usos etnomédicos en México, y nombres conocidos en lenguas indígenas que han sido documentados para <i>J. spicigera</i> .	11
<b>Figura 6.</b> Actividades farmacológicas demostradas para <i>Justicia spicigera</i>	14
<b>Figura 7.</b> Diagrama general para la preparación de la fracción de AcOEt	35
<b>Figura 8.</b> Diagrama del Fraccionamiento secundario de la fracción de AcOEt por columna con Sephadex LH-20	36
<b>Figura 9.</b> Diagrama del Fraccionamiento secundario de la fracción de AcOEt por columna abierta con Gel de sílice como fase estacionaria	37
<b>Figura 21.</b> Fármaco Tirofona (7-Bis[2-(diethylamino)ethoxy]-9H-fluoren-9-one)	52
<b>Figura 24.</b> Cromatograma por CLAE-PDA de la fracción de AcOEt obtenida de la infusión de <i>J. spicigera</i> . <b>7</b> : canferitrina; <b>DK</b> : análogo de canferitrina; Ver condiciones en Parte Experimental. $\lambda = 275$ nm.	55
<b>Figura 25.</b> Cromatograma po CCD de la fracción de AcOEt y compuestos aislados de <i>J. spicigera</i>	56

### III. Lista de cuadros

IV.		Página
<b>Cuadro 1.</b>	Especies del género <i>Justicia</i> distribuidas en México	7
<b>Cuadro 2.</b>	Clasificación botánica de la especie <i>Justicia spicigera</i>	9
<b>Cuadro 3.</b>	Sinonimias de la especie <i>Justicia spicigera</i>	10
<b>Cuadro 4.</b>	Algunos usos etnomédicos actuales en México de <i>Justicia spicigera</i>	12

## V. Lista de tablas

	Página
<b>Tabla 1.</b> Actividades farmacológicas de <i>Justicia spicigera</i>	13
<b>Tabla 2.</b> Clasificación por cifras de la Hipertensión Arterial Sistémica	18
<b>Tabla 3.</b> Metabolitos aislados de <i>J. spicigera</i>	28
<b>Tabla 4.</b> Metabolitos aislados de la infusión de <i>J. spicigera</i> (muitle)	39
<b>Tabla 5.</b> Datos de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, Metanol-d <sub>4</sub> ) y <sup>13</sup> C (100 MHz, Methanol-d <sub>4</sub> ) de <b>1</b>	42
<b>Tabla 6.</b> Datos de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, Metanol-d <sub>4</sub> ) y <sup>13</sup> C (100 MHz, Methanol-d <sub>4</sub> ) de <b>7</b>	47
<b>Tabla 7.</b> Ejemplo de fluorenonas de origen natural.	51

## VI. Lista de espectros

	Página
<b>Figura 10.</b> Espectro de masas por Electropray (ESI-EM), modo negativo de la canferitrina (1)	40
<b>Figura 11.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CH}_3\text{OH-d}_4$ ) del compuesto 1	43
<b>Figura 12.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, $\text{CH}_3\text{OH-d}_4$ ) del compuesto 1	43
<b>Figura 13.</b> Algunas correlaciones detectadas a larga distancia en el espectro HMBC (H $\rightarrow$ C) del compuesto 7	47
<b>Figura 14.</b> Espectro de masas (HR-APCI modo positivo) del compuesto 7	48
<b>Figura 15.</b> Espectro de UV/vis (disolvente: MeOH) del compuesto 7	48
<b>Figura 16.</b> Espectro de IR (FTIR-ATR) del compuesto 7.	49
<b>Figura 17.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CH}_3\text{OH-d}_4$ ) del compuesto 7.	49
<b>Figura 18.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, Metanol- $\text{d}_4$ ) del compuesto 7.	50
<b>Figura 19.</b> Espectro HMBC (H $\rightarrow$ C) del compuesto 7.	50
<b>Figura 20.</b> Espectro NOESY (H $\rightarrow$ H, espacial) del compuesto 7	51
<b>Figura 22.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{DMSO-d}_6$ ) de la fracción de acetato de etilo (5 mg/0.7 mL)	54
<b>Figura 23.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{DMSO-d}_6$ ) de la infusión seca (extracto acuoso seco; 5 mg/0.7 mL)	54
<b>Figura 26.</b> Espectro de Infrarrojo (FTIR-ATR) de la canferitrina (1)	ANEXO
<b>Figura 27.</b> Espectro HSQC (400 MHz, $\text{CH}_3\text{OH-d}_4$ ) de la canferitrina (1)	ANEXO
<b>Figura 28.</b> Espectro HMBC (400 MHz, $\text{CH}_3\text{OH-d}_4$ ) de la canferitrina (1)	ANEXO
<b>Figura 29.</b> Espectro COSY (H $\rightarrow$ H) (400 MHz, $\text{CH}_3\text{OH-d}_4$ ) de la canferitrina (1)	ANEXO

## 1. Resumen

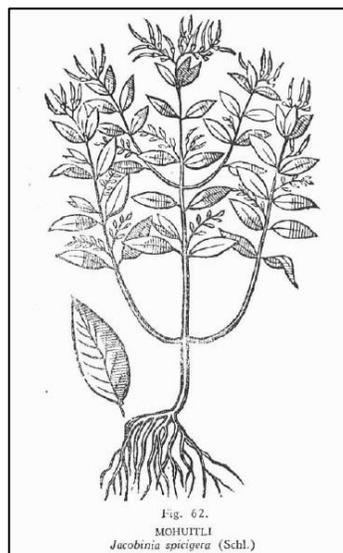
*Justicia spicigera* es una especie muy valorada dentro de la medicina tradicional de México ya que cuenta con más de 50 usos etnomédicos documentados, tanto para padecimientos relacionados con síndromes de filiación cultural, tal es el caso del tlazol, como para enfermedades con sintomatologías muy bien definidas como diabetes, hipertensión, epilepsia, entre otros. También, destaca su uso como planta tintórea, siendo considerada algunas veces sustituto del añil. *J. spicigera* se encuentra distribuida a lo largo y ancho del territorio mexicano, ya que crece en una amplia variedad de ambientes y regiones geográficas, aunque su hábitat natural son las zonas cálidas y templadas de nuestro país, así como el centro y sur de América. Su nombre en náhuatl es “mohuitli” que significa “hierba que se bebe”. De este aztequismo derivan los nombres vernáculos con los que se conoce actualmente: muicle o muiltle, que son los que finalmente pasaron a formar parte de todos los documentos novohispanos. Su importancia es tal, que hasta la fecha se le han realizado varios ensayos farmacológicos con la finalidad de comprobar algunas de sus propiedades terapéuticas, lo que ha permitido validar su uso para la diabetes, la hipertensión, contra la ansiedad, espasmolítica, antiparasitaria, por mencionar algunas. La mayoría de estos estudios se han realizado usando extractos hidroalcohólicos y se ha sugerido que la actividad está relacionada a la presencia de la canferitrina, un flavonol diglicosilado con dos residuos de ramnosa. Sin embargo, hasta la fecha este compuesto no se ha identificado o aislado del preparado tradicional de mayor uso que es la infusión, lo que permitiría confirmar que, efectivamente es el principal compuesto activo de la planta. En este contexto, este trabajo estuvo encaminado a dar a conocer de manera parcial, la composición química del extracto acuoso obtenido por infusión. Los resultados de esta investigación permitieron aislar dos metabolitos puros, los cuales a partir de la aplicación de técnicas espectroscópicas y espectrométricas, se pudo determinar que uno de ellos corresponde a la canferitrina (**1**); el otro es un compuesto de tipo fluorenona, el cual se le dio el nombre de mohuitlinona (**7**). Este último es una entidad química nueva.

## 2. Antecedentes

### 2.1 Datos históricos de *Justicia spicigera*

El uso de *J. spicigera* ha sido documentado desde la época de la colonia. Así, en algunos documentos novohispanos se hace mención de ella, ya sea como una planta medicinal, o como planta tintórea. Posiblemente, quien describió e identificó por primera vez con cierta certeza a la planta fue el protomédico Francisco Hernández quien, entre los años de 1572 y 1576 en su escrito denominado “Historia Natural de Nueva España”, hace referencia a ella como “mohuitli” o hierba purpurea y describió que se usaba para tratar la sarna, flujo menstrual excesivo, entre otros, y menciona:

“Es una hierba con raíces ramificadas, de donde nacen tallos de dos palmos, sarmentosos, torcidos, cilíndricos y flores escarlatas alargadas: hojas como de hierba mora algo blanquecinas por debajo, que tienen un sabor exactamente como de pepino. Es de naturaleza fría o templada, y glutinosa. Cura las disenterías y detiene el flujo menstrual excesivo tomando cuantas veces sea necesario el agua donde se haya remojado, machacada, por algún tiempo; cura la sarna, y tiñe las lanas de color purpura. Nace en los lugares planos o en las alturas de *Hoaxtépec*. No debe pasar inadvertido en esta planta, que a uno y otro lado del nacimiento de las hojas brotan pequeñas ramitas o apéndices llenos de otras hojillas como de ciprés, aunque más pequeñas y delgadas. Tal es la exuberancia y variedad de esta naturaleza lujuriosa” (Hernández, 2015).



**Figura 1.** Mohuitli. *Jacobinia spicigera* (Schl.). Ilustración tomada de (<http://www.ibiologia.unam.mx/plantasnuevaespana/pdf/>)

Algunos de los usos mencionados por F. Hernández siguen vigentes hasta la fecha, como es el caso de la disentería y el flujo abundante de la menstruación (ver Cuadro 4). Posteriormente, en la obra botánica conocida como *Plantae Novae Hispaniae* que contiene el listado florístico de lo que fue la Real Expedición Botánica y que realizaron el botánico español Martín de Sessé y el naturalista novohispano, José Mariano Mociño entre 1787 y 1803, se menciona también a la especie *J. spicigera*. Ellos la nombraron como *Justicia coccinea*, que es el homónimo de *Pachystachys coccinea*, esto posiblemente en relación al adjetivo latino “coccineo” que significa “de color escarlata” o púrpura, y que puede estar relacionado al color de las flores. En este escrito se menciona que se utilizaba para la anemia y la epilepsia, agregando también que el tinte obtenido de las hojas tenía importancia económica. Ellos también documentaron el nombre de “mohuitl” (Sessé, 1809).



**Figura 2.** *Justicia coccinea*. Ilustración tomada de la obra faccismil: *Plantae Novae Hispaniae* (Zamudio Varela, 2017)

Los usos para la anemia y la epilepsia que ellos documentaron aún persisten hasta la fecha (ver tabla 4). Posteriormente, en la obra del botánico Antonio de la Cal y Bracho publicada en 1832 y titulada “Ensayo para la Materia Médica Mexicana” se menciona al “moictle” o “mohuitli” y la nombra como *Justicia tinctoria* F.M.I, y menciona:

“Se produce en varios terrenos de la República, y se cultiva en varios jardines. Hernández la recomienda en las disenterías, en el flujo inmoderado de la menstruación y en la sarna. El padre D. Alzate publicó en las gacetas de literatura, la virtud antiopoplética de esta planta, y en el día la usan generalmente como antiepiléptica” (de la Cal, 1832).

En la primera Farmacopea Mexicana, publicada en 1846, también se menciona al muicle o muitle y se hace referencia a *Justicia salviflora* como antiespasmódica, para la cual hacen uso de sus hojas (PFM, 1846). Después, se aclara en la Nueva Farmacopea Mexicana, publicada en 1874 que *Justicia Salviaflora* es una especie usada en Jalisco. En este documento, se hace referencia al muicle como *Sericrocraphis Mointli* y menciona su uso como antidisentérico. El macerado y la infusión acuosa son de un color azul muy oscuro que asemeja al tornasol (NFM, 1874). En la tercera edición de la Nueva Farmacopea Mexicana de 1896, se hace referencia a ella como *Jacobinia Mointli* e igualmente resalta el uso como antidisentérica (NFM, 1896).

Por lo que respecta a su importancia como planta tintórea, en el “Tratado del Xiquilite y Añil de Guatemala”, escrita en 1799 por José Mariano Mociño, este hace mención de una especie, adicional al añil, cuyo pigmento también era empleado por las comunidades mayas:

“Los antiguos Mexicanos conocieron también dos plantas para extraer el tlechouhuilli o color azul una de ellas llamada Jiiuhquilitly pitzahuac es sin duda alguna la *Indigofera tinctoria*: la otra conocida con el mismo nombre y por el de jiuhihtl patlahoac es especie de género muy distinto [...] Ximenes [...] llama tlacehoili y mohuitli a la tinta azul sacada de estas especies” (Sanmartín y Quilis, 2019).

Sin embargo, es importante resaltar que en este tratado de Mociño no se detalla el nombre científico de la planta a la que se le denomina mohuitli. Para 1866, el farmacéutico francés M. Thomas realizó una expedición botánica en el estado de Veracruz e indagó sobre la forma de preparación del colorante de muicle. Los resultados de esta investigación se publicaron en el *Journal de Pharmacie et de Chimie*, donde se

menciona que la información la obtuvo de los indígenas veracruzanos (Thomas, 1866). Cabe agregar que hace mención de su uso etnomédico y al respecto describió:

“Los mestizos y los indios, que sufren los primeros síntomas de disentería, usan las hojas de una planta llamada mohitli para combatir esta enfermedad. Maceran en agua dulce las hojas frescas de la planta y obtienen, unas horas más tarde, un líquido de un hermoso violeta azul, al día siguiente toman el líquido con el estómago vacío” (Thomas, 1866).

De igual manera en el artículo se especula sobre el colorante contenido en el muicle y describe:

“Cuando interactúa el aire y el agua en la planta mohitli en fresco, forman el principio incoloro mohitlina el cual, al mezclarse con oxígeno, se convierte en una materia verde mohitléina. Esta a su vez oxida y produce ácido mohítlico, que al combinarse con las bases de las sales alcalinas contenidas en el agua o en la propia planta da lugar a la materia colorante azul, como tornasol”



**Figura 3.** Imagen del muicle tomada de: Thomas, 1866

M. Thomas menciona también que el principio colorante está muy extendido en todas las partes de la planta, excepto las flores. Por último, es importante mencionar que el uso como planta tintórea aún persiste, principalmente, en comunidades indígenas y su uso como planta tintórea no se limita al teñido de fibras o textiles, sino también a alimentos.

## 2.2 Taxonomía del género *Justicia*

Las especies de la familia Acanthaceae son plantas herbáceas, perennes o arbustos y se presentan menos frecuente como árboles o trepadoras perennes (Thomas y Acosta Castellanos, 2003). Las especies de esta familia predominan principalmente en zonas tropicales y subtropicales, teniendo como centros de diversificación las regiones indomalaya, africana (incluyendo Madagascar), sudamericana y mesoamericana que incluye México y centroamericana. La familia cuenta actualmente con unas 4000 especies registradas en aproximadamente 230 géneros (Thomas, 2004). Por lo que respecta a nuestro país, México es centro de origen de varias especies de las acantáceas con números endémicas. La familia está representada en nuestro país por alrededor de 407 especies presentes en 39 géneros (Thomas, 1999; 2004).

Dentro de la familia Acanthaceae encontramos al género *Justicia* que tiene distribución pantropical y cuenta con aproximadamente 600 especies, lo que la convierte en el género más grande de esta familia (Acosta Castellanos, 2007). En México se conocen cerca de 78 especies, pero con la exploración botánica de diversas regiones de México, se han descrito especies no reconocidas previamente en la familia, en su mayor parte de las zonas tropicales (Acosta et al., 2007).

A continuación, se presentan algunas especies de *Justicia* encontradas en México con la finalidad de mostrar la diversidad de este género. El criterio a considerar fue su descripción en las colecciones botánicas de la UNAM. De esta manera, esta información se obtuvo del Instituto de Biología (IB-UNAM). Las imágenes corresponden a ejemplares del Herbario Nacional de México (MEXU) y del banco de imágenes de la Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad (CONABIO).

**Cuadro 1.** Especies del género *Justicia* distribuidas en México

 <p><b><i>Justicia fulvicoma</i> Schtdl. &amp; Cham.</b></p>	 <p><b><i>Justicia aurea</i> Schtdl.</b></p>	 <p><b><i>Justicia salviifolia</i> Kunth</b></p>
 <p><b><i>Justicia salviiflora</i> Kunth</b></p>	 <p><b><i>Justicia breviflora</i> (Nees) Rusby.</b></p>	 <p><b><i>Justicia pilosella</i> (Nees) Hilsenb.</b></p>
 <p><b><i>Justicia pectoralis</i> Jacq.</b></p>	 <p><b><i>Justicia furcata</i> Jacq.</b></p>	 <p><b><i>Justicia carthaginensis</i> Jacq.</b></p>
 <p><b><i>Justicia longii</i> Hilsenb.</b></p>	 <p><b><i>Justicia macrantha</i> Benth.</b></p>	 <p><b><i>Justicia zopilotensis</i> Henrickson &amp; Hiriart</b></p>



### 2.3 Taxonomía y etnobotánica de *Justicia spicigera*

*Justicia spicigera* Schldl (Figura 4, Cuadro 2) es un arbusto de 1 a 1.5 m de altura, aunque a veces llega a crecer un poco más. Sus hojas son largas, las flores se encuentran en la parte terminal de la planta y son tubulares bilabiadas de color anaranjado. Presentan frutos capsulares ovoides con 2 o 4 semillas (Márquez, et al., 1999)



**Figura 4.** *Justicia spicigera* Schlttdl. (Acanthaceae)

**Cuadro 2.** Clasificación botánica de la especie *Justicia spicigera*\*

<b>Reino</b>	Plantae
<b>Phylum o división</b>	Tracheophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Lamiales
<b>Familia</b>	Acanthaceae
<b>Género</b>	<i>Justicia</i>
<b>Especie</b>	<i>Justicia spicigera</i>
<b>Nombre científico</b>	<i>Justicia spicigera</i> Schlttdl.

\*La clasificación se obtuvo del Herbario Nacional de México (MEXU) del Instituto de Biología UNAM

*J. spicigera* ha sido reconocida con otros nombres científicos, algunos de los cuales han sido muy relevantes para ubicarla históricamente. En el Cuadro 3 se presentan las distintas sinonimias para esta especie.

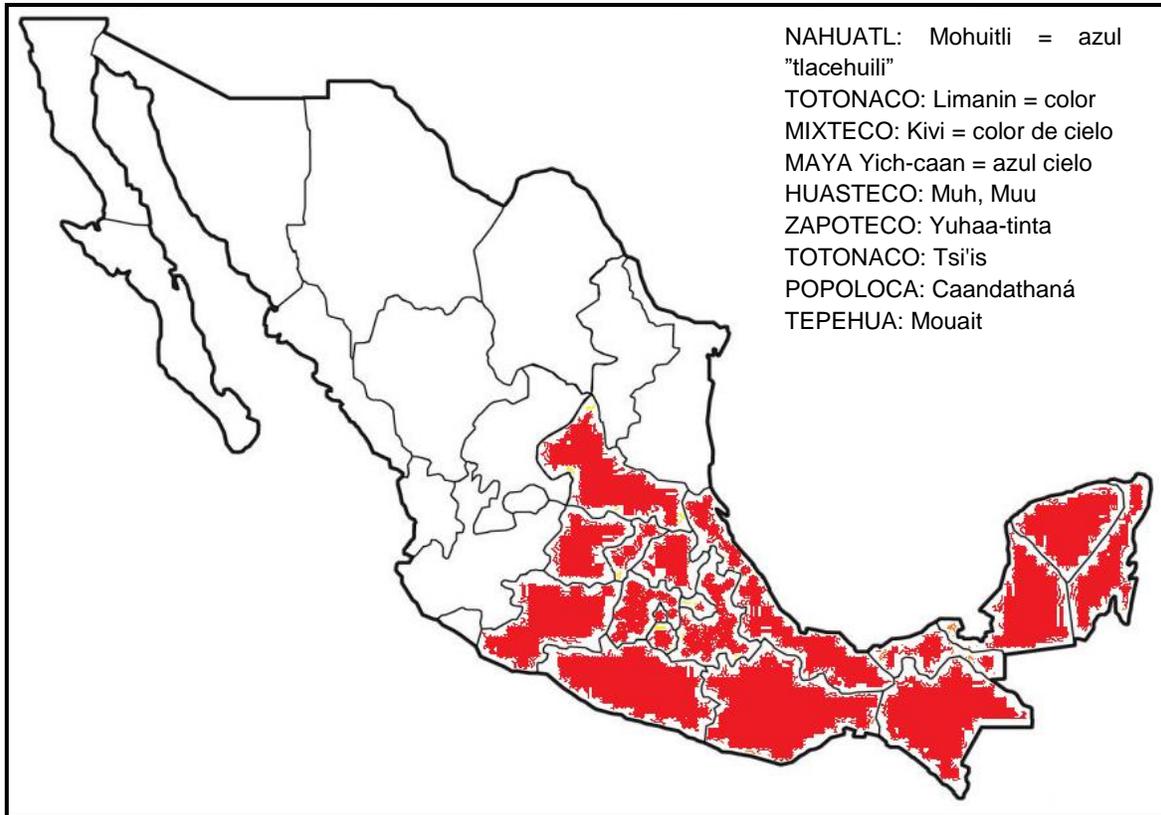
**Cuadro 3.** Sinonimias de la especie *Justicia spicigera*<sup>1</sup>

<b>Año</b>	<b>Nombre</b>
1715	<i>Jacobinia spicigera</i> (Schlecht.)
1832	<i>Justicia spicigera</i> Schlecht.
1840	<i>Justicia atramentaria</i> Benth
1847	<i>Drejera willdenoxciana</i> Nees
1847	<i>Sericographis mohintli</i> Nees
1847	<i>Justicia tinctoria</i> hort. ex Nees
1847	<i>Justicia mohintli</i> Moc. & Sessé ex Nees
1876	<i>Jacobinia mohintli</i> Benth. & Hook. f.
1878	<i>Jacobinia neglecta</i> (Oerst.) A. Gray
1882	<i>Jacobinia mohintli</i> Hemsl.
1915	<i>Jacobinia spicigera</i> (Schltdl.) L.H.Bailey
1917	<i>Jacobinia atramentaria</i> (Benth.) S.F.Blake
1917	<i>Jacobinia scarlatina</i> S.F.Blake
1988	<i>Justicia liebmanii</i> V.A.W. Graham

<sup>1</sup>Tomado de: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2330023> (julio 2020).

Cabe agregar que el nombre del género *Justicia* fue otorgado por el botánico alemán Diederich von Schlenchtendal en honor a James Justice, un horticultor escocés que vivió entre 1730 y 1763.

La especie es nativa del centro y sur de México, Belice, Guatemala, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Colombia y Honduras, comúnmente se conoce como muicle, añil de hierba, trompetilla, púrpura, micle, mohuite, muclé, muille, muitle, mozote, moytli, entre otros. En la Figura 5 se presentan alguno de los nombres en lenguas indígenas con los que es conocida. Como se observa en el mapa, su distribución geográfica en México está en acorde con los usos etnomédicos documentados en diferentes regiones (Cuadro 4).



**Figura 5.** Mapa de distribución de usos etnomédicos en México, y nombres conocidos en lenguas indígenas que han sido documentados para *J. spicigera*

Por lo que respecta a sus propiedades medicinales, la planta se usa para múltiples propósitos en diversos estados del país (Cuadro 4). Dentro de estos usos, el que más se menciona es el de ayudar a clarificar o purificar la sangre, lo que podría significar que la limpia o libera de sustancias o humores que dañan o enferman; también, su uso para la anemia se menciona en forma recurrente. Es interesante ver que la disentería y el flujo menstrual abundante, que eran usos documentados desde la época de la colonia, persisten hasta nuestros días. También, la propiedad como antiepiléptica, documentada por Antonio de la Cal y Bracho en su *Materia Medica* (1832), sigue estando vigente y, como vemos, se han sumado más de 50 usos tanto de filiación cultural, propias de las comunidades o estados donde se usa, así como remedio para patologías muy bien identificadas como la diabetes y la hipertensión. La planta se prepara principalmente en forma de infusión y se toma como agua de tiempo.

**Cuadro 4.** Algunos usos etnomédicos actuales en México de *Justicia spicigera*

Región	Parte usada	Uso	Preparado	Referencia
Oaxaca	Hojas	Anemia, clarificar la sangre, disentería, diarrea, dolor de estómago, epilepsia, sarna, alfarecia.	Infusión (en té)	Heinrich, et al., 1992. Jeanne Demol, 2017.
Morelos	Hojas	Cólicos, inflamación.	Infusión	Meckes, et al., 2004.
Yucatán	Partes aéreas	Tratamiento contra la diarrea	Infusión	Peraza, et al., 2005.
San Luis Potosí	Hojas	Diabetes, anemia, presión arterial alta, insomnio, cicatrizar heridas, alejar “malos espíritus”.	Infusión/oral	Alonso-Castro, et al., 2012.
Hidalgo	Partes aéreas	Heridas, várices, gangrena, cáncer, menstruación excesiva, calentura.	Infusión. Restregar en agua	Pérez Escandón, et al., 2003
Estado de México y Cd. De México.	Partes aéreas	Enfermedades de las encías, purificar la sangre, sustos, tos, desinfectante, cáncer de matriz, presión arterial, diarrea.	Infusión	Rosas-Piñón, et al., 2012. Fonseca Chávez, et al., 2020
Yucatán	Hojas/ramas	Dolor de cabeza, hipertensión, epilepsia, disentería, estreñimiento, enfermedades de la piel (erisipela), sífilis, tumores, espinillas; fiebre, anemia, daño renal, antiinflamatorio, antitusivo, enfermedades respiratorias.	Infusión y decocción	Ortiz, et al., 2012.
Guerrero	Hojas	Componer la sangre, varicela, heridas.	Se maceran las hojas, las dejan reposar en agua y la beben fría.	Barrera-Catalán, et al., 2015. Juárez-Vázquez, et al., 2013
Veracruz	Hojas, flor	Relajante, mal del viento (tlazol), “cabeza caliente”, “maldad”, hemorragias, flujo y Desequilibrio en la menstruación	Baños en el cuerpo, barrer a la persona	Domínguez-Barradas, et al., 2015. Esteban del Ángel, et al., 2018.
Puebla	Tallos y hojas	Inflamación, aumentar o fortalecer la sangre, estimular flujo menstrual, “aire” dolor de oídos, dolor de ojos, sabañones, “mal puesto”, diarrea, alfarecia.	-	Martínez-Moreno, et al., 2006 Martínez Alfaro, et al., 2001

### 2.3 Algunas actividades farmacológicas

Las investigaciones científicas sobre las propiedades medicinales de *J. spicigera* se remontan al año 1994, cuando fue evaluada por primera vez para corroborar científicamente su efecto como un agente antiprotozoario debido a diferentes descripciones tanto históricas como actuales para el tratamiento de la disentería. Hasta la fecha, se han realizado diversos ensayos farmacológicos (Tabla 1) con la finalidad de demostrar todo el universo de propiedades etnomédicas atribuidas a la planta.

**Tabla 1.** Actividades farmacológicas de *Justicia spicigera*

Actividad	Disolvente	Preparado	Referencia
Anti-obesidad	Etanol	Extracción con EtOH	Real-Sandoval, et al., 2020.
Antimicrobiano	Agua desionizada	Decocción	Bernardo, et al., 2019.
Ansiolítico	Agua purificada	Infusión	García, et al., 2019.
Antinociceptivo y espasmolítico	Etanol absoluto	Extracto con EtOH	Ángeles, et al., 2019.
Citostático	Etanol:Agua	Extracto hidroalcohólico	Fernández, et al., 2018.
Antiinflamatorio	Metanol	Extracto en MeOH	Pérez, et al., 2018.
Anticonvulsivo	Agua	Extracción Soxhlet 3h, 60 °C	González-Trujano, et al., 2017.
Antihipertensivo	Metanol	Extracto en MeOH	Magos, et al., 2017.
Antinociceptiva	Etanol absoluto	Extracción con EtOH	Zapata, et al., 2016.
Antidepresivo	Etanol al 70%	Extracción con EtOH	Cassani, et al., 2014.
Antihipertensivo	Hexano, cloroformo, metanol y agua.	Maceración sucesiva por un tiempo de 5 días	Esquivel, et al., 2013.
Antitumoral	Etanol	Extracción con EtOH	Alonso-Castro, A., et. al. 2012.
Antibacteriano y antifúngico.	Hexano, diclorometano, acetato de etilo y etanol	Maceración sucesiva por 48h	Vega, et al., 2012.
Antidiabético	Etanol al 60%	Extracción con EtOH	Ramírez, et al., 2012.
Antidiabético	Etanol	Extracción con EtOH	Ortiz, et al., 2012.
Antioxidante	Agua destilada, etanol absoluto, etanol 500 g/kg, glicerol, y propilenglicol	Extracción por disolventes	García, et al., 2012.
Antimicrobiano	Etanol	Extracción con EtOH por Soxhlet	Jacobo, et al., 2011.
Actividad citotóxica	Hexano, diclorometano, acetato de etilo, etanol y agua	Decocción y maceración	Vega, et al., 2009.
Antioxidante	Metanol	Extracción en MeOH	Sepúlveda, et al., 2009.
Antiparasitario ( <i>Leishmania mexicana</i> )	Metanol	Extracción en MeOH	Peraza, et al., 2007.
Antiprotozoario ( <i>Giardia lamblia</i> )	Metanol	Extracción en MeOH	Peraza, et al., 2005.
Antiprotozoario ( <i>Trypanosoma cruzi</i> )	Metanol	Extracción en MeOH a reflujo	Fumiko Abe, et al., 2005.
Antiinflamatorio, efecto inhibitorio de edema por carragenano	Hexano, cloroformo y metanol	Maceración	Meckes, et al., 2004.
Antiprotozoario ( <i>Giardia duodenalis</i> )	Etanol	Extracción con EtOH	Ponce, et al., 2001.
Antiprotozoario ( <i>Giardia duodenalis</i> )	Solución salina balanceada de Hank	Decocción	Ponce, et al., 1994.

A continuación, se detallarán algunos ensayos farmacológicos de la planta (Figura 6).



**Figura 6.** Actividades farmacológicas demostradas para *Justicia spicigera*

### 2.3.1 Actividad anti-obesidad

Desde 1975 la obesidad aproximadamente se ha triplicado en todo el mundo (WHO, 2020). Según la OMS, el sobrepeso y la obesidad están definidas como la acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud, es decir, es un incremento anormal del porcentaje de grasa corporal, este aumento por lo general, suele conllevar un incremento del peso. Si el peso “ideal” de un sujeto es aquel que maximiza su esperanza de vida, se puede definir la obesidad como una enfermedad en la que la salud (y la esperanza de vida) se ven repercutidas por el exceso de grasa corporal. El parámetro propuesto por la Organización Mundial de la Salud es el índice de masa corporal (IMC), el cual se calcula dividiendo la masa corporal (en kg) por el cuadrado de la talla (en metros), el IMC no es un parámetro perfecto, pero presenta generalmente una correlación buena con las otras determinaciones de la grasa corporal y se utiliza con gran frecuencia en los estudios sobre la obesidad. En el caso de los adultos se indica que una persona tiene sobrepeso cuando su IMC es igual o superior a 25, mientras que un IMC igual o superior a 30 es indicativo de obesidad (WHO, 2020; Velasco, et al., 2004).

De igual forma, la obesidad es una enfermedad pro-inflamatoria crónica la cual, está asociada a múltiples complicaciones de salud (Blancas, et al. 2010). Se ha identificado que el proliferador de peroxisoma  $\alpha$  (*Ppar- $\alpha$* ), además de realizar la beta oxidación de ácidos grasos y el reemplazo de triglicéridos, es capaz de ejercer un efecto antiinflamatorio mediante la regulación del factor nuclear kappa B (NF-kB) factor capaz de unirse a la región reguladora del promotor de los genes encargados de codificar para las inmunoglobulinas (López-Bojorquez, 2004). En un estudio donde se utilizaron ratones knock-out *Ppar- $\alpha$* , que fueron sometidos a una dieta calórica por 8 semanas, la administración fue realizada con una solución de agua (Tween 80 en una proporción 100:1 con respecto al triturado de *Justicia spicigera* y el compuesto de canferitrina), los resultados fueron: un peso final de  $446.36 \pm 4.97\text{g}$  y un índice de grasa relativa (IGR) de  $3.37 \pm 0.13$  kcal/día grupo control,  $546.08 \pm 9.15\text{g}$ , IGR:  $6.77 \pm 0.46$  grupo con alta dieta calórica;  $496.21 \pm 21.61\text{g}$ , IGR:  $5.99 \pm 0.67$  grupo con canferitrina y  $386.15 \pm 15.45\text{g}$ , IGR:  $3.75 \pm 0.38$  grupo con triturado de *Justicia spicigera* (Real-Sandoval, et al., 2020); los autores describieron que este último grupo mostró una reducción de grasa corporal del 55.3%, mientras que para el compuesto canferitrina fue del 16.8%. Si bien, la clave para el desarrollo de la obesidad es una dieta alta en grasas, debido a que la ingesta en exceso produce un aumento en la acumulación de grasa visceral (Real-Sandoval, et al., 2020).

### **2.3.2 Actividad antidiabética**

Según la Federación Internacional de Diabetes (International Diabetes Federation, por sus siglas en inglés IDF), la diabetes se define como una enfermedad crónica que ocurre cuando el páncreas ya no puede producir insulina o cuando el cuerpo ya no puede hacer buen uso de la insulina que se produce. La insulina es la hormona producida por el páncreas, ayuda a que la glucosa obtenida de los alimentos pase del torrente sanguíneo a las células del cuerpo, es decir, ayuda a que la glucosa ingrese a la célula para la consecuente producción de energía. Los problemas que se producen por el uso ineficiente y/o producción de la insulina conlleva a la aparición de elevados niveles de glucosa en sangre, también conocida como hiperglicemia, a largo plazo estos niveles altos pueden asociarse con daños en el cuerpo y fallos en órganos y tejidos (IDF, 2020). La OMS clasifica esta enfermedad en 3 diferentes tipos:

- a) Diabetes tipo 1, anteriormente conocida como juvenil o insulino dependiente, se caracteriza por la ausencia de la síntesis de insulina por lo que se requiere la administración diaria de esta hormona. Los síntomas consisten en: poliuria, polidipsia, polifagia, pérdida de peso, trastornos visuales y cansancio.
- b) Diabetes tipo 2, antes denominada como “del adulto” o no insulino dependiente, en este caso el cuerpo no es capaz de usar de manera eficaz la insulina, este tipo de diabetes por lo general es causada por un peso corporal excesivo e inactividad física, los síntomas pueden ser similares a la diabetes tipo 1 pero, por lo general, son menos intensos.
- c) Diabetes gestacional, en este caso se detecta una hiperglucemia durante el embarazo, a pesar de que alcanzan valores a los normales, son inferiores a los establecido para diagnosticar diabetes. Las mujeres diagnosticadas con este tipo de diabetes por lo general corren un mayor riesgo, junto con sus hijos, de padecer en un futuro diabetes tipo 2.

La acarbosa es el principal inhibidor de la glucosidasa, desafortunadamente no tiene una gran eficacia para bajar los niveles de la glucemia, por otro lado, el inhibidor orlistat ha sido utilizado para la pérdida de peso, pero no se receta para la diabetes debido a que ha presentado efectos secundarios. Se ha encontrado que preparados de distintas plantas poseen inhibidores de lipasa y/o glucosidasa, además de carecer efectos secundarios, un ejemplo es *Justicia spicigera* en la cual los autores identificaron que muestra inhibición de la  $\beta$ -lipasa con lo cual sustentaron el uso etnomédico de plantas medicinales en México (Ramírez, et al., 2012).

En la medicina tradicional mexicana, el uso de plantas medicinales es una práctica común entre la población diabética. En un estudio se realizó una prueba oral de tolerancia a la glucosa, en la cual se utilizó el extracto etanólico de *J. spicigera*, se administró vía oral en ratas Wistar macho (normoglucémicas), en una dosis de 100 mg/kg; *J. spicigera* mostró una reducción en los niveles de glucosa en sangre de manera significativa desde las 0.5 h hasta las 4.0 h, en comparación el grupo tratado con glibenclamida (ratas diabéticas inducidas), indicando una actividad antidiabética para esta planta. Los autores observaron que el extracto etanólico estimula la absorción de glucosa en células adiposas sensibles a la insulina y resistentes a la misma hormona, además, ejerció una disminución

en los niveles de glucosa en ratas normoglucémicas y diabéticas inducidas, con lo que demuestran que *J. spicigera* está relacionada con la estimulación de la captación de glucosa en adipocitos murinos y humanos sensibles y resistentes a la insulina, además de justificar el uso tradicional del muicle para la diabetes (Ortiz, et al., 2012).

### **2.3.3 Actividad antihipertensiva**

La mayoría de las personas ignoran que padecen hipertensión, debido a que esta enfermedad no siempre va acompañada de síntomas o signos de alerta, por lo que se dice que mata silenciosamente. Por ende, es de gran importancia una medición periódica de la tensión arterial. La tensión arterial es la fuerza que ejerce la sangre circulante contra las paredes de las arterias, los cuales son grandes vasos por los que circula la sangre en el organismo; cuando esta fuerza es demasiado grande se considera como hipertensión (WHO, 2019). La OMS, en el 2019, describe a la tensión arterial en dos cifras:

- Tensión sistólica la cual representa la presión que ejerce la sangre sobre los vasos cuando el corazón se contrae o late.
- Tensión diastólica es la presión ejercida sobre los vasos cuando el corazón se relaja entre un latido y otro.

De igual modo, la Organización Mundial de la Salud ha establecido que se diagnosticará como hipertensión cuando se hayan tomado mediciones dos días distintos y en ambas lecturas la tensión sistólica fue mayor o igual a 140 mmHg y la tensión diastólica fue mayor o igual a 90 mmHg (WHO, 2019).

Por otro lado, la Norma Oficial Mexicana NOM-030-SSA2-2009, para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la hipertensión arterial sistémica; define a la presión arterial sistémica que se caracteriza por un aumento sostenido de la presión arterial sistólica, diastólica o ambas, en ausencia de enfermedad cardiovascular renal o diabetes presenta un rango de  $\geq 140/90$  mmHg, en caso de presentar una enfermedad cardiovascular o diabetes un valor  $> 130/80$  mmHg y en caso de tener proteinuria mayor a 1.0 g e insuficiencia renal  $> 125/75$  mmHg. Clasifica a la hipertensión arterial sistémica (HAS) con base en los siguientes criterios:

**Tabla 2.** Clasificación por cifras de la Hipertensión Arterial Sistémica\*

<b>Categoría</b>	<b>Sistólica mmHg</b>	<b>Diastólica mmHg</b>
Optima	< 120	< 80
Presión arterial normal	120 a 129	80 a 84
Presión arterial fronteriza*	130 a 139	85 a 89
Hipertensión 1	140 a 159	90 a 99
Hipertensión 2	160 a 179	100 a 109
Hipertensión 3	≥ 180	≥ 110
Hipertensión sistólica aislada	≥ 140	< 90

\* En casos donde las personas con presión arterial normal (con factores de riesgo asociados) o fronteriza que aún no padecen de hipertensión, pero tienen alto riesgo en presentar la enfermedad deberán prevenirse e intervenir para retrasar o en su caso evitar el desarrollo de HAS. \*Obtenida de la NOM-030-SSA2-2009.

En la medicina tradicional mexicana las hojas de *J. spicigera* se han utilizado para desórdenes relacionados con la circulación. En un estudio se utilizaron ratas L-NAME, es decir, ratas que fueron inducidas con éster metílico de N-nitro-L-arginina (L-NAME), para un estado de hipertensión, a una dosis de 75mg/kg/día por un período de 18 días, por administración oral en agua potable. Los autores observaron valores iniciales de 180/164 ± 1.7/3.2 mmHg (sistólica/diastólica) en ratas L-NAME, y después de la administración del extracto de cloroformo de *J. spicigera* (150mg/kg) fueron valores de 149/133 ± 4.0/3.7 mmHg (sistólica/diastólica), es decir, se observó un efecto antihipertensivo por parte del muicle. Para el extracto acuoso se observó una disminución en la presión arterial diastólica, pasando de valores de 148 ± 6.6 mmHg (diastólica) a 128 ± 4.5 mmHg (diastólica), esto indicó una disminución importante en la prevalencia de hipertensión y la justificación del uso tradicional de esta planta para combatir esta enfermedad, además de una prevención para accidentes cerebrovasculares, aunque requieren de más estudios para determinar un perfil farmacológico que lo sustente (Esquivel, et al., 2013).

#### **2.3.4 Actividad antiinflamatoria**

La inflamación es una parte del mecanismo de defensa del cuerpo, en este proceso el sistema inmunitario reconoce y elimina los estímulos dañinos dando paso al proceso de curación. La inflamación aguda, es el resultado de una invasión microbiana, un trauma o algún compuesto nocivo que induce este tipo de inflamación, se puede volver grave en poco tiempo y los síntomas pueden persistir algunos días, por ejemplo: celulitis

o una neumonía aguda; por otro lado, una inflamación subaguda es el período entre la inflamación aguda y crónica, el cual puede durar entre 2 a 6 semanas. La inflamación crónica, también conocida como inflamación lenta puede tener períodos prolongados que van desde meses hasta años, en general los efectos de la inflamación crónica varían según la causa de la lesión y la capacidad del cuerpo para reparar y superar el daño (Roma, et al., 2020). La Organización Mundial de la Salud (OMS) clasifica a las enfermedades crónicas como la mayor amenaza para la salud humana. A nivel mundial, 3 de cada 5 personas mueren debido a enfermedades inflamatorias crónicas como trastornos cardíacos, enfermedades respiratorias crónicas, derrames cerebrales, cáncer, obesidad y diabetes (Roma, et al., 2020).

La inflamación es una respuesta localizada ante un estímulo nocivo, este puede ser desencadenado por una amplia variedad de sustancias extrañas, por ejemplo: infecciones bacterianas y/o lesiones físicas. La capacidad de una respuesta inflamatoria es fundamental para la supervivencia contra patógenos ambientales y lesiones. La respuesta inflamatoria se caracteriza por una vasodilatación local transitoria, un aumento de la permeabilidad capilar, infiltración de leucocitos y células fagocíticas, así como degeneración y fibrosis del tejido, en términos generales la inflamación tiene como síntomas característicos dolor, rubor y tumoración. Cuando el tejido está inflamado se genera un aumento en la biosíntesis de prostanoide, los inhibidores de la COX deprimen la formación de éste, es decir, estos inhibidores son antiinflamatorios muy eficaces y los prostanoideos resaltan su importancia como mediadores proinflamatorios. Las isoenzimas que generan una mayor cantidad de prostanoideos proinflamatorios son las isoenzimas: COX-2 y COX-1, se ha encontrado que COX-1 desempeña un papel dominante en la fase inicial de una respuesta inflamatoria aguda, mientras que COX-2 incrementa sus concentraciones al cabo de varias horas. El factor de necrosis tumoral alfa (TNF  $\alpha$ ), es un mediador proinflamatorio que, además, puede trabajar como mediador de otro proinflamatorio, tales como la IL-6 (Interleucina 6) y COX2, sin embargo, la IL-10 (Interleucina 10), es una citosina con mayor efecto antiinflamatorio e inmunomodulador, incluyendo la inhibición del TNF  $\alpha$ . La IL-10 puede expresarse en mastocitos, macrófagos, monocitos, células T reguladoras y células Th2. Si bien el NF- $\kappa$ B, es un factor de transcripción que participa en la regulación transcripcional de la expresión génica en

respuesta a la inmunidad y la inflamación. Cuando el factor nuclear NF-kB es activado, éste participa en los procesos de ubiquitinación y fosforilación, después de la degradación mediada por el proteosoma de la IκB-quinasa unida al NF-kB. El NF-kB, es esencial para la expresión de citosinas proinflamatorias y COX-2 (Brunton, et al., 2012; Pérez, et al., 2018).

En un estudio se demostró el efecto antiinflamatorio del procumbenosido B (compuesto aislado del extracto metanólico; PB) de *J. spicigera*, el cual aumentó el efecto antiinflamatorio de la IL-10 mejorando los mediadores proinflamatorios en macrófagos, sugiriendo que la molécula aislada (PB) inhibe la activación del NF-kB, induciendo así la actividad antiinflamatoria. Además, el extracto metanólico de *J. spicigera*, exhibió un efecto protector en embriones de pez cebra contra especies reactivas de oxígeno y óxido nítrico, por lo que, *J. spicigera* se podría considerar como un posible fármaco antiinflamatorio potencial, para el tratamiento de enfermedades inflamatorias (Pérez, et al., 2018).

El extracto de metanol de *Justicia spicigera* mostró un  $40.3 \pm 4.8\%$  de inhibición del edema en pata de rata inducido por carragenano (Meckes, et al., 2004). Con estos resultados los autores respaldaron el uso de *Justicia spicigera*, en la medicina tradicional mexicana para dolencias que pueden estar involucrados en procesos inflamatorios.

### **2.3.5 Actividad antinociceptiva**

El dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable la cual está asociada con daño tisular real o potencial. El dolor es subjetivo, cada individuo aprende de esta palabra mediante experiencias relacionadas con lesiones en la vida temprana. Los biólogos reconocen que los estímulos que causan dolor pueden dañar el tejido, en consecuencia, el dolor es esa consecuencia que se asocia con daño tisular o potencial. Por otro lado, el dolor agudo es la conciencia de una señal nociva proveniente de un tejido recientemente dañado, complicada por la sensibilización en la periferia y dentro del sistema nervioso central, esta intensidad depende de los procesos inflamatorios, la cicatrización de los tejidos y el movimiento. Por ende, el dolor es subjetivo pero los procesos fisiológicos subyacentes en los que participan el sistema nervioso sensorial y el sistema nervioso autónomo, las catecolaminas y otras hormonas del estrés en la

circulación, y las respuestas inflamatorias son clave para el dolor agudo, puesto que la respuesta inflamatoria sensibiliza nociceptores cercanos a la lesión y sensibiliza las vías del sistema nervioso central que procesan las señales nocivas (International Association for the Study of Pain (IASP), 2017).

La sensación de dolor se genera en dendritas no mielinizadas o neuronas sensitivas situadas alrededor de los folículos pilosos, así como también en tejidos profundos. Los impulsos de los nociceptores (dolor) son transmitidos por dos tipos de fibras: uno de los sistemas comprende fibras A $\delta$  con vainas delgadas de mielina (de 2–5  $\mu$ m de diámetro) las cuales conducen a una velocidad de 12 a 30 m/s; la otra contiene fibras C no mielinizadas (0.4–1.2  $\mu$ m de diámetro), éstas por el contrario conducen a una velocidad baja, es decir de 0.5 a 2 m/s. En el organismo, se tienen diferentes tipos de nociceptores: en primer lugar, están los nociceptores mecánicos los cuales reaccionan a una presión intensa, como por ejemplo a un objeto puntiagudo; luego, están los nociceptores térmicos los cuales se activan con temperaturas cutáneas mayores de 45°C o con un frío intenso; también, están los nociceptores sensibles a estímulos químicos, éstos responden a varios agentes tales como bradicinina, histamina, acidez marcada, y sustancias irritantes del ambiente; y los nociceptores polimodales, éstos reaccionan a combinaciones de los estímulos mencionados anteriormente (Barret, et al., 2010).

La decocción de las partes aéreas del muicle se utiliza en la medicina tradicional mexicana para aliviar el dolor de enfermedades gastrointestinales. En un estudio se evaluaron los efectos gastrointestinales (motilidad intestinal, nocicepción visceral y abdominal) del extracto etanólico de *J. spicigera*, se realizó la administración en ratones a una dosis de 316 mg/kg 15min antes de la administración de ácido acético. Los autores evaluaron la respuesta analgésica mediante la prueba de retorcimiento, el grupo control obtuvo como resultado  $379.5 \pm 27.3$  ua, el grupo administrado con dipirona fue de  $95.0 \pm 40.6$  ua, mientras que el extracto etanólico presentó una inhibición significativa con un resultado de  $179.5 \pm 29.5$  ua, con estos resultados los autores respaldaron que la administración enteral o parenteral del extracto produce efectos antinociceptivos. En el mismo estudio se evaluó el extracto etanólico de *J. spicigera* para la actividad espasmolítica en íleon de cobaya; se obtuvo una contracción máxima a  $2.62 \pm 0.45$  g con

KCl (32 mM), después de la administración del extracto obtuvieron una respuesta contráctil de  $23 \pm 1.53$  %. A través de las evaluaciones anteriores, los autores distinguieron las propiedades antinociceptivas del muicle, además de reforzar su potencial como espasmolítico para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales (Ángeles, et al., 2019).

El extracto etanólico de *Justicia spicigera* se examinó para evaluar su actividad antinociceptiva y sedante; en un estudio donde se utilizaron ratones Balb/C de 8 semanas de edad, se realizó la prueba de retorcimiento mediante la administración con ácido acético (1 h posterior a la administración del extracto) para la primera actividad, en donde se indicó la presencia de actividad nociceptiva ante la administración de 200 mg/kg del extracto; para la segunda actividad realizaron la prueba de tiempo de sueño, inducido por ketamina, administraron 1 h antes por vía oral el extracto de *J. spicigera* y, posteriormente, la ketamina; los autores observaron una reducción en la latencia de sueño de manera no dependiente a la dosis administrada del extracto, es decir, el muicle no tuvo efecto sobre el tiempo de sueño inducido por la ketamina. Por lo que en este desarrollo experimental denotaron los efectos antinociceptivos centrales y periféricos en ratones sin inducir sedación (Zapata, et al., 2016).

### **2.3.6 Actividad ansiolítica**

Los trastornos como la depresión y la ansiedad son problemas habituales de salud mental que afectan a la capacidad de trabajo y productividad. Más de 260 millones de personas en el mundo tienen trastornos de ansiedad (WHO, 2017).

Se describe a la ansiedad como un estado emocional en el que se presentan cambios somáticos, es decir, la persona expresa tener un síntoma que en realidad no tiene, y psíquicos. Cuando la ansiedad se presenta de manera excesiva y la sudoración es prolongada, se clasifica como patológica (Secretaria de Salud, 2015). La Secretaria de Salud describe que algunas manifestaciones de ansiedad son:

- Sensaciones somáticas: mareos, taquicardia, sudoración, palpitaciones, temblor, molestias digestivas, aumento de la frecuencia y urgencia urinaria.

- Síntomas psíquicos (conductuales, afectivos y cognoscitivos): implica nerviosismo, sensación de muerte inminente, deseo de huir, inquietud, miedos irracionales, temor a perder la razón y el control.

La ansiedad es una emoción humana con utilidad adaptativa psicobiológica, esta emoción incluye trastornos por ansiedad generalizado, obsesivo-compulsivo, pánico, estrés postraumático, fobia social, fobias específicas y estrés agudo. El tratamiento para este trastorno es generalmente la administración de ansiolíticos, aunque también se han utilizado en combinación con antidepresivos y, a veces, antipsicóticos (Rang, et al., 2008).

El número de personas que padecen de este trastorno ha ido en aumento, por lo que se han hecho esfuerzos para descubrir medicamentos que puedan aliviar el trastorno de ansiedad. Los fármacos ansiolíticos han tenido como objetivo común el sistema ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA). El sistema GABA es un importante neurotransmisor inhibitorio en la fisiopatología de los trastornos de ansiedad; de igual modo se ha encontrado que el déficit de este sistema se ha asociado con trastornos como ansiedad, insomnio y epilepsia. El sistema GABA está constituido por 3 receptores principales: GABA<sub>A</sub>, GABA<sub>B</sub> Y GABA<sub>C</sub> de los cuales GABA<sub>A</sub>, también denominado GABA-benzodiazepina, está asociado con la ansiedad. GABA<sub>A</sub> es un canal de iones de cloruro dependiente de ligando el cual afecta la entrada de iones cloruro intracelular en las neuronas postsinápticas (Hyeon Joo Ham, et al., 2020).

A partir del extracto acuoso de *J. spicigera*, se exploró su efecto sobre el ciclo estral en ratas hembras Wistar. Los autores encontraron que la dosis de 12 mg/kg administradas en ratas, presentaron una reducción en el índice de ansiedad en las etapas de proestro (es el período folicular que se inicia con la regresión del cuerpo lúteo, es decir cuando el ovocito sale del folículo, y culmina con la aparición del período de receptividad sexual), además de observar efectos similares a los del diazepam en la prueba de laberinto. Los resultados sugirieron un efecto de tipo ansiolítico ejercido por el extracto de muicle, esto se le fue atribuido posiblemente a la presencia de flavonoides, esteroides y/o terpenos en la planta, además de confirmar el efecto que la medicina tradicional le atribuye a *J.*

*spicigera*, y con ello la búsqueda de nuevos tratamientos para la ansiedad (García, et al., 2019).

### 2.3.7 Actividad antibacteriana

Tras el descubrimiento de la penicilina se inició una nueva era para la medicina, además, dio inicio a la búsqueda de otros compuestos tanto naturales como sintéticos que se pudieran utilizar para tratar microorganismos patógenos. Las células bacterianas difieren de las células humanas en muchas características y gracias a esto, es que ofrecen más oportunidades para el desarrollo de nuevos fármacos. Por otro lado, hongos y parásitos tienen en común con las células humanas, el que poseen muchas vías metabólicas y estructuras, de tal modo que para los investigadores les proveen de menos dianas terapéuticas y conllevan más riesgo de toxicidad (WHO, 2016). La Organización Mundial de la Salud menciona que los antimicrobianos se consideran fármacos “sociales”, es decir:

- La resistencia hacia los antimicrobianos será dependiente de las decisiones que adopten los pacientes, profesionales sanitarios, granjeros y veterinarios.
- El uso inmoderado de los antimicrobianos provoca una alteración en el equilibrio de las poblaciones microbianas, dando como resultado un aumento de los microorganismos resistentes y cambios en la distribución de las infecciones
- Conforme el tiempo de uso que adapten los países para el uso de antimicrobianos, será la eficacia de los mismos
- Lo más importante es el uso inapropiado de los antimicrobianos, puesto que, de esto dependerá el futuro y bienestar de las siguientes generaciones.

Bernardo Mazariegos y colaboradores, realizaron un estudio en donde utilizaron el extracto acuoso de *Justicia spicigera* para la biosíntesis de nano partículas de plata (AgNP), a partir de ella se realizó un estudio antimicrobiano utilizando el método de difusión en disco, se probaron 3 tipos de bacterias en las cuales obtuvieron los siguientes resultados (100 mg de AgNP y extracto por cada mL): *Bacillus cereus* (inhibición de AgNP:  $10.0 \pm 0.2$  mm; extracto acuoso:  $5.3 \pm 0.2$ ), *Klebsiella pneumoniae* (inhibición de AgNP:  $8.3 \pm 0.6$  mm; extracto acuoso:  $6.0 \pm 0.5$ ) y *Enterobacter aerogenes* (inhibición de AgNP:  $7.1 \pm 0.4$  mm; extracto acuoso:  $6.0 \pm 0.3$ ) (Bernardo, et al., 2019). Con los

resultados anteriores, los autores confirmaron la actividad antibacteriana por parte de *J. spicigera*, además, de proponer un método ecológico para la biosíntesis de nanopartículas de plata (Bernardo, et al., 2019).

México es un país en donde, desde la antigüedad, la medicina tradicional ha ocupado un papel importante en el cuidado y preservación de la salud, por lo que el uso de plantas medicinales apoya y ofrece la posibilidad de descubrir moléculas con actividad antimicrobiana. Se observó en otro estudio que el extracto etanólico de *J. spicigera* presentó inhibición del crecimiento de *Shigella flexneri*, *Salmonella typhhi*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, a concentraciones  $\leq 2.5$  mg/mL. Por otro lado, los autores observaron que la fracción hexánica también presentó inhibición del crecimiento de las bacterias antes mencionadas, pero a una concentración  $\leq 1.25$  mg/mL (Vega-Avila, et. al., 2012).

### **2.3.8 Actividad antiprotozoaria**

Los protozoos o protozoarios son microorganismos unicelulares que se encuentran en la mayoría de los hábitats, todos los animales superiores están infectados con una o más especies de protozoos, estas infecciones pueden variar de asintomáticas hasta potencialmente mortales. Los protozoos son microorganismos eucariotas, se consideran un subreino del reino Protista, aunque, en el sistema clásico están colocados en el reino Animalia. Anton Van Leeuwenhoek fue el primero en visualizar estos microorganismos utilizando microscopios con lentes que él mismo fabricó (Yaeguer, 1996).

La leishmaniasis es una enfermedad causada por un protozoo del género *Leishmania*, que cuenta con más de 20 especies diferentes, es transmitida por la picadura de la hembra del mosquito *Lutzomyia*, cuyo tamaño es de 2-3 mm, piloso y de apariencia frágil conocida como papalotilla o jején. Se conocen más de 90 especies de flebotominos (mosquitos) transmisores de *Leishmania* (WHO, 2020). La OMS describe que esta enfermedad se presenta en 3 formas:

- *Leishmania visceral* o kala azar: se caracteriza por episodios irregulares de fiebre, pérdida de peso, anemia.
- *Leishmania cutánea* (LC): produce lesiones cutáneas, sobre todo ulcerosas las cuales dejan cicatrices de por vida, este tipo de leishmaniasis es la más frecuente

- *Leishmania mucocutánea*: se distingue por la destrucción parcial o completa de las membranas mucosas de la nariz, boca y garganta.

En un bioensayo para detectar actividad contra la *Leishmania mexicana*, Peraza y colaboradores analizaron el extracto de metanol de *J. spicigera* para la inhibición del crecimiento de promastigotes de *L. mexicana*; en el cual, encontraron que esta planta posee actividad inhibitoria contra la enfermedad (Peraza, et al., 2007).

La OMS describe que la Giardiasis es una infección que ocurre a causa de la ingesta de quistes de *Giardia intestinalis*, también conocido como *Giardia lamblia* y *Giardia duodenalis*, en agua o alimentos contaminados por las heces de humanos o animales. Varias de las infecciones pueden ser asintomáticas, pero cuando se presentan los síntomas, principalmente son de naturaleza intestinal, es decir, diarrea crónica (primero se presenta acuosa, consecuentemente heces sueltas y grasosas), calambres abdominales, hinchazón, fatiga y pérdida de peso.

El extracto metanólico de las partes aéreas de *Justicia spicigera* fue analizado para verificar su actividad contra la giardiasis, los autores encontraron que al inocular el extracto metanólico en cultivos con trofozoitos de *G. lamblia* este presentaba actividad antiprotozoaria con una IC<sub>50</sub> de 117.41 µg/mL, a pesar de que no es una actividad baja la consideraron para la sujeción a un fraccionamiento dirigido por bioensayo, además de hacer mención de que aún con este valor la planta es capaz de producir metabolitos antiprotozoarios activos (Peraza, et al., 2005).

En otro estudio se analizó el extracto etanólico de *Justicia spicigera* a diferentes concentraciones (de 41 µg – 250 µg) y una concentración de 0.5% de etanol, para la actividad contra trofozoitos de *G. duodenalis*. Encontraron que, el 98% de los trofozoitos expuestos en los extractos de etanol pierden su tamaño y forma, tanto las membranas nucleares como las celulares resultan dañadas, observaron que varias estructuras presentaban agujeros en el núcleo y citoplasma, además de que los ribosomas fueron desplazados y en otros casos daban lugar a un cúmulo ribosómico lo que indicó que el extracto posee alguna sustancia que detiene la síntesis de los ribosomas o en dado caso, la inducción de complejos polirribosomales. Los hallazgos experimentales fueron de gran

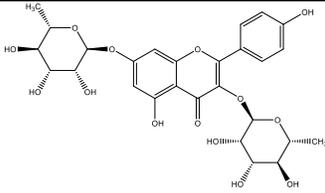
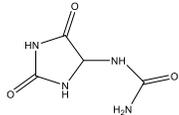
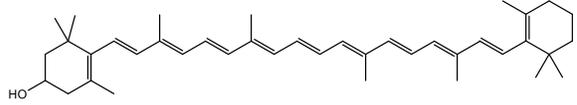
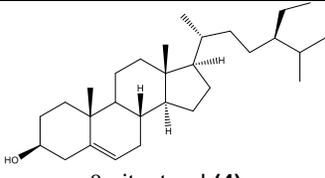
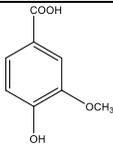
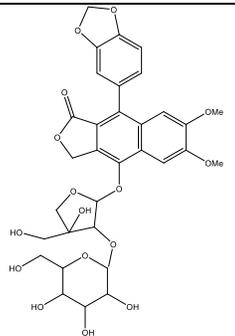
relevancia, debido a que, sugiere la posible extracción de compuestos de las hojas de *J. spicigera* como antiprotozoarios (Ponce, et al., 2001).

## 2.4 Composición química de *Justicia spicigera*

En el año de 1982, Euler y Alam aislaron por primera vez a la canferitrina (**1**) de un ejemplar cultivado y colectado en Edimburgo, Texas. Realizaron una extracción exhaustiva con equipo Soxhlet y etanol como disolvente. Ocuparon 113 g de planta seca y molida y obtuvieron 300 mg del compuesto **1**, lo que significó un rendimiento del 2.6 %, y permitía deducir por primera vez que este metabolito se encontraba en alta proporción en la planta. No fue sino hasta el año de 1991, que Domínguez y colaboradores volvieron a reinvestigar la planta la cual adquirieron en el mercado de Sonora de la CDMX, e igualmente aislaron a la canferitrina (**1**) a partir de una maceración con hexano-éter isopropílico-metanol de 2.5 Kg de hojas y ramas secas de la planta. También, se aisló alantoína (340 mg, **2**), critpoxantina (375 mg, **3**) y  $\beta$ -sitosterol (450 mg, **4**) (Tabla 3). Posteriormente, en el 2010 Gómez Verjan, reportó el aislamiento del ácido vainílico (**5**) a partir de un extracto metanólico.

Años después en el 2018, Pérez y colaboradores aislaron un lignano con un residuo arilnaftálico llamado procumbenósido B (**6**), a partir de un extracto metanólico. Este metabolito ya había sido previamente reportado en *J. procumbens* (Weng, et al., 2004). Perez y colaboradores (2018) describieron también el efecto de este metabolito como inhibidor de mediadores proinflamatorios. Sobre este último compuesto, es importante mencionar que los lignanos son muy comunes y abundantes en especies del género *Justicia* como son: *J. procumbens*, una especie muy utilizada en la Medicina Tradicional China para tratar la fiebre, el dolor y el cáncer (Jin, et al., 2014), *J. diffusa*, usada en la medicina ayurveda para tratar la depresión (Rajasekhar, et al., 2000) y *J. flava*, la cual es usada en África para el dolor de dientes, náuseas, hemorroides y es muy popular para tratar pacientes con VIH/SIDA (Corrêa y Alcântara, 2012).

**Tabla 3.** Metabolitos aislados de *J. spicigera*

Compuesto	Referencia
 <p style="text-align: center;"><b>Kaempferitrina (1)</b></p>	<p>Euler, et al., 1982. Domínguez, et al., 1991.</p>
 <p style="text-align: center;"><b>Alantoína (2)</b></p>	<p>Domínguez, et al., 1991.</p>
 <p style="text-align: center;"><b>Criptoxantina (3)</b></p>	<p>Domínguez, et al., 1991.</p>
 <p style="text-align: center;"><b>β-sitosterol (4)</b></p>	<p>Domínguez, et al., 1991.</p>
 <p style="text-align: center;"><b>Ácido Vainillíco (5)</b></p>	<p>Gómez, J., 2010</p>
 <p style="text-align: center;"><b>Procumbenósido B (6)</b></p>	<p>Pérez, et al., 2018</p>

### 3. Planteamiento del problema

Como es sabido, las propiedades farmacológicas (y toxicológicas) demostradas de las plantas medicinales son debido a los metabolitos presentes en ellas. En consecuencia, la determinación de la composición química de las plantas que se consideren útiles, es uno de los requisitos fundamentales para llegar a establecer su eficacia y seguridad. También, representa una tarea muy apremiante que ha permitido sacar a la luz a compuestos que han llegado a ser útiles como fármacos.

Y es que las plantas medicinales no solo se limitan a ser uno de los recursos más importantes dentro de las prácticas médicas tradicionales de comunidades indígenas o rurales, donde algunas veces representan la única opción de prevención y curación de enfermedades, sino que también están siendo revaloradas para obtener biomoléculas que pueden ser usadas en la fabricación de medicamentos, ya sea como materias primas o como precursores. Este último enfoque es muy necesario en estos momentos en que la sociedad se enfrenta a nuevos retos en salud.

A este respecto, *J. spicigera*, conocida comúnmente como muicle, es una especie vegetal muy valorada en la medicina tradicional de México, por lo cual ha sido objeto de numerosos ensayos farmacológicos. Por ejemplo, recientemente se demostró su efecto ansiolítico en un modelo murino (García-Ríos, et al., 2019). Los autores atribuyeron esta actividad no solo a la canferitrina, que se considera uno de los principios activos de la planta, sino a metabolitos adicionales que pudieran estar presentes, pero que desafortunadamente no se han aislado. La actividad ansiolítica demostrada de *J. spicigera* se suma a las múltiples actividades farmacológicas demostradas a nivel preclínico de la planta. Sin embargo, a pesar del interés farmacológico que ha suscitado el muicle, no existe la misma cantidad de investigaciones científicas encaminadas a dar a conocer su composición química, por lo que se considera que ha sido poco explorada.

Desde que se reportó el aislamiento de la canferitrina en un extracto etanólico en 1982 (Euler, et al., 1982) y posteriormente se confirmó su presencia en otros extractos en 1991 (Domínguez, et al., 1991), hasta la fecha únicamente se han aislado cinco metabolitos adicionales. También, las antocianinas (o/y antocianidinas) han sido recurrentemente

mencionadas como posibles metabolitos responsables de su capacidad tintórea, sin embargo, cuando se analizan las referencias donde las mencionan, en ninguna se ha demostrado su aislamiento o identificación química con exactitud.

#### 4. Justificación

En nuestro país, las plantas medicinales juegan un papel muy relevante dentro de los sistemas tradicionales de salud, principalmente en comunidades indígenas y rurales. También, se han incorporado a prácticas de autoatención doméstica, donde representan un recurso terapéutico de apoyo. Esto ha permitido que se establezcan esfuerzos importantes encaminados a revalorar a las plantas medicinales como un recurso sanitario que coadyuve en enfermedades crónicas y de alta prevalencia en México como son: diabetes mellitus, hipertensión arterial, obesidad, entre otras, las cuales representan un enorme reto para el sector salud tanto por los altos costos en su tratamiento, como por la falta o carencia de medicamentos efectivos que ayuden a controlar los síntomas o curar la enfermedad. Estos esfuerzos importantes se ven parcialmente reflejados con la segunda edición de la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (FHEUM, 2013), así como en la publicación de la “Estrategia sobre medicina tradicional” publicada por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2013).

Dentro de la amplia diversidad de especies vegetales con valor etnomédico en México encontramos a *J. spicigera*. Esta planta cuenta con numerosos estudios farmacológicos que han permitido corroborar los múltiples usos documentados hasta la fecha. Esto permite considerarla como una especie de importancia farmacéutica, lo que es determinante para ser estudiada a profundidad. Toda la evidencia científica relacionada a las actividades biológicas de la planta sugiere que *J. spicigera* podría tener en su composición metabolitos adicionales que podrían ayudar a explicar los mecanismos de acción por los cuales ejerce las actividades biológicas demostradas.

Por todo lo anterior, se requiere sumar esfuerzos encaminados a dar conocer la composición química de esta especie que ha sido utilizada para múltiples propósitos desde la época prehispánica, y de esta manera seguir maravillándonos con todo lo que ella nos puede ofrecer.

## 5. Objetivos

### 5.1 Objetivo general

Determinar la composición química de la infusión obtenida de la droga cruda de *Justicia spicigera* y generar los perfiles cromatográficos para los ensayos de identidad química.

### 5.2 Objetivos particulares

- Preparar una infusión a partir de las partes aéreas secas de *Justicia spicigera*. Repetir este procedimiento para obtener suficiente cantidad.
- Aplicar la cromatografía tanto de exclusión como de adsorción para realizar los fraccionamientos químicos necesarios.
- Aislar al menos un componente presente en la infusión.
- Realizar la elucidación estructural del o los metabolitos aislados aplicando técnicas espectroscópicas y espectrométricas.
- Obtener los perfiles cromatográficos encaminados a establecer las pruebas de identidad química.

## **6. Procedimientos experimentales**

### **6.1 Material vegetal**

Las partes aéreas de la especie medicinal *Justicia spicigera* fueron colectadas por la Dra. Araceli Pérez Vásquez en el municipio de San Pedro Jicayán, perteneciente al distrito de Jamiltepec, estado de Oaxaca, en marzo de 2017. La identificación de la especie fue realizada por el Dr. Rafael Torres Colín. Un ejemplar de referencia se depositó en el Herbario Nacional (MEXU) con el número de voucher 1465410. El material vegetal fue sometido a un proceso de desecación y, posteriormente, fragmentado en un molino Willey Modelo 4 con malla de 2 mm.

### **6.2 Procedimientos generales**

#### **6.2.1 Análisis cromatográficos**

El análisis cromatográfico en capa delgada (CCD) se llevó a cabo mediante el uso de placas de aluminio de diferentes dimensiones recubiertas con gel de sílice (60 F<sub>254</sub> Merck KGaA, Alemania). El sistema de elución utilizado fue una mezcla de AcOEt, MeOH y H<sub>2</sub>O (17:2:1). La visualización de las placas se llevó a cabo mediante luz UV ( $\lambda$  de onda corta, 254 nm y  $\lambda$  de onda larga, 365 nm). Posteriormente, se revelaron a través del uso de agentes cromógenos los cuales fueron: sulfato cérico amoniacal y anisaldehído. Las placas se calentaron a 120°C durante aproximadamente un minuto.

La cromatografía en columna abierta (CCA) se realizó en columnas de vidrio de distintas capacidades. Se utilizaron como fases estacionarias al Sephadex LH-20 (Pharmacia ®), y al gel de sílice. En el caso del sephadex LH-20, se utilizó como fase móvil MeOH (100%) o mezclas de MeOH/Acetona en diferentes proporciones. Para gel de sílice se utilizaron como fase móvil mezclas de CHCl<sub>3</sub>/MeOH, en diferentes proporciones.

El análisis por cromatografía de líquidos de alta eficiencia (CLAE) se llevó a cabo en un cromatógrafo de líquidos de marca Waters (Millipore Corporation, Waters Chromatography Division Milford, MA, USA), el cual está equipado con un detector de UV con arreglo de fotodiodos (PDA). El control, análisis y procesamiento de datos del equipo se efectuaron a través del software Empower 2. Se utilizó una columna Symmetry® C8 (Waters Corporation, USA) de 3.9 mm de diámetro interno x 15 mm de longitud, además

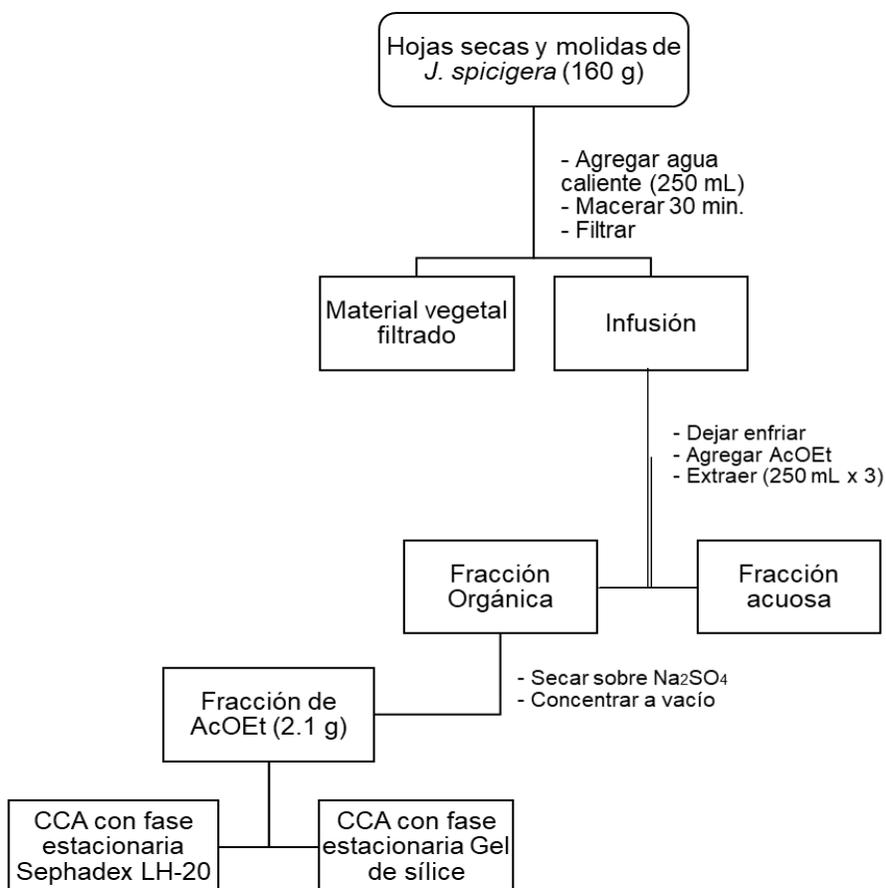
de un tamaño de partícula de 5  $\mu\text{m}$ . Los disolventes utilizados para las muestras fueron de grado HPLC.

### **6.2.2 Determinación de constantes espectroscópicas y espectrométricas**

Los espectros de Infrarrojo fueron obtenidos en un espectrofotómetro de FTIR/FIR Spectrum 400 de Perkin-Elmer (Rango: 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ ); los espectros de UV/vis fueron obtenidos en un equipo Perkin Elmer, modelo lambda 200 (rango: 200-1100 nm). Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear protónica (RMN- $^1\text{H}$ ) y de carbono- 13 (RMN- $^{13}\text{C}$ ) fueron registrados en un Espectrómetro de RMN de 9.4 T, Marca Varian, Modelo VNMRS, el cual se operó a una frecuencia de 400 MHz para RMN- $^1\text{H}$  y de 100 MHz para RMN- $^{13}\text{C}$ . Se utilizaron como disolvente Metanol- $d_4$ , DMSO- $d_6$ . Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en ppm y se utilizó el programa MestreNova 12.0 para procesar y analizar los espectros. Por lo que respecta al espectro de masas del compuesto **7**, éste se obtuvo en un Espectrómetro de Masas de Alta Resolución de Ionización Química a Presión Atmosférica (HR-APCI) marca Perkin Elmer, modelo DSA-AxION2 TOF, en la modalidad positiva.

### **6.3 Preparación de la Fracción de AcOEt**

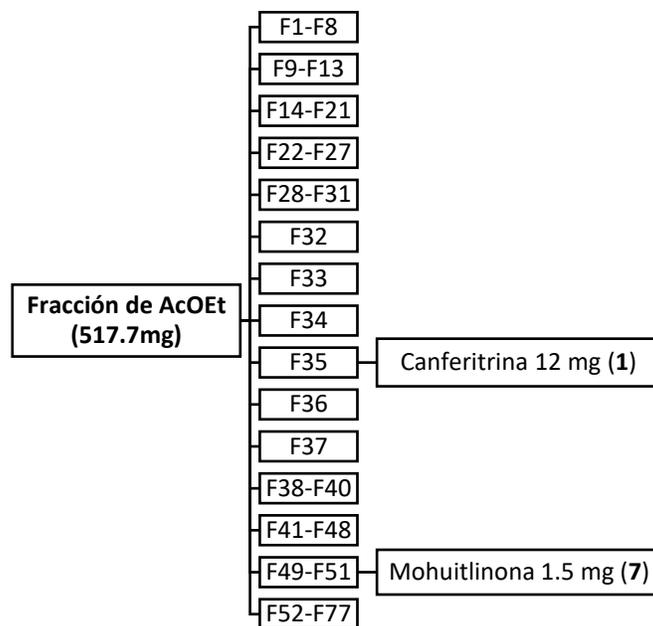
La infusión de *J. spicigera* se preparó a partir de 5 gramos de material vegetal y 250 mL de agua destilada (previamente llevada a ebullición, temperatura aprox. 75°C) y se dejó macerar por 30 minutos. Posteriormente, se filtró utilizando papel filtro (Whatman no. 1). Una vez que el filtrado alcanzó la temperatura ambiente se le agregó 250 mL de AcOEt, se selló con teflón y guardó en refrigeración por 24 h, transcurrido el tiempo se llevó a un proceso de reparto (250 mL x 3). Las fracciones orgánicas resultantes se combinaron y secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y, finalmente, se concentraron a vacío. Este proceso se repitió hasta la obtención de 1.5 g de la fracción primaria de AcOEt (Figura 7).



**Figura 7.** Diagrama general para la preparación de la fracción de AcOEt

#### 6.4 Aislamiento de la canferitrina (1)

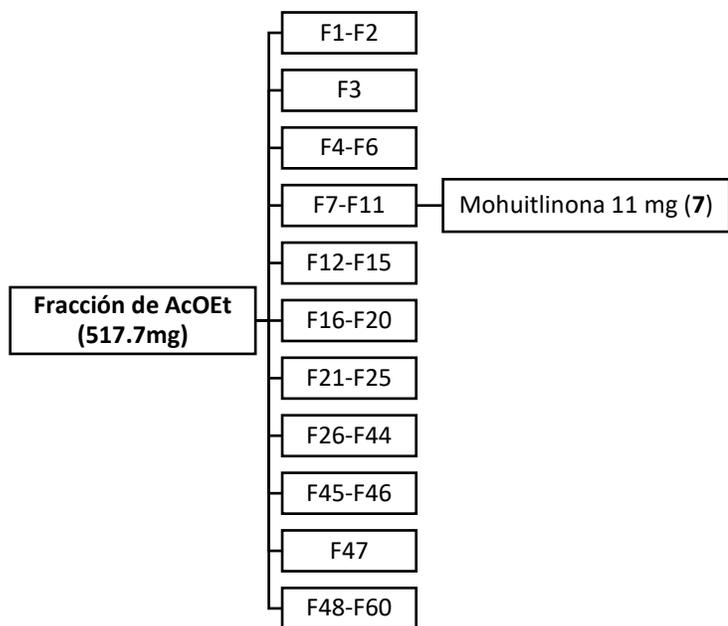
Se realizó un fraccionamiento secundario de una parte de la fracción de AcOEt (500 mg) por medio de cromatografía en columna abierta sobre Sephadex LH-20 y como disolvente se utilizó metanol. Este proceso generó un total de 77 fracciones las cuales fueron analizadas mediante CCD y reunidas de acuerdo a su similitud cromatográfica dando como resultado un total de 15 fracciones; en la Figura 8 se muestra el fraccionamiento de la especie vegetal *J. spicigera*.



**Figura 8.** Diagrama del Fraccionamiento secundario de la fracción de AcOEt por columna con Sephadex LH-20

### 6.5 Aislamiento de la Mohuitlinona (7)

La fracción de AcOEt (517.7 mg) se sometió a un fraccionamiento por cromatografía en columna abierta usando como fase estacionaria gel de sílice desactivada al 10% (p/v H<sub>2</sub>O<sub>dd</sub>) y como eluyentes CHCl<sub>3</sub>-MeOH (100:0 → 80:20). Dicho procedimiento dio como resultado un total de 60 fracciones las cuales fueron analizadas por CCD y reunidas conforme a su similitud cromatográfica, para así obtener un total de 11 fracciones; en la Figura 9, se ilustra un diagrama con el proceso del fraccionamiento secundario.



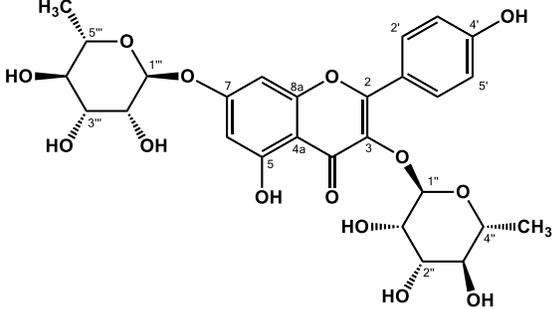
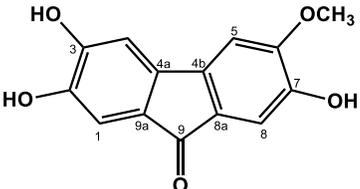
**Figura 9.** Diagrama del Fraccionamiento secundario de la fracción de AcOEt por columna abierta con Gel de sílice como fase estacionaria

## 7. Resultados y Discusión

La especie *Justica spicigera* fue seleccionada como objeto de esta investigación debido a sus amplios usos documentados en la medicina tradicional de México. Asimismo, diferentes extractos obtenidos de sus partes aéreas (considerada la droga cruda) han sido motivo de numerosos estudios farmacológicos a nivel preclínico, con los cuales se ha podido demostrar sus efectos antidiabéticos, antihipertensivos, antimicrobianos y ansiolíticos. También, se han realizado ensayos para conocer su actividad antinociceptiva y antiinflamatoria (*vide* antecedentes). Todas estas actividades farmacológicas demostradas están en armonía con algunos de los usos etnomédicos reportados y permiten confirmar su importancia como planta medicinal. Sin embargo, su contenido metabólico no ha sido ampliamente explorado y hasta la fecha sólo han sido reportados seis metabolitos los cuales han sido aislados principalmente de extractos orgánicos como son: hexánicos, metanólicos, etanólicos y clorofórmicos. En este sentido, este proyecto estuvo enfocado a determinar la composición química de la infusión acuosa, la cual se eligió como extracto de estudio debido a que es el preparado tradicional más utilizado para la planta en estudio (*Vease*, antecedentes). Con la finalidad de resolver la composición química de la infusión y partiendo de una forma de aproximación menos compleja, ésta se sometió a una extracción líquido-líquido con acetato de etilo (AcOEt), considerado un disolvente de mediana polaridad. Una parte de la fracción concentrada y seca de acetato de etilo fue sometida a una cromatografía en columna por exclusión utilizando como fase estacionaria sephadex LH-20 y otra fue sometida a una cromatografía de adsorción utilizando gel de sílice. Estos fraccionamientos permitieron el aislamiento de dos metabolitos, uno de los cuales corresponde a la canferitrina (**1**), previamente reportada en la especie en estudio, y el otro a una fluorenona, que es un compuesto con una estructura de tipo difenilcetona. Las evidencias presentadas sobre su elucidación estructural permiten determinar que corresponde a una entidad química nueva a la cual se le dio el nombre de mohuitlinona (**7**), esto haciendo referencia al muicle y a su nombre en náhuatl. Adicional al aislamiento de estos dos metabolitos, la infusión y la fracción de acetato de etilo se analizaron mediante RMN <sup>1</sup>H, HPLC y CCD con la finalidad de identificar preliminarmente, los principales metabolitos presentes en la infusión.

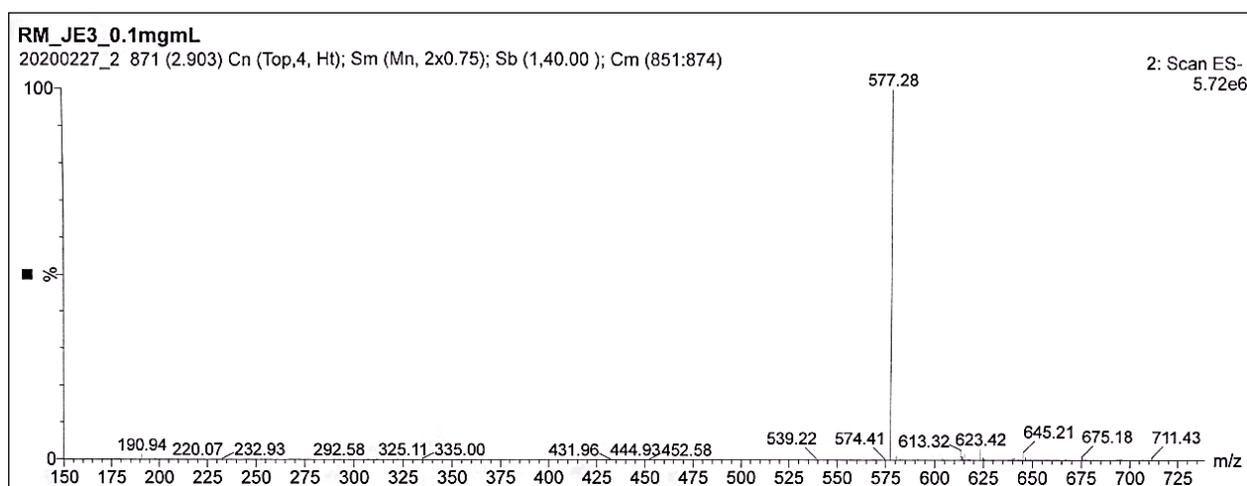
Se presentan a continuación el análisis de los resultados de la elucidación estructural de estos compuestos (Tabla 4).

**Tabla 4.** Metabolitos aislados de la infusión de *J. spicigera* (muitle)

Compuesto	Aislamiento
 <p>3,7-O-bis-<math>\alpha</math>-L-ramnopiranosido de Canferol            Nombre común: Canferitrina (<b>1</b>)            Fórmula molecular: C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>14</sub></p>	<p>Columna de Sephadex LH-20 (12 mg)</p>
 <p>2,3,7-trihidroxi-6-metoxi-9-fluorenona            Nombre común: mohuitlinona (<b>7</b>)            Fórmula molecular: C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub></p>	<p>Columna del gel de sílice (11 mg)            Columna de Sephadex LH-20 (1.5 mg)</p>

## 7.1 Elucidación estructural de la canferitrina (1)

La elucidación estructural de este compuesto se realizó analizando los espectros de RMN, IR y EM, así como por comparación de los datos descritos en la literatura (Euler y Alam, 1982; Nakano et al., 1983). La canferitrina se aisló como un sólido blanco, soluble en mezclas de metanol-agua y acetonitrilo-agua y poco soluble en metanol. Se masa molecular a dos dígitos, obtenida experimentalmente por ESI-EM en modo negativo fue:  $[M - H]^-$   $m/z$  577.28 (Figura 10). A partir de este valor de masa se estableció la fórmula:  $[C_{27}H_{29}O_{14}]^-$  (masa exacta calculada:  $[M - H]^-$  calc.  $m/z$  577.1557).



**Figura 10.** Espectro de masas por Electro spray (ESI-EM), modo negativo de la canferitrina (1)

El espectro de IR presentó las siguientes bandas de absorción: se observa una banda ancha e intensa en  $\nu$  3304  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde a los grupos hidroxilos (OH), otra banda intensa en  $\nu$  1650  $\text{cm}^{-1}$  para grupo carbonilo (C=O), característica de una  $\gamma$ -pirona, así como bandas en  $\nu$  2982, 2937 y 1599  $\text{cm}^{-1}$  que confirman el carácter aromático de la molécula (Ver anexo, Figura 26-29). El espectro de absorción UV/visible muestra dos bandas características de flavonoides:  $\lambda$  264 nm y 314 nm (Figura 23).

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) mono y bidimensionales permiten determinar que se trata de un flavonoide diglicosilado. El análisis se presenta a continuación: El espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, Metanol- $d_4$ ) presenta cuatro señales en

la región de los aromáticos:  $\delta$  7.78 ppm (dd,  $J = 8.5, 1.5$  Hz, 2H), 6.92 ppm (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 6.71 ppm (d,  $J = 2.2$ , 1H) y 6.45 ppm (d,  $J = 2.0, 0.8$  Hz, 1H) que corresponden a la aglicona (flavonol) y que integran en total para 6 protones. Las constantes de acoplamiento permiten confirmar el patrón de sustitución en los dos anillos, tanto en el anillo A que corresponden a una sustitución en *meta* ( $J \cong 1.5$  Hz) donde los protones forman un sistema AX, como del anillo C, que están en posición *orto* ( $J \cong 8.7$  Hz) y que corresponden a un sistema AA'BB'. Por otra parte, se observan dos señales asignables a los protones anoméricos que corresponden a los residuos de ramnosa: una en  $\delta$  5.55 ppm y otra en  $\delta$  5.38 ppm. Los valores de sus constantes de acoplamiento ( $J \cong 1.8$  Hz) indican que los protones anoméricos se encuentran en posición axial que corresponde al anómero  $\alpha$  (alpha). En la región  $\delta$  3.32–3.87 ppm se localizan las señales asignables a los protones de los dos residuos de ramnosa. De acuerdo a las correlaciones detectadas en el espectro COSY H-H se pudieron asignar los protones que corresponden a la ramnosa en la posición C-3 así como a la ramnosa en la posición C-7. Finalmente, a campo alto encontramos dos señales en  $\delta$  1.25 y 0.92 ppm, cada una de las cuales integra para tres protones y se acoplan con un protón vecinal ( $J = 6.0$  ppm), y que de acuerdo al análisis en el HMBC permite determinar que se tratan de los metilos en la posición C-5 de cada uno de los residuos de ramnosa. En el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, Metanol- $d_4$ ), se detectaron 25 señales (Tabla 5, Figura 12) dos de las cuales son equivalentes y corresponden a C-2' y C-6' en  $\delta$  130.5 ppm y C-3' y C-5' en  $\delta$  115.4 ppm, así como tres carbonos aromáticos oxigenados en  $\delta$  161.4 (C-5), 162.3 (C-7), y 160.5 ppm (C-4'); todas estas señales pertenecen al residuo flavan-3-ol. El valor del carbono carbonílico del sistema  $\gamma$ -pirona se encuentra en  $\delta$  179.7 ppm. Por todo este análisis, la aglicona fue identificada como canferol (kaempferol). Los carbonos pertenecientes a los residuos de azúcar se encuentran en  $\delta$  70-73 ppm. Finalmente los carbonos anoméricos están en  $\delta$  99.8 (C-1'') y 103.5 ppm (C-1'''). Las correlaciones observadas en el HMBC (H $\rightarrow$ C) confirman la posición de los residuos de ramnosa y por lo tanto permiten determinar, finalmente, que la molécula se trata del 3,7-O-bis- $\alpha$ -L-ramnopiranosido del canferol, conocido comúnmente como canferitrina (Kaempferitrin).

**Tabla 5.** Datos de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, Metanol- $d_4$ ) y  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, Methanol- $d_4$ ) de **1**

<b>C</b>	$\delta_c$	$\delta_H$ ( <b>J en Hz</b> )
2	158.4	-
3	135.2	-
4	179.7	-
4a	106.1	-
5	161.4	-
6	99.3	6.45 (d, 2.0)
7	162.7	-
8	94.3	6.71 (d, 2.1)
8a	156.7	-
1'	120.8	-
2'	130.5	6.92 (d, 8.7)
3'	115.4	7.78 (d, 8.4, 1.5)
4'	160.49	-
5'	115.4	7.78 (d, 8.4, 1.5)
6'	130.5	6.92 (d, 8.7)
1''	99.8	5.55 (d, 1.8)
2''	71.7	4.01 (dd, 3.5, 1.7)
3''	72.0	3.82 (dd, 9.4, 3.5)
4''	73.6	3.47 (dd, 9.5, 9.5)
5''	71.3	3.59 (dq, 9.5, 6.1)
6''	18.1	1.25 (d, 6.1)
1'''	103.5	5.38 (d, 1.7)
2'''	71.9	4.21 (dd, 3.4, 1.7)
3'''	72.1	3.71 (dd, 9.0, 3.3)
4'''	73.2	3.35-3.32 (m)
5'''	72.1	3.35-3.32 (m)
6'''	17.7	0.92 (5.8)

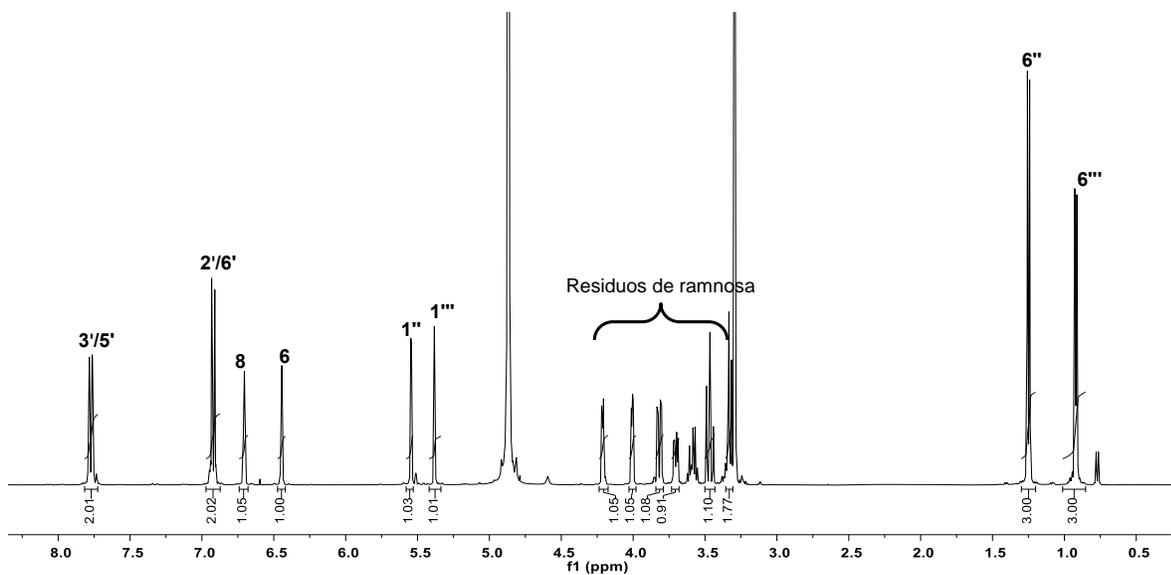


Figura 11. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CH}_3\text{OH-d}_4$ ) del compuesto 1

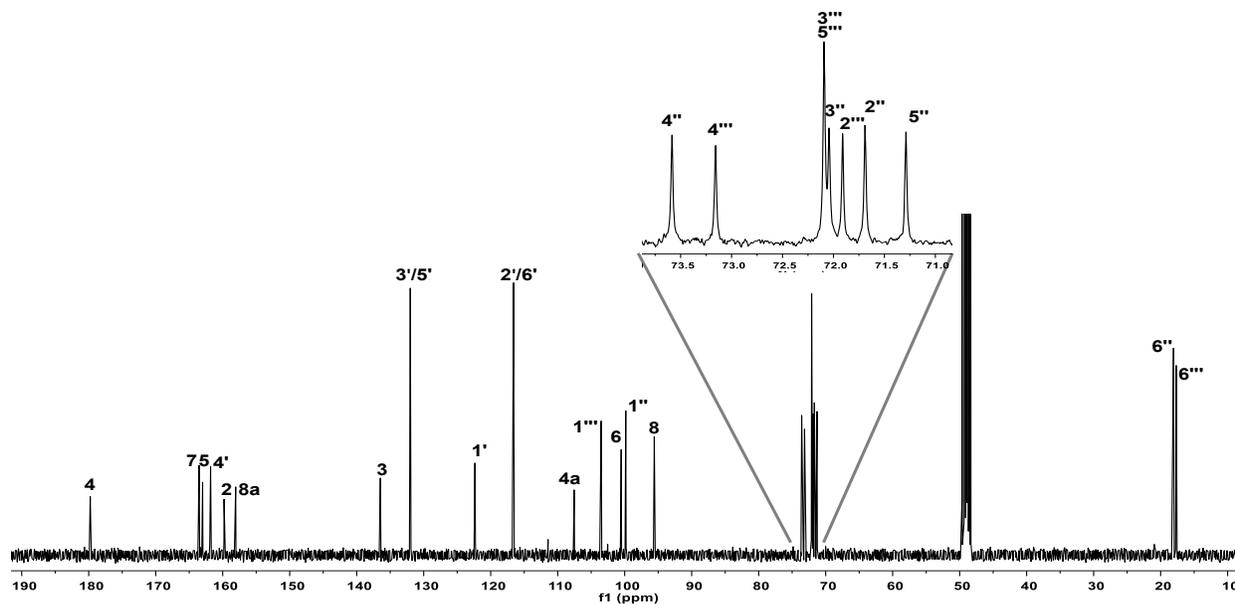


Figura 12. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz,  $\text{CH}_3\text{OH-d}_4$ ) del compuesto 1

Como se mencionó en los antecedentes, este metabolito ya había sido descrito en *Justicia spicigera*. Euler y Adams en 1982 lo aislaron a partir de una extracción exhaustiva (con equipo soxhlet) y usando etanol como disolvente.

Podemos mencionar de manera adicional que la canferitrina se describió por primera vez de la especie vegetal *Indigofera arrecta* (Fam: Fabaceae) (Perkin, 1907), que es una planta originaria de Sudáfrica la cual, al igual que *Indigofera tinctoria* nativa de la India, e *Indigofera suffruticosa* (añil) nativa de México, son plantas consideradas tintóreas. La canferitrina recibió otro nombre, lespedina, que fue nombrada así en 1940 por Hattori y Hasegawa, quienes la aislaron de la especie vegetal *Lespedeza cyrtobotrya* (Fam: Fabaceae). Algunos años después Hattori determinó que la canferitrina y la lespedina se trataban del mismo compuesto (Hattori, 1951).

En el 2020, Real Sandoval y colaboradores describieron la extracción de la canferitrina mediante una extracción con EtOH al 80% en una relación 1:100 m/v (0.1g en 10mL) de *J. spicigera*, encontrando que el contenido por gramo de hoja seca correspondía a 1.67 mg de canferitrina. Además, los autores realizaron un experimento con ratas wistar, con dieta alta en grasas (administradas por 8 semanas) y observaron que a una dosis de 250 µg/kg de canferitrina disminuía en un 16.8% los niveles en la acumulación de grasas y que también en la ganancia de peso se visualizaba una reducción del 9.64%, esto en comparación con el grupo que se le administró una dieta alta en grasas. También, se analizó al metabolito sobre la expresión de genes inflamatorios hepáticos, concluyendo que este flavonoide generó un efecto protector frente a una respuesta pro-inflamatoria al modular los genes: *Tnf-α*, *Tlr4*, *Nlrp3*, *Caspasa-1*, *Il-18* y *Il-1β*, *Ppar-γ*, *Ppar-α*, *Srebp-1c* y *Ucp2*, los cuales son clave en los procesos inflamatorios hepáticos. Los autores sugirieron que la canferitrina podría ser un candidato potencial para el tratamiento de enfermedades que pasan por procesos inflamatorios, como por ejemplo, la obesidad (Real-Sandoval, et al.,2020).

González-Trijano y colaboradores realizaron la evaluación del extracto acuoso de *J. spicigera* y de la la canferitrina. Observaron que en la prueba de convulsiones inducidas por pentilenetetrazol (PTZ), a una dosis de 1000 mg/kg *J. spicigera* redujo la gravedad de las convulsiones, es decir retrasó la aparición de convulsiones y redujo la

frecuencia de convulsiones tónicas, mientras que la canferitrina a una dosis de 1  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  administrada por vía intracerebroventricular (icv) demostró una disminución en la frecuencia y amplitud de los picos de la actividad electrográfica en ratas. Además, estimaron que la  $\text{DL}_{50}$  en ratones corresponde a  $>2000$  mg/kg. Con estos resultados los autores evidenciaron el potencial de *J. spicigera* como posible anticonvulsivo (González-Trujano, et al., 2017).

## 7.2 Elucidación estructural de la Mohuitlinona (7)

Este compuesto fue aislado como un sólido amorfo rojo, soluble en acetonitrilo, metanol, acetona, cloroformo, diclorometano, insoluble en agua. Su fórmula molecular corresponde a  $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_5$  la cual fue inferida a partir de los resultados del análisis del espectro (Figura 14) obtenido por HR-APCI (APCI: ionización química a presión atmosférica) modo positivo, donde se obtuvo una masa molecular experimental de:  $[\text{M} + \text{H}]^+ m/z 259.0744$  (masa exacta calculada para  $[\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{O}_5]^+$ :  $[\text{M} + \text{H}]^+ m/z 259.0606$ ). El índice de insaturación de la molécula es de 10. Es importante mencionar que la diferencia expresada como error en la masa ( $\Delta_{\text{ppm}}$ ) obtenida a partir del cálculo de la masa experimental (259.0744) y la masa exacta calculada (259.0601) es mayor a 10 ppm, lo que podría sugerir un error en la obtención del valor de masa y por lo tanto deberían realizarse experimentos adicionales en otras formas de ionización.

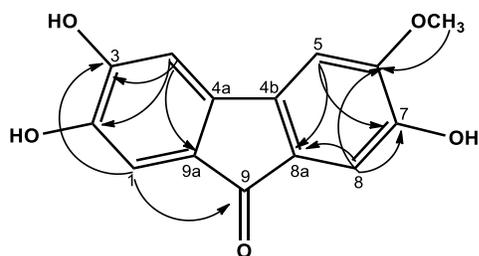
El espectro de infrarrojo (IR) presenta una banda ancha e intensa en  $\nu 3329 \text{ cm}^{-1}$  que corresponde a los grupos OH de la molécula, así como dos bandas en  $\nu 2578$  y  $2899 \text{ cm}^{-1}$  y otra en  $\nu 1565 \text{ cm}^{-1}$  que corresponden a la presencia de grupos aromáticos. Con respecto al grupo carbonilo, probablemente la banda de absorción de baja intensidad en  $\nu 1630 \text{ cm}^{-1}$  tenga relación con la cetona conjugada. Al respecto, se han generado diferentes propuestas para explicar el comportamiento en el IR de las fluorenonas y se ha llegado a plantear que tanto los cambios en las fuerzas intermoleculares, como la geometría (que es plana) alrededor del grupo carbonilo inducen la transferencia de electrones, desde los anillos de benceno y sus sustituyentes, al enlace  $\text{C}=\text{O}$ , lo que podría dar como resultado vibraciones de estiramiento similares a las del anillo de benceno (Tanaka et al., 2003; Heldt et al., 2001), de tal forma que en algunas fluorenonas el valor

de estiramiento relacionado a la cetona conjugada en el IR puede estar muy débil o desaparece. Por último, es importante mencionar que la absorción en el IR de los grupos C=O de las fluorenonas es altamente dependiente de la polaridad del disolvente utilizado para adquirir el espectro de IR, así como de la temperatura. En el caso del espectro de IR obtenido para el compuesto **7**, se utilizó la técnica de reflectancia total atenuada (ATR) lo que permite obtener los espectros sin tener que preparar muestras (utilizando alguna sal, como KBr) ni usar diluciones (algún disolvente). Otro aspecto particular relacionado con la estructura plana y conjugación extendida del compuesto **7** se ve reflejada en su espectro de UV/Vis. La mayoría de las fluorenonas presentan espectros con una banda de absorción característica (banda II) entre  $\lambda \sim 440-490$  nm (Talapatra, et al., 1985). En el caso del compuesto **1**, esta se ubica en  $\lambda_{\max}$  489 nm.

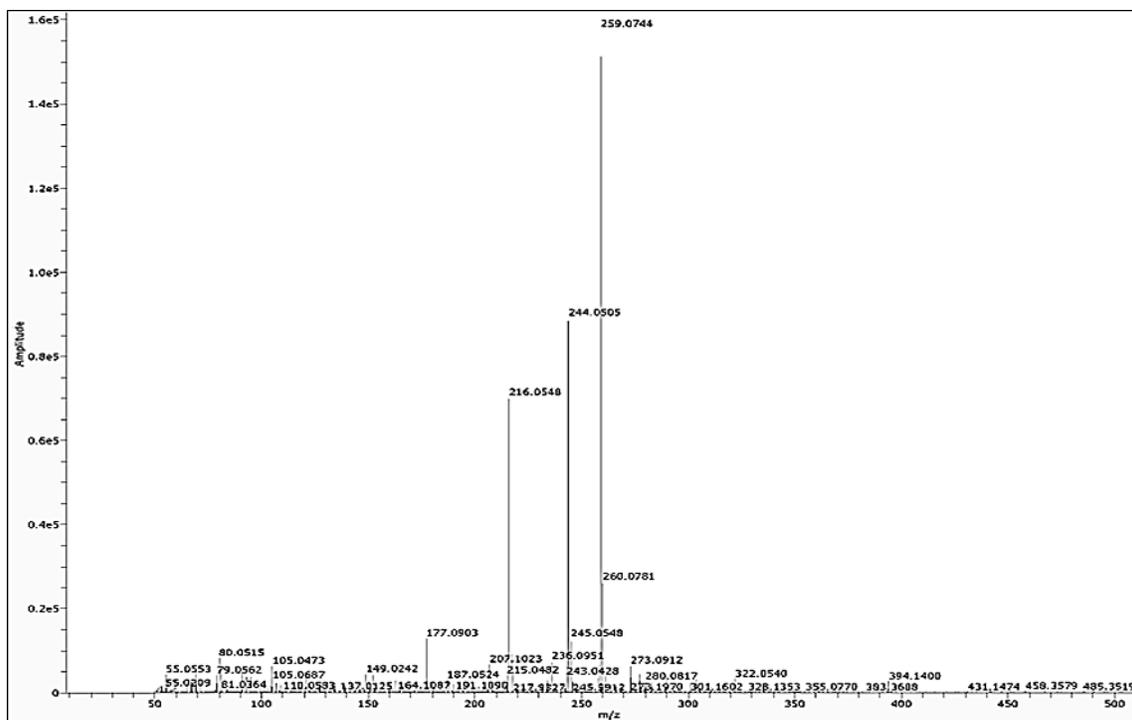
El espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, Metanol- $d_4$ ) presenta solo cinco señales, cuatro en la región aromática que integran cada una para un protón:  $\delta$  7.09 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.46 (s, 1H) y 6.45 ppm (s, 1H), y dado que no presentan multiplicidad se considera que están acoplados en posición *para* entre ellos. Finalmente, se observa una señal a campo alto que integra para tres protones  $\delta$  3.92 ppm (s, 3H) y que se corresponde a un grupo OCH<sub>3</sub>; esta señal se presenta como uno de los sustituyentes en uno de los anillos aromáticos, lo cual pudo ser confirmado por la correlación a larga distancia observada en el HMBC. En el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, Metanol- $d_4$ ) se detectaron 14 señales: una señal para grupo carbonilo en 180.7 (C-9), otras cinco más, que de acuerdo al análisis del HSQC, se relacionan a los protones detectados:  $\delta$  99.5 (C-1), 101.6 (C-8), 102.3 (C-4) y 107.44 ppm (C-5). También se observan cuatro carbonos cuaternarios aromáticos base de oxígeno:  $\delta$  151.0 (C-7), 149.0 (C-2), 147.8 (C-6) y 145.2 (C-3), tres de ellos se consideran que tiene sustituyentes de tipo OH y uno más un OCH<sub>3</sub>, de tal forma que uno de los anillos tiene dos OH en posición *orto* y el otro anillo un OCH<sub>3</sub> y un OH, también en posición *orto*. Las últimas cuatro señales restantes corresponden a carbonos cuaternarios que son los que unen al sistema triciclo fusionado: 143.87 (C-9a), 140.7 (C-8a), 130.8 (C-4a), 129.3 (C-4b). Por todo lo anteriormente expuesto, se propone que la estructura puede corresponder a la 2,3,7-trihidroxi-6-metoxi-9-fluorenona, la cual se le dio el nombre de mihuitlinona. Este nombre fue asignado haciendo honor a la cual se le dio el nombre de la especie en náhuatl: mouhitli.

**Tabla 6.** Datos de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, Metanol- $d_4$ ) y  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, Methanol- $d_4$ ) de **7**

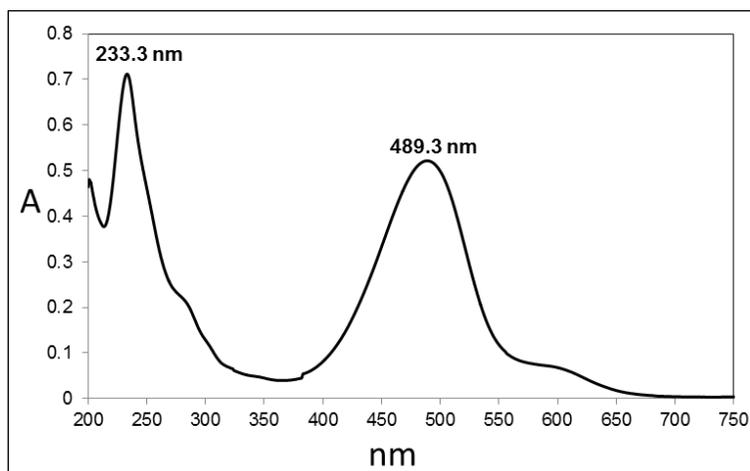
<b>C</b>	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ ( <b>J en Hz</b> )
<b>1</b>	100.7	6.46 (s)
<b>2</b>	146.3	-
<b>3</b>	151.0	-
<b>4</b>	103m.6	6.33 (s)
<b>4a</b>	130.8	-
<b>4b</b>	129.3	-
<b>5</b>	108.9	7.09 (s)
<b>6</b>	149.0	-
<b>7</b>	153.4	-
<b>8</b>	102.9	6.84 (s)
<b>8a</b>	140.7	-
<b>9</b>	180.7	-
<b>9a</b>	143.9	-
<b>OCH<sub>3</sub></b>	56.7	3.92 (s)



**Figura 13.** Algunas correlaciones detectadas a larga distancia en el espectro HMBC (H→C) del compuesto **7**.



**Figura 14.** Espectro de masas (HR-APCI modo positivo) del compuesto 7



**Figura 15.** Espectro de UV/vis (disolvente: MeOH) del compuesto 7

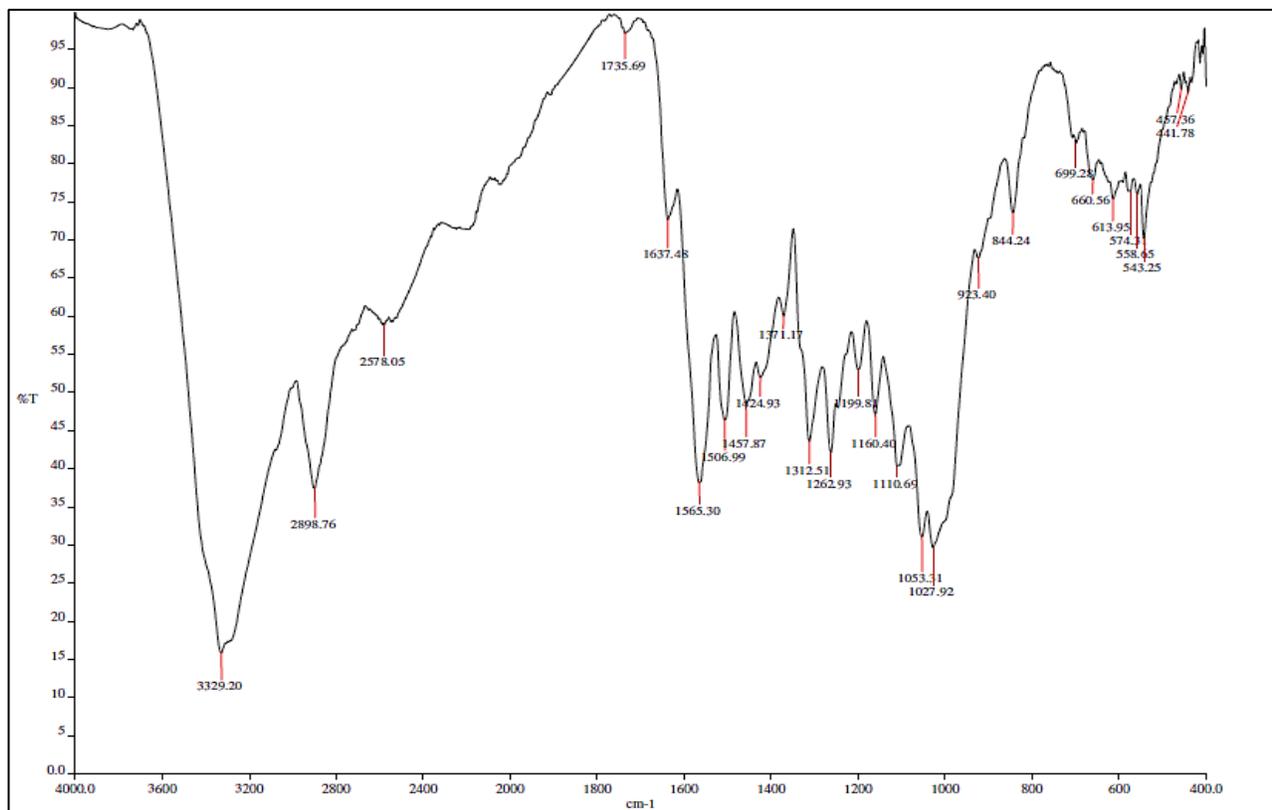


Figura 16. Espectro de IR (FTIR-ATR) del compuesto 7.

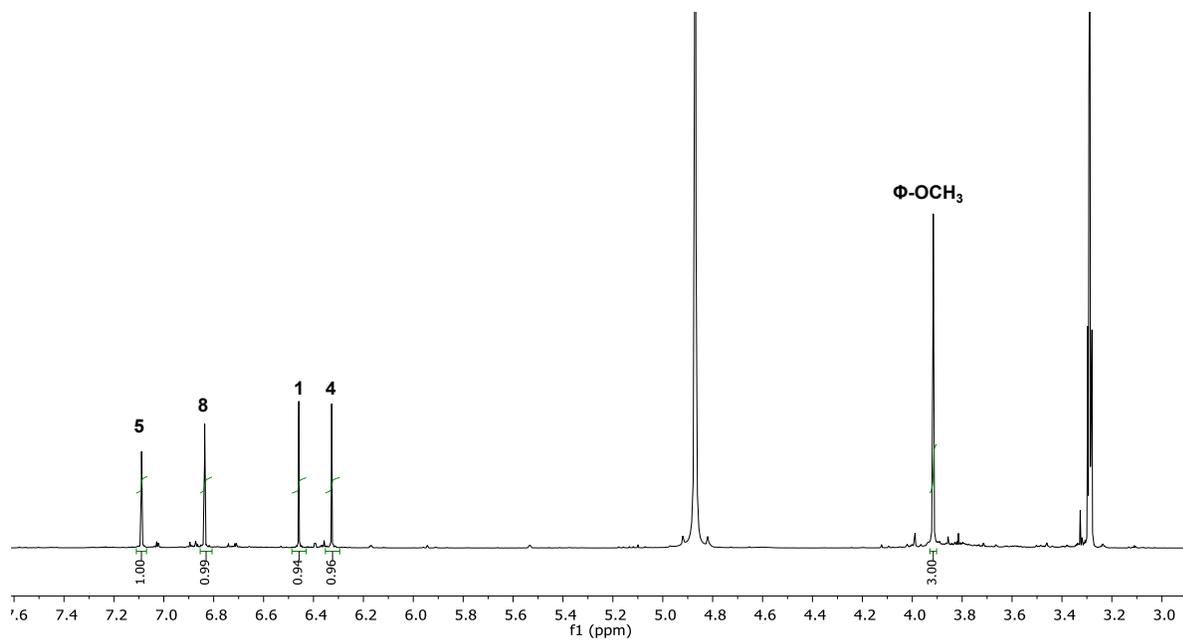


Figura 17. Espectro de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CH<sub>3</sub>OH-d<sub>4</sub>) del compuesto 7

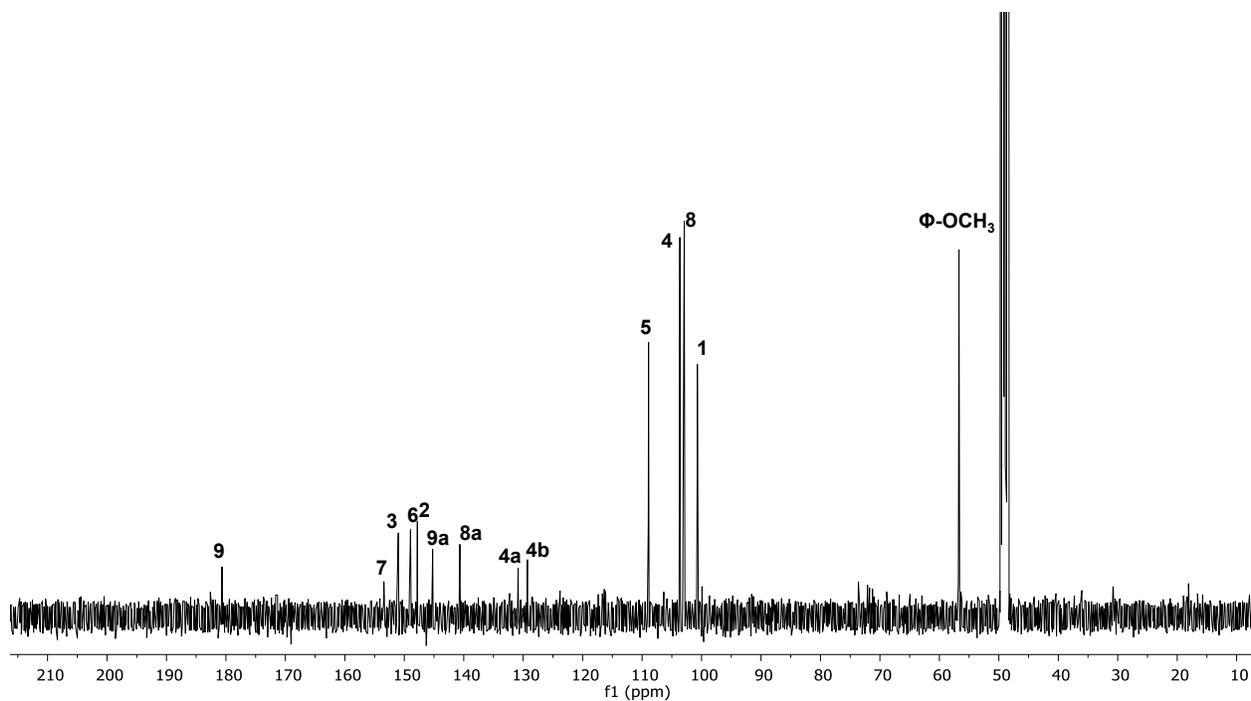


Figura 18. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, Metanol- $d_4$ ) del compuesto 7

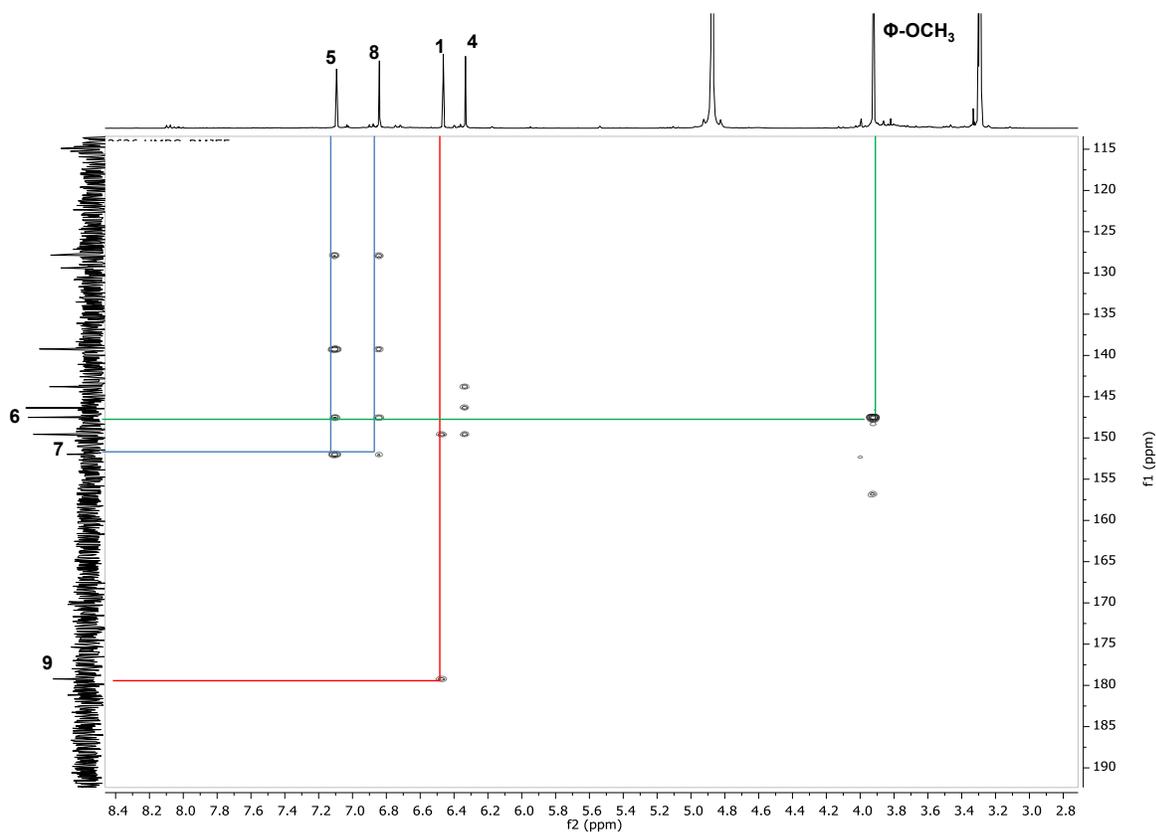


Figura 19. Espectro HMBC (H $\rightarrow$ C) del compuesto 7.

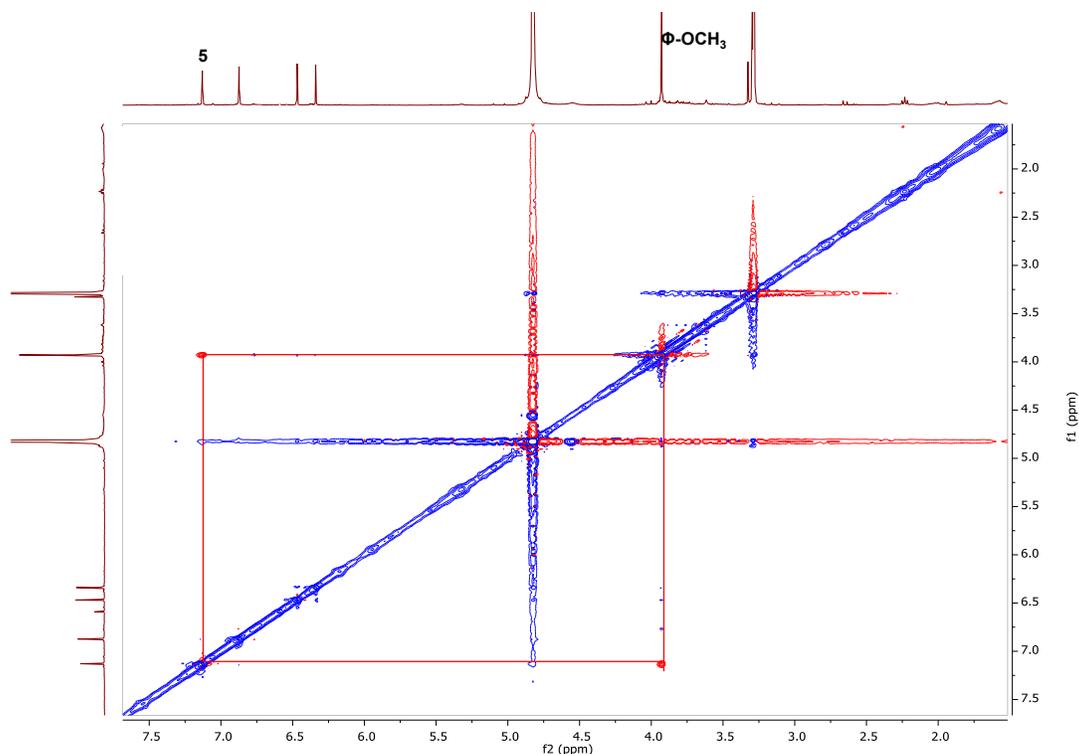
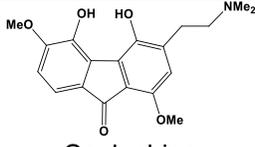
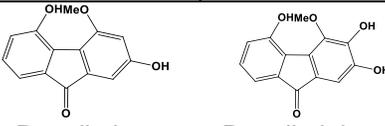
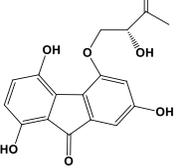


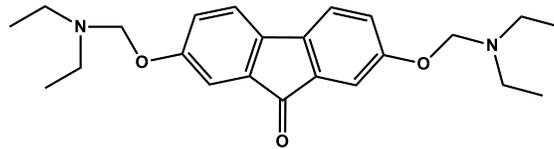
Figura 20. Espectro NOESY (H→H, espacial) del compuesto 7.

Las fluorenonas de origen natural no son muy abundantes y se restringen solo a unas pocas especies del reino vegetal y al reino monera. Algunos ejemplos en vegetales se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 7. Ejemplo de fluorenonas de origen natural.

Especie	Familia	Compuesto	Referencia
<i>Caulophyllum robustum</i>	Berberidaceae	 Caulophina	Wang, et al., 2009
<i>Dendrobium gibsonii</i>	Orchidaceae	 Dengibsina      Dengibsinina	Talapatra, et al., 1985
<i>Arundina gramnifolia</i>	Orchidaceae	 Gramnifenol H	Niu, et al., 2013

Existe actualmente en el mercado un fármaco con un grupo estructural de tipo fluorenona llamado tirolona (7-Bis[2-(diethylamino)ethoxy]-9H-fluoren-9-one) (Figura 21) el cual es utilizado para tratar diferentes signos y síntomas producidas por infecciones virales como son: el síndrome respiratorio de Oriente Medio, el chikungunya, el ébola, el Marburg. Este medicamento fue desarrollado por la farmacéutica Merrell Dow, que pasó a ser parte de Sanofi. Se comercializa con los nombres de Amixin® o Lavomax® exclusivamente en Rusia y algunos pocos países de Europa del Este como Ucrania (Ekins, et al., 2020).



**Figura 21.** Fármaco Tiroloxa (7-Bis[2-(diethylamino)ethoxy]-9H-fluoren-9-one).

Sobre su mecanismo de acción como antiviral este se debe a que actúa como inmunomodulador, es decir, regula la respuesta inmunitaria incrementando el nivel de interferones, que son células que regulan el sistema inmunitario. Este fármaco es altamente permeable, soluble en agua y puede atravesar la barrera hematoencefálica, lo que sugiere que podría ingresar a los sitios del cuerpo donde los virus podrían alojarse (Ekins, et al., 2020). Cabe agregar que el interferón (INF) es una familia de proteínas con actividad antiviral secretadas en respuesta a diferentes estímulos. Están conformadas por aproximadamente 150 aminoácidos, y son muy activas a bajas concentraciones, y están íntimamente relacionadas con el envío de señales en el proceso de comunicación intercelular de distintas células, particularmente encargadas de la respuesta inmune (Ramos-Bello, et al., 2008). Los autores observaron que la eficacia antiviral de la tirolona en ensayos *in vitro* utilizando líneas celulares deficientes en INF, sugería que el fármaco podía activar vías específicas del sistema inmunitario innato que suprimen la replicación viral, una de ellas podría ser la vía de señalización RLR (Receptores de Reconocimiento de Patrones, por sus siglas en inglés), el cual es capaz de reconocer el ARN viral intracelular e inducir una respuesta celular que conduce a la inducción de INF, es decir ayuda a aumentar la concentración de INF y con ello la detención de la replicación viral. Ekins y colaboradores (2020) mencionan que este mecanismo aún no está aprobado,

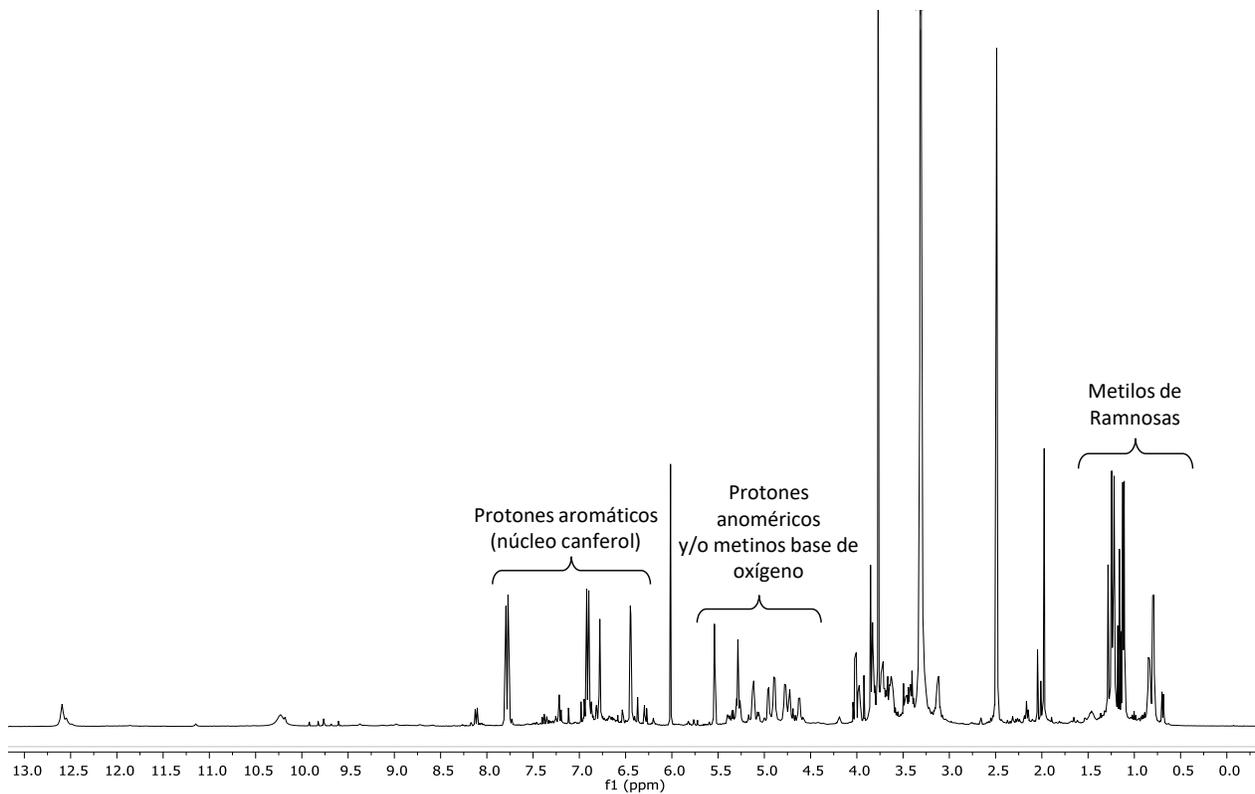
pero existen varios datos que apoyan su hipótesis: la activación de las vías de señalización de RLR que conduce a la producción de INF's (Ekins, et al., 2020).

### **7.3 Análisis cromatográfico y por RMN <sup>1</sup>H de la Fracción de AcOEt y de la infusión**

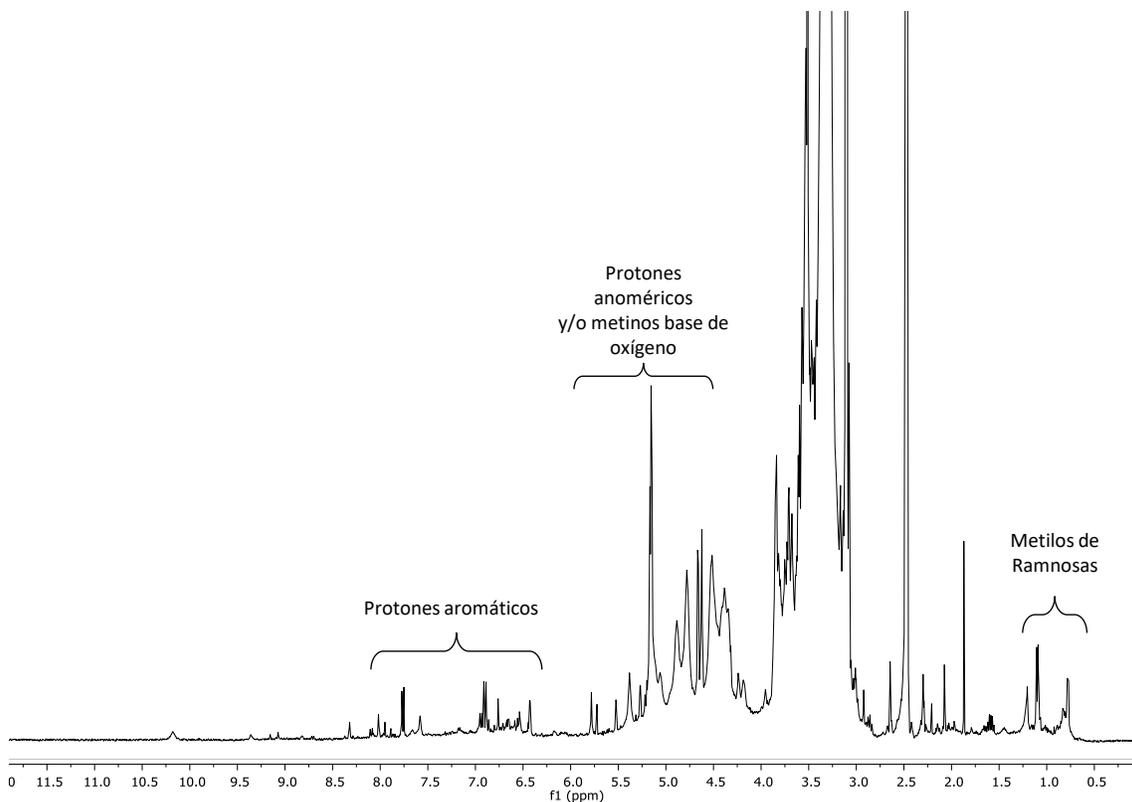
Con la finalidad de analizar la composición de la infusión y de la fracción de AcOEt, se obtuvieron los espectros de RMN <sup>1</sup>H, los resultados se presentan a continuación.

Se puede observar que la fracción de acetato de etilo es rica en compuestos relacionados a la canferitrina, es decir, compuestos que contienen núcleo de canferol (Figura 22). También, se observan unas señales que podrían ser consideradas diagnósticas de los residuos de azúcar y son los metilos entre  $\delta$  0.7–1.2 ppm, que pueden corresponder a los residuos de ramnosa. También, se detectan varios protones en la región  $\delta$  4.0–5.5 ppm que pueden corresponder a los protones anoméricos y/o a los metinos base de oxígeno de los residuos de azúcar.

Así mismo, en la infusión se pudieron detectar las señales correspondientes a protones aromáticos, sin embargo, se observa una menor proporción de los metilos de ramnosa (Figura 23).

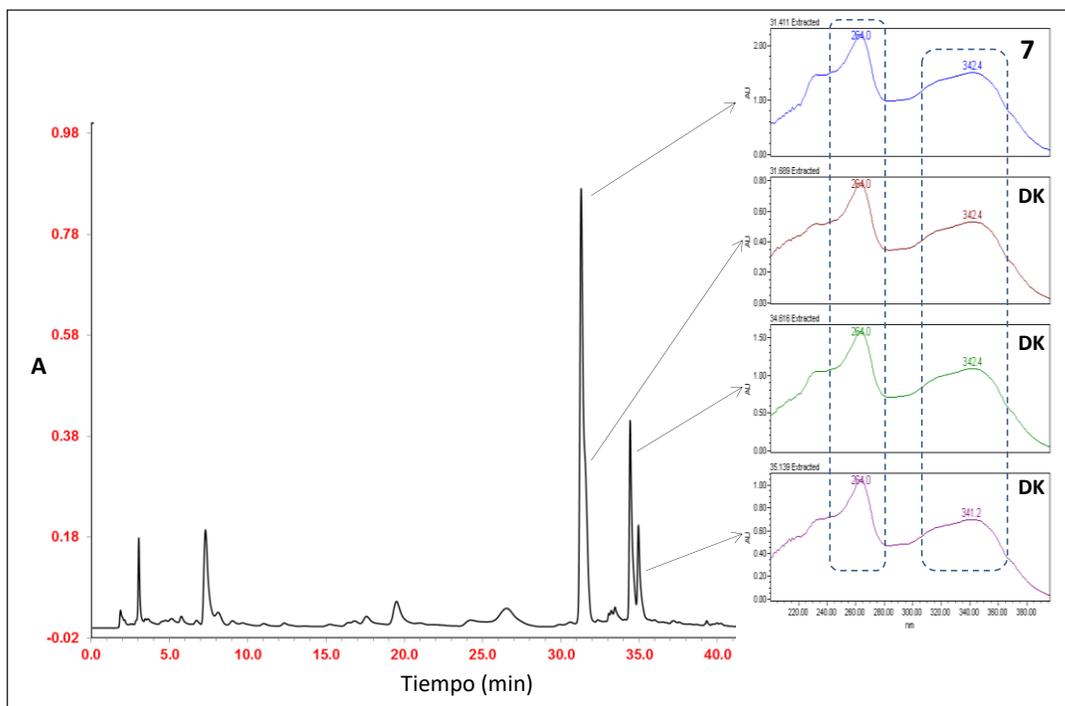


**Figura 22.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) de la fracción de acetato de etilo (5 mg/0.7 mL)



**Figura 23.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) de la infusión seca (extracto acuoso seco; 5 mg/0.7 mL)

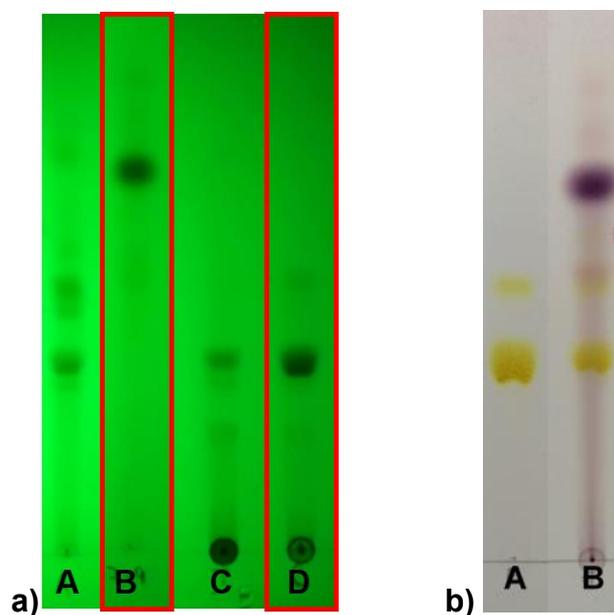
De manera adicional la fracción de acetato de etilo se analizó por cromatografía de líquidos de alta eficiencia (CLAE) y se pudo confirmar que uno de los metabolitos mayoritarios en esta fracción es la canferitrina (**1**). Se observan también otros metabolitos que presentan el mismo perfil de UV que la canferitrina, lo cual está en armonía con los resultados obtenidos por RMN  $^1\text{H}$  (Figura 24).



**Figura 24.** Cromatograma por CLAE-PDA de la fracción de AcOEt obtenida de la infusión de *J. spicigera*. **7**: canferitrina; **DK**: análogo de canferitrina;. Ver condiciones en Parte Experimental.  $\lambda = 275 \text{ nm}$ .

#### 7.4 Análisis por cromatografía en capa delgada

La fracción de AcOEt y la infusión también fueron analizadas por cromatografía en capa delgada. Se compararon con los compuestos obtenidos (**1** y **7**). Los resultados obtenidos se pueden ver en la figura 25a y 25b. Por lo que respecta a la figura 25a, la cromatoplaqueta se visualizó bajo la lámpara UV, y se identificaron los compuestos aislados: B: Mohuitlinona y D: canferitrina (encerrados en rojo); en la Figura 25b la cromatoplaqueta fue revelada con anisaldehído identificando en A a la canferitrina (tono amarillo), y en B a la fluorenona nombrada mohuitlinona (coloración morado con tonos azules).



**Figura 25.** Cromatograma po CCD de la fracción de AcOEt y compuestos aislados de *J. spicigera*. **a)** Visualización con lampara UV(254 nm), A: Fracc. de AcOEt, B: Mohuitlinona, C: Infusión y D: canferitrina. Mezcla de elución AcOEt:MeOH:H<sub>2</sub>O (8.5:1.0:0.5). **b)** Agente revelador anisaldehído, identificación de A: Canferitrina y B: Mohuitlinona.

Con estos resultados podemos inferir que la canferitrina es uno de los metabolitos principales en la infusión, pero también hay otros compuestos de tipo flavonoide derivados de canferitrina. Adicional, el aislamiento de la fluorenona es un hallazgo importante tanto desde el punto de vista químico como farmacológico. Las fluorenonas presentan hasta el día de hoy restricción taxonómica, ya que solo han sido aislados principalmente, en especies de orquídeas, por lo cual, su aislamiento permite contribuir de manera importante, a la composición química de *Justicia spicigera*.

## 8. Conclusiones

Se lograron aislar dos metabolitos de la infusión de *J. spicigera*. Uno de ellos corresponde a la canferitrina (**1**), la cual ha sido previamente reportada para la especie, pero es la primera vez que se reporta como metabolito en la infusión.

Se logró aislar un derivado de fluorenona (**7**), que resultó ser un compuesto nuevo ya que hasta la fecha no ha sido descrita en la literatura.

Se determinó de manera preliminar por RMN-<sup>1</sup>H, CLAE y CCD que la canferitrina (**1**) es uno de los metabolitos mayoritarios presentes en la infusión.

De acuerdo a los resultados obtenidos, este trabajo es una contribución adicional al estudio químico de *J. spicigera*, que aporta información relevante sobre su composición metabólica.

## **9. Perspectivas**

Aislar los metabolitos adicionales presentes en la infusión los cuales, a partir del análisis de los resultados presentados en este trabajo, podrían corresponder a derivados de canferitrina.

Con respecto a la mohuitlinona, al ser un compuesto nuevo y de naturaleza restringida, se propone llevar a cabo su síntesis química tanto para corroborar su estructura, como para realizar diferentes evaluaciones biológicas. Adicional, se podrá confirmar su masa exacta.

A partir de un método analítico validado con la infusión y sus metabolitos presentes, se propone realizar los experimentos pertinentes para determinar la composición química de cada uno de los extractos que se encuentran descritos en la literatura y que han sido ensayados farmacológicamente.

Dar a conocer los resultados en una publicación científica.

## 10. Referencias

- Acosta-Castellanos, S. (2007). Especie nueva de *Justicia* (Acanthaceae) del bosque tropical caducifolio de la costa de Oaxaca, México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 78(1), 11–14.
- Alonso-Castro, A., Maldonado-Miranda, J., Zarate-Martínez, A., Jacobo-Salcedo, M., Fernández-Galicia, C., Figueroa-Zuñiga, L., Ríos-Reyes, N. (2012). Medicinal plants used in the Huasteca Potosina, México. *Journal of Ethnopharmacology* 143, 292–298
- Alonso-Castro, A., Ortiz, E., Domínguez, F., Arana, V., Juárez, M., Chávez, M., Carranza, C., Gaspar, O., Espinosa, G., López, G., Ortiz, R., Gracia, A. (2012). Antitumor and immunomodulatory effects of *Justicia spicigera* Schltld (Acanthaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 141(3), 888–894.
- Alonso-Castro, A.J., Juárez-Vázquez, M., Campos-Xolalpa, N. (2016). Medicinal plants from Mexico, Central America, and the Caribbean used as immunostimulants. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2016, 4017676.
- Ángeles, G., González, M., Rodríguez, R., Déciga, M., Brindis, F., Ventura, R. (2019). Gastrointestinal activity of *Justicia spicigera* Schltld. in experimental models. *Natural Product Research*. 1–5.
- Argueta, A., Cano, L. M., Rodarte, M. E. (1994). *Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana II*. Ciudad de México, México: Instituto Nacional Indigenista.
- Baqueiro, I., Guerrero, J. (2017). Physicochemical and antioxidant characterization of *Justicia spicigera*. *Food Chemistry*, 218, 305-312.
- Barrera-Catalán, E., Herrera-Castro, N., Catalán-Heverástico, C., Ávila-Sánchez, P. (2015). Plantas medicinales del municipio de Tixtla de Guerrero, México. *Revista fitotecnia mexicana*, 38(1), 109–111
- Barret, K. E., Barman, S. M., Boitano, S., Brooks, H. L. (2010). *GANONG. Fisiología médica* (23a ed.). D. F., México: McGraw-Hill INTERAMERICANA.
- Bermúdez, A., Oliveira-Miranda, M., Velázquez, D. (2005). La Investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: Una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. *Interciencia*, 30(8), 453–459.
- Bernardo, E., Valdez, B., Gonzáles, D., Abdelmoteleb, A., Tzintzun, O., Ceceña, C., Gutiérrez, F. (2019) Silver nanoparticles from *Justicia spicigera* and their antimicrobial potentialities in the biocontrol of foodborne bacteria and phytopathogenic fungi. *Revista Argentina de Microbiología*, 51, 103–109.
- Blancas-Flores, G., Almanza-Pérez, J. C., López-Roa, R. I., Alarcón-Aguilar, F. J., García-Macedo, R., & Cruz, M. (2010). La obesidad como un proceso inflamatorio. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 67(2), 88–97.
- Brunton, L., Chabner, B. A., Knollmann, B. C. (2012). *Goodman & Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica* (12va ed.). D. F., México: McGraw Hill INTERAMERICANA.

- Cassani, J., Dorantes, A., Mayagoitia, L., Alva, G., Estrada, R. (2014). Anti-Depressant-Like Effect of Kaempferitrin Isolated from *Justicia spicigera* Schltl (Acanthaceae) in Two Behavior Models in Mice: Evidence for the Involvement of the Serotonergic System. *Molecules*, 19, pp. 21442–21461.
- Cohen, S. G., Parola, A., Parsons, G. H. (1973). *Photoreduction by amines*. *Chemical Reviews*, 73(2), 141–161.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) (2020). Banco de imágenes. México. Disponible en: <http://bdi.conabio.gob.mx/fotoweb/>
- Corrêa, G. M., Alcântara, A. F. de C. (2012). Chemical constituents and biological activities of species of *Justicia*: a review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22(1), 220–238.
- de la Cal y Bracho, Antonio (1932). Ensayo para la Materia Médica. Academia Médico-Quirúrgica, Puebla, p. 28.
- Departamento de Botánica, Instituto de Biología (IBUNAM) (2013). *Justicia*, ejemplares del: Herbario Nacional de México (MEXU), Plantas Vasculares. En *Portal de Datos Abiertos UNAM* (en línea), México, Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en: <https://datosabiertos.unam.mx/biodiversidad/>
- Departamento de Botánica, Instituto de Biología (IBUNAM) (2013). *Justicia spicigera* Schltl., ejemplar de: Herbario Nacional de México (MEXU), Plantas Vasculares. En *Portal de Datos Abiertos UNAM* (en línea), México, Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en: <http://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:MEXU:834936>.
- Domínguez-Barradas, C., Cruz-Morales, G., Gonzales-Gandara, C. (2015). Medicinal plants of the Ecological Reserve "Sierra of Otontepec" Township Chontla, Veracruz, Mexico. *CienciaUAT* [online]. 9(2), 41–52.
- Domínguez, X. A., Achenbach, H., González, Ch., Ferré-D'Amare, A. (1991). Estudio químico del "Muitle" (*Justicia spicigera*). *Revista Latinoamericana de Química*, 21, 142–143.
- Esquivel-Gutiérrez, E.; Noriega-Cisneros, R., Arellano-Plaza, M., Ibarra-Barajas, M., Salgado-Garciglia, R., Saavedra-Molina, A. (2013). Antihypertensive effect of *Justicia spicigera* in L-NAME-induced hypertensive rats. *Farmacology Online*. 2, 120–127.
- Esteban del Ángel, A., Cano Asseleih, L. M., Castro Guzmán, S., Sánchez Sánchez, O. *Herbolario de los Tének de Veracruz. Plantas utilizadas para afecciones de la mujer*, 1ª ed., Universidad Veracruzana (UV), Veracruz, 2018, p. 41–42.
- Euler, K.L., Alam, M. (1982). Isolation of kaempferitrin from *Justicia spicigera*. *Journal of Natural Products*, 45(2), 220–221.

- Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos. (2a.ed.). Secretaria de Salud Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 2013.
- Fernández, C., Juárez, E., Domínguez, M., Gallegos, J., Herrera, D., Sánchez, A., Aranda, G., Manzod, J., Hernández, M. (2018). Hydroalcoholic extract of the widely used Mexican plant *Justicia spicigera* Schldl. exerts a cytostatic effect on LNCaP prostate cancer cells. *Journal of Herbal Medicine*, 12, 66–72.
- Fonseca Chávez, R.E., Rivera Levario, L.A., Vázquez García, L. *Guía ilustrada de plantas medicinales del Valle de México*. Instituto Nacional de los Pueblos Indígenas, México, 2020, p. 134–135.
- Fumiko A., Shinya N., Okawa M., Kinjo J., Akahane H., Ogura T., Martinez, M., Reyes-Chilpa, R. (2005). Trypanocidal Constituents in Plants 5. Evaluation of Some Mexican Plants for Their Trypanocidal Activity and Active Constituents in the Seeds of *Persea americana*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28, 1314–1317.
- García-Márquez, E., Román-Guerrero, A., Pérez-Alonso, C., Cruz-Sosa, F., Jiménez-Alvarado, R., Vernon-Carter, E. (2012). Effect of solvent-temperature extraction conditions on the initial antioxidant activity and total phenolic content of muiltle extracts and their decay upon storage at different pH. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 11(1), 1–10.
- García-Ríos, R., Mora-Pérez, A., González-Torres, D., Carpio-Reyes, R., Soria-Fregozo, C. (2019) Anxiolytic-like effect of the aqueous extract of *Justicia spicigera* leaves on female rats: A comparison to diazepam. *Phytomedicine*, 55, 9–13.
- Gómez Verjan, J.C. (2010). Ensayos de actividad biológica y búsqueda de metabolitos secundarios de *Justicia spicigera*. Tesis de Maestría, UNAM. México, D.F.
- González-Trujano, M., Domínguez, F., Pérez, G., Aguillón, M., Martínez, D., Almazán, S., Martínez, A. (2017). *Justicia spicigera* Schldl. and kaempferitrin as potential anticonvulsant natural products. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 92, 240–248.
- Hattori, S. Hasegawa, M. (1940). Lespedin, a birhamnoside of kaempferol. *Proc. Imp. Acad. (Tokyo)*, 16, 9-11.
- Hattori S. (1951). Identity of Lespedin with Kaempferitrin. *Nature*, 168, 788.
- Heinrich, M., Kuhnt, M., Wright, C., Rimpler, H., Phillipson, J.D., Schandelmaier, A., Warhurst, D.C. (1992). Parasitological and microbiological evaluation of Mixe Indian medicinal plants (Mexico). *Journal of Ethnopharmacology* 36, 81–85.
- Heldt J. R., Heldt J., Józefowicz M., Kamiński J. (2001). Spectroscopic Studies of Fluorenone Derivatives. *Journal of Fluorescence*, 11(1), 65–73.

- Hernández, F., & UNAM. (2015). *Tomo II. Historia Natural de la Nueva España*. Obras completas de Francisco Hernández. Tomado de: [http://www.franciscohernandez.unam.mx/tomos/02\\_TOMO/tomo002\\_002/tomo002\\_002\\_100.html](http://www.franciscohernandez.unam.mx/tomos/02_TOMO/tomo002_002/tomo002_002_100.html).
- Herrera-Arellano, A., Jaime-Delgado, M., Herrera-Álvarez, S., Oaxaca-Navarro, J., Salazar-Martínez, E. (2009). "Uso de terapia alternativa/complementaria en pacientes seropositivos a VIH," *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 47(6), 651–658.
- Hersch Martínez P (2009). *La flora medicinal de comunidades indígenas. En: Estado del desarrollo económico y social de los pueblos indígenas de Guerrero*. Programa Universitario México Nación Multicultural-UNAM. México, 2009.
- Hyeon J.H, Yong S.L, Jaesuk Y., Sang-Bae Han, Dong Ju Son, Jin Tae Hong (2020). Anxiolytic-like effects of the ethanol extract of *Magnolia obovata* leaves through its effects on GABA-benzodiazepine receptor and neuroinflammation. *Behavioural Brain Research*, 383, 112518.
- International Association for the Study of Pain (IASP). (2017, Terminology IASP. Recuperado 2 de mayo de 2020, de <https://www.iasp-pain.org/Education/Content.aspx?ItemNumber=1698#Pain>
- International Diabetes Federation (IDF). (2020). About diabetes. Recuperado 01 de mayo de 2020, de <https://idf.org/>
- Jacobo-Salcedo, M.D.R., Alonso-Castro, A.J., Salazar-Olivo, L.A., Medellín-Milañ, P., Garcíá-Carrancá, A. (2011). Antimicrobial and cytotoxic effects of Mexican medicinal plants. *Natural Product Communications*. 6(12), 1925–1928.
- Jeanne Demol C.M., *Protección y cura: medicina tradicional en comunidades negras de la Costa Chica, Oaxaca*. 1ª ed. Universidad Nacional Autónoma de México, Programa Universitario de Estudios de la Diversidad Cultural y la Interculturalidad, México, D.F. 2017, p 91.
- Jin H., Yin H-L., Liu S-J, Chen L, Tian Y, Lin B, Wang Q., Dong J.-X. (2014). Cytotoxic activity of lignans from *Justicia procumbens*. *Fitoterapia* 94, 70–76.
- Juárez-Vázquez, M. del C., Carranza-Álvarez, C., Alonso-Castro, A. J., González-Alcaraz, V. F., Bravo-Acevedo, E., Chamarro-Tinajero, F. J., y Solano, E. (2013). Ethnobotany of medicinal plants used in Xalpatlahuac, Guerrero, México. *Journal of Ethnopharmacology*, 148(2), 521–527.
- Kimiko Nakano, Mikiko Takatani, Toshiaki Tomimatsu, Toshihiro Nohara. 1983. Four Kaempferol Glycosides from Leaves of *Cinnamomum Sieboldii*. 22, 2831–2833.
- López-Bojorquez, L. N. (2004). La regulación del factor de transcripción NF-κB. Un mediador molecular en el proceso inflamatorio. *Revista de investigación clínica*, 56(1), 83–92

- Magos, G., Santiago, J., Carrasco, O. (2017). Exploratory studies of some Mexican medicinal plants: Cardiovascular effects in rats with and without hypertension. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 6, 274–279.
- Márquez, C., Lara, F., Esquivel, B., Mata, R. (1999). *Plantas Medicinales de México II. Composición, usos y actividad biológica*. Ciudad de México, México: UNAM
- Martínez Alfaro, M. A., Evangelista Oliva, V., Mendoza Cruz, M., Morales García, G., Toledo Olazcoaga, G., Wong León, A. *Catálogo de plantas útiles de la Sierra Norte de Puebla, México, Cuadernos del Instituto de Biología*. UNAM, Instituto de Biología, México, Distrito Federal, 2001. pp 19–22.
- Martínez-Moreno, D., Alvarado-Flores, R., Mendoza-Cruz, M., Basurto-Peña, B. (2006). Plantas medicinales de cuatro mercados del estado de Puebla, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 79, 79–87.
- Meckes, M., David-Rivera, A., Nava-Aguilar, V., Jimenez, A. (2004). Activity of some Mexican medicinal plant extracts on carrageenan-induced rat paw edema. *Phytomedicine*, 11(5), 446–451.
- NFM (1874). Nueva Farmacopea Mexicana, de la Sociedad Farmacéutica de México. Imprenta de Ignacio Escalante, México, 1874, p. 160.
- NFM (1896). Nueva Farmacopea Mexicana, tercera edición, de la Sociedad Farmacéutica de México. México: Oficina Tipográfica de la Secretaría de Fomento, 1896, p. 15.
- Niu D-Y, Han J-M, Kong W-S, Cui Z-W, Hu Q-F, Gao X-M. (2013). Antiviral Fluorenone Derivatives from *Arundina graminifolia*. *Asian Journal of Chemistry*, 25(17), 9514–9516.
- Norma Oficial Mexicana NOM-030-SSA2-2009. Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la hipertensión arterial sistémica. Diario Oficial de la Federación, 31 de mayo de 2010.
- Organización Mundial de la Salud (OMS) (2013). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Recuperado el 19 de octubre 2020, de [https://www.who.int/topics/traditional\\_medicine/WHO-strategy/es/](https://www.who.int/topics/traditional_medicine/WHO-strategy/es/)
- Ortiz, R., Cabañas, A., Arana, V., Alonso, A., Zapata, R., Salazar, S., Domínguez, F., Chávez, M., Carranza, C., García, A. (2012). Antidiabetic effects of *Justicia spicigera* Schltldl (Acanthaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 143(2), 455–462.
- Peraza-Sánchez, S., Cen-Pacheco, F., Noh-Chimal, A., May-Pat, A., Simá-Polanco, P., Dumonteil, E., García-Miss, M., Mut-Martín, M. (2007). Leishmanicidal evaluation of extracts from native plants of the Yucatan peninsula. *Fitoterapia*. 78(4), 315–318.
- Peraza-Sánchez, S., Poot-Kantún, S., Torres-Tapia, L., May-Pat, F., Simá-Polanco, P., Cedillo-Rivera, R. (2005). Screening of Native Plants from Yucatan for Anti-*Giardia lamblia*. Activity. *Pharmaceutical Biology*. 43(7), 594–598.

- Pérez Escandón, B. E., Villavicencio Nieto, M.A., Ramírez Aguirre A. Lista de las plantas útiles del estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca, 2003, p. 54.
- Pérez, R., Mota, J., Neira, A. (2018). Anti-inflammatory effect of procumbenoside B from *Justicia spicigera* on lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages and zebrafish model. *Pharmacognosy Research*, 10, 218–224.
- Pereza-Sanchez, S.R., Poot-Kantún, S., Torres-Tapia, L.W., Simá-Polanco, P., Cedillo-Rivera, R. (2005). Screening of Native Plants from Yucatan for Anti-*Giardia lamblia*. Activity. *Pharmaceutical Biology* 43(7), 594–598.
- Perkin, A. G. (1907). Constituents of Natural indigo. Part II. *Journal of the Chemical Society, Transactions*. 435–440.
- Pietta, P.-G. (2000). Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035–1042.
- Ponce-Macotela, M., Rufino-González, Y., De la Mora-de la Mora, J., González-Maciel, A., Reynoso-Robles, R., Martínez-Gordillo, M. (2001). Mortality and Morphological Changes in *Giardia duodenalis* Induced by Exposure to Ethanolic Extracts of *Justicia spicigera*. *Proceedings of the Western Pharmacology Society*, 44, 151–152.
- Ponce-Macotela, M., Navarro-Alegría, I., Martínez-Gordillo, M., Alvarez-Chacón, R. (1994). Efecto anti-giardiasico in vitro de 14 extractos de plantas. *Revista de investigación clínica*. 46(5), 343–347.
- Primera Farmacopea Mexicana, Academia Farmacéutica de la capital de la República. 1846, México. p.43
- Rachana, S.B., Mamta P., Priyanka K.M., Sonam S. (2011). Review and Future Perspectives of Using Vasicine, and Related Compounds. *Indo-Global Journal of Pharmaceutical Sciences* 1, 85–98.
- Rajasekhar, D., Subbaraju, G. V., Pillai, K. R. (2000). *Justicia* Lignans VI–Prostalidin D, A New Arylnaphthalide Lignan from *Justicia Diffusa* var. *Prostrata* C.B. Clarke. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2(4), 289–300.
- Ramírez, G., Zavala, M. Pérez, J., Zamilpa, A. (2012). In Vitro Screening of Medicinal Plants Used in Mexico as Antidiabetics with Glucosidase and Lipase Inhibitory Activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 1–6.
- Ramos-Bello, D. y Ramos-Niembro, F. (2008). Interferón: 50 años después (1957-2007). *Gaceta Médica de México*, 144 (1), 55–65.
- Rang, H., Dale, M., Ritter, J., Flower, R. (2008). *Rang y Dale Farmacología* (6ta ed.). Madrid, España: ELSEVIER.
- Real-Sandoval, S.A., Gutiérrez-López, G., Domínguez-López, A., Paniagua-Castro, N., Michicotl-Meneses, M., Jaramillo-Flores, M. (2020). Down regulation of proinflammatory liver gene expression by *Justicia*

*spicigera* and kaempferitrin in a murine model of obesity-induced by a high-fat diet. *Journal of Functional Foods*, 65, 103781.

Roma, P., Amandeep, G., Pankaj, B., Ishwarlal, J. (2020). Chronic Inflammation. StatPearls. NCBI. Bookshelf. Recuperado 1 de mayo de 2020, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493173/>

Rosas-Piñón, Y., Mejía, A., Díaz-Ruiz, G., Aguilar, M., Sánchez-Nieto, S., Rivero-Cruz, J.F. (2012). Ethnobotanical survey and antibacterial activity of plants used in the Altiplane region of Mexico for the treatment of oral cavity infections. *Journal of Ethnopharmacology* 141, 860–865.

Sanmartín Sáez J., Quilis Merín M., (Eds.). Retos y avances en lexicografía: los diccionarios del español en el eje de la variación lingüística. Valencia: Grafimprés, 2019.

Secretaría de Salud. Gobierno de México. (2015) ¿Qué es la ansiedad? Recuperado 01 de mayo de 2020, de: <https://www.gob.mx/salud/articulos/que-es-la-ansiedad>

Sepúlveda, G., Reyna, C., Chaires, L., Bermúdez, K., Rodrigues, M. (2009). Antioxidant Activity and Content of Phenolic Compounds and Flavonoids from *Justicia spicigera*. *Journal of Biological Sciences*, 9(6), 629–632.

Sessé, Martín, 1809, (autor). *Plantae Novae Hispaniae/Martín de Sessé y José María Mociño*; Graciela Zamudio Varela, coordinadora; María de la Paz Ramos Lara, editora. México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2016.

Talapatra, S.K. Bose, S., Mallik, A.K., Talapatra, B. (1985). In *The Chemistry of Indian Orchidaceae Plants-II*. Dengibsin and Dengibsinin, the First Natural Fluorenone Derivatives from *Dendrobium Gibsonii* Lindl. *Tetrahedron* 41, 2165–2769.

Tanaka S., Kato C., Horie K., Hamaguchi Hiro-o. (2003). Time-resolved infrared spectra and structures of the excited singlet and triplet states of fluorenone. *Chemical Physics Letters*, 381, 385–391.

Thomas F., D. (1999). *Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán*. Ciudad de México, México: UNAM.

Thomas F.D., Acosta Castellanos S. (2003). ACANTHACEAE\* FLORA DEL BAJÍO Y DE REGIONES ADYACENTES. Fascículo 117. Tomado de: <http://incolbajo.inacol.mx/floradelbajo/documentos/fasciculos/ordinarios/Acanthaceae%20117.pdf>

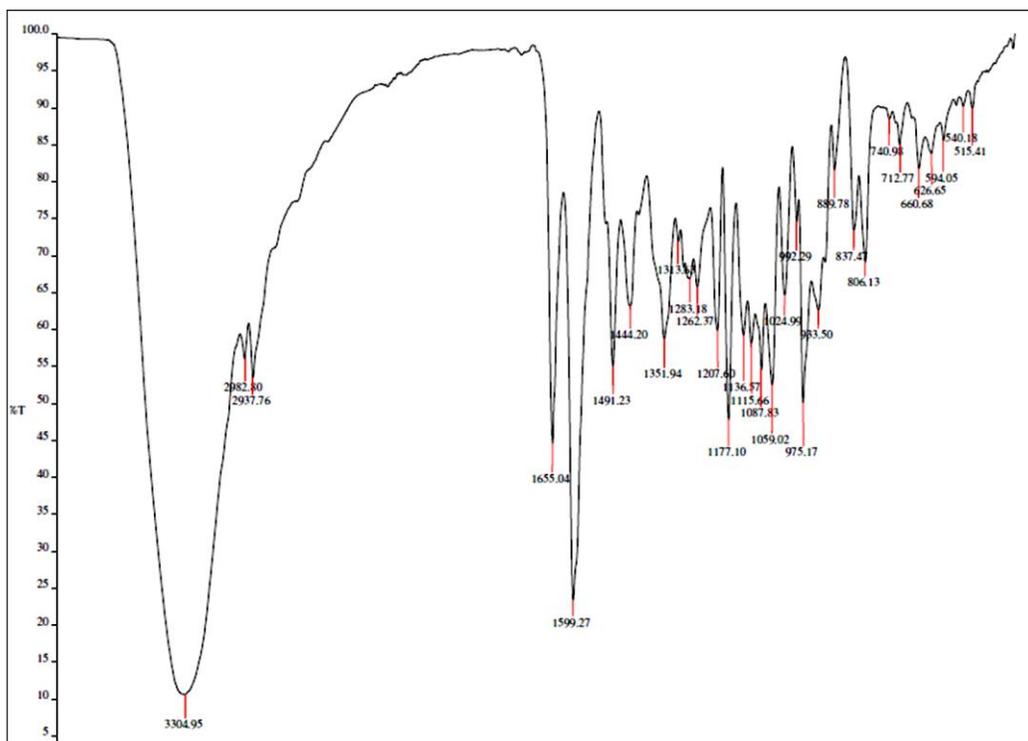
Thomas F., D. (2004). Acanthaceae of Sonora: Taxonomy and Phytogeography. *Proceedings of the California Academy of Sciences*, 55(35), 690–805.

Thomas, M. (1866). Sur le Sericographis Mohitli et sur la matière colorante fournie par cette plante. *Journal de Pharmacie et de Chimie*, 251–257.

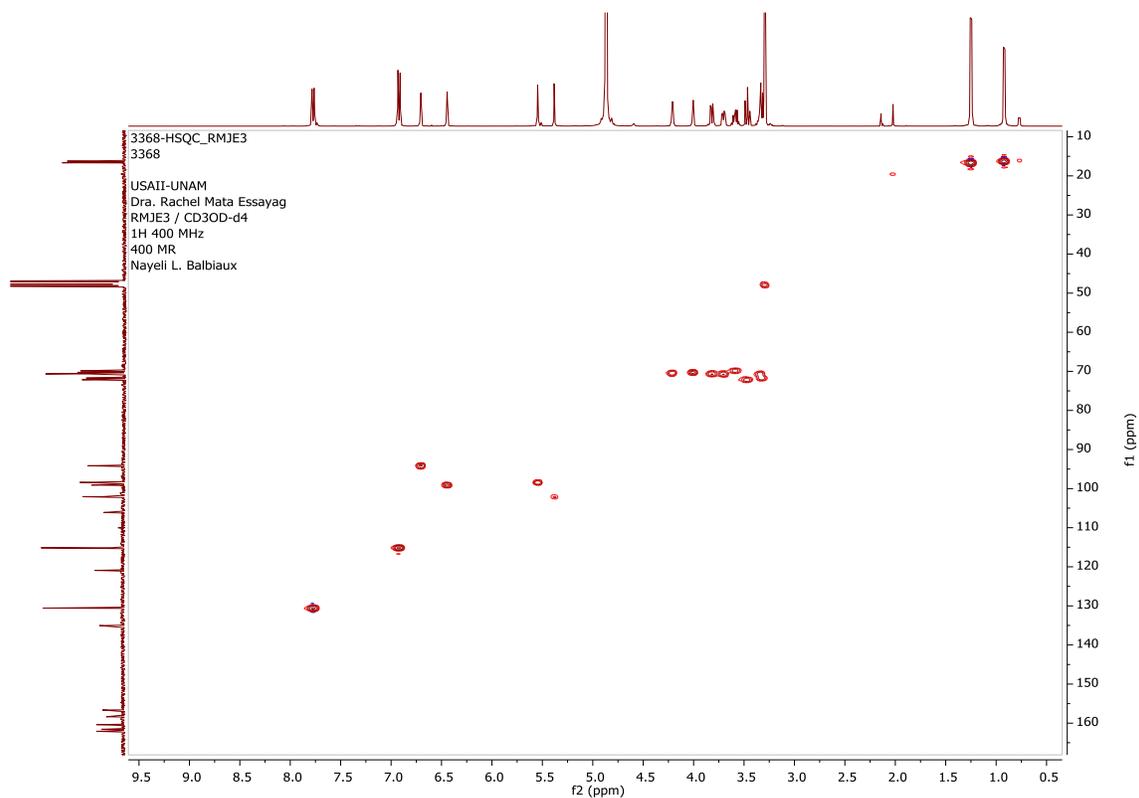
Vega-Avila, E., Espejo-Serna, A., Alarcón-Aguilar, F., Velasco-Lezama, R. (2009). Cytotoxic Activity of Four Mexican Medicinal Plants. *Proceedings of the Western Pharmacology Society*. 52. 78–82.

- Vega-Avila, E., Tapia-Aguilar, R., Reyes-Chilpa, R., Guzmán-Gutiérrez, S., Pérez-Flores, J., Velasco-Lezama, R. (2012). Actividad antibacteriana y antifúngica de *Justicia Spicigera*. *Revista Latinoamericana de Química*, 40(2), 75–82.
- Velasco, A., et. al. (2004). *Farmacología Clínica y Terapéutica Médica*. Madrid, España: McGRAW-HILL. INTERAMERICANA.
- Wang S., Wen B., Wang N., Liu J., He L. (2009). A Fluorenone Alkaloid from *Caulophyllum robustum* Maxim. With Anti-myocardial Ischemia Activity. *Archives of Pharmacal Research*, 32(4), 521–526.
- Weng, J.-R., Ko, H.-H., Yeh, T.-L., Lin, H.-C., Lin, C.-N (2004). Two new aryl-naphthalide lignans and antiplatelet constituents from *Justicia procumbens*. *Arch. Pharm.* 337, 207–212.
- World Health Organization (WHO) (2012). Giardiasis. Recuperado el 11 de mayo de 2020, de <https://www.who.int/ith/diseases/giardiasis/en/>
- World Health Organization (WHO) (2015). Chagas Disease. Recuperado el 12 de mayo de 2020, de [https://www.who.int/topics/chagas\\_disease/es/](https://www.who.int/topics/chagas_disease/es/)
- World Health Organization (WHO). (2016). Microbes and antimicrobials. Recuperado el 9 de mayo de 2020, de [https://www.who.int/drugresistance/Microbes\\_and\\_Antimicrobials/es/](https://www.who.int/drugresistance/Microbes_and_Antimicrobials/es/)
- World Health Organization (WHO). (2017). World mental health day. Recuperado 23 de abril de 2020, de [https://www.who.int/mental\\_health/world-mental-health-day/2017/es/](https://www.who.int/mental_health/world-mental-health-day/2017/es/)
- World Health Organization (WHO). (2018). Diabetes. Recuperado 23 de abril de 2020, de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- World Health Organization (WHO). (2019). Hypertension. Recuperado 01 de mayo de 2020, de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>
- World Health Organization (WHO). (2020). Leishmaniasis. Recuperado el 11 de mayo de 2020, de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>
- World Health Organization (WHO). (2020). Obesity and overweight. Recuperado 01 de mayo de 2020, de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- Yaeger, R.G. (1996). Protozoos: estructura, clasificación, crecimiento y desarrollo. Bookshelf. Recuperado el 11 de mayo de 2020, de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8325/>
- Zapata, J., Alonso, A., Domínguez, F., Carranza, C., Orozco, L., Martínez, R., Pérez, J. (2016) Antinociceptive Activity of an Ethanol Extract of *Justicia spicigera*. *Drug Development Research*, 77, 180–186.

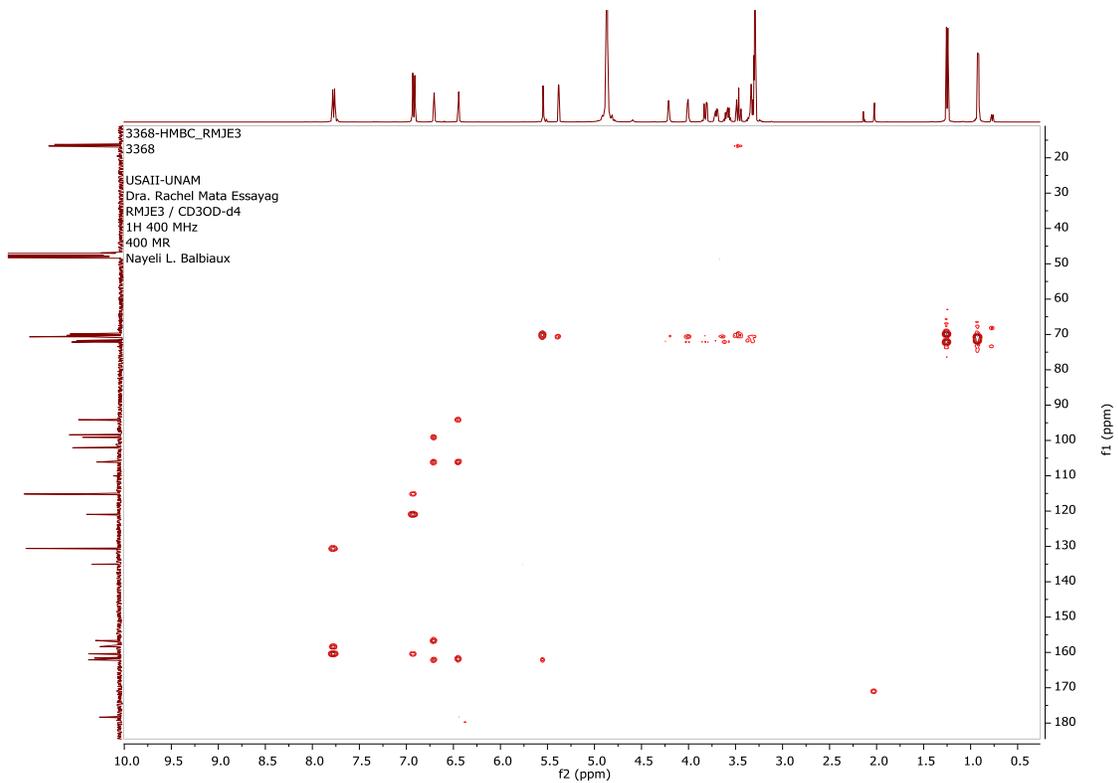
## 11. Anexos



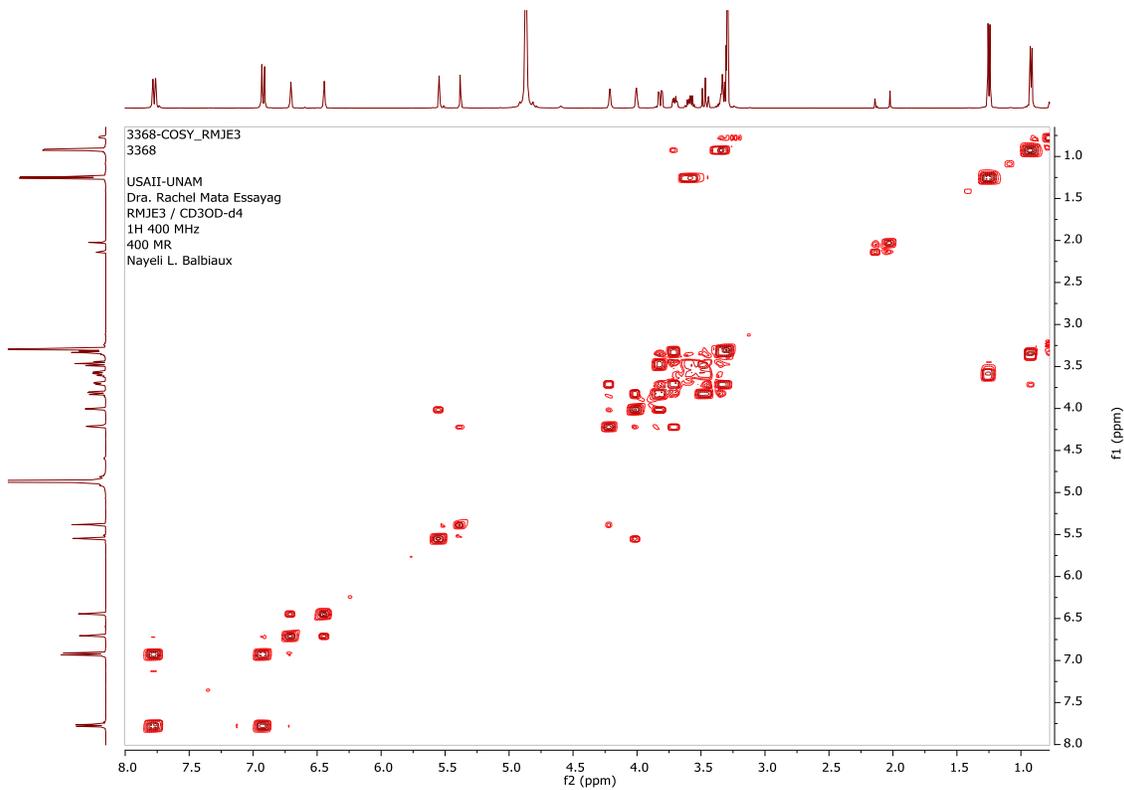
**Figura 26.** Espectro de Infrarrojo (FTIR-ATR) de la canferitricina (1)



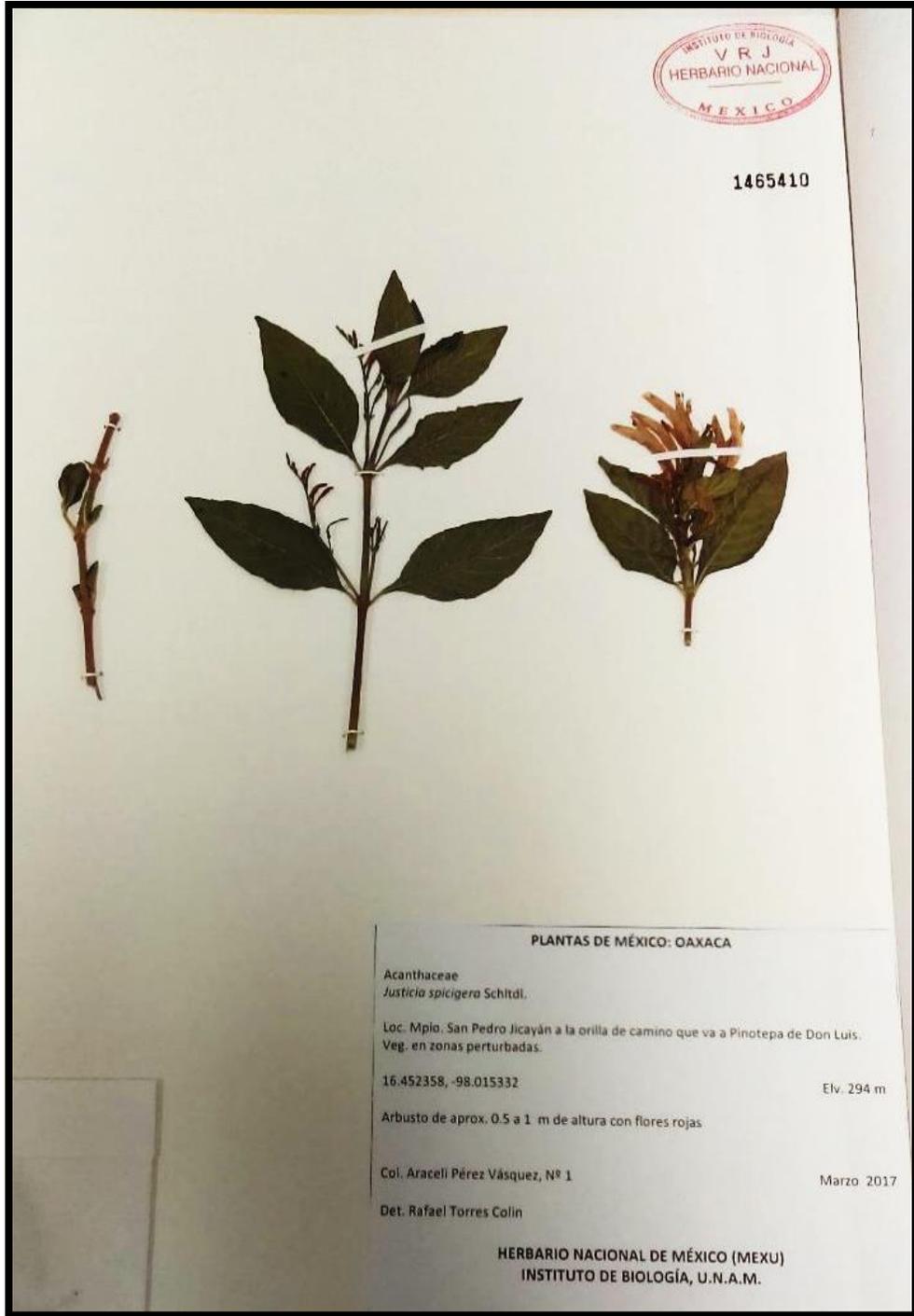
**Figura 27.** Espectro HSQC (400 MHz, CH<sub>3</sub>OH-d<sub>4</sub>) de la canferitricina (1)



**Figura 28.** Espectro HMBC (400 MHz, CH<sub>3</sub>OH-d<sub>4</sub>) de la canferitrina (1)



**Figura 29.** Espectro COSY (H→H) (400 MHz, CH<sub>3</sub>OH-d<sub>4</sub>) de la canferitrina (1)



Ejemplar de Herbario

# Teñido de fibra de algodón con Muicle



Múltiples lavados  
(sin mordente)



Sin mordente (un  
día)



Limón  
(muy poco)



Vinagre



Bicarbonato de sodio



Limón

Con  
mordente