



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

REVISIÓN QUÍMICA Y FARMACOLÓGICA DE LA ESPECIE MEDICINAL
***JUSTICIA SPICIGERA* SCHLTDL: UNA APROXIMACIÓN A SU**
REVALORIZACIÓN EN LA MEDICINA TRADICIONAL DE MÉXICO

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

KAREN LIZBETH MONTIEL CERVANTES



Ciudad Universitaria, CD. MX.

2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

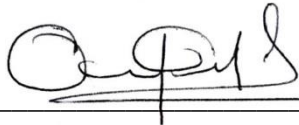
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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: Profesor: MATA ESSAYAG RACHEL
VOCAL: Profesor: FRAGOSO SERRANO MABEL CLARA
SECRETARIO: Profesor: PÉREZ VÁSQUEZ ARACELI
1er. SUPLENTE: Profesor: FIGUEROA SALDIVAR MARIO ALBERTO
2° SUPLENTE: Profesor: REBOLLAR RAMOS DANIELA

ASESOR DEL TEMA:



DRA. ARACELI PÉREZ VÁSQUEZ

SUPERVISOR TÉCNICO:



M. en C. JOSÉ ALBERTO GUTIÉRREZ GONZÁLEZ

SUSTENTANTE:



KAREN LIZBETH MONTIEL CERVANTES

AGRADECIMIENTOS

Este 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.

Agradecimiento a la Dra. Rachel Mata por haberme brindado la confianza y sobre todo el apoyo necesario para la realización de este trabajo, muchísimas gracias.

Agradecimiento especial a la Dra. Araceli por su paciencia, apoyo y orientación durante la realización de este trabajo bibliográfico, siempre estaré agradecida, sin ella no hubiese podido llegar tan lejos.

Al M. en C. José Alberto Gutiérrez González por el tiempo que dedicó a este proyecto.

Al M. en C. Rafael Torres Colín del Instituto de Biología de la UNAM, por su valioso apoyo en la identificación y descripción de la especie vegetal *Justicia spicigera*.

Al Biólogo Sahid Anzaldo Medero, quien realizó por encargo, las ilustraciones que acompañan a la descripción de la especie vegetal.

A los miembros de mi jurado, las Dras. Rachel Mata Essayag y Mabel Clara Fragoso Serrano por sus valiosos comentarios y correcciones a este trabajo, enriqueciendo la versión final del mismo.

A mis padres, Esperanza Cervantes y Rosendo Montiel, por el apoyo económico, pero sobretodo emocional que me han brindado durante todos estos años.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	6
ÍNDICE DE TABLAS	7
GLOSARIO DE TÉRMINOS.....	8
INTRODUCCIÓN.....	11
OBJETIVO GENERAL	13
OBJETIVOS PARTICULARES	13
METODOLOGÍA.....	14
CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS DE <i>JUSTICIA SPICIGERA</i>	16
1.1. Valor etnomédico.....	16
1.2 <i>Justicia spicigera</i> como planta tintórea.....	21
CAPÍTULO 2. BOTÁNICA Y ECOLOGÍA DE <i>JUSTICIA SPICIGERA</i>	25
CAPÍTULO 3. ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA DE <i>JUSTICIA SPICIGERA</i>.....	30
3.1 Actividad anticancerígena y citotóxica.....	30
3.2 Actividad inmunomoduladora	32
3.3 Actividad antiparasitaria	34
3.4 Actividad antibacteriana.....	38
3.5 Actividad antimicótica	40
3.6 Actividad antiinflamatoria.....	41
3.7 Actividad antidiabética	44
3.8 Actividad antihipertensiva	46
3.9 Actividad sobre el Sistema Nervioso Central (SNC).....	47
3.10 Actividad gastrointestinal.....	52
3.11 Evaluación toxicológica	53
CAPÍTULO 4. QUÍMICA DE <i>J. SPICIGERA</i>	55
4.1 Química del género <i>Justicia</i>	55
4.2 Metabolitos aislados e identificados de <i>Justicia spicigera</i>	80
4.2.1 Actividad antioxidante	86
4.2.2 Contenido total de compuestos fenólicos	93
4.2.3 Contenido total de flavonoides	96
4.2.4 Propiedades fisicoquímicas.....	97
4.2.5 Otros estudios	98
4.3 Canferitrina: Metabolito secundario mayoritario	99

CAPÍTULO 5. FARMACOLOGÍA DE LOS PRINCIPALES METABOLITOS DE <i>J. SPICIGERA</i>	103
5.1 Canferitrina	103
5.1.1 Actividad a nivel de la presión sanguínea	103
5.1.2 Actividad protectora de la membrana renal	106
5.1.3 Actividad antinociceptiva	106
5.1.4 Actividad sobre el Sistema Nervioso Central (SNC).....	107
5.1.5 Actividad anticancerígena	110
5.1.6 Actividad inmunomoduladora	115
5.1.7 Actividad antiinflamatoria	116
5.1.8 Actividad antidiabética.....	122
5.1.9 Actividad antioxidante	129
5.1.10 Actividad antimicrobiana	131
5.1.11 Actividad sobre la artritis reumatoide	132
5.1.12 Actividad sobre las enzimas P450.....	135
5.1.13 Actividad sobre el virus de la hepatitis C	135
5.1.14 Actividad antiosteoporótica.....	136
5.1.15 Actividad sobre SARS-CoV-2.....	138
5.2 Procumbenósido B	140
5.2.1 Actividad antiinflamatoria	140
5.3 Alantoína	141
5.3.1 Actividad antiinflamatoria	141
5.3.2 Piel	142
5.3.3 Actividad antinociceptiva	142
5.3.4 Actividad antidiabética.....	143
5.3.5 Actividad sobre la presión sanguínea.....	144
CAPÍTULO 6. ASPECTOS FISICOQUÍMICOS DEL TINTE	146
CONCLUSIONES	157
REFERENCIAS	160

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Algunos momentos históricos importantes relacionados a *J. spicigera*

Figura 2. Datos cronológicos en torno al tinte de *J. spicigera*

Figura 3. Ilustración de *J. spicigera* realizada por Biol. Sahid Anzaldo Madero (2020)

Figura 4. A) Flor de *J. spicigera*; **B)** Rama con flores y hojas de *J. spicigera*. Fotos cortesía: Dra. Araceli Pérez

Figura 5. A) Rama con inflorescencias; **B)** Frutos maduros; **C)** Flor; **D)** Corola con los estambres adnatos; **E)** Pistilo; **F)** Antera; **G)** Estigma. Ilustración realizada por: Biol. Sahid Anzaldo Madero (2020)

Figura 6. Reacción de Griess para la cuantificación indirecta de los niveles producidos de óxido nítrico. Tomada de Bryan et al. (2007)

Figura 7. Reacción en la que se basa el ensayo de viabilidad celular conocido como MTT. Tomado de Inayat-Hussain et al. (2009)

Figura 8. Proceso de infección en ratones CD1 inducida por *S. mansoni*

Figura 9. Reacción de conversión de resazurina a resorufina por acción de la NADPH o NADH reductasa. Tomado de Kuete et al. (2017)

Figura 10. Métodos empleados para la determinación de la capacidad antioxidante de *Justicia spicigera*

Figura 11. Se observan los tintes (arriba) de achote (**A**), cempazúchitl (**B**), *J. spicigera* (**C**) y palo de Brasil (**D**) y, fibras de lana teñidas con los mismos (abajo). Tomada de Casanova-González et al. (2012a)

Figura 12. Imágenes de las variaciones de masa y tortilla en ausencia y presencia del extracto acuoso de *J. spicigera*; (**a1**) masa sin extracto, (**a2, a3**) tortilla sin extracto, (**d1**) masa con extracto (2.7 g de extracto acuoso/100 g) y (**d2, d3**) tortilla con extracto (2.7 g de extracto acuoso/100 g). Tomada de Álvarez-Poblano et al. (2020)

Figura 13. Espectro Raman de los compuestos aislados por Arberet y colaboradores de *Justicia spicigera* y del extracto acuoso. Tomado de Arberet et al. 2021

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Algunas formas de uso actuales de *J. spicigera*

Tabla 2. Nombres comunes de *J. spicigera*

Tabla 3. Sinonimia de *J. spicigera*

Tabla 4. Compuestos aislados del género *Justicia* desde el año 2012 hasta el año 2021

Tabla 5. Compuestos aislados de *Justicia spicigera*

Tabla 6. Compuestos identificados de *J. spicigera*

Tabla 7. Actividad antioxidante de los extractos de *Justicia spicigera* a diferentes temperaturas y pH de extracción y, su pérdida con el tiempo por García-Márquez et al. (2012)

Tabla 8. Actividad antioxidante ejercida por los diferentes tipos de extractos de *Justicia spicigera* por Baqueiro-Peña et al. (2017)

Tabla 9. Actividad antioxidante ejercida por el extracto acuoso obtenido a partir de las hojas de *J. spicigera* por Anaya-Esparza et al. (2018)

Tabla 10. Contenido total de compuestos fenólicos determinados por Sepúlveda-Jiménez et al. (2009)

Tabla 11. Contenido inicial de compuestos fenólicos totales a diferentes pH y temperaturas de extracción (García-Márquez et al., 2012)

Tabla 12. Contenido total de compuestos fenólicos empleando diversos métodos de extracción por Anaya-Esparza et al. (2018)

Tabla 13. Contenido de flavonoides totales en los extractos acuosos y metánolicos de diferentes partes de *J. spicigera* por Sepúlveda-Jiménez et al. (2009)

Tabla 14. Propiedades fisicoquímicas presentadas por los extractos acuosos de las hojas de *Justicia spicigera* por Baqueiro-Peña y colaboradores (2017)

Tabla 15. Aislamientos de canferitrina a partir de *Justicia spicigera*

Tabla 16. CMI y CMB ejercida por la canferitrina sobre distintas bacterias Gram-positivas y negativas por Dalmarco et al. (2010)

Tabla 17. CMI y CMM ejercida por la canferitrina sobre distintas bacterias y levaduras por Tatsimo et al. (2012)

Tabla 18. Contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante evaluada por Álvarez-Poblano et al. (2020)

GLOSARIO DE TÉRMINOS

$\Delta\Psi_m$: Potencial de membrana mitocondrial	D98059: Inhibidor selectivo de las MAPK cinasas
2-NBDG: 2-(N-(7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol-4-il)amino)-2-deoxiglucosa)	MEK1 y MEK2
32D: Línea celular proveniente de médula ósea	DL ₅₀ : Dosis letal 50
3CL ^{pro} : Proteasa tipo 3C	DMT1: Diabetes mellitus tipo I
3T3: Línea celular proveniente de fibroblastos sanos	DMT2: Diabetes mellitus tipo II
5-HT: 5-hidroxitriptamina o serotonina	DNA: Ácido desoxirribonucleico
8-OH-DPAT: Agonista del receptor 5-HT _{1A}	dP/dt: Derivada de la presión arterial en función del tiempo
AAPH: 2,2'-azobis(2-metilpropionamida) dihidroclorado	DPPH: 2,2-difenil-1-picril-hidrazil-hidrato
ABTS: 2,2-azino bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)	DPP-IV: Dipeptidil peptidasa IV
ACE2: Enzima convertidora de angiotensina 2	DU-145: Línea celular proveniente de cáncer de próstata
ACTH: Hormona adenocorticotropina	eNOS: Óxido nítrico sintasa endotelial
ADL: Almidón de digestión lenta	F _m : Fluorescencia máxima
ADP: Adenosin difosfato	FND: Fracción no digerida de almidón
Akt: Proteína cinasa B	FRAP: Ensayo de poder antioxidante reductor férrico
ALB: Albúmina sérica	FRET: Resonancia de fluorescencia por transferencia de energía
ALP: Fosfatasa alcalina	FST: Prueba de natación forzada,
ALT: Alanina aminotransferasa	Fv: Fluorescencia variable
AMP: Adenosin monofosfato	G': Módulo de almacenamiento
ARD: Almidón de rápida digestión	G'': Módulo de pérdida
Arg: Arginina	G ₀ : Gap 0
AS: Alginato de sodio	G ₁ : Gap 1
Asn: Asparagina	G ₂ : Gap 2
Asp: Ácido aspártico	GA: Goma de algarrobo
AST: Aspartato aminotransferasa	GA-MD: Goma arábica-maltodextrina
AT: Almidón total	GB: Goma arábica
ATP: Adenosin trifosfato	GB:GM: Goma arábica: goma de mezquite
a _w : Actividad del agua	GG: Goma guar
B16: Línea celular proveniente de melanoma	GGT: Gamma glutamil transpeptidasa
Bax: Proteína X asociada a Bcl-2	Gln: Glutamina
Bcl-2: Proteína 2 de linfoma de células B (<i>B-cell lymphoma 2</i>)	Glu: Ácido glutámico
Bcl-xL: Linfoma de células B extra grande	GLUT4: Proteína transportadora de glucosa regulada por insulina
C: Constante de Guggenheim	Gly: Glicina
C2C12: Línea celular proveniente de mioblastos	GM-MD: Goma de mezquite-maltodextrina
C _∞ : Concentración al equilibrio	GM-SCF: Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos
Caco-2: Línea celular proveniente de adenocarcinoma colorrectal	GRP78: Proteína 78 regulada por glucosa
CALO: Línea celular proveniente de carcinoma de células escamosas de cuello uterino	GSH: Glutatión
CM ₁₀₀ : Concentración mínima	GX: Goma xantana
CMB: Concentración mínima bactericida	HaCaT: Línea celular proveniente de queratinocitos humanos sanos
CMI: Concentración mínima inhibitoria	HAuCl ₄ : Ácido cloroáurico
CMM: Concentración mínima microbicida	HDL: Lipoproteína de alta densidad
COVID-19: Enfermedad del coronavirus 2019	HeLa: Línea celular proveniente de adenocarcinoma cervical
COX-2: Ciclooxigenasa 2	HepG2: Línea celular proveniente de cáncer de hígado
CRH: Hormona liberadora de corticotropina	HHA: Eje hipotálamo-hipófisis-adrenal
CYP450: citocromo P450	His: Histidina
Cys: Cisteína	HMBN: Harina de maíz blanco nixtamalizada
D _{3,0} : Cambio en el tamaño de las gotas de la emulsión	HNMPA(AM) ₃ : Inhibidor del receptor a insulina

HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución
 HRP: Peroxidasa de rábano picante
 HTEM: Microscopía electrónica de alta resolución
 ICAM-1: Molécula de adhesión intercelular 1
 IEC-6: Línea celular epitelial proveniente de intestino delgado de ratas
 IgE: Inmunoglobulina E
 IKK: Complejo de cinasas I κ B
 IL-10 : Interleucina 10
 IL-12 : Interleucina 12
 IL-18 : Interleucina 18
 IL-1 β : Interleucina 1 beta
 IL-4: Interleucina 4
 IL-5: Interleucina 5
 IL-6: Interleucina 6
 IL-7A: Interleucina 7A
 IL-8: Interleucina 8
 INBL: Línea celular proveniente de carcinoma de células escamosas de cuello uterino
 INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía
 INF- β : Interferón beta
 INF- γ : Interferón gamma
 iNOS: Óxido nítrico sintasa inducible
 INST: Instituto Nacional de Estándares y Tecnología
 I κ B α : Inhibidor del factor nuclear kappa B
 k: Constante de las propiedades de corrección de las moléculas multicapa con respecto al líquido a granel
 K⁺: ion potasio
 k_{0.5}: Constante de inhibición media
 K562: Línea celular proveniente de leucemia mielóide aguda
 k_c: constante de rapidez
 k_H: Constante de velocidad de hidrólisis
 k_i: Constante de inhibición
 k_{inact}: Constante de inactivación
 LDH: Lactato deshidrogenasa
 LDL: Lipoproteína de baja densidad
 Leu: Leucina
 LLC-PK1: Línea celular epitelial proveniente de riñón de cerdo
 L-NAME: NG-nitro-L-arginina-metil éster o inhibidor de la óxido nítrico sintasa
 LnCaP: Línea celular proveniente de adenocarcinoma de próstata sensible a andrógenos
 Log BB: Logaritmo de la relación entre la concentración cerebral y plasmática
 Log P: Logaritmo del coeficiente de partición (lipofilicidad)
 LPS: Lipopolisacáridos
 Lys: Lisina
 M_H: Contenido de humedad al equilibrio
 M₀: Contenido de agua en la interfase
 MAPK p38: Proteínas cinasas activadas por mitógenos p38
 MCF-7: Línea celular proveniente de cáncer de mama
 M-D: Metaestro-Diestro
 MDA: Malondialdehído
 MDA-MB-231: Línea celular proveniente de cáncer de mama
 Met: Metionina
 MH7A: Línea celular de sinoviocitos similares a fibroblastos provenientes de artritis reumatoide
 mmHg: milímetros de mercurio (Hg)
 MMP-1: Metaloproteinasa 1
 MMP-3: Metaloproteinasa 3
 MOE: Entorno Operativo Molecular (*Molecular Operating Environment*)
 MPO: Mieloperoxidasa
 M^{pro}: Proteasa principal
 mRNA: Ácido ribonucleico mitocondrial
 mS: miliSiemens
 mTOR: Diana de la rapamicina en mamíferos
 MTT: Sal de tetrazolio [Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol]
 mU: miliunidades
 mV: milivolt
 N: Newton
 NADH: Nicotinamida adenina dinucleótido
 NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
 NaOH: Hidróxido de sodio
 NF- κ B: Factor nuclear kappa B
 NH₂OH*HCl: Cloruro de hidroxilamonio
 NK: Células asesinas naturales
 NLRP3: Proteína 3 que contiene el receptor con dominio de oligomerización y unión a nucleótidos
 NS3/4A: Serina proteasa
 NS3: Proteína no estructural 3
 NS5B: Proteína no estructural 5B
 OCT2: Transportador principal de captación renal
 OFT: Prueba de campo abierto,
 OGTT: Ensayo de tolerancia a la glucosa,
 OMS: Organización Mundial de la Salud
 ORAC: Capacidad absorbente de radicales de oxígeno
 p16: Inhibidor de cinasa dependiente de ciclina 2A
 p21: Inhibidor de cinasa dependiente de ciclina 1
 P₂O₅: Pentóxido de fósforo
 p65: Factor de transcripción p65 (RelA)
 PA: Presión arterial
 p-Akt: Proteína cinasa B fosforilada
 PAM: Presión arterial media
 PARP: Poli-(ADP-ribosa)-polimerasa
 PCNA: Antígeno nuclear de células en proliferación,
 PCR: Reacción en cadena de la polimerasa
 P-E: Proestro-Estro
 p-ERK: Cinasa regulada por señales extracelulares fosforilada
 Phe: Fenilalanina
 PI3K: Fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K)
 plkBa: Inhibidor del factor nuclear kappa B fosforilado
 p-JNK: Cinasa c-Jun N-terminal fosforilada

p-mTOR: Diana de la rapamicina en mamíferos fosforilada
pNPG: *p*-nitrofenil- α -D-glucopiranosido
PP1AB: Poliproteína 1AB
PP1B: Poliproteína 1B
p-p65: Factor de transcripción p65 fosforilado
PPAR- γ : Receptor activado por proliferadores peroxisomales gamma
ppm: partes por millón
PTP1B: Proteína-tirosina fosfatasa 1B
RAGE: Receptor para productos finales de glicación avanzada
RAM: Resistencia antimicrobiana
RBD: Dominio de unión al receptor
RNA: Ácido ribonucleico
RO318220: Inhibidor de la proteína cinasa
ROS: Especies reactivas de oxígeno
SB239063: Inhibidor de proteínas cinasas activadas por mitógenos p38
SERS: Espectroscopia de Raman amplificada por superficie
SKOV-3: Línea celular proveniente de cáncer de ovario
SNC: Sistema Nervioso Central
SOD: Superóxido dismutasa
SREBP-1c: Proteína de unión al elemento regulador de colesterol
SW-480: Línea celular proveniente de adenocarcinoma colorrectal
 $t_{1/2}$: tiempo de vida media

TB-1: Línea celular proveniente de epitelio pulmonar
TF-1: Línea celular proveniente de leucemia humana
TGF- β : Factor de crecimiento transformante β
TGF- β 1: Factor de crecimiento transformante beta 1
Thr: Treonina
TLR4: Receptor 4 tipo Toll
TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa
TPTZ: 2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina
TRAP: Fosfatasa ácida resistente a tartrato
TST: Ensayo de suspensión de la cola
TUNEL: Acrónimo de marcado de final de corte de dUTP de terminal deoxinucleotidil transferasa
Tyr: Tirosina
UCP-2: Proteína de desacoplamiento molecular 2
UI: Unidad Internacional
VCAM-1: Molécula de adhesión de las células vasculares 1
VIH: Virus de inmunodeficiencia humana
 $W_1/O/W_2$: Emulsiones dobles
 W_1/O : Emulsiones simples
WAY 100635: Antagonista de los receptores 5-HT_{1A} y D₄
WAY100635: Antagonista selectivo del receptor 5-HT_{1A}
z-VAD fmk: Inhibidor de caspasa 3
 α -MSH: Hormona estimulante de melanocitos alfa
 ΔH : Diferencial de entalpía

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la definición de la Organización Mundial de la Salud (OMS), “*la medicina tradicional es la suma total de los conocimientos, capacidades y prácticas basados en las teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas, bien sean explicables o no, utilizadas para mantener la salud y prevenir, diagnosticar, mejorar o tratar enfermedades físicas y mentales*” (OMS, 2013). Como parte de la medicina tradicional, las plantas representan uno de los recursos naturales a los que se recurre para aliviar dolencias y prevenir enfermedades. También y no menos importante, de una manera natural se han incorporado al autocuidado o medicina doméstica, que como la definen Zolla y Mellado (1995), es el conjunto de conocimientos, recursos y acciones terapéuticas presentes en el hogar, que no trascienden este ámbito como una oferta de servicio. En México, tanto la medicina tradicional como el autocuidado doméstico, se mezclan y coexisten como parte de una cultura muy arraigada en el uso de plantas medicinales.

Dentro de las plantas que más se utilizan en nuestro país está *Justicia spicigera*, la cual pertenece a la familia Acanthaceae, y es muy recomendada y comercializada para varios trastornos y afecciones. De acuerdo con la revisión que se pudo realizar y que se presenta en este trabajo, sus recomendaciones de uso están dirigidas para tratar la diabetes, limpiar la sangre, para la anemia, la hipertensión, por mencionar solo algunos. También, diferentes extractos principalmente hidroalcohólicos, han sido evaluados farmacológicamente para comprobar su uso como antiparasitario, anticonvulsivo, ansiolítico, antidiabético, antihipertensivo, entre otros. Aunque estos estudios se han realizado a nivel preclínico, permiten concebir el potencial que la planta podría tener en relación a su eficacia. Esto es apremiante no solo desde el punto de vista científico sino también en el fortalecimiento de los sistemas sanitarios de salud de comunidades rurales o indígenas donde aún usan a las plantas, junto con otros recursos que brinda la naturaleza, y las incorporan naturalmente a las necesidades sanitarias expresadas por esas comunidades. Por otra parte, no debemos olvidar que la Organización Mundial de la Salud insta a sus países miembros en las resoluciones WHA62.13 y WHA56.31 a “*respetar, preservar y comunicar ampliamente, según proceda, el conocimiento de la medicina, los tratamientos y las prácticas tradicionales, de forma apropiada y sobre la base de las circunstancias de cada país, así como de datos probatorios sobre seguridad, eficacia y calidad*”, así como a “*seguir desarrollando la medicina tradicional sobre la base de las investigaciones y la innovación, tomando debidamente en*

consideración las medidas específicamente relacionadas con la estrategia mundial y plan de acción sobre salud pública, innovación y propiedad intelectual”.

A este respecto, esta revisión sobre la farmacología y química de la especie vegetal *J. spicigera* está encaminada a contribuir en su uso racional y de esta manera pueda ser considerada una alternativa seria.

Como parte de esta revisión también se incluyen aspectos botánicos y algunos datos históricos, principalmente los que se obtuvieron de documentos farmacéuticos. Adicionalmente y dado que la especie tiene un uso muy importante e histórico como pigmento, se presenta información relacionada a la estabilidad del tinte tanto en alimentos como en textiles, y alternativas a las formas de incorporarlo.

OBJETIVO GENERAL

Realizar una revisión documental amplia sobre aspectos de eficacia, seguridad y composición química, de la especie vegetal *J. spicigera* orientada a respaldar y revalorar su uso dentro de la Medicina Tradicional de México.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Recolectar datos en fuentes electrónicas y realizar una lectura inicial de los documentos disponibles.
- Ordenar y analizar la información para así determinar la relevancia en torno al objeto de investigación.
- Integrar los datos resultantes del análisis en el documento final.

METODOLOGÍA

Para la escritura de este proyecto y por ser un trabajo de tipo documental y exploratorio, la estrategia de investigación consistió primeramente en la selección y consulta de fuentes electrónicas y publicaciones no periódicas. Las fuentes electrónicas que se consultaron fueron las siguientes:

- Scopus
- Isi Web
- Google académico (Scholar)
- JSTOR
- Biblioteca virtual US National Library of Medicine
- Biblioteca virtual Nacional de Francia
- Biblioteca Mundial
- Base de datos digital del Instituto Nacional de Antropología e Historia (INAH)
- Atlas de la Medicina Tradicional de México del INI/UNAM/INPI
- Obras completas de Francisco Hernández digitalizadas por DGTIC UNAM con apoyo del INPI
- Tesiunam
- Librunam

Posteriormente se determinó el origen de los datos, diferenciado entre primarios y secundarios y se realizó la lectura de los documentos seleccionados.

A continuación, se describe el proceso de recolección y análisis para cada uno de los capítulos que conforman este trabajo monográfico.

Para reunir información sobre los estudios farmacológicos, se llevó a cabo una búsqueda en la base de datos Scopus e ISI web empleando como palabras clave “*Justicia* (AND) *spicigera*” obteniendo un total de 183 resultados; de este total se analizaron 22 documentos. El resto fueron descartados por pertenecer a otro capítulo dentro de esta revisión o no incluir información farmacológica sobre la especie, así como revisiones o metanálisis.

Para el capítulo de la química del género *Justicia*, se realizó la búsqueda empleando la palabra clave “*Justicia*”, limitándola a la palabra *Chemistry*. En este capítulo se consideró como criterio de inclusión los documentos comprendidos entre los años 2012 y 2021. El

motivo fue que en 2012 se publicó una revisión extensa sobre la química del género *Justicia*. Para este capítulo se analizaron un total de 24 de 170 documentos.

Para la química de la especie *Justicia spicigera* se analizaron 18 documentos de un total de 183. Como fuentes secundarias se analizaron una tesis de licenciatura y una de maestría.

Para la farmacología de los metabolitos de *Justicia spicigera* se realizó la búsqueda empleando la palabra clave “kaempferitrin” que remite a canferitrina en español. Así, de 545 documentos encontrados se analizaron 56.

También se empleó la palabra “procumbenoside” (procumbenósido en español) como palabra clave, con la finalidad de no limitar la búsqueda. Se obtuvieron 16 documentos de los cuales solo se empleó uno, el resto se excluyó porque no correspondían a estudios farmacológicos específicamente sobre el procumbenósido B.

Se empleó como palabra clave alantoína en inglés “allantoin”, la búsqueda arrojó un total de 7887 documentos por lo que se delimitó a la presencia de la palabra clave únicamente al título (*Article title*) obteniendo un total de 618 documentos. Dado que su actividad farmacológica ha sido ampliamente estudiada, principalmente en la formulación de productos cosméticos solamente se emplearon un total de cinco documentos relacionados con las principales actividades farmacológicas comprobadas de *Justicia spicigera*, que incluyeron: actividad antiinflamatoria, antinociceptiva, antidiabética y sobre la presión sanguínea. Adicionalmente, se hizo uso de una revisión que incluía la descripción de sus principales usos en piel.

Para el capítulo de estudios químicos en *J. spicigera* como planta tintórea, se analizaron un total de 11 de los 183 documentos.

Es importante mencionar que como apoyo bibliográfico se utilizó el gestor de referencias Sciwheel. Algunas de las imágenes fueron realizadas en la aplicación BioRender y otras se tomaron directamente de las publicaciones, proporcionando los créditos a quien corresponda. Finalmente, las estructuras químicas se construyeron en el programa ChemDraw 12.0.

CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS DE *JUSTICIA SPICIGERA*

1.1. Valor etnomédico

En este apartado se presenta de manera sistemática la consulta que se realizó en documentos de carácter científico orientados al uso y conocimiento de la flora medicinal de nuestro país. Se analiza primeramente la información que se encontró de las antiguas Farmacopeas Mexicanas, así como de los anales del extinto Instituto Médico Nacional y algunos documentos relacionados con igual valor farmacéutico (Figura 1). Al examinar estos escritos, se constató el valor etnomédico de la planta para la disentería. Este uso, junto con el flujo menstrual abundante fue recurrentemente mencionado en casi todos ellos. También, se pudo identificar que el nombre científico de la especie se fue cambiando a lo largo de la historia. Finalmente se documentan algunos usos etnomédicos actuales, y como puede notarse, se preservan los antiguos y se agregaron otros a lo largo de los años. A continuación, se hace una breve descripción de los resultados de esta búsqueda.

En 1799 el farmacéutico español Vicente Cervantes escribió el “Ensayo a la Materia Médica Vegetal de México”, que fue publicado un siglo después, y en este documento la nombró *Justicia coccinea* Aubl., posiblemente por influencia del botánico español Martín de Sessé, director de la “Real Expedición Botánica a Nueva España”, quien, junto con el médico novohispano, José Mariano Mociño, la recolectaron y describieron con este nombre (Sessé y Mociño, 2016). Cervantes escribió que es una planta que crece en Cuernavaca y que al igual que lo mencionará el protomédico Francisco Hernández en su obra escrita y publicada en 1615 “Cuatro libros de la naturaleza y virtudes de las plantas y animales de uso medicinal en la Nueva España”, ésta se usa para la disentería, el flujo inmoderado de la menstruación y para la sarna (Cervantes, 1889). Así mismo, retoma un dato que el teólogo José de Álzate publicó en las Gacetas de Literatura, que es su virtud como antiapoplética. Finalmente mencionó un uso que el botánico Sessé le había comunicado, y es que se había experimentado provechosa en la epilepsia.

En 1832 se publicó el “Ensayo para la Materia Médica Mexicana” escrito por Antonio de la Cal, quien nombró a la planta *Justicia tinctoria* Lour. (de la Cal, 1832). Este dato es relevante, pero a la vez impreciso ya que también con este nombre era conocida otra Acanthaceae de origen asiático (Parkin, 1914). Antonio de la Cal repite los usos que unos años antes había descrito Cervantes. Para 1846 se publica lo que sería la primera edición de la Farmacopea Mexicana en la cual fue incluida la especie con el nombre científico *Justicia*

salviflora Kunth, y se agrega su uso como antiespasmódico (FM, 1846), sin embargo, ni el uso, ni el nombre científico coinciden con lo que se conocía de la especie hasta esa fecha.

Es así como en las primeras tres ediciones editadas por la Sociedad Farmacéutica Mexicana, (Institución que fue creada en el año de 1871), tanto la primera edición de la Nueva Farmacopea Mexicana de 1874, como la segunda edición de 1884 y la tercera de 1896, fue nombrada *Sericografis mohintli* Nees y se retoma el uso para la disentería que históricamente ha acompañado a la planta, así como el uso para el flujo menstrual abundante (NFM, 1874; NFM, 1884; NFM, 1896). La materia colorante cobra importancia en la edición de 1896 al ser nombrada como quapastle (del náhuatl *quauitl*, árbol y *pachtli*, heno), pero más allá de eso, al ser textos farmacéuticos, no dan datos sobre el valor del tinte.

A partir de 1888 se llevaron a cabo estudios terapéuticos de plantas medicinales dentro del Instituto Médico Nacional, institución que tuvo como objetivo el estudio de la flora, fauna, climatología y geografía médicas nacionales y sus aplicaciones útiles (Sánchez Rosales, 2012). En el tomo III publicado en 1897, se muestra el interés por estudiar esta planta, debido principalmente a su materia colorante. A este respecto el médico José Ramírez menciona:

“El director del Instituto remitió a esta Sección una planta que le había enviado el Sr. R. Reyes Espíndola llamando la atención respecto a la propiedad que tiene de teñir de color azul oscuro el agua puesta en contacto con sus hojas. En el caso se trata de una de las plantas conocidas con el nombre vulgar de muitle, y probablemente es la *Jacobinia mohintli* Hemsl., planta muy usada en infusión que se considera como una bebida estimulante y antidisentérica. La materia colorante que contiene esta planta lleva el nombre de quapastle; es amorfa, inodora, insípida, de color azul oscuro cuando está concentrada, morado cuando está diluida, es muy soluble en el agua y produce reacciones semejantes a las del tornasol” (AIMN, 1897, p.).

Posteriormente, en 1904 *J. spicigera* pasó a formar parte del Herbario de consulta del Instituto Médico Nacional.

Años después, ya en el siglo XX, Maximino Martínez en su libro “Plantas medicinales de México”, comenta que el vulgo en Aldama Guerrero usa el cocimiento de 5 gramos de la planta para los nervios (Martínez, 1934). A partir de esta publicación se han sumado muchos usos etnomédicos para la especie.

Es importante mencionar que en el año 2001 se publicó la primera edición de la Farmacopea Herbolaria Mexicana, teniendo una segunda edición en el año 2013, pero en ninguna de estas ediciones se encuentra *J. spicigera*.

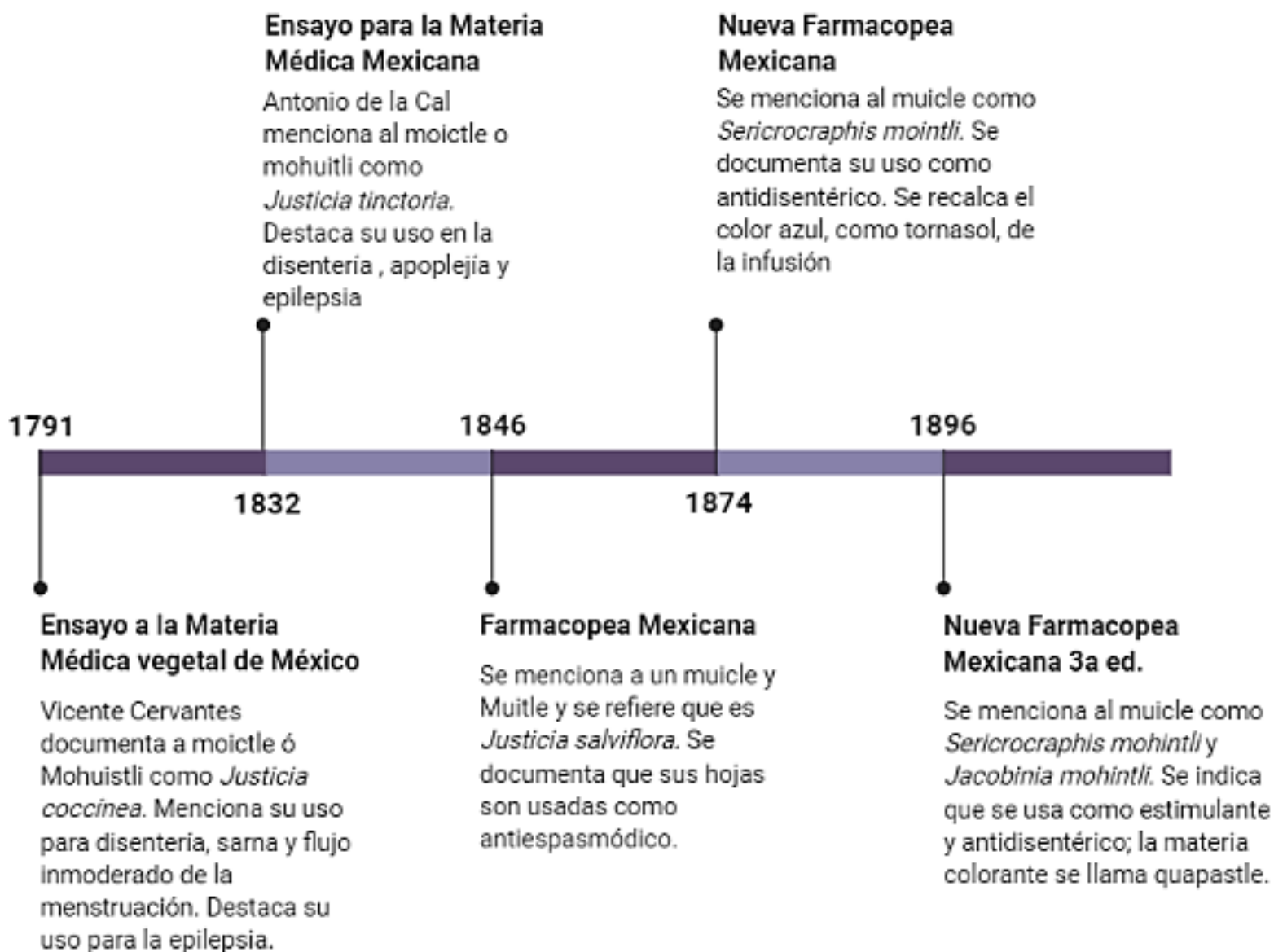
Dentro de los usos actuales que se han documentado para *J. spicigera*, en la Tabla 1 se enlistan algunos. Se presenta adicionalmente la forma de preparación y de consumo. Es importante mencionar que estos usos no corresponden a todas las propiedades que se le atribuyen a la especie, pero si a las más actuales encontradas. También y como lo describe Arizia Manso (2000) en su disertación escrita, los usos relacionados al aparato circulatorio como es la anemia, purificar y clarificar la sangre son los más mencionados por los locatarios de mercado que se dedican a vender plantas y que este podría estar relacionado al color rojo-púrpura que se obtiene al poner la planta (fresca o seca) en contacto con el agua, sea fría o caliente.

Tabla 1. Algunas formas de uso actuales de *J. spicigera*

AFECCIÓN/USO	MODO DE EMPLEO	REFERENCIA
Tosferina	Las hojas y flores se machacan, se agregan rodajas de rábano y azúcar cande; se toma en jarabe	Rodríguez-Acosta, 2020
Detener hemorragias	Se hace una tisana de las hojas	Lorente Fernández, 2020
Mal de orín	La planta se hierve con agua se deja serenar y se toma como agua de tiempo.	Rodríguez-Acosta, 2020
Susto	Se usan las hojas cocidas.	Fonseca-Chávez et al., 2020
Dolor de estómago, empacho, heridas	El cocimiento de las hojas se toma como té. La infusión sirve también para lavar heridas.	Rosas-López, 2015
Relajante (baños), mal del viento (tlazol)	Se usan las ramas con hojas y flores para barrer a la persona; se dan baños en el cuerpo.	Domínguez-Barradas et al., 2015 .
Hervor de sangre	Se toma un baño con el agua de dos ramas que se dejan reposar por un día. Durante cinco días se baña a la persona con esta solución.	Peña Sánchez y Hernández Albarrán, 2014
Purificar la sangre	Una ramita de nicle se hierve con agua. Se deja serenar toda la noche. Se toma una taza en ayunas y el resto como agua de uso.	Peña Sánchez y Hernández Albarrán, 2014
Enfermedades de las encías	En infusión.	Rosas-Piñón et al., 2012 .
Diabetes	Se toma en infusión.	Alonso-Castro, 2012
Rozaduras	Se cuece un manojo de ramas y hojas y con esta agua se da un baño.	Gómez Mureddu, 2005
Enriquecer la sangre, mejorar la circulación	Se toma en té (infusión).	Villavicencio Nieto y Pérez Escandón, 2005
Anemia	En agua hirviendo se agregan 2 hojas y esta agua se toma durante una semana. Se toman tres tazas al día.	Araiza Mancio, 2020
Susto	Puede ser en baño y en té. El té se prepara con agua hirviendo y se ponen unas ramitas. Se les da solo o con leche.	Araiza Mancio, 2020
Espanto	Tallar unas ramas con agua fría. Asolear y tomar	Araiza Mancio, 2020

	un baño con esta agua.			
Aumentar y clarificar la sangre	Se prepara una infusión con las ramitas floridas.	Soto	Núñez y	Sousa
		Sánchez,	1995.	

Figura 1. Algunos momentos históricos importantes relacionados a *J. spicigera*



1.2 *Justicia spicigera* como planta tintórea

La planta cuenta con amplia reputación en nuestro país y Centroamérica, especialmente en Guatemala, por el tinte que de ella se obtiene. Por su semejanza con el añil (o xiquilite, como también es conocida la *Indigofera suffruticosa* Mill.), al teñir de azul al algodón y la lana, ha sido históricamente confundida y/o sustituida con ésta, siendo llamada en algunas comunidades, principalmente del sur de México, como “hierba añil” o “hierba de añil” (Herrera Alfaro y Rojas Rodríguez, 1998)

En efecto, de acuerdo con lo que mencionan Herrera Alfaro y Rojas Rodríguez (1998) sobre lo que documentó Manuel Rubio Sánchez en su libro “Historia del añil o xiquilite en Centroamérica” se menciona que existen cuatro clases de añil, incluido el muicle:

-*Indigofera suffruticosa* Mill. o xiquilite;

-*Indigofera thibaudiana* DC. o añil silvestre;

-*Jacobina spicigera* Schltl. llamada tinte o jiquilite, que es usada por las lavanderas para dar color blanco a la ropa,

-*Indigora tinctoriam*, llamada también añil (Rubio; 1976: 15).

Si nos remitimos a los documentos novohispanos como son “Historia general de las cosas de la Nueva España” conocido como Códice Florentino, y escrito por Fray Bernardino de Sahagún entre los años 1540 y 1585, así como el documento “Historia de las Plantas de la Nueva España” escrito por el protomédico Francisco Hernández entre 1571 y 1576, éstos hacen una breve mención al tinte. En el caso de Francisco Hernández, éste menciona que tiñe las lanas. Fray Bernardino por su parte menciona a un mouhitli, pero no hace una precisión sobre el tinte obtenido de *J. spicigera*. Los botánicos Sesse y Mociño en la Real Expedición Botánica a la Nueva España que realizaron entre los años 1787 y 1803 igualmente mencionan al tinte (Figura 2). Quien realmente hace una investigación más amplia sobre el tinte fue el farmacéutico Frances M. Thomas en 1866, quien había estudiado su preparación y sus propiedades químicas, cuando estuvo en Veracruz, México y pudo constatar y documentar, gracias a la información que le compartieron los indígenas de la región, la forma exacta de como ellos preparaban el colorante. Él menciona en un artículo publicado en el *Journal de Pharmacie et de Chemie* (1866), perteneciente a la Sociedad de Farmacia de París, que incluso por infusión o decocción se genera un extracto de un azul muy oscuro que está lejos de ser puro. Él presenta una descripción muy detallada e indica

que la planta contiene un principio incoloro, al que llamó mohitlina, el cual se disuelve, absorbe oxígeno y se convierte en una materia verde a la que dio el nombre de mohitléina. Esto a su vez, se 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. Indica que el colorante de la planta se encuentra en todas sus partes excepto en las flores, siendo las hojas las que contienen una gran proporción del tinte. Para completar este trabajo, Thomas propone aislar el principio incoloro en estado de pureza, hacer un análisis elemental, y también aislar los compuestos productores de oxígeno. Él menciona también que solo pudo hacer este estudio en México dentro de los límites de los recursos que tenía a su disposición.

Unos años después, en 1903, el botánico mexicano Manuel Urbina publicó un estudio en los Anales del Museo Nacional sobre la sustancia colorante del muicle y menciona:

(...) Yo agregaré que el nombre de mohuitli sirve también para designar la planta conocida vulgarmente como muicle, y su clasificación: *Jacobinia mohintli*, Hemsl., de la familia de las Acanthaceas, que produce una materia colorante de las más hermosas, que tiñe en rojo purpúreo, y que los indios se servían de ella para dar color a los lienzos de lana, lo que nos da a entender que usaban esta palabra Mohuitli para designar indistintamente el color rojo ó azul. No está de más advertir que la sustancia colorante del muicle es enteramente diversa del índigo, y aunque no se haya hecho un análisis, que yo sepa, puedo asegurar que debe colocarse entre las conocidas y clasificadas como Tornasol que producen muchas plantas (Urbina, 1903, p. 566)

Dos años después, el botánico inglés John Parkin también se interesó por el pigmento de *J. spicigera* (Parkin, 1905). Él menciona que los brotes de ciertas especies de *Jacobinia*, cuando se magullan y se extraen con agua, producen un hermoso líquido violáceo. Parkin menciona que el botánico danés Frederik Michael Liebmann descubrió una especie de *Jacobinia* mientras viajaba por América Central, medio siglo atrás y descubrió que los indios las usaban para teñir. También, citó el trabajo de M. Thomas diciendo que mientras este último estaba en México, sometió el principio de coloración de *Jacobinia Mohintli* a un breve examen. El profesor Parkin menciona:

(...) Hasta ahora, las observaciones se han hecho sobre dos especies muy similares, *Jacobinia tinctoria* (Oerst.) Hemsl. y *Jacobinia Mohintli* Hemsl. El comportamiento peculiar de la antigua planta (*Jacobinia tinctoria* (Oerst.) Hemsl.) fue puesto en conocimiento del escritor por el Sr. Willis, el director del Royal Botanical Garden, estando en Peradeniya, Ceylon. El pigmento no existe como tal en la planta viva, sino que aparece solo al morir. Sin embargo, las hojas muertas por el agua hirviendo permanecen verdes y

no se oscurecen. Por lo tanto, es muy probable que el pigmento surja a través de una acción enzimática. Una ligera alcalinidad acelera su aparición. El oxígeno también es necesario para su formación. Es fácilmente soluble en agua y da una solución fluorescente, de color púrpura a violeta por transmisión y rojo sangre por luz reflejada. Un rastro de ácido roba a la solución la mayor parte de su color. El tinte original reaparece con la neutralización. El álcali lo vuelve más azul, y sí, es fuerte.

En comunidades mixtecas de la costa de Oaxaca como son Pinotepa de Luis, San Pedro Jicayán, San Juan Colorado, así como comunidades aledañas, aún usan al muicle y otras plantas tintóreas para teñir sus huipiles. También hacen uso del tinte para impregnar un tenue color azul que da la apariencia de una blancura.

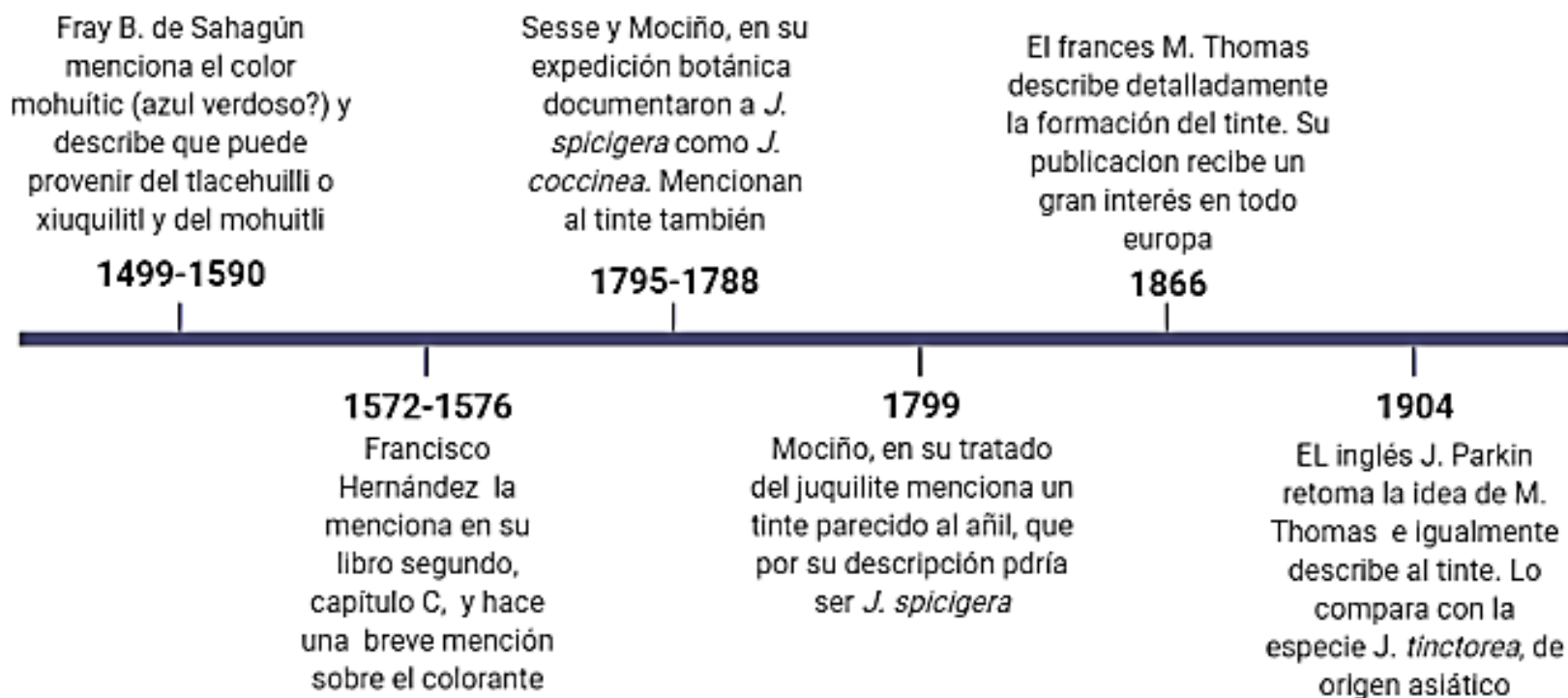
El uso del tinte no se limita al teñido de textiles, también sirve como pigmento en alimentos. En Guanajuato, comunidades otomíes usan a las tortillas como un lienzo para un tipo de arte ritual y las decoran por ambos lados, con un troquel o sello de madera de mezquite, utilizando varias plantas como colorantes, entre ellas al muicle, que brinda un color violeta intenso (Yanes Rizo, 2006). Estas tortillas son ofrecidas principalmente en eventos religiosos.

También, en la zona otomí-tepehua del estado de Hidalgo, con una infusión de muicle se tiñen carrizos que después serán utilizados para la elaboración de un tipo de canasta llamada huauteclas, muy apreciadas en esa región (Villavicencio Nieto, 2005).

Recientemente Arberet y colaboradores (Arberet et al., 2021) reportaron el uso del tinte de *J. spicigera* en algunas imágenes del Códice Borbónico, el cual es un importante documento mexicana precolombino, y permite por la tanto especular que desde la época prehispánica, era parte de los colorantes que se utilizaban en nuestro país con este fin, junto con *Commelina coelestis* Wild., e *Indigofera suffruticosa* Mill. (Jansen et al., 2019).

En el capítulo 6 se profundizará en los resultados que se han obtenido hasta la fecha sobre la caracterización del tinte.

Figura 2. Datos cronológicos en torno al tinte de *J. spicigera*



CAPÍTULO 2. BOTÁNICA Y ECOLOGÍA DE *JUSTICIA SPICIGERA*



Figura 3. Ilustración de *J. spicigera* realizada por Biol. Sahid Anzaldo Madero (2020)

Tabla 2. Nombres comunes de *J. spicigera*

Añil de piedra
Caandathaná (Popolaca)
Chak xiu (Maya)
Charatsikua (Purépecha)
Charatzicua (Tarasco)
Cruzk´aax (Maya)
Expaxihuitl
Hierba añil (Oaxaca)
Hierba de añil
Hierba azul
Huitzilxochitl
Kí´vi (mixteco de la costa de Oaxaca)
Limanin (totonaco)
Matziña (Chinanteco)
Micle
Mirto del cerro
Mohintle
Mohite
Mohuintli
Mouait (totonaco)
Mozote
Muh (Huasteco)
Muicle
Muiti
Muitle
Nicle
Sacatinta
Thengamu´iti
Tsi´is yuhaa-tinta (Zapoteco)
Yerba púrpura
Yerba tinta

Tabla 3. Sinonimia de *J. spicigera*

1	<i>Aphelandra ghiesbreghtiana</i> (Lem.) Lem. ^b
2	<i>Cyrtanthera ghiesbreghtiana</i> (Lem.) Decne. ^b
3	<i>Drejera willdenowiana</i> Nees ^a
4	<i>Jacobinia atramentaria</i> (Benth.) S.F. Blake ^a
5	<i>Jacobinia ghiesbreghtiana</i> (Lem.) Benth. & Hook.f. ^b
6	<i>Jacobinia mohintli</i> Hemsl. ^a
7	<i>Jacobinia mohintli</i> Benth. & Hook. f. ^a
8	<i>Jacobinia neglecta</i> (Oerst.) A. Gray ^a
9	<i>Jacobinia scarlatina</i> S.F.Blake ^a
10	<i>Jacobinia spicigera</i> (Schltdl.) L.H.Bailey ^a
11	<i>Justicia atramentaria</i> Benth. ^a
12	<i>Justicia ghiesbreghtiana</i> Lem. ^b
13	<i>Justicia ghiesbreghtii</i> Lem. ^a
14	<i>Justicia liebmanii</i> V.A.W. Graham ^a
15	<i>Justicia mohintli</i> Moc. & Sessé ex Nees ^a
16	<i>Justicia scarlatina</i> (S.F. Blake) V.A.W. Graham ^a
17	<i>Sericographis ghiesbreghtiana</i> (Lem.) Nees ^b
18	<i>Sericographis moctli</i> Nees ^a
19	<i>Sericographis mohintli</i> Nees ^a
20	<i>Sericographis neglecta</i> Oerst. ^a

Tomado de: ^aThe plant List; ^bInternational Plant Name index



Figura 4. A) Flor de *J. spicigera*; **B)** Rama con flores y hojas de *J. spicigera*. Fotos cortesía: Dra. Araceli Pérez

De acuerdo con Ezcurra (2002), el género *Justicia* es el más grande y complejo de la familia Acanthaceae, y está muy diversificado en las regiones tropicales y subtropicales del continente americano. El género comprende aproximadamente 600 especies de hierbas y arbustos perennifolios, a nivel mundial y en México está representado por alrededor de 75 especies. Desde el punto de vista etnobotánico, *J. spicigera* es la que tiene un amplio uso en nuestro país. A continuación, se presenta la descripción y distribución de *J. spicigera*.

Descripción: Hierba o arbusto de 1-2.5 m. Hojas opuestas, 3-20 cm largo, 1-7 cm ancho, ovadas, elípticas, acuminadas en el ápice, base atenuada, margen entero a sinuado, pubescentes, pecíolos ca. 2 cm largo. Inflorescencias en racimos, panículas o cimas, ca. 10 cm largo; flores cortamente pediceladas a subsésiles, dispuestas de un solo lado del raquis; brácteas y bractéolas ca. 2 mm largo, ca. 1 mm ancho, angostamente triangulares a triangulares; cáliz ca. 4 mm largo, 5 lóbulos, ca. 3 mm largo, ca. 1 mm ancho, lanceolados a triangulares, glabros o pubescentes; corola ca. 3 cm largo., ca. 1 cm ancho, anaranjada a roja, labio superior entero, labio inferior enrollado, con tricomas incospicuos en la base; estambres 2, exsertos; estilo exserto, estigma inconspicuamente lobulado. Fruto de forma capsular, estipitado, con retináculos adheridos; semillas 2 a 4, usualmente lenticulares.

Distribución: desde Centroamérica a México (Chiapas, Guerrero, Hidalgo, Nayarit, Oaxaca, Querétaro y Yucatán). También se cultiva en huertos familiares.

Fenología: Floración de diciembre a mayo. Es raro encontrarla en fruto.

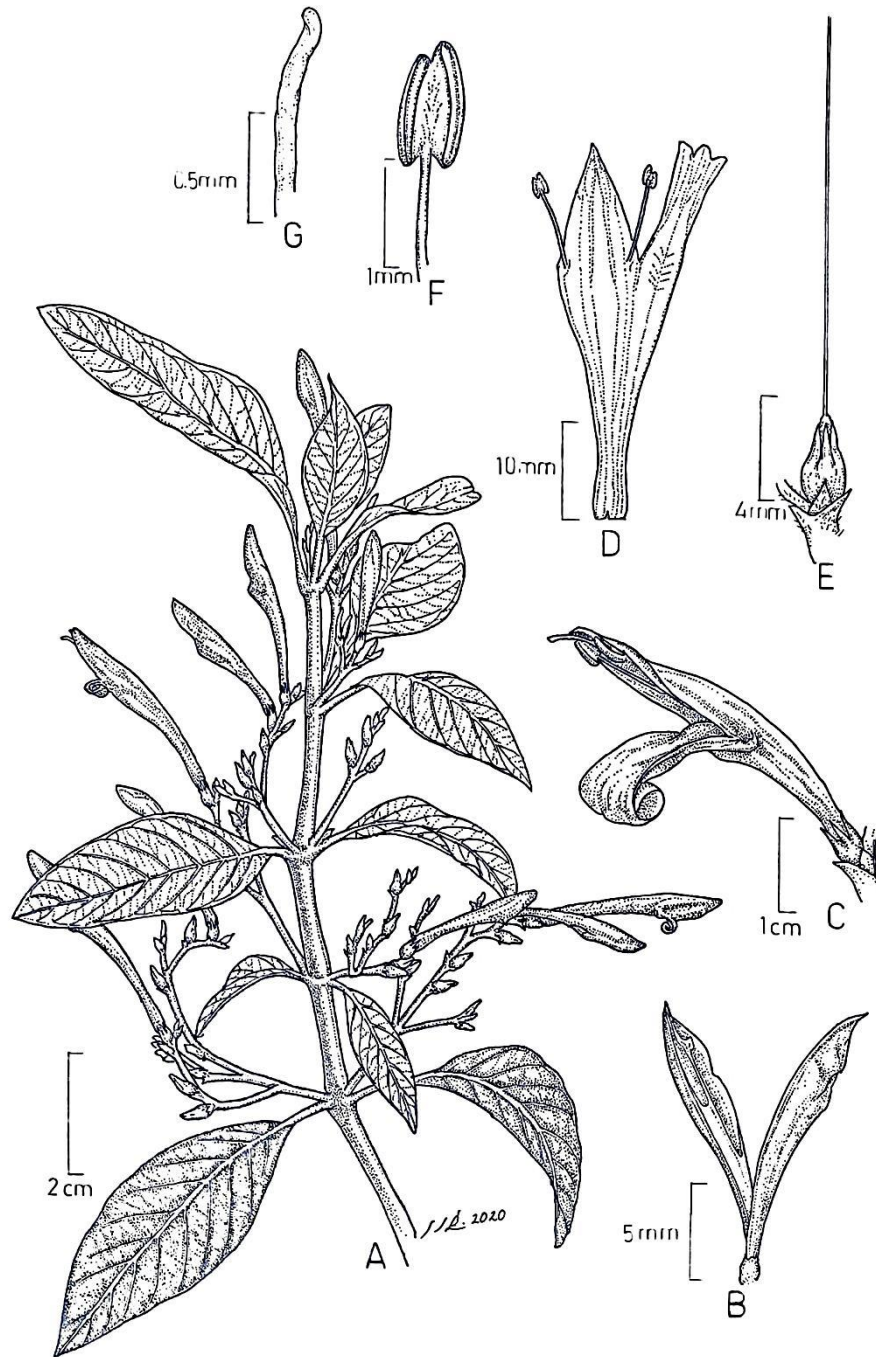


Figura 5. A) Rama con inflorescencias; **B)** Frutos maduros; **C)** Flor; **D)** Corola con los estambres adnatos; **E)** Pistilo; **F)** Antera; **G)** Estigma. Ilustración realizada por: Biol. Sahid Anzaldo Madero (2020)

CAPÍTULO 3. ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA DE *JUSTICIA SPICIGERA*

Existen hasta la fecha numerosos estudios farmacológicos reportados principalmente para extractos hidroalcohólicos y acuosos de la droga cruda de *J. spicigera*. Estos se han ensayado preclínicamente para actividad anticancerígena y citotóxica, inmunomoduladora, antihipertensiva, antidiabética, ansiolítica, antimicrobiana, antiparasitaria y sobre la actividad gastrointestinal. En este capítulo se presentan los resultados de la consulta y análisis de todos los trabajos relacionados a estas actividades farmacológicas.

3.1 Actividad anticancerígena y citotóxica

El cáncer es definido por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2019) como un conjunto de enfermedades que pueden presentarse en un órgano o tejido; cuando las células anormales se desarrollan de manera incontrolada, comienzan a expandirse más allá de sus límites para invadir tejidos adyacentes del cuerpo y/o diseminarse a otros órganos. En México, hasta el 2020 las muertes por tumores malignos ocupaban el cuarto puesto para ambos sexos tan solo después de las enfermedades cardiovasculares, la COVID-19 y la diabetes mellitus según datos reportados por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI, 2021).

Los estudios encaminados a demostrar el efecto citotóxico de la planta fueron realizados primeramente por Cáceres y colaboradores en el 2001. Ellos utilizaron células TF-1 (leucemia humana) y una batería de células hematopoyéticas y adicional, una célula transfectada con el gen *bcl-2* (TB-1). Inicialmente, las células TF-1 fueron expuestas a un extracto acuoso de *J. spicigera* el cual provocó una disminución en el número de células. Posteriormente, para comprobar que el efecto citotóxico que se presentaba no era debido a la ausencia del factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-SCF), se adicionó este factor a las células TF-1. Este factor es importante para el crecimiento de esta línea celular. Los autores encontraron que aún con la presencia del factor, el efecto citotóxico de *J. spicigera* también se presentaba. Adicionalmente, al exponer a las células TF-1 a una concentración mayor del extracto se indujo la muerte de toda la población celular. La línea celular TB-1 transfectada con *bcl-2* no presentó cambios en su densidad celular a una baja concentración del extracto, de hecho, a una concentración más elevada no se logró la muerte de toda la población celular a diferencia de las células TF-1. En cuanto a las células provenientes de médula ósea de ratón y células sanguíneas de cordón umbilical humano su densidad celular no se vio afectada por el extracto. Por otra parte, los autores mencionan que

la presencia de ampollas en la membrana celular es una característica de la muerte celular. En las células TF-1 después del tratamiento con *J. spicigera* se observó esta característica, a diferencia de las células TB-1 donde no se detectaron, por lo que su formación podría estar inhibida por el gen *bcl-2*. Además, en las líneas celulares 32D (médula ósea), TF-1, 3T3 (fibroblastos sanos), CALO (carcinoma de células escamosas de cuello uterino) e INBL (carcinoma de células escamosas de cuello uterino) el tiempo al que ocurría la formación de ampollas estaba directamente relacionado con el tiempo de división celular.

También, los autores quisieron ver el efecto del extracto sobre la apoptosis utilizando el ensayo de TUNEL en células TF-1, células de médula ósea de ratón y células sanguíneas de cordón umbilical humano, obteniendo una tasa de apoptosis del 90%, 10% y 8%, respectivamente. También, se detectó una alta velocidad de apoptosis en la línea celular TF-1, que son células que presentan una elevada rapidez de proliferación. Finalmente, evaluaron el efecto del extracto sobre el nivel de proliferación de las células 32D y 32D transfectadas con el gen *bcl-2* expuestas a diversas concentraciones del extracto. Únicamente para las células 32D, su comportamiento se vio afectado a las concentraciones más altas (7.5% y 10%). Por otra parte, las células 32D *bcl-2* mostraron un comportamiento diferente, donde casi todas las concentraciones (2.5%, 5% y 7.5%) promovieron un aumento en su población celular.

Otros autores, como son Jacobo-Salcedo et al. (2011) también evaluaron el efecto de un extracto etanólico preparado con las hojas de *J. spicigera* contra cinco líneas celulares, MCF-7 (cáncer de mama), HeLa (adenocarcinoma cervical), DU-145 (cáncer de próstata), SKOV-3 (cáncer de ovario) y SW-480 (adenocarcinoma colorrectal). Estas células fueron expuestas a concentraciones de 1-200 µg/mL del extracto. Obtuvieron valores de CI_{50} para MCF-7, HeLa, SW-480, DU-145 y SKOV-3 de 28 ± 5.1 , 17 ± 2.6 , 49 ± 3.4 , >200 y 43 ± 4.5 µg/mL (utilizando como control positivo cisplatino, 7.1 ± 1.1 , 3.21 ± 0.9 , 13.68 ± 1.3 , 2.56 ± 0.7 , 10.7 ± 1.3 µg/mL, respectivamente). Los resultados muestran que el extracto solo es activo en las líneas celulares MCF-7 y HeLa.

Alonso-Castro y colaboradores (2012) evaluaron, también, los efectos del extracto etanólico de las hojas de *J. spicigera* sobre células de adenocarcinoma cervical (HeLa) las cuales expusieron a una concentración de 17 µg/mL que corresponde a la CI_{50} previamente establecida por Jacobo-Salcedo et al. (2011). El extracto de la planta indujo apoptosis en el

35% de la población celular y el cisplatino (2 µg/mL) en un 54%. Estos autores utilizaron como control negativo células sanas HaCaT (queratinocitos humanos) en las cuales solo en el 7% se observó apoptosis, a diferencia del cisplatino que lo indujo en el 56%. Por otra parte, en ratones atímicos nu/nu indujeron tumoración utilizando células HeLa, y en estos se redujo significativamente en un 28%, 41% y 53% el tamaño del tumor (a dosis de 10, 50 y 100 mg/kg, respectivamente), mientras que el cisplatino (1 mg/kg) redujo el tamaño del tumor en un 63%. Finalmente, los autores observaron una reducción en el peso del tumor en un 24%, 44% y 51%, con las dosis previamente evaluadas; el cisplatino redujo el peso del tumor en un 67%. También, evaluaron el efecto citotóxico sobre células mononucleares de sangre periférica, en donde detectaron el daño al DNA utilizando el ensayo cometa a concentraciones de 200 y 1 000 µg/mL del extracto. Con este experimento detectaron el mismo resultado que presentó el control positivo (arsenito de sodio a 65 ng/mL) que es el momento y longitud de la cola.

El efecto del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de las partes aéreas (tallos y hojas) de *J. spicigera* sobre la línea celular LnCaP (adenocarcinoma de próstata sensible a andrógenos) fue evaluado por primera vez por Fernández-Pomares y colaboradores en 2018. Ellos evaluaron el efecto citostático del extracto a nivel de las diferentes fases del ciclo celular de las células LnCaP, observando cambios importantes en cada una de ellas, principalmente, una disminución de $7.87 \pm 0.82\%$ en el número de células que entraban en mitosis; a la concentración de 4 000 µg/mL se presentó una reducción en el crecimiento celular en un $62 \pm 1.7\%$ y con una concentración inhibitoria 50 (CI₅₀) de 3026 ± 421 µg/mL. Los autores, también evaluaron la viabilidad celular para descartar efectos citotóxicos ejercidos por el extracto, pero ninguna de las concentraciones redujo la viabilidad celular más del 50% ni se observaron cambios en la morfología celular, por lo que el efecto anti proliferativo no era mediado por un mecanismo citotóxico.

3.2 Actividad inmunomoduladora

Alonso-Castro et al. (2012) evaluaron la fagocitosis ejercida por macrófagos activados con el extracto de *J. spicigera*. Los macrófagos activados juegan un papel importante en la respuesta del sistema inmune al generar fagocitosis. En pacientes inmunosuprimidos el factor de crecimiento transformante β (TGF-β) promueve la polarización de macrófagos hacia el tipo M2 los cuales son macrófagos reguladores que inhiben la actividad citotóxica de las células NK (Ochoa-Carrillo et al., 2013). Los autores evaluaron concentraciones de 100 y 200

$\mu\text{g/mL}$ de un extracto etanólico de las hojas sobre la fagocitosis de levaduras *Saccharomyces cerevisiae*. Ellos detectaron que el efecto sobre la fagocitosis ejercida por *J. spicigera* fue superior a la ejercida por macrófagos activados con lipopolisacáridos ($1 \mu\text{g/mL}$). Adicionalmente, cuantificaron de manera indirecta la producción de óxido nítrico (NO) utilizando la reacción de Griess (Figura 6), que consiste en la cuantificación de un compuesto colorido que presenta una absorción a una longitud de onda de 540 nm (Bryan et al., 2007). Este compuesto colorido es generado a partir de la reacción inicial del trióxido de dinitrógeno (N_2O_3), que se genera *in situ* a partir de la presencia de nitritos (NO_2^-) y óxido nítrico (NO), con la sulfanilamida; la formación del N_2O_3 está limitada por la cantidad de NO_2^- y NO. De manera adicional, los autores determinaron la cantidad de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) de manera indirecta mediante la conversión del colorante rojo de fenol de una coloración roja a amarilla (absorción a una longitud de onda de $600\text{-}610 \text{ nm}$) por acción del H_2O_2 en presencia de la peroxidasa de rábano picante (HRP, por sus siglas en inglés) (Pick et al., 1981). La cantidad de NO y H_2O_2 producida por macrófagos activados con el extracto ($200 \mu\text{g/mL}$) fue superior a la cantidad producida por macrófagos activados con lipopolisacáridos ($1 \mu\text{g/mL}$).

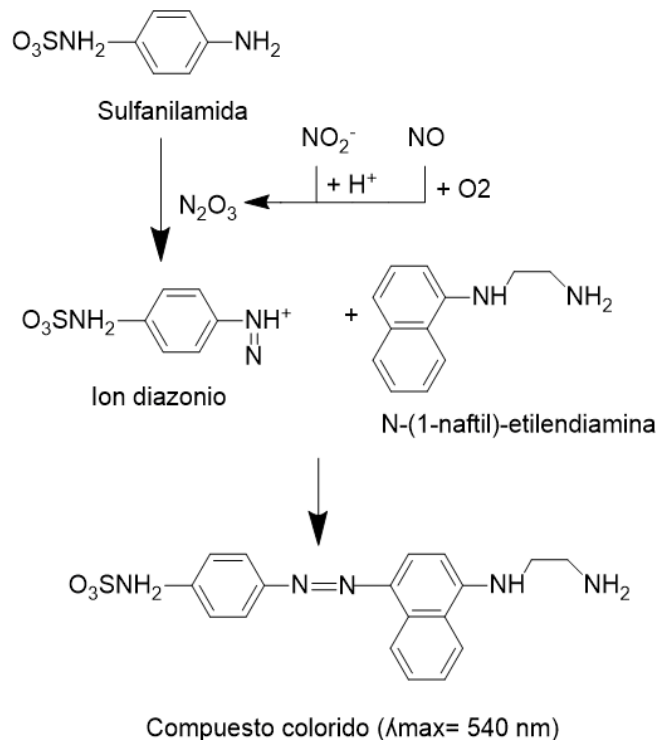


Figura 6. Reacción de Griess para la cuantificación indirecta de los niveles producidos de óxido nítrico. Tomada de Bryan et al. (2007)

También, los autores analizaron el efecto de los esplenocitos murinos obtenidos a partir del bazo de ratones C57BL/6 sobre células de leucemia mieloide aguda (K562). Los esplenocitos fueron utilizados como células efectoras activadas por el extracto etanólico de *J. spicigera* para actuar como células asesinas naturales (NK: *natural killer cells*). El extracto promovió la actividad NK de los esplenocitos en un 9.9% (100 µg/mL) y 10.7% (200 µg/mL) y, también, promovió la viabilidad celular de los esplenocitos en un 127% (100 µg/mL) y 134% (200 µg/mL). Este resultado es relevante porque el bazo participa en la lucha contra las infecciones sistémicas, mientras que las células NK desempeñan un papel fundamental en la vigilancia inmunitaria mediante la secreción de citocinas como el IFN-γ. *J. spicigera* estimula la proliferación de esplenocitos murinos e induce la actividad de las células asesinas naturales. Por lo tanto, *J. spicigera* ejerce importantes efectos inmunomoduladores sobre las respuestas inmunitarias mediadas por macrófagos, esplenocitos y células NK.

3.3 Actividad antiparasitaria

Dentro de los parásitos contra los cuales *J. spicigera* ha sido evaluada incluyen: *Giardia lamblia* (sinónimos: *Giardia intestinalis*, *Giardia duodenalis*), *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania mexicana*. *Giardia lamblia* es un microorganismo unicelular eucariota causante de enfermedades diarreicas; la infección del huésped se logra mediante la ingesta del quiste de agua o alimentos contaminados y/o contacto oral-fecal. La exposición del quiste al ácido estomacal lleva a la transformación de los quistes hacia trofozoítos en la porción proximal del intestino delgado. El trofozoíto es la forma vegetativa y se replica en el intestino delgado, donde causa síntomas de diarrea y malabsorción (Adam, 2001).

Ponce-Macotela et al. (2001), encontraron que al exponer a trofozoítos de *Giardia duodenalis* con el extracto etanólico de las hojas de *J. spicigera* se inhibía su crecimiento a una concentración de 84±20 µg/mL en trofozoítos provenientes de un paciente pediátrico y 125±20 µg/mL en trofozoítos aislados de ovejas macho. También, se realizó el ensayo de viabilidad celular conocido como MTT a través del cual la sal de tetrazolio (MTT) se reduce a formazán (color púrpura) por acción de la succinato deshidrogenasa (Figura 7) y se acumula dentro de las células y mediante la adición de disolventes como dimetilsulfóxido (DMSO) o isopropanol el formazán se solubiliza y libera de las células para su cuantificación espectrofotométrica (Inayat-Hussain et al., 2009).

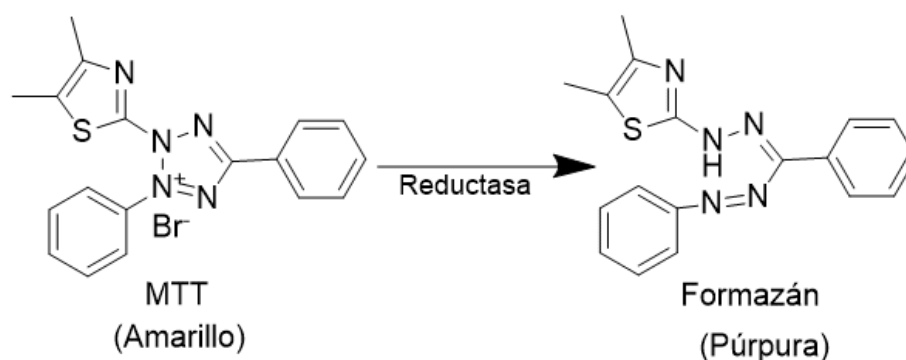


Figura 7. Reacción en la que se basa el ensayo de viabilidad celular conocido como MTT. Tomado de Inayat-Hussain et al. (2009)

Los autores lograron la muerte del $97 \pm 2\%$ de la población de trofozoítos a una concentración de $417 \mu\text{g/mL}$ del extracto. Además, al analizar las micrografías de los trofozoítos se observó que las células de los trofozoítos perdían su tamaño y forma. Las células aparecían hinchadas, las membranas nucleares y celulares se dañaron, se observaron estructuras como agujeros en el núcleo y el citoplasma, los ribosomas se desplazaron y en algunos lugares dieron parte a cúmulos de ribosomas.

Por otra parte, el extracto metanólico de las partes aéreas de *J. spicigera* mostró una actividad moderada contra los trofozoítos de *Giardia lamblia* aislados de un individuo sintomático con una $CI_{50} = 117.41 \mu\text{g/mL}$ reportado por Peraza-Sánchez et al. (2005).

Trypanosoma cruzi, parásito causante de la enfermedad de Chagas, logra la infección de las células del huésped en su estadio más invasivo que es como tripomastigote (Hemmige et al., 2012). Con la finalidad de evaluar el efecto del extracto metanólico de las raíces de *J. spicigera*, Abe y colaboradores (2005) evaluaron el efecto sobre los tripomastigotes recolectados del sobrenadante del cultivo de células de riñón de *mono rhesus* obteniendo una $CM_{100} > 500 \mu\text{g/mL}$ que definieron como la concentración mínima a la cual se eliminaron completamente los tripomastigotes. Adicionalmente, los autores evaluaron el efecto del extracto sobre los epimastigotes de *T. cruzi* sobre los cuales el extracto no ejerció actividad alguna.

Leishmania mexicana presenta dos estadios: promastigote que es la forma infectiva y amastigote, que es la forma replicativa del parásito. Una vez que los promastigotes ingresan al torrente sanguíneo son fagocitados por los macrófagos dentro de los cuales se convierten en amastigotes reproduciéndose en las células de diversos tejidos. En México, la mayoría de

los casos corresponden a leishmaniosis cutánea predominante en los estados de Veracruz, Tabasco, Oaxaca, Chiapas, Nayarit, Yucatán, Quintana Roo y Campeche, en el sureste del país; y en Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Hidalgo y San Luis Potosí, en el norte (González-Tovar et al., 2017). El efecto del extracto metanólico de las partes aéreas (hojas y tallo) de *J. spicigera* fue evaluado por Peraza-Sánchez y colaboradores (2007) sobre los promastigotes de *L. mexicana* aislados de un paciente de Belice obteniendo una $CI_{50} = 513 \mu\text{g/mL}$.

En 2018 Awad et al. evaluaron el efecto del extracto etanólico obtenido de las partes aéreas de *J. spicigera* sobre *Schistosoma mansoni*, parásito que es predominante en climas tropicales y produce esquistosomiasis, la cual se caracteriza por inflamación del colon con pólipos en la parte proximal con supuración blanquecina (Hams et al., 2013) y genera esquistosomiasis hepatoesplénica que se caracteriza por inflamación y fibrosis de ciertas partes del hígado (Shaker et al., 2014). La infección por este parásito fue inducida en ratones CD1 con cercarias obtenidas de *Biomphalaria alexandrina* infectadas (Figura 8).

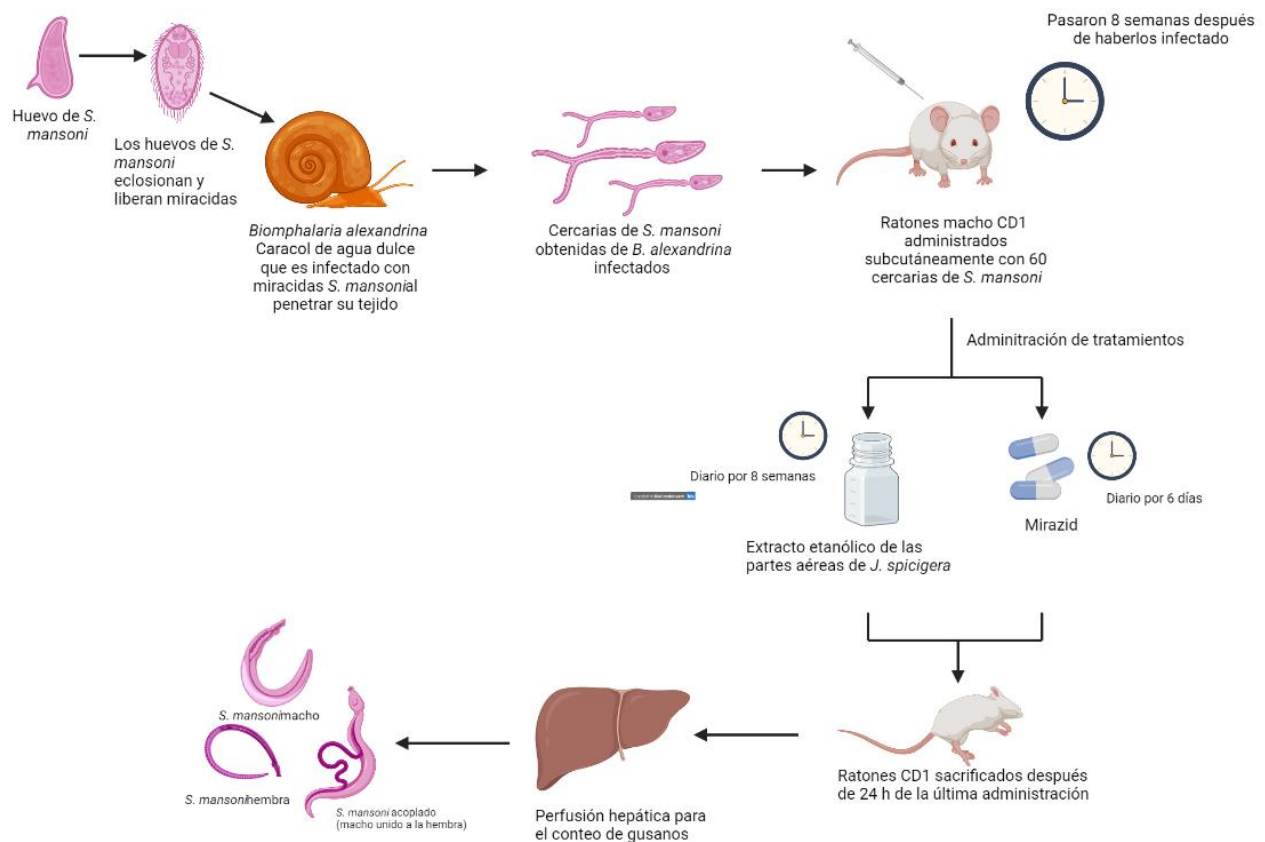


Figura 8. Proceso de infección en ratones CD1 inducida por *S. mansoni*

Después de exponer los ratones por una semana al extracto etanólico (500 mg/kg), el número de gusanos macho se redujo en un 56.52%, mientras que mirazid (600 mg/kg) los redujo en un 82.60%; los gusanos hembra fueron reducidos en un 50.00% y 75.00%, respectivamente. También, los autores evaluaron el efecto del extracto sobre los gusanos acoplados (gusano hembra unido al gusano macho), los cuales fueron reducidos en un 33.33% y 66.66%, respectivamente. También, evaluaron la función hepática mediante la cuantificación de las enzimas aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), fosfatasa alcalina (ALP) y gamma glutamil transpeptidasa (GGT). En los ratones infectados con *S. mansoni* que no recibieron ningún tratamiento (mirazid o extracto) la actividad enzimática de AST, ALT, ALP y GGT se incrementó en un 36.19%, 75.65%, 104.16% y 137.48%, respectivamente, esto en relación a los ratones que no recibieron tratamiento y no se encontraban infectados. La actividad de dichas enzimas se vio reducida en los ratones infectados que recibieron extracto en un 20.00%, 17.60%, 27.95% y 41.17%, respectivamente; aquellos que recibieron mirazid presentaron una reducción en un 24.10%, 22.47%, 20.00% y 43.05%, respectivamente. Por otra parte, los autores también determinaron el contenido de proteínas totales en muestra de sangre de ratones sanos e infectados, y encontraron que su contenido aumentó significativamente en ratones infectados que no recibieron tratamiento en un 34.97% (23.35 ± 3.59 mg/mL) en relación a los valores normales presentados por los ratones sanos (17.30 ± 2.12 mg/mL), mientras que en los ratones infectados tratados con extracto o mirazid se redujeron en un 22.91% (18.00 ± 1.63 mg/mL) y 25.26% (17.45 ± 1.26 mg/mL) los niveles de proteínas totales.

Adicionalmente, debido a que la esquistosomiasis genera estrés oxidativo caracterizado por la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) y el incremento de enzimas antioxidantes endógenas, los autores evaluaron los efectos del extracto sobre la actividad de SOD y MDA. En el hígado de los ratones infectados con *S. mansoni* la actividad del malondialdehído (MDA) y superóxido dismutasa (SOD) aumentó en un 87.55% (0.30 ± 0.02 µg/mg de proteína) y 32.43% (129.02 ± 6.06 µmol/mg de proteína) en contraste con el grupo de ratones sanos (0.16 ± 0.01 µg/mg de proteína y 97.42 ± 22.43 µmol/mg de proteína). El tratamiento con el extracto etanólico de *J. spicigera* redujo la actividad de MDA en un 20% (0.24 ± 0.04 µg/mg de proteína) y el mirazid en un 26.66% (0.22 ± 0.02 µg/mg de proteína). La actividad de la SOD disminuyó en un 16.71%

(107.46±4.34 $\mu\text{mol/mg}$ de proteína) en los ratones que recibieron el extracto como tratamiento y 14.81% (109.91±6.06 $\mu\text{mol/mg}$ de proteína) en ratones que recibieron mirazid. Por otro lado, la actividad del glutati3n (GSH) disminuy3 en ratones infectados que no recibieron tratamiento en un 44.62% (9.79±0.74 $\mu\text{g/mg}$ de prote3na) respecto al grupo no infectado (17.68±2.10 $\mu\text{g/mg}$ de prote3na) y, a su vez, el extracto y mirazid aumentaron su actividad en un 55.66% (15.24±1.59 $\mu\text{g/mg}$ de prote3na) y 13.78% (11.14±1.01 $\mu\text{g/mg}$ de prote3na) respecto a grupo infectado que no recib3 tratamiento.

Finalmente, Awad et al. (2018) realizaron tinciones de eosina-hematoxilina en cortes de h3gado y al observarlos al microscopio se encontraron con que el h3gado de los ratones infectados que no recibieron tratamiento presentaba inflamaci3n granulomatosa rodeando a los miracidios vivos de *S. mansoni* y en la parte m3s externa hab3a presencia de eosin3filos, neutr3filos, linfocitos y fibras gruesas de col3geno. El h3gado de ratones infectados tratados con el extracto etan3lico de *J. spicigera* y mirazid mostraron una reducci3n en n3mero y tama3o de la inflamaci3n granulomatosa rodeando a miracidios muertos de *S. mansoni* y a su vez rodeados de eosin3filos, neutr3filos, linfocitos y fibras gruesas de col3geno.

3.4 Actividad antibacteriana

La resistencia antimicrobiana (RAM) es definida por la Organizaci3n Mundial de la Salud (OMS, 2020) como los cambios que ocurren con el tiempo en bacterias, virus, hongos y par3sitos que provocan que ya no respondan a los medicamentos empleados para tratar las enfermedades que causan, increment3ndose el riesgo de propagaci3n e incluso la muerte. Jacobo-Salcedo et al. (2011) evaluaron el efecto del extracto etan3lico de las hojas de *J. spicigera* sobre pat3genos multirresistentes a cloranfenicol, tetraciclina, penicilina y eritromicina, pero sensibles a neomicina. Las bacterias evaluadas incluyeron a *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter lwoffii*, *Burkholderia cepacia*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. El m3todo empleado para dicha evaluaci3n fue el m3todo de difusi3n en disco o Kirby-Bauer que consiste en inocular masivamente una placa de agar con una cantidad estandarizada del microorganismo de prueba y sobre la superficie se colocan discos impregnados con el agente antimicrobiano los cuales difunden durante el periodo de incubaci3n formando un halo de inhibici3n que entre mayor sea el di3metro mayor es la inhibici3n del microorganismo (Tortora et al., 2013). El extracto de la planta no present3 actividad contra *E. faecalis*, *S.*

aureus, *S. haemolyticus*, *A. baumannii*, *B. cepacia* y *E. coli*, pero si contra *A. lwoffii* y *P. aeruginosa* a una concentración de 375 µg/disco presentando un diámetro de inhibición de 11±2 mm y 12±3 mm (incluyendo los 6 mm del disco), respectivamente. La neomicina (25 µg/disco) empleada como control positivo ejerció un halo de inhibición de 20±3 mm, 19 ±2 mm, 20±2 mm, 15±2 mm, 21±2 mm, 17±3 mm, 20±3 mm y 15±2 mm sobre *E. faecalis*, *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *A. baumannii*, *A. lwoffii*, *B. cepacia*, *E. coli* y *P. aeruginosa*, respectivamente.

Vega-Ávila et al. (2012) evaluaron sobre cepas (no resistentes) de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium* y *Shigella flexneri* al extracto etanólico de todas las partes de *J. spicigera* y una fracción hexánica obtenida a partir de reparto líquido-líquido del extracto etanólico. El método empleado para dicha evaluación fue el de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), el cual consiste en preparar disoluciones con concentraciones decrecientes del principio activo a evaluar, en un medio de cultivo líquido inoculados con los microorganismos en estudio. La CMI corresponde a la concentración a la cual no se observa crecimiento (Tortora et al., 2013). En este caso, se empleó resazurina como indicador de la viabilidad celular y las células metabólicamente activas son capaces de reducir la resazurina a resorufina por acción de la NADPH o NADH reductasa (Figura 9). Se obtuvieron valores de CMI para *S. typhi*, *S. typhimurium*, *S. flexneri*, *E. coli* y *S. aureus* de 0.625, 1.25, 1.25, 2.5 y 1.25 mg/mL con el extracto etanólico, mientras que para las fracciones hexánicas se obtuvieron valores de 0.0781, 0.625, 0.156, 2.0 y 1.25 mg/mL, respectivamente; viendo estos resultados, la fracción hexánica demostró ser más activa que el extracto etanólico. La estreptomycin y penicilina empleadas como controles positivos ejercieron CMI de 39, 0.019, 1.22, 4.88 y 9.76 µg/mL o UI/mL sobre *S. flexneri*, *S. typhimurium*, *S. typhi*, *E. coli* y *S. aureus*, respectivamente.

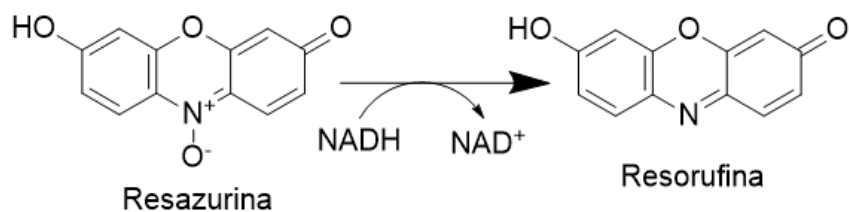


Figura 9. Reacción de conversión de resazurina a resorufina por acción de la NADPH o NADH reductasa. Tomado de Kuete et al. (2017)

Bernardo-Mazariegos et al. (2019) evaluaron por primera vez el efecto de las nanopartículas de plata sintetizadas a partir del extracto acuoso de las hojas de *J. spicigera* sobre *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter aerogenes*. Utilizaron el método de difusión en disco, para lo cual emplearon el extracto y las nanopartículas de plata que contenían el extracto a una concentración de 100 mg/mL. El extracto acuoso de *J. spicigera* mostró un halo de inhibición de 5.3 ± 0.2 mm, 6.0 ± 0.5 mm y 6.0 ± 0.3 mm, mientras que las nanopartículas de plata mostraron valores de 10.0 ± 0.2 mm, 8.3 ± 0.6 mm y 7.1 ± 0.4 mm sobre *B. cereus*, *K. pneumoniae* y *E. aerogenes*. Los autores llegaron a la conclusión de que las nanopartículas de plata son más efectivas que el extracto acuoso de *J. spicigera*.

3.5 Actividad antimicótica

Las infecciones más recurrentes en población mexicana, de acuerdo con una revisión realizada por Corzo-León et al. (2015), incluían la candidiasis vulvovaginitis recurrente, aspergilosis broncopulmonar alérgica, aspergilosis pulmonar crónica, queratitis fúngica, candidiasis invasiva, infecciones fúngicas severas asociadas al virus de inmunodeficiencia humana (VIH), coccidioomicosis, aspergilosis invasiva asociada a la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, infecciones fúngicas severas asociadas a leucemia y mucormicosis.

Jacobo-Salcedo y colaboradores (2011) evaluaron el efecto de inhibición del extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de *J. spicigera* sobre *Candida albicans*, *Candida tropicalis* y *Trichosporon beigelii* mediante el método de difusión en disco. El extracto no ejerció ningún efecto sobre *Candida albicans*, mientras que sobre *Candida tropicalis* presentó un halo de inhibición de 10 ± 1 mm a una concentración de 75 µg/disco y sobre *Trichosporon beigelii* presentó un diámetro de inhibición de 11 ± 2 mm a una concentración de 375 µg/disco. La neomicina (control positivo) presentó un halo de inhibición de 23 ± 3 , 19 ± 2 y 20 ± 2 mm sobre *C. albicans*, *C. tropicalis* y *T. beigelii*.

Vega-Ávila et al. (2012) también evaluaron la actividad antimicótica del extracto etanólico y fracción hexánica de todas las partes de *J. spicigera* sobre *C. albicans* a través del método de CMI. El extracto etanólico no mostró actividad contra *C. albicans*, sin embargo, la fracción hexánica presentó una CMI de 0.25 mg/mL. La fracción hexánica resultó ser más activa que el extracto etanólico.

Bernardo-Mazariegos y colaboradores (2019) evaluaron el efecto del extracto acuoso y las nanopartículas de plata fabricadas a partir del extracto acuoso obtenido de las hojas de

J. spicigera sobre *Macrophomina phaseolina*, *Alternaria alternate*, *Colletotrichum sp.* y *Fusarium solani* que son agentes patógenos que causan enfermedades a las plantas como son pudrición, blanqueamiento de las hojas y marchitamiento, principalmente. La evaluación fue realizada mediante la prueba de cultivo dual en placa (división de la placa de cultivo), en una mitad evaluaron el extracto y en la otra mitad las nanopartículas de plata. Las nanopartículas de plata inhibieron el crecimiento micelar de *M. phaseolina*, *A. alternate*, *Colletotrichum sp.* y *F. solani* en un $80.95\pm 1.35\%$, $62.12\pm 4.50\%$, $40.16\pm 2.35\%$ y $35.60\pm 3.55\%$, respectivamente. El extracto acuoso no mostró actividad.

3.6 Actividad antiinflamatoria

La inflamación es una respuesta compleja del sistema inmunológico a una infección, exposición a toxinas o lesión tisular que provoca la acumulación extravascular de proteínas y leucocitos. La reacción localizada que tiene lugar en los tejidos se conoce como inflamación aguda, la cual está compuesta de dos fases: innata y adaptativa. La respuesta innata se activa inmediatamente después de la exposición y hasta que el patógeno o el daño es reconocido por la respuesta innata se desencadena la respuesta adaptativa (Abbas, 2012). La inflamación aguda es un proceso a corto plazo que se produce como respuesta a una lesión tisular y su evaluación se puede realizar a través de diversos ensayos que incluyen la evaluación del edema formado en patas de rata inducido por carragenina, cuyo proceso inflamatorio se basa en dos etapas: filtración excesiva de líquido a través de los capilares vasculares y drenaje inadecuado del intersticio por los vasos linfáticos (Patil et al., 2019). La evaluación consiste en la administración subcutánea de carragenina en el lado plantar de la pata trasera con una solución de carragenina provocando una reacción inflamatoria para después administrar el agente antiinflamatorio y determinar el porcentaje de inhibición del edema.

El efecto antiinflamatorio generado por los extractos de metanol, cloroformo y hexano de las hojas de *J. spicigera* se evaluó por primera vez por Meckes et al. (2004) en ratas macho Sprague-Dawley mediante el ensayo de edema plantar inducido por carragenina. Se produjo la muerte en ratas expuestas a los extractos de cloroformo y hexano a una dosis de 400 mg/kg, mientras que el extracto metanólico a la misma dosis presentó una actividad moderada con un porcentaje de inhibición del edema de $39.0\pm 2.6\%$ y $40.3\pm 4.8\%$ para la

primera (1 h después de la administración de carragenina) y segunda fase (3 h después de la administración de carragenina), respectivamente.

El efecto del extracto etanólico de *J. spicigera* sobre marcadores bioquímicos, fisiológicos y de inflamación relacionados con la obesidad fue evaluado por Real-Sandoval y colaboradores en 2020. El extracto fue obtenido a partir del polvo adquirido de Future Foods®. La ganancia de peso en ratas Wistar tratadas con dieta alta en grasas fue de 312.56 ± 8.12 g en contraste con los 212.63 ± 4.26 g ganados por ratas que recibieron dieta estándar. Las ratas que recibieron dieta alta en grasas junto al extracto etanólico ($250 \mu\text{g}/\text{kg}$) redujeron la ganancia de peso en un 44.84% (172.41 ± 14.67 g). La ingesta calórica en ratas que recibieron dieta alta en grasas fue en promedio de 113.47 ± 8.10 kcal/día, mientras que las ratas que recibieron dieta estándar consumieron 87.44 ± 1.97 kcal/día. Esto se debió a la densidad calórica de ambas dietas, siendo de 3.1 kcal/g para la dieta estándar y 4.5 kcal/g para la dieta alta en grasa. A pesar de ello, la ingesta calórica en las ratas que recibieron dieta alta en grasas junto al extracto ($250 \mu\text{g}/\text{kg}$) se redujo en un 25.84% (84.15 ± 5.75 kcal/día).

Posteriormente, los autores determinaron el índice relativo de tejido adiposo mediante la relación del peso total del tejido adiposo (tejido adiposo epididimario y retroperitoneal) entre el peso total de las ratas. El índice relativo de tejido adiposo en las ratas que recibieron dieta alta en grasas aumentó a 6.77 ± 0.46 de los 3.37 ± 0.13 presentados por las ratas que recibieron dieta estándar. Las ratas que recibieron dieta alta en grasas junto al extracto ($250 \mu\text{g}/\text{kg}$) redujeron en un 44.61% (3.75 ± 0.38) dicho índice.

Adicionalmente, los autores evaluaron el efecto del extracto sobre los niveles sanguíneos de colesterol total, lipoproteína de alta (HDL) y baja densidad (LDL) y triglicéridos. Primeramente, los autores obtuvieron estos parámetros en ratas con una dieta alta en grasas y en ratas con dieta estándar. Era de esperarse que las ratas que recibieron la dieta alta en grasas presentaran valores elevados de estos parámetros sanguíneos. Por otra parte, las ratas que recibieron una dieta alta en grasas junto con el extracto de *J. spicigera* ($250 \mu\text{g}/\text{kg}$) redujeron sus niveles de triglicéridos (73.01 mg/dL), colesterol total (52.52 mg/dL) y LDL (13.11 mg/dL), sin embargo, aumentaron significativamente sus niveles de HDL (29.84 mg/dL). Los niveles de HDL incrementaron debido a que ejercen un efecto protector contra enfermedades cardiovasculares, al extraer colesterol de las lesiones ateroscleróticas y

transportarlo hasta el hígado para su posterior metabolismo y eliminación intestinal junto con las heces (Maldonado-Saavedra et al., 2012).

Además, los autores (Real-Sandoval et al., 2020) realizaron el ensayo de tolerancia a la glucosa para evaluar la sensibilidad a la insulina en las ratas en la octava semana de tratamiento, pero los resultados no mostraron diferencias significativas en ninguno de los tratamientos.

Finalmente, de manera adicional, los autores evaluaron la expresión de genes relacionados con la inflamación como el gen *Tlr4* que se expresa en una amplia variedad de células hepáticas como respuesta a la estimulación con lipopolisacáridos y ácidos grasos activando vías proinflamatorias y la producción de citocinas, como TNF- α , IL-6. e IFN- γ . En las ratas que recibieron dieta alta en grasas los niveles de expresión de los genes *Tlr4* y *Tnf- α* aumentaron 2.5 y 2.4 veces en contraste con los niveles expresados en las ratas que recibieron dieta estándar como tratamiento, mientras que en ratas que recibieron dieta alta en grasas junto al extracto se redujeron 149.5 y 5.5 veces los niveles de expresión de *Tlr4* y *Tnf- α* , respectivamente.

Los inflamomas se pueden definir como complejos proteicos localizados en el citoplasma de las células, que actúan como sensores y son mediadores del desarrollo de la inflamación (Montaño-Estrada et al., 2017). La activación del inflamoma NLRP3 está involucrada en la modulación de la inflamación y la fibrosis hepática, por lo que los autores realizaron el análisis de expresión de los genes *Nlrp3*, *Caspasa-1*, *IL-1 β* e *IL-18* en el hígado. Las ratas que recibieron dieta alta en grasas presentaron un aumento de 1.81, 252.2, 6.33 y 6.71 en la expresión de los genes *Nlrp3*, *Caspasa 1*, *IL-18* e *IL-1 β* , respectivamente. Los niveles de expresión de dichos genes disminuyeron significativamente en las ratas que recibieron dieta alta en grasas junto al extracto como tratamiento.

La expresión de los factores de transcripción que regulan el metabolismo lipídico se altera con la obesidad, es por eso que los autores evaluaron la expresión de los genes *Ppar- γ* y *Srebp-1c*. La regulación negativa de la proteína SREBP-1c suprime la lipogénesis y la regulación negativa de la proteína PPAR- γ evita la acumulación de lípidos. Los niveles relativos de transcripción de *Ppar- γ* y *Srebp-1c* aumentaron 1.32 y 1.05 veces más en las ratas que recibieron dieta alta en grasas en comparación con el grupo de ratas que recibió dieta estándar, mientras que los niveles de expresión de dichos genes disminuyeron en las

ratas que recibieron dieta alta en grasas junto al extracto. Durante el proceso inflamatorio, la proteína PPAR- α promueve la inactivación de NF- κ B; en ratas que recibieron dieta alta en grasas los niveles de expresión del gen *Ppar- α* que codifica para esta proteína disminuyeron 61.7 veces en contraste con las ratas que recibieron dieta estándar y dichos niveles aumentaron 622.3 veces con el tratamiento del extracto. Por último, la proteína UCP-2 regula la producción de ROS mitocondriales (especies reactivas de oxígeno, por sus siglas en inglés), las cuales están involucradas en el desarrollo de procesos inflamatorios, y consecutivamente en la progresión de enfermedades inflamatorias crónicas como obesidad, diabetes mellitus tipo 2, entre otras. Los niveles de expresión del gen *Ucp2* aumentaron 5.7 veces en las ratas que recibieron dieta alta en grasas como tratamiento, mientras que en ratas que recibieron dieta alta en grasas junto al extracto dichos niveles disminuyeron significativamente. El extracto de *J. spicigera* ejerció un evidente efecto protector contra la respuesta proinflamatoria al modular la expresión de genes clave en el desarrollo de procesos inflamatorios hepáticos lo que lo hace un potencial candidato en el tratamiento de enfermedades relacionadas con la inflamación como lo es la obesidad.

3.7 Actividad antidiabética

La diabetes mellitus se puede definir como un trastorno metabólico crónico caracterizado por la incapacidad de producir o usar la insulina lo que provoca niveles elevados de glucosa en sangre. Los principales subtipos de la misma incluyen la diabetes mellitus tipo I (DMT1) y la diabetes mellitus tipo II (DMT2). La DMT1 se caracteriza por la ausencia de células β del páncreas lo que provoca niveles bajos e incluso nulos de insulina. La DMT2 es provocada por un desbalance entre los niveles y la sensibilidad a insulina (Sapra, 2021). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS,2019), 422 millones de personas la padecen a nivel mundial, la mayoría provenientes de países de bajos y medianos recursos y 1.6 millones de muertes se atribuyen a la diabetes anualmente. En México, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT, 2018) reportó que hasta el 2018, 8.6 millones de personas mayores de 20 años padecían diabetes.

La actividad antidiabética de *J. spicigera* se evaluó mediante el ensayo de tolerancia a la glucosa (OGTT, por sus siglas en inglés) el cual se emplea para diagnosticar la DMT2 en el área clínica. Se administra cierta cantidad de glucosa (75 g) por vía oral y se toman muestras de sangre para cuantificar los niveles de glucosa durante cierto periodo de tiempo

(2 h) y si el sujeto tiene una tolerancia normal a la glucosa sus niveles regresan a la normalidad (Wile et al., 2014).

En el ensayo realizado por Ortiz-Andrade et al. (2012) se evaluó el efecto del extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de *J. spicigera* sobre los niveles de glucosa de ratas Wistar macho normoglicémicas y diabéticas. En ratas normoglicémicas el extracto (100 mg/kg) redujo los niveles de glucosa en un 27% (1 h), 39.5% (2 h), 45.8% (3 h) y 40.8% (4 h), mientras que en ratas diabéticas la misma dosis produjo una reducción de 155% (0.5 h) y 185% (1 h) en contraste con ratas sanas que no recibieron ningún tratamiento.

Adicionalmente, el grupo de Ortiz-Andrade et al. (2012) cuantificaron la captación por adipocitos murinos y humanos de un análogo de glucosa fluorescente conocido como 2-(N-(7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol-4-il) amino)-2-deoxiglucosa) (2-NBDG) y expuestos al extracto etanólico de *J. spicigera*, con la finalidad de determinar si es uno de los mecanismos mediante los cuales el extracto ejerce sus efectos como antidiabético. El extracto indujo la captación del análogo de glucosa por adipocitos murinos en un 35% (1 µg/mL), 67% (10 µg/mL) y 127% (50 µg/mL) en comparación con los adipocitos murinos que recibieron insulina (100 nM). En adipocitos humanos la captación de 2-NBDG fue de 46% (1 µg/mL), 96% (10 µg/mL) y 115% (50 µg/mL). Finalmente, los efectos del extracto también fueron evaluados en adipocitos murinos y humanos pre incubados con el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) con la finalidad de generar resistencia a la insulina. El extracto indujo la captación del análogo de glucosa en adipocitos murinos resistentes a insulina en un 42% (1 µg/mL), 72% (10 µg/mL) y 137% (50 µg/mL) en comparación con los adipocitos sensibles a insulina y en adipocitos humanos resistentes a insulina el extracto promovió la captación de 2-NBNG en un 52%, 85% y 99% a las concentraciones anteriormente mencionadas.

Por otra parte, el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de *J. spicigera* sobre la lipasa pancreática y α -glucosidasa, las cuales están involucradas en el metabolismo de carbohidratos, fue evaluado por Ramírez y colaboradores (2012); para el caso de la α -glucosidasa obtenida de la mucosa intestinal de ratas Sprague-Dawley el porcentaje de inhibición ejercido por el extracto etanólico de *J. spicigera* fue de $0.4 \pm 1.5\%$ (1 mg/mL). El porcentaje de inhibición de la lipasa pancreática porcina ejercido por el extracto etanólico de *J. spicigera* fue de $12.7 \pm 4.3\%$ (1 mg/mL).

3.8 Actividad antihipertensiva

La hipertensión es un padecimiento frecuente que si no se trata adecuadamente puede provocar trombosis coronaria, accidentes cerebrovasculares e insuficiencia renal. Un método experimental que se usa para inducir hipertensión en modelos animales es a través de la administración de NG-nitro-L-arginina-metil éster (L-NAME) (Campbell, 2006).

Esquivel-Gutiérrez et al. (2013) evaluaron el efecto de diversos tipos de extractos (acuoso, metanólico, clorofórmico y hexánico) obtenidos a partir de las partes aéreas (tallos, hojas y flores) de *J. spicigera* sobre ratas macho Wistar a las cuales se les indujo hipertensión por administración oral de L-NAME. L-NAME induce hipertensión debido al bloqueo en la síntesis de óxido nítrico por la inhibición de la óxido nítrico sintasa. Este gas es fundamental ya que causa vasodilatación (aumento del diámetro del vaso sanguíneo) que se produce por la relajación del músculo liso vascular. La vasodilatación mejora el flujo sanguíneo y aumenta el aporte de oxígeno a las células en el sitio de liberación del NO (Tortora et al., 2013). El extracto de cloroformo fue el que presentó la mejor actividad antihipertensiva mostrando una reducción significativa en la presión arterial en ratas hipertensas reduciendo los valores de 180/164±1.7/3.2 mmHg (sistólica/diastólica) a 149/133±4.0/3.7 mmHg (sistólica/diastólica), después de haber recibido el extracto. Por otra parte, el extracto acuoso obtenido por maceración en frío por 5 días solo ejerció una reducción significativa de la presión arterial diastólica en ratas hipertensas de 148±6.6 a 128±4.5 mmHg. Por lo que respecta a los extractos metanólico y hexánico, estos no mostraron ningún resultado satisfactorio.

En 2017, Magos-Guerrero et al. evaluaron nuevamente el efecto del extracto metanólico sobre ratas Wistar sanas e hipertensas y a diferencia de Esquivel-Gutiérrez et al. (2013) solamente emplearon las hojas de *J. spicigera*. Cuantificaron los cambios en la frecuencia cardiaca (FC) y la presión arterial (PA). El extracto de *J. spicigera* redujo la FC en ratas normales de 358±2 a 327±8 pulsaciones/min, pero en ratas hipertensas hubo un aumento de 370±7 a 376±3 pulsaciones/min. En cuanto a la PA en ratas normales el grupo que recibió extracto presentó un valor de 107±1 mmHg, mientras que el grupo control presentó un valor de 104±1 mmHg y, en ratas hipertensas el grupo control presentó un valor de 139±3 mmHg, mientras que el grupo que recibió extracto presentó un valor de 136±1 mmHg, es decir, no se presentaron cambios relevantes en la presión arterial de ratas

normales e hipertensas que recibieron el extracto. Posteriormente, ratas normales e hipertensas fueron anestesiadas y se insertaron cánulas en la arteria y vena femoral para registrar la FC y PA y a través de ellas administraron el extracto, sin embargo, dado que el extracto fue disuelto en una solución isotónica de cloruro de sodio (NaCl) se produjo hipotensión en ratas normales, por lo que fue necesario añadir un grupo de ratas normales a las cuales se les administró NaCl. El extracto no produjo cambios en la FC en ratas normales e hipertensas. Finalmente, al medir la presión arterial media (PAM) los autores observaron un efecto dependiente de la dosis al administrar el extracto por vía intravenosa en ratas sanas e hipertensas.

3.9 Actividad sobre el Sistema Nervioso Central (SNC)

Debido al uso tradicional de la planta para el tratamiento del dolor, Zapata-Morales y colaboradores (2016) evaluaron el potencial del extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de *J. spicigera* como agente antinociceptivo sobre ratones macho Balb/C. Inicialmente, los autores llevaron a cabo la prueba de contorsiones con ácido acético donde el extracto redujo las contorsiones abdominales de 39.6 (vehículo) a 33 y 35 contorsiones a las dosis de 50 mg/kg y 100 mg/kg, respectivamente. El extracto a una dosis de 200 g/kg redujo las contorsiones a 18.8; este efecto fue similar al ejercido por el naproxeno sódico (150 mg/kg).

El siguiente ensayo realizado fue la prueba de la placa caliente, que consiste en cuantificar el tiempo (en segundos) en el que los ratones se lamen las patas traseras o saltan de la placa caliente. Las distintas dosis evaluadas del extracto (50, 100 y 200 mg/kg) no ejercieron ningún efecto sobre el tiempo en el que los ratones se lamían las patas traseras o saltaban pasadas 1 y 2 h del tratamiento.

Adicionalmente, en la prueba de movimiento de la cola se cuantificó el tiempo de latencia, que corresponde al tiempo (en segundos) desde que se coloca la cola en el analgesímetro hasta que los ratones la retiran. El extracto indujo un aumento en el tiempo de latencia de 3.3 s (0 min) a 5.7 s (60 min) y de 3.2 (0 min) a 5.9 s (60 min) a dosis de 100 y 200 mg/kg, respectivamente, mientras que la buprenorfina (1 mg/kg) aumentó significativamente el tiempo de latencia de 3.7 s (0 min) a 8.43 s (60 min).

Después, en la prueba de formalina los autores evaluaron la respuesta neurogénica (0-15 min) e inflamatoria (15-45 min) de un extracto etanólico a través del lamido de la pata trasera tras la administración de formalina al 3%. En la fase neurogénica de la prueba, el

extracto etanólico redujo el tiempo de lamido de 84.1 s (vehículo) a 45 s y 33 s a dosis de 100 y 200 mg/kg, respectivamente. El extracto redujo la respuesta inflamatoria dada por la disminución en el tiempo de lamido de la pata trasera de los ratones de aproximadamente 198 s (solución salina) a 100.4 s (100 mg/kg) y 47.4 s (200 mg/kg). El naproxeno sódico (150 mg/kg) redujo el tiempo de lamido a 51 s.

Finalmente, en la prueba de inducción del sueño (anestesia) por ketamina se midió el intervalo de tiempo desde que se administraba la ketamina hasta que los animales no podían enderezarse (tiempo de inducción del sueño) y el tiempo que tardaban en volver a enderezarse (duración del sueño). El extracto fue administrado previo a la administración de ketamina, e indujo una reducción en el tiempo de inducción del sueño de 3 min (50 mg/kg), 2.86 min (100 mg/kg) y 2.85 min (200 mg/kg) en contraste con los 4.52 min presentados por los ratones que solo recibieron solución salina como tratamiento. Asimismo, el extracto no tuvo ningún efecto sobre la duración del sueño, sin embargo, el clonazepam (1.5 mg/kg) aumentó significativamente el tiempo de sueño de 30 min a 77.2 min (Zapata-Morales et al., 2016).

También, se han realizado ensayos en *J. spicigera* para comprobar sus efectos anticonvulsivos. Una convulsión representa una actividad eléctrica anormal del cerebro la cual se puede clasificar como parcial o generalizada. En una convulsión parcial, solo una parte de la corteza cerebral se activa, mientras que la convulsión generalizada es el resultado de la activación cortical difusa al inicio de la convulsión o de la generalización de la actividad convulsiva parcial (Huff et al., 2021).

El efecto anticonvulsivo del extracto acuoso de las partes aéreas de *J. spicigera* fue evaluado por González-Trujano et al. (2017) sobre ratones macho Swiss Webster y ratas Wistar para lo cual se indujeron convulsiones por administración de pentilenotetrazol y electrochoque. En los ratones que no recibieron ningún tratamiento (dosis del extracto), el pentilenotetrazol (80 mg/kg) ejerció el 100% de convulsiones mioclónicas y generalizadas y el 86% de convulsiones tónicas. Posteriormente, el extracto fue administrado previo a la administración del pentilenotetrazol y se observó que redujo significativamente el tiempo en el que se presentaban convulsiones mioclónicas y generalizadas (100 y 1 000 mg/kg) y convulsiones tónicas (30, 100 y 1 000 mg/kg). Además, la mortalidad y el tono se redujeron

en un 40% (30 mg/kg) y 20 % (100 o 1 000 mg/kg), respectivamente en relación al grupo control.

En la prueba de inducción de convulsiones por electrochoque, los autores determinaron el tiempo en el que se presentaban convulsiones tónicas. En los ratones que recibieron vehículo el tiempo fue de 9.63 ± 0.42 s y también determinaron el tiempo al que recuperaron el reflejo de enderezamiento que fue hasta los 61.38 ± 5.95 s. El extracto indujo una reducción en el tiempo de recuperación del reflejo de enderezamiento a 23.20 ± 7.80 s (30 mg/kg), 6.70 ± 2.46 s (100 mg/kg) y 7.70 ± 2.42 s (1 000 mg/kg). Además, el intervalo de tiempo entre las convulsiones tónicas y clónicas ejercido por el extracto fue de 42.70 ± 9.87 s (30 mg/kg), 44.90 ± 5.72 s (100 mg/kg) y 36.10 ± 6.31 s (1 000 mg/kg) que fue similar a los 47.58 ± 9.87 s (25 mg/kg) presentados por la fenitoína (control positivo).

Adicionalmente, con la finalidad de reforzar los ensayos sobre la actividad anticonvulsiva generada por el extracto acuoso, se cuantificaron los cambios en la actividad cerebral de ratas Wistar, mediante un encefalograma. El extracto (1 000 mg/kg) y la etosuximida (100 mg/kg) presentaron una actividad paroxística reducida en contraste con el grupo control, mientras que en los tratamientos con extracto y etosuximida no se observaron cambios a nivel de la corteza central y frontal con respecto al grupo control. La actividad paroxística cerebral caracterizada por anomalías en el encefalograma, que acompaña a las crisis epilépticas o aparece entre estas crisis, se emplea para el diagnóstico de la epilepsia (Zarranz, 2002). En consecuencia, una reducción en esta actividad se podría interpretar como un símbolo en la reducción de las convulsiones.

El comportamiento de las convulsiones tónico y clónicas fue evaluado empleando la escala convulsiva de Racine donde: i) inmovilidad, cierre de ojos, espasmos de oído, espasmos de vibras, olfateo, clonus facial; ii) asentir con la cabeza, asociado con clonus facial más severo; iii) clonus de una extremidad anterior; iv) clonus bilateral acompañado de levantamiento sin caer y v) convulsiones clónicas generalizadas acompañadas de levantamientos y caídas (González-Trujano et al., 2017).

La escala de Racine mostró que el extracto de *J. spicigera* (1 000 mg/kg) redujo el número de animales que presentaron convulsiones tipo III y eliminó por completo las

convulsiones tipo IV y V al igual que la etosuximida (100 mg/kg). La etosuximida también redujo las convulsiones tipo II.

También ha sido evaluado el efecto ansiolítico de *J. spicigera*. La ansiedad es una respuesta fisiológica normal que ocurre cuando se presentan situaciones nuevas, estimulantes o amenazantes en un individuo, sin embargo, la ansiedad patológica se caracteriza por una respuesta excesiva a dichas situaciones. El tratamiento de los trastornos de ansiedad se realiza principalmente a través de terapia psicológica acompañada del uso de fármacos que se conocen como ansiolíticos (Strölhe et al., 2018).

Dado que la infusión de las hojas de la planta ha sido empleada tradicionalmente para el tratamiento de condiciones como los “nervios”, el efecto de tipo ansiolítico y su posible interacción con las hormonas producidas por los ovarios, de este preparado tradicional, fue evaluado por primera vez por García-Ríos y colaboradores (2019). El ciclo estral de ratas Wistar fue estudiado antes del ensayo; solo las ratas que presentaron al menos 3 ciclos estrales normales fueron incluidas en el estudio, para lo cual fueron subdivididas en dos grupos: i) proestro-estro (P-E) y ii) metaestro-diestro (M-D).

En el caso de la prueba ansiolítica del laberinto en cruz elevado, los autores evaluaron el i) tiempo de permanencia en los brazos abiertos, ii) número de veces que las ratas entraban en los brazos abiertos, iii) número total de veces que las ratas entraban en los brazos abiertos y cerrados y, iv) porcentaje de veces que las ratas entraban en los brazos abiertos.

Los autores evaluaron diversas dosis del extracto (12, 24, 48 y 96 mg/kg), pero solo la de 12 mg/kg demostró ser activa. El extracto acuoso (infusión) a 12 mg/kg presentó un comportamiento similar al ejercido por el diazepam (2 mg/kg) que corresponde al tiempo que las ratas pasaron en los brazos abiertos del laberinto en las fases P-E y M-D del ciclo estral. En el caso de las fases M-D, las ratas que recibieron extracto y diazepam (2 mg/kg) pasaron menos tiempo en los brazos abiertos en comparación con las ratas en las fases P-E que recibieron los mismos tratamientos. El hecho de que las ratas hayan pasado más tiempo en los brazos abiertos en las fases P-E que en las fases M-D fue atribuido a la alta producción de hormonas ováricas en las fases P-E.

Por otra parte, en el caso del número de entradas en los brazos abiertos las ratas que recibieron extracto (12 mg/kg) redujeron sus entradas, así como el número de entradas totales en las fases M-D en comparación con las ratas en las fases P-E que recibieron el mismo tratamiento.

Adicionalmente, el extracto (12 mg/kg) y el diazepam (2 mg/kg) redujeron significativamente el índice de ansiedad en las fases P-E, pero, en las fases M-D, solo el diazepam redujo significativamente dicho índice. Por el contrario, el extracto (12 mg/kg) indujo un aumento significativo en el índice de ansiedad en las fases M-D. La reducción en el índice de ansiedad en las fases P-E tratadas con la infusión (12 mg/kg) fue directamente relacionado con el aumento en el número de entradas y tiempo de permanencia en los brazos abiertos.

Finalmente, en la prueba de campo abierto los autores evaluaron el efecto del extracto acuoso de *J. spicigera* sobre la actividad locomotora, exploratoria o de aseo personal de las ratas, ya que estas actividades podrían haber interferido en los resultados obtenidos en la prueba del laberinto en cruz elevado. Las variables que evaluaron fueron: i) número de cuadrados cruzados, ii) número de veces que las ratas se paraban sobre sus patas traseras y iii) número de veces que las ratas se lamian las patas, se frotaban la cabeza, se lamían el pelo del cuerpo, se rascaban con las patas traseras y se lamían la cola o el área genital. En general, no se observaron diferencias significativas en las tres variables evaluadas, tratamientos o fases del ciclo estral. En consecuencia, los autores sugieren que la infusión de *J. spicigera* produce efectos de tipo ansiolítico en ratas hembras, aparentemente al interactuar con hormonas ováricas en las fases P-E.

Ángeles-López y colaboradores (2019) evaluaron el efecto antinociceptivo y espasmolítico del extracto etanólico obtenido a partir de las partes aéreas de *J. spicigera* mediante la prueba de inducción de contorsiones con ácido acético en ratones macho Swiss Webster. Al analizar el área bajo la curva (AUC) para cada tratamiento, obtenida a partir de las curvas del curso temporal del efecto antinociceptivo, el extracto (316 mg/kg) ejerció una reducción significativa del efecto nociceptivo inducido por el ácido acético con 179.5 ± 29.5 unidades de área (u.a.) en comparación con el grupo que no recibió tratamiento (379.5 ± 27.3 u.a.), mientras que la dipirona (100 mg/kg; 95.0 ± 40.6 u.a) presentó una reducción más significativa que la presentada por el extracto.

A su vez, los autores evaluaron el posible mecanismo de acción a través del cual *J. spicigera* ejerce sus efectos antinociceptivos, para lo cual se administraron alguna de estas tres sustancias: naloxona (antagonista opioide competitivo), WAY100635 (antagonista selectivo del receptor 5-HT_{1A}) o L-NAME (inhibidor de la óxido nítrico sintasa) antes de administrar el extracto etanólico de *J. spicigera*. Después de la administración del extracto y pasado cierto tiempo, los autores observaron el efecto de estas sustancias y la respuesta ejercida por *J. spicigera*. WAY100635 (0.1 mg/kg) presentó una AUC de 430.41±87.67 u.a., mientras que L-NAME (30 mg/kg) presentó una AUC de 86.25±35.87 u.a. y la naloxona (1 mg/kg) presentó una AUC de 275.83±41.70 u.a. Como los autores mencionan, de acuerdo con estos resultados, es posible que la respuesta antinociceptiva del extracto implique la participación de un efecto inhibitorio de receptores de opioides y serotonina debido a la atenuación del efecto antinociceptivo ejercido por el extracto en presencia de naloxona y la supresión de dicho efecto en presencia de WAY100635. La inhibición de la síntesis de NO ejercida por L-NAME favoreció el efecto de la respuesta antinociceptiva ejercida por el extracto, sugiriendo una participación pro nociceptiva de este neurotransmisor. Aunque no fue posible determinar el puntual mecanismo de acción involucrado en los efectos del extracto de *J. spicigera* es evidente que posee una potencial actividad antinociceptiva.

3.10 Actividad gastrointestinal

Ángeles-López et al. (2019) también evaluaron la actividad del extracto etanólico obtenido a partir de las partes aéreas de *J. spicigera* sobre la motilidad intestinal en ratones macho Swiss Webster mediante la determinación de la distancia recorrida por una solución de carbón:goma acacia. Esta mezcla se utiliza como indicativo del mejoramiento del tránsito intestinal y debido a que estas sustancias no se absorben solo se adsorben, se puede conocer su distancia recorrida en el intestino. Primeramente, fue administrado el extracto o el fármaco de referencia (loperamida) para posteriormente administrar carbón activado:goma acacia. El extracto etanólico indujo una reducción en el tránsito intestinal a 62.76±9.3% (3.16 mg/kg), 57.08±7.1% (5.62 mg/kg) y 27.25±6.5% (10 mg/kg) en comparación con el 68.51±4.4% que habían presentado los ratones que solo recibieron solución salina como tratamiento. El efecto ejercido por la dosis de 10 mg/kg del extracto etanólico de *J. spicigera* fue similar al ejercido por la loperamida (19.97±1.7%).

Finalmente, se determinó la actividad espasmolítica ejercida por el extracto en íleon de cobayo. Antes de la administración de los tratamientos, los tejidos fueron contraídos con KCl (32 mM) y solo se emplearon los tejidos que se mantuvieron contraídos por al menos 5 min. La contracción máxima producida por el KCl fue del 100% (2.62 ± 0.45 g), valor que se consideró como el porcentaje máximo de contracción. La respuesta contráctil disminuyó en presencia del extracto, pero solo con la dosis de 1 000 mg/kg se pudo observar una reducción significativa del efecto contráctil en un $23 \pm 1.53\%$, mientras que la papaverina (30 μ M) lo redujo en un $99.28 \pm 0.72\%$ por lo que no fue posible calcular una concentración inhibitoria 50 (CI₅₀).

3.11 Evaluación toxicológica

El riesgo o peligro que puede generar un agente químico sobre la salud es estudiado mediante su administración preclínica (en animales) en dosis únicas (toxicidad aguda) o repetidas (toxicidad subaguda, subcrónica y crónica) a través de la vía de administración que se desea emplear en los seres humanos. La toxicidad aguda es realizada a dosis elevadas del agente químico donde, usualmente, el término del estudio se da con la muerte del animal y lo que se reporta es la dosis letal 50 (DL₅₀), la cual representa la dosis de la sustancia evaluada a la cual se produce la muerte en el 50% de los animales empleados; en este tipo de ensayo los animales se mantienen en observación por un periodo de 14 días para proceder a sacrificarlos y evaluar el daño (Mendoza-Patiño, 2008).

Alonso-Castro y colaboradores (2012) evaluaron la toxicidad aguda ejercida por el extracto etanólico obtenido de las hojas de *J. spicigera* en ratones CD-1 administrando por vía intragástrica e intraperitoneal. Después de 14 días a dosis mayores de 1,000 mg/kg se generaba una disminución significativa del peso corporal, mientras que a dosis menores no se presentó ningún efecto nocivo. La dosis letal 50 (DL₅₀) obtenida por vía intragástrica e intraperitoneal en ratones CD-1 fue $> 5\ 000$ mg/kg (para ambas vías de administración). Los autores creen que presenta un bajo efecto tóxico, sin embargo, es necesario ellos plantean que se deberían realizar estudios de toxicidad crónica.

Finalmente, González-Trujano y colaboradores (2017) determinaron la dosis letal 50 (DL₅₀) sobre ratones macho Swiss Webster administrados por vía intraperitoneal con el extracto acuoso obtenido de las partes aéreas de *J. spicigera*. Después de 14 días no se produjo la muerte de los ratones, daño macroscópico a los tejidos o pérdida de peso a todas

las dosis evaluadas (500, 1 000 y 2 000 mg/kg) por lo cual se estimó que la DL_{50} era mayor a 2 000 mg/kg.

CAPÍTULO 4. QUÍMICA DE *J. SPICIGERA*

Los trabajos que existen hasta la fecha de la especie son escasos y algunos de ellos imprecisos. Por esta razón, y considerando un enfoque quimiotaxonómico, se decidió abordar la química del género y entender cómo es el metabolismo de especies relacionadas a *J. spicigera*. Primeramente, se muestran los metabolitos del género que comprenden el periodo de búsqueda de 2012 a 2021. Corrêa y colaboradores ya habían publicado en el año 2012 una revisión muy completa de la química del género y en ella reportaron 63 metabolitos los cuales fueron: una cumarina, cuatro flavonoides, ocho alcaloides, ocho glicósidos triterpenoidales, 33 lignanos de tipo arilnaftalida y 9 lignanos con estructuras variadas (Correa y Alcântara, 2012).

4.1 Química del género *Justicia*

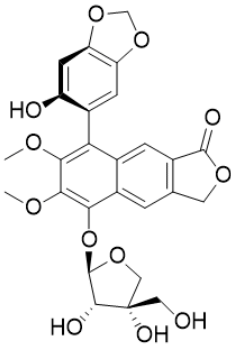
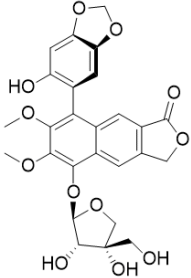
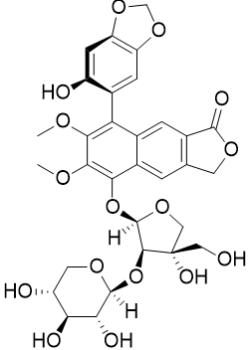
Entre 2012 y 2021 se encontraron 134 metabolitos, los cuales incluyen 41 lignanos, 28 flavonoides, 11 terpenoides, 4 compuestos fenólicos, 22 alcaloides, 18 derivados de ácidos grasos y 10 más con estructuras diversas (Tabla 4).

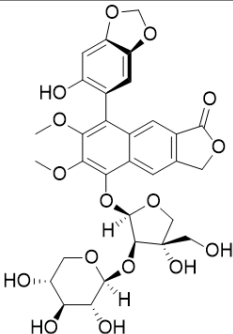
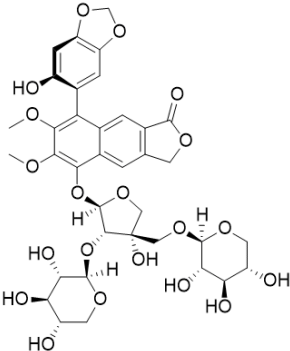
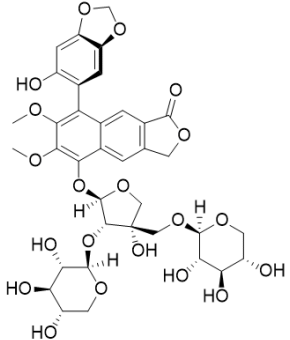
Como se puede constatar, los lignanos son metabolitos representativos del género. En el caso de *Justicia procumbens*, una especie muy valorada en la medicina tradicional china, abundan principalmente los que contiene un esqueleto de tipo arilnaftálico (una estructura de tipo 2,3-dimetil-1-fenil-naftaleno). En el caso de *J. aequilabris*, los lignanos más abundantes son de tipo 7,9':7',9-diepoxilignano.

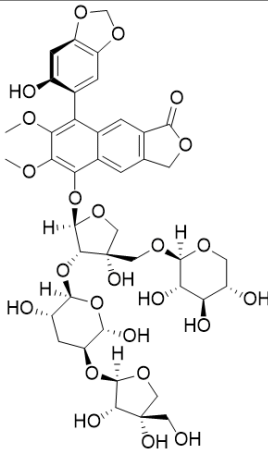
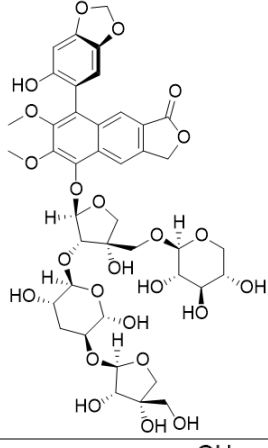
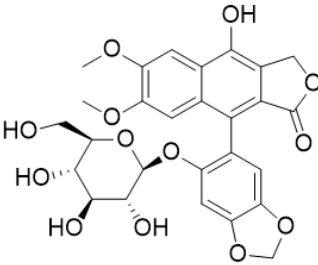
Los alcaloides son un tema muy particular e interesante; éstos han sido aislados de todas las especies que se han estudiado hasta la fecha. Destacan primeramente los de tipo ciclopéptido nombrados como justicianenos A-D de *J. procumbens*. En *J. gendarussa* se han aislado una serie de aminas aromáticas nombradas brazoides A-D y también en esta especie se han aislado cuatro derivados de tipo 2-aminobenzil alcohol nombrados justidrusamidas A-D.

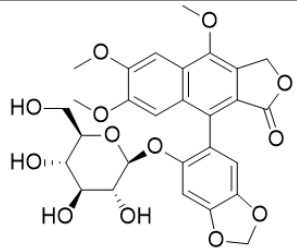
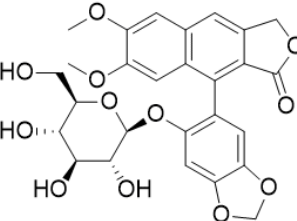
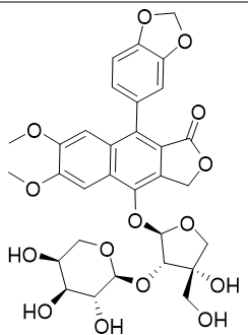
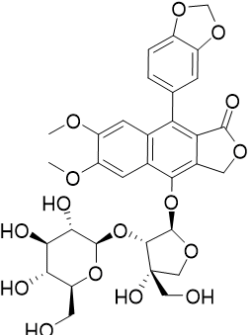
Finalmente destacan los flavonoides de tipo flavona, conteniendo principalmente luteolina o apigenina, así como de tipo flavonol, conteniendo principalmente a la quercetina.

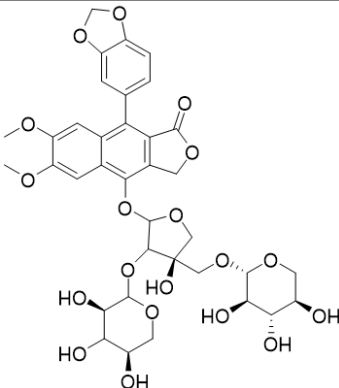
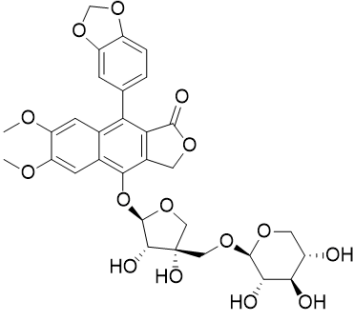
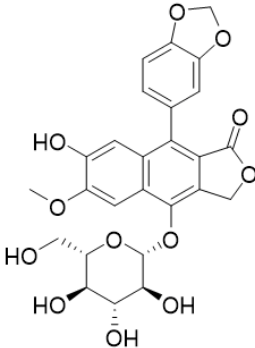
Tabla 4. Compuestos aislados del género *Justicia* desde el año 2012 hasta el año 2021

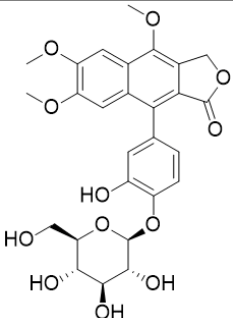
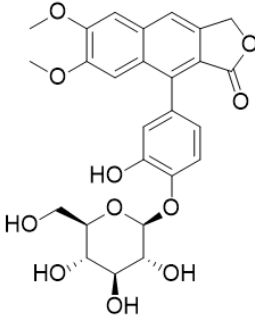
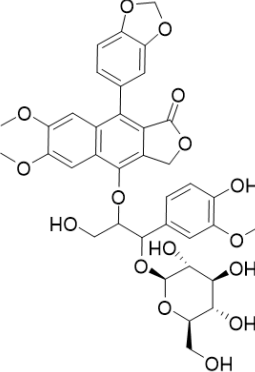
No.	Especie	Nombre	Estructura	Parte de la planta	Referencia
Lignanos					
1	<i>Justicia procumbens</i>	Justatrópmero A		Tallo y corteza	Zhao et al. (2021)
2	<i>Justicia procumbens</i>	Justatrópmero B		Tallo y corteza	Zhao et al. (2021)
3	<i>Justicia procumbens</i>	Justatrópmero C		Tallo y corteza	Zhao et al. (2021)

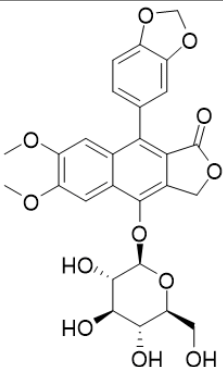
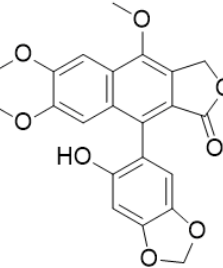
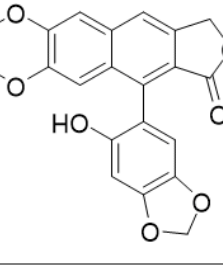
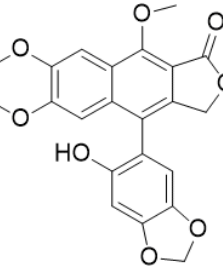
4	<i>Justicia procumbens</i>	Justatrómero D		Tallo y corteza	Zhao et al. (2021)
5	<i>Justicia procumbens</i>	Justatrómero E		Tallo y corteza	Zhao et al. (2021)
6	<i>Justicia procumbens</i>	Justatrómero F		Tallo y corteza	Zhao et al. (2021)

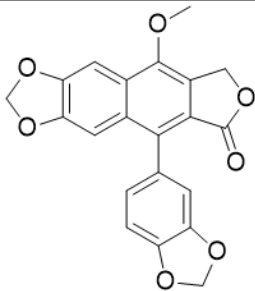
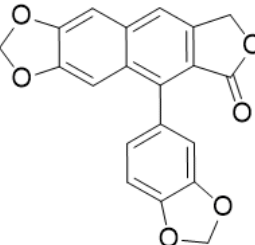
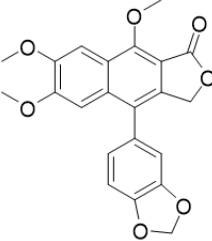
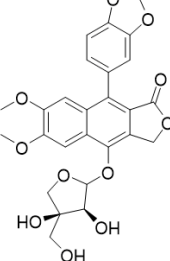
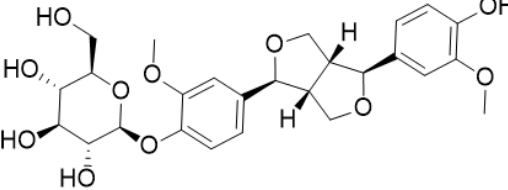
7	<i>Justicia procumbens</i>	Justatrómero G		Tallo y corteza	Zhao et al. (2021)
8	<i>Justicia procumbens</i>	Justatrómero H		Tallo y corteza	Zhao et al. (2021)
9	<i>Justicia procumbens</i>	Justatrómero I		Tallo y corteza	Zhao et al. (2021)

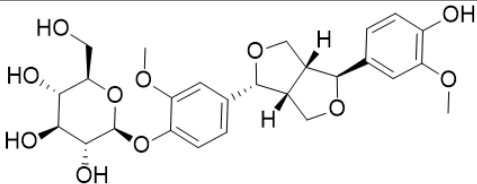
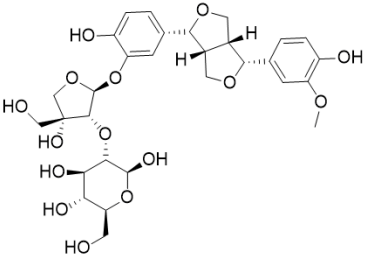
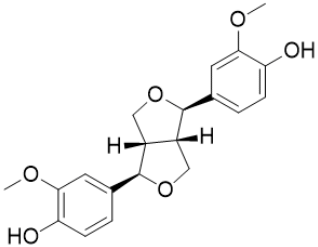
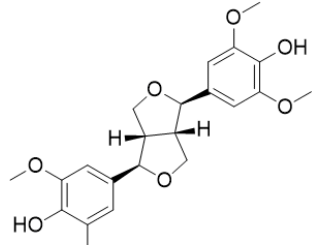
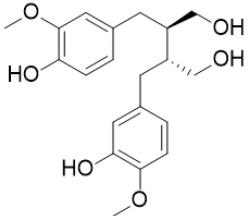
10	<i>Justicia procumbens</i>	Justprocumbenósido B		Tallo y corteza	Zhao et al. (2021)
11	<i>Justicia procumbens</i>	Justprocumbenósido C		Tallo y corteza	Zhao et al. (2021)
12	<i>Justicia procumbens</i>	Procumbenósido A		Toda la planta	Jin et al. (2016)
13	<i>Justicia procumbens</i>	Procumbenósido B		Toda la planta	Jin et al. (2016) Liu et al. (2018)

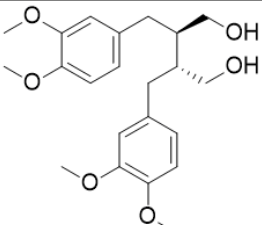
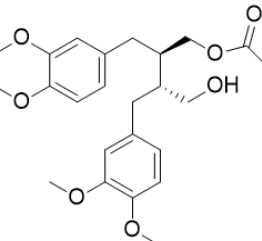
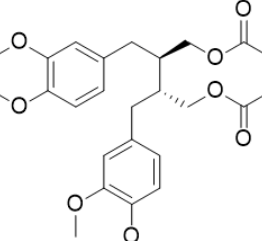
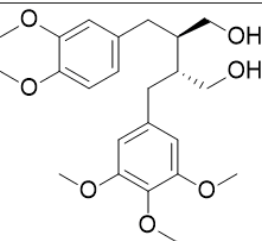
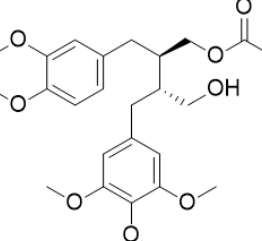
14	<i>Justicia procumbens</i>	Procumbenósido E		Toda la planta	Jiang et al. (2017)
15	<i>Justicia procumbens</i>	Procumbenósido H		Toda la planta	Jin et al. (2014) Liu et al. (2018)
16	<i>Justicia procumbens</i>	Procumbenósido I		Toda la planta	Jin et al. (2016) Lv et al. (2020)

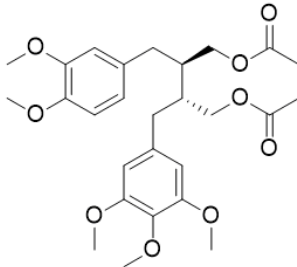
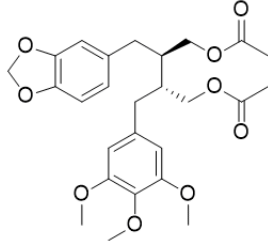
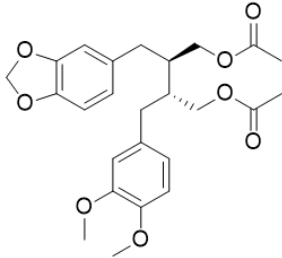
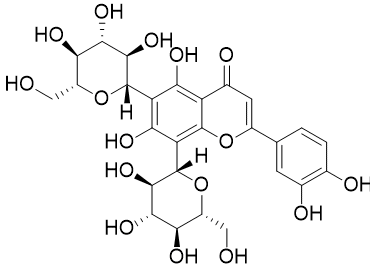
17	<i>Justicia procumbens</i>	Procumbenósido K		Toda la planta	Jin et al. (2016) Liu et al. (2018) Lv et al. (2020)
18	<i>Justicia procumbens</i>	Procumbenósido L		Toda la planta	Jin et al. (2016) Liu et al. (2018) Lv et al. (2020)
19	<i>Justicia procumbens</i>	Procumbenósido M		Toda la planta	Jin et al. (2016) Lv et al. (2020)

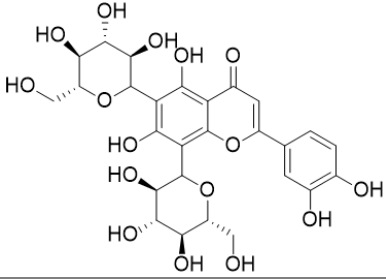
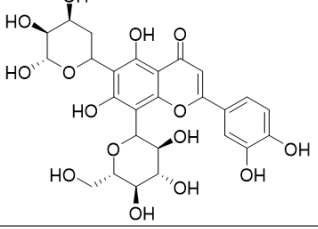
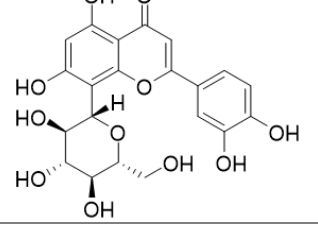
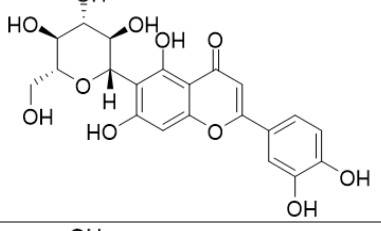
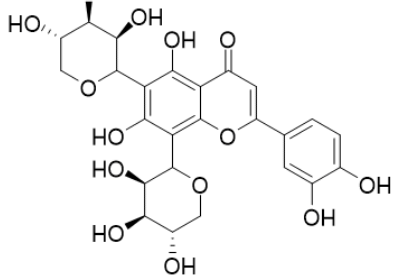
20	<i>Justicia procumbens</i>	Cleistanina B		Toda la planta	Jin et al. (2016)
21	<i>Justicia procumbens</i>	6'-hidroxijusticidina A		Hierbas	Qiu et al. (2012) Luo et al. (2013) Shen et al. (2020)
22	<i>Justicia procumbens</i>	6'-hidroxijusticidina B		Hierbas	Luo et al. (2013) Jiang et al. (2017) Shen et al. (2020)
23	<i>Justicia procumbens</i>	6'-hidroxijusticidina C		Hierbas	Luo et al. (2013) Zhou et al. (2015) Toda la planta Jiang et al. (2017)

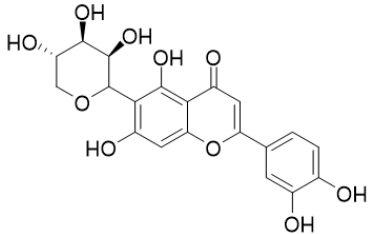
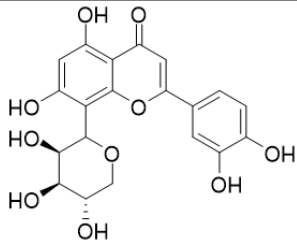
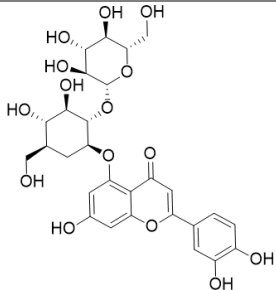
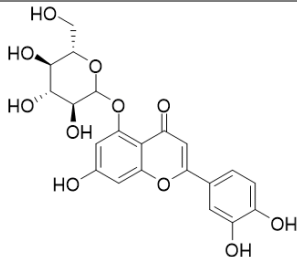
24	<i>Justicia procumbens</i>	Lignano J1		Hierbas	Zhou et al. (2015)
				Toda la planta	Jiang et al. (2017)
25	<i>Justicia procumbens</i>	Taiwanina C		Toda la planta	Lv et al. (2020)
26	<i>Justicia procumbens</i>	Justicidina C			Shen et al. (2020)
27	<i>Justicia procumbens</i>	1-O-β-D-apiofuranósido de difilina		Toda la planta	Jiang et al. (2017)
28	<i>Justicia aequilabris</i>	4-O-β-D-glucopiranosido de pinoresinol			Dos Santos-Maia et al. (2020)

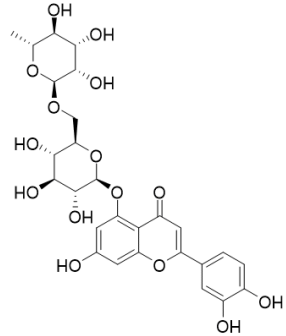
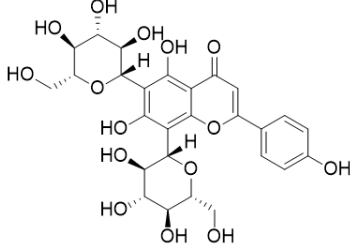
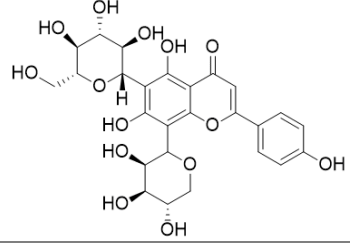
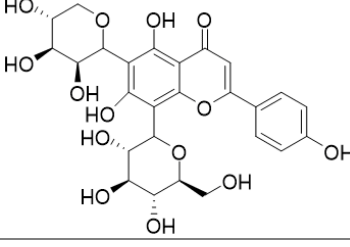
29	<i>Justicia aequilabris</i>	4-O-β-D-glucopiranosido de epipinoresinol	 <p>The structure shows a central biphenyl core with two epoxide rings. One epoxide ring is substituted with a 4-O-β-D-glucopyranosyl group, and the other is substituted with a 3,4-dimethoxyphenyl group.</p>	Dos Santos-Maia et al. (2020)	
30	<i>Justicia aequilabris</i>	4-O-β-D-apiofuranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosido de pinoresinol	 <p>The structure shows a central biphenyl core with two epoxide rings. One epoxide ring is substituted with a 4-O-β-D-apiofuranosyl group, which is further substituted at the 1-position with a β-D-glucopyranosyl group. The other epoxide ring is substituted with a 3,4-dimethoxyphenyl group.</p>	Dos Santos-Maia et al. (2020)	
31	<i>Justicia gendarussa</i>	(+) -pinoresinol	 <p>The structure shows a central biphenyl core with two epoxide rings. One epoxide ring is substituted with a 3,4-dimethoxyphenyl group, and the other is substituted with a 3,4-dihydroxyphenyl group.</p>	Partes aéreas	Zhang et al. (2020)
32	<i>Justicia gendarussa</i>	(+) -siringaresinol	 <p>The structure shows a central biphenyl core with two epoxide rings. One epoxide ring is substituted with a 3,4-dimethoxyphenyl group, and the other is substituted with a 3,4,5-trimethoxyphenyl group.</p>	Partes aéreas	Zhang et al. (2020)
33	<i>Justicia aequilabris</i>	Secoisolariciresinol	 <p>The structure shows a central biphenyl core with two epoxide rings. One epoxide ring is substituted with a 3,4-dimethoxyphenyl group, and the other is substituted with a 3,4-dihydroxyphenyl group. The biphenyl core is further substituted with a 1,2-dihydroxyethyl group.</p>	Dos Santos-Maia et al. (2020)	

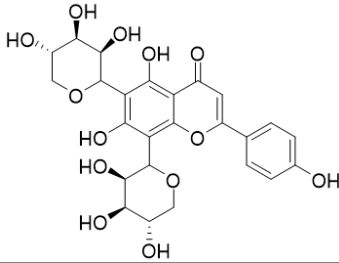
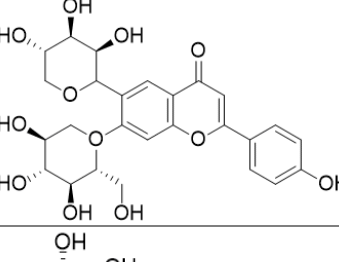
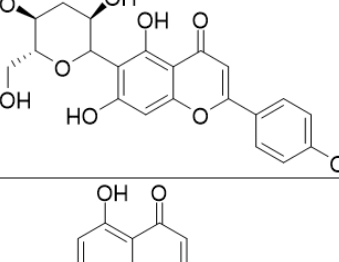
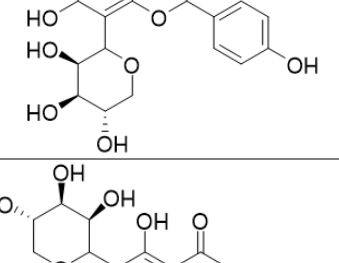
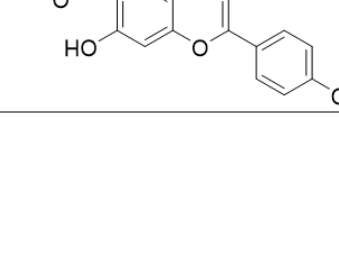
34	<i>Justicia procumbens</i>	Secoisolariciresinol dimetil éter		Liu et al. (2018)
35	<i>Justicia procumbens</i>	4,4'- <i>di-O</i> -metil-9'-acetilsecoisolariciresinol		Liu et al. (2018)
36	<i>Justicia procumbens</i>	4,4'- <i>di-O</i> -metil-9,9'- <i>di</i> -acetilsecoisolariciresinol		Liu et al. (2018)
37	<i>Justicia procumbens</i>	5-metoxi-4,4'- <i>di-O</i> -metilsecoisolariciresinol		Liu et al. (2018)
38	<i>Justicia procumbens</i>	5-metoxi-4,4'- <i>di-O</i> -metil-9'-acetilsecoisolariciresinol		Liu et al. (2018)

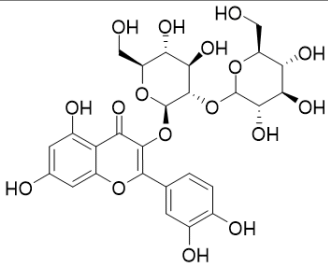
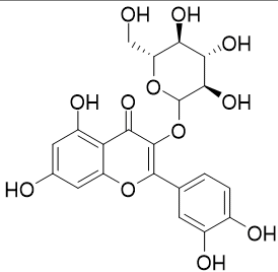
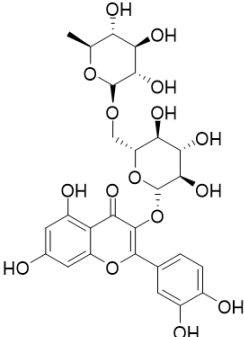
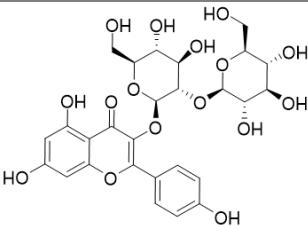
39	<i>Justicia procumbens</i>	5-metoxi-4,4'- <i>di-O</i> -metil-9,9'-diacetilsecoisolariciresinol		Liu et al. (2018)
40	<i>Justicia procumbens</i>	Diacetato de (-) dihidroclusina		Liu et al. (2018)
41	<i>Justicia procumbens</i>	Acetato de 2,3-desmetoxisecisolintetralina		Liu et al. (2018)
Flavonoides				
42	<i>Justicia adhatoda</i>	6,8- <i>di-C</i> -glucósido de luteolina		Hojas Singh et al. (2015)

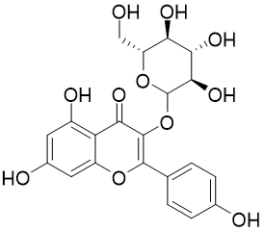
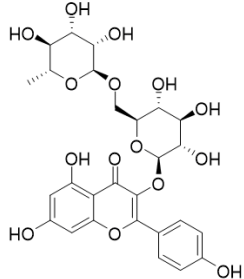
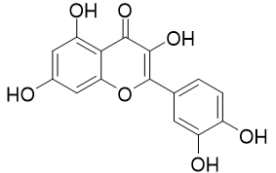
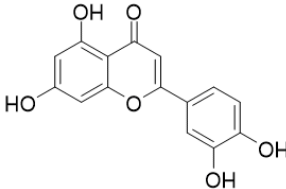
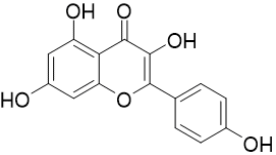
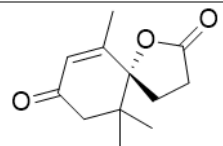
43	<i>Justicia adhatoda</i>	6-C-glucósido-8-C-arabinósido de luteolina	 <p>The structure shows a luteolin core with a glucose molecule attached to the 6-position and an arabinose molecule attached to the 8-position of the chromone ring system.</p>	Hojas	Singh et al. (2015)
44	<i>Justicia adhatoda</i>	6-C-arabinósido-8-C-glucósido de luteolina	 <p>The structure shows a luteolin core with an arabinose molecule attached to the 6-position and a glucose molecule attached to the 8-position of the chromone ring system.</p>	Hojas	Singh et al. (2015)
45	<i>Justicia adhatoda</i>	8-C-glucósido de luteolina (orientina)	 <p>The structure shows a luteolin core with a glucose molecule attached to the 8-position of the chromone ring system.</p>	Hojas	Singh et al. (2015) Singh et al. (2016)
46	<i>Justicia adhatoda</i>	6-C-glucósido de luteolina (isorientina)	 <p>The structure shows a luteolin core with a glucose molecule attached to the 6-position of the chromone ring system.</p>	Hojas	Singh et al. (2015) Singh, et al. (2016)
47	<i>Justicia adhatoda</i>	6,8-di-C-arabinósido de luteolina	 <p>The structure shows a luteolin core with an arabinose molecule attached to both the 6 and 8 positions of the chromone ring system.</p>	Hojas	Singh et al. (2015)

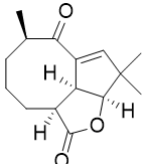
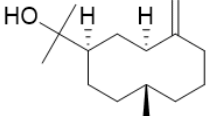
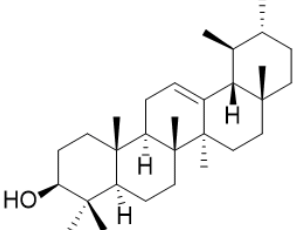
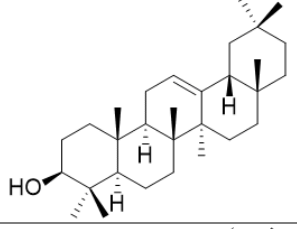
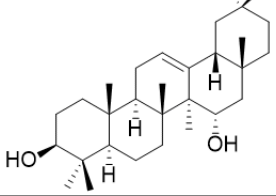
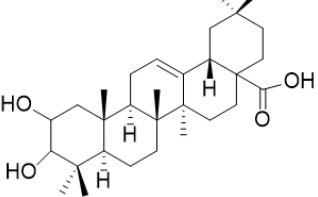
48	<i>Justicia adhatoda</i>	6-C-arabinósido de luteolina		Hojas	Singh et al. (2015)
49	<i>Justicia adhatoda</i>	8-C-arabinósido de luteolina		Hojas	Singh et al. (2015)
50	<i>Justicia adhatoda</i>	5-O-soforósido de luteolina		Hojas	Singh et al. (2015)
51	<i>Justicia adhatoda</i>	5-O-glucósido de luteolina		Hojas	Singh et al. (2015)

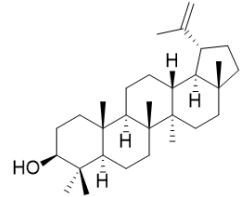
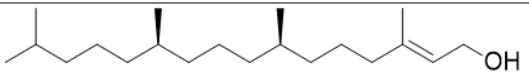
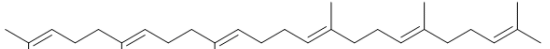
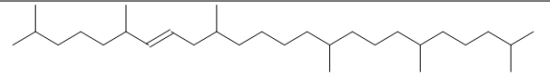
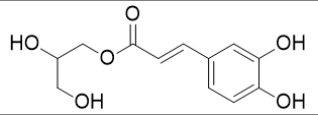
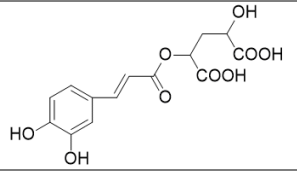
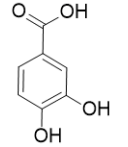
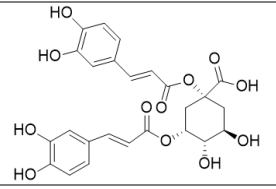
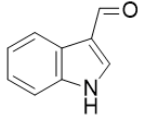
52	<i>Justicia adhatoda</i>	5-O-rutinósido de luteolina	 <p>The structure shows a luteolin core (5,7-dihydroxyflavone) with a rutinose disaccharide (α-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-fructofuranoside) attached to the 5-hydroxyl group of the flavone ring.</p>	Hojas	Singh et al. (2015)
53	<i>Justicia adhatoda</i>	6,8-di-C-glucósido de apigenina	 <p>The structure shows an apigenin core (5,7-dihydroxyflavone) with two glucose units attached to the 6 and 8 positions of the flavone ring via C-glycosidic bonds.</p>	Hojas	Singh et al. (2015)
54	<i>Justicia adhatoda</i>	6-C-glucósido-8-C-arabinósido de apigenina	 <p>The structure shows an apigenin core with a glucose unit attached to the 6-position and an arabinose unit attached to the 8-position of the flavone ring via C-glycosidic bonds.</p>	Hojas	Singh et al. (2015)
55	<i>Justicia adhatoda</i>	6-C-arabinósido-8-C-glucósido de apigenina	 <p>The structure shows an apigenin core with an arabinose unit attached to the 6-position and a glucose unit attached to the 8-position of the flavone ring via C-glycosidic bonds.</p>	Hojas	Singh et al. (2015)

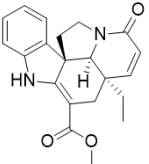
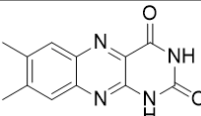
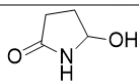
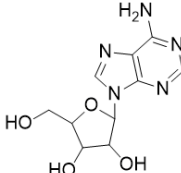
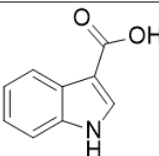
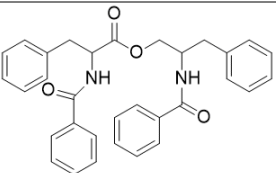
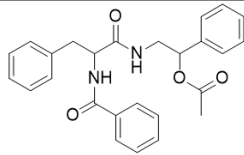
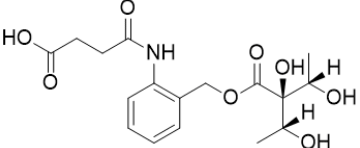
56	<i>Justicia adhatoda</i>	6,8- <i>di</i> -C-arabinósido de apigenina		Hojas	Singh et al. (2015)
57	<i>Justicia adhatoda</i>	6-C-arabinósido-7-O-glucósido de apigenina		Hojas	Singh et al. (2015)
58	<i>Justicia adhatoda</i>	6-C-glucósido de apigenina (isovitexina)		Hojas	Singh et al. (2015) Singh et al. (2016)
59	<i>Justicia adhatoda</i>	8-C-arabinósido de apigenina		Hojas	Singh et al. (2015)
60	<i>Justicia adhatoda</i>	6-C-arabinósido de apigenina		Hojas	Singh et al. (2015)

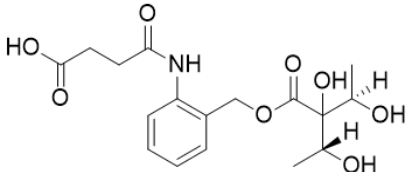
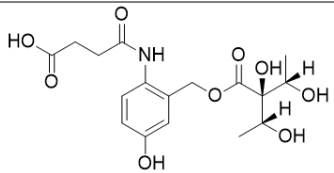
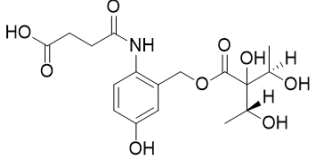
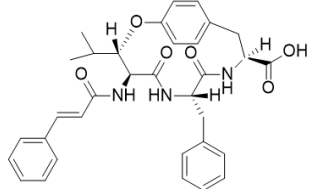
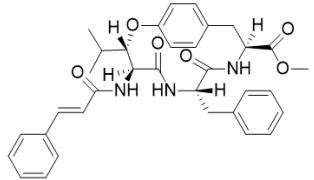
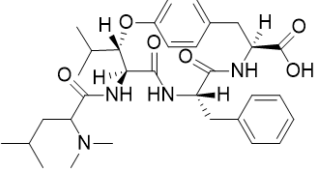
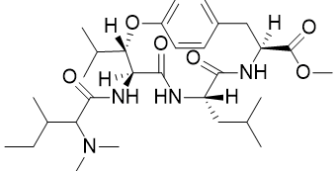
61	<i>Justicia adhatoda</i>	3-O-soforósido de quercetina		Hojas	Singh et al. (2015)
62	<i>Justicia adhatoda</i>	3-O-glucósido de quercetina		Hojas	Singh et al. (2015)
63	<i>Justicia adhatoda</i>	3-O-rutinósido de quercetina		Hojas	Singh et al. (2015) Singh et al. (2016)
64	<i>Justicia adhatoda</i>	3-O-soforósido de canferol		Hojas	Singh et al. (2015)

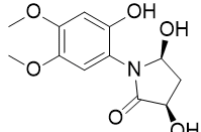
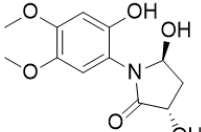
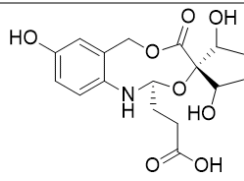
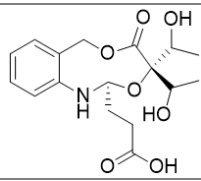
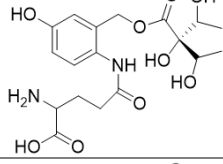
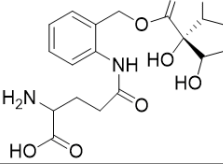
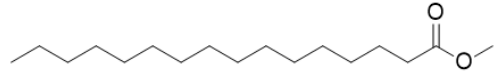
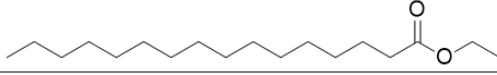
65	<i>Justicia adhatoda</i>	3-O-glucósido de canferol		Hojas	Singh et al. (2015)
66	<i>Justicia adhatoda</i>	3-O-rutinósido de canferol		Hojas	Singh et al. (2015) Singh et al. (2016)
67	<i>Justicia adhatoda</i>	Quercetina		Hojas	Singh et al. (2015) Singh et al. (2016)
68	<i>Justicia adhatoda</i>	Luteolina		Hojas	Singh et al. (2015) Singh et al. (2016)
69	<i>Justicia adhatoda</i>	Canferol		Hojas	Singh et al. (2015) Singh, et al. (2016)
Terpenoides					
70	<i>Justicia gendarussa</i>	Genpenterpeno A		Hojas, tallos y flores	Zhang et al. (2021)

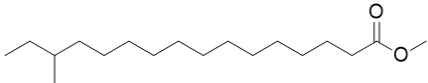
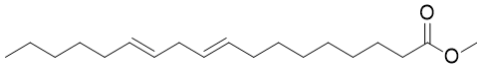
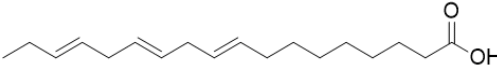
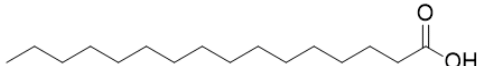
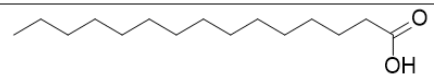
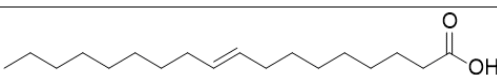
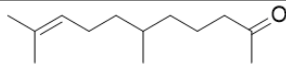
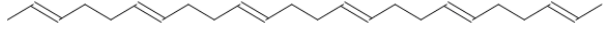
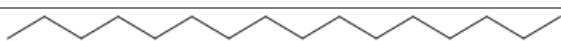
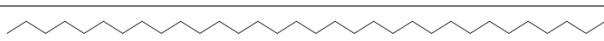
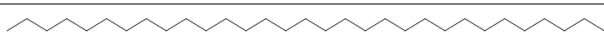

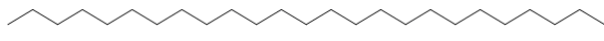
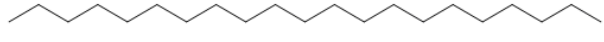
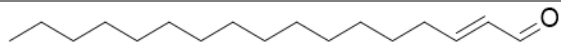
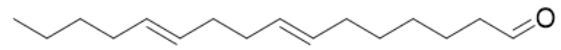
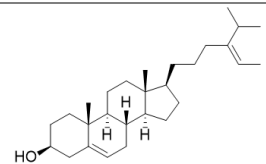
71	<i>Justicia gendarussa</i>	Wilfolida A		Partes aéreas	Zhang et al. (2020)
72	<i>Justicia adhatoda</i>	β -Eudesmol		Hojas	Shukla et al. (2017)
73	<i>Justicia carnea</i>	α -amirina		Hojas	Anigboro et al. (2021a)
74	<i>Justicia carnea</i>	β -amirina		Hojas	Anigboro et al. (2021a)
75	<i>Justicia secunda</i>	Olean-12-en-3-24-diol		Tallos y hojas	Calderón et al. (2013)
76	<i>Justicia secunda</i>	Ácido 2 α ,3 β -dihidroxi-olean-12-en-28-oico		Tallos y hojas	Calderón et al. (2013)

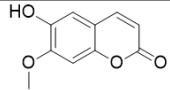
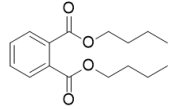
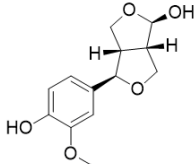
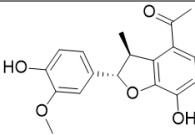

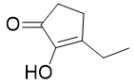
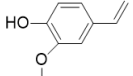
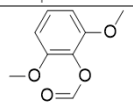
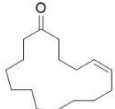
77	<i>Justicia gendarussa</i>	Lupeol		Hojas	Souza et al. (2016)
78	<i>Justicia carnea</i>	Fitol		Hojas	Anigboro et al. (2021a)
	<i>Justicia adhatoda</i>			Hojas	Shukla et al. (2017)
79	<i>Justicia gendarussa</i>	Escualeno		Hojas	Souza et al. (2016)
80	<i>Justicia adathoda</i>	2,6,10,15,19,23-hexametil-tetracosahexeno			Dhankhar et al. (2014)
Compuestos fenólicos					
81	<i>Justicia gendarussa</i>	1-O-cafeoil glicerol		Hojas, tallos y flores	Zhang et al. (2021)
82	<i>Justicia secunda</i>	Ácido 2-cafeoiloxi-4-hidroxi-glutárico		Hojas	Theiler et al. (2016)
83	<i>Justicia gendarussa</i>	Ácido protocatéquico		Hojas, tallos y flores	Zhang et al. (2021)
84	<i>Justicia gendarussa</i>	Ácido 1,5-di-cafeoilquínico		Hojas, tallos y flores	Zhang et al. (2021)
Alcaloides					
85	<i>Justicia gendarussa</i>	1H-indol-3-carbaldehído		Hojas, tallos y flores	Zhang et al. (2021)

86	<i>Justicia gendarussa</i>	3-oxotabersonina		Hojas, tallos y flores	Zhang et al. (2021)
87	<i>Justicia procumbens</i>	Lumicromo		Toda la planta	Lv et al. (2020)
88	<i>Justicia procumbens</i>	5-hidroxi-pirrolidin-2-ona		Toda la planta	Lv et al. (2020)
89	<i>Justicia procumbens</i>	Adenosina		Toda la planta	Lv et al. (2020)
90	<i>Justicia procumbens</i>	Ácido indol-3-carboxílico		Toda la planta	Lv et al. (2020)
91	<i>Justicia secunda</i>	Auranamida		Tallos y hojas	Calderón et al. (2013)
92	<i>Justicia secunda</i>	Acetato de aurantiamida		Tallos y hojas	Calderón et al. (2013)
93	<i>Justicia gendarussa</i>	Justidrusamida A		Hojas	Kiren et al. (2014)

94	<i>Justicia gendarussa</i>	Justidrusamida B		Hojas	Kiren et al. (2014)
95	<i>Justicia gendarussa</i>	Justidrusamida C		Hojas	Kiren et al. (2014)
96	<i>Justicia gendarussa</i>	Justidrusamida D		Hojas	Kiren et al. (2014)
97	<i>Justicia procumbens</i>	Justicianeno A		Toda la planta	Jin et al. (2014)
98	<i>Justicia procumbens</i>	Justicianeno B		Toda la planta	Lv et al. (2020)
99	<i>Justicia procumbens</i>	Justicianeno C		Toda la planta	Lv et al. (2020)
100	<i>Justicia procumbens</i>	Justicianeno D		Toda la planta	Lv et al. (2020)

101	<i>Justicia secunda</i>	Secundarelona B		Hojas	Theiler et al. (2016)
102	<i>Justicia secunda</i>	Secundarelona C		Hojas	Theiler et al. (2016)
103	<i>Justicia gendarussa</i>	Brazoide A		Hojas	Souza et al. (2016)
				Partes aéreas	Zhang et al. (2020)
104	<i>Justicia gendarussa</i>	Brazoide B		Hojas	Souza et al. (2016)
105	<i>Justicia gendarussa</i>	Brazoide C		Hojas	Souza et al. (2016)
106	<i>Justicia gendarussa</i>	Brazoide D		Hojas	Souza et al. (2016)
Derivados de ácidos grasos					
107	<i>Justicia carnea</i>	Hexadecanoato de metilo		Hojas	Anigboro et al. (2021a)
108	<i>Justicia tranquebariensis</i>	Hexadecanoato de etilo			Soosairaj et al. (2016)

109	<i>Justicia carnea</i>	14-metilhexadecanoato de metilo		Hojas	Anigboro et al. (2021a)
110	<i>Justicia carnea</i>	(Z, Z)-Octadeca-9,12-dienoato de metilo		Hojas	Anigboro et al. (2021a)
111	<i>Justicia carnea</i>	Ácido (Z, Z, Z)-9,12,15-octadecatrienoico		Hojas	Anigboro et al. (2021a)
112	<i>Justicia carnea</i>	Ácido hexadecanoico		Hojas	Anigboro et al. (2021a)
113	<i>Justicia gendarussa</i>	Ácido pentadecanoico		Hojas, tallos y flores	Zhang et al. (2021)
114	<i>Justicia carnea</i>	Ácido oleico		Hojas	Anigboro et al. (2021b)
115	<i>Justicia carnea</i>	6,10-dimetil-9-undecen-2-ona		Hojas	Anigboro et al. (2021b)
116	<i>Justicia adathoda</i>	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexeno			Dhankhar et al. (2014)
117	<i>Justicia tranquebariensis</i>	Hexadecano			Soosairaj et al. (2016)
118	<i>Justicia tranquebariensis</i>	Dotriacontano			Soosairaj et al. (2016)
119	<i>Justicia adathoda</i>	Hentriacontano		Hojas	Shukla et al. (2017)
120	<i>Justicia adathoda</i>	Nonacosano		Hojas	Shukla et al. (2017)
121	<i>Justicia adathoda</i>	Pentacosano		Hojas	Shukla et al. (2017)
122	<i>Justicia adhatoda</i>	Heneicosano		Hojas	Shukla et al. (2017)
123	<i>Justicia carnea</i>	2-Heptadecenal		Hojas	Anigboro et al. (2021b)
124	<i>Justicia carnea</i>	7,11-Hexadecadienal		Hojas	Anigboro et al. (2021b)
Misceláneos					
125	<i>Justicia carnea</i>	(Z)-Stigmasta-5,24(28)-dien-3-β-ol		Hojas	Anigboro et al. (2021a)

126	<i>Justicia gendarussa</i>	6-hidroxi-7-metoxi cumarina		Hojas, tallos y flores	Zhang et al. (2021)
127	<i>Justicia tranquebariensis</i>	Ftalato de dibutilo			Soosairaj et al. (2016)
128	<i>Justicia gendarussa</i>	(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-6-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3,7-dioxabicyclo [3.3']octan-2-ol		Partes aéreas	Zhang et al. (2020)
129	<i>Justicia gendarussa</i>	1-((2 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-7-hidroxi-2-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-metil-2,3-dihidrobenzofuran-4-il) etenona		Partes aéreas	Zhang et al. (2020)
130	<i>Justicia carnea</i>	Fenol		Hojas	Anigboro et al. (2021b)
131	<i>Justicia carnea</i>	2-hidroxi-3-etil-2-ciclopenten-1-ona		Hojas	Anigboro et al. (2021b)
132	<i>Justicia carnea</i>	2-metoxi-4-vinil fenol		Hojas	Anigboro et al. (2021b)
133	<i>Justicia carnea</i>	Formiato de (2,6-dimetoxi) fenilo		Hojas	Anigboro et al. (2021b)
134	<i>Justicia carnea</i>	5-ciclohexadecen-1-ona		Hojas	Anigboro et al. (2021b)

4.2 Metabolitos aislados e identificados de *Justicia spicigera*

Euler y colaboradores en 1982 aislaron los primeros compuestos de *J. spicigera* a partir de una extracción exhaustiva con Soxhlet y empleando como disolvente etanol. Ellos reportaron por primera vez la presencia de canferitrina (0.3 g), canferol y trazas de un trimnósido de canferol, del cual no reportaron la estructura.

Algunos años después, Domínguez y colaboradores (1990) aislaron de las hojas y las ramas y a partir de un extracto preparado con hexano-éter isopropílico-metanol (1:1:1) a la canferitrina, β -sitosterol (450 mg), el caroteno criptoxantina (350 mg), 3- β -glucosil-O-sitosterol (70 mg) y la alantoína (340 mg).

Pérez-Gutiérrez y colaboradores (2019) aislaron por primera vez de un extracto metanólico al procumbenósido B (87 mg).

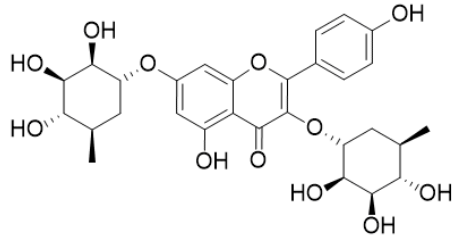
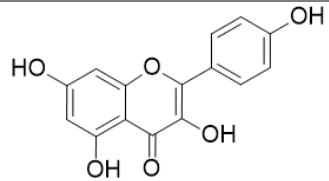
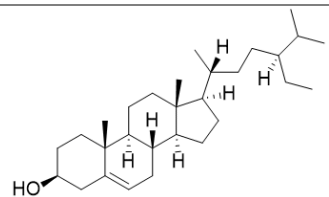
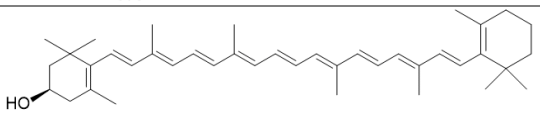
Por lo que respecta a los metabolitos identificados en *J. spicigera*, en 2012, Vega-Ávila y colaboradores sometieron a un análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas a una fracción hexánica. Esta fracción fue obtenida por reparto líquido-líquido del extracto etanólico proveniente de las raíces y partes aéreas de *J. spicigera*. La identificación de dichos compuestos fue realizada por comparación con espectros de masas de literatura y bases de datos.

Esquivel-Gutiérrez et al. (2013) analizaron un extracto clorofórmico de las partes aéreas de *J. spicigera* por cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC, por sus siglas en inglés). Los autores identificaron a la hesperidina, naringenina y canferol.

En 2017, Baqueiro-Peña y colaboradores realizaron un análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas de extractos obtenidos por agitación y ultrasonido de las hojas frescas y secas. Identificaron al fitol, eucaliptol y escualeno como los más abundantes. Los compuestos identificados fueron dependientes del tipo de disolvente empleado. Los disolventes incluyeron: agua, etanol-agua (30:70), etanol-agua (50:50), etanol-agua (70:30) y etanol absoluto.

En la Tabla 5 y 6 se muestra una recopilación de todos los compuestos aislados e identificados en *J. spicigera*.

Tabla 5. Compuestos aislados de *Justicia spicigera*

No.	Nombre	Estructura	Parte de la planta	Referencia
135	Canferitrina		Hojas	Euler et al. 1986 Ortíz-Andrade et al. 2012 Alonso-Castro et al. 2012 Zapata-Morales et al. 2016
			Hojas, ramas	Domínguez et al. 1990
			Partes aéreas (tallo, hojas y flores)	Cassani et al. 2014 González-Trujano, et al. 2017 Ángeles-López et al. 2019
			Polvo de Future Foods®	Real-Sandoval, et al., 2020
			Material vegetal	Montaño-Cruz, 2020
136	Canferol		Hojas, ramas	Euler et al. 1986
			Partes aéreas (tallo, hojas y flores)	Esquivel-Gutiérrez et al. 2013
137	β -sitosterol		Hojas, ramas	Domínguez et al. 1990
138	Criptoxantina		Hojas, ramas	Domínguez et al. 1990

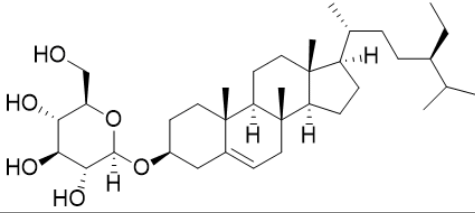
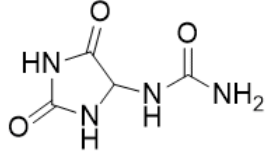
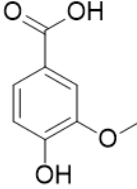
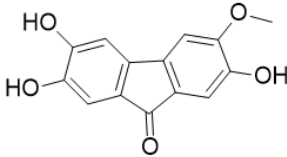
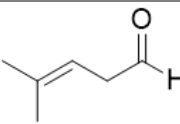
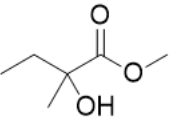
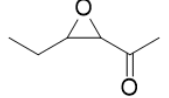
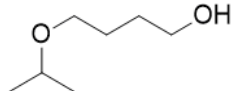
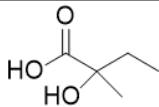
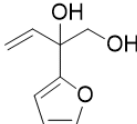
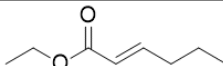
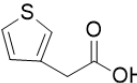
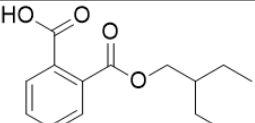
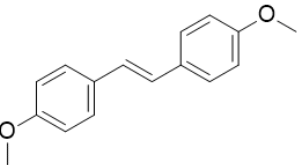
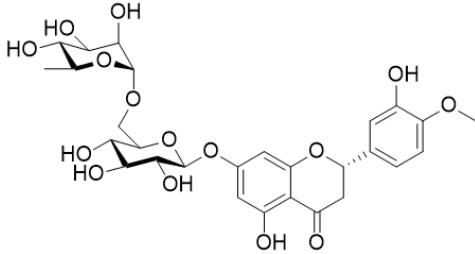
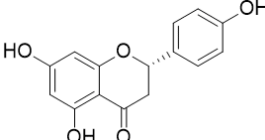
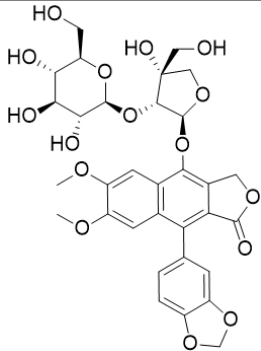
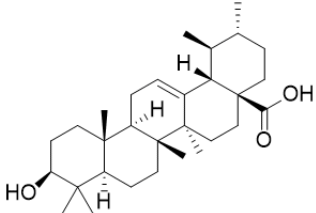
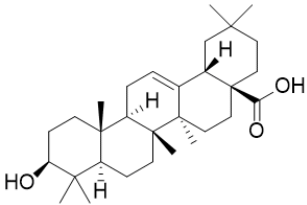
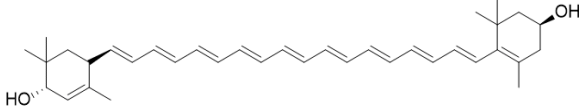
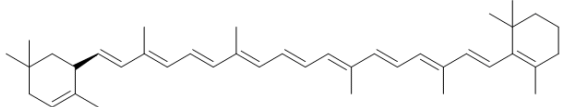
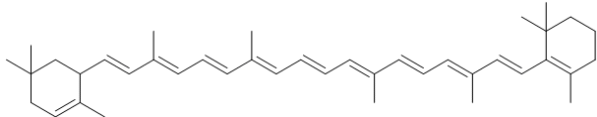
139	3-β-glucosil-O-sitosterol		Hojas, ramas	Domínguez et al. 1990
140	Alantoína		Hojas, ramas	Domínguez et al. 1990
141	Ácido vainillínico		Partes aéreas	Gómez Verjan, 2010
142	Mohuitilnona		Partes aéreas	Montaño Cruz, 2021

Tabla 6. Compuestos identificados en *J. spicigera*

No.	Nombre	Estructura	Parte de la planta	Referencia
143	4-metil-3-pental		Planta completa	Vega-Ávila et al. 2012
144	2-hidroxi-2-metil-butanoato de metilo		Planta completa	Vega-Ávila et al. 2012
145	3,4-epoxi-2-hexanona		Planta completa	Vega-Ávila et al. 2012

146	4-(1-metiletoxi)-1-butanol		Planta completa	Vega-Ávila et al. 2012
147	Ácido 2-hidroxi-2-metil-butanoico		Planta completa	Vega-Ávila et al. 2012
148	1,2-diol-(2-furanil)-3-buteno		Planta completa	Vega-Ávila et al. 2012
149	2-hexenoato de etilo		Planta completa	Vega-Ávila et al. 2012
150	Ácido 3-tiofen-acético		Planta completa	Vega-Ávila et al. 2012
151	Ácido ftálico-2-etil-butil éster		Planta completa	Vega-Ávila et al. 2012
152	4-fenil-1,2-di-(4-metoxifenil)-eteno		Planta completa	Vega-Ávila et al. 2012
153	Hesperidina		Partes aéreas (tallo, hojas y flores)	Esquivel-Gutiérrez et al. 2013
154	Naringenina		Partes aéreas (tallo, hojas y flores)	Esquivel-Gutiérrez et al. 2013

155	Eucaliptol		Hojas	Baqueiro-Peña et al. 2017
156	Fitol		Hojas	Baqueiro-Peña et al. 2017
157	Azuleno		Hojas	Baqueiro-Peña et al. 2017
158	3-metil-2-fenil-propenoato		Hojas	Baqueiro-Peña et al. 2017
159	Escualeno		Hojas	Baqueiro-Peña et al. 2017
160	9,17-octadecadenal		Hojas	Baqueiro-Peña et al. 2017
161	Ácido 9,12-octadecadienoico		Hojas	Baqueiro-Peña et al. 2017
162	Metil cinamato		Hojas	Baqueiro-Peña et al. 2017
163	Biciclogermacreno		Hojas	Baqueiro-Peña et al. 2017
164	Éster metílico del ácido linoleico		Hojas	Baqueiro-Peña et al. 2017
165	Ácido oleico		Hojas	Baqueiro-Peña et al. 2017

166	Procumbenósido B		Hojas	Pérez-Gutiérrez et al. 2019
167	Ácido ursólico		Polvo producto comercial	Real-Sandoval et al. 2020
168	Ácido oleanólico		Polvo producto comercial	Real-Sandoval et al. 2020
169	Luteína		Polvo producto comercial	Real-Sandoval et al. 2020
170	α -caroteno		Polvo producto comercial	Real-Sandoval et al. 2020
171	β -caroteno		Polvo producto comercial	Real-Sandoval et al. 2020

4.2.1 Actividad antioxidante

La actividad antioxidante de *J. spicigera* ha sido determinada mediante algunos ensayos espectrofotométricos, los cuales se encuentran enlistados a continuación y resumidos en la Figura 10.

- Método de radicales libres DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil-hidrato): El DPPH es un radical libre que presenta una absorción máxima a 515 nm. Esta absorción se pierde a medida que es reducido por un agente antioxidante (Ratnavathi et al., 2016).
- Método de radicales libres ABTS [2,2-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)]: El ABTS es un radical que presenta bandas de absorción máxima a 414, 645, 734 y 815 nm. Este radical se genera en fase acuosa al reaccionar con un agente oxidante fuerte (permanganato de potasio o persulfato de potasio) con la sal de ABTS. A los radicales generados se añade la muestra a evaluar y después de cierto tiempo se cuantifican los radicales restantes en el medio que no fueron reducidos por el agente antioxidante (Optiz et al., 2014).
- Capacidad absorbente de radicales de oxígeno (ORAC, por sus siglas en inglés): Este ensayo se basa en la generación de radicales peroxilo generados por el azoderivado AAPH [dihidrocloruro de 2,2-azobis-(2-metilpropionamida)]. Los radicales peroxilo generados reaccionan con una sonda fluorescente la cual pierde su intensidad. La pérdida de fluorescencia se reduce en presencia de un agente antioxidante. Generalmente, la sonda fluorescente suele ser fluoresceína la cual presenta una absorción a 490 nm y emisión a 514 nm (Litescu et al., 2014).
- Ensayo de poder antioxidante reductor férrico (FRAP, por sus siglas en inglés): Este ensayo se emplea para cuantificar la capacidad antioxidante de un agente al reducir el ion Fe^{3+} a Fe^{2+} que se encuentra formando un complejo con TPTZ (2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina). El complejo resultante presenta una absorción máxima a 593 nm (Mfotie Njoya, 2021).

En cada uno de los ensayos antes descritos se emplea Trolox® como estándar. Este reactivo es un análogo (soluble en agua) de la vitamina E y, generalmente, la capacidad antioxidante del agente de estudio se reporta como la capacidad antioxidante basada en Trolox® (equivalentes Trolox®). En el caso de *J. spicigera*, al ser material vegetal, se reportan μmol de equivalentes de Trolox por gramo (Fried, 2014).

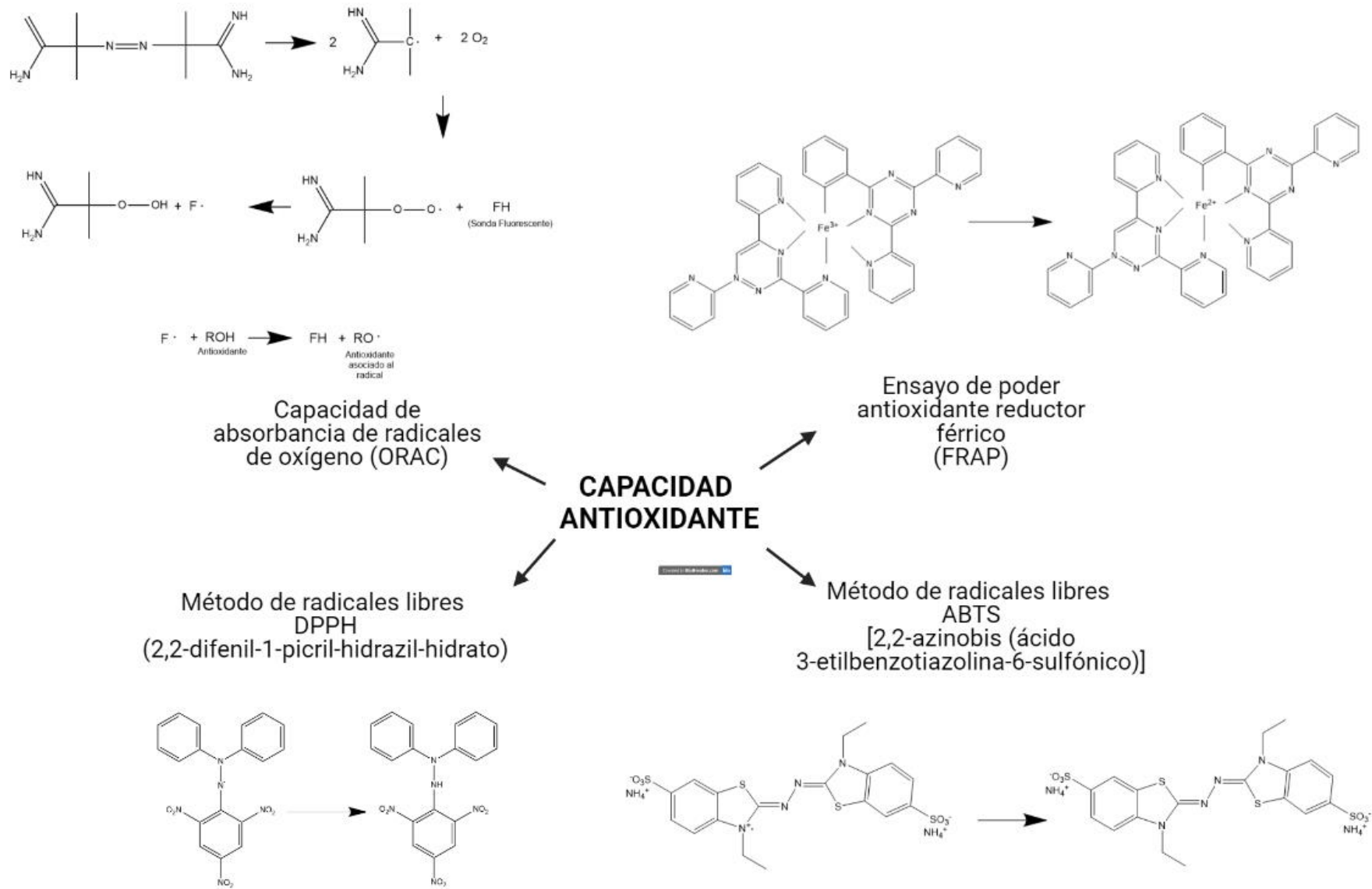


Figura 10. Métodos empleados para la determinación de la capacidad antioxidante de *Justicia spicigera*

En 2009, Sepúlveda-Jiménez y colaboradores evaluaron la actividad antioxidante ejercida por los extractos metanólicos y acuosos obtenidos a partir de las hojas, tallos y flores de *J. spicigera* mediante el ensayo del radical DPPH. La actividad antioxidante, medida como concentración inhibitoria 50 (CI₅₀) de los extractos metanólicos de cada una de las partes de *J. spicigera* de menor a mayor fue igual a 48.86±1.25 µg/mL en hojas, 54.03±1.77 µg/mL en flores y 391.41±6.13 µg/mL en tallos. En los extractos acuosos la actividad antioxidante de menor a mayor se presentó en flores, hojas y tallos con CI₅₀ de 60.08±1.71 µg/mL, 174.72±4.48 µg/mL y 944.67±6.85 µg/mL, respectivamente. De acuerdo con estos resultados, la actividad antioxidante fue mayor en los extractos acuosos.

El efecto del solvente empleado y la temperatura de extracción sobre la actividad antioxidante inicial de *J. spicigera* y su pérdida después de cierto periodo de tiempo de almacenamiento a diferentes valores de pH fue evaluado por primera vez por García-Márquez y colaboradores en 2012. El tallo y las hojas fueron maceradas a temperaturas de 25 y 60 °C con diversos disolventes. El valor inicial de pH de los extractos obtenidos fue de 7.4, por lo que adicionalmente se empleó ácido clorhídrico para ajustar el pH hasta 3.5 y 5.5.

Como se puede observar en la Tabla 7, la actividad antioxidante a pH 7.4 empleando el ensayo del radical ABTS fue mayor en el extracto acuoso a 60°C y la más baja fue presentada por el extracto etanólico a 60°C, mientras que mediante el ensayo del radical DDPH el extracto de mayor actividad fue el de glicerol a 60°C y el de menor actividad el extracto etanólico a 60°C. A pH 5.5 la mayor actividad antioxidante por el ensayo del radical ABTS la presentó el extracto de propilenglicol a 25°C y la menor el extracto etanólico a 60°C, mientras que por el ensayo del radical DPPH la actividad más alta la presentó el extracto de glicerol a 25°C y la más baja el extracto etanólico a 60°C. A pH 3.5, la actividad más alta por ABTS la presentó el extracto de propilenglicol a 60°C y la más baja el extracto etanólico a 60°C, mientras que por el ensayo de DPPH el extracto de glicerol a 25°C presentó la mayor actividad antioxidante y la menor actividad fue presentada nuevamente por el extracto etanólico a 60°C. El extracto etanólico a 60°C fue el que presentó la mayor pérdida de actividad antioxidante a todos los pH evaluados por el ensayo del radical ABTS después de 20 días de almacenamiento. En contraste, por el ensayo del radical DPPH (después de 20 días de almacenamiento) la mayor pérdida de actividad antioxidante se presentó en el extracto acuoso a 60°C a todos los valores de pH evaluados. Adicionalmente, se debe mencionar que la actividad antioxidante del extracto etanólico a 25°C no fue evaluada debido

a que los autores previamente evaluaron el contenido total de compuestos fenólicos y ese extracto mostró muy bajos rendimientos.

Los autores concluyeron que el tipo de disolvente empleado, la temperatura de extracción y el pH afectan los niveles de actividad antioxidante inicial. Además, los resultados en la actividad antioxidante inicial y tras 20 días de almacenamiento puede deberse a la influencia de los diferentes valores de pH sobre los grados de disociación de los grupos hidroxilo presentes en los diferentes extractos. Por otro lado, al emplear disolventes más polares la actividad captadora de radicales libres fue mayor que en los extractos en los que se emplearon disolventes de baja polaridad. Por ello, es importante realizar una adecuada selección de las condiciones de extracción de los compuestos bioactivos de *J. spicigera* para obtener la más elevada actividad antioxidante.

Tabla 7. Actividad antioxidante de los extractos de *Justicia spicigera* a diferentes temperaturas y pH de extracción y, su pérdida con el tiempo por García-Márquez et al. (2012)

Tipo de extracto	T (°C)	pH de extracción	DPPH ^a	ABTS ^a	DPPH ^b	ABTS ^b
Agua	25	7.4	4.45±0.06	6.29±0.12	68.31±2.56	42.75±1.90
		5.5	5.72±0.05	5.80±0.13	66.97±1.60	42.88±2.06
		3.5	4.82±0.13	5.76±0.28	69.60±2.89	57.22±4.18
	60	7.4	5.85±0.18	6.74±0.10	93.16±0.35	50.44±1.79
		5.5	5.48±0.05	6.34±0.16	80.24±0.34	59.99±2.66
		3.5	4.24±0.04	6.28±0.17	82.69±0.51	60.65±1.55
Etanol absoluto	60	7.4	3.52±0.30	4.33±0.04	23.49±8.22	87.53±1.20
		5.5	2.90±0.07	3.01±0.15	16.68±3.14	87.69±3.22
		3.5	3.53±0.11	2.77±0.19	23.75±2.07	93.48±3.17
Etanol (500 g/kg)	25	7.4	5.63±0.15	6.42±0.06	33.87±9.61	54.51±1.40
		5.5	3.23±0.09	4.83±0.10	21.35±3.68	44.41±1.55
		3.5	5.03±0.08	5.32±0.64	28.02±2.29	51.98±6.03
	60	7.4	5.52±0.08	5.95±0.13	21.45±5.10	49.73±1.86
		5.5	5.88±0.07	6.10±0.11	16.49±0.91	41.81±3.22
		3.5	5.46±0.10	6.19±0.15	22.14±1.56	50.22±1.86
Glicerol (50 g/kg)	25	7.4	4.93±0.10	6.46±0.15	29.05±2.05	46.88±1.42
		5.5	6.62±0.05	5.88±0.12	36.62±1.89	59.57±1.32
		3.5	5.51±0.05	6.52±0.13	37.02±0.74	65.58±1.03
	60	7.4	6.24±0.22	6.55±0.11	24.16±7.19	42.61±2.21
		5.5	6.71±0.11	6.24±0.16	24.22±0.72	40.16±2.83

		3.5	4.58±0.03	6.26±0.49	24.11±5.17	48.26±6.07
Propilenglicol (50 g/kg)	25	7.4	5.74±0.29	6.61±0.18	32.29±3.64	46.42±2.45
		5.5	6.35±0.13	7.35±0.19	22.34±1.85	58.50±2.92
		3.5	5.20±0.16	5.74±0.16	28.34±3.02	51.37±2.03
	60	7.4	5.56±0.22	6.54±0.12	39.31±5.76	48.92±1.90
		5.5	5.43±0.25	6.34±0.18	31.21±2.96	61.34±1.76
		3.5	4.34±0.03	7.13±0.13	33.42±2.12	64.64±3.42

^a: nM de equivalentes de Trolox®; ^b: % de pérdida; T: temperatura de extracción

Ortiz-Andrade y colaboradores (2012) cuantificaron la actividad antioxidante de un extracto etanólico de las hojas de *J. spicigera* a distintas concentraciones mediante los métodos del radical DPPH y ABTS. El porcentaje de captación de radicales ABTS fue de 17.13±1.3% (50µg/mL), 33.00±0.9 % (100 µg/mL), 55.31±2.1% (200 µg/mL), 64.54±1.8% (400 µg/mL) y 71.21±1.4% (800 µg/mL), siendo significativa la actividad antioxidante del extracto a 200, 400 y 800 µg/mL. Adicionalmente, los autores calcularon la concentración efectiva 50 (CE₅₀) con un valor de 180 µg/mL, mientras que para el estándar (Trolox®) fue de 80 µg/mL. Este extracto mostró un porcentaje de captación de radicales libres DPPH de 25.75±0.9% (50 µg/mL), 51.47±1.4% (100 µg/mL), 64.18±2.1% (200 µg/mL), 76.22±1.8% (400 µg/mL), y 81.11±2.3% (800 µg/mL). La CE₅₀ ejercida del extracto fue de 100 µg/mL, mientras que la del estándar fue de 51 µg/mL.

Baqueiro-Peña et al. (2017) evaluaron la actividad antioxidante ejercida por extractos obtenidos por agitación y ultrasonido de las hojas frescas y hojas secas (almacenadas por una semana o un año) de *J. spicigera*. La actividad antioxidante fue determinada mediante los ensayos de los radicales DPPH y ABTS cuyos resultados se muestran en la Tabla 8. La actividad antioxidante evaluada mediante el ensayo de DPPH muestra que por agitación para las hojas frescas y secas (por una semana) el mejor disolvente de extracción fue el etanol, mientras que para las hojas secas (por un año) el mejor disolvente resultó ser el agua. Este mismo ensayo (DPPH) empleando ultrasonido mostró la mejor actividad antioxidante para las hojas frescas con la mezcla de disolventes etanol:agua (30:70), para las hojas secas (por una semana) la mezcla de etanol:agua (70:30) y, nuevamente, el agua para las hojas secas (por un año). Por el ensayo de ABTS empleando el método de agitación, la mezcla de disolventes etanol:agua (70:30) resultó ser la más adecuada para las hojas frescas y las hojas secas (por un año), mientras que la mezcla etanol:agua (30:70) resultó ser la de mejor actividad para las hojas secas (por una semana). Por otro lado, empleando ultrasonido la

mejor actividad antioxidante (ABTS) se presentó con etanol para las hojas frescas, etanol:agua (70:30) para las hojas secas (por una semana) y etanol:agua (50:50) para las hojas secas (por un año).

La actividad antioxidante obtenida por el ensayo del radical DPPH fue muy baja en comparación con los resultados obtenidos con el ensayo del radical ABTS. Además, las hojas secas (por un año) mostraron los valores de actividad antioxidante más elevados con los cinco tipos de disolventes empleando ultrasonido y agitación por el ensayo de ABTS, sin embargo, los autores no mencionan la razón por la que pudo haberse presentado este patrón.

Tabla 8. Actividad antioxidante ejercida por los diferentes tipos de extractos de *Justicia spicigera* por Baqueiro-Peña et al. (2017)

Material vegetal	Tipo de extracción	Tipo de disolvente	Ensayo de DPPH ^a	Ensayo de ABTS ^a
Hojas frescas	Agitación	Agua	0.052±0.002	0.50±0.03
		Etanol: Agua (70:30)	0.072±0.009	4.82±0.06
		Etanol: Agua (50:50)	0.455±0.044	3.23±0.19
		Etanol: Agua (30:70)	0.532±0.049	2.12±0.04
		Etanol	0.755±0.001	1.62±0.10
	Ultrasonido	Agua	0.517±0.086	0.90±0.02
		Etanol: Agua (70:30)	0.417±0.024	1.78±0.24
		Etanol: Agua (50:50)	0.169±0.001	2.19±0.06
		Etanol: Agua (30:70)	1.050±0.104	1.46±0.09
		Etanol	0.838±0.012	3.60±0.19
Hojas secas (una semana)	Agitación	Agua	0.066±0.003	1.43±0.00
		Etanol: Agua (70:30)	1.822±0.067	0.87±0.01
		Etanol: Agua (50:50)	0.236±0.042	0.75±0.04
		Etanol: Agua (30:70)	1.986±0.121	3.33±0.16
		Etanol	2.121±0.160	1.06±0.10
	Ultrasonido	Agua	0.078±0.010	0.76±0.07
		Etanol: Agua (70:30)	2.019±0.068	6.75±0.36
		Etanol: Agua (50:50)	2.001±0.114	4.91±0.42
		Etanol: Agua (30:70)	1.222±0.092	4.23±0.03
		Etanol	0.746±0.008	1.76±0.08
Hojas secas (un año)	Agitación	Agua	2.356±0.018	6.53±0.93
		Etanol: Agua (70:30)	0.143±0.008	16.92±0.33
		Etanol: Agua (50:50)	0.853±0.026	8.01±0.73

	Etanol: Agua (30:70)	0.317±0.027	9.16±0.51
	Etanol	0.189±0.004	6.18±0.01
Ultrasonido	Agua	2.598±0.015	7.43±0.36
	Etanol: Agua (70:30)	0.055±0.000	5.29±0.46
	Etanol: Agua (50:50)	0.421±0.013	10.67±0.23
	Etanol: Agua (30:70)	0.275±0.022	3.81±0.26
	Etanol	0.163±0.001	4.86±0.09

^a: g de equivalentes de Trolox®/100 g de material seco

Anaya-Esparza y colaboradores (2018) evaluaron las diferencias en la actividad antioxidante de los extractos acuosos de las hojas de *J. spicigera* obtenidos por diversos métodos de extracción (ultrasonido, agitación y decocción). Los autores hicieron uso de tres ensayos para evaluar dicha actividad antioxidante, los cuales incluyeron la captación de los radicales DPPH y ABTS y el ensayo FRAP. Los resultados se muestran en la Tabla 9, donde se puede observar que la mayor actividad antioxidante en todos los ensayos se obtuvo en el extracto obtenido por decocción.

Tabla 9. Actividad antioxidante ejercida por el extracto acuoso obtenido a partir de las hojas de *J. spicigera* por Anaya-Esparza et al. (2018)

Tipo de extracción	Ensayo de DDPH ^a	Ensayo de ABTS ^a	Ensayo de FRAP ^a
Ultrasonido	43.00±0.96	294.69±1.01	120.35±1.45
Agitación	43.86±0.37	292.13±1.43	135.86±2.60
Decocción	132.32±0.58	495.16±0.90	239.05±2.73

^a: Equivalentes de Trolox (mmol)/g de extracto seco

Awad y colaboradores (2018) realizaron un estudio sobre actividad antiparasitaria ejercida por el extracto etanólico de *J. spicigera* y adicionalmente determinaron la actividad antioxidante de dicho extracto obtenido a partir de las partes aéreas de *J. spicigera*. El porcentaje de inhibición de la formación de radicales DDPH ejercida por el extracto fue del 85.00% (10 µg/mL) y 92.50% (50 µg/mL). La vitamina C (usada como control positivo) ejerció una inhibición del 43.47% y 80.85% a las mismas concentraciones a las que fue evaluado el extracto. Estos resultados muestran que el extracto de *J. spicigera* posee una mayor actividad antioxidante que la vitamina C por el ensayo de DPPH.

Los únicos autores que no partieron de la planta sino de polvo de la planta que adquirieron de Future Foods® fueron Real-Sandoval et al. (2020), quienes obtuvieron un extracto etanólico a partir de este polvo mediante sonicación. La actividad antioxidante

ejercida por el extracto fue determinada a través del ensayo de eliminación de radicales ABTS, con un resultado de 3.78 ± 0.07 g de equivalentes de Trolox/100 g de muestra. Los autores también evaluaron la actividad antioxidante a través del ensayo ORAC, obteniendo 96.33 ± 7.28 g de equivalentes de Trolox/g de muestra.

Como se ha visto, hasta el momento no es posible hacer una comparación entre las determinaciones de actividad antioxidante, por lo que Martínez-Morales y colaboradores (2020) proponen el uso de una unidad estandarizada para el ensayo de DPPH. Estas unidades, libres de la influencia de la concentración empleada de DPPH, fueron empleadas para determinar la actividad antioxidante (CI_{50}) en el extracto etanólico de las hojas de *J. spicigera*. Las unidades fueron definidas como la relación de nl/nD (ng de agente antioxidante/nmol DPPH), donde $nl = C \times V \times F$, nl fueron los nanogramos del antioxidante en el ensayo, C la concentración del antioxidante ($\mu\text{g/mL}$), V el volumen del antioxidante (mL) y F el factor de conversión de μg a ng (1×10^3). Por su parte, $nD = M \times V \times F$, donde nD fueron los nmol del radical DPPH en el ensayo, M la concentración de la solución de DPPH (mol/L), V el volumen de la solución de DPPH (L) y F el factor de conversión de mol a nmol (1×10^9). Los autores observaron que el uso de unidades estandarizadas producía curvas similares de concentración-inhibición al emplear diferentes concentraciones de DPPH, mientras que las curvas eran distintas cuando no se empleaban las unidades estandarizadas y se reportaban en $\mu\text{g/mL}$. Los valores de CI_{50} no se vieron modificados por las diferentes concentraciones de la disolución del radical DPPH empleadas al usar unidades estandarizadas. Los autores concluyeron que las unidades estandarizadas evitan la influencia de la concentración empleada de DPPH sobre los valores de CI_{50} permitiendo su comparación y correcta interpretación.

4.2.2 Contenido total de compuestos fenólicos

La determinación del contenido total de compuestos fenólicos fue realizada por el ensayo que involucra el uso del reactivo de Folin-Ciocalteu. El ensayo consiste en la adición del reactivo de Folin-Ciocalteu a una alícuota de la muestra a evaluar y posterior adición de una disolución de carbonato de sodio al 20% que después de un periodo de incubación, resulta en la formación de un complejo de color azul cuya absorbancia es determinada a una longitud de onda de 760 nm (Sepúlveda-Jiménez et al., 2009).

Sepúlveda-Jiménez et al. (2009) determinaron la cantidad de compuestos fenólicos en extractos acuosos y metanólicos de las distintas partes de *J. spicigera*. Como se observa en la Tabla 10, el contenido en cada una de las partes de los extractos metanólicos y acuosos de menor a mayor fue en los tallos, hojas y flores. En general, el contenido de compuestos fenólicos varió entre de 1.33 a 5.01 g de ácido gálico/ 100 g de material seco y tanto para los extractos acuosos como metanólicos, el mayor contenido se encontró en las flores.

Tabla 10. Contenido total de compuestos fenólicos determinados por Sepúlveda-Jiménez et al. (2009)

Parte de la planta	Tipo de extracto	Contenido total de compuestos fenólicos ^a
Hojas	Agua	3.85±0.01
	Metanol	3.91±0.02
Tallos	Agua	1.80±0.04
	Metanol	1.33±0.02
Flores	Agua	5.01±0.02
	Metanol	4.14±0.04

^a: g de ácido gálico/ 100 g de material seco

García-Márquez y colaboradores (2012) además de evaluar el efecto del solvente empleado y la temperatura de extracción sobre la actividad antioxidante y su pérdida a diferentes valores de pH, también evaluaron el efecto de estos factores sobre el contenido de compuestos fenólicos. Como se observa en la Tabla 9, el contenido de compuestos fenólicos empleando etanol a 60°C fue muy bajo por lo que el extracto no fue considerado en evaluaciones posteriores, incluyendo actividad antioxidante mencionada en una sección anterior.

Los autores relacionaron el contenido total de compuestos fenólicos con la polaridad del disolvente, los disolventes con polaridad intermedia como etanol (50 g/kg), glicerol (50 g/kg) y propilenglicol (50 g/kg) mostraron valores más elevados en el contenido total de compuestos fenólicos que los disolventes de baja y alta polaridad, etanol absoluto y agua, respectivamente. De acuerdo con la Tabla 11, el mayor contenido de compuestos fenólicos a pH 7.4 fue presentado por el extracto de etanol (50 g/kg), a pH 5.5 por el extracto de propilenglicol (50 g/kg) y a pH de 3.5 por el extracto de etanol (50 g/kg), todos los extractos obtenidos a una temperatura de 25 °C.

Tabla 11. Contenido inicial de compuestos fenólicos totales a diferentes pH y temperaturas de extracción (García-Márquez et al., 2012)

Extracto	Temperatura de extracción (°C)	pH de extracción	Contenido total de compuestos fenólicos^a
Agua	25	3.5	865.73±13.81
		5.5	849.61±19.54
		7.4	917.09±26.46
	60	3.5	885.87±9.58
		5.5	899.97±21.32
		7.4	872.77±8.80
Etanol absoluto	25	3.5	196.36±8.35
		5.5	193.00±6.98
		7.4	190.98±6.60
	60	3.5	608.59±4.54
		5.5	729.43±25.64
		7.4	624.02±6.85
Etanol (50 g/kg)	25	3.5	970.46±6.87
		5.5	976.50±28.63
		7.4	1018.80±24.17
	60	3.5	969.79±8.17
		5.5	988.59±18.71
		7.4	977.51±32.88
Propilenglicol (50 g/kg)	25	3.5	914.06±15.98
		5.5	1018.23±26.29
		7.4	959.05±18.47
	60	3.5	883.85±14.23
		5.5	849.61±25.60
		7.4	963.08±26.76
Glicerol (50 g/kg)	25	3.5	936.22±16.87
		5.5	1006.72±16.76
		7.4	989.93±18.02
	60	3.5	968.45±13.81
		5.5	952.33±20.12
		7.4	926.15±14.52

^a: mg de equivalentes de ácido gálico/kg

Adicionalmente, García-Márquez et al. (2012) evaluaron la cinética de desintegración del contenido de compuestos fenólicos en los distintos extractos de *J. spicigera*. Este proceso se ajustó a una cinética de orden uno descrita por la ecuación: $\ln [TPC]_t = \ln [TPC]_0 - kt$ donde, $[TPC]_t$ es la concentración de TPC (mg ácido gálico/kg) al tiempo t (h); $[TPC]_0$ es la concentración de TPC inicial en los extractos y k la constante (h^{-1}).

Los datos experimentales mostraron dos procesos: un estado inicial caracterizado por una pérdida elevada de los compuestos fenólicos que los autores atribuyen a la acción de la luz y el oxígeno y que se presentó desde el tiempo cero (t_0) al tiempo t_1 , que va desde 31.3 h a 80.4 h y una segunda etapa donde la pérdida de compuestos fenólicos se redujo drásticamente desde t_1 hasta las 480 h.

Los valores de vida media se calcularon a partir de la etapa inicial dado que la pérdida de compuestos fenólicos fue significativamente más elevada en esa etapa. La vida media fue calculada empleando la ecuación: $t_{1/2} = \ln(2) / k$. El valor de vida media más elevado lo presentó el extracto de propilenglicol (50 g/kg) a 60°C a pH 5.5 con 186.33 días, seguido del extracto de etanol absoluto a 60 °C a pH 3.5 con 106.57 días y etanol (50 mg/kg) a 60 °C a pH 3.5 con 76.41 días. La concentración de compuestos fenólicos a dichas vidas medias fue de 424.81, 304.30 y 484.90 mg de ácido gálico/kg de extracto, respectivamente. Los valores de vida media más bajos fueron presentados por el extracto de etanol (50 g/kg) a 25°C con 6.05 días, propilenglicol (50 g/kg) a 25°C con 6.73 días y etanol absoluto a 60°C con 7.89 días, todos a un pH de 5.5. La concentración de compuestos fenólicos fue de 488.25, 509.07 y 364.72 mg de ácido gálico/kg para cada uno de los extractos antes mencionados. De acuerdo con estos resultados, es fundamental elegir de manera adecuada la temperatura, pH y disolvente de extracción si se quiere obtener un alto contenido de compuestos fenólicos en los extractos de *J. spicigera*.

Anaya-Esparza y colaboradores (2018) evaluaron el efecto de diversos métodos de extracción (ultrasonido, agitación y decocción) sobre el contenido de compuestos fenólicos (solubles, hidrolizables y totales) de los extractos acuosos de las hojas de *J. spicigera*. En general, las cantidades más elevadas de compuestos fenólicos solubles, hidrolizables y totales se observó en los extractos obtenidos por ultrasonido (Tabla 12).

Tabla 12. Contenido total de compuestos fenólicos empleando diversos métodos de extracción por Anaya-Esparza et al. (2018)

Tipo de extracción	Compuestos fenólicos solubles ^a	Compuestos fenólicos hidrolizables ^a	Compuestos fenólicos totales ^a
Ultrasonido	37.50±0.39	16.50±0.35	54.01±0.17
Agitación	32.25±0.28	14.21±0.18	46.46±0.46
Decocción	34.41±0.53	13.35±0.45	47.76±0.45

^a: mg de equivalentes de ácido gálico/g de material seco

4.2.3 Contenido total de flavonoides

Para la determinación del contenido total de flavonoides se pueden emplear dos métodos espectrofotométricos. Ambos métodos involucran la formación de complejos de aluminio por adición de una disolución de cloruro de aluminio, sin embargo, la longitud de onda empleada es distinta. El primero involucra la determinación de la absorbancia a 510 nm en medio alcalino usando una disolución de nitrito de sodio a la cual reaccionan rutina,

luteolina, catequinas y ácidos fenólicos. El segundo implica la evaluación a 410-430 nm resultando positivas las flavonas y flavonoles (Pekal et al., 2013).

Sepúlveda-Jiménez y colaboradores (2009) previamente habían determinado la actividad antioxidante y contenido total de compuestos fenólicos en el extracto acuoso y metanólico de las partes aéreas y raíces de *J. spicigera*. Adicionalmente, ellos determinaron el contenido total de flavonoides en los extractos antes mencionados empleando el primer método antes descrito. En los extractos acuosos el contenido fue de menor a mayor en hojas, flores y tallos, mientras que en los extractos metanólicos el contenido fue de menor a mayor en tallos, flores y hojas (Tabla 13). Este método produce la nitración de cualquier anillo aromático con un grupo catecol sin sustituyentes en las posiciones restantes del anillo (Pekal et al., 2013), por lo que este método no es selectivo y, en consecuencia, es ambiguo hablar de contenido total de flavonoides cuando una gran cantidad de compuestos pueden ser positivos.

Tabla 13. Contenido de flavonoides totales en los extractos acuosos y metanólicos de diferentes partes de *J. spicigera* por Sepúlveda-Jiménez et al. (2009)

Parte de la planta	Tipo de extracto	Contenido total de flavonoides ^a
Hojas	Agua	0.62±0.13
	Metanol	0.98±0.13
Tallos	Agua	1.16±0.04
	Metanol	0.18±0.12
Flores	Agua	1.30±0.07
	Metanol	0.70±0.09

^a: g de catequina/ 100 g de material seco

4.2.4 Propiedades fisicoquímicas

Baqueiro-Peña et al. (2017) determinaron las propiedades fisicoquímicas de los extractos acuosos de las hojas de *J. spicigera*. En la Tabla 14 se observa que el valor de actividad del agua fue mayor en las hojas frescas debido a su elevado contenido de humedad. Los autores atribuyeron una acidez mayor en las hojas secas a su concentración de sólidos solubles totales.

Tabla 14. Propiedades fisicoquímicas presentadas por los extractos acuosos de las hojas de *Justicia spicigera* por Baqueiro-Peña y colaboradores (2017)

Propiedad fisicoquímica	Contenido de humedad (% m/v)	Actividad del agua (a _w)	pH	Sólidos solubles totales (%)	Acidez titulable (% de ácido cítrico)
Hojas frescas	69.84±0.02	0.910±0.001	6.85±0.17	4.00±0.00	0.03±0.00
Hojas secas (almacenadas por un año)	11.65±0.21	0.272±0.009	7.23±0.01	16.00±0.00	0.19±0.02

4.2.5 Otros estudios

Cassani et al. (2014) realizó un análisis únicamente por cromatografía en capa delgada (CCD) de un extracto etanólico de las partes aéreas de *J. spicigera* y detectó la presencia de flavonoides y polifenoles, terpenoides, saponinas, taninos y antocianinas.

Awad et al. (2018) que previamente habían evaluado la actividad antioxidante en un extracto etanólico de las partes aéreas de *J. spicigera* nuevamente realizaron un análisis fitoquímico en donde detectaron la presencia de distintos metabolitos encontrando carbohidratos y/o glicósidos, antocianinas y saponinas en una elevada concentración y cumarinas, lignanos, flavonoides (libres y compuestos) y esteroides y/o triterpenos en una baja concentración.

Finalmente, Real-Sandoval y colaboradores (2020) sometieron el polvo de Future Foods® a extracción por sonicación con acetona con la finalidad de identificar y determinar el contenido total de carotenoides. El contenido total de carotenoides fue de 110.49±4.6 µg/g de muestra y los carotenoides identificados fueron luteína (32.7±3 µg/g de muestra), α-caroteno (6.4±0.4 µg/g de muestra) y β-caroteno (25.7±2 µg/g de muestra), respectivamente. Adicionalmente a este estudio, estos investigadores obtuvieron un extracto de metanol a partir del polvo de *J. spicigera* mediante sonicación, para identificar y cuantificar el contenido total de triterpenoides, cuyo valor fue de 2.93 mg/g de material seco; en el análisis por CCD se encontraron los triterpenoides: ácido ursólico, ácido oleanólico y un tercer compuesto no identificado.

4.3 Canferitrina: Metabolito secundario mayoritario

El flavonoide canferitrina es el metabolito secundario mayoritario en *J. spicigera*. Ha sido aislado en múltiples ocasiones por diversos autores, con fines de estudios tanto químicos como farmacológicos (Euler et al. 1986; Domínguez et al., 1990; Ortiz-Andrade et al., 2012; Alonso-Castro et al., 2012; Cassani et al., 2014; Zapata-Morales et al., 2016; González-Trujano et al., 2017; Ángeles-López et al., 2019; Real-Sandoval et al., 2020). En la Tabla 15 se indican las condiciones que han sido empleadas para el aislamiento de este compuesto.

Tabla 15. Aislamientos de canferitrina a partir de *J. spicigera*

Parte de la planta	Disolvente	Método de extracción	Condiciones de separación	Cantidad aislada (mg)	Referencia
Hojas	Etanol	1. Soxhlet	1. Método: Cromatografía en columna abierta	300	Euler et al. 1986
		2. Reparto líquido-líquido	Fase estacionaria: Gel de sílice Fase móvil: Metanol al 15% en cloroformo		
Hojas y ramas	Hexano:éter isopropílico: metanol (1:1:1)	2.1. Hexano:Agua	Muestra: Fracción de butanona	No determinada	Domínguez et al., 1990
		Muestra: Extracto etanólico	2. Método: Cromatografía en columna abierta		
Hojas y ramas	Hexano:éter isopropílico: metanol (1:1:1)	2.2. Hexano, cloroformo y butanona	Fase estacionaria: Gel de sílice Fase móvil: Metanol al 15% en cloroformo	No determinada	Domínguez et al., 1990
		Muestra: Fracción acuosa de 2.1	Muestra: Fracciones de 1		
Hojas y ramas	Hexano:éter isopropílico: metanol (1:1:1)	1. Maceración	1. Método: Cromatografía en columna abierta	No determinada	Domínguez et al., 1990
		2. Reflujo en metanol	Fase estacionaria: Gel de sílice Muestra: Residuo del reflujo en metanol		
Hojas y ramas	Hexano:éter isopropílico: metanol (1:1:1)	2. Reflujo en metanol	2. Método: Cromatografía de capa delgada (CCD)	No determinada	Domínguez et al., 1990
		Muestra: Fracción acuosa de 2.1	Fase estacionaria: Gel de sílice Muestra: Fracciones de 1		

Hojas	Etanol	Aparato Soxtherm®	Método: HPLC de fase reversa Tipo de columna: Kromasil C-18 (150 x 4.6 mm) con un D.I. 0.45 mm Velocidad de flujo: 0.4 mL/min Fase estacionaria: C-18 Fase móvil: Ácido acético al 2% en agua adicionando acetonitrilo en gradiente (10-70% por 20 min). λ_{\max} : 260 nm Muestra: Extracto concentrado disuelto en metanol filtrado por una membrana de nylon de 0.45 μ m.	69.65	Ortiz-Andrade et al., 2012
Hojas	Etanol	Aparato Soxtherm®	Método: HPLC de fase reversa Condiciones: Ortiz-Andrade, et al., 2012 Muestra: Extracto concentrado disuelto en DMSO	12.75	Alonso-Castro et al., 2012
Partes aéreas	Etanol	Maceración	1. Método: Cromatografía en columna abierta Fase estacionaria: Gel de sílice Fase móvil: Mezcla de disolventes en gradiente (hexano, acetato de etilo y metanol) Muestra: Extracto etanólico 2. Método: CCD Fase estacionaria: Gel de sílice (0.25 mm) Fase móvil: Acetato de etilo: Metanol (9:1) Muestra: Fracciones de 1 3. Método: Cromatografía ultra rápida Fase estacionaria: Gel de sílice "flash" (32-63 μ m)	1025	Cassani et al., 2014

			Fase móvil: Acetato de etilo:Metanol (9:1) Muestra: Fracciones obtenidas en 2 con perfiles similares		
Hojas	Etanol	Aparato Soxtherm®	Método: HPLC de fase reversa Condiciones: Ortiz-Andrade, et al., 2012; Alonso-Castro, et al., 2012 Muestra: Extracto etanólico concentrado y liofilizado	59	Zapata-Morales et al., 2016
Partes aéreas	Agua	Aparato Soxtherm®	Método: HPLC de fase reversa Tipo de columna: Symmetry C-18 100 Å (150 x 45 mm, 5 µm) Velocidad de flujo: 1 mL/min Fase estacionaria: C-18 Fase móvil: Agua acidificada con ácido fosfórico al 1% adicionando acetonitrilo en gradiente λ_{max} : 347 nm Muestra: Extracto liofilizado disuelto en metanol y filtrado con una membrana (0.2 mm)	No determinada	González-Trujano et al., 2017
Partes aéreas	Etanol	Maceración	1. Método: Cromatografía en columna abierta Fase estacionaria: Gel de sílice Fase móvil: CH ₂ Cl ₂ :Metanol (9:1) y metanol (100%). Muestra: Extracto filtrado y concentrado 2. Método: Cromatografía en columna abierta Fase estacionaria: Gel de sílice Fase móvil: Inicial de CH ₂ Cl ₂ :Metanol (95:5) y final de metanol(100%). Muestra: Fracción 8/10 del paso 1.	5.5	Ángeles-López et al., 2019

			3. Método: CCD preparativa Fase estacionaria: Gel de sílice Fase móvil: CH ₂ Cl ₂ :Metanol (85:15) Muestra: Fracción 12'/19' del paso 2.		
Polvo (Future Foods®)	Etanol	Ultrasonido	Método: HPLC de fase reversa Tipo de columna: Zorbax C-18 (150 x 4.6 mm) con un D.I. de 0.5 µm Velocidad de flujo: 0.5 mL/min Fase estacionaria: C-18 Fase móvil: Ácido acético al 2% en agua adicionando acetonitrilo en gradiente (10-70% por 20 min) λ _{max} : 347 nm Muestra: Extracto etanólico filtrado y concentrado	1.67	Real-Sandoval et al., 2020
Material vegetal	Agua	1.Maceración 2.Reparto líquido-líquido 2.1.Acetato de etilo Muestra: Extracto acuoso	Método: Cromatografía en columna abierta Fase estacionaria: Sephadex LH-20 Fase móvil: Metanol Muestra: Fracción de acetato de etilo	No determinada	Montaño-Cruz 2020

CAPÍTULO 5. FARMACOLOGÍA DE LOS PRINCIPALES METABOLITOS DE *J. SPICIGERA*

5.1 Canferitrina

5.1.1 Actividad a nivel de la presión sanguínea

Gohara et al. (1997) evaluaron por primera vez los efectos hipotensivos ejercidos por la canferitrina. En conejos sanos que recibieron una dosis de 60 mg/kg, la frecuencia cardiaca y presión arterial se redujeron en un 2.38% y 5.26%, respectivamente. Asimismo, al emplear una dosis de 290 mg/kg los parámetros antes mencionados se redujeron en un 28.57% y 31.58%, respectivamente. En ratas hipertensas, la canferitrina ejerció una reducción en la presión arterial de 10.7 ± 1.6 mmHg (45 mg/kg), 17.9 ± 2.4 mmHg (90 mg/kg) y 57.1 ± 4.6 mmHg (135 mg/kg). Adicionalmente, en aurículas de cobayo, la canferitrina (40 mg/mL) no produjo ningún cambio sobre la velocidad o la fuerza de las contracciones y no alteró los efectos ionotrópicos y cronotrópicos provocados por la isoprenalina (5 ng/mL), lo que sugiere que en el mecanismo de acción de la canferitrina no están involucrados los receptores β_1 adrenérgicos. Finalmente, en aorta de cobayo, la canferitrina (40 mg/mL y 80 mg/mL) no alteró la contracción vascular inducida por la norepinefrina (100 a 300 ng/mL), por lo que la canferitrina tampoco ejerció efecto alguno sobre los receptores α_1 -adrenérgicos.

Pasados 22 años Cechinel-Zanchett y colaboradores (2019b) evaluaron nuevamente la actividad hipotensiva ejercida por la canferitrina sobre ratas Wistar sanas e hipertensas. La canferitrina (0.001 a 0.3 μ g/mL) logró relajar los anillos aórticos obtenidos de la aorta torácica descendente de las ratas en un $34.70 \pm 7.61\%$, por lo que los autores creen que podría ser un candidato en el desarrollo de nuevas o complementarias estrategias al tratamiento de enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, no describen algún mecanismo de acción debido a que no emplearon algún fármaco de referencia.

Por otra parte, la disfunción endotelial puede emplearse como un marcador de la hipertensión debido a que la disponibilidad reducida de óxido nítrico (NO) provoca un aumento del estrés oxidativo en el endotelio y con el tiempo conduce a un estado proinflamatorio, protrombótico y vasoconstrictivo (Rogier van der Velde et al., 2015). Lincha y colaboradores (2016) evaluaron el efecto de la canferitrina sobre la disfunción endotelial inducida por nicotina sobre células endoteliales de la vena umbilical humana. La canferitrina

(10 μM) no ejerció ningún efecto sobre la expresión de VCAM-1 e ICAM-1 a nivel del mRNA y proteico. Estas proteínas se expresan en respuesta al daño endotelial actuando como moléculas de adhesión promoviendo el reclutamiento de leucocitos a lo largo de la superficie endotelial, la adhesión firme, la activación y la extravasación en el tejido (Lincha et al., 2016). Además, la canferitrina indujo un aumento significativo en la expresión de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) a nivel proteico. Los niveles de óxido nítrico (NO) en células endoteliales disminuyeron significativamente, en contraste con las células que no recibieron tratamiento y también disminuyó la expresión de la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS). Por otra parte, incluyeron la evaluación de marcadores de la inflamación sobre células endoteliales de la vena umbilical humana. La canferitrina (10 μM) no mostró ningún efecto sobre la expresión de los genes que codifican para el TNF- α , IL-8 e IL-1 β . Los resultados obtenidos sugieren que la canferitrina podría ser un candidato para el tratamiento de la disfunción endotelial.

Por otro lado, De Souza y colaboradores (2017) evaluaron los efectos diuréticos y natriuréticos de la canferitrina ejercidos sobre ratas macho Wistar sanas e hipertensas. En ratas sanas e hipertensas, la canferitrina a una dosis de 1 mg/kg logró aumentar significativamente el volumen urinario tras 1, 2, 4, 6 y 8 h del tratamiento en contraste con el grupo de ratas sanas e hipertensas que solo recibieron vehículo como tratamiento. Adicionalmente, los autores cuantificaron los niveles de electrolitos (Na^+ y K^+), pH y conductividad en la orina de ratas sanas después de 8 h del tratamiento con canferitrina (0.1, 0.3 y 1 mg/kg). En el pH no se observaron cambios significativos a ninguna de las dosis de canferitrina evaluadas, en contraste con el grupo que solo recibió vehículo como tratamiento. La conductividad de la orina de ratas sanas que recibieron canferitrina (1 mg/kg) aumentó significativamente a 19.64 ± 0.86 mS/cm de los 17.31 ± 0.29 mS/cm presentados por el grupo control. Los niveles de Na^+ presentados en las muestras de orina de ratas sanas tratadas con canferitrina (1 mg/kg) aumentaron a 175.40 ± 14.92 mM de los 89.39 ± 06.01 mM presentados por el grupo control. El ion sodio (Na^+) es un regulador crucial en el volumen sanguíneo, la alta concentración sérica promueve la retención de líquidos y en consecuencia un aumento en la presión arterial (Oparil et al., 2018), por lo que el aumento de la concentración de este ion en orina se puede interpretar como símbolo de los efectos antihipertensivos ejercidos por la canferitrina. La concentración de K^+ en las muestras de orina de ratas sanas tratadas con canferitrina (1 mg/kg) fue de 26.09 ± 2.17 mM en contraste con los 24.07 ± 1.64 mM del grupo

control. La baja excreción urinaria de potasio se ha asociado con un mayor riesgo de desarrollar hipertensión, por lo que un aumento en su excreción también se podría interpretar como símbolo de los efectos antihipertensivos ejercidos por la canferitrina, sin embargo, en este ensayo los cambios no son evidentes. En ratas hipertensas, la canferitrina (1 mg/kg) indujo un aumento en la excreción urinaria de Na^+ a 215.00 ± 14.49 mM de los 133.80 ± 14.29 mM presentados por el grupo que solo recibió vehículo y también este flavonoide indujo un aumento en el volumen de excreción urinario. Sin embargo, no ejerció ningún efecto sobre el pH, la densidad y la conductividad de la orina. Además, en ratas sanas, la canferitrina (1 mg/kg) ejerció un aumento significativo sobre los niveles urinarios de creatinina y prostaglandina E2, mientras que no ejerció ningún efecto sobre los niveles urinarios de calcio. El aumento significativo de la prostaglandina E2 la relacionaron con una generación aumentada de prostanoïdes endógenos que puede representar un papel fundamental en los efectos renales de la canferitrina, mientras que, con el aumento en los niveles de creatinina, los autores sugieren que este flavonoide mejora la circulación hacia los vasos renales, lo que es símbolo de una mejor filtración glomerular.

Finalmente, los autores evaluaron el papel de los prostanoïdes, los receptores muscarínicos y el óxido nítrico en la acción diurética de la canferitrina. En ratas sanas administraron un inhibidor de la ciclooxigenasa (indometacina), un antagonista del receptor muscarínico (atropina) y un inhibidor de la óxido nítrico sintasa (L-NAME) previo al tratamiento con canferitrina. La atropina (1.5 mg/kg) y L-NAME (60 mg/kg) no afectaron el efecto diurético ejercido por la canferitrina (1 mg/kg) por lo que el mecanismo por el cual este flavonoide ejerce su acción es independiente de la activación del receptor muscarínico o de la generación de óxido nítrico. La indometacina (5 mg/kg) ejerció una disminución significativa de la diuresis presentada por la canferitrina (1 mg/kg) con un volumen urinario de 3.26 ± 0.11 mL/100 g de los 4.06 ± 0.11 mL/100 g presentados por el tratamiento solo con el flavonoide, así demostraron la importancia de la generación de prostanoïdes endógenos en los efectos diuréticos de la canferitrina. Además, en las ratas que recibieron canferitrina junto a indometacina, la concentración de K^+ disminuyó significativamente a 119.00 ± 11.66 mM en contraste con el grupo que solo recibió canferitrina como tratamiento (175.90 ± 12.19 mM). La atropina, L-NAME e indometacina no ejercieron ningún efecto sobre la concentración de Na^+ , el pH y la conductividad de las muestras de orina. En general, la canferitrina exhibió

efectos diuréticos y natriuréticos en ratas sanas e hipertensas por lo que podría emplearse en el tratamiento de la hipertensión y afecciones renales.

5.1.2 Actividad protectora de la membrana renal

El efecto protector ejercido por la canferitrina sobre células epiteliales de riñón de cerdo (LLC-PK1) fue evaluado por Yokozawa y colaboradores (1999) mediante el ensayo de pérdida de lactato deshidrogenasa (LDH). Este ensayo se basa en la cuantificación extracelular de la actividad de esta enzima ya que su acumulación extracelular es un indicador de muerte celular irreversible debido al daño de la membrana celular (Fotakis et al., 2006). La canferitrina mostró una reducción significativa en la pérdida de LDH a 78.5±5.4% (0.25 µg/mL), 75.9±3.2% (0.5 µg/mL), 74.3±5.6% (2.5 µg/mL) y 72.3±6.1% (5 µg/mL) en contraste con el 100.0±5.8% presentado por el grupo control.

Adicionalmente, los autores evaluaron el efecto de la canferitrina sobre el estrés oxidativo en células LLC-PK1 y utilizando malondialdehído (MDA) como biomarcador. La canferitrina originó una reducción significativa en la cantidad de MDA a 82.2±6.1% (0.25 µg/mL), 78.9±6.8% (0.5 µg/mL), 71.6±4.3% (2.5 µg/mL) y 68.4±4.9% (5 µg/mL) en comparación con el grupo control (100.0±7.1%). Los autores relacionaron la disminución en la cantidad de liberación extracelular de LDH con una disminución de la permeabilidad de la membrana renal debido a la peroxidación lipídica. Los niveles de MDA mostraron también una disminución y, por lo tanto, el efecto protector de la canferitrina sobre las células epiteliales de riñón de cerdo está relacionado con la posición de los residuos de ramnosa en su estructura. Esta conclusión sobre la relación de la estructura-actividad biológica los autores la remarcan ya que evaluaron otros flavonoides con otros residuos de azúcar y agliconas solas.

5.1.3 Actividad antinociceptiva

De Melo et al. (2009) evaluaron la actividad antinociceptiva inducida por la canferitrina mediante el ensayo de contorsiones inducidas por ácido acético en ratones macho Swiss. La canferitrina redujo las contorsiones en un 47.3% (25.6±5.6 contorsiones), mientras que la indometacina (control positivo) las redujo en un 68.9% (15.1±3.5 contorsiones), en contraste con el grupo que no recibió tratamiento (48.6±3.4 contorsiones). La canferitrina mostró un efecto discreto en comparación con el efecto ejercido por la indometacina.

5.1.4 Actividad sobre el Sistema Nervioso Central (SNC)

Cassani y colaboradores (2014) evaluaron la actividad antidepresiva de la canferitrina (aislada de *J. spicigera*) en ratones macho Swiss Webster mediante el ensayo de suspensión de la cola (TST, por sus siglas en inglés), prueba de natación forzada (FST, por sus siglas en inglés) y la prueba de campo abierto (OFT, por sus siglas en inglés). El ensayo de suspensión de la cola consiste en suspender de la cola a los ratones por encima del suelo para posteriormente evaluar su comportamiento durante un periodo de 6 minutos (Carr et al., 2010). En general, los roedores se mueven hasta quedarse inmóviles, pero al administrar agentes antidepresivos se reduce el periodo de inmovilidad. La canferitrina mostró una reducción significativa en el tiempo de inmovilidad a dosis de 10 y 20 mg/kg con respecto a los ratones control, mientras que a la dosis de canferitrina de 1 y 5 mg/kg no se produjeron cambios. Los fármacos antidepresivos evaluados que incluyeron fluoxetina (10 mg/kg), desipramina (12.5 y 25 mg/kg) e imipramina (12.5 y 25 mg/kg) redujeron el tiempo de inmovilidad de una forma dependiente de la dosis.

El ensayo de natación forzada consiste en colocar al roedor en un recipiente cilíndrico con agua del que intenta escapar durante cierto periodo de tiempo para después mantenerse inmóvil. La inmovilidad se caracteriza por la ausencia de movimiento, excepto el necesario para mantener la nariz fuera del agua (Carter et al., 2015). Los autores observaron que, a dosis de 5, 10 y 20 mg/kg de canferitrina se redujo significativamente el tiempo de inmovilidad, mientras que de los fármacos antidepresivos solo la imipramina (12.5 y 25 mg/kg) y desipramina (6.25, 12.5 y 25 mg/kg) redujeron el tiempo de inmovilidad en los roedores.

Por otra parte, la prueba de campo abierto consiste en colocar al roedor en una caja de forma cuadrada, circular o rectangular en la cual se registran varios parámetros en el comportamiento durante un periodo de tiempo establecido (Gogas et al., 2007). En el ensayo realizado por Cassani y colaboradores (2014) se cuantificaron las veces que los roedores cruzaban los cuadrados marcados en la caja, así como el número de veces que se paraban sobre sus patas traseras durante un periodo de 5 min. La disminución en el número de conteos se consideró como una disminución en la actividad locomotora. En general, dichos parámetros no se vieron afectados por ninguno de los fármacos antidepresivos y solo la canferitrina a una dosis de 20 mg/kg ejerció un aumento significativo en el número de conteos a 44.7 ± 2.29 de los 31.7 ± 3.24 presentados por el grupo control.

Adicionalmente, para evaluar el mecanismo mediante el cual la canferitrina ejercía su efecto como antidepresivo se mezclaron dosis de canferitrina (1 mg/kg) que no mostraron efectos significativos en los ensayos de suspensión de la cola y natación forzada, con fluoxetina (10 mg/kg), imipramina (6.25 mg/kg) y desipramina (3.12 mg/kg). Las mezclas de canferitrina junto a imipramina y canferitrina junto a fluoxetina mostraron una reducción significativa en el tiempo de inmovilidad respecto al grupo control, mientras que la mezcla de canferitrina junto a desipramina no mostró ningún efecto.

Cassani et al. (2014) evaluaron la participación del sistema serotoninérgico sobre los efectos antidepresivos de la canferitrina mediante el ensayo de natación forzada, para lo cual emplearon un inhibidor de la síntesis de serotonina (*p*-clorofenilalanina), un antagonista del receptor 5-HT_{1A/B} (pindolol), un antagonista de los receptores 5-HT_{1A} y D₄ (WAY 100635) y un agonista del receptor 5-HT_{1A} (8-OH-DPAT). Los autores observaron que en los roedores que recibieron *p*-clorofenilalanina (100 mg/kg) junto a canferitrina (10 mg/kg) se redujo escasamente el tiempo de inmovilidad a 50.36±4.52 s de los 51.26±6.24 s de inmovilidad que presentaron los ratones que solo recibieron *p*-clorofenilalanina. Al administrar solo canferitrina (10 mg/kg) se redujo a 27.73±3.62 s el tiempo de inmovilidad. De acuerdo con estos resultados, la *p*-clorofenilalanina bloquea los efectos antidepresivos ejercidos por la canferitrina. El tiempo de inmovilidad, empleando la mezcla de pindolol (10 mg/kg) junto a canferitrina (10 mg/kg), se redujo a 13.10±2.42 s de los 59.86±7.83 s que presentaron los ratones que solo recibieron pindolol como tratamiento. Es decir, el pindolol contribuyó al efecto antidepresivo ejercido por la canferitrina, por lo que los autores creen que los efectos de la canferitrina son principalmente serotoninérgicos que noradrenérgicos. El tratamiento en roedores con WAY 100635 (0.03 mg/kg) junto a la canferitrina (10 mg/kg) y WAY 100635 solo, ejercieron un aumento en el tiempo de inmovilidad a 54.24±6.85 s y 58.03±5.49 s, respectivamente, de los 29.11±3.08 s que presentaron los ratones que recibieron solo canferitrina (10 mg/kg) como tratamiento. De acuerdo con estos resultados, WAY 100635 bloquea los efectos antidepresivos ejercidos por la canferitrina. Por último, los tratamientos con 8-OH-DPAT (0.05 mg/kg y 0.5 mg/kg) junto a la canferitrina (1 mg/kg) redujeron el tiempo de inmovilidad a 34.91±3.48 s y 30.78±3.48 s respecto a los 60.85±3.85 s del grupo de ratones Swiss Webster que recibieron 8-OH-DPAT (0.5 mg/kg) como tratamiento. 8-OH-DPAT parece ejercer un efecto sinérgico sobre los efectos ejercidos por la canferitrina y posiblemente actúe como un agonista parcial del receptor 5-HT_{1A}.

Es importante explicar en relación a los experimentos de Cassani et al. (2014) que la serotonina o 5-HT (5-hidroxitriptamina) es un neurotransmisor que no solo regula muchos procesos fisiológicos importantes como la temperatura corporal, el sueño, el apetito, el dolor y la actividad motora, sino que también modula las funciones cerebrales superiores, incluidas la cognición y el comportamiento emocional (Švob Štrac et al., 2016). Los principales receptores que se expresan en el SNC son 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT₂ y 5-HT₃. Se ha reportado que la serotonina puede participar en la modificación del estado de ánimo por lo que se administra triptófano para aumentar la síntesis de 5-HT en padecimientos como la depresión.

Finalmente, los autores evaluaron el posible efecto de la canferitrina sobre el eje HHA, para lo cual se midieron los niveles de corticosterona en suero después de la administración de dicho flavonoide e imipramina. El eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA) incluye el hipotálamo, la hipófisis y las glándulas adrenales. Mediante un estímulo de estrés el hipotálamo secreta dos hormonas las cuales son la hormona liberadora de corticotropina (CRH) y arginina vasopresina (AVP). La CRH actúa a nivel de la hipófisis, específicamente la adenohipófisis, estimulando la liberación de la hormona adenocorticotropina (ACTH) que se transporta a través del torrente sanguíneo hasta la corteza suprarrenal donde estimula la secreción de cortisol que es el principal glucocorticoide, el cual actúa promoviendo la degradación de proteínas, la lipólisis y la gluconeogénesis, además, ayuda a combatir el estrés y como agente antiinflamatorio. Niveles elevados de cortisol se han reportado en pacientes con trastornos asociados al estado de ánimo (Varghese et al., 2001). Ninguno de los tratamientos (canferitrina e imipramina) redujo los niveles de corticosterona respecto al grupo control, al contrario, hubo un aumento significativo de 495.42±58.98 nM a 1000.52±38.42 nM, 1271.51±200.91 nM y 925.25±128.59 nM, respectivamente. Por lo que no queda clara la influencia del eje HHA en los efectos antidepresivos ejercidos por la canferitrina.

En 2017, González-Trujano y colaboradores evaluaron el efecto anticonvulsivo ejercido por la canferitrina (aislada de *J. spicigera*) cuantificando los cambios en la actividad cerebral de ratas Wistar en un encefalograma. Las convulsiones fueron generadas por administración de pentilenotetrazol. En el encefalograma de las ratas a las que se les administró canferitrina (1 µg/mL) se presentó una respuesta similar e incluso mejor a la presentada por el agente anticonvulsivo etosuximida (1 µg/mL) al reducir las frecuencias a

6±2 picos de los 12±2 picos presentados en el encefalograma del grupo que solo recibió vehículo, mientras que la etosuximida solo las redujo a 10±1 picos. Adicionalmente, los autores evaluaron el comportamiento de las convulsiones tónico-clónicas haciendo uso de la escala de Racine (clasificar tipo de convulsiones). La canferitrina (1 µg/mL) indujo un aumento significativo en el tiempo que tardaban en presentarse las convulsiones tónico-clónicas tipo II y III y evitó por completo las convulsiones tipo IV y V.

5.1.5 Actividad anticancerígena

Con la finalidad de evaluar la actividad de la canferitrina sobre la despigmentación de los melanocitos, Rho et al. (2011) sometieron células B16 a concentraciones con canferitrina o arbutina (control positivo). Este tipo de células es un modelo murino empleado en la evaluación de un tipo de cáncer de piel conocido como melanoma. El color de la piel es generado en su capa más externa conocida como epidermis. En esta se encuentran células productoras de melanina (pigmento) conocidas como melanocitos. La melanina también es la encargada de absorber radicales libres generados dentro del citoplasma y proteger al huésped de varios tipos de radiación ionizante, incluida la luz ultravioleta (Chang, 2012). Existen dos tipos de melanina, feomelanina y eumelanina, las cuales se forman mediante un proceso en común conocido como melanogénesis que comienza con una reacción clave que es la oxidación de la tirosina a dopaquinona catalizada por la tirosina cinasa. Esta reacción limita la formación de melanina dado que las reacciones posteriores suceden de manera espontánea a un pH fisiológico. Por el contrario, la despigmentación es una destrucción anormal de melanocitos benignos. La canferitrina no ejerció ningún efecto sobre la actividad de la tirosina cinasa y la despigmentación. Los autores también evaluaron al canferol que es la aglicona de la canferitrina, observando una actividad relevante por lo cual concluyeron que existe una relación con la estructura de la canferitrina al contener dos residuos de ramnosa y la actividad anti despigmentante.

La actividad ejercida por la canferitrina sobre líneas celulares derivadas de tumores humanos de carcinomas de mama (MDA-MB-231), cuello uterino (HeLa), ovario (SKOV-3), próstata (DU-145), colorrectal (SW-480), e hígado (HepG2), así como queratinocitos inmortalizados humanos sanos (HaCaT) fue evaluada por Alonso-Castro y colaboradores (2013). La canferitrina mostró valores de Cl_{50} de 65.7±2.6 µM, 45.7±2.6 µM, 80.7±1.1 µM, 77.7±5.6 µM, 85.7±1.6 µM, 105.7±6.4 µM y 177.7±7.9 µM sobre las líneas celulares antes

mencionadas, respectivamente. El cisplatino y paclitaxel empleados como controles positivos ejercieron elevados efectos citotóxicos contra todas las líneas celulares.

Después, los autores evaluaron el efecto de la canferitrina sobre la apoptosis de células HeLa analizadas mediante el ensayo TUNEL (acrónimo de marcado de final de corte de dUTP de terminal deoxinucleotidil transferasa, por sus siglas en inglés) observando la fragmentación del DNA a través de microscopía de fluorescencia. Las células tratadas con canferitrina (45 mM) mostraron características típicas de apoptosis (condensación de cromatina y aparición de cuerpos apoptóticos) superiores a las presentadas por el paclitaxel (0.1 mM). La apoptosis fue cuantificada por citometría de flujo, donde la canferitrina (45 mM) indujo el 39% de apoptosis en células HeLa, mientras que el paclitaxel (0.1 mM) indujo el 57% de apoptosis. Los autores también evaluaron la producción intracelular de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) en células HeLa. El tratamiento con paclitaxel (0.1 mM) y canferitrina (45 mM) redujo dicha producción en comparación con las células HeLa que no recibieron ningún tratamiento. Adicionalmente, los autores evaluaron el efecto de la catalasa de hígado bovino adicionada a los tratamientos con canferitrina (45 mM) y paclitaxel (0.1 mM) sobre la producción de ROS. La catalasa indujo una reducción en la producción de especies reactivas de oxígeno en ambos tratamientos y, además, los niveles de apoptosis generados por la canferitrina y el paclitaxel fueron bloqueados parcialmente por la presencia de esta enzima. Los peroxisomas son estructuras similares a las mitocondrias en los cuales se encuentra la catalasa, esta enzima media la escisión del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno (Cooper, 2000) evitando la generación de ROS.

Estos mismos autores también analizaron los efectos de la canferitrina (45 mM) sobre el ciclo celular de células HeLa. Después de 48 h de tratamiento, en las células tratadas con paclitaxel se observó que el 80.33% se acumuló en la fase G₂/M, 12.56% en la fase S y 7.18% en la fase G₀/G₁, mientras que en las células que recibieron canferitrina se presentó un 72.44% en la fase G₀/G₁, 16.59% en la fase G₂/M y 10.97% en la fase S. La acumulación de las células HeLa en la fase G₀/G₁ por efecto de la canferitrina demuestra la capacidad de este flavonoide para detener el avance del ciclo celular, mientras que el paclitaxel evita la progresión del ciclo celular hacia la mitosis, pero no actúa al inicio del ciclo celular como lo hace la canferitrina. Posteriormente y dado que la canferitrina ejerció sus efectos en la fase G₀/G₁ del ciclo celular de células HeLa, los autores analizaron su rol sobre la expresión de p16, p21 y la ciclina D1, factores que se encuentran involucrados en la progresión del ciclo

celular en la transición de la fase G₁ a S. La canferitrina mostró un aumento significativo en la expresión de p16 y p21, pero una disminución en la expresión de la ciclina D1 lo cual es congruente ya que p16 y p21 evitan el avance de las células de la fase G₁ a la fase S, mientras que la ciclina D1 regula positivamente la transición de la fase G₁ a S.

También, se analizaron los efectos de la canferitrina sobre la expresión de proteínas relacionadas con la vía intrínseca de la apoptosis y observaron que los niveles de pAkt y Bcl-2 disminuyeron, mientras que los niveles de expresión de Puma, Bad, p53 y los niveles de Akt se mantuvieron sin cambios en comparación con las células HeLa que no recibieron tratamiento. Adicionalmente, los autores analizaron el efecto de la canferitrina (45 mM) sobre la caspasa 3 en presencia y ausencia de su inhibidor (z-VAD fmk) observando que en presencia del inhibidor los efectos apoptóticos ejercidos por la canferitrina fueron abolidos e indujo la escisión proteolítica de la caspasa 3.

Alonso-Castro et al., 2013 evaluaron los efectos quimiopreventivos y antitumorales ejercidos por la canferitrina sobre tumores de células HeLa en ratones nu/nu. Primeramente, realizaron una implantación tumoral y pasadas 4 horas (efecto quimiopreventivo) y 8 días (efecto antitumoral) de este procedimiento, iniciaron el tratamiento con canferitrina a distintas dosis por 32 días, pero solo la dosis de 25 mg/kg ejerció efectos comparables con los controles positivos que fueron paclitaxel y cisplatino cada uno a dosis de 1 mg/kg. En cuanto a los efectos quimiopreventivos, la canferitrina mostró una disminución significativa en el crecimiento tumoral en un 97% en comparación con los ratones que no recibieron tratamiento. El cisplatino y paclitaxel redujeron el crecimiento tumoral en un 99% y 98%, respectivamente. El peso del tumor se redujo en un 95% en comparación con los ratones que no recibieron tratamiento. El cisplatino y paclitaxel redujeron el peso tumoral en un 96% y 99%, respectivamente. Por otro lado, en cuanto a los efectos antitumorales, la canferitrina mostró una disminución significativa del crecimiento tumoral en un 78%, mientras que el cisplatino y paclitaxel redujeron el crecimiento del tumor en un 79% y 88%, respectivamente. La canferitrina inhibió el peso del tumor en un 75%, mientras que el paclitaxel y cisplatino en un 90% y 77%, respectivamente.

Para evaluar la eficacia de la canferitrina como posible fármaco para el tratamiento de cáncer inducido por células HeLa en ratones, los autores emplearon los parámetros de tiempo medio de supervivencia y esperanza de vida. El tiempo medio de supervivencia para

los ratones no tratados fue de 46 días; dicho tiempo aumentó a 83 días en los ratones tratados con paclitaxel, mientras que la canferitrina ejerció un aumento a 73 días. Además, la canferitrina mejoró la esperanza de vida en un 159% y el paclitaxel lo hizo en un 180%.

Posteriormente, realizaron tinciones de cortes tumorales, en donde las micrografías de ratones no tratados mostraron mitosis atípica, patrón pseudopapilar y alta proliferación celular, mientras que los tumores tratados con paclitaxel mostraron áreas con células necróticas (20%) y apoptóticas. Los tumores tratados con canferitrina mostraron una necrosis masiva (50%) y células apoptóticas. Además, se observó una mayor permeación vascular en los tumores no tratados en comparación con los tumores tratados con canferitrina o paclitaxel.

Finalmente, Alonso-Castro et al., 2013, evaluaron el efecto de la canferitrina sobre la expresión de proteínas antiapoptóticas en los tumores, dichas proteínas incluyeron a pAkt, ciclina D1 y el antígeno nuclear de células en proliferación (PCNA, por sus siglas en inglés). Los tumores no tratados expresaron un porcentaje celular positivo del 53.5% para ciclina D1, 41.3% para pAkt y 37% para PCNA, mientras que la canferitrina redujo el número de células positivas para pAkt, ciclina D1 y PCNA en un 14.1%, 21.3% y 21%, respectivamente. Con toda esta serie de experimentos los autores plantean la posibilidad de que la canferitrina es un compuesto que podría llegar a emplearse como un fármaco en el tratamiento de cáncer de cuello uterino ya que induce altos efectos citotóxicos *in vitro* e *in vivo* contra las células HeLa. También, los autores plantean realizar modificaciones en la estructura química de la canferitrina con la finalidad de conocer el papel de los grupos funcionales en su actividad biológica, así como realizar estudios toxicológicos a nivel crónico de este flavonoide.

Por otra parte, Zhu y colaboradores (2018) también evaluaron el efecto de la canferitrina sobre la melanogénesis. Ellos sometieron la línea celular de melanoma murino B16 obtenida de ratones C57BL/6J a exposición con la hormona estimulante de melanocitos α (α -MSH) que estimula la melanogénesis. Después, al añadir canferitrina los autores detectaron que no se redujo de manera significativa la melanogénesis porque el contenido de melanina fue similar al presentado por las células B16 que no recibieron ningún tratamiento.

Cechinel-Zanchett et al. (2019a) evaluaron los efectos preventivos de la canferitrina sobre la toxicidad intestinal inducida por irinotecán en células epiteliales de intestino delgado de ratas (línea celular IEC-6). El irinotecán es un fármaco empleado en oncología para el

tratamiento de cáncer colorrectal que actúa mediante la inhibición de la topoisomerasa I. Esta enzima es clave en la replicación y reparación del daño ejercido al DNA. Los principales efectos secundarios del irinotecán son la disminución de la actividad de la médula ósea y diarrea (Blakeley et al., 2012). El irinotecán redujo la viabilidad celular en un 24% (10 μ M), 28% (30 μ M) y 23% (100 μ M) en comparación con las células que no recibieron ningún tratamiento. Las células que fueron pretratadas con canferitrina (10, 30 y 100 μ g/mL) evitaron la disminución de la viabilidad celular inducida por el irinotecán en una forma dependiente de la concentración, es decir, la canferitrina previene los efectos citotóxicos inducidos por el irinotecán.

La unión de la canferitrina al receptor a estrógenos α fue ensayada por Maslikah y colaboradores en 2020 mediante una evaluación de acoplamiento molecular donde este flavonoide mostró una afinidad de unión de -9.2 kcal/mol. El tamoxifeno (control positivo) exhibió una afinidad de unión de -7.4 kcal/mol, es decir, la afinidad de unión al receptor a estrógenos α por la canferitrina es más baja que la ejercida por el tamoxifeno. La interacción de la canferitrina con el receptor a estrógenos α se da a través de enlaces de hidrógeno con los residuos de Glu419 y Glu523 y, enlaces alquilo con Cys381, Met427, His516 y Lys520, a su vez, el tamoxifeno mostró interacciones mediante la formación de enlaces alquilo con los residuos de His377, Cys381 y Lys520, respectivamente. La canferitrina y el tamoxifeno mostraron una unión en común con el residuo de Lys520 en la formación de enlaces alquilo. Además, la actividad antineoplásica y antioxidante de la canferitrina medida por valores de probabilidad de actividad (0.847 y 0.905) fue similar a la presentada por el tamoxifeno (0.821 y 0.926). Finalmente, los ensayos de predicción de la toxicidad y farmacocinética (absorción, distribución, metabolización y eliminación) de la canferitrina fueron evaluados contrastándola con el tamoxifeno. En cuanto al proceso de absorción que se evaluó a nivel *in silico*, la canferitrina mostró un porcentaje de absorción tras la digestión humana de 35.385% contra 96.885% del tamoxifeno, es decir, la absorción de este flavonoide no es buena ni mala dado que es mayor al 30% pero menor al 80%. A su vez, evaluaron la permeabilidad de la canferitrina utilizando células de Caco-2, que es una línea celular de adenocarcinoma colorrectal que se emplea como modelo de permeabilidad epitelial. La canferitrina mostró una permeabilidad en valor de log P (lipofilicidad) de 0.225×10^{-6} cm/s contra 1.065×10^{-6} cm/s del tamoxifeno. La permeabilidad se considera alta si el valor de log P $> 0.90 \times 10^{-6}$ cm/s, por lo que la canferitrina presenta una baja permeabilidad. En cuanto al proceso de distribución, el

volumen de distribución fue mayor (1.487 log L/kg) que el presentado por el tamoxifeno (0.83 log L/kg) por lo que se afirma que se podría encontrar en concentraciones similares en plasma sanguíneo y, en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica, la canferitrina presentó un valor de -1.823 log BB y el tamoxifeno de 1.329 log BB, es decir, la canferitrina no es capaz de atravesar correctamente la barrera hematoencefálica puesto que presentó un log BB < 0.3. En la etapa de metabolización, la canferitrina resultó no ser sustrato ni inhibidor de CYP2D6, mientras que el tamoxifeno es inhibidor de CYP2D6. El aclaramiento total de la canferitrina fue de -0.102 log mL/min/kg y del tamoxifeno de 0.556 log mL/min/kg y este flavonoide no resultó ser sustrato del transportador principal de captación renal (OCT2), el cual se expresa en las células del túbulo proximal y desempeña un papel clave en la eliminación renal de distintos fármacos. En cuanto a la toxicidad, se realizó un ensayo para determinar la mutagenicidad de los compuestos evaluados utilizando el método de Ames, la canferitrina resultó no ser tóxica, mientras que el tamoxifeno si lo era. Los autores consideran que la canferitrina podría reemplazar al tamoxifeno de acuerdo con los valores exhibidos de actividad antioxidante y antineoplásica.

5.1.6 Actividad inmunomoduladora

Juárez-Vázquez y colaboradores (2013) evaluaron los efectos inmunoestimulantes de la canferitrina sobre esplenocitos murinos, macrófagos murinos y células mononucleares de sangre periférica. Los autores emplearon lipopolisacáridos (LPS) como control positivo en todos los experimentos inmunomoduladores *in vitro*. La canferitrina en ausencia de LPS ejerció un aumento de la viabilidad celular en un 15% (10 µM) y 23% (25 µM) en macrófagos murinos; en esplenocitos murinos aumentó en un 13% (10µM) y 17% (25 µM) y en células mononucleares de sangre periférica humanas en un 21% (10µM) y 24% (25 µM). En presencia de LPS, la canferitrina no afectó la viabilidad celular de ninguna de las células evaluadas. Este resultado sugiere que tanto la canferitrina como el LPS actúan por mecanismos de acción similares. También se evaluó la producción de óxido nítrico (NO) en macrófagos murinos utilizando el ensayo de Griess. Los niveles de NO fueron mayores en los macrófagos que recibieron canferitrina como tratamiento en presencia de LPS en contraste con los niveles de producción de NO en los macrófagos que recibieron canferitrina en ausencia de LPS. La actividad enzimática lisosomal se determinó en macrófagos murinos a través del ensayo de la fosfatasa ácida que se correlaciona con la degranulación de fagocitos. La canferitrina promovió la actividad enzimática lisosomal en un 42% (25 µM) en

presencia de LPS, mientras que en ausencia de LPS, estimuló la actividad enzimática lisosomal en un 57% (25 μ M).

Adicionalmente, los autores también evaluaron la actividad pinocítica de la canferitrina en presencia o ausencia de LPS utilizando el ensayo de captación de rojo neutro. La pinocitosis es una forma de endocitosis en la que partículas diminutas suspendidas en el líquido extracelular entran a la célula por invaginación de la membrana lipídica (Stilwell, 2016). Los autores encontraron que la canferitrina no presentó ningún efecto sobre la pinocitosis en presencia y ausencia de LPS.

Finalmente, los autores cuantificaron el efecto de la canferitrina sobre la actividad de esplenocitos murinos actuando como células NK. La canferitrina promovió la actividad de los esplenocitos en su forma de células NK en un 10.7% (25 μ M) en comparación con las células que no recibieron ningún tratamiento. Esta concentración de canferitrina promovió la actividad de los esplenocitos como células NK en un porcentaje similar al inducido por el LPS (1 μ g/mL).

5.1.7 Actividad antiinflamatoria

La actividad antiinflamatoria ejercida por la canferitrina sobre macrófagos aislados de ratones hembra Balb/c que fueron estimulados con lipopolisacáridos (LPS) e interferón γ (INF- γ), fue evaluada por Fang y colaboradores en 2005. La producción de óxido nítrico (NO) en los macrófagos estimulados con LPS e INF- γ fue inhibida por la canferitrina con una CI_{50} de 40 μ M. Adicionalmente, los autores cuantificaron mediante el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) los cambios en la expresión de mediadores de la inflamación que incluyeron a la IL-12 y TNF- α . La canferitrina ejerció un efecto inhibitorio sobre la expresión de TNF- α e IL-12 del 44% y 42%, respectivamente, a una concentración de 50 μ M. Finalmente, con la finalidad de conocer si el efecto de la canferitrina sobre la producción de NO era mediado por la inhibición en la activación temprana o la inhibición en la actividad enzimática de la óxido nítrico sintasa inducible, los autores sometieron macrófagos murinos a pretratamiento con LPS por 24 h; periodo de tiempo en el que se logra la activación de dicha enzima. La canferitrina no logró reducir la secreción de NO en los macrófagos que habían sido pretratados con LPS; de acuerdo con estos resultados, la canferitrina no afecta la actividad de la óxido nítrico sintasa inducible.

De Melo y colaboradores (2009) evaluaron la actividad antiinflamatoria ejercida por la canferitrina en ratones Swiss Webster mediante el ensayo de edema en oído inducido por aceite de croton. El ensayo consiste en la administración tópica del aceite el cual produce vasodilatación, promueve la permeabilidad vascular, la entrada de neutrófilos, la síntesis de eicosanoides y la liberación de serotonina e histamina (Patil et al., 2019). La canferitrina (10 mg/kg) redujo el edema en un 39.5% en contraste con el grupo de roedores que no recibió ningún tratamiento. La dexametasona (2 mg/kg) empleada como control positivo redujo el edema en un 83.7%. Además, se evaluó la actividad antiinflamatoria de la canferitrina mediante el ensayo de peritonitis inducida por carragenina cuyos resultados se cuantifican mediante el número de leucocitos que migran hacia el peritoneo pasado cierto periodo de tiempo desde el tratamiento. La canferitrina (10 mg/kg) redujo en un 42.9% ($6.9 \pm 0.9 \times 10^3$ leucocitos/mL) el número de leucocitos que migraron hacia el peritoneo, en contraste con el grupo de ratones que no recibieron ningún tratamiento ($12.1 \pm 1.0 \times 10^3$ leucocitos/mL). La dexametasona (2 mg/kg) redujo en un 66.1% ($4.1 \pm 0.5 \times 10^3$ leucocitos/mL) el número de leucocitos que migraron hacia el peritoneo.

La actividad de la canferitrina sobre la inflamación aguda fue evaluada en ratones Swiss Webster por Koelzer y colaboradores en 2009, mediante el ensayo de inflamación inducida por la administración intrapleural de carragenina. La inflamación aguda es un proceso a corto plazo que se produce en respuesta a una lesión tisular en minutos a horas, la cual puede ser evaluada a través de la pleuresía inducida por carragenina. Este modelo permite la cuantificación de los exudados pleurales, el contenido de proteína total y la inhibición de la migración de leucocitos que permite demostrar el efecto antiinflamatorio agudo de los compuestos de prueba (Patil et al., 2019).

El exudado pleural obtenido del tratamiento con canferitrina a 100 mg/kg mostró una reducción del $35.5 \pm 8.0\%$, $33.7 \pm 8.8\%$, $43.5 \pm 5.7\%$ y $37.0 \pm 3.3\%$ en los niveles de leucocitos, neutrófilos, células mononucleares y exudación pleural, respectivamente. Una dosis de 50 mg/kg redujo los niveles de células mononucleares en un $65.2 \pm 20.9\%$. Los controles positivos empleados fueron dexametasona (0.5 mg/kg) e indometacina (5 mg/kg) las cuales inhibieron significativamente la migración de leucocitos en un $71.7 \pm 5.0\%$ y $63.5 \pm 5.0\%$, neutrófilos en un $73.8 \pm 4.2\%$ y $64.9 \pm 5.0\%$, células mononucleares en un $60.7 \pm 2.0\%$ y $57.1 \pm 1.0\%$ y exudación pleural en un $43.3 \pm 7.8\%$ y $31.0 \pm 5.0\%$, respectivamente.

Adicionalmente, los autores cuantificaron el efecto de la canferitrina sobre la actividad enzimática de la mieloperoxidasa, adenosina-desaminasa y los niveles de IL-1 β sobre la inflamación inducida por la carragenina. Una dosis de 100 mg/kg de canferitrina redujo en un 90.6 \pm 3.4% (31.50 \pm 11.30 mU/mL) la actividad de la mieloperoxidasa y en un 77.1 \pm 7.9% (2.25 \pm 0.70 U/L) la actividad de la adenosina-desaminasa en contraste con el grupo control (334.00 \pm 36.7 mU/mL y 9.80 \pm 0.30 U/L). Los controles positivos que incluyeron a la dexametasona (0.5 mg/kg) e indometacina (5 mg/kg) inhibieron la actividad de la mieloperoxidasa en un 59.4 \pm 7.0% y 64.4 \pm 7.0% y, la actividad de la adenosina-desaminasa en un 71.4 \pm 6.0% y 64.4 \pm 6.0%, respectivamente. Los niveles de IL-1 β fueron reducidos por la canferitrina en un 61.1 \pm 13.8% (451.00 \pm 160.00 pg/mL) en comparación con los valores presentados por los ratones que no recibieron ningún tratamiento (1160.00 \pm 119.00 pg/mL). La dexametasona (0.5 mg/kg) e indometacina (5 mg/kg) redujeron los niveles de IL-1 β en un 55.5 \pm 6.0% y 49.8 \pm 6.0%, respectivamente. Finalmente, cuantificaron el efecto de la canferitrina sobre la producción de óxido nítrico mediante el ensayo de Griess en los ratones a los que se les había inducido inflamación aguda. La canferitrina (100 mg/kg) logró inhibir la producción de NO en un 32.9 \pm 4.2% (11.0 \pm 0.70 μ M) en contraste con el grupo control (16.40 \pm 1.50 μ M), mientras que la dexametasona (0.5 mg/kg) e indometacina (5 mg/kg) ejercieron un efecto inhibitorio de 75.6 \pm 2.6% y 50.0 \pm 1.3%, respectivamente.

Los efectos de la canferitrina sobre la inflamación aguda fueron nuevamente evaluados por Pereira et al. (2011) mediante el ensayo de pleuresía inducida por bradicinina en ratones Swiss. En este experimento se inhibió la expresión de cinasas mediante la administración de captopril. La canferitrina (10 mg/kg) redujo significativamente los niveles de leucocitos inducidos por la bradicinina (20 nM) en un 30.0 \pm 9.8%, los niveles de neutrófilos en un 66.8 \pm 13.8% y la concentración de exudado en un 41.0 \pm 4.6%. La indometacina (5 mg/kg) y dexametasona (0.5 mg/kg) empleadas como controles positivos redujeron en un 55.4% y 47.3% los niveles de leucocitos, en un 66.6% y 46.9% los niveles de neutrófilos y en un 59.7% y 71.7% la concentración de exudado, respectivamente. Los niveles de células mononucleares no se vieron afectados a ninguna de las dosis evaluadas de canferitrina y tampoco con la dexametasona e indometacina. Adicionalmente, la actividad de la mieloperoxidasa y adenosina-desaminasa se redujo en un 19.5 \pm 8.8% y 84.2 \pm 3.1% a una dosis de 5 mg/kg de canferitrina en relación con el grupo que solo recibió bradicinina (100%).

Finalmente, la canferitrina (5 mg/kg) ejerció una inhibición del $26.9\pm 3.1\%$ sobre la producción de NO y los niveles de IL-7A en un $32.2\pm 1.3\%$ en comparación con el grupo que solo recibió bradicinina, por lo que los autores creen que la inhibición en la producción de óxido nítrico e IL-7A está directamente relacionado con su actividad antiinflamatoria.

En 2020, Real-Sandoval y colaboradores evaluaron el efecto de la canferitrina (aislada de un suplemento alimenticio a base de *J. spicigera*) sobre marcadores bioquímicos, fisiológicos y de inflamación relacionados con la obesidad. En ratas macho Wistar que recibieron dieta alta en grasas los autores observaron una ganancia de peso de 312.56 ± 8.12 g en contraste con los 212.63 ± 4.26 g que ganaron las ratas que recibieron dieta estándar. Las ratas que recibieron canferitrina (250 µg/kg) junto a la dieta alta en grasas redujeron la ganancia de peso en un 9.64% (282.41 ± 18.01 g). En cuanto a la ingesta calórica, las ratas que recibieron dieta alta en grasas consumieron en promedio 113.47 ± 8.10 kcal/día, mientras que las ratas que recibieron dieta estándar consumieron 87.44 ± 1.97 kcal/día. Esto se debió a la densidad calórica de ambas dietas siendo de 3.1 kcal/g para la dieta estándar y 4.5 kcal/g para la dieta alta en grasas. A pesar de ello, la ingesta calórica en las ratas que recibieron dieta alta en grasas junto a la canferitrina se redujo en un 8.87% (103.40 ± 8.02 kcal/día). Posteriormente, los autores determinaron el índice relativo de tejido adiposo mediante la relación del peso total del tejido adiposo (tejido adiposo epididimario y retroperitoneal) entre el peso total de las ratas. El índice relativo de tejido adiposo en las ratas que recibieron dieta alta en grasas aumentó a 6.77 ± 0.46 de los 3.37 ± 0.13 presentados por las ratas que recibieron dieta estándar. Las ratas que recibieron dieta alta en grasas junto a la canferitrina (250 µg/kg) redujeron dicho índice en un 11.52% (5.99 ± 0.67).

Adicionalmente, los autores evaluaron el efecto de la canferitrina sobre los niveles sanguíneos de colesterol total, lipoproteína de alta (HDL) y baja densidad (LDL) y triglicéridos. Dichos parámetros se encontraban elevados en las ratas que recibieron solamente dieta alta en grasas como tratamiento. La adición de canferitrina (250 µg/kg) al tratamiento con dieta alta en grasas produjo un aumento en los niveles de triglicéridos (144.92 ± 7.56 mg/dL), colesterol total (65.09 ± 5.59 mg/dL) y HDL (31.00 ± 1.2 mg/dL), mientras que redujeron los niveles de LDL (12.60 ± 1.33 mg/dL).

Real-Sandoval et al. (2020) evaluaron la sensibilidad a insulina en las ratas mediante el ensayo de tolerancia a la glucosa en donde ninguno de los tratamientos presentó cambios

significativos. Finalmente, de manera adicional los autores evaluaron la expresión de genes relacionados con la inflamación como el gen *Tlr4* que se expresa en una amplia variedad de células hepáticas como respuesta a la estimulación con lipopolisacáridos y ácidos grasos activando vías proinflamatorias y la producción de citocinas, como TNF- α , IL-6. e IFN- γ . En las ratas que recibieron dieta alta en grasas, los niveles de expresión de los genes *Tlr4* y *Tnf- α* aumentaron 2.5 y 2.4 veces en contraste con los niveles expresados en las ratas que recibieron dieta estándar como tratamiento, mientras que en ratas que recibieron dieta alta en grasas junto a la canferitrina (250 μ g/kg) se redujeron 120.9 y 2.1 veces los niveles de expresión de los genes *Tlr4* y *Tnf- α* , respectivamente. La activación del inflamasoma NLRP3 está involucrada en la modulación de la inflamación y la fibrosis hepática por lo que los autores realizaron el análisis de expresión de los genes *Nlrp3*, *Caspasa-1*, *IL-1 β* e *IL-18* en el hígado. Las ratas que recibieron dieta alta en grasas presentaron un aumento de 1.81, 252.2, 6.33 y 6.71 en la expresión de los genes *Nlrp3*, *Caspasa 1*, *IL-18* e *IL-1 β* , respectivamente. El tratamiento con canferitrina junto a la dieta alta en grasas produjo una disminución significativa en la expresión de los genes *Nlrp3*, *IL-18* e *IL-1 β* , mientras que no se produjeron cambios en los niveles de expresión del gen *Caspasa-1*.

La expresión de los factores de transcripción que regulan el metabolismo lipídico se altera con la obesidad, es por eso que los autores evaluaron la expresión de los genes *Ppar- γ* y *Srebp-1c*. La regulación negativa de la proteína SREBP-1c suprime la lipogénesis y la regulación negativa de la proteína PPAR- γ evita la acumulación de lípidos. Los niveles relativos de transcripción de los genes *Ppar- γ* y *Srebp-1c* aumentaron 1.32 y 1.05 veces más en las ratas que recibieron dieta alta en grasas en comparación con el grupo de ratas que recibió dieta estándar, mientras que los niveles de expresión de dichos genes disminuyeron en las ratas que recibieron dieta alta en grasas junto a la canferitrina. Durante el proceso inflamatorio, la proteína PPAR- α promueve la inactivación de NF- κ B. En ratas que recibieron dieta alta en grasas, los niveles de expresión del gen *Ppar- α* que codifica para esta proteína disminuyeron 61.7 veces en contraste con las ratas que recibieron dieta estándar y dichos niveles aumentaron 1810.5 veces con el tratamiento de canferitrina. Por último, la proteína UCP-2 regula la producción de ROS mitocondriales (especies reactivas de oxígeno, por sus siglas en inglés), las cuales están involucradas en el desarrollo de procesos inflamatorios, y consecutivamente en la progresión de enfermedades inflamatorias crónicas como obesidad, diabetes mellitus tipo 2, entre otras. Los niveles de expresión del gen *Ucp2* aumentaron 5.7

veces en las ratas que recibieron dieta alta en grasas como tratamiento, mientras que en ratas que recibieron dieta alta en grasas junto a la canferitrina dichos niveles disminuyeron significativamente en relación con las ratas que solo recibieron dieta alta en grasas.

También la canferitrina ha sido evaluada a nivel *in silico* como agente antiinflamatorio, antioxidante y anticarcinogénico (Amalia et al., 2020). A este nivel de evaluación, valores de actividad potencial mayores a 0.7 indican que el compuesto que se está analizando tiene una elevada actividad experimental. La canferitrina presentó valores de actividad de 0.744, 0.905 y 0.930, respectivamente, para las actividades antes mencionadas. El fármaco rofecoxib (referencia) exhibió una actividad potencial antiinflamatoria y antiinflamatoria no esteroidea de 0.842 y 0.926. La canferitrina no presentó actividad como agente antiinflamatorio no esteroideo (0.486). También, se predijeron los parámetros relacionados con el proceso ADME (Absorción, Distribución, Metabolización y Eliminación), en donde la canferitrina exhibió una absorción en el proceso de digestión humana de 35.385%, mientras que el rofecoxib exhibió una absorción de 98.413%. A su vez, la canferitrina mostró una permeabilidad sobre células de cáncer colorrectal (línea celular Caco-2) de 0.225×10^{-6} cm/s que es bajo en contraste con el 1.289×10^{-6} cm/s presentado por el rofecoxib. El volumen de distribución presentado por la canferitrina fue de 1.487 log L/kg y rofecoxib presentó un valor de -0.619 log L/kg, por lo que la canferitrina presenta un elevado volumen de distribución; en el caso del volumen de distribución un valor de 0.45 log L/kg, se emplea como valor de referencia. En cuanto a la permeabilidad de la barrera hematoencefálica, la canferitrina presentó un valor de -1.823 log BB y el rofecoxib de 0.013 log BB. De acuerdo con este estudio si el log BB > 0.3 se considera que el compuesto es efectivo para atravesar la barrera hematoencefálica por lo que ninguno de los dos compuestos evaluados la atraviesa. A nivel metabólico, la canferitrina puede ser transformada por CYP1A1 dado que presentó potencial para ser sustrato de esta enzima con un valor de 0.809 y un potencial no inhibidor de CYP1A1 de 0.321. En cuanto al proceso de excreción, la canferitrina mostró un volumen total de aclaramiento de -0.102 log/mL/min/kg, más bajo que el presentado por rofecoxib (0.888 log/mL/min/kg), es decir, se excreta más rápido que la canferitrina. En cuanto a la afinidad de unión de la canferitrina a la enzima COX-2, este flavonoide presentó un valor de -8.7 kcal/mol contra -10.0 kcal/mol del rofecoxib, es decir, la canferitrina requiere más energía para unirse a la COX-2. Finalmente, para evaluar la toxicidad ejercida por la canferitrina en ratones se

calculó la dosis letal 50 (DL₅₀) comparándola con rofecoxib. La canferitrina mostró una DL₅₀ de 2.587 mol/kg mientras que el rofecoxib una DL₅₀ de 2.387 mol/kg.

5.1.8 Actividad antidiabética

En 2004, de Sousa y colaboradores evaluaron los efectos de la canferitrina sobre los niveles de glucosa en ratas macho Wistar sanas y diabéticas. La canferitrina (200 mg/kg) logró ejercer una disminución en los niveles de glucosa de ratas sanas a 4.5 ± 0.34 mM de los 5.9 ± 0.67 mM basales después de 1 h de administración. En ratas diabéticas la canferitrina a una dosis de 50 mg/kg redujo los niveles de glucosa a 23.5 ± 0.44 mM y 25.2 ± 0.43 mM después de 1 h y 2 h del tratamiento, en contraste con los niveles basales (27.1 ± 0.45 mM). La dosis de 100 mg/kg de canferitrina redujo los niveles de glucosa en ratas diabéticas de 30.2 ± 0.53 mM (basales) a 24.3 ± 0.19 mM, 24.0 ± 0.67 mM y 24.0 ± 0.72 mM tras 1 h, 2 h y 3 h del tratamiento, respectivamente. Finalmente, los autores realizaron el ensayo de tolerancia oral a la glucosa en ratas sanas. En las ratas que recibieron solamente glucosa (4 mg/kg) los niveles comenzaron a aumentar de los 30 a 90 min (8.8 ± 0.37 a 9.2 ± 0.3 mM) para después comenzar a disminuir presentando niveles de 7.9 ± 0.13 mM a los 180 min. El grupo de ratas que recibió glucosa (4 mg/kg) junto a canferitrina (100 mg/kg) presentó el mismo patrón en su curva que el presentado por los roedores que no recibieron ningún tratamiento (ni glucosa ni canferitrina). Las ratas que recibieron glucosa (4 mg/kg) junto a tolbutamida (100 mg/kg) registraron a los 30 min los niveles más elevados de glucosa (7.8 ± 0.35 mM) para después comenzar a disminuir y alcanzar los niveles significativamente más bajos a los 180 min (5.2 ± 0.29 mM) en contraste con los niveles basales (6.7 ± 0.19 mM). De acuerdo con estos resultados, este flavonoide como principio activo puede ejercer una actividad antidiabética significativa.

Jorge et al. (2004) evaluaron nuevamente los efectos hipoglucemiantes de la canferitrina sobre ratas Wistar diabéticas y sanas. Las ratas diabéticas que recibieron canferitrina (100 mg/kg) lograron reducir sus niveles séricos de glucosa a 24.3 ± 0.5 mM, 24.0 ± 0.7 mM, 23.7 ± 0.7 mM y 24.0 ± 0.4 mM después de 1 h, 2 h, 3 h y 6 h después del tratamiento, respectivamente, en contraste con sus niveles basales (30.1 ± 0.5 mM). Sin embargo, los niveles basales de glucosa se recuperaron pasadas 24 h del tratamiento con canferitrina. La segunda evaluación consistió en cuantificar los niveles de glucosa en orina de ratas sanas y diabéticas tratadas con canferitrina (100 mg/kg), pero no se observaron

cambios. El tercer ensayo consistió en la cuantificación de la captación de un análogo de glucosa marcada con carbono-14 ([U-¹⁴C]-2-deoxi-D-glucosa) por el músculo sóleo de ratas sanas tratadas con canferitrina o insulina. La cuantificación del análogo de glucosa fue realizada mediante los niveles de reactividad, expresados como la relación tejido/medio. La insulina ejerció una captación del análogo de glucosa del 42% (1.45±0.09 radio tejido/medio) y 50% (1.53±0.01 radio tejido/medio) a concentraciones de 7x10⁻³ mM y 7x10⁻² mM, respectivamente. La canferitrina mostró un porcentaje de captación del análogo de glucosa del 43% (1.46±0.04 radio tejido/medio) y 46% (1.49±0.04 radio tejido/medio) a concentraciones de 104 mM y 208 mM, respectivamente, en contraste con el músculo sóleo de ratas que no recibió ningún tratamiento (1.02±0.03 radio tejido/medio). Finalmente, los autores cuantificaron el efecto de la canferitrina sobre la incorporación de leucina marcada con carbono-14 en proteínas del músculo sóleo de ratas macho Wistar sanas y diabéticas. Sin embargo, la canferitrina no modificó la síntesis de proteínas musculares, ni en el músculo normal ni en el diabético. Los resultados obtenidos por Jorge y colaboradores (2004) demuestran que la canferitrina ejerce efectos similares a los presentados por la insulina demostrados por la disminución *in vivo* a corto plazo de los niveles de glucosa en sangre (1 a 6 h) y la estimulación de la captación de glucosa por el músculo sóleo en un porcentaje similar al ejercido por la insulina, a pesar de que no ejerció ningún efecto estimulante sobre la síntesis de proteínas.

Cazarolli y colaboradores (2013) evaluaron nuevamente el efecto *in vitro* y el mecanismo de acción de la canferitrina sobre la captación de glucosa en el músculo sóleo de ratas macho Wistar sanas y diabéticas. La canferitrina en ratas sanas estimuló la captación del análogo de glucosa expresada como la relación tejido/medio en un 22% (10 nM), 10% (100 nM) y 11% (1 000 nM). El siguiente ensayo consistió en evaluar el efecto de la canferitrina e insulina sobre la captación de glucosa marcada con carbono-14 en ratas sanas en presencia de un inhibidor del receptor a insulina (HNMPA(AM)₃). Los efectos de la canferitrina (10 nM) e insulina (10 nM) fueron bloqueados por completo en presencia de este inhibidor. Posteriormente, los autores evaluaron el efecto de la canferitrina sobre la captación del análogo de glucosa en ratas sanas en presencia de un inhibidor inespecífico de fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K) (wortmanina), un inhibidor de la proteína cinasa C (RO318220), un agente despolimerizante de microtúbulos (colchicina) y un inhibidor de proteínas cinasas activadas por mitógenos p38 (SB239063). La captación del análogo de

glucosa ejercida por la canferitrina (10 nM) disminuyó en presencia de wortmanina, colchicina, SB239063 y RO318220, es decir, en presencia de estos agentes se bloquearon totalmente los efectos hipoglucemiantes ejercidos por la canferitrina. La evaluación de la interacción de este flavonoide en presencia de estos inhibidores se realizó debido a que la captación de insulina está mediada por PI3K y diferentes proteínas cinasas incluida la C. Por otra parte, la colchicina se evaluó debido a que la ruptura de microtúbulos inhibe la translocación de GLUT4 y evita la captación de glucosa por los adipocitos. Además, las proteínas cinasas activadas por mitógenos p38 (MAPK p38) están involucradas en la activación de GLUT4. Después, los autores cuantificaron el contenido de glucógeno en el músculo sóleo de ratas diabéticas tratadas con canferitrina o insulina. El contenido de glucógeno en el músculo soleo de ratas diabéticas aumentó en un 228% al ser tratadas con canferitrina (100 mg/kg) y 437% al ser tratadas con insulina (0.5 UI). Adicionalmente, Cazarolli y colaboradores (2013) evaluaron el efecto de la canferitrina sobre la síntesis de glucógeno en el músculo sóleo de ratas sanas. La canferitrina ejerció un aumento significativo en la síntesis de glucógeno a una concentración de 0.1 nM, pero a concentraciones de 10 nM y 100 nM disminuyó su síntesis. Finalmente, con la finalidad de determinar si el efecto de la canferitrina sobre la captación de glucosa implica la síntesis de proteínas y/o su acción sobre el núcleo celular, los autores evaluaron la incorporación de timidina marcada con carbono-14 en el músculo sóleo de ratas sanas en presencia de un inhibidor de la síntesis de proteínas (cicloheximida) y un inhibidor selectivo de las MAPK cinasas MEK1 y MEK2 (D98059). La canferitrina (10 nM) logró incrementar la incorporación de timidina en el músculo sóleo solo en ausencia de la cicloheximida y D98059.

En 2014 Da Silva y colaboradores sometieron a evaluación la actividad hipoglucemiante de la canferitrina en ratones macho Swiss sanos y diabéticos posterior a un ayuno previo de 4 h. En ratones sanos la canferitrina (4 mg/kg) logró reducir los niveles basales de glucosa tras 1 h y 2 h del tratamiento, pero no de manera significativa en comparación con los niveles de glucosa presentados por los ratones que no recibieron ningún tratamiento. En ratones diabéticos, la canferitrina (4 mg/kg) logró reducir en un 60% los niveles de glucosa pasadas 2 h del tratamiento. Posteriormente, los autores evaluaron los efectos hipoglucemiantes de la canferitrina en ratones sanos y diabéticos sometidos a un ayuno de 8 h previo al tratamiento con este flavonoide. En ratones sanos no se observaron cambios en los niveles de glucosa ejercidos por la canferitrina (4 mg/kg), mientras que, en

ratones diabéticos, la canferitrina mostró una reducción significativa en los niveles de glucosa tras 2 h del tratamiento en comparación con los niveles basales presentados en ratones diabéticos que solo recibieron solución salina como tratamiento.

Después, Da Silva et al. (2014) evaluaron el efecto de la canferitrina sobre la actividad de la fosfofructocinasa en el músculo esquelético, hígado y tejido adiposo epididimal de ratones macho Swiss diabéticos y sanos. La fosfofructocinasa cataliza la conversión de fructosa-6-fosfato+ ATP en fructosa-1,6-difosfato+ ADP, reacción fundamental en el metabolismo de la glucosa. Los autores cuantificaron la actividad la fosfofructocinasa de manera indirecta, dado que el ADP resultante de la conversión de la fructosa-6-fosfato a fructosa-1,6-difosfato se convierte en AMP+NADH y el NADH resultante es capaz de reducir una sonda incolora (compuesto) produciendo otro compuesto colorido que se cuantifica espectrofotométricamente a 450 nm. La actividad enzimática de la fosfofructocinasa disminuyó en ratones diabéticos que no recibieron ningún tratamiento en un 66%, 58% y 68% en el músculo esquelético, el hígado y el tejido adiposo, respectivamente. La canferitrina (4 mg/kg) logró aumentar significativamente la actividad de la fosfofructocinasa en el hígado y tejido adiposo epididimal de ratones diabéticos, mientras que solo logró un leve aumento de la actividad de dicha enzima en el músculo esquelético. En células precursoras de fibras musculares, conocidas como mioblastos (línea celular C2C12), los autores cuantificaron la actividad enzimática de la fosfofructocinasa, hexocinasa, piruvato cinasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. La canferitrina logró aumentar la actividad de dichas enzimas a una concentración de 10 μ M, mientras que una concentración de 100 μ M de canferitrina solo se logró aumentar la actividad de la hexocinasa, pero, al emplear una concentración de 1 000 μ M la actividad de la fosfofructocinasa disminuyó significativamente en comparación con la actividad presentada en mioblastos que no recibieron ningún tratamiento. Finalmente, los autores evaluaron la absorción de glucosa, producción de lactato y el contenido intracelular de ATP en mioblastos tratados con canferitrina. El consumo relativo de glucosa y la producción de lactato aumentaron significativamente en los mioblastos tratados con 10 μ M de canferitrina en contraste con los mioblastos control. El contenido intracelular de ATP aumentó significativamente en los mioblastos tratados con todas las concentraciones evaluadas de canferitrina (10, 100 y 1 000 μ M) en contraste con el grupo control. Con estos resultados, los autores demostraron la actividad estimulante de la canferitrina sobre enzimas

involucradas en el metabolismo de la glucosa y nuevamente se atribuye una relación estructura-actividad biológica.

Cui y colaboradores (2020) evaluaron el efecto de la canferitrina sobre la captación de glucosa en adipocitos murinos. La canferitrina a 4, 33 y 100 μM redujo significativamente el contenido libre de glucosa en comparación con el grupo control, sin embargo, ninguna concentración ejerció un efecto similar al de la rosiglitazona (9.52 μM) empleada como control positivo. Cabe destacar que a una concentración de 11 μM de canferitrina se presentó una concentración libre de glucosa significativamente mayor a la presentada por la rosiglitazona (9.52 μM).

Pereira y colaboradores (2011) evaluaron el efecto *in vitro* de la canferitrina sobre la actividad de la maltasa, sacarasa y lactasa de homogeneizados duodenales de ratas macho Wistar. Los inhibidores de la α -glucosidasa son fármacos empleados en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo II (DMT2), prediabetes e intolerancia a la glucosa, su mecanismo de acción es a través de la inhibición de la absorción de carbohidratos en el intestino delgado al evitar la conversión de los carbohidratos complejos a simples (Akmal et al., 2020). La canferitrina ejerció un efecto inhibitor máximo del 23% sobre la maltasa (0.056 mM), mientras que la acarbosa (700 mM) disminuyó la actividad de la maltasa en un 50%. La actividad de la sacarasa (0.056 mM) en presencia de la canferitrina disminuyó de manera similar a la actividad de la maltasa. Por otra parte, la canferitrina no ejerció ningún efecto sobre la actividad de la lactasa (0.056 mM).

El efecto de la canferitrina sobre la actividad de la α -glucosidasa de levadura fue evaluado por Choi et al. (2012) empleando como sustrato al *p*-nitrofenil- α -D-glucopiranosido (pNPG) el cual se hidroliza produciendo el *p*-nitrofenol por acción de la α -glucosidasa. La canferitrina mostró una actividad moderada con una $\text{CI}_{50} > 86.5 \mu\text{M}$ sobre la α -glucosidasa de levadura. Adicionalmente, los autores evaluaron el efecto de este flavonoide sobre la α -glucosidasa de mamífero la cual prepararon a partir de polvos de acetona intestinal de rata incubados en una solución amortiguadora de fosfato de potasio. La canferitrina mostró una actividad moderada sobre la actividad de la α -glucosidasa de mamífero con una $\text{CI}_{50} = 286.0 \mu\text{M}$. Finalmente, los autores cuantificaron el efecto de la canferitrina sobre la α -amilasa pancreática de cerdo, sin embargo, este flavonoide no ejerció ninguna actividad sobre esta enzima.

Zhao y colaboradores (2016) evaluaron el efecto de la canferitrina sobre la α -glucosidasa, dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV) y la enzima conocida como proteína-tirosina fosfatasa 1B (PTP1B). DPP-IV cataliza la escisión de péptidos en el extremo N-terminal de sustratos peptídicos que contienen en promedio 30 residuos de aminoácidos y que tienen un residuo de prolina o alanina en la penúltima posición, sus sustratos incluyen quimiocinas (quimiocina ligando 5), neuropéptidos (neuropéptido Y y dipéptido péptido pancreático YY) y hormonas (péptido similar al glucagón tipo 1 y péptido insulino-trópico dependiente de la glucosa), los inhibidores de esta enzima se usan para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo II (DMT2) (Nadkarni et al., 2014). La PTP1B se ha relacionado con el metabolismo de la insulina, se encarga de la defosforilación de residuos de fosfotirosina, que es la forma activada del receptor de insulina interrumpiendo la vía de señalización de esta hormona (Paredes-Anaya et al., 2014). La canferitrina exhibió una actividad inhibitoria expresada como concentración inhibitoria 50 (CI_{50}) $>100 \mu\text{M}$ sobre DPP-IV proveniente de riñón porcino, mientras que la linagliptina (fármaco de referencia) que fue empleada como control positivo presentó una $CI_{50} = 0.14 \pm 0.03 \mu\text{M}$. La actividad de la PTP1B humana recombinante fue inhibida por la canferitrina mostrando una $CI_{50} >100 \mu\text{M}$, mientras que el ácido ursólico empleado como control positivo ejerció una $CI_{50} = 1.21 \pm 0.18 \mu\text{M}$. La actividad de la α -glucosidasa (sin especificar su origen) en presencia de canferitrina se inhibió presentando una $CI_{50} > 200 \mu\text{M}$, mientras que la acarbosa (control positivo) presentó una $CI_{50} = 175.84 \pm 1.69 \mu\text{M}$. Los autores concluyeron que la canferitrina no ejerció ninguna actividad inhibitoria sobre estas tres enzimas.

Los productos finales de glicosilación avanzada y su receptor desempeñan papeles importantes en la nefropatía diabética, por esta razón Jiang y colaboradores (2018) evaluaron el efecto de la canferitrina sobre la acción ejercida por los productos finales de glicosilación avanzada en células mesangiales glomerulares. Los autores sometieron a evaluación los efectos de la canferitrina sobre la viabilidad celular de las células mesangiales glomerulares expuestas a los productos finales de glicosilación avanzada. El porcentaje de viabilidad celular disminuyó en las células mesangiales glomerulares expuestas a los productos finales de glicosilación avanzada ($160 \mu\text{g/mL}$) y que no recibieron tratamiento alguno. La canferitrina ($10, 20$ y $35 \mu\text{M}$) produjo un aumento en la tasa de supervivencia de las células mesangiales glomerulares en presencia de los productos finales de glicosilación avanzada. Además, los autores analizaron los cambios morfológicos producidos en las

células mesangiales glomerulares por microscopía de fluorescencia y observaron que la canferitrina ejerce un efecto protector en las células mesangiales glomerulares dañadas por los productos finales de glicosilación avanzada. La actividad enzimática de la superóxido dismutasa (SOD) y malondialdehído (MDA) fue cuantificada en los sobrenadantes de las células mesangiales glomerulares lisadas. En el sobrenadante de las células lisadas, previamente tratadas con los productos finales de glicosilación avanzada y sin canferitrina, se produjo una reducción en la actividad de SOD a 0.65 ± 0.006 U/mL de los 1.29 ± 0.067 U/mL presentados por las células control, mientras que la actividad de MDA aumentó a 0.89 ± 0.009 nmol/mL de los 0.51 ± 0.006 nmol/mL presentados por el grupo de células control. La canferitrina logró aumentar la actividad de la SOD a 0.81 ± 0.007 U/mL (10 μ M), 0.93 ± 0.021 U/mL (20 μ M) y 0.76 ± 0.005 U/mL (35 μ M) en células mesangiales glomerulares expuestas a los productos finales de glicosilación avanzada (160 μ g/mL). La actividad de MDA disminuyó en presencia de canferitrina a valores de 0.78 ± 0.020 nmol/mL (10 μ M), 0.58 ± 0.012 nmol/mL (20 μ M) y 0.69 ± 0.007 nmol/mL (35 μ M).

Posteriormente, Jiang y colaboradores (2018) analizaron los niveles de expresión del factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF- β 1) y colágeno 4 en células mesangiales glomerulares expuestas a los productos finales de glicosilación avanzada. Los niveles de expresión de ambos factores se encontraban elevados en las células mesangiales glomerulares expuestas a los productos finales de glicosilación avanzada que no recibieron ningún tratamiento. La canferitrina a concentraciones de 20 μ M y 35 μ M redujo significativamente los niveles de expresión de TGF- β 1 y colágeno 4, mientras que la concentración de 10 μ M solo redujo significativamente los niveles de expresión del colágeno 4. Adicionalmente, los autores analizaron el efecto de la canferitrina sobre la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en células mesangiales glomerulares expuestas a los productos finales de glicosilación avanzada. Las micrografías de fluorescencia mostraron un aumento en la fluorescencia de células que fueron tratadas con los productos finales de glicosilación avanzada y que no recibieron tratamiento alguno, dicha fluorescencia se redujo en las células que fueron tratadas con canferitrina lo cual se puede interpretar como la disminución en la producción de ROS. Posteriormente, los autores evaluaron si la canferitrina ejercía algún efecto sobre la apoptosis inducida por los productos finales de glicosilación avanzada en las células mesangiales a través de la vía apoptótica mitocondrial. El potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi$ m) se redujo de 112.9 ± 5.0 a 72.2 ± 10.1 en las células tratadas

con los productos finales de glicosilación avanzada en ausencia de canferitrina, mientras que en presencia de canferitrina (20 μ M) el potencial de membrana mitocondrial mostró una recuperación a 99.9 ± 5.1 .

La morfología apoptótica de las células mesangiales glomerulares fue observada mediante tinción Hoechst 33258. Los autores observaron una fluorescencia azul uniforme en el núcleo de las células control, mientras que en las células tratadas con productos finales de glicosilación avanzada los núcleos mostraron una tinción densa con fluorescencia granular que indicaba un aumento en la pinocitosis. La canferitrina ejerció una recuperación parcial de la fluorescencia uniforme. Además, al analizar la tasa de apoptosis de las células tratadas con productos finales de glicosilación avanzada, los autores pudieron observar que la canferitrina (20 μ M y 35 μ M) redujo significativamente dicha apoptosis, por lo que los autores afirman que la canferitrina previene los cambios morfológicos asociados con la apoptosis en los núcleos de células mesangiales glomerulares y la tasa de apoptosis inducida por los productos finales de glicosilación avanzada. Finalmente, Jiang y colaboradores (2018) analizaron los efectos de la canferitrina sobre la expresión de proteínas apoptóticas en células mesangiales glomerulares tratadas con los productos finales de glicosilación avanzada. La canferitrina a 20 μ M redujo significativamente los niveles de expresión aumentados de RAGE, Bax, Bcl-xL, citocromo C y, las formas escindidas de PARP, caspasa 3 y 9, mientras que a 10 μ M la canferitrina no logró reducir los niveles de expresión de Bax y a 35 μ M la canferitrina no logró reducir los niveles de expresión del citocromo C y la forma escindida de caspasa 3. Los autores con todos estos resultados sugieren que la canferitrina podría mejorar el daño glomerular inducido por la nefropatía diabética, sin embargo, esto no permite hacer conclusiones respecto a lo que podría presentarse en ensayos *in vivo*.

5.1.9 Actividad antioxidante

De Sousa et al. (2004) evaluaron la actividad antioxidante de la canferitrina mediante la cuantificación de la actividad enzimática de la mieloperoxidasa (MPO) aislada de pulmones de ratas macho Wistar. La canferitrina inhibió la actividad de la MPO presentando una $k_{0.5} = 86.0\pm 9.9$ μ M. Además, los autores cuantificaron el efecto de la canferitrina sobre la peroxidación de lípidos en microsomas hepáticos obtenidos del hígado de ratas macho Wistar y liposomas fabricados a partir de L- α -fosfatidilcolina de yema de huevo y L- α -fosfatidilcolina junto a fosfatidilinositol o fosfatidiletanolamina de soya mediante la inhibición en la producción del radical ascorbilo e hidroxilo. La canferitrina logró inhibir la peroxidación

de lípidos inhibiendo la producción del radical ascorbilo con una $CI_{50} = 320.0 \pm 14.1 \mu\text{M}$, $223.0 \pm 8.3 \mu\text{M}$ y $112.0 \pm 8.8 \mu\text{M}$ en microsomas hepáticos, liposomas de L- α -fosfatidilcolina y liposomas de L- α -fosfatidilcolina junto a fosfatidilinositol o fosfatidiletanolamina, respectivamente. En microsomas hepáticos, la canferitrina logró inhibir la producción del radical hidroxilo con una $CI_{50} = 85.0 \pm 3.5 \mu\text{M}$. La quercetina se empleó como control positivo y mostró una $CI_{50} = 125 \pm 5.0 \mu\text{M}$, $80 \pm 5.7 \mu\text{M}$ y $80 \pm 6.0 \mu\text{M}$ sobre la producción del radical ascorbilo en microsomas hepáticos, liposomas de L- α -fosfatidilcolina y liposomas de L- α -fosfatidilcolina junto a fosfatidilinositol o fosfatidiletanolamina, respectivamente. La canferitrina parece ser 2 a 3 veces menos potente que la quercetina y el potencial protector que ejerce es dependiente de la constitución de la membrana lipídica.

El efecto antioxidante ejercido por la canferitrina fue evaluado nuevamente por Velloso y colaboradores en 2015 realizando diversos ensayos *ex vivo* e *in vitro*. En este trabajo los autores también evaluaron otros dos flavonoides que incluyeron a afzelina y pteroginósido. Los ensayos *ex vivo* incluyeron el ensayo de eliminación de radicales aniónicos superóxido, eliminación de ácido hipocloroso y cloraminas de taurina. La canferitrina logró eliminar la producción del radical superóxido en un 22% a una concentración de 0.349 mM [afzelina con 30% (0.231 mM) y pteroginósido con 32% (0.349 mM)], mientras que la producción de cloraminas de taurina se redujo en un 11% a una concentración de 0.415 mM [afzelina con 37% (0.750 mM) y pteroginósido con 24% (0.401 mM)]. Además, la canferitrina logró inhibir la producción de ácido hipocloroso en un 50% ($CI_{50} = 0.0015 \text{ mM}$), mientras que la afzelina presentó una $CI_{50} = 0.0011$ y el pteroginósido una $CI_{50} = 0.0008 \text{ mM}$. Los ensayos *in vitro* incluyeron el daño a glóbulos rojos por interacción con el radical 2,2'-azobis(2-metilpropionamida) dihidroclorado (AAPH) y/o ácido hipocloroso y la generación de cloraminas de taurina en neutrófilos. La canferitrina junto con los otros dos flavonoides, resultaron ser agentes hemolíticos capaces de reforzar el sistema de transporte de oxígeno a través de los glóbulos rojos debido a la inhibición en la actividad del radical AAPH. La canferitrina ejerció la inhibición de la actividad del radical AAPH el cual está involucrado en la promoción de la hemólisis con una $CI_{50} = 0.0063 \text{ mM}$ [afzelina $CI_{50} = 0.0035 \text{ mM}$ y pteroginósido $CI_{50} = 0.0022 \text{ mM}$]. En cuanto a la acción de la canferitrina sobre la producción de cloraminas de taurina en neutrófilos, este flavonoide logró eliminar el 50% de cloraminas de taurina presentando una $CI_{50} = 0.017 \text{ mM}$ [afzelina $CI_{50} = 0.045 \text{ mM}$ y pteroginósido $CI_{50} = 0.017 \text{ mM}$], mientras que la quercetina (control positivo utilizado únicamente en este ensayo)

lo logró a una concentración más baja ($CI_{50} = 0.007$ mM). Finalmente, para descartar que los efectos antioxidantes de estos flavonoides no fueran atribuibles a una acción citotóxica, los autores llevaron a cabo ensayos de viabilidad celular con azul tripán en donde pudieron observar que la citotoxicidad inducida por estos flavonoides era dependiente de la concentración. Estos flavonoides resultaron ser citotóxicos para neutrófilos en el siguiente orden: canferitrina > pteroginósido > afzelina. En general, los autores afirman que el efecto antioxidante de estos flavonoides es diferente dependiendo del tipo de agente oxidante al que se enfrenten y que no siempre están exentos de presentar efectos secundarios, sin embargo, esto no debe de ser una limitante en su uso.

5.1.10 Actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana ejercida por la canferitrina (0.03 $\mu\text{g/mL}$ a 500 $\mu\text{g/mL}$) sobre bacterias Gram positivas y negativas fue evaluada por Dalmarco et al. (2010) mediante el método de microdilución en medio líquido con la finalidad de determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB). Con los resultados enlistados en la Tabla 16, los autores pudieron concluir que la canferitrina ejerció actividad bacteriostática sobre *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Salmonella typhimurium* y *Shigella flexinerii* y, actividad bactericida sobre *Enterococcus faecalis*.

Tabla 16. CMI y CMB ejercida por la canferitrina sobre distintas bacterias Gram-positivas y negativas por Dalmarco et al. (2010)

Tipo de microorganismo	CMI ($\mu\text{g/mL}$)		CMB ($\mu\text{g/mL}$)	
	Canferitrina	Gentamicina	Canferitrina	Gentamicina
Gram positivo				
<i>Bacillus cereus</i>	8.5	0.2	34	0.4
<i>Enterococcus faecalis</i>	3.9	6.0	7.4	12.0
<i>Listeria monocytogenes</i>	300	0.2	900	0.2
<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a metilicina	200	> 100	800	> 100
<i>Staphylococcus aureus</i>	200	1.0	800	4.0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100	0.1	400	0.2
Gram negativo				
<i>Acinetobacter baumannii</i>	500	6.0	> 1 000	24.0
<i>Escherichia coli</i>	500	6.0	> 1 000	12.0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	500	1.0	> 1 000	4.0
<i>Providencia alcalifaciens</i>	500	2.0	> 1 000	8.0

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	500	1.0	> 1 000	4.0
<i>Proteus mirabilis</i>	200	12.0	> 1 000	24.0
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	100	6.0	> 1 000	12.0
<i>Salmonella typhimurium</i>	100	6.0	800	12.0
<i>Shigella flexinerii</i>	100	3.1	800	3.1

Tatsimo y colaboradores (2012) también evaluaron el efecto de la canferitrina sobre bacterias y levaduras determinando la CMI. La CMI se determinó espectrofotométricamente mediante la reducción del colorante violeta de idonitrotetrazolio, cuya reducción es mediada por los microorganismos evaluados produciendo un cambio de color de amarillo a rosa. Adicionalmente, los autores determinaron la concentración mínima microbicida (CMM) definida como la concentración de canferitrina a la que no se produjo crecimiento alguno. Los resultados mostrados en la Tabla 17, demuestran el potencial de la canferitrina como agente antimicrobiano. La nistatina fue empleada como fármaco de referencia para levaduras y el ciprofloxacino como fármaco de referencia para bacterias.

Tabla 17. CMI y CMM ejercida por la canferitrina sobre distintas bacterias y levaduras por Tatsimo et al. (2012)

Tipo de microorganismo		CMI (µg/mL)			CMM (µg/mL)		
		K ^a	C ^b	N ^c	K ^a	C ^b	N ^c
Bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i>	32	2	NA	32	2	NA
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32	2	NA	64	2	NA
	<i>Salmonella typhi</i>	32	0.5	NA	32	1	NA
Levadura	<i>Candida albicans</i>	32	NA	2	64	NA	2
	<i>Cryptococcus neoformans</i>	16	NA	0.5	16	NA	0.5
	<i>Candida parapsilosis</i>	16	NA	1	16	NA	1

K^a: canferitrina; C^b: ciprofloxacino; N^c: nistatina; NA: no aplica.

5.1.11 Actividad sobre la artritis reumatoide

La artritis reumatoide es un trastorno autoinmune de las articulaciones caracterizado por artritis inflamatoria y afectación extraarticular. Por lo general, involucra múltiples articulaciones de ambas manos con rigidez matutina que puede durar varias horas (Chauhan et al., 2020). En 2019, Wang y colaboradores evaluaron el efecto de la canferitrina sobre

sinoviocitos similares a fibroblastos provenientes de artritis reumatoide (línea celular MH7A). La activación de los sinoviocitos similares a fibroblastos se asocia a la patología de la enfermedad. Los autores evaluaron los efectos de la canferitrina sobre sinoviocitos provenientes de células sanas sobre los cuales este flavonoide no mostró ningún efecto sobre su viabilidad celular. Posteriormente, los autores evaluaron los efectos apoptóticos de la canferitrina sobre los sinoviocitos provenientes de artritis reumatoide. La canferitrina (5, 10 y 20 μM) ejerció un incremento sobre la tasa de apoptosis de sinoviocitos provenientes de artritis reumatoide en contraste con la tasa de apoptosis de sinoviocitos que no recibieron ningún tratamiento.

Además, la modulación en la expresión de la proteína proapoptótica Bax y antiapoptótica Bcl-2 mediada por la canferitrina fue evaluada por estos autores en los sinoviocitos. Los niveles de expresión de Bax aumentaban significativamente a medida que aumentaban las concentraciones de canferitrina (5, 10 y 20 μM) en comparación con los niveles de expresión de Bax en sinoviocitos de artritis reumatoide que no recibieron tratamiento, mientras que los niveles de expresión de Bcl-2 disminuyeron significativamente a medida que aumentaban las concentraciones de canferitrina (5, 10 y 20 μM). Por otra parte, los autores evaluaron los niveles de expresión a nivel génico (mRNA) y proteico de citocinas proinflamatorias que incluyeron a la IL-1 β , IL-6 y TNF- α . Los niveles de expresión a nivel génico y proteico de dichas citocinas, disminuyó con un patrón dependiente de la concentración en los sinoviocitos de artritis reumatoide expuestos a canferitrina (5, 10 y 20 μM), en contraste con los sinoviocitos de artritis reumatoide que no recibieron ningún tratamiento. Adicionalmente, los autores evaluaron los niveles de metaloproteinasa 1 (MMP-1) y metaloproteinasa 3 (MMP-3) en sinoviocitos provenientes de artritis reumatoide. En esta patología los niveles de MMP-1 y MMP-3 suelen estar elevados. Los niveles de expresión de estas dos metaloproteinasas a nivel génico (mRNA) así como su actividad proteica, disminuyeron con un patrón dependiente de la concentración de canferitrina (5, 10 y 20 μM).

Los autores también evaluaron los niveles de expresión de I κ B α , I κ B α fosforilada (pI κ B α), p65 y p65 fosforilado (p-p65) en sinoviocitos de artritis reumatoide expuestos a canferitrina. El factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF- κ B) es un mediador principal de la inflamación en la artritis reumatoide que induce la producción de citocinas proinflamatorias como TNF- α , IL-1 e IL-6 en monocitos/macrófagos. El factor nuclear de transcripción p65 (también conocido como RelA)

pertenece a la familia del factor nuclear κ B que median la transcripción de genes diana al unirse a elementos específicos del DNA como el potenciador κ B, así como a varios hetero y homo dímeros. Generalmente, las proteínas NF- κ B son secuestradas en el citoplasma por proteínas inhibitoras como las de la familia de cinasas I κ B de las cuales I κ B α es la más estudiada. El mecanismo principal para la activación canónica de NF- κ B es la degradación inducible de I κ B α desencadenada a través de su fosforilación específica de sitio por un complejo de cinasas I κ B (IKK) (Liu et al., 2017). Los niveles relativos de pI κ B α y p-p65 disminuyeron significativamente a todas las concentraciones de canferitrina evaluadas (5, 10 y 20 μ M), en contraste con los sinoviocitos de artritis reumatoide que no recibieron ningún tratamiento, mientras que no se presentaron cambios sobre los niveles relativos de p65 e I κ B α en los sinoviocitos tratadas con canferitrina. Además, los niveles nucleares de p65 disminuyeron a todas las concentraciones de canferitrina evaluadas. Con estos resultados, los autores confirmaron que la canferitrina inhibe la activación de la vía NF- κ B al evitar la fosforilación de p65 e I κ B α .

La activación de la vía Akt/mTOR juega un papel crucial promoviendo la proliferación celular y la producción de citocinas inflamatorias, MMP-1 y MMP-3. Los niveles de p-Akt y p-mTOR disminuyeron al aumentar las concentraciones de canferitrina (5, 10 y 20 μ M) a las que fueron expuestos los sinoviocitos provenientes de artritis reumatoide, mientras que los niveles de Akt y mTOR se mantuvieron sin cambios a todas las concentraciones de canferitrina evaluadas. En este caso, de igual manera, la canferitrina logró inhibir la activación de la vía Akt/mTOR al evitar la fosforilación de Akt y mTOR.

Finalmente, con la finalidad de evaluar los efectos *in vivo* de la canferitrina sobre la artritis reumatoide, Wang y colaboradores indujeron dicha enfermedad en ratones hembra DBA/1J por administración de colágeno bovino tipo II en combinación con adyuvante de Freud. La canferitrina (10 y 20 mg/kg) logró disminuir la severidad de la artritis en los ratones en comparación con los ratones que no recibieron ningún tratamiento. La severidad de la artritis fue evaluada por los autores mediante el aumento en el daño de la pata trasera de los ratones en una escala de 0 a 3 (0: sin inflamación, 1: eritema e inflamación leve, 2: eritema e inflamación media y 3: inflamación y enrojecimiento grave). Asimismo, los autores evaluaron los niveles séricos de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6 y TNF- α) los cuales se encontraban elevados en los ratones con artritis reumatoide que no habían recibido ningún tratamiento. La canferitrina (10 y 20 mg/kg) logró reducir significativamente los niveles de

dichas citocinas proinflamatorias. Los autores concluyen después de todos estos experimentos que la canferitrina puede ser empleado para el tratamiento de la artritis reumatoide.

5.1.12 Actividad sobre las enzimas P450

La actividad inhibitoria de la canferitrina sobre isoformas de citocromo P450 (CYP450) de microsomas hepáticos humanos fue evaluada por Zhang y colaboradores (2019). La canferitrina no ejerció ningún efecto sobre las isoformas CYP2A6, 2E1, 2D6, 2C19 y 2C8 a una concentración de 100 μM , mientras que este flavonoide logró inhibir significativamente la actividad de CYP1A2, 3A4 y 2C9 a 21.8%, 12.7% y 12.9%, respectivamente, en comparación con las isoformas que no recibieron tratamiento con canferitrina (100%). El estudio de inhibición enzimática mostró que las isoformas CYP1A2, 3A4 y 2C9 presentaron una CI_{50} de 20.56, 13.87 y 14.62 μM , respectivamente.

Los gráficos de Lineweaver-Burk sobre la cinética de inhibición mostraron que la inhibición de CYP1A2 y 2C9 es de tipo competitiva y la de 3A4 no competitiva. Los valores obtenidos de constante de inhibición (k_i) inducidos por la canferitrina fueron de 10.24, 7.11 y 7.58 μM para CYP1A2, 3A4 y 2C9, respectivamente.

Los valores de k_i/k_{inact} para CYP3A4 fueron de 10.85/0.036 $\text{min}/\mu\text{M}$. El valor de k_{inact} significa que aproximadamente el 3.6% de CYP3A4 se inactiva cada minuto cuando se incubaba a una concentración saturada de canferitrina. Los autores concluyen que la canferitrina no debería coadministrarse con fármacos que sean metabolizados por las isoformas CYP3A4, CYP1A2 y CYP2C9. Además, se requieren estudios clínicos para evaluar esta interacción *in vitro*.

5.1.13 Actividad sobre el virus de la hepatitis C

El virus de la hepatitis C se une a sus receptores en los hepatocitos, los cuales incluyen al receptor eliminador de receptores de lipoproteínas de alta densidad de clase B tipo I, la tetraspanina CD81, la proteína de unión estrecha claudina-1 y la ocludina. Tras unirse a los receptores antes mencionados, el virus se internaliza y libera su nucleocápside en el citoplasma para proceder a su replicación, la cual es catalizada por la proteína NS5B (Li et al., 2015). La proteína no estructural 3 (NS3) del virus de la hepatitis C contiene una serina proteasa y una RNA helicasa, la proteasa escinde la poliproteína codificada por el genoma e inactiva las proteínas celulares necesarias para la inmunidad innata (Raney et al., 2010).

Yang y colaboradores (2017) evaluaron el potencial de la canferitrina para inhibir la actividad de NS3, para ello un fragmento de DNA que codifica para la serina proteasa NS3/4A fue sintetizado, amplificada por PCR, clonado en los sitios de restricción NdeI y BamHI del vector de expresión pET28a y transfectado en *Escherichia coli* en la que se indujo la expresión de NS3. La actividad de NS3 se evaluó mediante la técnica FRET, que se traduce como resonancia de fluorescencia por transferencia de energía. La inhibición de su actividad (NS3) se cuantificó mediante el ensayo de proximidad de centelleo empleando como sustrato un péptido fluorescente (Ac-Asp-Glu-Glu--Glu-Glu Arg-Ala -Ser-Lys) el cual al ser escindido por la NS3/4A liberaba fluorescencia; para cuantificar el efecto inhibitor ejercido por la canferitrina el sustrato fue incubado con ella y la proteasa NS3/4A.

La canferitrina mostró una actividad inhibitoria expresada como CI_{50} de $19.4 \pm 0.5 \mu M$, mientras que Telaprevir (VX-950; control positivo) mostró una CI_{50} de $3.5 \pm 0.55 \mu M$, es decir, la canferitrina mostró una elevada actividad inhibitoria sobre NS3/4A por lo que podría actuar como un fármaco o entidad central para el diseño de inhibidores potentes y específicos contra el virus de la hepatitis C.

5.1.14 Actividad antiosteoporótica

La osteoporosis es una enfermedad metabólica del hueso que se traduce como la pérdida de su resistencia, es decir, el aumento de su fragilidad caracterizada por una masa ósea baja, deterioro del tejido óseo y alteración de su microarquitectura (Sözen et al., 2017). Los efectos de la canferitrina sobre osteoblastos de ratas Wistar fue evaluado por Ye y colaboradores (2015) en los cuales se determinó la actividad de la fosfatasa alcalina, de la que existen dos isoformas, específica de hígado y hueso. La fosfatasa alcalina específica de hueso se adhiere a la membrana de los osteoblastos; el efecto estimulante de la mineralización ósea ejercida por esta isoforma se logra por la inactivación del pirofosfato y la glicoproteína osteopontina (Tariq et al., 2019).

El porcentaje de actividad de la fosfatasa alcalina en osteoblastos de ratas Wistar tratados con canferitrina aumentó a $108.1 \pm 4.5\%$ (10^{-8} M) y $108.4 \pm 2.4\%$ (10^{-9} M) de los $100.1 \pm 6.1\%$ que presentó el grupo control. También, los autores determinaron la deposición de calcio a través del porcentaje de nódulos mineralizados. Las ratas administradas con canferitrina mostraron un porcentaje de nódulos mineralizados de $105.2 \pm 7.2\%$ y $128.1 \pm 3.3\%$ a las concentraciones de 10^{-7} y 10^{-8} M, respectivamente, mientras que el control presentó un

porcentaje de nódulos mineralizados del $100.0 \pm 2.9\%$. Finalmente, en osteoclastos expuestos a tratamiento con canferitrina, los autores determinaron la actividad de la fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP, por sus siglas en inglés). La canferitrina ejerció una reducción significativa en el porcentaje de actividad de la fosfatasa ácida a $86.5 \pm 5.4\%$ (10^{-7} M), $86.7 \pm 5.8\%$ (10^{-8} M) y $90.1 \pm 9.4\%$ (10^{-9} M) del $100.0 \pm 3.3\%$ de actividad presentada por el grupo control. Los autores concluyen que la canferitrina posee evidentes propiedades antiosteoporóticas sobre osteoblastos y osteoclastos *in vitro*, lo que implica que podría ser un agente potencial para tratar la osteoporosis.

Por otra parte, Ma y colaboradores (2015) evaluaron el efecto antiosteoporótico ejercido por la canferitrina en ratas hembras Sprague-Dawley sometidas a ovariectomía bilateral. La primera evaluación consistió en la determinación de la densidad mineral ósea expresada a través del puntaje T expresado como g/cm^2 después de doce semanas de tratamiento con canferitrina. La densidad mineral ósea aumentó en un 6.4% con la administración de canferitrina (16 mg/kg), mientras que en ratas que no recibieron ningún tratamiento la densidad mineral ósea disminuyó en un 7.4%. Adicionalmente, los autores observaron micrografías computarizadas del fémur de las ratas en donde observaron una evidente disminución ósea en las que no recibieron ningún tratamiento. Dicha densidad ósea presentó un aumento evidente de mayor a menor con el tratamiento de valerato de estradiol (control positivo) a 1 mg/kg y canferitrina a 16 mg/kg y 8 mg/kg, respectivamente. Además, con la finalidad de evaluar los efectos de la canferitrina sobre la inhibición de la resorción ósea y como promotora de la formación ósea, los autores determinaron en plasma los niveles de actividad de la fosfatasa ácida resistente a tartrato (TRAP), fosfatasa alcalina y catepsina K. La actividad de dichas enzimas aumentó en las ratas que no recibieron ningún tratamiento. El valerato de estradiol solo logró disminuir significativamente los niveles de catepsina K. La canferitrina, hasta la dosis de 16 mg/kg logró reducir solo la actividad de la fosfatasa alcalina, mientras que a la dosis menor (8 mg/kg) de este flavonoide se redujo la actividad de TRAP y catepsina K. Adicionalmente, la canferitrina (10^{-8} M y 10^{-9} M) estimuló la actividad de la fosfatasa alcalina en osteoblastos e indujo efectos inhibidores sobre la actividad de la TRAP y catepsina K en osteoclastos murinos.

Finalmente, los autores analizaron los efectos de la canferitrina sobre la expresión de p-ERK, p-IkB, p-p38 y p-JNK en osteoclastos. La canferitrina (10^{-6} , 10^{-7} y 10^{-8} M) ejerció una

disminución en la expresión de p-I κ B y un aumento en la expresión de p-ERK, mientras que no observaron ningún patrón evidente sobre la expresión de p-p38 y p-JNK. La canferitrina ejerció actividad antiosteoporótica al regular negativamente la fosforilación de I- κ B e inhibir la activación de la vía de señalización de NF- κ B que provoca la inhibición de la diferenciación de osteoclastos y la reducción de la resorción ósea osteoclástica, por lo que los autores presumen que la canferitrina puede considerarse un candidato para el tratamiento de la osteoporosis.

5.1.15 Actividad sobre SARS-CoV-2

El año 2019 se caracterizó por el inicio de la pandemia causada por el virus SARS-CoV-2 que origina la enfermedad del coronavirus (COVID-19, por sus siglas en inglés). Zaki y colaboradores (2020) evaluaron el efecto de nueve flavonoides, incluida la canferitrina, sobre la proteasa principal del virus SARS-CoV-2 conocida como M^{pro}. Esta proteasa es utilizada por el virus para escindir productos génicos virales implicados en su replicación. Los autores los evaluaron *in silico* mediante simulaciones de acoplamiento molecular empleando el software “Molecular Operating Environment” (MOE). Previamente, los autores habían obtenido la estructura cocrystalizada de la proteasa con un inhibidor específico conocido como N3. Posteriormente, evaluaron todos los compuestos y la canferitrina fue la que se unió con mayor fuerza al sitio activo de M^{pro} solamente después de N3. El inhibidor N3 mostró una afinidad de unión de -10.10 kcal/mol con la formación de cinco enlaces de hidrógeno con los aminoácidos Thr26, Gly143, Glu166 y Gln189 de la proteasa M^{pro}, mientras que la canferitrina mostró una afinidad de unión de -8.63 kcal/mol con la formación de siete enlaces de hidrógeno con los aminoácidos Thr190, Thr26, Gly143 y Gln192. Adicionalmente, los estudios de la relación de la estructura de los flavonoides con su actividad sobre la proteasa de SARS-CoV-2 mostraron que la presencia de ramnosas en la posición 3 y 7 de la canferitrina incrementaba la afinidad de unión a M^{pro}. Esta proteasa tiene un papel fundamental en la mediación de la replicación y transcripción viral, lo que la convierte en un objetivo farmacológico atractivo para el SARS-CoV-2 (Jin et al., 2020).

Por otra parte, otro grupo de trabajo conformado por Arokiyaraj y colaboradores (2020) evaluaron mediante ensayos *in silico* la capacidad de acoplamiento al dominio de unión al receptor (RBD, por sus siglas en inglés) de la subunidad S1 de la proteína Spike del SARS-CoV-2. La canferitrina mostró una eficiencia de unión de 0.28 debido a la integración de enlaces de hidrógeno con residuos de aminoácidos presentes en el RBD de S1 de SARS-

CoV-2 que incluían Thr345, Phe347, Leu441, Asp442, Asn450, Tyr451 y Arg509 e interacciones tipo Van der Waals de -9.24 kcal/mol.

El mecanismo de infección del SARS-CoV-2 comienza con la interacción de RBD con el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) después las dos regiones de repetición heptada, HR1 y HR2 que forman parte de la subunidad S2 de la proteína Spike forman un haz de seis hélices en la interacción previamente formada que permite la incorporación del virus al citoplasma, por endocitosis. El virus libera su RNA viral y las poliproteínas PP1B y PP1AB, las cuales son escindidas por la proteasa tipo 3C (3CL^{pro}), forman el complejo de replicación-transcripción que impulsa la producción de RNA en anti sentido, el cual se emplea como plantilla para generar la hebra en sentido positivo. Posteriormente, se genera RNA subgenómico que codifica todas las proteínas estructurales del virus. La nucleocápside viral se ensambla a partir de RNA genómico y proteínas N en el citoplasma y se transporta al lumen de la cavidad intermedia del retículo endoplásmico y al aparato de Golgi y las partículas del virus se liberan de las células infectadas por exocitosis (Li et al., 2020). Los autores evaluaron el acoplamiento de los compuestos sobre 3CL^{pro} donde la canferitrina ejerció la formación de enlaces de hidrógeno con Leu141, Asn142, Ser144, His163 y Glu166 de 3CL^{pro}, con una energía de unión de -7.83 kcal/mol y una eficiencia en el ligando formado de 0.28. En el proceso de infección, la proteína 78 regulada por glucosa (GRP78, por sus siglas en inglés) que es un marcador de estrés del retículo endoplásmico, se encuentra presente en la superficie de macrófagos activados, mejorando la afinidad de SARS-CoV-2 a las células. En GRP78 existen residuos del sitio activo que incluyen Ile426, Thr428, Val429, Val432, Thr434, Phe451, Ser452, Val457, Thr458 e Ile459 que favorecen la unión de la proteína Spike, por lo que los autores evaluaron la capacidad de la canferitrina para interactuar con los residuos del sitio activo de GRP78 para prevenir las acciones del SARS-CoV-2. La canferitrina exhibió una energía de unión de -4.36 kcal/mol y una eficiencia del ligando formado de 0.11 y una constante de inhibición de 639.8 μ M. Los autores concluyen que los compuestos evaluados, incluida la canferitrina, pueden inhibir la entrada del SARS-CoV-2 a las células a través del receptor de ACE2 e inhibir su proceso proteolítico. Además, la canferitrina puede apoyar en la regulación de la señalización celular a nivel de la unión de la proteína GRP78 y evitando así la interacción con SARS-CoV-2.

5.2 Procumbenósido B

5.2.1 Actividad antiinflamatoria

Pérez-Gutiérrez y colaboradores (2018) evaluaron la actividad antiinflamatoria del procumbenósido B (PB) aislado de *J. spicigera* sobre macrófagos murinos (línea celular RAW 264.7) estimulados con LPS. Los efectos antiinflamatorios del procumbenósido B fueron determinados mediante la evaluación en la producción de citocinas proinflamatorias (IL-6, IL-12, IL-1 β y TNF- α) y citocinas antiinflamatorias (IL-10). El procumbenósido B (40, 50, 100 y 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) logró ejercer un aumento significativo en los niveles de producción de IL-10 en contraste con los macrófagos que no recibieron ningún tratamiento previo a la estimulación con LPS (20 ng/mL). La dexametasona (1 μM) logró ejercer un aumento en la producción de IL-10 superior a la concentración más elevada de procumbenósido B evaluada (200 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Los niveles de IL-6, IL-12, IL-1 β y TNF- α disminuyeron de manera significativa en macrófagos murinos pretratados con procumbenósido B (20, 40, 50, 100 y 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) pero ninguna de las concentraciones de procumbenósido B presentó mayor actividad que la dexametasona (1 μM).

Posteriormente, para evaluar los efectos antiinflamatorios ejercidos por el procumbenósido B en macrófagos murinos estimulados con lipopolisacáridos (LPS), los autores cuantificaron los niveles de producción de óxido nítrico (NO), óxido nítrico sintasa (iNOS), prostaglandina E2 (PGE2) e interferón β (INF- β). Los niveles de NO, iNOS, PGE2 e INF- β disminuyeron de manera significativa en macrófagos murinos pretratados con procumbenósido B (25, 50 y 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) previo a su estimulación con LPS (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Los niveles de NO y PGE2 disminuyeron en consecuencia a la inhibición de la iNOS. Después, los autores evaluaron el efecto de este flavonoide sobre la actividad del factor nuclear kappa-potenciador de la cadena ligera de las células B activadas (NF- κB) en el DNA de macrófagos murinos estimulados con LPS. La actividad de unión de NF- κB al DNA se vio inhibida significativamente por el procumbenósido B (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Finalmente, estos mismos autores evaluaron mediante un ensayo de fluorescencia en larvas de pez cebrá (zebra fish) el efecto del procumbenósido B sobre la producción de ROS y NO. En este modelo animal se estimuló la inflamación por administración de lipopolisacáridos. Las larvas que solo recibieron tratamiento con LPS presentaron una imagen fluorescente, mientras que dicha fluorescencia se redujo en los grupos de larvas que fueron pretratadas con procumbenósido B (25 o 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) previo al tratamiento con lipopolisacáridos (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$), símbolo de la reducción en la

producción de NO y ROS. De acuerdo con estos resultados, los autores concluyen que los efectos antiinflamatorios ejercidos por el procumbenósido B se podrían atribuir posiblemente a una regulación a la baja de iNOS y COX-2 mediante la supresión de la vía de señalización de NF- κ B.

5.3 Alantoína

Alantoína es una de las moléculas aisladas de *J. spicigera* que ha sido ampliamente evaluada por lo que a continuación se presenta un breve resumen de algunas de las actividades farmacológicas relacionadas principalmente con la planta.

5.3.1 Actividad antiinflamatoria

El asma causada por alergias es una enfermedad en la que se genera inflamación de las vías respiratorias con acumulación de eosinófilos en el tejido pulmonar y aumento en la producción de moco. En el ensayo realizado por Lee et al. (2010) en ratones hembra BALB/c, la alantoína (25 o 50 mg/kg) demostró inhibir la acumulación de eosinófilos y células inflamatorias totales en tejido pulmonar de ratones sensibilizados con ovoalbúmina. Además, la alantoína redujo la hiper secreción de moco en tejido pulmonar con un efecto superior al presentado por el montelukast (30 mg/kg) empleado como fármaco de referencia. Adicionalmente, la alantoína indujo una reducción en la producción de IgE (inmunoglobulina mediadora de reacciones alérgicas) e interleucinas Th2 (IL-4 e IL-5). La disminución en la secreción de moco inducida por la alantoína se debió a la reducción en la producción de IL-4 e IL-5. De acuerdo con estos resultados, la alantoína es un potencial agente antiinflamatorio para el tratamiento del asma.

Florentino et al. (2016) también evaluaron el efecto de la alantoína como agente antiinflamatorio por los ensayos de inducción de edema y pleuresía por carragenina. La alantoína (60 mg/kg) logró reducir en un 30.20% el edema en la pata de ratones macho Swiss, mientras que la indometacina (10 mg/kg) empleada como control positivo lo logró reducir en un 29.69%; ambos después de 3 h de la administración de carragenina. Por otra parte, en el ensayo de inducción de pleuresía por carragenina, la alantoína (60 mg/kg) logró reducir la migración de leucocitos a la cavidad pleural en un 37%, mientras que la dexametasona (2 mg/kg), empleada como control positivo, lo logró en un 65.92%. El exudado pleural se redujo en un 40.65% y 60.98% con el tratamiento con alantoína y dexametasona, respectivamente. Con estos resultados, los autores concluyeron que la alantoína disminuye

el edema en una vía similar a la de la indometacina y sus efectos antiinflamatorios fueron evidentes al comprobarlos con el ensayo de pleuresía.

5.3.2 Piel

La alantoína se emplea en el tratamiento de afecciones de la piel es por eso que es de uso recurrente en la formulación de productos cosméticos y medicamentos. En México, el Acuerdo de Sustancias Prohibidas (DOF, 2010) establece que la alantoína se puede emplear en una concentración máxima de 0.3% en cualquier producto cosmético. En el caso de su uso como medicamento, en productos para la piel se puede emplear en un 0.5 a 2.0%, de acuerdo con los criterios establecidos por la FDA (FDA, 2020).

Las aplicaciones principales se orientan al tratamiento de cicatrices como queloides. Además, debido a que estimula la proliferación de las células del epitelio se emplea como coadyuvante en el tratamiento de quemaduras, dermatitis, psoriasis e ictiosis (Szymańska, 2012).

5.3.3 Actividad antinociceptiva

Florentino et al. (2016) evaluaron el efecto antinociceptivo de la alantoína en ratones macho Swiss mediante el ensayo de inducción de dolor por formalina y la prueba de movimiento de la cola. En el ensayo de inducción de dolor por formalina, se evaluó el tiempo de reacción al dolor (tiempo de lamido de la pata trasera) en dos períodos, 0-5 min (dolor neurogénico) y 15-30 min (dolor inflamatorio). La alantoína (60 mg/kg) logró disminuir el tiempo de lamido inducido por dolor neurogénico en un 48.81% y el dolor inflamatorio en un 51.80%, mientras que la indometacina (10 mg/kg) empleada como control positivo de dolor inflamatorio redujo ambos tipos de dolor en un 32.87% y 58.65%. La morfina (5 mg/kg) se empleó como control positivo de ambos tipos de dolor, disminuyéndolos en un 87.39% y 94.54%, respectivamente. Por otro lado, en la prueba de movimiento de la cola se evaluó el tiempo que tardan las ratas en retirar la cola de un analgesímetro. La alantoína (60 mg/kg) fue incapaz de incrementar el tiempo en el que los ratones retiraban la cola. Adicionalmente, los autores estudiaron el tipo de mecanismo por el cual la alantoína ejercía su efecto antinociceptivo. Para el estudio del papel de los receptores opioides emplearon naloxona (3 mg/kg), antagonista no selectivo de estos receptores, previo al tratamiento con alantoína (60 mg/kg), en donde pudieron observar que la naloxona logró evitar los efectos antiinflamatorios ejercidos por la alantoína en la fase neurogénica. Por otra parte, para estudiar los efectos de

los canales de K⁺ sensibles a ATP, los autores pretrataron a los ratones con glibenclamida (bloqueador selectivo de estos canales), en donde también observaron que este bloqueador logró revertir los efectos de la alantoína en la fase neurogénica. Con estos resultados, los autores sugieren que la alantoína ejerce sus efectos antinociceptivos a nivel periférico.

5.3.4 Actividad antidiabética

Tsai et al. (2014) evaluaron el efecto de la alantoína sobre los niveles de glucosa en ratas macho Wistar sanas. Las ratas fueron tratadas con alantoína (1 mg/kg) previo a la administración de una disolución de glucosa (1 g/kg) monitoreando los niveles de glucosa en plasma por 240 min. La alantoína logró reducir los niveles de glucosa significativamente después de 10 a 30 min. Adicionalmente, la alantoína redujo los niveles de glucosa basal en sangre, mientras aumentó los niveles de insulina plasmática. Esto quiere decir que la alantoína reduce los niveles de glucosa por aumento de los niveles de insulina en plasma. Además, para determinar el efecto de la alantoína sobre la secreción de insulina, los autores sometieron células Min 6 a tratamiento con alantoína o glibenclamida (control positivo). Estas células son provenientes de un insulinoma (tumor pancreático) de *Mus musculus*, las cuales se caracterizan por una producción anormal de insulina. La alantoína (1 μM) logró incrementar la entrada de calcio en células Min 6 de una manera similar a la glibenclamida (1 μM), la cual se sabe que incrementa la secreción de insulina por aumento de la entrada de calcio a las células.

Por otra parte, Ma y colaboradores (2020) evaluaron el efecto de la alantoína sobre ratones obesos C57BL/6 a los que se les indujo diabetes con estreptozocina. La alantoína (50 mg/kg) logró reducir a 31.20±3.03 g el peso ganado por los ratones de los 36.00±2.16 g que presentaron los ratones pertenecientes al grupo control (obesos y diabéticos). La ingesta de calorías por alantoína se redujo a 89.15±2.26 kcal de las 99.56±3.03 kcal consumidas por los ratones control. La metformina (500 mg/kg) logró reducir el peso e ingesta calórica a 34.00±1.41 g y 91.70±5.24 kcal, respectivamente. Además, la alantoína redujo la ingesta de agua a 54.00±12.96 mL de los 78.20±8.79 mL promedio ingeridos por el grupo control y la metformina a 35.33±5.32 mL. Por otro lado, los autores determinaron los niveles de glucosa en sangre, glucosa sérica, insulina y leptina, donde los ratones control presentaron valores de 441.75±29.41 mg/dL, 594.40±8.76 mg/mL, 0.15±0.01 ng/mL y 48.84±4.00 ng/mL sobre los parámetros antes mencionados. En los ratones a los que se les administró alantoína (50 mg/kg) se redujeron los niveles de glucosa en sangre, glucosa sérica y leptina a

315.40±32.42 mg/dL, 416.20±56.97 mg/mL y 24.79±4.05 ng/mL, respectivamente. A su vez, la metformina los redujo a 269.60±40.60 mg/dL, 305.00±43.90 mg/mL y 37.60±9.62 ng/mL. La alantoína y metformina indujeron un aumento a 0.27±0.05 ng/mL y 0.30±0.08 ng/mL sobre los niveles de insulina.

Adicionalmente, los autores determinaron los efectos de la alantoína sobre los niveles de colesterol total, triglicéridos, lipoproteína de baja densidad (C-LDL), aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) y albúmina sérica (ALB). La alantoína logró reducir los parámetros antes mencionados a 160.43±11.18 mg/dL, 58.50±16.93 mg/dL, 30.96±11.73 mg/dL, 81.50±19.31 U/L, 66.75±19.82 U/L y 2.34±0.15 g/dL, de los 194.00±17.43 mg/dL, 135.60±34.10 mg/dL, 46.30±5.05 mg/dL, 140.60±41.61 U/L, 126.60±41.91 U/L y 2.07±0.12 g/dL presentados por el grupo de ratones control. La metformina solo redujo significativamente los niveles de triglicéridos, AST y ALT a 56.00±6.89 mg/dL, 76.40±8.29 U/L, 52.40±9.24 U/L, respectivamente.

El peso del páncreas e hígado disminuyó significativamente con el tratamiento con alantoína y metformina. En contraste, el tejido muscular (cuádriceps y gastrocnemio) de ratones tratados con alantoína aumentó en comparación con los ratones (diabéticos y obesos) que no recibieron tratamiento alguno. La metformina no ejerció ningún efecto sobre el tejido muscular. En cuanto al tejido adiposo, solo la grasa perirrenal y mesentérica se logró reducir con la administración de alantoína, pero no ejerció ningún efecto sobre la grasa epididimaria, mientras que la metformina solo redujo la grasa perirrenal.

5.3.5 Actividad sobre la presión sanguínea

Chen et al. (2014) evaluaron el efecto de la alantoína sobre ratas macho Wistar hipertensas. Los autores administraron alantoína (0.5 mg/kg) por vía intravenosa y monitorearon la presión sanguínea por un periodo de 120 min. La alantoína resultó ser más efectiva a los 30 min de su administración al presentar la reducción máxima en la presión arterial de los 120 min monitoreados. Dado que la presencia de receptores de imidazolina en el cerebro se ha relacionado con la regulación central de la presión arterial, específicamente el receptor I-1, los autores evaluaron sus efectos sobre la frecuencia cardiaca y presión arterial media. Para tales efectos, en ratas sanas se administró efaroxan a 1.5 mg/kg (antagonista específico del receptor I-1) en combinación con alantoína. Los efectos de la alantoína fueron abolidos por la presencia de efaroxan. Adicionalmente, en ratas

anestesiadas los autores evaluaron el efecto de la alantoína sobre la contracción cardíaca, definida como la derivada de la presión arterial en función del tiempo (dP/dt). El valor de dP/dt se redujo significativamente en las ratas que recibieron alantoína (0.5 mg/kg), en comparación con las ratas que no recibieron tratamiento alguno. Dichos efectos fueron abolidos nuevamente por la presencia de efaroxan. Finalmente, los autores notaron un evidente aumento del flujo sanguíneo periférico en las ratas tras el tratamiento de alantoína, en contraste con las ratas que no recibieron tratamiento alguno. Nuevamente, dicho efecto se vio eliminado por la presencia de efaroxan. Estos resultados, sugieren que los efectos antihipertensivos ejercidos por la alantoína son en parte a nivel cerebral y puede ser un potencial agente para el tratamiento de la hipertensión.

CAPÍTULO 6. ASPECTOS FÍSICOQUÍMICOS DEL TINTE

El uso del tinte del muicle en alimentos ha despertado un gran interés, debido a que como lo menciona Pavón-García y colaboradores (2011), el color es uno de los atributos más importantes de los alimentos, considerándose como un indicador de calidad y estabilidad y frecuentemente determina la aceptación de los productos en los consumidores. Actualmente, existe una tendencia a usar colorantes naturales que puedan aportar un valor agregado al producto terminado. Por esta y otras razones, Pavón-García y colaboradores (2011) evaluaron la estabilidad del tinte de *J. spicigera* microencapsulado. Partiendo del supuesto de que las antocianinas son las responsables del color del tinte, estos autores consideraron que uno de los puntos críticos para desarrollar un colorante a base de muicle es la inestabilidad de estos compuestos en el procesamiento y almacenamiento de alimentos, ya que son sensibles a varios factores ambientales que incluyen temperatura, luz, oxígeno, pH, iones metálicos, enzimas, entre otros. Por esta razón utilizaron la microencapsulación para la protección del colorante y de esta manera poder ser agregado a los alimentos. La microencapsulación permite que un coloide protector actúe como barrera entre el colorante natural y los factores ambientales degradantes. La microencapsulación del tinte se realizó en dos mezclas de polímeros, la primera consistió de goma arábica (obtenida de *Acacia senegal* al 50%) y maltodextrina con 10 equivalentes de dextrosa al 50% (GA-MD) y la segunda mezcla consistió de goma de mezquite al 50% y maltodextrina con 10 equivalentes de dextrosa al 50% (GM-MD).

Posteriormente, los autores determinaron la actividad del agua (a_w) que, de acuerdo con lo que menciona Vega Gálvez et al. (2006), es un parámetro que indica la disponibilidad de agua en un alimento para que existan reacciones químicas, bioquímicas (p.e. oxidación de lípidos, reacciones enzimáticas, reacción de Maillard, entre otras) y desarrollo microbiano, y por lo tanto es una medida muy útil para predecir la vida útil de un alimento. Para conocer la actividad del agua y cómo ésta influye en el contenido de humedad como función de la temperatura, se construyen isotermas de absorción. Estos diagramas relacionan la actividad del agua (a_w) al material de estudio, son únicas a cada temperatura y en su mayoría se obtienen por gravimetría. Los autores sometieron muestras del tinte encapsulado en GA-MD y GM-MD en disoluciones de diferentes sales ($a_w = 0.11$ a 0.85) a diferentes temperaturas (20°C , 35°C y 40°C) calculando los pesos de las muestras cada 5 días por 20 a 25 días. Las isotermas de adsorción se expresaron como el contenido de humedad al equilibrio (kg de

agua/ 100 kg de base seca) en función de la actividad del agua de las distintas disoluciones salinas. En todos los casos se observó un comportamiento sigmoide ligero y el contenido de humedad al equilibrio aumentaba a medida que incrementa la actividad del agua (a_w) y la temperatura.

Pavón-García et al., (2011) evaluaron la estabilidad de las antocianinas y las cuantificaron en las microcápsulas, así como en el extracto acuoso de *J. spicigera* sin encapsular, a tres temperaturas (20, 35 y 40 °C). El extracto acuoso de la planta presentó la mayor pérdida de antocianinas totales, seguido de las microcápsulas GA-MD y la menor pérdida la presentaron las microcápsulas GM-MD. El incremento de la temperatura de 20°C a 35 °C y, posteriormente, a 40 °C dio lugar a una mayor pérdida de antocianinas totales.

Además, la vida media de las antocianinas en las microcápsulas GM-MD fue significativamente mayor que en las microcápsulas GA-MD y que en el extracto acuoso de la planta.

Finalmente, los autores (Pavón-García et al., 2011) cuantificaron los parámetros de color L^* (luminosidad), b^* (rojez) y a^* (amarillez) en el extracto acuoso de la planta y las microcápsulas. El objetivo fue determinar la estabilidad en el cambio de color con el tiempo, para lo cual tomaron muestras cada 5 días por 120 días. La pérdida de color se ajustó a un modelo de cinética de primer orden. El cambio de color aumentó a medida que aumentaba la temperatura, sin embargo, el cambio de color de menor a mayor se dio en las microcápsulas GM-MD, GA-MD y el mayor cambio se dio en el extracto acuoso de *J. spicigera*. Los autores concluyeron que la estabilidad de las supuestas antocianinas presentes en el tinte de *J. spicigera* se puede prolongar al emplear microcápsulas de GA-MD y GM-MD, especialmente en las de GM-MD.

En 2014, nuevamente Pavón-García y colaboradores evaluaron el efecto de la formulación de emulsiones simples (W_1/O) con alginato de sodio (AS), goma xantana (GX), goma guar (GG) y goma de algarrobo (GA) y emulsiones dobles ($W_1/O/W_2$) con goma arábica (GB) y goma arábica:goma de mezquite (70:30, GB:GM) en la conservación del tinte del extracto acuoso de las hojas de *J. spicigera*. Las emulsiones dobles ($W_1/O/W_2$) son ampliamente usadas para proteger ciertos componentes activos (hidrofílicos) de su desintegración por exposición a la luz o degradación enzimática en alimentos y suplementos alimenticios (Pavón-García et al., 2014).

Los termogramas de las emulsiones múltiples formaron tres picos característicos a -43°C , -32°C y -15°C correspondientes a la congelación de las fases W_1 , O y W_2 , mientras que la emulsión simple mostró dos picos uno a -32°C (cristalización de la fase oleosa) y otro a -46°C (cristalización de la fase acuosa). La emulsión no gelificada con GB:GM y la emulsión W_1/O_{AS} gelificada con GB mostraron más picos al aumentar los ciclos de enfriamiento, en comparación con la emulsión W_1/O_{AS} gelificada con GB:GM que no mostró picos adicionales tras cuatro ciclos de enfriamiento. Con estos resultados, los autores confirmaron la elevada estabilidad de la emulsión W_1/O_{AS} gelificada con GB:GM, que relacionaron al peso molecular de la mezcla de polímeros. Los autores concluyeron que la presencia de agentes gelificantes en la fase interna de las emulsiones múltiples, ayuda a estabilizar a las emulsiones simples, las cuales influyen en la preservación de los compuestos bioactivos en la fase acuosa interna a largo plazo. El alginato de sodio resultó ser el mejor agente estabilizante de las emulsiones simples al reducir en mayor proporción los efectos de coalescencia dado por su valor de k_c y se logró un efecto sinérgico estabilizante en la emulsión simple (W_1/O_{AS}) mediante la incorporación de GB o GB:GM.

Casanova-González et al. (2012b) analizaron por espectroscopia de Raman amplificada por superficie (SERS, por sus siglas en inglés) nanopartículas de plata y cobre obtenidas por reducción con citrato de sodio e hidroxilamina, del extracto acuoso (maceración por 3 días a temperatura ambiente) de las hojas de *J. spicigera*. La espectroscopia de Raman amplificada por superficie (SERS, por sus siglas en inglés) es una técnica cuyo principal objetivo es amplificar las señales Raman en varios órdenes de magnitud que se producen por interacción de la luz con los materiales empleados como sustratos (oro, plata, cobre y aluminio), los cuales deben de soportar la resonancia plasmónica. Los espectros de SERS se encuentran en el rango de plasmónica -400 a $1\ 000$ nm que es el más característico de esta técnica. (Ru et al., 2008).

Las nanopartículas fueron caracterizadas por espectroscopia UV-VIS y microscopia electrónica de alta resolución (HTEM, por sus siglas en inglés). Los coloides de oro y plata obtenidos por reducción con citrato de sodio se fabricaron al someter una disolución de nitrato de plata (AgNO_3) o ácido cloroaúrico (HAuCl_4) a agitación con reflujo, añadiendo citrato de sodio al 1% y manteniendo el reflujo por 60 y 5 min, respectivamente. Las partículas de plata generadas por reducción con hidroxilamina se obtuvieron con una mezcla de una disolución de cloruro de hidroxilamonio ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$), hidróxido de sodio (NaOH) y

AgNO₃ en agitación por 10 min. Los espectros UV-VIS mostraron que los tres coloides eran adecuados para ser usados como sustratos para el análisis por SERS, mientras que las imágenes de HTEM mostraron que los coloides de plata obtenidos por ambos métodos presentaban una mejor dispersión de tamaño de partícula y una forma esférica predominante. Los coloides de oro mostraron diversos tamaños de partícula y formas por HTEM.

La actividad de los sustratos fue analizada por SERS con una disolución de ácido cármico, donde solo los coloides de plata obtenidos por reducción con citrato mostraron espectros SERS útiles, por lo que los otros coloides fueron excluidos para la evaluación del extracto acuoso de *J. spicigera*. El espectro del extracto empleando como sustrato al coloide de plata obtenido por reducción con citrato mostró la presencia de varias bandas en la región de 1100-1600 cm⁻¹ y algunas bandas muy fuertes cerca de 500 cm⁻¹, por lo que los autores sugieren que el tinte tiene una estructura similar a flavonoides. Además, los mejores espectros se adquirieron a pH neutro que podría estar ligado a la presencia de pares de electrones disponibles (grupos hidroxilo, cetona o carboxilo) que permitieron una buena absorción del analito y, en consecuencia, espectros SERS con bandas intensas. Los autores concluyeron que los espectros obtenidos por SERS del extracto acuoso de *J. spicigera* son útiles para posteriores identificaciones de la estructura del tinte.

En el mismo año, Casanova-González y colaboradores (2012a) volvieron a evaluar al extracto acuoso (maceración por 3 días a temperatura ambiente) de las hojas de *J. spicigera*, pero adicionalmente evaluaron el agua remanente obtenida del teñido de fibras de lana previamente con el extracto inicial de *J. spicigera*. Los coloides de plata se obtuvieron por reducción de una disolución de AgNO₃ con citrato de sodio y fueron evaluadas por espectroscopia UV-VIS y HTEM. Las imágenes de HTEM mostraron una forma esférica con una distribución similar en el tamaño de partícula de 14 nm de diámetro. El espectro SERS del extracto acuoso mostró una banda pronunciada en 580 cm⁻¹, que los autores asociaron a un patrón de glucosilación y otra banda en 1330 cm⁻¹ que atribuyeron al canferol. Además, se mostraron picos muy intensos en la región de 400 a 600 cm⁻¹ y varios picos de 1100 a 1600 cm⁻¹ asociados al ion flavilio. La estructura química del componente principal se mantiene indeterminada, sin embargo, los autores afirman que existe una clara diferencia (según los resultados obtenidos) entre la estructura del pigmento de *J. spicigera* y el índigo cuyos rasgos característicos del espectro Raman [545 cm⁻¹: δ (C=C-CO-C) y 1574 cm⁻¹: ν (CC), ν

(C=C), ν (C=O)] están ausentes en el espectro de *J. spicigera*. Sin embargo, los autores afirman que la presencia de canferitrina en sus hojas podría estar relacionada con el color que produce el tinte y que varias bandas observadas en la región de 1100-1600 cm^{-1} y algunas bandas muy fuertes cerca de 500 cm^{-1} sugieren la presencia de flavonoides. Al superponer los espectros SERS del extracto acuoso de la planta y el obtenido después de teñir fibras de lana pudieron observar que las bandas se encontraban desplazadas de 1 a 7 cm^{-1} en el espectro de la fibra teñida pero la intensidad de cada banda seguía siendo similar con ligeras diferencias en el espectro de la fibra teñida (Figura 11).

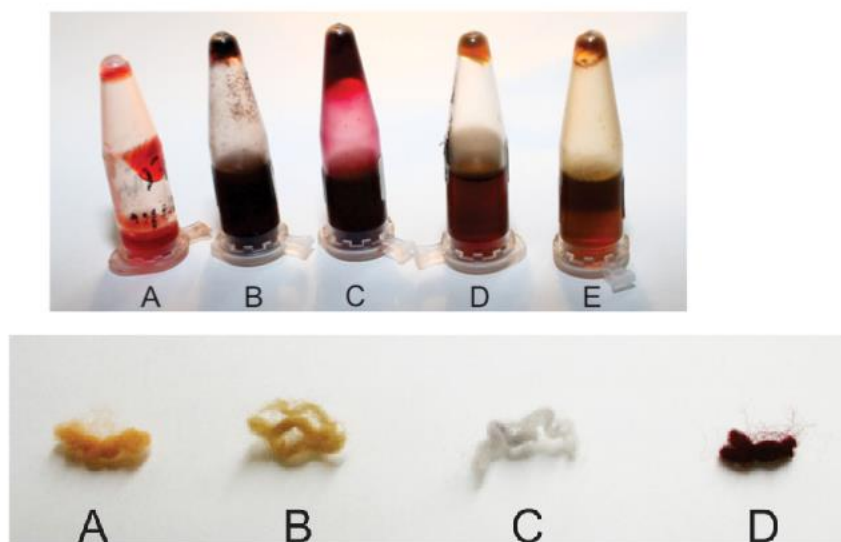


Figura 11. Se observan los tintes (arriba) de achiote (A), cempazúchitl (B), *J. spicigera* (C) y palo de Brasil (D) y, fibras de lana teñidas con los mismos (abajo). Tomada de Casanova-González et al. (2012a)

Por otra parte, Espinosa-Morales y colaboradores (2012) realizaron la caracterización de un extracto acuoso (tinte) obtenido por maceración con ultrasonido durante 1 h a temperatura ambiente de las hojas de *J. spicigera*. Esta caracterización la llevaron a cabo utilizando espectroscopia UV-VIS, espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés) y por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas previa pirólisis (PY-GC/MS, por sus siglas en inglés). El espectro UV-VIS mostró un pico de absorción máxima a una longitud de onda de 581 nm. El espectro FTIR presentó una fuerte señal en 1618-1645 cm^{-1} , la cual asociaron a la frecuencia vibracional de un grupo aromático C-C=C, una banda de absorción débil fue observada entre 795-825 cm^{-1} asociada a una elongación fuera del plano del enlace aromático C-H. Entre 1405-1416 cm^{-1} se observaron movimientos de elongación correspondientes al grupo fenólico -OH. Se presentó

una banda ligera correspondiente al grupo OH en el rango de 3222-3310 cm^{-1} , mientras que la frecuencia vibracional típica del movimiento de estiramiento del enlace C-O se observó en 1233-1224 cm^{-1} , que los autores asociaron a la presencia de compuestos fenólicos en la estructura molecular del tinte. El movimiento asimétrico del grupo $-\text{CH}_3$ aparece en el rango de 2922-2973 cm^{-1} , que puede estar asociado a un grupo metoxilo ($-\text{OCH}_3$) en la estructura del tinte. Finalmente, después de todos estos ensayos, los autores no lograron determinar la estructura del tinte ni lograron confirmar la presencia de antocianinas.

Chan-Bacab y colaboradores (2015) igualmente se dieron a la tarea de caracterizar al tinte de *J. spicigera* con la finalidad de resaltar su uso como parte de una técnica ancestral que pueda seguir usándose de una manera segura y sostenible en producciones artesanales esenciales para el sustento rural. En diferentes áreas de la península de Yucatán, usan al tinte del muicle para el teñido de algodón. Chan-Bacab et al. (2015) evaluaron inicialmente la eficiencia de la extracción por método tradicional (decocción con diferentes disolventes a 60°C por 1 h), y un método al que clasificaron como moderno, con la extracción por microondas. Al comparar el rendimiento de estos dos métodos de extracción, el que dio el mejor rendimiento fue la decocción con etanol al 10% (34.6%) seguido de la extracción por microondas con agua destilada (32.1%), extracción por microondas con etanol al 10% (32.0%) y el método que produjo el menor rendimiento, fue la extracción por decocción con agua destilada (31.3%). Los extractos se sometieron a un análisis espectrofotométrico UV-VIS en la región de 400-750 nm para identificar la longitud de máxima absorción (λ_{max}), así como un análisis por cromatografía en capa delgada (CCD). De acuerdo con los resultados obtenidos por los autores, se detectaron flavonoides presentes en el extracto como los responsables de la coloración.

Baqueiro-Peña et al. (2017) evaluaron diversas disoluciones hidroalcohólicas (etanol:agua) de *J. spicigera* sobre su actividad antioxidante, contenido de fenoles, parámetros de color, entre otras. Los extractos fueron obtenidos de las hojas frescas y secas (una semana y un año) de *J. spicigera*, empleando dos métodos de extracción (agitación y ultrasonido). En los extractos se presentaron diferencias significativas en los parámetros de color (L: luminosidad, a: verde-rojo y b: amarillo-azul) que dependieron del método de extracción, el tipo de disolvente y las condiciones de las hojas de la planta. En cuanto a las hojas frescas, el espacio de color (diagrama) mostró que el extracto acuoso obtenido por agitación se localizó en la región de coloración rojo-amarilla, mientras que los extractos de

agua:etanol al 30% (agitación y ultrasonido) y el extracto acuoso obtenido por ultrasonido se localizaron en la región amarillo-verde. Los extractos de agua:etanol al 50, 70 y 100% se localizaban en la región azul-rojo.

En cuanto a los extractos de hojas secas, los autores observaron que, al disminuir la concentración de etanol en los extractos, éstos se tornaban más oscuros. Los extractos de etanol al 100% presentaron tonalidades verde-amarillo, mientras que los extractos de agua:etanol al 30, 50 y 70% se encontraban en los límites de tonalidades rojas y violetas. Finalmente, para todos los tipos de hojas (frescas y secas) el extracto de agua:etanol al 70% presentó diferentes tonalidades de rosa. Los autores atribuyeron las diferencias de color al contenido de humedad en las hojas frescas y secas de *J. spicigera* y al tipo de disolvente empleando en la extracción, así como el método (agitación y ultrasonido).

Álvarez-Poblano y colaboradores (2020) evaluaron el efecto de la adición del extracto acuoso de las hojas de *J. spicigera* en harina de maíz blanco nixtamalizada (HMBN) sobre la reología de la masa, textura, color, así como la actividad antioxidante y digestibilidad del almidón. Se realizaron mezclas de extracto acuoso (60 g) y harina de maíz blanco nixtamalizada (40 g) utilizando agua destilada, que correspondían a 0.0, 0.7, 1.7 y 2.7 g de extracto acuoso por cada 100 g (en base seca) de HMBN. La primera evaluación que realizaron fue determinar las propiedades viscoelásticas de la masa haciendo uso de un reómetro, y midiendo el rango de deformación de 0.1-100% a 1 Hz, determinando así los módulos de almacenamiento (G') y pérdida (G'') en función de la tensión de deformación. Los autores observaron que ambos módulos no dependían de la tensión hasta un valor del 1%, ya que a valores superiores el módulo G' disminuía, lo que reflejaba la pérdida de la estructura de la masa, mientras que en el caso del módulo G'' se observaba un pequeño aumento de 3 a 30% que los autores atribuyeron a la formación de aglomerados de partículas en la masa. Al adicionar el extracto, los autores observaron que la magnitud de ambos módulos disminuía al aumentar la cantidad de extracto en la HMBN.

La preparación de las tortillas se realizó siguiendo el procedimiento tradicional, colocando porciones esféricas de la masa (30 g) entre dos hojas de plástico y aplastadas con fuerza manual, haciendo uso de dos placas metálicas (14 ± 0.2 cm de diámetro) para después cocinarlas a 350°C (1 min de un lado, 30 s del otro lado y 15 s del lado inicial), dejarlas enfriar (5 min) y almacenarlas de manera individual a 4°C , en bolsas de polietileno. Como

primera evaluación, se determinó el contenido de humedad en las tortillas frescas y las tortillas almacenadas por 4 días (4°C). En general, en todas las tortillas con diversas cantidades del extracto se presentó una disminución significativa en el contenido de humedad tras 4 días de almacenamiento. La dureza en las tortillas recién preparadas se determinó haciendo uso de un texturómetro, para lo cual la tortilla fue comprimida con una sonda esférica una velocidad de 1 mm/s, hasta lograr una penetración del 50% mediante un ciclo de compresión. Pudieron observar que la dureza en las tortillas aumentó a medida que incrementó el contenido de extracto acuoso en la HMBN, sin embargo, el aumento máximo (2.81 ± 0.12 N) no fue significativo en comparación con la dureza presentada en la HMBN sin extracto de *J. spicigera* (2.48 ± 0.13 N). Por otra parte, la elasticidad de las tortillas se incrementó al aumentar el contenido de extracto acuoso en la HMBN.

Álvarez-Poblano et al., 2020 realizaron un análisis por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés). Esta técnica se basa en la determinación de grupos funcionales al proporcionar un espectro infrarrojo con mayor rapidez que la espectroscopia infrarroja tradicional (Mohamed et al., 2017). Los espectros de las distintas variaciones de tortillas obtenidas por adición de extracto acuoso de *J. spicigera* a la HMBN presentaron una banda característica de amidas que se encontraba en 1640 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace C=O, mientras que las bandas en la región de 1080 a 950 cm^{-1} se relacionaron con estiramientos de los grupos C-O, C-C y C-H y las vibraciones del grupo C-O-H.

Los autores también determinaron el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante mediante los ensayos de los radicales ABTS, DPPH y FRAP en los extractos de las variaciones de tortillas expuestos a diferentes condiciones de pH. Dichas condiciones incluyeron pH 2 (digestión gástrica) y pH 7 (digestión intestinal). Como se observa en la Tabla 18, el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante aumentó a medida que incrementaba el contenido de extracto acuoso de la planta en las tortillas. Además, el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante (ensayos del radical ABTS y FRAP) fue mayor en condiciones de digestión intestinal, mientras que en el caso de la actividad antioxidante determinada por el radical DPPH se presentaron valores más elevados en condiciones de digestión gástrica.

Tabla 18. Contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante evaluada por Álvarez-Poblano et al. (2020)

Muestra	Fenol ^a		ABTS ^b		DPPH ^b		FRAP ^b	
	2	7	2	7	2	7	2	7
0.0	45.88±0.44	66.31±0.44	3.94±0.26	16.53±0.32	18.45±0.44	12.76±0.24	2.18±0.12	13.47±0.42
0.7	62.02±0.91	77.11±0.91	4.44±0.22	16.10±0.33	19.09±0.91	15.25±0.37	4.16±0.33	14.27±0.39
1.7	68.52±0.76	84.87±0.76	5.93±0.19	17.49±0.42	19.62±0.76	16.87±0.43	5.52±0.36	16.85±0.52
2.7	78.03±0.64	90.67±0.64	6.82±0.13	19.27±0.35	20.73±0.64	17.91±0.41	6.64±0.25	19.27±0.41

^a: mg de equivalentes de ácido gálico/ 100 g de base seca; ^b: µmol de equivalentes de Trolox®/g de base seca

Los parámetros de color en las variaciones de masa y tortilla (Figura 12) se caracterizaron con un colorímetro a partir del cual se determinaron la luminosidad como negro ($L^*=0$) y blanco ($L^*=100$), verde (-a) o rojo (+a), azul (-b) o amarillo (+b). Los autores pudieron observar que al aumentar la cantidad de extracto también aumentaba el color azul/violeta que se puede distinguir visualmente de las tortillas de maíz azul. Los valores de b^* (tonalidad más amarilla que azul) fueron positivos en ambos controles (masa y tortilla) y se hicieron significativamente negativos al aumentar la cantidad de extracto, mientras que los valores de a^* (indicativo de una tonalidad más verde que rojo) fueron positivos en todos los casos y aumentaron significativamente a medida que aumentó el contenido de extracto en la masa y las tortillas. Los valores de L^* fueron positivos en todos los casos y disminuyeron significativamente al aumentar el contenido de extracto. De acuerdo con los resultados de los parámetros a^* y b^* , los autores afirmaron que el extracto acuoso de *J. spicigera* les dio a las tortillas un color equivalente al que se obtiene en las tortillas elaboradas con variedades de maíz azul.

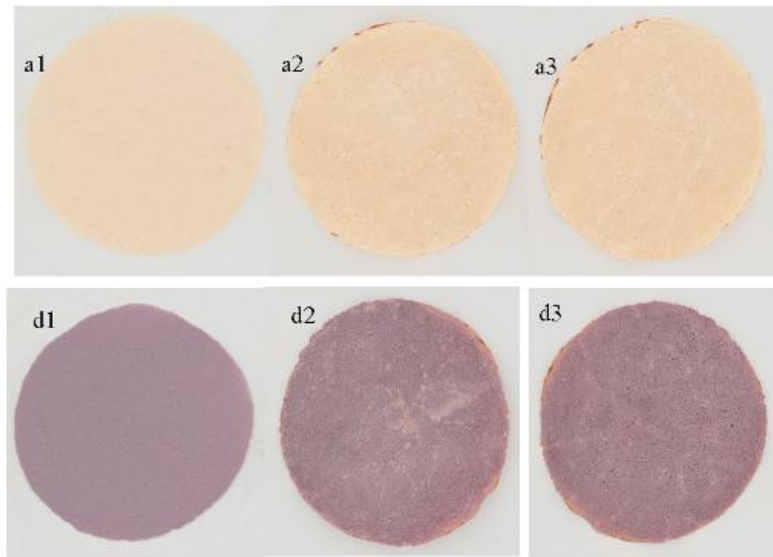


Figura 12. Imágenes de las variaciones de masa y tortilla en ausencia y presencia del extracto acuoso de *J. spicigera*; (**a1**) masa sin extracto, (**a2, a3**) tortilla sin extracto, (**d1**) masa con extracto (2.7 g de extracto acuoso/100 g) y (**d2, d3**) tortilla con extracto (2.7 g de extracto acuoso/100 g). Tomada de Álvarez-Poblano et al. (2020)

La digestibilidad *in vitro* del almidón presente en las variaciones de tortillas fue evaluada mediante la tasa de hidrólisis al incubar muestras con α -amilasa pancreática (10 a 30 unidades/mg) y amiloglucosidasa (14 unidades/mg) a 37°C por 2 h bajo agitación suave. La fracción de almidón de rápida digestión (ARD) se tomó como la digerida en 20 min, la fracción de almidón de digestión lenta (ADL) fue la digerida de 20 a 120 min y la fracción no digerida (FND) después de 120 min se calculó mediante la diferencia del almidón total (AT) menos las fracciones ADL y ARD. El contenido total de almidón en la HMBN no se vio afectado significativamente por la adición de extracto acuoso de la planta, mientras que las fracciones de ARD y ALD se redujeron de $46.45 \pm 0.24\%$ (0.0) a $25.24 \pm 0.41\%$ (2.7) y $23.22 \pm 0.29\%$ (0.0) a $16.48 \pm 0.25\%$ (2.7), respectivamente, lo que provocó el aumento de la fracción de almidón no digerida (FND) de 2.06% (0.0) a 30.01% (2.7). Por otra parte, la cinética de hidrólisis enzimática del almidón se cuantificó con la finalidad de determinar la concentración al equilibrio (C_{∞}) y la constante de velocidad de hidrólisis (k_H). Los valores de C_{∞} así como los de k_H fueron significativamente mayores en las tortillas de HMBN que no contenían extracto acuoso de *J. spicigera* y tendieron a disminuir al aumentar el contenido de extracto acuoso, lo que los autores interpretaron como la disminución en las fracciones digeribles del almidón. Los autores mencionan, que de acuerdo con los resultados obtenidos en el ensayo de digestibilidad del almidón *in vitro*, se podrían comercializar tortillas enriquecidas con el extracto acuoso de *J. spicigera* como alimento funcional para las

personas con diabetes mellitus tipo II, ya que es una de las principales enfermedades en la población mexicana, donde la tortilla es base de su alimentación.

Y por último y no menos importante, en un estudio reciente realizado por Arberet y colaboradores (2021) se reportó el posible uso del tinte del muicle en una de las representaciones del Códice Borbónico. En este trabajo se analizaron las señales de fluorescencia características de Raman y UV-VIS de un extracto acuoso del muicle (Figura 13) y se compararon con las capas de pintura marrón en el Códice. Los compuestos que dan al extracto de *J. spicigera* su tonalidad azul fueron aislados y purificados por HPLC-DAD para depositarlos sobre un sustrato sólido y evaluar su posible contribución a la fluorescencia y espectros Raman obtenidos en el Códice Borbónico. Sin embargo, los autores no pudieron darles identidad a los compuestos responsables del color. Una contribución muy importante de este trabajo es que los autores pudieron confirmar que las antocianinas no son responsables del color azul o rojo del tinte, algo que Baqueiro-Peña et al. (2014) y Casanova-González et al. (2012) ya habían planteado antes.

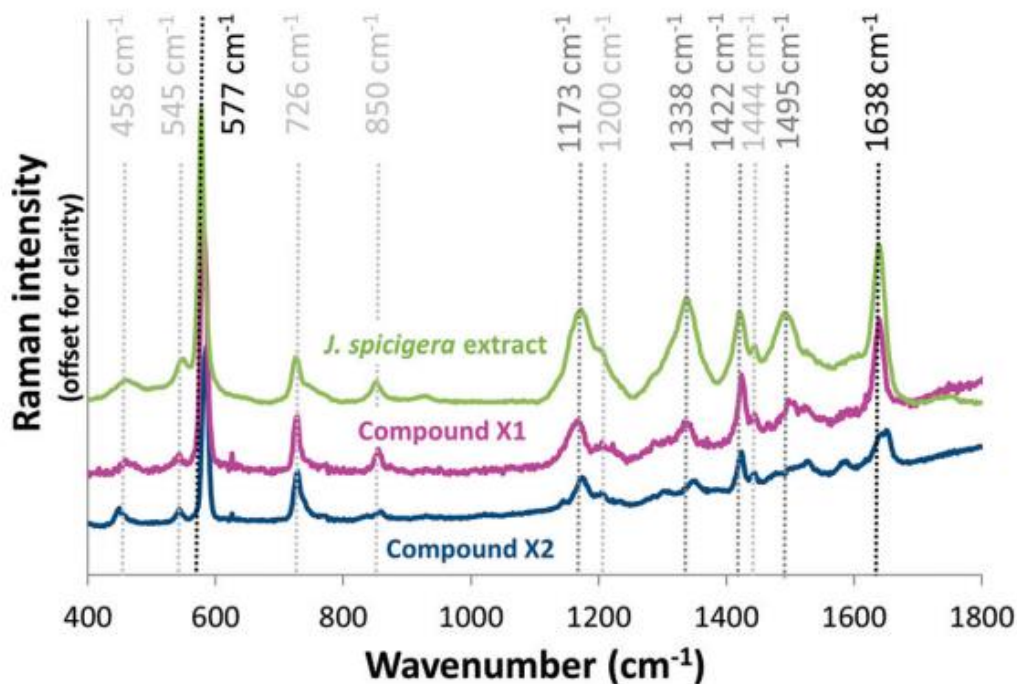


Figura 13. Espectro Raman de los compuestos aislados por Arberet y colaboradores de *Justicia spicigera* y del extracto acuoso. Tomado de Arberet et al., 2021

CONCLUSIONES

Conforme a la revisión que se realizó de *J. spicigera*, se concluye que esta especie ha sido objeto de múltiples investigaciones preclínicas las cuales se enlistan a continuación:

- **Anticancerígena.** El extracto etanólico demostró actividad contra líneas celulares provenientes de cáncer de mama (MCF-7), adenocarcinoma cervical (HeLa) y adenocarcinoma de próstata sensible a andrógenos (LnCaP).
- **Inmunomoduladora.** El extracto etanólico presentó una actividad superior a la ejercida por lipopolisacáridos y una evidente actividad sobre las respuestas inmunitarias mediadas por macrófagos, esplenocitos y células NK.
- **Antiparasitaria.** Los extractos alcohólicos (metanólico y etanólico) presentaron actividad contra *Giardia duodenalis*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania mexicana* y *Schistosoma mansoni*.
- **Antibacteriana.** El extracto etanólico resultó tener actividad contra *Acinetobacter lwoffii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium* y *Shigella flexneri* y, el extracto acuoso sobre *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter aerogenes*.
- **Antimicótica.** El extracto etanólico demostró actividad contra *Candida tropicalis* y *Trichosporon beigellii*, mientras que la fracción hexánica del extracto etanólico demostró actividad potencial contra *Candida albicans*. El extracto acuoso demostró actividad contra enfermedades en plantas causadas por *Macrophomina phaseolina*, *Alternaria alternate*, *Colletotrichum sp.* y *Fusarium solani*.
- **Antidiabética.** El extracto etanólico demostró reducir los niveles de glucosa en ratas normoglicémicas y diabéticas a corto plazo (no más de 4 h). Además, uno de los mecanismos a través de los cuales ejerce sus efectos es la captación de glucosa por adipocitos murinos.
- **Antihipertensiva.** El extracto clorofórmico redujo la presión arterial de ratas hipertensas, mientras que el extracto acuoso solo redujo la presión diastólica.
- **Antiinflamatoria.** El extracto etanólico mostró un evidente efecto sobre marcadores hepáticos relacionados con la inflamación, además el extracto metanólico logró reducir el edema en pata de rata.
- **Sistema Nervioso Central (SNC).** El extracto etanólico demostró una evidente actividad antinociceptiva, el extracto acuoso actividad anticonvulsiva y efectos de tipo ansiolítico al

interactuar con hormonas ováricas producidas en las fases proestro y estro del ciclo estral de ratas hembras.

- **Actividad gastrointestinal.** El extracto etanólico presentó actividad como espasmolítico.

Como se puede observar en las actividades anteriormente enlistadas, el extracto acuoso que es el de consumo frecuente en población mexicana no se ha evaluado ampliamente. Además, cabe destacar que solo existen estudios en los que se evalúa la toxicidad aguda ejercida por los extractos de esta especie y solamente de manera complementaria a la evaluación de otras actividades, sin embargo, es necesario realizar estudios de toxicidad crónica cuya duración es de 6 meses a un año, esto debido a que la especie vegetal es utilizada en enfermedades crónicas, como lo son, la diabetes e hipertensión, y que su forma de uso está principalmente indicada como agua de tiempo.

Por otro lado, *J. spicigera* posee como principal metabolito a la canferitrina, la cual resultó tener una gran cantidad de actividades farmacológicas, sin embargo, debería de evitarse su uso con fármacos metabolizados por algunas isoformas del citocromo P450, las cuales son: CYP1A2, CYP3A4 y CYP2C9, ya que este flavonoide resultó inhibir su actividad. Adicionalmente, a las actividades presentadas por *J. spicigera*, este metabolito presentó actividad contra la artritis reumatoide, osteoporosis, nefropatía diabética, diurética, natriurética, protección de la membrana renal, contra el virus de la hepatitis C y SARS-CoV-2. Cabe destacar que, en cuanto a su actividad antidiabética, la canferitrina logró inhibir *in vitro* la actividad de la maltasa, sacarasa y α -glucosidasa (levadura y mamífero), adicionalmente, sus efectos se vieron abolidos por inhibidores de PI3K, proteína cinasa C y GLUT4, su translocación y activación; también logró ejercer un aumento sobre la actividad de la fosfofructocinasa. Adicionalmente, es importante mencionar que la canferitrina no resultó ser activa contra la PTP1B ni contra la DPP-IV.

Sobre el procumbenósido B, solo se ha evaluado su actividad como agente antiinflamatorio, en realidad, hasta la actualidad solo existen dos documentos de actividad farmacológica en la que se evalúan procumbenósidos. Finalmente, la alantoína es un metabolito el cual ha ido ampliamente estudiado e incluso se incluye en la formulación de productos cosméticos y medicamentos, es por eso que en este trabajo solo se incluyeron algunas actividades relacionadas a la actividad farmacológica presentada por *J. spicigera*.

Es importante resaltar que una gran cantidad de autores han reportado actividad antioxidante por ensayos químicos, sin embargo, no se pueden hacer comparaciones entre sus resultados debido a que no se reportan las mismas unidades y condiciones de extracción. Como se pudo constatar, diferentes extractos de *J. spicigera* han sido ampliamente utilizados para determinar compuestos fenólicos y flavonoides. Pero aún falta realizar investigaciones precisas y aislar e identificar los compuestos polifenólicos que pudiera contener la especie.

Con relación a su composición química, se han aislado solo unos pocos compuestos como son el flavonoide canferitrina, que se presenta como el mayoritario de la especie. Adicionalmente la presencia del procumbenósido B, permite establecer una relación quimiotaxonómica con el género *Justicia*, ya que este tipo de lignanos son comunes. La presencia de una flourenona deberá ser confirmada, ya que este hallazgo representa algo muy importante para la especie.

Del género *Justicia* de 2012 a 2021 se han aislado un total de 134 compuestos, los cuales incluyen lignanos, flavonoides, terpenoides, compuestos fenólicos, alcaloides, derivados de ácidos grasos y de estructuras diversas.

Con respecto a la estructura del tinte, esta aún no se conoce. Inicialmente se atribuyó a las antocianinas, sin embargo, es una imprecisión que comenzó con Domínguez et al. (1990) quien afirmó haber aislado una “probable” antocianina polar como un compuesto fluorescente. A partir de ahí, una gran cantidad de autores continuaron reproduciendo esta confusión (Pavón-García et al., 2011; Casanova-González et al., 2012b; Cassani et al., 2004; Awad et al., 2018). Por su parte Baqueiro-Peña et al. (2017) y Arberet y colaboradores (2021) refutan esta afirmación al comprobar por SERS que las bandas características del principio colorante no son propias de antocianinas, sin embargo, no lograron identificar la estructura de dicho compuesto. Los análisis realizados por Arberet y col. (2021) permiten refutar completamente la teoría de que las antocianinas son las responsables del color del tinte.

De acuerdo con lo revisado sobre el pigmento, éste tiene un gran potencial en el área de alimentos y como se pudo constatar en las investigaciones realizadas, éste podría incorporarse, por ejemplo, a las tortillas, y ser consumidas por personas que padecen de diabetes mellitus tipo II, que es una de las principales enfermedades en la población mexicana, donde la tortilla es base de la alimentación.

REFERENCIAS

INTRODUCCIÓN

Organización Mundial de la Salud. (2013). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional, 2014-2023. [Internet]. Ginebra: OMS. Recuperado el 14 de septiembre de 2021, de <http://web.minsal.cl/sites/default/files/files/s21201es.pdf>

Resolución WHA62.13 de la Asamblea Mundial de la Salud. Medicina tradicional. 14 de septiembre de 2021, de http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/4262/A62_R13-sp.pdf?sequence=1

Resolución WHA56.31 de la Asamblea Mundial de la Salud. Medicina tradicional. 14 de septiembre de 2021, de <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/80225/sa56r31.pdf?sequence=1>

Zolla C. Y Mellado V. (1995). *La función de la medicina doméstica en el medio rural mexicano*. En: Las mujeres y la salud, González Montes S. (p.71). (ed), El Colegio de Mexico, D.F.

CAPÍTULO 1

AIMN, Anales del Instituto Médico Nacional. En: El estudio, tomo III. México: Oficina Tipográfica de la Secretaría de Fomento; 1897. p. 89.

Araiza Mancio, A. (2000). Presencia del muicle (*Justicia spicigera* Schlecht) en la herbolaria mexicana. Tesis de Licenciatura, UNAM.

Arberet, L., Pottier, F., Michelin, A., Nowik, W., Bellot-Gurlet, L. & Andraud, C. (2021). Spectral characterisation of a traditional Mesoamerican dye: relationship between in situ identification on the 16th century Codex Borbonicus manuscript and composition of *Justicia spicigera* plant extract. *Analyst*, 146, 2520-2530.

Atlas de la Medicina Tradicional de México del INI/UNAM/INPI/DGTIC. (2009). Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. Recuperado el 30 de agosto de 2021, de <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/>

Biblioteca Digital Mundial. (2021). *Códice Florentino*. Recuperado el 30 de agosto de 2021, de <https://www.wdl.org/es/search/?q=codice+florentino#10622>

Cervantes V. Ensayo a la materia médica vegetal de México. En: El Estudio. México: Oficina Tipográfica de la Secretaría de Fomento; 1889. p. 10

Copia de Códice Florentino. (2021). Mediateca - Instituto Nacional de Antropología e Historia. Recuperado el 30 de agosto de 2021, de <http://mediateca.inah.gob.mx/repositorio/islandora/object/codice:1595>

De la Cal A. Ensayo para la Materia Médica Mexicana, arreglado por una comisión nombrada por la Academia Médico-Quirúrgica de esta capital. Puebla: Oficina del Hospital de San Pedro; 1832. p. 28.

Digital Collections - National Library of Medicine. (2021). US National Library of Medicine (NLM). Recuperado el 30 de agosto de 2021, de <https://collections.nlm.nih.gov/>

- 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.
- FM, Farmacopea Mexicana. Formada y publicada por la Academia Farmacéutica. México. Imprenta a cargo de Manuel N. de la Vega; 1846. p. 43.
- Gallica*. (2021). Biblioteca Nacional de Francia. Recuperado el 30 de agosto de 2021, de <https://gallica.bnf.fr/accueil/fr/content/accueil-fr?mode=desktop>
- Jansen, M.E.R.G.N.J., Lladó-Buisán, V. M. & Snijders, L. (2019). *Mesoamerican Manuscripts. New Scientific Approaches and Interpretations*. Vol. 8. (p. 146). Leiden-Boston.
- Las obras completas de Francisco Hernández en la UNAM*. (2015). Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Recuperado el 30 de agosto de 2021, de <http://www.franciscohernandez.unam.mx/home.html>
- Lorente Fernández. (2020). El cuerpo, el alma, la palabra: Medicina Nahua en la Sierra de Texcoco. (p. 201). Ed. Artes de México y del Mundo, Ciudad de México.
- NFM, Nueva Farmacopea Mexicana, de la Sociedad Farmacéutica de México. Tercera edición. México: Oficina Tipográfica de la Secretaría de Fomento; 1896. p. 120.
- NFM. Nueva Farmacopea Mexicana, de la Sociedad Farmacéutica de México. México, Imprenta de Ignacio Escalante; 1874. p. 160.
- Peña Sánchez, E.Y. & Hernández Albarrán L. (2014). Ed Instituto Nacional de Antropología e Historia, México D.F.
- Rosas-López, R. (2015). Contribución al conocimiento etnofarmacobiológico de plantas medicinales de la región Cañada, Oaxaca. *Revista Iberoamericana de Producción Académica y Gestión Educativa*.
- Sánchez Rosales, G. (2012). El Instituto Médico Nacional y los inicios de la investigación médico-científica. *Ciencia*. 10–17.
- Sessé, Martín y Mociño Mariano (autores). *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.
- Urbina, M. (1903). Plantas comestibles de los antiguos mexicanos. *Anales del Museo Nacional de México*. 8(1): 503–571.
- Villavicencio Nieto, M. Á. (2005). Guía de la flora útil de la Huasteca y la zona Otomí-Tepihua, Hidalgo I. (pp. 21-25). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo.
- Yanes Rizo, E. (2006). The Tortilla as a Canvas. *Rituales del maíz*, Artes de México. (p. 78, 78-79).

CAPÍTULO 2

- Daniel, T.F, & S. Acosta, C. (2003). Familia Acanthaceae. Flora del Bajío y Regiones Adyacentes. Fascículo 117. Instituto de Ecología A.C., Centro Regional del Bajío, Pátzcuaro, Michoacán, México.

Ezcurra C. (2002). El Género *Justicia* (Acanthaceae) en Sudamérica Austral. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 89 (2): 225-280.

CAPÍTULO 3

Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2012). Propiedades y generalidades de las respuestas inmunitarias. *Inmunología celular y molecular*. (7.^a ed., 2–13). McGraw-Hill Education.

Abe, F., Nagafuji, S., Okawa, M., Kinjo, J., Akahane, H., Ogura, T., Martinez-Alfaro, M. A., & 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 & pharmaceutical bulletin*, 28(7), 1314–1317. <https://doi.org/10.1248/bpb.28.1314>

Adam R. D. (2001). Biology of *Giardia lamblia*. *Clinical microbiology reviews*, 14(3), 447–475. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.3.447-475.2001>

Alonso-Castro, A. J., Ortiz-Sánchez, E., Domínguez, F., Arana-Argáez, V., Juárez-Vázquez, M. D. C., Chávez, M., Carranza-Álvarez, C., Gaspar-Ramírez, O., Espinosa-Reyes, G., López-Toledo, G., Ortiz-Andrade, R., & García-Carrancá, A. (2012). Antitumor and immunomodulatory effects of *Justicia spicigera* Schltl (Acanthaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 141(3), 888–894. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.03.036>

Ángeles-López, G. E., González-Trujano, M. E., Rodríguez, R., Déciga-Campos, M., Brindis, F., & Ventura-Martínez, R. (2019). Gastrointestinal activity of *Justicia spicigera* Schltl. in experimental models. *Natural product research*, 1–5. Advance online publication. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1637873>

Antibiotic resistance. (2020, 31 julio). World Health Organization (WHO). Recuperado el 24 de agosto de 2021, de <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>

Awad, N. E., Abdelkawy, M. A., Abdel Rahman, E. H., Hamed, M. A., & Ramadan, N. S. (2018). Phytochemical and in vitro Screening of *Justicia spicigera* Ethanol Extract for Antioxidant Activity and in vivo Assessment Against *Schistosoma mansoni* Infection in Mice. *Anti-Infective Agents*, 16(1), 49–56. <https://doi.org/10.2174/2211352516666180126161247>

Barrot, M. (2012). Tests and models of nociception and pain in rodents. *Neuroscience*, 211, 39–50. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.12.041>

Bernardo-Mazariegos, E., Valdez-Salas, B., González-Mendoza, D., Abdelmoteleb, A., Tzintzun Camacho, O., Ceceña Duran, C., & Gutiérrez-Miceli, 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(2), 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.05.002>

Bernardo-Mazariegos, E., Valdez-Salas, B., González-Mendoza, D., Abdelmoteleb, A., Tzintzun Camacho, O., Ceceña Duran, C., & Gutiérrez-Miceli, 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(2), 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.05.002>

Bryan, N. S., & Grisham, M. B. (2007). Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples. *Free Radical Biology and Medicine*, 43(5), 645–657. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.04.026>

Cáceres-Cortés, J. R., Cantú-Garza, F. A., Mendoza-Mata, M. T., Chávez-González, M. A., Ramos-Mandujano, G., & Zambrano-Ramírez, I. R. (2001). Cytotoxic activity of *Justicia spicigera* is inhibited by bcl-2 proto-oncogene and induces apoptosis in a cell cycle dependent fashion. *Phytotherapy Research*, 15(8), 691–697. <https://doi.org/10.1002/ptr.791>

Campbell, D. J. (2006). L-NAME hypertension: trying to fit the pieces together. *Journal of Hypertension*, 24(1), 33–36. <https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000198042.24257.bf>

Cancer. (2019, 12 julio). World Health Organization (WHO). Recuperado el 24 de agosto de 2021, de https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1

CARACTERÍSTICAS DE LAS DEFUNCIONES REGISTRADAS EN MÉXICO DURANTE ENERO A AGOSTO DE 2020. (2021, 27 enero). Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). Recuperado el 24 de agosto de 2021, de https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2021/EstSociodemo/DefuncionesRegistradas2020_Pnles.pdf

Corzo-León, D. E., Armstrong-James, D., & Denning, D. W. (2015). Burden of serious fungal infections in Mexico. *Mycoses*, 58, 34–44. <https://doi.org/10.1111/myc.12395>

Diabetes en población de 20 años y más años. (2018). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT). Recuperado el 24 de agosto de 2021, de https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut_2018_presentacion_resultados.pdf

Diabetes. (2019, 13 mayo). World Health Organization (WHO). Recuperado el 24 de agosto de 2021, de https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1

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. *Pharmacologyonline*. 2. 120-127.

Fernández-Pomares, C., Juárez-Aguilar, E., Domínguez-Ortiz, M. N., Gallegos-Estudillo, J., Herrera-Covarrubias, D., Sánchez-Medina, A., Aranda-Abreu, G. E., Manzo, J., & Hernández, M. E. (2018). Hydroalcoholic extract of the widely used Mexican plant *Justicia spicigera* Schlttdl. exerts a cytostatic effect on LNCaP prostate cancer cells. *Journal of Herbal Medicine*, 12, 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2017.09.003>

García-Ríos, R. I., Mora-Pérez, A., González-Torres, D., Carpio-Reyes, R. J., & Soria-Fregozo, C. (2019). Anxiolytic-like effect of the aqueous extract of *Justicia spicigera* leaves on female rats: A comparison to diazepam. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 55, 9–13. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.07.007>

González-Tovar, A.E., Osorio-Trujillo, C. & Talamás-Rohana, P. (2017). Leishmanosis. En *Revista Ciencia*, 68(1), 38–41. https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/images/revista/68_1/PDF/Leishmaniosis.pdf

- González-Trujano, M. E., Domínguez, F., Pérez-Ortega, G., Aguillón, M., Martínez-Vargas, D., Almazán-Alvarado, S., & Martínez, A. (2017). Justicia spicigera Schltld. and kaempferitrin as potential anticonvulsant natural products. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 92, 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.05.075>
- Hams, E., Aviello, G., & Fallon, P. G. (2013). The schistosoma granuloma: friend or foe? *Frontiers in immunology*, 4, 89. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00089>
- Hemmige, V., Tanowitz, H., & Sethi, A. (2012). Trypanosoma cruzi infection: a review with emphasis on cutaneous manifestations. *International journal of dermatology*, 51(5), 501–508. <https://doi.org/10.1111/j.1365-4632.2011.05380.x>
- Huff, S. J. (2021, 17 enero). *Seizure - StatPearls - NCBI bookshelf*. National Center for Biotechnology Information (NCBI). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430765/>
- Inayat-Hussain, S., RAJAB, N. F., & SIEW, E. L. (2009). In vitro testing of biomaterials toxicity and biocompatibility. *Cellular Response to Biomaterials*, 508–537. <https://doi.org/10.1533/9781845695477.3.508>
- Jacobo-Salcedo, M. D. R., Alonso-Castro, A. J., Salazar-Olivo, L. A., Carranza-Alvarez, C., González-Espíndola, L. N., Domínguez, F., Maciel-Torres, S. P., García-Lujan, C., González-Martínez, M. D. R., Gómez-Sánchez, M., Estrada-Castillón, E., Zapata-Bustos, R., Medellín-Milán, P., & García-Carrancá, A. (2011). Antimicrobial and Cytotoxic Effects of Mexican Medicinal Plants. *Natural Product Communications*, 6(12), 1934578X1100601. <https://doi.org/10.1177/1934578x1100601234>
- Kuete, V., Karaosmanoğlu, O., & Sivas, H. (2017). Anticancer Activities of African Medicinal Spices and Vegetables. *Medicinal Spices and Vegetables from Africa*, 271–297. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809286-6.00010-8>
- Magos-Guerrero, G. A., Santiago-Mejía, J., & Carrasco, O. F. (2017). Exploratory studies of some Mexican medicinal plants: Cardiovascular effects in rats with and without hypertension. *Journal of intercultural ethnopharmacology*, 6(3), 274–279. <https://doi.org/10.5455/jice.20170706061922>
- Maldonado-Saavedra, O., Ramírez-Sánchez, I., García-Sánchez, J., Ceballos-Reyes, G., & Méndez-Bolaina, E. (2012). Colesterol: Función biológica e implicaciones médicas. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 43(2), 7-22. Recuperado en 18 de agosto de 2021, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952012000200002&lng=es&tlng=es
- Meckes, M., David-Rivera, A. D., Nava-Aguilar, V., & Jimenez, A. (2004). Activity of some Mexican medicinal plant extracts on carrageenan-induced rat paw edema. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 11(5), 446–451. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2003.06.002>
- Mendoza-Patiño, N. (2008). Farmacología preclínica. *Farmacología medica/Medical Pharmacology*. (1ª edición, pp. 139-146). Editorial Médica Panamericana.
- Montaño-Estrada, L., Fortoul Van der Goes, T., & Rendón-Huerta, E. (2017). ¿Qué son los inflamomas? El NLRP3 como, por ejemplo. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 60(1), 42-49. Recuperado en 18 de agosto de 2021, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0026-17422017000100042&lng=es&tlng=es

- Ochoa-Carrillo, F. J. (2013, 1 enero). Los macrófagos, ángeles o demonios | Gaceta Mexicana de Oncología. ELSEVIER. <https://www.elsevier.es/en-revista-gaceta-mexicana-oncologia-305-articulo-los-macrofagos-angeles-o-demonios-X1665920113933087>
- Ortiz-Andrade, R., Cabañas-Wuan, A., Arana-Argáez, V. E., Alonso-Castro, A. J., Zapata-Bustos, R., Salazar-Olivo, L. A., Domínguez, F., Chávez, M., Carranza-Álvarez, C., & García-Carrancá, A. (2012). Antidiabetic effects of *Justicia spicigera* Schltdl (Acanthaceae). *Journal of ethnopharmacology*, 143(2), 455–462. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.06.043>
- Patil, K. R., Mahajan, U. B., Unger, B. S., Goyal, S. N., Belemkar, S., Surana, S. J., Ojha, S., & Patil, C. R. (2019). Animal Models of Inflammation for Screening of Anti-inflammatory Drugs: Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals. *International journal of molecular sciences*, 20(18), 4367. <https://doi.org/10.3390/ijms20184367>
- Peraza-Sánchez, S. R., Cen-Pacheco, F., Noh-Chimal, A., May-Pat, F., Simá-Polanco, P., Dumonteil, E., García-Miss, M. R., & Mut-Martín, M. (2007). Leishmanicidal evaluation of extracts from native plants of the Yucatan peninsula. *Fitoterapia*, 78(4), 315–318. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2007.03.013>
- Peraza-Sánchez, S. R., Poot-Kantún, S., Toores-Tapia, L. W., 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. <https://doi.org/10.1080/13880200500301720>
- Pick, E., & Mizel, D. (1981). Rapid microassays for the measurement of superoxide and hydrogen peroxide production by macrophages in culture using an automatic enzyme immunoassay reader. *Journal of immunological methods*, 46(2), 211–226. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(81\)90138-1](https://doi.org/10.1016/0022-1759(81)90138-1)
- Ponce-Macotela, M., Rufino-González, Y., de la Mora-de la Mora, J. I., González-Maciél, A., Reynoso-Robles, R., & Martínez-Gordillo, M. N. (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
- 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: eCAM*, 2012, 701261. <https://doi.org/10.1155/2012/701261>
- Real-Sandoval, S. A., Gutiérrez-López, G. F., Domínguez-López, A., Paniagua-Castro, N., Michicotl-Meneses, M. M., & Jaramillo-Flores, M. E. (2020). Downregulation 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. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103781>
- Sapra, A. (2021, febrero 23). *Diabetes Mellitus - StatPearls - NCBI Bookshelf*. National Center for Biotechnology Information (NCBI). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551501/>
- Shaker, Y., Samy, N., & Ashour, E. (2014). Hepatobiliary Schistosomiasis. *Journal of clinical and translational hepatology*, 2(3), 212–216. <https://doi.org/10.14218/JCTH.2014.00018>

- Ströhle, A., Gensichen, J., & Domschke, K. (2018). The Diagnosis and Treatment of Anxiety Disorders. *Deutsches Arzteblatt international*, 155(37), 611–620. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2018.0611>
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2013). Capítulo 20. Fármacos antimicrobianos. *Introducción a la microbiología* (9.^a ed., 581–612). Editorial Médica Panamericana.
- Tortora, G., & Derrickson, B. (2013). Capítulo 18. El Sistema Endocrino. *Principios de anatomía y fisiología*. (13.^a ed., 683–687). Editorial Medica Panamericana.
- Vega-Ávila, Elisa, Tapia-Aguilar, Rafaela, Reyes-Chilpa, Ricardo, Guzmán-Gutiérrez, Silvia Laura, Pérez-Flores, Javier, & Velasco-Lezama, Rodolfo. (2012). Actividad antibacteriana y antifúngica de *Justicia spicigera*. *Revista latinoamericana de química*, 40(2), 75-82. Recuperado en 19 de mayo de 2021, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-59432012000200003&lng=es&tlng=es
- Wile, D. B., & Wilding, J. P. (2014). Glucose metabolism and the pathophysiology of diabetes mellitus. *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*, 273–304. <https://doi.org/10.1016/b978-0-7020-5140-1.00015-8>
- Zapata-Morales, J. R., Alonso-Castro, A. J., Domínguez, F., Carranza-Álvarez, C., Castellanos, L. M., Martínez-Medina, R. M., & Pérez-Urizar, J. (2016). Antinociceptive Activity of an Ethanol Extract of *Justicia spicigera*. *Drug development research*, 77(4), 180–186. <https://doi.org/10.1002/ddr.21307>
- Zarranz, J. J. (2002). Capítulo 2. Técnicas complementarias del diagnóstico neurológico. *Neurología* (3.^a ed., 38–40). Harcourt Brace de España, SA.

CAPÍTULO 4

- Alonso-Castro, A. J., Ortiz-Sánchez, E., Domínguez, F., Arana-Argáez, V., Juárez-Vázquez, M., Chávez, M., Carranza-Álvarez, C., Gaspar-Ramírez, O., Espinosa-Reyes, G., López-Toledo, G., Ortiz-Andrade, R., & García-Carrancá, A. (2012). Antitumor and immunomodulatory effects of *Justicia spicigera* Schltdl (Acanthaceae). *Journal of ethnopharmacology*, 141(3), 888–894. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.03.036>
- Anaya-Esparza, L. M., Ramos-Aguirre, D., Zamora-Gasga, V. M., Yahia, E., & Montalvo-González, E. (2018). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from *Justicia spicigera* leaves. *Food science and biotechnology*, 27(4), 1093–1102. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0350-0>
- Ángeles-López, G. E., González-Trujano, M. E., Rodríguez, R., Déciga-Campos, M., Brindis, F., & Ventura-Martínez, R. (2019). Gastrointestinal activity of *Justicia spicigera* Schltdl. in experimental models. *Natural product research*, 1–5. Advance online publication. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1637873>
- Anigboro, A. A., Avwioroko, O. J., Akeghware, O., & Tonukari, N. J. (2021a). Anti-obesity, antioxidant and in silico evaluation of *Justicia carnea* bioactive compounds as potential inhibitors of an enzyme linked with obesity: Insights from kinetics, semi-empirical quantum mechanics and molecular docking analysis. *Biophysical Chemistry*, 274, 106607. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2021.106607>

- Anigboro, A. A., Avwioroko, O. J., Ohwokevw, O. A., Pessu, B., & Tonukari, N. J. (2021b). Phytochemical profile, antioxidant, α -amylase inhibition, binding interaction and docking studies of *Justicia carnea* bioactive compounds with α -amylase. *Biophysical Chemistry*, 269, 106529. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2020.106529>
- Awad, N. E., Abdelkawy, M. A., Abdel Rahman, E. H., Hamed, M. A., & Ramadan, N. S. (2018). Phytochemical and in vitro Screening of *Justicia spicigera* Ethanol Extract for Antioxidant Activity and in vivo Assessment Against Schistosoma mansoni Infection in Mice. *Anti-Infective Agents*, 16(1), 49–56. <https://doi.org/10.2174/2211352516666180126161247>
- Baqueiro-Peña, I., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2017). Physicochemical and antioxidant characterization of *Justicia spicigera*. *Food chemistry*, 218, 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.078>
- Calderón, A. I., Hodel, A., Wolfender, J. L., Gupta, M. P., Correa, M., & Hostettmann, K. (2013). LC–DAD–MS-based metabolite profiling of three species of *Justicia* (Acanthaceae). *Natural Product Research*, 27(15), 1335–1342. <https://doi.org/10.1080/14786419.2012.738207>
- Cassani, J., Dorantes-Barrón, A. M., Novales, L. M., Real, G. A., & Estrada-Reyes, R. (2014). Anti-depressant-like effect of kaempferitrin isolated from *Justicia spicigera* Schltdl (Acanthaceae) in two behavior models in mice: evidence for the involvement of the serotonergic system. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 19(12), 21442–21461. <https://doi.org/10.3390/molecules191221442>
- Corrêa, G. M., & Alcântara, A. F. D. C. (2012). Chemical constituents and biological activities of species of *Justicia*: a review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22(1), 220–238. <https://doi.org/10.1590/s0102-695x2011005000196>
- Dhankhar, S., Dhankhar, S., Ruhil, S., Balhara, M., Malik, V., & Chhillar, A. (2014). Isolation and Biological Evaluation of Novel Tetracosahexaene Hexamethyl, an Acyclic Triterpenoids Derivatives and Antioxidant from *Justicia adhatoda*. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 17(8), 723–732. <https://doi.org/10.2174/1386207317666140708091552>
- Domínguez, X.A., Achenback, H., Conzález, C.C., Ferré-D'Amare, A.R. (1990). Estudio químico del muitle (*Justicia spicigera*). *Revista Latinoamericana de Química* 21:142-143.
- dos Santos Maia, M., Raimundo E Silva, J. P., de Lima Nunes, T. A., Saraiva De Sousa, J. M., Soares Rodrigues, G. C., Messias Monteiro, A. F., Fachine Tavares, J., da Franca Rodrigues, K. A., B. Mendonça-Junior, F. J., Scotti, L., & Scotti, M. T. (2020). Virtual Screening and the In Vitro Assessment of the Antileishmanial Activity of Lignans. *Molecules*, 25(10), 2281. <https://doi.org/10.3390/molecules25102281>
- Esquivel-Gutiérrez, E., Noriega-Cisneros, R., Arellano-Plaza, M., Ibarra-Barajas, M., Salgado-Garciglia, R. & Saavedra-Molina, Alfredo. (2013). Antihypertensive effect of *Justicia spicigera* in L-NAME-induced hypertensive rats. *Pharmacologyonline*. 2. 120-127.
- Euler, K. L., & Alam, M. (1982). Isolation of Kaempferitrin From *Justicia spicigera*. *Journal of Natural Products*, 45(2), 220–221. <https://doi.org/10.1021/np50020a020>
- Fried, R. (2014). The Polyphenolic Antioxidant Resveratrol, the Carotenoid Lycopene, and the Proanthocyanidin Pycnogenol. *Erectile Dysfunction As a Cardiovascular Impairment*, 259–291. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-420046-3.00009-3>

- García-Márquez, E., & Román-Guerrero, A., & Pérez-Alonso, C., & Cruz-Sosa, F., & Jiménez-Alvarado, R., & Vernon-Carter, E.J. (2012). EFFECT OF SOLVENT-TEMPERATURE EXTRACTION CONDITIONS ON THE INITIAL ANTIOXIDANT ACTIVITY AND TOTAL PHENOLIC CONTENT OF MUILTE EXTRACTS AND THEIR DECAY UPON STORAGE AT DIFFERENT pH. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 11(1), 1-10. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62024415001>
- García-Márquez, E., Román-Guerrero, A., Pérez-Alonso, C., Cruz-Sosa, F., Jiménez-Alvarado, R., & Vernon-Carter, E.J. (2012). Effect of solvent-temperature extraction conditions on the initial antioxidant activity and total phenolic content of muitle extracts and their decay upon storage at different pH. *Revista mexicana de ingeniería química*, 11(1), 1-10. Retrieved May 19, 2021, from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382012000100001&lng=en&tlng=
- Gómez Verjan, J. (2010). Ensayos de actividad biológica y búsqueda de metabolitos secundarios de *Justicia spicigera*. Tesis de maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México.
- González-Trujano, M. E., Domínguez, F., Pérez-Ortega, G., Aguillón, M., Martínez-Vargas, D., Almazán-Alvarado, S., & Martínez, A. (2017). *Justicia spicigera* Schltld. and kaempferitrin as potential anticonvulsant natural products. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 92, 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.05.075>
- Jiang, J., Dong, H., Wang, T., Zhao, R., Mu, Y., Geng, Y., Zheng, Z., & Wang, X. (2017). A Strategy for Preparative Separation of 10 Lignans from *Justicia procumbens* L. by High-Speed Counter-Current Chromatography. *Molecules*, 22(12), 2024. <https://doi.org/10.3390/molecules22122024>
- Jin, H., Chen, L., Tian, Y., Li, B., & Dong, J. X. (2014). New cyclopeptide alkaloid and lignan glycoside from *Justicia procumbens*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 17(1), 33–39. <https://doi.org/10.1080/10286020.2014.968560>
- Jin, H., Yang, S., & Dong, J. X. (2016). New lignan glycosides from *Justicia procumbens*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 19(1), 1–8. <https://doi.org/10.1080/10286020.2016.1241771>
- Kiren, Y., Deguchi, J., Hirasawa, Y., Morita, H., & Prajogo, B. (2014). Justidrusamides A–D, new 2-aminobenzyl alcohol derivatives from *Justicia gendarussa*. *Journal of Natural Medicines*, 68(4), 754–758. <https://doi.org/10.1007/s11418-014-0862-8>
- Litescu, S. C., Eremia, S. A., Tache, A., Vasilescu, I., & Radu, G. L. (2014). The Use of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) Assays in the Assessment of Beverages' Antioxidant Properties. *Processing and Impact on Antioxidants in Beverages*, 245–251. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-404738-9.00025-8>
- Liu, B., Yang, Y., Liu, H., Xie, Z., Li, Q., Deng, M., Li, F., Peng, J., & Wu, H. (2018). Screening for cytotoxic chemical constituents from *Justicia procumbens* by HPLC–DAD–ESI–MS and NMR. *Chemistry Central Journal*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0371-z>
- Luo, Z., Kong, W., Qiu, F., Yang, M., Li, Q., Wei, R., Yang, X., & Qin, J. (2013). Simultaneous determination of seven lignans in *Justicia procumbens* by high performance liquid

- chromatography-photodiode array detection using relative response factors. *Journal of Separation Science*, 36(4), 699–705. <https://doi.org/10.1002/jssc.201200851>
- Lv, J. P., Yang, S., Dong, J. X., & Jin, H. (2020). New cyclopeptide alkaloids from the whole plant of *Justicia procumbens* L. *Natural Product Research*, 1–9. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1758090>
- Martinez-Morales, F., Alonso-Castro, A. J., Zapata-Morales, J. R., Carranza-Álvarez, C., & Aragon-Martinez, O. H. (2020). Use of standardized units for a correct interpretation of IC50 values obtained from the inhibition of the DPPH radical by natural antioxidants. *Chemical Papers*, 74(10), 3325–3334. <https://doi.org/10.1007/s11696-020-01161-x>
- Mfotie Njoya, E. (2021). Medicinal plants, antioxidant potential, and cancer. *Cancer*, 349–357. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819547-5.00031-6>
- Montaño Cruz, Y. (2021). Estudio químico de la especie medicinal *Justicia spicigera* Schltld. (*Acanthaceae*). Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Opitz, S. E., Smrke, S., Goodman, B. A., & Yeretjian, C. (2014). Methodology for the Measurement of Antioxidant Capacity of Coffee. *Processing and Impact on Antioxidants in Beverages*, 253–264. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-404738-9.00026-x>
- Ortiz-Andrade, R., Cabañas-Wuan, A., Arana-Argáez, V. E., Alonso-Castro, A. J., Zapata-Bustos, R., Salazar-Olivo, L. A., Domínguez, F., Chávez, M., Carranza-Álvarez, C., & García-Carrancá, A. (2012). Antidiabetic effects of *Justicia spicigera* Schltld (*Acanthaceae*). *Journal of ethnopharmacology*, 143(2), 455–462. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.06.043>
- Pękal, A., & Pyrzynska, K. (2014). Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Analytical Methods*, 7(9), 1776–1782. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9814-x>
- Perez-Gutierrez, R., Mota-Flores, J., & Neira-Gonzalez, A. (2018). Anti-inflammatory effect of procumbenoside B from *Justicia spicigera* on lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages and zebrafish model. *Pharmacognosy Research*, 10(2), 218. https://doi.org/10.4103/pr.pr_97_17
- Qiu, F., Zhou, S., Fu, S., Kong, W., Yang, S., & Yang, M. (2012). LC–ESI-MS/MS analysis and pharmacokinetics of 6'-hydroxy justicidin A, a potential antitumor active component isolated from *Justicia procumbens*, in rats. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 70, 539–543. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.05.002>
- Ratnavathi, C., & Komala, V. (2016). Sorghum Grain Quality. *Sorghum Biochemistry*, 1–61. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803157-5.00001-0>
- Real-Sandoval, S. A., Gutiérrez-López, G. F., Domínguez-López, A., Paniagua-Castro, N., Michicotl-Meneses, M. M., & Jaramillo-Flores, M. E. (2020). Downregulation 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. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103781>
- Sepúlveda-, G., Reyna-Aqui, C., Chaires-Ma, L., Bermudez-T, K., & Rodriguez-, M. (2009). Antioxidant Activity and Content of Phenolic Compounds and Flavonoids from *Justicia spicigera*. *Journal of Biological Sciences*, 9(6), 629–632. <https://doi.org/10.3923/jbs.2009.629.632>

- Sepulveda-Jiménez, G., Reyna-Aquino, C., Chaires-Martínez, L., Bermúdez-Torres, K., & Rodríguez-Monroy, M. (2009). Antioxidant Activity and Content of Phenolic Compounds and Flavonoids from *Justicia spicigera*. *Journal of Biological Sciences*, 9(6), 629–632. <https://doi.org/10.3923/jbs.2009.629.632>
- Shen, Q., Wang, H., Li, S., Feng, J., Song, G., Zhang, Y., Ma, J., & Wang, H. (2020). Development of a mesoporous silica based solid-phase extraction and ultra-performance liquid chromatography–MS/MS method for quantifying lignans in *Justicia procumbens*. *ELECTROPHORESIS*, 41(5–6), 379–385. <https://doi.org/10.1002/elps.201900401>
- Shukla, S., Hegde, S., Kumar, A., Chaudhary, G., Tewari, S., Upreti, D., & Pal, M. (2017). Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oil from Leaves of *Justicia adhatoda* Against Methicillan Resistant and Sensitive Strain Along with Their Clinical Isolates. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(1), 116–122. <https://doi.org/10.1080/0972060x.2016.1260061>
- Singh, A., Kumar, S., Bajpai, V., & Kumar, B. (2016). Simultaneous determination of pyroquinazoline alkaloids and flavonoids in *Adhatoda beddomei* and *Adhatoda vasica* and their marketed herbal formulations using ultra-high-performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole linear ion trap mass. *Biomedical Chromatography*, 31(3), e3827. <https://doi.org/10.1002/bmc.3827>
- Singh, A., Kumar, S., Bajpai, V., Reddy, T. J., Rameshkumar, K. B., & Kumar, B. (2015). Structural characterization of flavonoid C- and O-glycosides in an extract of *Adhatoda vasica* leaves by liquid chromatography with quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 29(12), 1095–1106. <https://doi.org/10.1002/rcm.7202>
- Soosairaj, S. & Dons, T. (2016). Bio-active compounds analysis and characterization in ethanolic plant extracts of *Justicia tranquebariensis* L. (Acanthaceae) – Using GC-MS. 9. 260-265.
- Souza, L., Almeida, M., Lemos, T., Ribeiro, P., Canuto, K., Braz-Filho, R., del Cistia, C., Sant'Anna, C. M., Barreto, F., & de Moraes, M. (2016). Brazoides A-D, New Alkaloids from *Justicia gendarussa* Burm. F. Species. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. Published. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20160291>
- Theiler, B. A., Istvanits, S., Zehl, M., Marcourt, L., Urban, E., Caisa, L. O. E., & Glasl, S. (2016). HPTLC Bioautography Guided Isolation of α -Glucosidase Inhibiting Compounds from *Justicia secunda* Vahl (Acanthaceae). *Phytochemical Analysis*, 28(2), 87–92. <https://doi.org/10.1002/pca.2651>
- Vega-Avila, Elisa, Tapia-Aguilar, Rafaela, Reyes-Chilpa, Ricardo, Guzmán-Gutiérrez, Silvia Laura, Pérez-Flores, Javier, & Velasco-Lezama, Rodolfo. (2012). Actividad antibacteriana y antifúngica de *Justicia spicigera*. *Revista latinoamericana de química*, 40(2), 75-82. Recuperado en 19 de mayo de 2021, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-59432012000200003&lng=es&tlng=es
- Zapata-Morales, J. R., Alonso-Castro, A. J., Domínguez, F., Carranza-Álvarez, C., Castellanos, L. M., Martínez-Medina, R. M., & Pérez-Urizar, J. (2016). Antinociceptive Activity of an Ethanol Extract of *Justicia spicigera*. *Drug development research*, 77(4), 180–186. <https://doi.org/10.1002/ddr.21307>

- Zhang, H. X., Xia, Z., Xu, T. Q., Chen, Y. M., & Zhou, G. X. (2020). New compounds from the aerial parts of *Justicia gendarussa* Burm.f. and their antioxidant and anti-inflammatory activities. *Natural Product Research*, 1–9. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1710708>
- Zhang, H. X., Xia, Z., Xu, T. Q., Xu, W., Chen, Y. M., & Zhou, G. X. (2021). One pair of new enantiomeric trinorsesquiterpenes from the aerial parts of *Justicia gendarussa*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 1–8. <https://doi.org/10.1080/10286020.2021.1871603>
- Zhao, Y., Ku, C. F., Xu, X. Y., Tsang, N. Y., Zhu, Y., Zhao, C. L., Liu, K. L., Li, C. C., Rong, L., & Zhang, H. J. (2021). Stable Axially Chiral Isomers of Arylnaphthalene Lignan Glycosides with Antiviral Potential Discovered from *Justicia procumbens*. *The Journal of Organic Chemistry*, 86(8), 5568–5583. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c00068>
- Zhou, P., Luo, Q., Ding, L., Fang, F., Yuan, Y., Chen, J., Zhang, J., Jin, H., & He, S. (2015). Preparative Isolation and Purification of Lignans from *Justicia procumbens* Using High-Speed Counter-Current Chromatography in Stepwise Elution Mode. *Molecules*, 20(4), 7048–7058. <https://doi.org/10.3390/molecules20047048>

CAPÍTULO 5

- Akmal, M. (2021, 13 julio). *Alpha Glucosidase Inhibitors - StatPearls - NCBI Bookshelf*. National Center for Biotechnology Information (NCBI). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557848/>
- Alonso-Castro, A. J., Ortiz-Sánchez, E., García-Regalado, A., Ruiz, G., Núñez-Martínez, J. M., González-Sánchez, I., Quintanar-Jurado, V., Morales-Sánchez, E., Dominguez, F., López-Toledo, G., Cerbón, M. A., & García-Carrancá, A. (2013). Kaempferitrin induces apoptosis via intrinsic pathway in HeLa cells and exerts antitumor effects. *Journal of ethnopharmacology*, 145(2), 476–489. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.11.016>
- Amalia, A., Maslikah, S. I., & Lestari, S. R. (2020). Virtual screening flavonoid compounds from red betel (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) as inhibitor of cyclooxygenase-2 (COX-2). *PROCEEDINGS OF THE 3RD INTERNATIONAL SEMINAR ON METALLURGY AND MATERIALS (ISMM2019): Exploring New Innovation in Metallurgy and Materials*. Published. <https://doi.org/10.1063/5.0002567>
- Arokiyaraj, S., Stalin, A., Kannan, B. S., & Shin, H. (2020). Geranii Herba as a Potential Inhibitor of SARS-CoV-2 Main 3CL^{pro}, Spike RBD, and Regulation of Unfolded Protein Response: An In Silico Approach. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 9(12), 863. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9120863>
- Blakeley, J., & Grossman, S. A. (2012). Chemotherapy with cytotoxic and cytostatic agents in brain cancer. *Handbook of Clinical Neurology*, 229–254. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-52138-5.00017-7>
- Carr, G. V., & Lucki, I. (2010). The Role of Serotonin in Depression. *Handbook of Behavioral Neuroscience*, 493–505. [https://doi.org/10.1016/s1569-7339\(10\)70098-9](https://doi.org/10.1016/s1569-7339(10)70098-9)
- Carter, M., & Shieh, J. (2015). Animal Behavior. *Guide to Research Techniques in Neuroscience*, 39–71. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-800511-8.00002-2>
- Cassani, J., Dorantes-Barrón, A. M., Novales, L. M., Real, G. A., & Estrada-Reyes, R. (2014). Anti-depressant-like effect of kaempferitrin isolated from *Justicia spicigera* Schltdl

(Acanthaceae) in two behavior models in mice: evidence for the involvement of the serotonergic system. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 19(12), 21442–21461. <https://doi.org/10.3390/molecules191221442>

- Cazarolli, L. H., Pereira, D. F., Kappel, V. D., Folador, P., Figueiredo, M., Pizzolatti, M. G., & Silva, F. R. (2013). Insulin signaling: a potential signaling pathway for the stimulatory effect of kaempferitrin on glucose uptake in skeletal muscle. *European journal of pharmacology*, 712(1-3), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.02.029>
- Cechinel-Zanchett, C. C., Boeing, T., Somensi, L. B., Steimbach, V., Campos, A., Krueger, C., Schultz, C., Sant'ana, D., Cechinel-Filho, V., Mota da Silva, L., & Faloni de Andrade, S. (2019a). Flavonoid-rich fraction of *Bauhinia forficata* Link leaves prevents the intestinal toxic effects of irinotecan chemotherapy in IEC-6 cells and in mice. *Phytotherapy research: PTR*, 33(1), 90–106. <https://doi.org/10.1002/ptr.6202>
- Cechinel-Zanchett, C. C., da Silva, R., Tenfen, A., Siebert, D. A., Micke, G., Vitali, L., Cechinel-Filho, V., Faloni de Andrade, S., & de Souza, P. (2019b). *Bauhinia forficata* link, a Brazilian medicinal plant traditionally used to treat cardiovascular disorders, exerts endothelium-dependent and independent vasorelaxation in thoracic aorta of normotensive and hypertensive rats. *Journal of ethnopharmacology*, 243, 112118. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112118>
- CFR - Code of Federal Regulations Title 21. (2020). Food and Drug Administration (FDA). Recuperado el 24 de agosto de 2021, de <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcr/CFRSearch.cfm?fr=347.10&SearchTerm=allantoin>
- Chang T. S. (2012). Natural Melanogenesis Inhibitors Acting Through the Down-Regulation of Tyrosinase Activity. *Materials*, 5(9), 1661–1685. <https://doi.org/10.3390/ma5091661>
- Chauhan, K. (2021, 29 junio). *Rheumatoid Arthritis - StatPearls - NCBI Bookshelf*. National Center for Biotechnology Information (NCBI). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441999/>
- Chen, M. F., Tsai, J. T., Chen, L. J., Wu, T. P., Yang, J. J., Yin, L. T., Yang, Y. L., Chiang, T. A., Lu, H. L., & Wu, M. C. (2014). Antihypertensive Action of Allantoin in Animals. *BioMed Research International*, 2014, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2014/690135>
- Choi, S. J., Kim, J. K., Jang, J. M., Shin, K. H., & Lim, S. S. (2012). Rapid identification of the α -glucosidase inhibitory compounds from Thunberg's Geranium (*Geranium thunbergii* Sieb. et Zucc.). *Food Science and Biotechnology*, 21(4), 987–996. <https://doi.org/10.1007/s10068-012-0129-7>
- Cooper, G. M. (2000). *Peroxisomes - The Cell - NCBI Bookshelf*. National Center for Biotechnology Information (NCBI). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9930/>
- Cui, L., Wang, J., Wang, M., Wang, B., Liu, Z., Wei, J., & Kang, W. (2020). Chemical composition and glucose uptake effect on 3T3-L1 adipocytes of *Ligustrum lucidum* Ait. flowers. *Food Science and Human Wellness*, 9(2), 124–129. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2020.02.002>
- Da Silva, D., Casanova, L. M., Marcondes, M. C., Espindola-Netto, J. M., Paixão, L. P., De Melo, G. O., Zancan, P., Sola-Penna, M., & Costa, S. S. (2014). Antidiabetic activity of *Sedum dendroideum*: metabolic enzymes as putative targets for the bioactive flavonoid kaempferitrin. *IUBMB life*, 66(5), 361–370. <https://doi.org/10.1002/iub.1270>

- Dalmarco, E., Koelzer, J., Pizzolatti, M., Frode, T., & Dalmarco, J. (2010). Isolation and identification of bioactive compounds responsible for the anti-bacterial efficacy of *Lotus corniculatus* var. Sao Gabriel. *International Journal of Green Pharmacy*, 4(2), 108. <https://doi.org/10.4103/0973-8258.63886>
- De Melo, G. O., Malvar, D., Vanderlinde, F. A., Rocha, F. F., Pires, P. A., Costa, E. A., de Matos, L. G., Kaiser, C. R., & Costa, S. S. (2009). Antinociceptive and anti-inflammatory kaempferol glycosides from *Sedum dendroideum*. *Journal of ethnopharmacology*, 124(2), 228–232. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.04.024>
- De Melo, G. O., Malvar, D., Vanderlinde, F. A., Rocha, F. F., Pires, P. A., Costa, E. A., de Matos, L. G., Kaiser, C. R., & Costa, S. S. (2009). Antinociceptive and anti-inflammatory kaempferol glycosides from *Sedum dendroideum*. *Journal of ethnopharmacology*, 124(2), 228–232. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.04.024>
- de Sousa, E., Zanatta, L., Seifriz, I., Creczynski-Pasa, T. B., Pizzolatti, M. G., Szpoganicz, B., & Silva, F. R. (2004). Hypoglycemic effect and antioxidant potential of kaempferol-3,7-O-(alpha)-dirhamnoside from *Bauhinia forficata* leaves. *Journal of natural products*, 67(5), 829–832. <https://doi.org/10.1021/np030513u>
- de Souza, P., da Silva, L. M., Boeing, T., Somensi, L. B., Cechinel-Zanchett, C. C., Campos, A., Krueger, C., Bastos, J. K., Cechinel-Filho, V., & Andrade, S. F. (2017). Influence of Prostanoids in the Diuretic and Natriuretic Effects of Extracts and Kaempferitrin from *Bauhinia forficata* Link Leaves in Rats. *Phytotherapy research: PTR*, 31(10), 1521–1528. <https://doi.org/10.1002/ptr.5876>
- DOF - Diario Oficial de la Federación. ACUERDO POR EL QUE SE DETERMINAN LAS SUSTANCIAS PROHIBIDAS Y RESTRINGIDAS EN LA ELABORACION DE PRODUCTOS DE PERFUMERIA Y BELLEZA. (2010). Diario Oficial de la Federación (DOF). Recuperado el 24 de agosto de 2021, de http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5143790&fecha=21/05/2010
- Fang, S. H., Rao, Y. K., & Tzeng, Y. M. (2005). Inhibitory effects of flavonol glycosides from *Cinnamomum osmophloeum* on inflammatory mediators in LPS/IFN-gamma-activated murine macrophages. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 13(7), 2381–2388. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.01.050>
- Florentino, I. F., Silva, D. P., Galdino, P. M., Lino, R. C., Martins, J. L., Silva, D. M., de Paula, J. R., Tresvenzol, L. M., & Costa, E. A. (2016). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Memora nodosa* and allantoin in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 186, 298–304. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.04.010>
- Fotakis, G., & Timbrell, J. A. (2006). In vitro cytotoxicity assays: comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. *Toxicology letters*, 160(2), 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2005.07.001>
- Gogas, K., Lechner, S., Markison, S., Williams, J., McCarthy, W., Grigoriadis, D., & Foster, A. (2007). Anxiety. *Comprehensive Medicinal Chemistry II*, 85–115. <https://doi.org/10.1016/b0-08-045044-x/00164-4>
- Gohara, A. A., & Elmazar, M. M. A. (1997). Isolation of hypotensive flavonoids from *Chenopodium* species growing in Egypt. *Phytotherapy Research*, 11(8), 564–567. [https://10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199712\)11:8<564::AID-PTR162>3.0.CO;2-L](https://10.1002/(SICI)1099-1573(199712)11:8<564::AID-PTR162>3.0.CO;2-L)

- González-Trujano, M. E., Domínguez, F., Pérez-Ortega, G., Aguillón, M., Martínez-Vargas, D., Almazán-Alvarado, S., & Martínez, A. (2017). *Justicia spicigera* Schlttdl. and kaempferitrin as potential anticonvulsant natural products. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, *92*, 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.05.075>
- Jiang, W., Wang, R., Liu, D., Zuo, M., Zhao, C., Zhang, T., & Li, W. (2018). Protective Effects of Kaempferitrin on Advanced Glycation End Products Induce Mesangial Cell Apoptosis and Oxidative Stress. *International journal of molecular sciences*, *19*(11), 3334. <https://doi.org/10.3390/ijms19113334>
- Jin, Z., Du, X., Xu, Y., Deng, Y., Liu, M., Zhao, Y., Zhang, B., Li, X., Zhang, L., Peng, C., Duan, Y., Yu, J., Wang, L., Yang, K., Liu, F., Jiang, R., Yang, X., You, T., Liu, X., . . . Yang, H. (2020). Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. *Nature*, *582*(7811), 289–293. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2223-y>
- Jorge, A. P., Horst, H., de Sousa, E., Pizzolatti, M. G., & Silva, F. R. (2004). Insulinomimetic effects of kaempferitrin on glycaemia and on ¹⁴C-glucose uptake in rat soleus muscle. *Chemico-biological interactions*, *149*(2-3), 89–96. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2004.07.001>
- Juárez-Vázquez, M., Alonso-Castro, A., & García-Carrancá, A. (2013). Kaempferitrin induces immunostimulatory effects in vitro. *Journal of ethnopharmacology*, *148*(1), 337–340. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.03.072>
- Koelzer, J., Pereira, D. A., Dalmarco, J. B., Pizzolatti, M. G., & Fröde, T. S. (2009). Evaluation of the anti-inflammatory efficacy of *Lotus corniculatus*. *Food Chemistry*, *117*(3), 444–450. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.044>
- Lee, M. Y., Lee, N. H., Jung, D., Lee, J. A., Seo, C. S., Lee, H., Kim, J. H., & Shin, H. K. (2010). Protective effects of allantoin against ovalbumin (OVA)-induced lung inflammation in a murine model of asthma. *International Immunopharmacology*, *10*(4), 474–480. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2010.01.008>
- Li, H. C., & Lo, S. Y. (2015). Hepatitis C virus: Virology, diagnosis and treatment. *World journal of hepatology*, *7*(10), 1377–1389. <https://doi.org/10.4254/wjh.v7.i10.1377>
- Li, S., Li, S., Disoma, C., Zheng, R., Zhou, M., Razzaq, A., Liu, P., Zhou, Y., Dong, Z., Du, A., Peng, J., Hu, L., Huang, J., Feng, P., Jiang, T., & Xia, Z. (2020). SARS-CoV-2: Mechanism of infection and emerging technologies for future prospects. *Reviews in Medical Virology*, *31*(2). <https://doi.org/10.1002/rmv.2168>
- Lincha, V. R., Zhao, B. T., Woo, M. H., Yang, I. J., & Shin, H. M. (2016). Effects of Constituent Compounds of *Smilax china* on Nicotine-Induced Endothelial Dysfunction in Human Umbilical Vein Endothelial Cells. *Biological & pharmaceutical bulletin*, *39*(6), 984–992. <https://doi.org/10.1248/bpb.b15-00997>
- Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S. C. (2017). NF-κB signaling in inflammation. *Signal transduction and targeted therapy*, *2*, 17023–. <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>
- Ma, J., Meng, X., Liu, Y., Yin, C., Zhang, T., Wang, P., Park, Y. K., & Jung, H. W. (2020). Effects of a rhizome aqueous extract of *Dioscorea batatas* and its bioactive compound, allantoin in high fat diet and streptozotocin-induced diabetic mice and the regulation of liver, pancreas and skeletal muscle dysfunction. *Journal of Ethnopharmacology*, *259*, 112926. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112926>

- Ma, X. Q., Han, T., Zhang, X., Wu, J. Z., Rahman, K., Qin, L. P., & Zheng, C. J. (2015). Kaempferitrin prevents bone loss in ovariectomized rats. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 22(13), 1159–1162. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2015.09.003>
- Maslikah, S. I., Lestari, S. R., Handayani, N., Malek, N. A. N. N., Jemon, K. B., Amalia, A., & Afifah, S. (2020). Study on molecular docking of Red Betel (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) active compound and tamoxifen drug as an inhibitor of Estrogen receptor- α (ER- α) that plays a role in breast cancer. *PROCEEDINGS OF THE 3RD INTERNATIONAL SEMINAR ON METALLURGY AND MATERIALS (ISMM2019): Exploring New Innovation in Metallurgy and Materials*. Published. <https://doi.org/10.1063/5.0002556>
- Nadkarni, P., Chepurny, O. G., & Holz, G. G. (2014). Regulation of Glucose Homeostasis by GLP-1. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 23–65. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-800101-1.00002-8>
- Oparil, S., Acelajado, M. C., Bakris, G. L., Berlowitz, D. R., Cífková, R., Dominiczak, A. F., Grassi, G., Jordan, J., Poulter, N. R., Rodgers, A., & Whelton, P. K. (2018). Hypertension. *Nature reviews. Disease primers*, 4, 18014. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.14>
- Paredes-Anaya, M., García-Quispes, W., Lizaraso-Soto, F., Padilla-Rojas, C., Torres-Gonzales, D., Calderón-Ticona, J., Manrique-Hurtado, H., & Solís-Villanueva, J. (2014). Análisis de asociación genética entre el SNP RS914458 del gen proteína tirosina fosfatasa no receptor tipo 1 (ptpn1) y diabetes tipo 2 en población peruana. *Horizonte Médico (Lima)*, 14(4), 31-36. Recuperado en 18 de agosto de 2021, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-558X2014000400006&lng=es&tlng=es
- Patil, K. R., Mahajan, U. B., Unger, B. S., Goyal, S. N., Belemkar, S., Surana, S. J., Ojha, S., & Patil, C. R. (2019). Animal Models of Inflammation for Screening of Anti-inflammatory Drugs: Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals. *International journal of molecular sciences*, 20(18), 4367. <https://doi.org/10.3390/ijms20184367>
- Pereira, D. A., Dalmarco, J. B., Wisniewski, A., Jr, Simionatto, E. L., Pizzolatti, M. G., & Fröde, T. S. (2011). *Lotus corniculatus* regulates the inflammation induced by bradykinin in a murine model of pleurisy. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(6), 2291–2298. <https://doi.org/10.1021/jf103997s>
- Pereira, D. F., Cazarolli, L. H., Lavado, C., Mengatto, V., Figueiredo, M. S., Guedes, A., Pizzolatti, M. G., & Silva, F. R. (2011). Effects of flavonoids on α -glucosidase activity: potential targets for glucose homeostasis. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 27(11-12), 1161–1167. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2011.01.008>
- Pérez-Gutiérrez, R., Mota-Flores, J., & Neira-González, A. (2018). Anti-inflammatory effect of procumbenoside B from *Justicia spicigera* on lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages and zebrafish model. *Pharmacognosy Research*, 10(2), 218. https://doi.org/10.4103/pr.pr_97_17
- Raney, K. D., Sharma, S. D., Moustafa, I. M., & Cameron, C. E. (2010). Hepatitis C virus non-structural protein 3 (HCV NS3): a multifunctional antiviral target. *The Journal of biological chemistry*, 285(30), 22725–22731. <https://doi.org/10.1074/jbc.R110.125294>

- Real-Sandoval, S. A., Gutiérrez-López, G. F., Domínguez-López, A., Paniagua-Castro, N., Michicotl-Meneses, M. M., & Jaramillo-Flores, M. E. (2020). Downregulation 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. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103781>
- Rho, H. S., Ghimeray, A. K., Yoo, D. S., Ahn, S. M., Kwon, S. S., Lee, K. H., Cho, D. H., & Cho, J. Y. (2011). Kaempferol and kaempferol rhamnosides with depigmenting and anti-inflammatory properties. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *16*(4), 3338–3344. <https://doi.org/10.3390/molecules16043338>
- Rogier Van Der Velde, A., Meijers, W. C., & de Boer, R. A. (2015). Cardiovascular Biomarkers. *Principles of Translational Science in Medicine*, 167–183. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-800687-0.00018-9>
- Sözen, T., Özişik, L., & Başaran, N. Ç. (2017). An overview and management of osteoporosis. *European journal of rheumatology*, *4*(1), 46–56. <https://doi.org/10.5152/eurjrheum.2016.048>
- Stillwell, W. (2016). Membrane Transport. *An Introduction to Biological Membranes*, 423–451. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-63772-7.00019-1>
- Švob Štrac, D., Pivac, N., & Mück-Šeler, D. (2016). The serotonergic system and cognitive function. *Translational neuroscience*, *7*(1), 35–49. <https://doi.org/10.1515/tnsci-2016-0007>
- Szymańska, E. (2012). Allantoin - Healing and anti-inflammatory properties. *Pediatrica i Medycyna Rodzinna*. *8*. 73-77.
- Tariq, S., Tariq, S., Lone, K. P., & Khaliq, S. (2019). Alkaline phosphatase is a predictor of Bone Mineral Density in postmenopausal females. *Pakistan journal of medical sciences*, *35*(3), 749–753. <https://doi.org/10.12669/pjms.35.3.188>
- Tatsimo, S. J., Tamokou, J., Havyarimana, L., Csupor, D., Forgo, P., Hohmann, J., Kuate, J. R., & Tane, P. (2012). Antimicrobial and antioxidant activity of kaempferol rhamnoside derivatives from *Bryophyllum pinnatum*. *BMC research notes*, *5*, 158. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-5-158>
- Tsai, C. C., Chen, L. J., Niu, H. S., Chung, K. M., Cheng, J. T., & Lin, K. C. (2014). Allantoin activates imidazoline I-3 receptors to enhance insulin secretion in pancreatic β -cells. *Nutrition & Metabolism*, *11*(1), 41. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-11-41>
- Varghese, F. P., & Brown, E. S. (2001). The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis in Major Depressive Disorder: A Brief Primer for Primary Care Physicians. *Primary care companion to the Journal of clinical psychiatry*, *3*(4), 151–155. <https://doi.org/10.4088/pcc.v03n0401>
- Velloso, J. C., Regasini, L. O., Belló, C., Schemberger, J. A., Khalil, N. M., de Araújo Morandim-Giannetti, A., da Silva Bolzani, V., Brunetti, I. L., & de Faria Oliveira, O. M. (2015). Preliminary in vitro and ex vivo evaluation of afzelin, kaempferitrin and pterogynoside action over free radicals and reactive oxygen species. *Archives of pharmacal research*, *38*(6), 1168–1177. <https://doi.org/10.1007/s12272-014-0487-1>
- Wang, J., & Zhao, Q. (2019). Kaempferitrin inhibits proliferation, induces apoptosis, and ameliorates inflammation in human rheumatoid arthritis fibroblast-like

synoviocytes. *Phytotherapy research*, *PTR*, 33(6), 1726–1735.
<https://doi.org/10.1002/ptr.6364>

- Yang, L., Lin, J., Zhou, B., Liu, Y., & Zhu, B. (2017). Activity of compounds from *Taxillus sutchuenensis* as inhibitors of HCV NS3 serine protease. *Natural product research*, *31*(4), 487–491. <https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1190719>
- Ye, Q., Ma, X. Q., Hu, C. L., Lin, B., Xu, L. S., Zheng, C. J., & Qin, L. P. (2015). Antiosteoporotic activity and constituents of *Podocarpium podocarpum*. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, *22*(1), 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2014.11.004>
- Yokozawa, T., Dong, E., Kawai, Y., Gemba, M., & Shimizu, M. (1999). Protective effects of some flavonoids on the renal cellular membrane. *Experimental and Toxicologic Pathology*, *51*(1), 9–14. [https://doi.org/10.1016/s0940-2993\(99\)80050-5](https://doi.org/10.1016/s0940-2993(99)80050-5)
- Zaki, A. A., Al-Karmalawy, A. A., El-Amier, Y. A., & Ashour, A. (2020). Molecular docking reveals the potential of *Cleome amblyocarpa* isolated compounds to inhibit COVID-19 virus main protease. *New Journal of Chemistry*, *44*(39), 16752–16758. <https://doi.org/10.1039/d0nj03611k>
- Zhang, N., Liu, J., Chen, Z., & Dou, W. (2019). *In vitro* inhibitory effects of kaempferitrin on human liver cytochrome P450 enzymes. *Pharmaceutical biology*, *57*(1), 571–576. <https://doi.org/10.1080/13880209.2019.1656257>
- Zhao, B. T., Le, D. D., Nguyen, P. H., Ali, M. Y., Choi, J. S., Min, B. S., Shin, H. M., Rhee, H. I., & Woo, M. H. (2016). PTP1B, α -glucosidase, and DPP-IV inhibitory effects for chromene derivatives from the leaves of *Smilax china* L. *Chemico-biological interactions*, *253*, 27–37. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.04.012>
- Zhu, W. F., Wang, C. L., Ye, F., Sun, H. P., Ma, C. Y., Liu, W. Y., Feng, F., Abe, M., Akihisa, T., & Zhang, J. (2018). Chemical Constituents of the Seed Cake of *Camellia oleifera* and Their Antioxidant and Antimelanogenic Activities. *Chemistry & biodiversity*, *15*(7), e1800137. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201800137>

CAPÍTULO 6

- Abrahám, E., Hourton-Cabassa, C., Erdei, L., & Szabados, L. (2010). Methods for determination of proline in plants. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, *639*, 317–331. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-702-0_20
- Álvarez-Poblano, L., Román-Guerrero, A., Vernon-Carter, E., & Álvarez-Ramírez, J. (2020). Exogenous addition of muicle (*Justicia spicigera* Schechtendal) extract to white maize tortillas affects the antioxidant activity, texture, color, and in vitro starch digestibility. *LWT*, *133*, 110120. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110120>
- Arberet, L., Pottier, F., Michelin, A., Nowik, W., Bellot-Gurlet, L., & Andraud, C. (2021). Spectral characterisation of a traditional Mesoamerican dye: relationship between in situ identification on the 16th century Codex Borbonicus manuscript and composition of *Justicia spicigera* plant extract. *The Analyst*, *146*(8), 2520–2530. <https://doi.org/10.1039/d1an00113b>
- Baqueiro-Peña, I., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2017). Physicochemical and antioxidant characterization of *Justicia spicigera*. *Food chemistry*, *218*, 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.078>

- Casanova-González, E., García-Bucio, A., Ruvalcaba-Sil, J. L., Santos-Vasquez, V., Esquivel, B., Roldán, M. L., & Domingo, C. (2012b). Silver Nanoparticles for SERS Identification of Dyes. *MRS Proceedings*, 1374, 263–274. <https://doi.org/10.1557/opl.2012.1395>
- Casanova-González, E., García-Bucio, A., Ruvalcaba-Sil, J. L., Santos-Vasquez, V., Esquivel, B., Falcón, T., Arroyo, E., Zetina, S., Roldán, M. L., & Domingo, C. (2012a). Surface-enhanced Raman spectroscopy spectra of Mexican dyestuffs. *Journal of Raman Spectroscopy*, 43(11), 1551–1559. <https://doi.org/10.1002/jrs.4086>
- Chan-Bacab, M. J., Sanmartín, P., Camacho-Chab, J. C., Palomo-Ascanio, K. B., Huitz-Quimé, H. E., & Ortega-Morales, B. O. (2015). Characterization and dyeing potential of colorant-bearing plants of the Mayan area in Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of Cleaner Production*, 91, 191–200. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.12.004>
- Espinosa-Morales, Y., Reyes, J., Hermosín, B., & Azamar-Barrios, J. A. (2012). Characterization of a Natural Dye by Spectroscopic and Chromatographic Techniques. *MRS Proceedings*, 1374, 49–59. <https://doi.org/10.1557/opl.2012.1377>
- Fraser, C. M., & Chapple, C. (2011). The phenylpropanoid pathway in Arabidopsis. *The arabidopsis book*, 9, e0152. <https://doi.org/10.1199/tab.0152>
- Mavrou, P., Thorpe, R., Frith, W., Lian, G., & Chen, T. (2018). Mathematical modelling of moisture migration in confectionery multicomponent food systems. *Computer Aided Chemical Engineering*, 1625–1630. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-64235-6.50283-7>
- Mohamed, M., Jaafar, J., Ismail, A., Othman, M., & Rahman, M. (2017). Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. *Membrane Characterization*, 3–29. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-63776-5.00001-2>
- Pavón-García, L. M. A., Pérez-Alonso, C., Orozco-Villafuerte, J., Pimentel-González, D. J., Rodríguez-Huezo, M. E., & Vernon-Carter, E. J. (2011). Storage stability of the natural colourant from *Justicia spicigera* microencapsulated in protective colloids blends by spray-drying. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(7), 1428–1437. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02634.x>
- Pavón-García, L. M. A., Pérez-Alonso, C., Rodríguez-Huezo, M.E., Jiménez-Alvarado, R., Alamilla-Beltrán, L., & Román-Guerrero, A. (2014). Effect of gelled inner aqueous phase rheology on the colour degradation of muiltle aqueous extracts incorporated into water-in-oil-in-water double emulsions. *Revista mexicana de ingeniería química*, 13(3), 665-667. Recuperado en 20 de mayo de 2021, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382014000300002&lng=es&tlng=en
- Ru, E. L., & Etchegoin, P. (2008). *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: and Related Plasmonic Effects* (1st ed.). Elsevier Science.