



UNIVERSIDAD POPULAR AUTÓNOMA DEL ESTADO DE PUEBLA

Decanato de Ciencias Biológicas
Facultad de Biotecnología
Maestría en Biotecnología

TESIS

Evaluación de la actividad antiinflamatoria del metabolito mayoritario de *Tradescantia pendula* como propuesta para la elaboración de un parche dérmico

Para obtener el grado de:
MAESTRA EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA

LIC. RUBI ESMERALDA GONZÁLEZ CAMPOS

Director

Dra. Zaida Nelly Juárez

Co-director

Dr. Genaro Alberto Paredes Juárez

Asesores

Dra. Elizabeth Bautista Rodríguez

Dr. Luis Ricardo Hernández

Dra. María Cristina Miranda Vergara

Puebla, Pue.

12/2022





UPAEP – Secretaría General

Dirección General de Apoyos Académicos

Dirección del Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación.

Biblioteca Central - **Karol Wojtyła**

Tesis Digitales Restricciones de uso:

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

El uso de textos, imágenes, gráficas, 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 de donde la obtuvo mencionando el autor o autores involucrados en el documento.

Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla
Decanato de Ciencias Biológicas
Facultad de Biotecnología
Maestría en Biotecnología

Se aprueba la Tesis:

**Evaluación de la actividad antiinflamatoria del metabolito mayoritario de
Tradescantia pendula como propuesta para la elaboración de un parche dérmico**

Nombre del Alumno:

Rubi Esmeralda González Campos

Comité Asesor

Dra. Zaida Nelly Juárez
Directora de Tesis

Dr. Genaro Albero Paredes Juárez
Co-Director

Dr. Luis Ricardo Hernández
Asesor externo

Dra. Elizabeth Bautista Rodríguez
Asesora interna

Dra. María Cristina Miranda Vergara
Asesora interna

Puebla, Pue. 3 de Enero de 2023

Dr(a). Beatriz Pérez Armendáriz
Director(a) del Programa de Maestría en Biotecnología

Asunto: Revisión de plagio para proyecto de grado

Estimado(a) Doctor(a) Beatriz Pérez Armendáriz

Antes que nada, reciba un cordial saludo y nuestro apoyo y compromiso de colaboración con los requerimientos del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología para las actividades de aseguramiento de la calidad y consolidación del posgrado.

Derivado del proceso de revisión de la herramienta de Antiplagio SafeAssign se detectaron los siguientes hallazgos:

Coincidencia Promedio: 0%

Coincidencia Máxima: 0%

Por lo anterior se vislumbra un riesgo **BAJO** en el análisis del documento para la obtención del grado del alumno Rubi Esmeralda González Campos.

Se anexa reporte del informe de la herramienta.

Atentamente



Dra. Zaida Nelly Juárez
Director de Tesis

AGRADECIMIENTOS

A UPAEP por las becas académicas y de investigación.

Al CONACyT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología) por la beca número 1094103.

AGRADECIMIENTOS

A mi madre siempre has sido el motor que impulsa mis sueños y esperanzas, quien estuvo siempre a mi lado en los días y noches más difíciles durante mis horas de estudio, siempre has sido la mejor guía de vida. Por tu paciencia, apoyo, tus esfuerzos son impresionantes y tu amor para mí es invaluable, por educarme, proporcionando todo y cada cosa que he necesitado, tus enseñanzas las aplico cada día; de verdad tengo mucho que agradecerte, tus ayudas fueron fundamentales para la culminación. Gracias por inculcarme la responsabilidad y deseo de ser mejor cada día. Hoy concluyo mis estudios de maestría, te dedico este logro como una meta más conquistada.

A la Dra. Zaida Nelly Juárez sin usted y sus virtudes, su paciencia y constancia en este trabajo no lo hubiese logrado tan fácil. Sus consejos fueron siempre útiles. Usted formó parte importante de esta historia con sus aportes profesionales que la caracterizan. Gracias por sus orientaciones.

A los asesores de este proyecto, sus palabras fueron sabias, sus conocimientos rigurosos y precisos, a ustedes profesores queridos, les debo mis conocimientos. Gracias por su paciencia, por compartir sus conocimientos de manera profesional e invaluable, por su dedicación, perseverancia y tolerancia.

Mis amigos y compañeros de viaje, hoy culminamos esta maravillosa aventura, nos toca cerrar un capítulo maravilloso en esta historia de vida, gracias por compartir las horas de estudio y hacer esta etapa divertida.

Resumen: Evaluación de la actividad antiinflamatoria del metabolito mayoritario de *Tradescantia pendula* como propuesta para la elaboración de un parche dérmico

Resumen

Las plantas representan una buena fuente de compuestos bioactivos reconocidos por sus propiedades antiinflamatorias. La planta *Tradescantia pendula*, es una especie de planta herbácea perteneciente a la familia de las comelináceas, presente en Centroamérica y México, la cual se utilizó para hacer la determinación del metabolito mayoritario y comprobar las propiedades antiinflamatorias y cicatrizantes. *Tradescantia pendula* es una planta común en la región sur de México reconocida en el uso de medicina tradicional por sus propiedades farmacológicas, sin embargo, existe poca evidencia científica que las sustente. El objetivo del presente estudio fue evaluar el potencial cicatrizante de los extractos hexánicos, clorofórmicos y metanólicos solos y gelificados en alginato. Se determinó la actividad antiinflamatoria por medio de experimentos en la línea celular HaCaT. Se obtuvieron extractos de la especie y fue caracterizada por cromatografía de capa fina y de columna, IR y UV-VIS.

Palabras clave.

Antiinflamatorio, HaCaT, cicatrizante, *Tradescantia pendula*, alginato.

Summary: Evaluation of the anti-inflammatory activity of the major metabolite of *Tradescantia pendula* as a proposal for the development of a dermal patch.

Abstract.

Plants represent a good source of bioactive compounds recognized for their anti-inflammatory properties. The *Tradescantia pendula* is a species of herbaceous plant belonging to the Comelinaceae family, present in Central America and Mexico, which was used to determine the main metabolite and check the anti-inflammatory and healing properties. *Tradescantia pendula* is a common plant in the southern region of Mexico recognized in the use of traditional medicine for its pharmacological properties, however, there is little scientific evidence to support them. The objective of the present study was to evaluate the healing potential of hexanic, chloroform and methanolic extracts alone and encapsulated. The anti-inflammatory activity was determined by means of experiments on the HaCaT cell line. Extracts of the species were obtained and characterized by phytochemical tests, thin layer and column chromatography, IR, and UV-VIS.

Keywords.

Anti-inflammatory, HaCaT, healing, *Tradescantia pendula*, alginate

Índice

Resumen	6
Abstract	7
1 Introducción	13
2 Antecedentes	14
2.1 Plantas medicinales	14
2.1.1 Metabolitos primarios y secundarios.....	15
2.1.2 Usos y aplicaciones de las plantas medicinales.....	18
2.2 Familia Commelinaceae	20
2.2.1 Género <i>Tradescantia</i>	21
2.2.2 <i>Tradescantia pendula</i>	22
2.3 Afectaciones en piel	24
2.3.1 Estructura y función de la piel.....	24
2.3.2 Herida.....	27
2.3.3 Cicatrización.....	29
2.3.4 Suministro de fármacos a través de la piel: ventajas y desventajas.....	32
2.3.5 Mecanismos para la percepción de fármacos a través de la piel.....	33
2.3.6 Factores que influyen en la percepción de los fármacos.....	36
2.3.7 Enfermedades inflamatorias de la piel.....	37
2.4 Fármacos sintéticos	39
2.4.1 Efectos secundarios de los fármacos.....	40
2.4.2 Fármacos basados en medicina tradicional.....	40
2.4.3 Formulaciones con plantas.....	41
2.4.4 Sistemas de liberación de fármacos.....	42
2.5 Alginato: características y usos	42
2.5.1 Modelos de ajuste de cinética de liberación.....	45
2.6 Modelos de estudios	45
2.6.1 Líneas celulares.....	45
2.6.2 Fibroblastos.....	48
2.6.3 Aplicaciones de líneas celulares.....	51
2.6.4 Método del MTT.....	51
2.7 Modelo de <i>Artemia</i> spp.	52
2.8 Técnicas cromatográficas	53
2.8.1 Cromatografía de adsorción.....	54
2.8.2 Cromatografía de gases.....	55
2.8.3 Cromatografía líquida de alta resolución.....	55
2.9 Técnicas espectroscópicas	55
2.9.1 Infrarrojo (IR).....	56
2.9.2 Resonancia Magnética Nuclear (RMN).....	56
2.9.3 UV/VIS.....	56
3 Justificación	57
4 Objetivos	58

4.1	Objetivo general.....	58
4.2	Objetivos específicos.....	58
5	Metodología	59
5.1	Consideraciones éticas	59
5.2	Obtención de los extractos.....	59
5.2.1	Colecta del material vegetal	59
5.2.2	Extractos vegetales.....	60
5.3	Gelificación de los extractos en alginato.....	60
5.3.1	Extractos gelificados en alginato.....	61
5.3.2	Eficiencia de encapsulación	61
5.3.3	Determinación de velocidad de liberación	61
5.4	Bioensayos.....	62
5.4.1	Determinación de la CL ₅₀ de los extractos en el modelo de <i>Artemia</i> spp.....	62
5.4.2	Determinación de citotoxicidad en líneas celulares	63
5.5	Cromatografías	65
5.5.1	Cromatografía de capa fina	65
5.5.2	Cromatografía de columna.....	65
5.5.3	Cromatografía HPLC	65
5.6	Espectroscopías.....	66
5.6.1	RMN	66
5.6.2	Infrarrojo (IR)	66
5.6.3	UV/VIS	66
6	Resultados y Discusión	67
6.1	Obtención de los extractos.....	67
6.1.1	Colecta del material vegetal	67
6.1.2	Extractos vegetales.....	67
6.2	Alginatos.....	69
6.2.1	Extractos en alginato.....	69
6.2.2	Eficiencia de velocidad de liberación.....	70
6.3	Bioensayos.....	73
6.3.1	Determinación de la CL ₅₀ de los extractos solos en el modelo de <i>Artemia</i> spp.	73
6.3.2	Determinación de la CL ₅₀ de los extractos gelificados en el modelo de <i>Artemia</i> spp.	74
6.3.3	Determinación de citotoxicidad en líneas celulares	75
6.4	Cromatografías	88
6.4.1	Cromatografía de capa fina	88
6.4.2	Cromatografía de columna.....	89
6.4.3	Cromatografía HPLC	90
6.5	Espectroscopías.....	91
6.5.1	RMN	91
6.5.2	Infrarrojo (IR)	93
7	Conclusiones	96
8	Conclusión general.....	96

9 Recomendaciones 97
10 Referencias..... 98
11 Anexo110

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA ADMINISTRACIÓN TRANSDÉRMICA DE FÁRMACOS (SALA ET AL., 2018).....	33
TABLA 2. FUNCIONES DE LAS CITOQUINAS PROINFLAMATORIAS (ROJAS ET AL., 2002).	38
TABLA 3. RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD DE LA ESPECIE TRADESCANTIA PENDULA.....	67
TABLA 4. RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS VEGETALES DE TRADESCANTIA PENDULA.....	68
TABLA 5. PRUEBAS DE SOLUBILIDAD DE LOS EXTRACTOS HEXÁNICO, CLOROFÓRMICO Y METANÓLICO DE LA ESPECIE VEGETAL TRADESCANTIA PENDULA	68
TABLA 6. EFICIENCIA DE ENCAPSULACIÓN	70
TABLA 7. CLASIFICACIÓN DE TOXICIDAD SEGÚN CYTED.	73
TABLA 8. CL ₅₀ E INTERVALOS DE CONFIANZA DE LOS EXTRACTOS DE TRADESCANTIA PENDULA FRENTE A ARTEMIAS.....	73
TABLA 9. CL ₅₀ E INTERVALOS DE CONFIANZA DE LOS EXTRACTOS DE TRADESCANTIA PENDULA FRENTE A ARTEMIAS.....	74
TABLA 10. IC ₅₀ DE LAS DOS LÍNEAS CELULARES CON LOS RESPECTIVOS EXTRACTOS DE TRADESCANTIA PENDULA	75

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. TRADESCANTIA PENDULA (JUÁREZ, 2021).	22
FIGURA 2. ANATOMÍA DE LA PIEL (BOER ET AL., 2016).	24
FIGURA 3. ESTRUCTURA ESQUEMÁTICA DE LA EPIDERMIS Y REPRESENTACIÓN DEL MODELO DE "LADRILLO Y MORTERO" (YANG G ET AL., 2020).	26
FIGURA 4. CICATRIZACIÓN DE LA HERIDA (SÁNCHEZ, 1985).	31
FIGURA 5. ESPACIO MUERTO CERRADO EN UNA HERIDA (SÁNCHEZ, 1985).	32
FIGURA 6. VÍAS PARA LA PERMEACIÓN DE FÁRMACOS EN LA PIEL (KNORR ET AL., 2009).	35
FIGURA 7. ESTRUCTURA DEL POLÍMERO DE ALGINATO A) MONÓMEROS DEL ALGINATO, B) CONFORMACIÓN DE LA CADENA DE ALGINATO (LÓPEZ, 2012).	44
FIGURA 8. FIBROBLASTOS EN CULTIVO CELULAR. (AMORTEGUÍ Y RAMÍREZ, 2008).	49
FIGURA 9. FIBROBLASTOS EN LA DERMIS. ÉSTA IMAGEN PERTENECE A UN TEJIDO CONECTIVO DENSO IRREGULAR DONDE LOS FIBROBLASTOS SE ENCUENTRAN ENTRE PAQUETES DE FIBRAS DE COLÁGENO (MEGÍAS ET AL., 2019).	49
FIGURA 10. FIBROBLASTOS EN LA DERMIS A MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (MEGÍAS ET AL., 2019).	50
FIGURA 11. METABOLIZACIÓN DE MTT A SALES DE FORMAZÁN POR CÉLULAS VIABLES (ANGEL, 1999).	52
FIGURA 12. EXTRACTO HEXÁNICO GELIFICADO	69
FIGURA 13. EXTRACTO CLOROFÓRMICO GELIFICADO	69
FIGURA 14. EXTRACTO METANÓLICO GELIFICADO	69
FIGURA 15. LÍNEA CELULAR HACAT	76
FIGURA 16. LÍNEA CELULAR U937	79
FIGURA 17. TÉCNICA MTT EN LÍNEAS CELULARES.	82
FIGURA 18. CONTROL POSITIVO DE LA LÍNEA CELULAR HACAT	83
FIGURA 19. DMSO EN LÍNEA CELULAR HACAT.	83
FIGURA 20. LIPOPOLISACÁRIDO 10 µG/ML EN LÍNEA CELULAR HACAT	84
FIGURA 21. LIPOPOLISACÁRIDO 20 µG/ML EN LÍNEA CELULAR HACAT	84
FIGURA 22. LIPOPOLISACÁRIDO 50 µG/ML EN LÍNEA CELULAR HACAT.	84
FIGURA 23. GEL DE AGAROSA 1.5% DE LOS ARN	87
FIGURA 24. GEL DE AGAROSA 1.5% DE ARN LÍNEA CELULAR HACAT BAJO LUZ UV.	88
FIGURA 25. CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA EN EXTRACTO HEXÁNICO DE TRADESCANTIA PENDULA	89
FIGURA 26. CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA EN EXTRACTO CLOROFÓRMICO DE TRADESCANTIA PENDULA	89
FIGURA 27. CROMATOGRAFÍA DE COLUMNA.	90
FIGURA 28. ESPECTROSCOPIA RMN DEL EXTRACTO HEXÁNICO.	91
FIGURA 29. ESPECTROSCOPIA RMN DEL EXTRACTO CLOROFÓRMICO	92
FIGURA 30. ESPECTROSCOPIA RMN DEL EXTRACTO METANÓLICO	92
FIGURA 32. ESPECTROSCOPIA IR DEL EXTRACTO HEXÁNICO.	93
FIGURA 33. ESPECTROSCOPIA IR DEL EXTRACTO CLOROFÓRMICO.	94
FIGURA 34. ESPECTROSCOPIA DEL EXTRACTO METANÓLICO.	95

1 Introducción

La medicina tradicional es todo el conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, usados para el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales (Zhang, 2021). Los medicamentos tradicionales como el ibuprofeno, naproxeno, entre otros, son usados por el 60% aproximadamente de la población mundial y en algunos países están ampliamente incorporados al sistema público de salud (Zhang, 2021).

El empleo de tratamientos naturales ha sido documentado y ha mantenido realmente su popularidad por varias razones históricas y culturales, aunque ya se tiene la ventaja de la medicina moderna (Carballo, 2005). Por ello, las plantas han sido objeto de diversos estudios, encaminados a determinar los compuestos activos, llamados metabolitos secundarios, que impiden el crecimiento, o bien, eliminan a estos microorganismos. Algunas plantas todavía constituyen la fuente primaria para producir diversos fármacos empleados en la terapéutica actual, sobre todo porque se logró caracterizar un compuesto como activo a partir de la preparación natural. Debido a esto, se deriva la importancia de buscar alternativas terapéuticas que pueden llegar a ser más efectivas, rápidas y económicas (Gallegos, 2016). El alginato por su parte, ha sido de vital importancia en la medicina ya que es muy absorbente y esto ayuda a que se absorba el líquido de algunas úlceras.

La compleja estructura de la piel humana y sus características fisicoquímicas la convierten en la primera línea de defensa del organismo contra factores exógenos y ayuda a mantener la homeostasis del cuerpo humano y en ocasiones la población se ayuda de los remedios herbolarios para el tratamiento de afectaciones de la piel. En Colombia, la savia de *Tradescantia pendula* se ha usado como un anti-veneno a las mordeduras de serpiente. De igual manera, se ha usado como un tratamiento empírico de erisipela, infecciones locales, dolor, edema, tumores y ante enfermedades antiinflamatorias (López-Ferrari, 1995).

Por ello, es importante la identificación del metabolito mayoritario de *Tradescantia pendula* por medio de técnicas cromatográficas y espectroscópicas, al mismo tiempo, realizar la evaluación de la actividad antiinflamatoria del mismo (gelificado en alginato) en modelos *in vivo* e *in vitro* para proponer un parche con propiedades cicatrizantes y antiinflamatorias.

2 Antecedentes

2.1 Plantas medicinales

Las plantas medicinales son una fuente rica de compuestos bioactivos a los cuales se les ha atribuido sus propiedades benéficas e, incluso, diversos fármacos utilizados en la actualidad. Son fundamentales en el desarrollo de la medicina moderna ya que fundamenta en los conocimientos tradicionales y en prácticas ancestrales que permitan curar y prevenir diversas patologías en el proceso de salud-enfermedad (Frisancho, 2018).

Las plantas medicinales representan a nivel mundial un tesoro popular que ha sido utilizado desde tiempos muy remotos, su acción preventiva o curativa se debe a sustancias químicas que provocan un efecto fisiológico en el organismo. Estas sustancias se conocen como principios activos y, generalmente, son producto del metabolismo secundario de la planta. Normalmente, los principios activos tienen propiedades medicinales o preventivas, además, funcionan incrementando el bienestar físico (Frisancho, 2018).

Entre otras, son fuente directa de agentes terapéuticos, se emplean como materia prima para la fabricación de medicamentos semi-sintéticos más complejos, la estructura química de sus principios activos puede servir de modelo para la elaboración de fármacos sintéticos y dichos principios se pueden usar como marcadores taxonómicos en la búsqueda de nuevos medicamentos (Bermúdez *et al.*, 2005).

El estudio de las sustancias de origen natural que poseen una virtud medicinal se conoce como farmacognosia, y el efecto que ocasionan esas sustancias en el organismo se estudia en farmacología. La fitoquímica permite detectar e identificar los principios activos responsables de las propiedades atribuidas a las plantas, en este sentido, las hojas de una planta podrían ser útiles pero su raíz podría ser tóxica. Es aquí cuando la investigación y la generación de conocimiento basado en evidencias resulta invaluable (Freixa, 2001).

En los últimos años ha crecido el interés por lo natural, y lo orgánico ha propiciado el resurgimiento de los extractos naturales. Estos últimos se obtienen de partes de las plantas como las hojas, los tallos, corteza, raíces, etc., ya sea solos o combinados y la forma más común en la que se administran es a través de infusiones. En las mencionadas preparaciones es donde se solubilizan los compuestos responsables de los efectos benéficos reportados (Gutiérrez *et al.*, 2019).

De manera general, se considera que las plantas medicinales y los fármacos son recursos terapéuticos opuestos, sin embargo, diversos estudios han demostrado que alrededor del 25% de los fármacos derivan de plantas y el 67% tienen su origen en recursos naturales (Freixa, 2001).

Se conoce que los responsables de los efectos biológicos de las plantas medicinales son algunos grupos de sustancias de diversa composición química, que al interactuar sobre el organismo humano o animal desencadenan su potencial farmacológico, además de sus posibles efectos tóxicos, por lo cual se hace imprescindible hacer investigaciones que revelen o validen su actividad terapéutica y su toxicidad (Zhang, 2006).

El conocimiento de la diversidad química de estas especies es hasta el momento limitado a nivel mundial, ya que se calcula que se conoce la estructura química de alrededor de 100 mil metabolitos secundarios y podría haber al menos un millón de ellos en todas las especies que faltan por estudiar (Toledo, 1994).

Hoy en día, es evidente que el interés de las sustancias antiinflamatorias de origen vegetal va en aumento, porque ofrecen, en algunos casos, ventajas con relación a los antiinflamatorios clásicos, como es la baja incidencia de efectos secundarios (Alonso, 2019). Las plantas además de su metabolismo primario, por el cual obtienen moléculas como carbohidratos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos que son componentes necesarios para su desarrollo, reproducción y funciones esenciales, también producen metabolitos secundarios (Dewick, 2002). Los metabolitos secundarios son compuestos derivados del metabolismo primario de las plantas (Agustín *et al.*, 2011), estos compuestos juegan un papel ecológico importante ya que sirven como mecanismo de defensa (Pérez y Jiménez, 2011). La gran mayoría de especies vegetales presentan metabolitos secundarios, tales como terpenos, compuestos fenólicos, glicósidos y alcaloides (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

2.1.1 Metabolitos primarios y secundarios

El conjunto de reacciones químicas que tienen lugar en un organismo constituye el metabolismo. La mayor parte del carbono, nitrógeno y de la energía termina en moléculas comunes a todas las células, necesarias para su funcionamiento y el de los organismos. Se denominan metabolitos primarios a los compuestos químicos esenciales para la vida, tales como los aminoácidos, ácidos nucleicos, azúcares y lípidos y estos están mayormente presentes en las plantas y desempeñan las mismas funciones (Cabrera *et al.*, 2017).

Las plantas, en comparación con otros organismos, destinan una cantidad significativa del carbono asimilado y de la energía a la síntesis de una amplia variedad de moléculas orgánicas que no parecen tener una función directa en procesos esenciales para su vida, tales como los procesos fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de solutos o síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos y esto se denomina metabolitos o productos secundarios (productos naturales).

Los metabolitos secundarios son productos de reacciones anabólicas, no esenciales para la vida de la planta, esto en ocasiones dependiendo de los compuestos pueden ser de bajo peso molecular (Cabrera *et al.*, 2017). Es por eso por lo que, los metabolitos secundarios son una fuente de principios activos de medicamentos y de valiosos productos químicos, cuyas aplicaciones farmacéuticas se debe a su función como analgésicos, antibacterianos, anti hepatotóxicos, antioxidantes, antivirales, antitumorales, fungicidas e inmunoestimulantes entre otras (Isaza, 2007; Pérez y Jiménez, 2011; Agustín *et al.*, 2011).

Los metabolitos secundarios no presentan una función definida en los procesos mencionados, difieren de los metabolitos primarios en que ciertos grupos presentan una distribución restringida en el reino vegetal, es decir, que no todos los metabolitos secundarios se encuentran en todos los grupos de plantas. Se sintetiza en pequeñas cantidades y no de forma generalizada encontrándose, usualmente, su producción restringida a un determinado género de plantas, a una familia, o incluso a algunas especies (Terranova *et al.*, 2014).

Las principales rutas de biosíntesis de metabolitos secundarios derivan del metabolismo primario del carbono. Los productos naturales tienen una gran importancia y gran significado con valor medicinal y económico, ya que se puede usar en la industria cosmética, alimenticia, farmacéutica. Un gran número de estos productos naturales, como se ha mencionado, ya se usaba en la medicina antigua como remedios para combatir enfermedades, actualmente se usan como medicamentos, resinas, gomas, potenciadores de sabor, aromas, colorantes, entre otros (Terranova *et al.*, 2014).

Normalmente, se agrupan en cuatro clases principales: terpenos, compuestos fenólicos, glicósidos y alcaloides (Ávalos *et al.*, 2009).

2.1.1.1 Terpenos

En el grupo de los terpenos se encuentran las hormonas, pigmentos o los aceites esenciales, que constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios. La ruta biosintética de estos compuestos da lugar tanto a metabolitos primarios como secundarios de gran importancia para el crecimiento y la supervivencia de las plantas.

Los terpenos suelen ser insolubles en agua y derivan todos ellos de la unión de unidades de isopreno (5 átomos de C). Estos se sintetizan a partir de metabolitos primarios por dos rutas: la del ácido mevalónico, que se activa en el citosol, en la que tres moléculas de acetyl-CoA se condensan para formar ácido mevalónico que reacciona hasta formar isopentenil difosfato (IPP), o bien, la ruta del metileritritol fosfato (MEP), que funciona en cloroplastos y genera también IPP (Ávalos *et al.*, 2009).

El grupo de los terpenos, como se ha mencionado anteriormente, incluye las hormonas (giberelinas y ácido abscísico), pigmentos carotenoides (carotenos y xantofilas), esteroides (ergosterol, sitosterol y colesterol), derivados de los esteroides (glicósidos cardíacos), látex y aceites esenciales (este proporciona el olor y el sabor característico de las plantas). Muchos terpenoides son comercialmente interesantes por su uso como aromas y fragancias en alimentación y cosmética, o por su importancia en la calidad de productos agrícolas. Otros compuestos terpenoides tienen importancia medicinal por sus propiedades anti carcinogénicas, antiulcerosas, antimalarías, antimicrobianas, etc., (Ávalos *et al.*, 2009).

2.1.1.2 Compuestos fenólicos

Las plantas sintetizan una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo fenol. Estas sustancias reciben el nombre de compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides y derivan todas ellas del fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo. Los aminoácidos aromáticos se pueden dirigir tanto al metabolismo primario como al metabolismo secundario (Gimeno, 2004).

Desde el punto de vista químico, son un grupo muy diverso que comprende desde moléculas sencillas como los ácidos fenólicos hasta polímeros complejos, como los taninos y la lignina. También en este grupo se encuentran pigmentos flavonoides y muchos de estos productos están implicados en las interacciones planta herbívoro.

Existen dos rutas básicas implicadas en la biosíntesis de compuestos fenólicos: la ruta del ácido shiquímico y la ruta del ácido malónico (Gimeno, 2004).

2.1.1.3 Glicósidos

Los glicósidos son metabolitos vegetales de gran importancia, su nombre hace referencia al enlace glicosídico que se forma cuando una molécula de azúcar se condensa con otra que contiene un grupo hidroxilo (Jaramillo, 2015).

2.1.1.4 Alcaloides

Los alcaloides pertenecen a una gran familia de más de 15,000 metabolitos secundarios que tienen en común tres características: son solubles en agua, contienen al menos un átomo de nitrógeno en la molécula y exhiben actividad biológica. Aproximadamente, se encuentran en el 20% de las plantas vasculares. En humanos, los alcaloides generan respuestas fisiológicas y psicológicas la mayoría de ellas consecuencia de su interacción con neurotransmisores. A dosis altas, casi todos los alcaloides son muy tóxicos. Sin embargo, a dosis bajas tienen un alto valor terapéutico como relajantes musculares, tranquilizantes, antitusivos o analgésicos (Jaramillo, 2015).

2.1.2 Usos y aplicaciones de las plantas medicinales

Como sabemos, vivimos en un país que tiene una gran herencia cultural en el uso de hierbas aromáticas y medicinales para tratar diferentes padecimientos, la cual se inició varios siglos antes de la conquista. Se han identificado hasta 5,000 especies que tienen aplicaciones curativas, las cuales son comúnmente utilizadas por más de 60 grupos étnicos (González-Stuart y Rivera, 2009).

Debido a su actividad biológica, las plantas se han utilizado en la medicina tradicional, y actualmente, sus principios activos se aprovechan para elaborar medicamentos, colorantes, conservadores, cosméticos y nutraceuticos, entre otros (Bourgaud *et al.*, 2001).

Se ha documentado que más del 85% de las especies que se comercializan en los mercados locales y tiendas naturistas provienen de la recolección silvestre, las cuales no cuentan con programas gubernamentales como la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT, 2018) y la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS, 2018). Esta situación, en algunos casos, ha generado reacciones adversas cuando son administradas por personas

sin capacitación en medicina tradicional, tomando en cuenta que los nombres comunes de las plantas varían considerablemente en cada región, lo que causa confusión, por lo que es imprescindible identificar las especies (Muñeton, 2009).

2.1.2.1 Antioxidantes

Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres, los cuales, al ser átomos o grupos de átomos con un electrón desapareado, son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. Un antioxidante también se puede definir como cualquier sustancia que, cuando está presente en bajas concentraciones comparadas con un sustrato oxidable, previene o retarda significativamente la oxidación del mismo (Valenzuela, 2015).

Según Quiñones (2017), las principales características de un compuesto o sistema antioxidante son, la prevención o detección de una cadena de propagación oxidativa, mediante la estabilización del radical generado y la regeneración del antioxidante radicalario ayudando así a reducir el daño oxidativo en el cuerpo humano (Quiñones, 2017).

Los antioxidantes derivados de las plantas desde el punto de vista fitoquímico pueden llegar a ser taninos, lignanos, estilbenos, cumarinas, quinonas, xantonas, ácidos fenólicos, flavones, flavonoides, catequinas, antocianinas y proantocianidinas; los cuales debido a sus propiedades redox pueden actuar como donadores de hidrógenos y de esta manera prevenir o retrasar el desarrollo de enfermedades (Marwah *et al.*, 2007).

Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar- interactuar más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente- membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular. La acción del antioxidante es de sacrificio de su propia integridad molecular para evitar alteraciones de moléculas, lípidos y proteínas, ADN, etc., funcionalmente vitales o más importantes (Venero, 2002).

Según Quiñones (2017), las plantas como fuentes de antioxidantes se pueden utilizar para la preservación del valor nutritivo previniendo el deterioro oxidativo de lípidos y para propósitos medicinales. La mayor parte de la capacidad antioxidante de los vegetales puede ser debida a los polifenoles que poseen características biológicas extensas y, particularmente, a su propiedad de secuestrar de radicales libres. La actividad antioxidante de los polifenoles es la propiedad de mayor

interés, ya que ha sido blanco de un sin número de estudios; este efecto se debe a que contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos, los cuales reaccionan con los radicales libres (Quiñones, 2017).

2.2 Familia Commelinaceae

Las plantas pertenecientes a la familia Commelinaceae son hierbas, erectas o postradas, a veces suculentas terrestres, con los tallos largos y a veces helicoidales, rara vez epífitas y arrosetadas, con savia mucilaginosa. Sus hojas suelen ser simples, alternas, dísticas o dispuestas en espiral, con las vainas cerradas en la base, a veces aguzadas y formando un pseudopecíolo, márgenes enteros, involutos o convolutos (López-Ferrari, 1995).

Esta familia consta de 40 a 45 géneros y cerca de 650 especies distribuidas en las regiones templadas y cálidas de ambos hemisferios. Algunas de ellas son de amplio uso como plantas ornamentales, principalmente por su follaje colorido y por su fácil propagación vegetativa. En México se conocen 118 especies nativas (Espejo y López-Ferrari, 1995). Se encuentra distribuida por todo el planeta, pero especialmente se encuentra en zonas tropicales de América Central y del Sur.

La familia Commelinaceae ha sido estudiada y a los géneros *Commelina*, *Tripogandra* y *Tradescantia* se les han encontrado varias propiedades tales como colorantes, antiinflamatorios o antimicrobianos. En 1992, Austin y Bourne reportaron que las hojas de *Tradescantia zebrina*, son utilizadas como té para limpiar la sangre y como tratamiento contra la influenza. En el mismo año Shi, Lin y Francis desarrollaron un método de identificación de antocianinas con el cual determinaron la presencia de cyanidina-3,7,3' – triglucósido con una molécula de ácido ferúlico sobre cada azúcar.

Pero y Martínez (1993) realizaron un estudio para ver la distribución de flavonoides en el género de *Tradescantia* y observaron que existían tres grupos mayoritarios de especies con relación a su distribución geográfica. Especies pertenecientes a Norte América constan de ácidos fenólicos sulfatados, en México glucósidos de 6-hidroxiluteolina y en América del Sur predominan C-glucósidos. Esto puede ser debido a la adaptación ecológica y a las condiciones de cada región en la que crecieron.

La planta *Tradescantia pendula* (matalí), es originaria de México, normalmente se distribuye principalmente en regiones tropicales del sureste mexicano (Espinoza *et al.*, 2017). Su principal uso es en la elaboración de agua fresca y como remedio, en infusión o té. A estas bebidas se les atribuyen propiedades diuréticas, para tratar disentería, disuria o infecciones de vías urinarias y dolor de estómago. Actualmente, existe poca evidencia científica de sus propiedades farmacológicas, no obstante, se ha reportado su actividad antioxidante, antimicrobiana en extractos metanólicos (Tan *et al.*, 2014; Alaba, 2014).

2.2.1 Género *Tradescantia*

El género *Tradescantia* tiene plantas herbáceas y perennes pertenecientes a la familia de las Commelináceas y originarias del Continente Americano. Está formado por 75 especies que se distribuyen desde el sur de Canadá hasta el norte de Argentina. Se ha utilizado como un bioindicador para la determinación de la presencia de mutágenos en el medio ambiente. Además, que ha sido objeto de numerosos estudios citogenéticos debido a que han evolucionado a través de cambios cromosómicos de diversa naturaleza, tanto estructurales como numéricos (López-Ferrari, 1995).

Clasificación taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Subclase: Monocotiledónea

Orden: Commelinales

Familia: Commelinaceae

Género: *Tradescantia*

2.2.2 *Tradescantia pendula*



Figura 1. *Tradescantia pendula* (Juárez, 2021).

Sinónimos:

Cyanotis zebrina (Heynh.) Nees

Sinonimia

- *Tradescantia zebrina* var. *flocculosa* (G. Brückn.) D.R. Hunt
- *Tradescantia zebrina* var. *mollipila* D.R. Hunt
- *Tradescantia zebrina* var. *zebrina*

A *T. pendula* (Figura 1,) se le conoce con los nombres comunes de matalí y maguey morado. Es una especie herbácea y perenne perteneciente a la familia de las Commelinaceae. Las especies de su género tienen atractivas hojas purpúreo-verdosas, las más nuevas y superiores púrpuras, y las más viejas e inferiores verdes con dos tiras plateadas, las hojas más viejas muestran un uniforme magenta profundo (López-Ferrari, 1995).

Esta especie tiene, además, tallos decumbentes o rastreros, enraizando en los nudos. Hojas de 2.5-10 x 1.5-3.5 cm, ovado-oblongas a anchamente ovadas, agudas, redondeadas en la base, algo

carnosas, verdes y/o purpúreas en el haz, frecuentemente con rayas plateadas, generalmente purpúreas en el envés (López-Ferrari, 1995).

Comúnmente es vendida como planta de interior y también se utiliza como cobertura de suelo, coloniza agresivamente nuevas áreas cuando se disturba y se manipula fácilmente. Se le conoce como matalí en el sureste de México, en los estados de Tabasco y Chiapas donde, se prepara una bebida refrescante cociendo las hojas de esta planta. El cocimiento resultante se cuele para retirar las hojas y al agua se le agrega jugo de limón y azúcar, se toma fría y se le atribuyen propiedades desinflamatorias, diuréticas y desintoxicantes del riñón, así también se utiliza como cura contra la disentería (López-Ferrari, 1995).

2.2.2.1 Actividades biológicas de *Tradescantia pendula*

El género *Tradescantia* contiene diferentes metabolitos secundarios, que son los responsables de sus propiedades curativas, dentro de las cuales se encuentran los taninos, saponinas, flavonoides y esteroides (Espinoza *et al.*, 2017).

En Colombia, la savia de *Tradescantia pendula* se ha usado como anti-veneno de mordedura de serpiente. En la medicina tradicional zapoteca, en Oaxaca, el extracto de *T. pendula* es utilizada en el tratamiento empírico de erisipela, infecciones locales, dolor, edema, tumores, y enfermedades inflamatorias. En México y Guatemala la infusión de *T. pendula* es empleada como un antiinflamatorio. La savia de *T. pendula* es usada como cicatrizante sobre las heridas (Espinoza *et al.*, 2017).

En Guatemala y Venezuela es utilizada principalmente para controlar los niveles de glucemia en el tratamiento de la diabetes mellitus y como diurético. En Cuba y Puerto Rico el tallo de *T. pendula* es usada para extirpar callos, contra dolores musculares, la colitis y la disentería, para la cicatrización de heridas y contra la hemoptisis. En Brasil, la infusión de *T. pendula* es empleada tradicionalmente para tratar el vitíligo, las manchas, los dolores en los riñones y los cálculos renales (Espinoza *et al.*, 2017).

2.2.2.2 Propiedades químicas

El análisis fitoquímico del género *Tradescantia* revela la presencia de saponinas responsables de su efecto cáustico, debido a un mucílago que ocasiona irritaciones en la piel. Ha sido empleada

en la detección de radiaciones y para el biomonitoreo de la calidad del aire para detectar trazas de metales. Además, tiene resultados positivos para taninos, esteroides y flavonoides. (Espinoza *et al.*, 2017).

2.3 Afectaciones en piel

2.3.1 Estructura y función de la piel

La piel es el órgano del cuerpo que cubre entre 1,5 a 2 m², representando casi 1/6 del peso corporal y cumpliendo múltiples funciones, como la protección frente a las agresiones externas, la termorregulación, la impermeabilización, la absorción de radiaciones ultravioleta, la producción de vitamina D, protección contra los microorganismos patógenos, defensa inmunológica del microorganismo, detección de estímulos sensoriales y mantiene el balance hídrico del organismo (Caballero *et al.*, 2016).

La compleja estructura de la piel humana y sus características fisicoquímicas la convierten en la primera línea de defensa del organismo contra factores exógenos y ayuda a mantener la homeostasis del cuerpo humano. En su estructura se distinguen tres capas principales: epidermis, dermis e hipodermis (Figura 2) (Boer *et al.*, 2016).

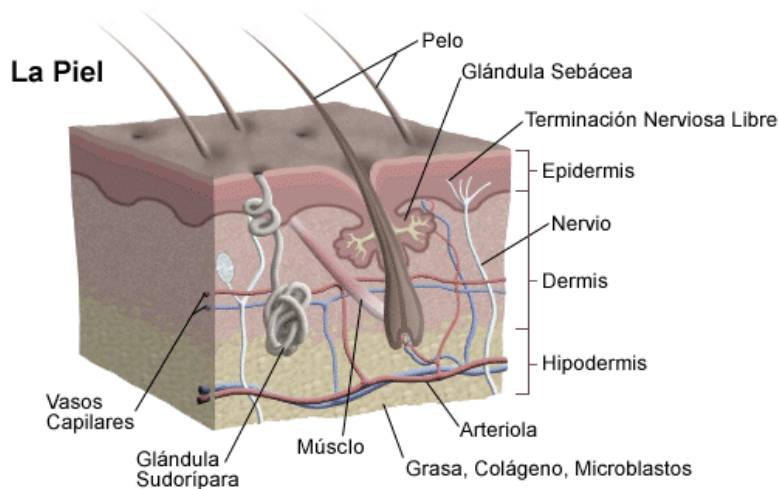


Figura 2. Anatomía de la piel (Boer *et al.*, 2016).

2.3.1.1 Epidermis

La epidermis es la capa más externa de la piel que presenta un grosor de 0.05-1.5 mm y está compuesta principalmente por queratinocitos que representan el 95% de las células, mientras que el

5% restante corresponden a melanocitos, células de Langerhans y células de Merkel (Alexander *et al.*, 2012). Generalmente, la epidermis se considera subdividida en 5 estratos con el siguiente orden desde la superficie externa hasta el contacto con la dermis: estrato córneo, lúcido, granuloso, espinoso y germinativo (Tsakovska *et al.*, 2017). La epidermis es un tejido dinámico que se renueva constantemente, en el que la pérdida de células de la superficie del estrato córneo (descamación) se equilibra con el crecimiento celular en la capa basal (Bouwstra *et al.*, 2003).

- Estrato basal: Constituye la capa más profunda de la epidermis, contiene pequeñas células en división (basales, germinativas). Las células basales se dividen para formar queratinocitos, los cuales migran transitoriamente hacia el estrato córneo (van Smeden *et al.*, 2014). Esta capa también contiene células productoras de melanina llamadas melanocitos, que dan color a la piel y protegen las capas inferiores de la exposición dañina al sol y células de Merkel que son esenciales para las respuestas táctiles (Benítez, Montáns, 2017; Maricich *et al.*, 2009).
- Estrato espinoso: Contiene células poliédricas irregulares que se aplanan a medida que se acercan a la superficie, las cuales forman uniones intracelulares a través de desmosomas. En este estrato también se pueden encontrar células dendríticas de Langerhans que se unen a los antígenos en la piel dañada para alertar al sistema inmunitario (Benítez, Montáns, 2017; Losquadro, 2017).
- Estrato granuloso: Contiene células en forma de diamante con gránulos de queratohialina y cuerpos lamelares, estos últimos contienen lípidos que se secretan al espacio extracelular, lo que da como resultado una envoltura lipídica hidrófoba que mantiene unidas las células y actúa como barrera mecánica de la piel. Los gránulos de queratohialina contienen proteínas (profilagrina, queratina y loricroina). En este estrato, las células se transforman en corneocitos que forman el estrato córneo (Wickett, Visscher, 2006).
- Estrato lúcido: Es una capa delgada y transparente que suele considerarse una subdivisión del estrato granuloso y se le identifica en zonas de piel gruesa como las palmas y las plantas (Degim, 2006; Yang G *et al.*, 2020).

- Estrato córneo: Constituye la capa superficial de la piel, formado por corneocitos apilados que proporcionan una barrera física. Los corneocitos son células escamosas anucleadas planas empaquetadas principalmente con filamentos de queratina. Estas células están conectadas por corneodesmosomas y embebidos en una matriz lipídica (compuesta de ceramidas, colesterol y ácidos grasos libres) que proporciona la barrera de permeabilidad (Degim IT, 2006).
- La matriz lipídica intercelular es generada por los queratinocitos en la parte media a superior del estrato granuloso, descargando su contenido laminar en el espacio intercelular. Este material extruido se reorganiza en las capas iniciales del estrato córneo formando láminas lipídicas intercelulares anchas (Mathur *et al.*, 2010). Esta disposición escalonada de corneocitos en un lípido continuo se describe como modelo de “ladrillo y mortero”, donde las células representan los ladrillos y los lípidos a su alrededor el mortero (Figura 3). Los desmosomas están programados a pasar por un proceso de degradación gradual a fin de permitir la descamación ordenada de los corneocitos desgastados más externos (Menon *et al.*, 2012).

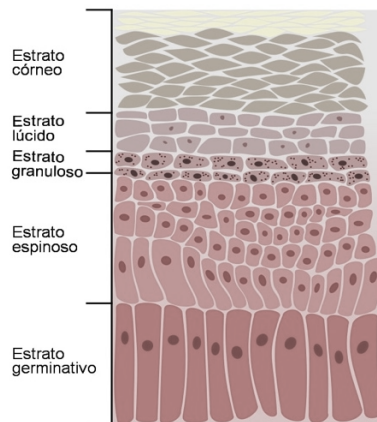


Figura 3. Estructura esquemática de la epidermis y representación del modelo de "ladrillo y mortero" (Yang G *et al.*, 2020).

2.3.1.2 Dermis

La dermis con un grosor de 0.5 a 5 mm (dependiendo del sitio del cuerpo) se encuentra directamente adyacente a la epidermis y proporciona soporte mecánico a la piel. La conexión entre la dermis y la epidermis se da a través de la membrana basal en la unión dermoepidérmica (Bouwstra *et al.*, 2003). Se subdivide en dos capas principales: dermis papilar, la cual es rica en vasos sanguíneos y terminaciones nerviosas sensoriales y dermis reticular que constituye la parte principal de la dermis y está en contacto con la hipodermis.

La dermis presenta componentes intersticiales (fibras de colágeno, tejido elástico y sustancia fundamental) y celulares (fibroblastos, mastocitos, células plasmáticas, linfocitos, células dendríticas dérmicas e histiocitos). El fibroblasto es el tipo celular predominante en la dermis, cuya función es la síntesis de colágeno y elastina (Lai-Cheong *et al.*, 2013). A diferencia de la epidermis que representa una estructura avascular, la dermis está impregnada de vasos sanguíneos y linfáticos. Los nervios, glándulas sudoríparas y sebáceas, así como los folículos pilosos están incrustados en la dermis (Mathes *et al.*, 2014).

2.3.1.3 Hipodermis

La hipodermis es la capa más interna de la piel y se compone principalmente de adipocitos que almacenan energía y proporciona aislamiento térmico. A parte de fibroblastos y macrófagos, la hipodermis también contiene vasos sanguíneos que se dirigen a la dermis conectando ésta a la circulación de la sangre. Esta capa actúa mecánicamente como un amortiguador y está unida a la dermis por colágeno y por bandas fibrosas que también se conectan a la fascia profunda de una manera muy flexible (Benítez, Montáns, 2017).

2.3.2 Herida

Se denomina herida a una solución de continuidad en la piel y tejidos producida por acto quirúrgico o traumatismo, entendiendo como tal a toda acción violenta ejercida sobre el organismo, capaz de producir una lesión tisular (Figuerola *et al.*, 1995).

En toda herida suele haber:

- Espacio muerto que contiene sangre, linfa y restos de tejido que pueden existir también

cuando la herida es abierta, cuerpos extraños procedentes del exterior, como tierra, trozos de ropa o del agente casual o bacterias del medio ambiente (Desmarchelier, 2005).

- Una zona de astricción marginal, que constituyen los bordes de la herida, contundidos e hipovitalizados.
- Interrupción de los vasos sanguíneos y linfáticos y de los nervios.
- Déficit funcional del territorio traumatizado.
- Dolor.

2.3.2.1 Clasificación de las heridas

2.3.2.1.1 Heridas abiertas

En este tipo de heridas se observa la separación de los tejidos blandos, son los más susceptibles a la contaminación (Domínguez, 1989).

2.3.2.1.2 Heridas cerradas

Las heridas cerradas son aquellas en las que no se observa la separación de los tejidos, generalmente son producidas por golpes. En estos casos, la hemorragia se acumula debajo la piel (hematoma), en cavidades o en vísceras. Deben tratarse rápidamente porque pueden comprometer la función de un órgano o la circulación sanguínea (Domínguez, 1989).

2.3.2.1.3 Heridas simples

Las heridas simples son heridas que afectan la piel, sin ocasionar daño en órganos importantes (Domínguez, 1989).

2.3.2.1.4 Heridas complicadas

Las heridas complicadas son heridas extensas y profundas, con hemorragia abundante; generalmente hay lesiones en músculos, tendones, nervios, vasos sanguíneos, órganos internos y puede o no presentarse perforación visceral (Farmacodinámica y fitofarmacología, 2012).

2.3.3 Cicatrización

La cicatrización es un proceso natural que posee el cuerpo para regenerar los tejidos de la dermis y epidermis que han sufrido una herida. Cuando una persona posee una herida en el proceso de recuperación se llevan a cabo una serie de complejos fenómenos bioquímicos que se suceden para reparar el daño (Farmacodinámica y fitofarmacología, 2012).

Estos fenómenos ocurren con cierto solapamiento temporal y pueden ser divididos para su estudio en las siguientes fases: inflamatoria, proliferativa y de remodelación (algunos autores consideran que la cicatrización ocurre en cuatro o más etapas, si se subdividen las fases inflamatorias o de proliferación en pasos intermedios) (Domínguez *et al.*, 2002).

2.3.3.1 Etapas de la cicatrización

1) Fase temprana

La fase temprana de cicatrización tiene dos etapas: la hemostasis y la inflamación.

2) Fase intermedia

La fase intermedia de cicatrización consta de dos etapas: la proliferación con la migración y la epitelización con angiogénesis.

3) Fase tardía

La fase tardía de cicatrización tiene dos etapas: la de síntesis de colágeno y de la matriz y la contracción.

4) Fase final

Por último, se encuentra la fase final de la cicatrización que consiste en la remodelación.

2.3.3.2 Componentes principales de la cicatrización

La cicatrización incluye dos principales componentes: la regeneración y la reparación. La regeneración es el reemplazo de las células perdidas y tejidos con células del mismo tipo. La reparación es la cicatrización como resultados de las células perdidas siendo reemplazadas por tejido conectivo. La reparación es el tipo más frecuente de cicatrización y generalmente resulta en la formación de una cicatriz (Figuroa *et al.*, 1995).

2.3.3.2.1 Regeneración

La regeneración es la capacidad de las células para regenerarse y depende del tipo celular. Las células lábiles como células de piel, órganos, linfoides, médula ósea y membranas mucosas del tracto digestivo, urinario y reproductor se dividen constantemente, y la lesión a estos órganos tiene una rápida regeneración. Las células estables retienen su capacidad para regenerarse, pero lo hacen solamente si el órgano está lesionado. los ejemplos de células estables son el hígado, el páncreas, los riñones y las células óseas. Las células permanentes no se regeneran, ejemplo de estas son: neuronas y las células musculares cardiacas. La cicatrización ocurre por reparación con un tejido de cicatrización (Figuroa *et al.*, 1995).

2.3.3.2.2 Reparación

La cicatriz o reparación es la masa de tejido conjuntivo esencialmente fibroso revestido por la epidermis neoformada que ocupa una antigua solución de continuidad producida por el traumatismo (Desmarchelier, 2005).

La reparación cutánea se puede categorizar en tres formas:

- 1) Primaria: cuando su cierre es primario.
- 2) Secundaria: cuando su cierre es por segunda intención.
- 3) Terciaria: cuando su cierre primario es tardío.

2.3.3.2.2.1 Cicatrización por primera intención

La cicatrización por primera intención, llamada también unión primaria, ocurre cuando el tejido es incidido (un corte aséptico) y es suturado con precisión y limpieza. La reparación ocurre sin complicaciones y requiere de la formación de solo una pequeña cantidad de tejido nuevo. en este tipo de cicatrización el cierre se concreta por aproximación de cada uno de los planos sinedo esta una situación ideal (Corral, 1997; Sánchez, 1985).

El transporte activo y los procesos de transporte facilitados están ausentes del estrato córneo, debido a que los corneocitos son anucleados y queratinizados y no pueden producir las estructuras proteicas especializadas necesarias para el transporte activo o facilitado. Por consiguiente, se asume comúnmente que el mecanismo de transporte del fármaco a través del estrato córneo es por difusión pasiva mediante tres posibles vías de penetración: intracelular, intercelular y folicular (Figura 4) (Liuzzi,*et al.*, 2016; Karadzovska *et al.*, 2013).

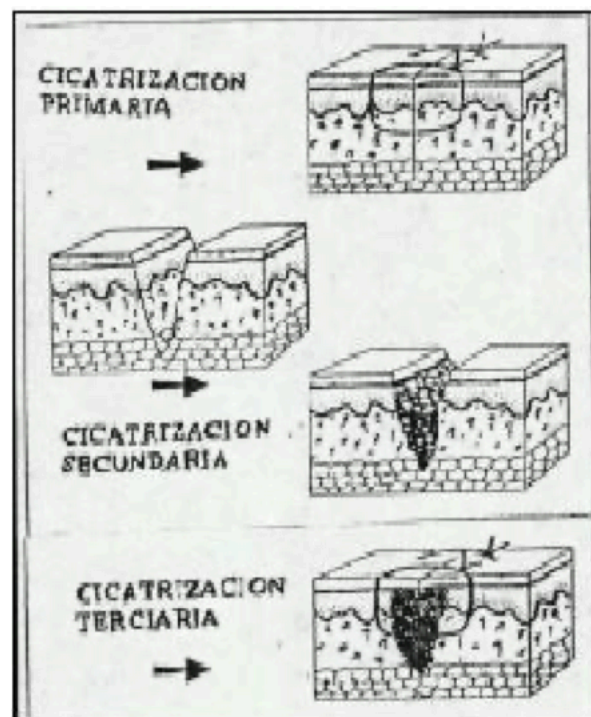


Figura 4. Cicatrización de la herida (Sánchez, 1985).

2.3.3.2.2 Cicatrización por segunda intención

Cuando la herida deja de sanar por unión primaria ocurre un proceso más complicado y prolongado y que es la cicatrización por segunda intención causado por lo general por infección, trauma excesivo con pérdida de tejido o aproximación imprecisa de los tejidos (espacio muerto cerrado, Figura 5) (Sánchez, 1985).

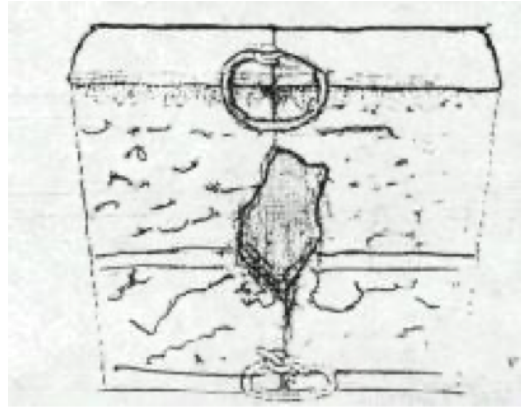


Figura 5. Espacio muerto cerrado en una herida (Sánchez, 1985).

En este caso, la herida puede ser dejada abierta y permitir la cicatrización desde los planos más inferiores hacia la superficie.

El tejido de granulación contiene miofibroblastos que cierran la herida por contracción, el proceso de cicatrización es lento y el cirujano puede requerir tratar el exceso de granulación que se destaca en los márgenes de la herida, retardando la epitelización, la mayor parte de las heridas y quemaduras infectadas cicatrizan en esta forma (Domínguez *et al.*, 2002; Sánchez, 1985).

2.3.4 Suministro de fármacos a través de la piel: ventajas y desventajas

La piel es reconocida como una ruta atractiva para la administración de medicamentos, los mismos que pueden ser suministrados mediante la aplicación tópica, administración transdérmica e inyección a través de la piel en los tejidos subyacentes, incluida la dermis, tejido subcutáneo, músculo, vasos sanguíneos y sitios específicos como el canal espinal. La aplicación tópica permite la focalización local de medicamentos con efectos sistémicos mínimos y se utiliza principalmente para la administración de fármacos antiinflamatorios, antihistamínicos, antibióticos y analgésicos (Liu X *et al.*, 2014).

La administración transdérmica de fármacos constituye una alternativa para minimizar y evitar las limitaciones relacionadas con la administración oral y parenteral de medicamentos y puede ser considerada en el tratamiento de diferentes tipos de enfermedades, no solo las de la piel (Sala *et al.*, 2018). El suministro de fármacos por vía transdérmica presenta notables ventajas y también ciertas desventajas que se resumen en la Tabla 1. En este sentido, se requiere que el fármaco presente un Log P (octanol/ agua) entre 1 y 3 para que atraviese con éxito el estrato córneo y sus capas acuosas subyacentes (Brown *et al.*, 2006). Con respecto al coeficiente de difusión, este es inversamente proporcional al tamaño molecular del fármaco, de manera que, un peso molecular inferior a 500 Da se considera ideal para garantizar facilidad de difusión a través del estrato córneo (Foldvari, 2000).

Tabla 1. Ventajas y desventajas de la administración transdérmica de fármacos (Sala *et al.*, 2018).

Ventajas	Desventajas
Conveniencia de acceso y facilidad de aplicación por ser no invasiva e indolora.	Requiere de un peso molecular inferior a 500 Da para garantizar la facilidad de difusión a través del estrato córneo.
Posibilidad de evitar el metabolismo de primer paso en el tracto gastrointestinal y el hígado.	Suficiente solubilidad acuosa y lipídica (Log P entre 1 y 3).
Liberación sostenida y prolongada durante un periodo prolongado de tiempo.	Metabolismo pre sistémico por parte de enzimas en la piel, como las peptidasas y las esterasas.
Duración de acción más larga para los medicamentos con una vida media de eliminación corta.	Irritación y sensibilización de la piel, que puede ser provocado por la exposición a ciertos fármacos, excipientes o componentes del dispositivo de administración.
Reducción de efectos secundarios.	
Ruta alternativa en circunstancias donde la dosificación oral no es posible (pacientes geriátricos, inconscientes o con náuseas).	

2.3.5 Mecanismos para la percepción de fármacos a través de la piel

Las formulaciones tópicas y transdérmica se usan comúnmente para transportar medicamentos a la piel y al tejido subyacente, o a través de la piel para una acción sistémica. El principal reto para

lograr este objetivo consiste en superar la barrera que proporciona la capa más externa de la piel, el estrato córneo (Zsikó *et al.*, 2019). Esta capa actúa como defensa física de primera línea para prevenir la entrada de agentes químicos y biológicos indeseables (Soni *et al.*, 2009). Por lo tanto, el estrato córneo constituyó el paso limitante en el suministro de fármacos aplicados en la piel, en donde procesos como la diferenciación y migración de corneocitos y la descamación contrarrestan aún más el paso del fármaco (Sala *et al.*, 2018).

Durante la absorción transdérmica se pueden distinguir tres pasos: penetración que consiste en el ingreso de las moléculas en el estrato exterior de la piel, típicamente el estrato córneo; permeación, proceso en el cual, las moléculas pasan de una capa a otra y de un estrato al siguiente, llegando finalmente a la dermis; y absorción que se refiere al paso de las moléculas al sistema vascular (Liuzzi *et al.*, 2016).

La liberación del fármaco, la penetración a través del estrato córneo, así como a través de las capas viables de la piel están determinados por las interacciones entre el fármaco, la piel y el vehículo. La liberación del fármaco a partir del vehículo aplicado a la piel y su transporte a la circulación sistémica es un proceso de varios pasos que incluye:

- Liberación de fármaco del vehículo.
- Partición del fármaco desde la formulación hacia el estrato córneo.
- Difusión del fármaco dentro del estrato córneo.
- Partición del fármaco desde el estrato córneo hacia el interior de las capas viables de la epidermis.
- Difusión a través de las capas viables de la epidermis hacia la dermis.
- Absorción de fármacos por los vasos sanguíneos, a través de los cuales alcanzan la circulación sistémica (Zsikó *et al.*, 2019).

2.3.5.1 Vía de percepción de fármacos

La difusión del fármaco se da a través de los corneocitos, siendo la vía de preferencia para las moléculas hidrofílicas. Sin embargo, se considera la vía más compleja, ya que, durante el paso de la molécula de una célula a la subyacente, éstas tienen que cruzar los lípidos intercelulares, consecuentemente, la penetración debe ser por una vía parcialmente intercelular (Bolzinger *et al.*, 2012).

El transporte del fármaco ocurre a través de la matriz lipídica, entre las células y es usada principalmente por moléculas hidrofóbicas (Liuzzi *et al.*, 2016). Los lípidos de esta matriz extracelular proporcionan la única fase continua (y vía de difusión) desde la superficie de la piel hasta la base del estrato córneo; su composición (ceramidas, ácidos grasos libres y colesterol) es única entre las biomembranas y es particularmente notable la ausencia de fosfolípidos, sin embargo, a pesar de este déficit de lípidos formadores de bicapas, los lípidos del estrato corneo se reorganizan en hojas multilaminares (Naik *et al.*, 2000). Si bien los lípidos intercelulares están altamente estructurados y constituyen una barrera de permeabilidad significativa, la evidencia experimental sugiere que, a pesar de su alta tortuosidad, la vía intercelular parece ser la ruta predominante para la penetración de moléculas y su paso hacia los estratos más profundos (Hadgraft, 2004).

Se refiere al paso de las moléculas a través de las glándulas sudoríparas, folículos pilosos y glándulas sebáceas (Neupane *et al.*, 2020). Inicialmente, los apéndices de la piel no se consideraban rutas de penetración transdérmica significativas, ya que la evidencia sugería que representaban solo aproximadamente el 0.1% de la superficie de la piel. Sin embargo, estos cálculos no tuvieron en cuenta que los folículos pilosos representan invaginaciones, que se extienden profundamente en la dermis con un aumento significativo en el área de superficie real disponible para la penetración. Con una rica vascularización perifolicular y cambios en el patrón de diferenciación a lo largo del conducto folicular, el folículo posee características distintas que favorecen la penetración (Knorr *et al.*, 2009).

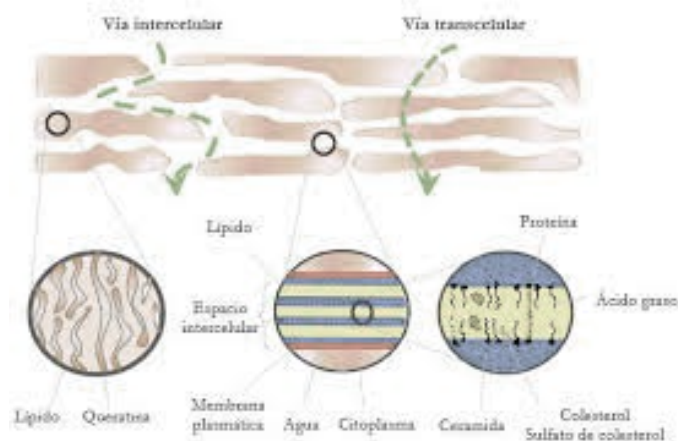


Figura 6. Vías para la permeación de fármacos en la piel (Knorr *et al.*, 2009).

2.3.6 Factores que influyen en la percepción de los fármacos

Hay muchos factores que afectan la penetración a través de la piel, incluidas las características fisicoquímicas del fármaco, factores biológicos y parámetros fisiológicos de la piel, así como también, las propiedades del vehículo. Entre las propiedades fisicoquímicas importantes del fármaco destacan: solubilidad, coeficiente de partición y coeficiente de difusión (Hadgraft, 2004). El coeficiente de permeabilidad es una constante proporcional al coeficiente de partición y difusión del fármaco. Esencialmente, la barrera del estrato córneo es lipofílica y, en consecuencia, las moléculas lipofílicas son mejor aceptadas. Sin embargo, las propiedades hidrofílicas de la piel aumentan a medida que aumenta la profundidad desde la superficie, de modo que la epidermis viable así como la dermis son significativamente hidrófilas, lo que favorece la absorción de sustancias hidrófilas, de tal forma que, idealmente un medicamento debe poseer solubilidades tanto lipídicas como acuosas, ya que, si es demasiado hidrófilo, la molécula no podrá transferirse al estrato córneo mientras que, si es demasiado lipofílico, el medicamento tenderá a permanecer en las capas del estrato córneo (Karadzovska *et al.*, 2013; Hadgraft, 2004).

Algunos de los factores biológicos y parámetros fisiológicos que afectan la penetración del fármaco a través de la piel, incluyen; la edad, nivel de hidratación de la piel, aporte sanguíneo, zona de aplicación, integridad de la piel, temperatura y pH de la piel. Si aumenta la hidratación, se puede mejorar la permeabilidad (Sala *et al.*, 2018; Zsikó *et al.*, 2019).

En niños, la permeación a través de la piel es mayor debido a que presentan una piel más hidratada y un estrato córneo más fino que las personas mayores. Los cambios en la circulación periférica pueden afectar la absorción transdérmica, de manera que, un aumento en el flujo sanguíneo podría causar una absorción más rápida del fármaco, creando a su vez un gradiente de concentración más alto, el mismo que promueve la permeación del fármaco (Sharma *et al.*, 2011; Hadgraft *et al.*, 2005). Tanto el grosor de la piel como su grado de vascularización, naturaleza del estrato córneo y densidad de los apéndices varían de un sitio a otro, por lo tanto, el lugar de la aplicación influirá en el grado de permeación del fármaco.

La piel actúa como una barrera que impide el paso de sustancias externas hacia el interior del organismo, de modo que, cualquier lesión o patología que altere la integridad de la barrera de la piel aumentará la permeabilidad a sustancias externas (Sharma *et al.*, 2011). La temperatura de la piel representa también un parámetro importante en la absorción transdérmica, ya que su incremento

implica un aumento del flujo sanguíneo, y con ello, puede incrementar la velocidad de difusión y permeación de los fármacos (Marwah *et al.*, 2016).

Finalmente, el pH de la piel puede influir en el grado de disociación del fármaco, dependiendo de sus valores de pKa. En este sentido, un fármaco en su forma ionizada puede ser más soluble, pero con un coeficiente de permeabilidad más bajo, en consecuencia, las sustancias en su estado no ionizado pueden permear la piel más fácilmente (Hadgraft, 2004).

Las propiedades fisicoquímicas del sistema de administración o vehículo, tales como, composición, concentración del fármaco y características fisicoquímica, influyen significativamente en la tasa de permeación transdérmica. El mecanismo de liberación depende del fármaco disuelto o suspendido en el vehículo, del coeficiente de partición interfacial, de la naturaleza de la formulación y del pH. Si el fármaco se libera fácilmente del sistema de administración, la tasa de permeación transdérmica será mayor (Marwah *et al.*, 2016). El vehículo puede mejorar la permeabilidad de la piel al proporcionar un efecto de hidratación o mediante alteración de la estructura de la bicapa lipídica. Los componentes añadidos a una formulación tienen un propósito específico en relación con la liberación, estabilidad y/o actividad del principio activo. Algunos componentes de uso común incluyen los tensioactivos que solubilizan lípidos dentro del estrato córneo, y potenciadores de penetración capaces de aumentar el coeficiente de difusión de fármacos al interrumpir la barrera del estrato córneo. Los potenciadores de penetración también pueden mejorar la partición entre la formulación y el estrato córneo (Karadzovska *et al.*, 2013). Finalmente, ya que la penetración y permeación del fármaco ocurre a través de mecanismos de difusión pasiva, la permeación depende del gradiente de concentración entre el vehículo y las capas de la piel (Sharma *et al.*, 2011; Marwah *et al.*, 2016).

2.3.7 Enfermedades inflamatorias de la piel

Las enfermedades de la piel ocupan el tercer lugar dentro de las 10 causas de morbilidad y las prácticas de la medicina tradicional son las opciones más frecuentes. La medicina tradicional desarrolladas en todo el mundo han contribuido en una forma exponencial en la salud humana, sobre todo como un proveedor de atención primaria de salud al nivel de uno, lo que está al alcance de uno, es por eso por lo que la OMS lo considera como el ‘pilar principal de la prestación de servicios de la salud, o su complemento’ (OMS, 2013).

La inflamación es la respuesta del sistema inmunológico a invasores extraños, tales como virus y bacterias. Como respuesta a la infección o lesión, diversas clases de glóbulos blancos se transportan por el torrente sanguíneo hasta el lugar de la infección y reclutan más glóbulos blancos. La inflamación suele ceder cuando la amenaza de la infección o lesión desaparece. La finalidad de la inflamación es localizar y eliminar el tejido dañado para que el cuerpo pueda empezar a recuperarse (González *et al.*, 2019).

La inflamación es una respuesta de los organismos a diferentes agresiones endógenas o exógenas. Tanto la respuesta inmune innata como la adquirida intervienen en este proceso que tiene numerosos efectos locales y sistémicos. Según el tiempo de evolución puede ser aguda o crónica, aunque a veces los patrones convencionales no pueden detectar un suceso previo (Arts *et al.*, 2018).

En ella participan células, citoquinas, receptores y componentes de la matriz extracelular y de los sistemas del complemento, quininas y coagulación. El proceso de inflamación, como mecanismo de defensa inmune, es normal y benéfico para el organismo. No obstante, si se inicia sin una causa clara o se prolonga de forma innecesaria, produce daño tisular e incluso la muerte (Rojas *et al.*, 2002). El sistema inmunitario cutáneo está altamente organizado y regulado, y abarca aspectos tanto de la inmunidad innata como adaptativa. La piel contiene un perfil variado de células inmunes innatas y mediadores, incluidos péptidos antimicrobianos, proteínas del sistema del complemento y fagocitos, como neutrófilos y macrófagos, que realizan una vigilancia rutinaria del tejido cutáneo en los vasos sanguíneos penetrantes (Kendall *et al.*, 2013; Kotnik, 2011). Además, la piel es la anfitriona de los componentes del sistema inmunitario adaptativo, y es la disfunción de éstos lo que se destaca en los trastornos inflamatorios de la piel (Kendall *et al.*, 2013).

Tabla 2. Funciones de las citoquinas proinflamatorias (Rojas *et al.*, 2002).

TNF	Induce la síntesis de NO, factor activador de plaquetas y leucotrienos. Produce fiebre. Induce en el hígado la producción de proteínas de la fase aguda de la inflamación.
IL-1β	Estimula en los M ϕ s y en los LsT la producción de citoquinas. Induce la expresión de moléculas de adherencia en el endotelio vascular y la generación de quimioquinas.
IL-6	Estimula la producción de citoquinas por parte de diferentes células. Induce en el hígado la producción de proteínas de la fase aguda de la inflamación.

IL-8	Atrae PMN hacia el endotelio vascular y orienta su paso a los tejidos, hacia el sitio de la agresión.
IL-10	Citocina antiinflamatoria capaz de inhibir la síntesis de citocinas proinflamatorias por los linfocitos T y los macrófagos, así como otras funciones inflamatorias de estas células.
IL-17	Incrementa la inflamación y son producidos por los LTh17 bajo el influjo de la IL-23.
IL-18	Induce la producción de IFN- γ por las NK y LsT.

La inflamación se caracteriza por cinco signos clínicos: rubor, color, dolor, tumor e impotencia funcional. Estas manifestaciones cardinales son causadas por la acumulación de leucocitos, proteínas plasmáticas y derivados de la sangre hacia sitios de los tejidos extravasculares donde existe una infección o lesión, provocada o no por agentes patógenos (Balusu *et al.*, 2016).

2.4 Fármacos sintéticos

En el descubrimiento de fármacos naturales, los compuestos vienen de fuentes naturales mientras que, en el descubrimiento de fármacos sintéticos, los compuestos típicamente son generados en laboratorios mediante química combinatorial, una técnica por la cual millones de moléculas son creadas de partes más pequeñas. El mayor desarrollo de los fármacos sintéticos se ha logrado en los últimos 50 años, sin embargo, durante los últimos 2 mil o 3 mil años los médicos trataron a sus pacientes únicamente con los productos que la naturaleza ofrece (Moreno-Ortíz *et al.*, 2013).

Una droga sintética, de síntesis o diseño es aquel fármaco de la síntesis artificial (o comercializado, si ya existía) de forma clandestina a fin de evitar las disposiciones existentes de las leyes sobre drogas, generalmente mediante cuando se recogen de derivados o análogos de fármacos existentes modificando su estructura química; menos comúnmente se refiere a la búsqueda de drogas con estructuras químicas diferentes que producen efectos subjetivos similares a las drogas ilícitas, con efectos similares o más potentes, que generalmente se venden en el mercado gris, debido a la desregularización existente en cuanto a este tipo de sustancias. Existen diferentes tipos de medicamentos sintéticos como los opioides, sedantes, esteroides anabólicos, droga disociativa, derivados de la piperazina, entactógeno (Moreno-Ortíz *et al.*, 2013).

2.4.1 Efectos secundarios de los fármacos

Los fármacos empleados habitualmente contra la inflamación y el dolor son analgésicos y los antiinflamatorios que, aunque poseen una alta eficacia, provocan graves efectos secundarios, fundamentalmente de carácter gastrointestinal. Esto puede ser por una interacción de medicamentos donde hay un cambio en la forma en que un medicamento actúa en el cuerpo cuando se toma con otras medicinas, alimentos o suplementos; o cuando se toma mientras tiene ciertas afecciones médicas (Latour, 2019). Por ejemplo, entre

- Dos medicamentos, como aspirina y anticoagulantes.
- Medicamentos y alimentos, como estatinas y ponelo.
- Medicamentos y suplementos, como ginkgo y anticoagulantes.
- Medicamentos y afecciones médicas, como aspirina y úlceras pépticas.

Las interacciones podrían hacer que un medicamento sea más o menos efectivo, causar efectos secundarios o cambiar la forma en que funcionan uno o ambos medicamentos. Los efectos secundarios son efectos no deseados, generalmente desagradables, causados por medicamentos. La mayoría son leves, como dolor de estómago, boca seca o somnolencia, y desaparecen al dejar de tomar el medicamento. Otros pueden ser más graves. En ocasiones, un medicamento puede interactuar con una enfermedad que tiene y puede causar un efecto secundario (Latour, 2019).

2.4.2 Fármacos basados en medicina tradicional

Entre los fármacos de origen natural más conocidos por su gran utilidad clínica están la morfina y la codeína, algunos derivados cuentan con un estrecho índice terapéutico (González *et al.*, 2019). Por otro lado, en la medicina popular y complementaria se ha usado la uña de gato por los principales compuestos bioactivos que ayuda a combatir abscesos, heridas profundas, tumores, inflamación general, esto como para decir un ejemplo del uso de las plantas medicinales como tratamiento.

El uso de plantas medicinales en el tratamiento de diversas reacciones inflamatorias siempre ha sido una práctica habitual en la medicina tradicional. Además, actualmente, estas sustancias antiinflamatorias de origen vegetal presentan un interés renovado ya que, además de haber sido

demostrada su eficacia, ofrecen en algunos casos, ventajas con relación a los antiinflamatorios clásicos, como es la baja incidencia de efectos secundarios (García, 2008).

Un ejemplo entre las drogas con principios activos que son capaces de dar ácido salicílico en el organismo, donde se destaca la corteza de sauce (*Salicilis cortex*), obtenida de diversas especies del género *Salix* (*salicáceas*), principalmente *S. alba*, *S. purpurea*, *S. daphnoides* y *S. fragilis*, entre otras. Este claro ejemplo se usa en forma de droga pulverizada, infusión, decocción, extracto fluido o seco, o de tintura (Luengo, 2021). Otro claro ejemplo con propiedades antiinflamatorias es el de la sábila (*Aloe vera*), así como sus propiedades cicatrizantes (Minsap, 1992) ya que en su composición presenta taninos y otras sustancias antioxidantes.

Las hojas de Eucalipto (*Eucalyptus globulus Labill*) presentan en su composición aceites esenciales cuyo principal constituyente es el cineol o eucaliptol (éter óxido terpénico) contiene también: terpenol, carburos terpénicos, alcoholes alifáticos, taninos, pigmentos flavónicos, etc; y se ha demostrado que los extractos acuosos de esta planta presentan propiedades antiinflamatorias (Bacallao *et al.*, 2002).

Se ha reportado en los extractos de tomillo (*Thymus vulgaris*), la presencia de flavonoides y los componentes fenólicos que le confieren su acción antiinflamatoria, entre otras (Bacallao *et al.*, 2002).

2.4.3 Formulaciones con plantas

Existen reportes que la mayoría de las personas que asisten a consulta médica, ya han utilizado o empleado diversas formas de terapias alternativas, siendo los remedios herbáceos los más utilizados (Echegaray *et al.*, 2011).

Es importante diferenciar entre un medicamento herbolario o un remedio herbolario, ya que la mayoría de las veces podría llegar a perjudicar al paciente si se desconocen sus efectos secundarios. Es por eso por lo que, la Ley General de Salud y el Reglamento de Insumos para la Salud diferencian estos conceptos, donde en la primera se tiene evidencias científicas para su uso, mientras que con el remedio herbolario su uso sólo se apoya en conocimiento tradicional (Hernández, 2016).

2.4.4 Sistemas de liberación de fármacos

El sistema de liberación de fármacos tiene como objetivo el suministrar una cantidad terapéutica de medicamento al sitio apropiado del organismo. Para ello, se tiene en cuenta dos aspectos importantes en la liberación de drogas: la ubicación espacial y la liberación temporal de una droga con la que se alcance rápidamente la concentración de droga deseada y luego sea mantenida (Peña *et al.*, 2016).

Según la vía de administración de los sistemas de liberación de fármacos se pueden dividir en 5 categorías: (Seyfoddin *et al.*, 2019; Talebian, 2019; Hoffman, 2008).

- (i) administración oral: comprimidos, cápsulas, jarabes, suspensiones;
- (ii) administración rectal y vaginal: supositorios, enemas, óvulos;
- (iii) administración tópica: Pomadas, geles, lociones, parches, colirios, gotas nasales, gotas ópticas;
- (iv) administración parenteral: inyectables para administración subcutánea, intramuscular o intravenosa;
- (v) administración inhalatoria: Aerosoles, nebulizadores, entre otros.

El desarrollo de los sistemas de liberación de fármacos busca concentrar la medicación en los tejidos de interés y reducir la concentración relativa en los tejidos restantes. La administración de estos sistemas se basa en el acceso y la introducción específica del fármaco con su receptor candidato, minimizando al mismo tiempo su introducción con tejido no objetivo. Por lo tanto, estos sistemas reducen significativamente la toxicidad general al tiempo que mantiene sus beneficios terapéuticos (Seyfoddin *et al.*, 2019; Talebian, 2019; Hoffman, 2008).

2.5 Alginato: características y usos

El alginato es un polisacárido aniónico que puede ser obtenido de las algas marinas pardas y también de algunas especies bacterianas. Los alginatos son sustancias correspondientes a polímeros orgánicos derivados del ácido alginico. Este biomaterial tiene una alta biocompatibilidad con los

tejidos orgánicos, es biodegradable y prácticamente inocuo para los modelos en los cuales ha sido probado (Paredes-Juarez, 2013). Los alginatos son los compuestos más abundantes presentes en las algas marinas, comprenden hasta 40% de su peso seco. Son los componentes estructurales de la pared celular de las algas, cuya función principal es dar rigidez, elasticidad, flexibilidad y capacidad de enlazar agua (Hernández *et al.*, 2005).

Los alginatos son extraídos principalmente de tres especies de algas marrones. Estas incluyen las especies *Laminaria hyperborea*, *Ascophyllum nodosum* y *Macrocystis pyrifera*. En su estado natural, los alginatos se presentan como una mezcla de sales de los cationes que comúnmente se localizan en el agua de mar (Yabur *et al.*, 2007). La composición y extensión de las secuencias y el peso molecular determinan las propiedades físicas de los alginatos. La gelificación interna se basa en la liberación del ion calcio desde un complejo insoluble en un extracto (Gombots, 1998).

La aplicación de los alginatos se basa en cuatro propiedades principales. La primera concierne a su habilidad como espesante al ser disuelto en agua, generando un aumento a la viscosidad de la solución en la que se disuelve. La segunda a su capacidad de retener agua. La tercera se debe a su habilidad de formar un gel a partir de una serie de reacciones químicas de intercambio iónico que dan a lugar a la formación de enlaces entre las cadenas adyacentes del polímero del alginato. Particularmente se realiza un intercambio de iones de sodio por cationes divalentes o trivalentes y la cuarta propiedades es que se basa en la propiedad de formar películas (Funami *et al.*, 2009).

Una característica interesante de los alginatos es su capacidad de retención de agua o adsorbente. Es decir, pueden formar retículos poliméricos tridimensionales que poseen grupos hidrófilos capaces de absorber grandes volúmenes de agua o fluidos biológicos, desde diez hasta de miles de veces de su propio peso, y son capaces de retenerlos bajo presión (Hernández *et al.*, 2005).

En diferencia de la mayoría de los polisacáridos, el alginato forma geles prácticamente independientes de la temperatura, aspecto que lo hace atractivo en su elaboración (Draget *et al.*, 2002). Su estructura consta de residuos de ácido D-manurónico (M) y ácido L-gulurónico (G) que están unidos por enlaces 1-4 beta y dispuestos en la cadena polimérica en bloques. Los bloques homogéneos están compuestos por bloques consecutivos (MMM o GGG) y separados por bloques formados por unidades al azar o alternadas de ácidos manurónico y gulurónico (GMGMGM) (Figura 5) (Draget, 2009).

Las ventajas mencionadas del alginato y las recientes tendencias tecnológicas, se han fusionado en la técnica de encapsulación, resultando en un producto que permite proteger los

compuestos de factores adversos como el calor y la humedad, mejorando así su estabilidad y biodisponibilidad (Nieves *et al.*, 2010).

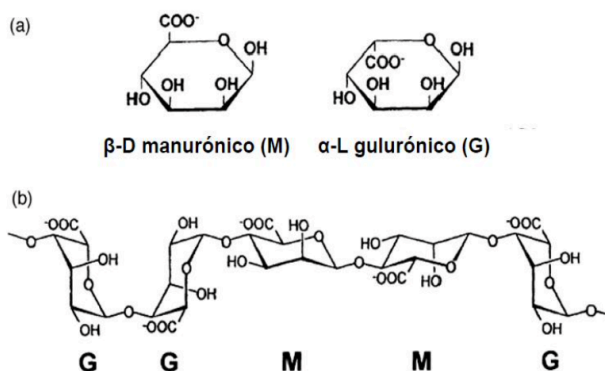


Figura 7. Estructura del polímero de alginato a) Monómeros del alginato, b) Conformación de la cadena de alginato (López, 2012).

Las cápsulas de alginato han sido empleadas por su fácil preparación a escala laboratorio, el proceso es muy sencillo y puede ser conducido en condiciones estériles. Además, muchos compuestos pueden ser encapsulados, ya sean hidrofóbicos o hidrofílicos, sensibles a la temperatura, líquidos o sólidos, etc. Algunos de los compuestos activos encapsulados con alginato son extractos de antioxidantes naturales, células microbianas, fármacos, entre otros. El peso molecular de los alginatos comercializados se encuentra entre 32000 y 400000 g/mol (Lee & Mooney, 2012) y este peso varía mucho de acuerdo con el tipo de alga de donde se ha obtenido, la viscosidad de una solución de alginato es proporcional al peso molecular (Draget, 2009). Un alginato con alto contenido de ácido gulurónico es más soluble en agua que el alginato que contenga alta proporción de ácido manurónico y al solubilizarse forma una solución coloidal viscosa, es prácticamente insoluble en soluciones hidroalcohólicas superiores al 30%, solventes orgánicos y soluciones ácidas de pH inferior a 3 (Rowe, Sheskey, & Weller, 2009)

Se usa en comprimidos y cápsulas como aglutinantes, también es usado en formulaciones de liberación sostenida por vía oral y además, por las propiedades adhesivas de los geles que se forman con alginato permite investigar la liberación de fármacos desde sistemas que se adhieren a la mucosa del tracto gastrointestinal, mucosa vaginal, nasal, pulmonar, etc. (Rowe, Sheskey, & Weller, 2009). También se usa para la microencapsulación de fármacos, como una alternativa a otras técnicas de microencapsulación que utilizan disolventes orgánicos, disminuyendo el riesgo a la salud (Agnihotri, Mishra, Goda, & Arora, 2012).

La principal desventaja de las cápsulas de alginato es que son muy porosas y se pueden producir pérdidas del material activo durante su preparación, manipulación o posterior incorporación en una preparación (López, 2012). Cabe mencionar, que nosotros podemos controlar la porosidad.

2.5.1 Modelos de ajuste de cinética de liberación

Para que un fármaco pueda ser absorbido es necesario que se encuentre en solución y para esto dependerá de la forma cristalina, solubilidad cantidad y tamaño de partícula del fármaco, del medio donde se libera, de la forma farmacéutica, componentes y el método de elaboración (Viserras, 2008) por lo que la cinética de liberación de principios activos resulta un fenómeno difícil de modelizar, pero en general se mide la cantidad de principio activo que se libera desde la matriz en función del tiempo (Fernández, Santos, & Estévez, 2009).

Los modelos cinéticos que describen liberación del fármaco desde las diferentes unidades de dosificación se dividen generalmente en 2 grupos, modelos reales o mecanicistas, y modelos empíricos, también se describen modelos nuevos matemáticos aún en estudio (Costa & Lobo, 2001).

Los modelos reales o mecanicistas están basados en el modelo de la capa de difusión de Noyes y Whitney, son modelos en los que la etapa limitante para la transferencia del fármaco hacia el medio de disolución es la difusión de las moléculas a través de esa capa, donde rigen las leyes cinéticas y las de difusión (2da Ley de Fick) (Viserras, 2008).

Los modelos empíricos: son modelos basados en ecuaciones matemáticas sin fundamento cinético que no caracterizan de manera adecuada las propiedades de disolución del fármaco, el más usado es el modelo de Weibull que inicialmente fue desarrollado para el estudio estadístico de poblaciones de datos de distinto origen (Viserras, 2008).

2.6 Modelos de estudios

2.6.1 Líneas celulares

Una línea celular es un grupo de células de tipo único (animal o vegetal) que se han adaptado para crecer continuamente *in vitro* y que se usan en investigación. Las líneas celulares derivadas de neoplasias humanas se han convertido en una de las principales herramientas de apoyo para realizar evaluación citotóxica de extractos vegetales, siendo una técnica sensible, que genera resultados reproducibles y válidos (Lieberman, Patterson, Moore, 2001; Atta-ur, Muhammad, William, 2001).

Las líneas celulares establecidas se pueden dividir en dos tipos principales: adherentes (células en monocapa) que se fijan al material plástico de un frasco o placa y por lo tanto tiene que desprenderse de esa superficie antes de utilizarlas y no adherentes (células en suspensión) que normalmente no se fijan a la superficie del recipiente de cultivo (Morgan & Darling, 1995).

Las células que crecen en cultivo ya sean adherentes o en suspensión, suelen clasificarse en primarias, inmortales o transformadas. Las células inmortales o transformadas presentan ambas la propiedad de crecer en forma ilimitada en cultivo (es decir, no mueren). Las células transformadas están integradas por células que derivan de tumores o que han sido manipuladas de algún modo (Morgan & Darling, 1995).

En investigación y desarrollo de fármacos, los científicos utilizan habitualmente líneas celulares como modelo de tejido sano o enfermo. El uso de líneas celulares ofrece una forma fácil, económica y estable de obtener resultados, las células primarias humanas se aíslan directamente de los tejidos y conservan las características morfológicas y funcionales de su tejido de origen (Pastor *et al.*, 2010).

El objetivo de su investigación determina el tipo de cultivo celular que se debe utilizar. Además, que son rentables, fáciles de utilizar y se pueden mantener en cultivo durante períodos de tiempo más largos ya que son fáciles de expandir (Kaur *et al.*, 2012).

La búsqueda de nuevas moléculas con potencial actividad anticancerígena a partir de productos naturales es hoy en día un campo vigente (Cordell, 2000; Mans, da Rocha, Schwartzmann, 2000). En este proceso, la valoración de la citotoxicidad *in vitro* sigue siendo una herramienta válida y útil en las primeras etapas de selección de compuestos promisorios, que los grupos de investigación básica utilizan ampliamente alrededor del mundo (Andrighetti-Fröhner, Antonio, 2003).

Para dar solidez a las valoraciones es necesario disponer de un panel de líneas celulares que represente diversos tipos de enfermedades, y conocer su sensibilidad a agentes con acción citotóxica demostrada (León *et al.*, 2022).

La definición de citotoxicidad tiende a variar dependiendo de la naturaleza del estudio, si las células mueren o simplemente tienen su metabolismo alterado, estos ensayos son empleados porque son baratos, fácilmente cuantificables y reproducibles. Muchos experimentos *in vitro* tienen el propósito de determinar el potencial citotóxico de los compuestos estudiados, porque ellos van a ser usados como fármacos, cosméticos y deben demostrar que no son tóxico o porque van a ser usados como agentes anticánceres y la citotoxicidad es crucial para su acción (Fresney, 2000).

La configuración de los modelos experimentales empleados *in vitro* para valorar la toxicidad de los compuestos químicos se fundamenta en dos pilares básicos, que son el sustrato biológico y los indicadores de toxicidad. El sustrato es el material generalmente orgánico, vivo o no, sobre el que se aplica *in vitro* el xenobiótico. Estas alteraciones se valoran mediante indicadores de toxicidad, que son los parámetros que se determinan para cuantificar las modificaciones producidas en la estructura o fisiología de los componentes del sustrato de ensayo (Repetto, 1995).

Según Fresney (2000), los ensayos de citotoxicidad se pueden clasificar en ensayos de viabilidad y ensayos de supervivencia, los primeros se emplean para determinar la proporción de células que inmediatamente después de un tratamiento potencialmente traumático, se mantienen intactas. Mediante estos ensayos se puede evaluar la citotoxicidad de un tratamiento en términos de concentraciones letales (LC).

La concentración letal 50 (LC₅₀) es la concentración de la sustancia de tratamiento que causa la muerte al 50% de las células presentes, evaluadas inmediatamente después del tratamiento (Cordero, 2002).

Para Freshney (2000), algunos ensayos de citotoxicidad como los de viabilidad que se basan en la capacidad que tienen las células para excluir sustancias a las que son impermeables, ofrecen una interpretación instantánea. Estas pruebas de viabilidad son para medir la tasa de supervivencia directamente, las células que al ser expuestas al colorante no se tiñen, se consideran viables y son de particular importancia para agentes tóxicos los cuales ejercen sus efectos primarios sobre la integridad de la membrana. Estas líneas celulares pueden ser de diferentes áreas pero para efectos de este proyecto de investigación se optaron las líneas celulares HaCaT y U937 que se explicaran a continuación.

2.6.1.1 HaCaT

Los queratinocitos humanos primarios cultivados se emplean con frecuencia para estudios de respuestas inmunológicas e inflamatorias. La línea de queratinocitos humanos inmortalizados espontáneamente y de larga vida, son capaces de diferenciarse *in vitro*, como un modelo adecuado para seguir la liberación de mediadores inflamatorios y reparadores en respuesta a TNF α o IL-1 β . Las células llamadas HaCaT (queratinocitos inmortalizados no tumorigénicos), son un modelo útil para investigar intervenciones o terapias antiinflamatorias en enfermedades de la piel (Quaresma, 2017).

2.6.1.2 U937

La línea celular U937 (linfoma histiocítico difuso), es una línea celular de leucemia mieloide humana pro-monocítica y se aisló del linfoma histiocito de un hombre de 37 años (Sundstrom y Nilsson, 1976). Esta línea celular que presenta muchas características de los monocitos y es fácil de usar. Se puede preparar un número prácticamente ilimitado de células y son relativamente uniformes. Esta línea celular ha sido una herramienta importante en la investigación de los mecanismos implicados en la unión monocitos-endotelio (Liu *et al.*, 2004). Estas células de leucemia se han utilizado como modelo experimental para dilucidar los mecanismos de diferenciación de monocitos y macrófagos.

2.6.2 Fibroblastos

Los fibroblastos comprenden el tipo de célula principal del tejido conectivo, que posee una morfología en forma de huso cuya función clásica se ha creído que produce una matriz extracelular responsable de mantener la integridad estructural del tejido. Los fibroblastos también juegan un papel en la fase proliferativa de la curación de las heridas, resultando en la deposición de la matriz extracelular (Landén *et al.*, 2016).

La proliferación de estos está controlada por citoquinas y factores de crecimiento de fibroblastos, como la endotelina-I que actúa sinérgicamente con las IL-6 e IL-4 para estimular la producción de colágeno, en tanto que el IFN- γ (interferón inmunitario o de tipo II), la leucorregulina y la relaxina inhiben esta producción. Sus funciones se basan en la resolución de la inflamación y cicatrización de heridas. Tienen participación en la producción de IL-6, secretando además IL-11 y GM-CSF. Inducen angiogénesis y son capaces de fagocitar la heparina liberada por los Mas (Rojas *et al.*, 2002).

Cabe mencionar que el IFN, es el interferón inmunitario, que es un tipo de citocina producida por linfocitos T y linfocitos natural killer cuya función más importante es la activación de los macrófagos, con aumento en la capacidad fagocitaria de estos, tanto en la respuesta inmunitaria innatas como las respuestas celulares adaptativas (Rojas *et al.*, 2002).

2.6.2.1 Morfología de los fibroblastos

Los fibroblastos son muy variables en forma y tamaño dependiendo del órgano donde se encuentren y de su estado de actividad. En general, son células fusiformes (Figuras 8 y 9) o

estrelladas con prolongaciones citoplasmáticas que pueden ser relativamente cortas y anchas, o bien largas, delgadas y muy ramificadas. En este último caso, los fibroblastos pueden estar en contacto unos con otros por uniones tipo nexo o por contactos físicos simples. También interactúan con el resto de las células que hay en el tejido conectivo, como neuronas, células musculares, células endoteliales, leucocitos, y otras, mediante contactos físicos directos, utilizando a la matriz extracelular como intermediaria o mediante la secreción de sustancias (Megías *et al.*, 2019).

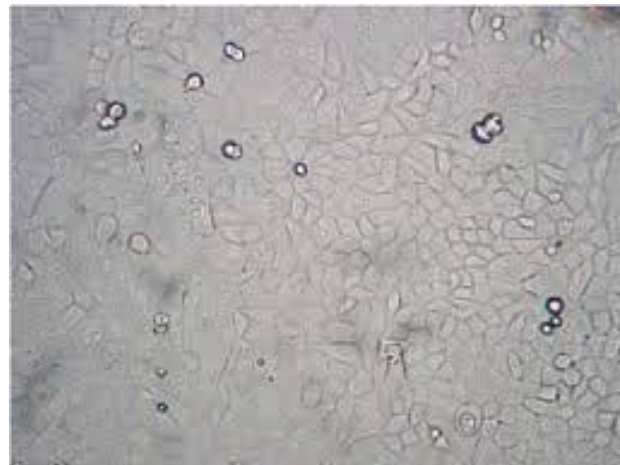


Figura 8. Fibroblastos en cultivo celular. (Amorteguí y Ramírez, 2008).

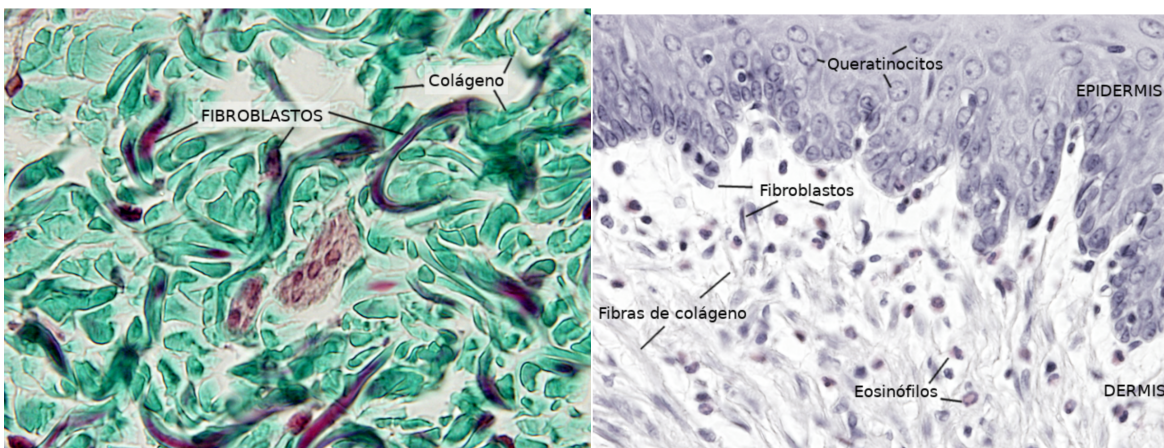


Figura 9. Fibroblastos en la dermis. Esta imagen pertenece a un tejido conectivo denso irregular donde los fibroblastos se encuentren entre paquetes de fibras de colágeno (Megías *et al.*, 2019).

Se identifican a microscopía óptica por su núcleo extremadamente ovoide y por un citoplasma poco abundante. La presencia de un prominente nucléolo en el fibroblasto en contraste con su ausencia en el fibrocito podría marcar las diferencias entre los dos estados metabólicos. Con el

microscopio electrónico de transmisión (Figuras 10 y 11) los fibroblastos aparecen como células delgadas con poco desarrollo de los orgánulos celulares.

Los fibroblastos activos son de mayor tamaño, con mayor cantidad de citoplasma y un gran desarrollo de los orgánulos relacionados con la síntesis de los componentes de la matriz extracelular: ribosomas, complejo de Golgi y retículo endoplasmático (Megías *et al*, 2019).

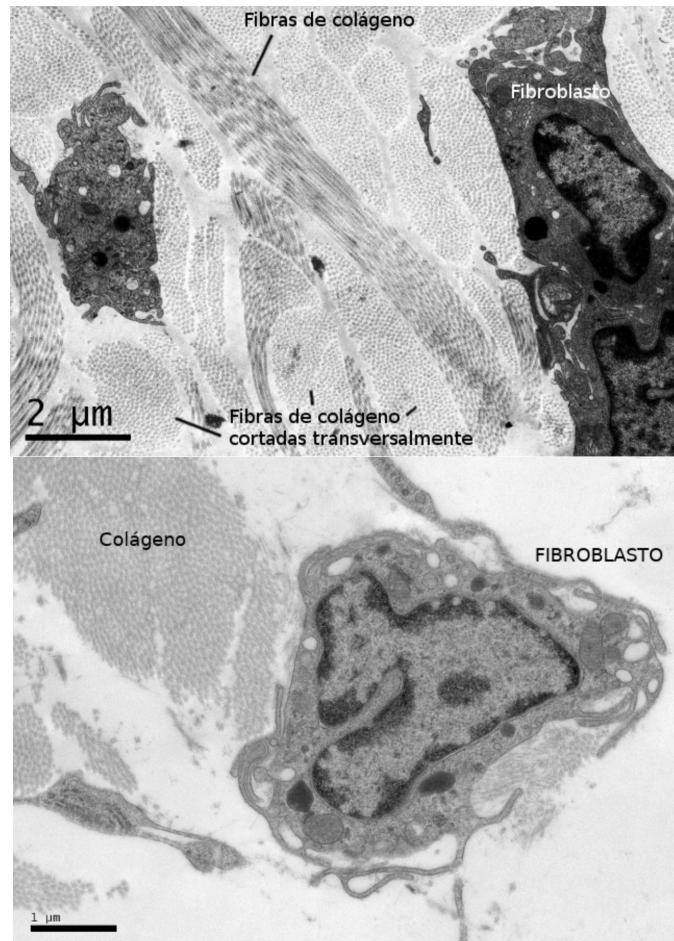


Figura 10. Fibroblastos en la dermis a microscopía electrónica de transmisión (Megías *et al.*, 2019).

Podemos ver en la figura que presentan un citoesqueleto muy diferenciado, la actina y la actinina se concentran en la periferia celular donde también se observa miosina. La actinina permite que la actina se ancle a la membrana plasmática mediante su unión con proteínas transmembrana del tipo de integrinas. Las integrinas en su porción extracelular permiten la conexión de estas células con colágeno o con proteínas de adhesión, como las fibronectinas, de la matriz extracelular. Es una unión débil que se forma y deshace con facilidad. Todos estos elementos estructurales hacen que el fibroblasto pueda moverse a través de la matriz extracelular con una velocidad de 1 μm/min (Megías, *et al.*, 2019).

2.6.3 Aplicaciones de líneas celulares

Los diferentes tejidos que constituyen a los organismos multicelulares se encuentran en un proceso de continua adaptación a los diferentes estímulos que reciben. El descontrol de dichas respuestas se relaciona a su vez con el desarrollo de enfermedades como el cáncer, enfermedades crónicas degenerativas o inflamatorias, en las cuales las especies reactivas de oxígeno forman parte de los mecanismos que participan en su origen o desencadenan efectos adversos secundarios (Parker, 2009; Posner, 2010).

Las moléculas que regulan la proliferación se incluyen enzimas que participan en la síntesis de los nucleótidos, las actividades relacionadas con la síntesis de Ácido Desoxirribonucleico (ADN), las moléculas reguladoras de los puntos de control en la progresión del ciclo celular y el proceso de división celular relacionado con el funcionamiento del uso mitótico. Los efectos citotóxicos se relacionan con daño a procesos vitales que desencadenan la activación de vías que llevan a la muerte celular (apoptosis, necrosis, autofagia, piroptosis) (Fink & Cookson, 2005).

Las actividades farmacológicas descritas principalmente como agentes anti proliferativos están relacionadas principalmente para inhibir la síntesis de nucleótidos, del ADN, evitar la división celular, e inhibir a las topoisomerasas. Lo cual permite identificar dos procesos en donde se impacta que es la replicación del ADN y la división celular (Acevedo *et al.*, 2013).

2.6.4 Método del MTT.

Muchos ensayos biológicos requieren medir la supervivencia y/o proliferación de las células de mamífero, esto puede lograrse por varios métodos, para esto se desarrollo un ensayo colorimétrico rápido, versátil y cuantitativo, basado en una sal de tetrazolio MTT (metil tiazol tetrazolio) ó (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5 difenil tetrazolio bromuro), mide sólo células vivientes y puede medirse espectrofotométricamente leyendo la absorbancia entre 540-570 nm. (Mosmann, 1983).

El MTT es una sal de tetrazolio color amarillo que se utiliza para medir la actividad y viabilidad celular por el rompimiento causado por la reducción (aceptación de un H⁺) del anillo de la sal de tetrazolio MTT por acción de las enzimas deshidrogenasas mitocondriales: succinato-deshidrogenasas, para formar unos cristales azules de formazan insolubles en agua, pero solubles en

dimetil sulfóxido (DMSO). La viabilidad celular es proporcional a la absorbancia, que presentan los cristales de formazán en solución (Angel, 1999) (Figura 12).

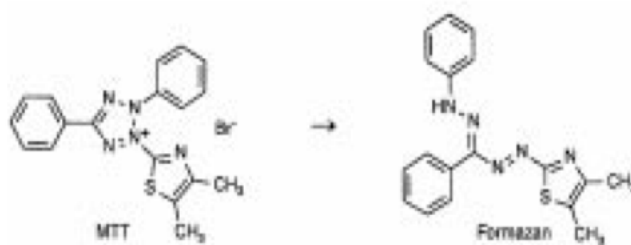


Figura 11. Metabolización de MTT a sales de formazán por células viables (Angel, 1999).

Este método está basado en la capacidad de las enzimas mitocondriales de las células viables de transformar la sal de tetrazolio MTT en cristales de formazán. El método ha sido usado exitosamente para monitorear la sensibilidad de células de tumores humanos a agentes quimioterapéuticos (Ferrari *et al.*, 1990).

2.7 Modelo de *Artemia* spp.

Artemia spp. son camarones minúsculos de cuerpo blando, de color carmelita y transparentes a la luz; pertenecen al *Phylum Arthropoda*, clase *Crustaceae*, subclase *Branchiopoda*. Se conocen comúnmente por el nombre de artemia, también llamados "monos de mar" o "brine shrimp" en inglés. El género *Artemia* está compuesto por varias especies, de las cuales se han identificado al menos cinco especies bisexuales y varias poblaciones partenogenéticas, entre ellas *Artemia salina* Leach, *Artemia persimilis* Piccinelli y Prosdocimi, *Artemia franciscana* Kellogg (bisexuales) y *Artemia partenogenetica* Bowen y Sterling (Serrano, Varó, 1996).

Estas especies se encuentran distribuidas en todo el mundo en aguas de elevada salinidad, pueden crecer a temperaturas entre 6 y 35°C. Se alimentan de algas y bacterias y son fuente de alimento para peces, pájaros y varios invertebrados. Las hembras producen huevos que, en condiciones externas favorables, eclosionan produciendo larvas de un tamaño aproximado de 1 mm. Los huevos también pueden formar quistes y permanecer en esta forma por un año o más. Las artemias se convierten en adultos transcurridas 6 a 8 semanas, alcanzando un tamaño promedio de 7mm (Serrano, Varó, 1996).

Artemia es hasta la fecha el único género animal en todo el mundo cuyo estado criptobiótico (quistes) está disponible comercialmente de manera continua, como fuente de alimentos para peces

y crustáceos en acuicultura. Esto ha constituido un elemento clave en su utilización en ensayos biológicos (Vanhaecke, Persoone, 1984). Por razones prácticas, las especies con un estado criptobiótico, durante su ciclo de vida son más adecuadas para el desarrollo de un bioensayo estándar. La disponibilidad permanente de huevos (quistes) a partir de los cuales pueden ser obtenidas las larvas ofrece las siguientes ventajas:

- no hay necesidad de mantener una colonia viva permanentemente,
- las pruebas pueden realizarse dónde y cuándo sea necesario,
- se dispone siempre de un número suficiente de individuos de la misma edad y condición fisiológica.

Los nauplios de *Artemia* spp. se han utilizado por más de 40 años en estudios toxicológicos y eco toxicológicos (Vanhaecke, Persoone, 1984; Torokne, Vasdinnyi, 2007) y se ha estudiado su biología y usos potenciales en diversos campos como un método práctico y económico para la determinación de bioactividad de compuestos sintéticos y productos naturales (McLaughlin, Lingling, 1998).

Artemia es también útil para predecir actividades plaguicidas y farmacológicas, responde a un amplio rango de compuestos química y farmacológicamente diversos; por lo que resulta tan importante su aplicación en programas de descubrimiento y desarrollo de nuevos plaguicidas y medicamentos de origen natural (McLaughlin, Lingling, 1998). Además, el ensayo permite la evaluación rápida de las relaciones estructura-actividad y son fácilmente observables las interacciones entre compuestos (Pino, Lazo, 2007).

En 1982, Meyer *et al.* (1982), fueron los primeros en introducir el uso de los nauplios de *Artemia* spp. en sustitución de animales superiores en la evaluación de extractos vegetales para el descubrimiento de compuestos con actividad antitumoral y citotóxica.

2.8 Técnicas cromatográficas

La cromatografía es una técnica de separación y purificación de compuestos presentes en una mezcla, la cual puede ser de origen variado, por lo general, de origen biológico. En algunos casos muy específicos, se puede utilizar esta técnica como un método de identificación, utilizando

sustancias patrones. Sin embargo, ésta es una técnica intrínsecamente de separación y purificación más que de identificación de compuestos (Hernández, 2007).

Esta técnica se basa en las diferentes interacciones que presentan los constituyentes de una mezcla con dos fases. Estas fases se denominan fase estacionaria y fase móvil. La fase estacionaria suele ser un sólido o un líquido adsorbido o unido químicamente a un sólido y normalmente esta fase está contenida en un tubo de vidrio o metal llamado columna. La fase móvil puede ser un líquido o un gas que impregna y se mueve a través de la columna (Hernández, 2007).

2.8.1 Cromatografía de adsorción

La adsorción es un fenómeno de superficie a diferencia de la absorción que involucra, además, el interior del material. En la cromatografía de adsorción se establecen equilibrios de adsorción-desorción entre los componentes de la mezcla y el material adsorbente que constituye la fase estacionaria. La fuerza con la que se adsorbe un compuesto depende de la polaridad de la molécula, de la actividad del adsorbente y de la polaridad de la fase móvil. La separación de los constituyentes de una mezcla depende entonces de los valores relativos de estos equilibrios de adsorción-desorción (Hernández, 2007).

Normalmente, cuanto más polar es un compuesto se adsorberá más fuertemente a la fase estacionaria sólida, por lo tanto, eluirá de la columna cromatográfica más tarde que otro compuesto menos polar que aquél. De este modo, se podría escribir un orden de elución de las diferentes familias de compuestos químicos atendiendo a la polaridad de sus grupos funcionales (Hernández, 2007).

Para determinar la mejor fase móvil, es conveniente realizar un pequeño ensayo probando diferentes fases móviles para utilizar la que logre una mejor separación. Estos ensayos suelen hacerse en una cromatografía en placa fina (CCF o TLC) utilizando la misma fase estacionaria que la que se utilizará en la columna. En este tipo de cromatografía, una fina capa del material adsorbente se encuentra adherida a una lámina de aluminio o plástico.

La principal ventaja del uso de la cromatografía en placa fina es la rapidez y facilidad con la que se efectúa. La desventaja es que no se pueden cromatografiar grandes cantidades de muestra; generalmente, la cantidad a cromatografiar con esta técnica se encuentra en el orden de los microgramos (μg).

2.8.2 Cromatografía de gases

En esta cromatografía lo que cambia es la fase móvil, la cual es un gas inerte (nitrógeno, argón, etc.) que, constantemente está recorriendo el sistema. Otro aspecto característico de esta cromatografía es que se trabaja en un amplio rango de temperaturas (-70 a 400°C). La muestra a cromatografiar debe ser volatilizada antes de ingresar a la columna cromatográfica. En esta cromatografía pueden darse también fenómenos de adsorción y de partición (Hernández, 2007).

La cromatografía de gases es uno de los métodos de análisis más eficaces con los que cuenta un químico, ya que su resolución es elevada pues pueden utilizarse columnas muy largas (15-100 m) además de diferentes diámetros, incluso capilares que aumentan considerablemente la resolución de la cromatografía (Hernández, 2007).

Permite, además, la separación de cantidades muy pequeñas, del orden de los microgramos. Esta técnica se usa generalmente para análisis cuantitativo más que para purificar compuestos (Hernández, 2007).

2.8.3 Cromatografía líquida de alta resolución

La cromatografía líquida de alta resolución tiene los mismos fundamentos que la cromatografía en columna vista anteriormente. Sin embargo, se caracteriza porque la fase estacionaria está mucho más finamente dividida, aproximadamente 5 μm contra 60 μm de la cromatografía en columna. Este tamaño de partícula, junto con la elevada compactación de la fase estacionaria dentro de la columna, hace que la fase móvil no pueda atravesar la columna por simple gravedad (Hernández, 2007).

2.9 Técnicas espectroscópicas

Es el estudio de la interacción entre la radiación electromagnética y la materia, con absorción o emisión de energía radiante. El análisis espectral se basa en detectar la absorción o emisión de radiación electromagnética a ciertas longitudes de onda y se relacionan con los niveles de energía implicados en una transición cuántica (Penalzoa, Giann, 2008).

2.9.1 Infrarrojo (IR)

Es la medida de la interacción de la radiación infrarroja con la materia por absorción, emisión o reflexión. Se utiliza para estudiar e identificar sustancias químicas o grupos funcionales en forma sólida, líquida o gaseosa (Avello *et al.*, 2012).

2.9.2 Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) es una técnica empleada principalmente en la elucidación de estructuras moleculares, aunque también se puede emplear con fines cuantitativos y en estudios cinéticos y termodinámicos (Morales, 2015).

Algunos núcleos atómicos sometidos a un campo magnético externo absorben radiación electromagnética en la región de las frecuencias de radio o radiofrecuencias. Como la frecuencia exacta de esta absorción depende del entorno de estos núcleos, se puede emplear para determinar la estructura de la molécula en donde se encuentran estos. Para que se pueda emplear la técnica los núcleos deben tener un momento magnético distinto de cero (Morales, 2015).

2.9.3 UV/VIS

Es una espectroscopia de emisión de fotones y una espectrofotometría. Utiliza radiación electromagnética (luz) de las regiones visible, ultravioleta cercana (UV) e infrarroja cercana (NIR) del espectro electromagnético. La radiación absorbida por las moléculas desde esta región del espectro provoca transiciones electrónicas que pueden ser cuantificadas (Cerón-Carrillo *et al.*, 2014).

La espectroscopia UV-visible se utiliza para identificar algunos grupos funcionales de moléculas, y, además, para determinar el contenido y fuerza de una sustancia. Se utiliza de manera general en la determinación cuantitativa de los componentes de soluciones de iones de metales de transición y compuestos orgánicos altamente conjugados (Cerón-Carrillo *et al.*, 2014).

3 Justificación

Actualmente se buscan nuevas formas de tratamientos como alternativa terapéutica para enfrentar necesidades médicas. Las plantas poseen algunas sustancias activas; producto derivado de su metabolismo secundario, que pueden llegar a ser tóxicas sobre algunos tipos de microorganismos patógenos (Ávalos-García, 2009).

Adicionalmente, las propiedades antioxidantes naturales que se encuentran presentes en las plantas han cobrado gran interés en las últimas dos décadas puesto que el estrés oxidativo (un desbalance entre las sustancias oxidantes y prooxidantes) está implicado en un gran número de afecciones de la salud. Es por eso que, se buscan nuevas fuentes como una alternativa terapéutica para enfrentar ante dichas necesidades médicas, incrementando el interés por el estudio de nuevos agentes naturales con la esperanza de que estos sean un poco más efectivos, más baratos y menos agresivos hacia la persona y todo lo que nos rodea como el medio ambiente (Castañeda, 2008).

En este ámbito, como se mencionó anteriormente, las plantas poseen algunas sustancias activas; producto derivado de su metabolismo secundario, que pueden en algunas ocasiones, llegar a ser tóxicas sobre algunos tipos de microorganismos patógenos. Las plantas del género *Tradescantia* son plantas nativas de México que, actualmente, han sido poco estudiadas, son plantas ornamentales y también son encontradas como plantas arvenses (Ávalos-García, 2009).

Los fármacos como el ácido acetilsalicílico, enantyum, flurbiprofeno, fenilbutazona, entre otros, se ocupan para tratar inflamaciones, pero causan problemas gastrointestinales. Por esta razón, la *Tradescantia pendula* podría tener un valor para uso medicinal, ya que contiene varias propiedades en el cuerpo humano. El matalí a pesar de no tener estudios científicos sobre su uso, se sigue usando como tratamiento de infecciones, dolor, tumores, antiinflamatorio, cicatrizante (Vanini, M *et al.*, 2011).

Con base a lo anterior, en el presente trabajo de tesis, se propone identificar el extracto de *Tradescantia pendula* más activo y con mayor actividad antiinflamatoria, probado en los modelos *in vivo* y *ex vivo* para proponer su uso dermatológico como un parche de liberación prolongada.

4 Objetivos

4.1 Objetivo general

Identificar el extracto de *Tradescantia pendula* por medio de técnicas cromatográficas y espectroscópicas, al mismo tiempo, realizar la evaluación de la actividad antiinflamatoria del mismo (gelificado en alginato) en modelos *in vivo e in vitro* para proponer un parche con propiedades cicatrizantes y antiinflamatorias.

4.2 Objetivos específicos

- 1.- Realizar la búsqueda bibliográfica, obtención e identificación de la especie.
- 2.- Obtener los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico de *Tradescantia pendula*.
- 3.- Evaluar la CL₅₀ de los extractos (solos y gelificados) en el modelo de *Artemia* spp.
- 4.- Evaluar los efectos de los extractos sobre citotoxicidad en, proliferación y liberación de citosinas IL-3, IL-6, IL-10 en fibroblastos en la línea celular HaCaT, U937.
- 5.- Purificar el extracto de mayor actividad en los modelos probados por medio de técnicas cromatográficas (TLC, de columna y HPLC).
- 6.- Inmovilizar en alginato al extracto más activo y uno de los compuestos mayoritarios.
- 7.- Identificar el metabolito secundario mayoritario por medio de técnicas espectroscópicas (RMN (¹H y ¹³C), IR, UV).
- 8.- Elaborar un parche dérmico (extracto y metabolito aislado por separado).

5 Metodología

5.1 Consideraciones éticas

El buen uso de especies y animales de laboratorio se tiene que justificar por razones éticas y técnicas dirigidas para asegurar una experimentación confiable y reproducible, no sólo por consideración hacia la especie, sino porque el dolor y el estrés de las especies en el laboratorio introducen sesgos que pueden modificar variables en estudio e interferir notablemente en la interpretación de los resultados (Betancourt-Valladares *et al.*, 2015). El concepto de las Cinco Libertades: que las especies no padezcan hambre ni sed, que no sufran malestar físico ni dolor, que no sufran heridas ni enfermedades, que puedan ajustarse a su comportamiento normal y esencial, que no sufran miedo ni angustia (Gimpel, 2009; Cuesta y Sánchez, 2007). Los conceptos de las Cinco Libertades y las Tres R (reemplazar, reducir y refinar), el hombre tiene la necesidad de utilizar la especie, de ahí el deber de respetarla; los modelos experimentales pueden llegar a ser matemáticos, físicos o mecánicos; dentro de los físicos podemos encontrar los modelos biológicos es por que se recurrió a la formulación del principio de las Tres R donde buscamos reemplazar los animales por métodos *in vitro* y otros métodos alternativos como modelos matemáticos o computacionales entre otros (Betancourt-Valladares *et al.*, 2015).

Reducir la cantidad de animales empleados en los experimentos sin que se afecte la confiabilidad de los resultados lo que se logra mediante las técnicas estadísticas avanzadas. Por último, refinar los procesos experimentales de modo que causen menos sufrimientos las especies involucradas con el uso de procedimientos quirúrgicos menos agresivos, lograr menor duración de las experiencias, conocer las técnicas adecuadas para la especie objeto de estudio y elaborar protocolos para prevenir el dolor y el sufrimiento (Betancourt-Valladares *et al.*, 2015). En este proyecto la parte de la especie vegetal, se trató de usar solo lo necesario para no perjudicar al medio ambiente donde se encuentra.

5.2 Obtención de los extractos

5.2.1 Colecta del material vegetal

Las muestras de *Tradescantia pendula* se colectaron el día 6 de marzo 2021, en el jardín etnobotánico Francisco Peláez Roldan, localizado en la calle 2 Sur 1700 en la ciudad de San Andrés Cholula, Puebla, México.

Se colectaron plantas frescas (5.025 kilogramos), las cuales se deshojaron del tallo de manera manual y al mismo tiempo se cortó el tallo aproximadamente en 2 cm, este paso igual se repitió con las hojas. Cabe mencionar, que este proceso se debe realizar con el uso de guantes para evitar algún tipo de reacción que pueda afectar a los resultados de la investigación y como cuidado personal (alergias). Posteriormente, se secaron en un lugar ventilado y con sombra, libre de humedad, esto para acelerar el proceso de secado. Un ejemplar se guardó herborizado para su identificación botánica (Ver anexo 1) (Juárez *et al.*, 2016).

5.2.2 Extractos vegetales

Se colocó la *Tradescantia pendula* seca en un matraz erlenmeyer cubriendo con el solvente, siguiendo una secuencia de polaridad creciente, y con agitación ocasional durante 72 horas a temperatura ambiente. El material vegetal macerado se filtró con ayuda de un embudo de vástago largo y un algodón, para concentrar el extracto y sucesivamente se evapora el solvente mediante el uso de un rotavapor marca BUCHI R-100 Suizo a una temperatura de 35°C, esto para evitar que la temperatura afecte a las moléculas del extracto. Esto se lleva a cabo con cada uno de los solventes iniciando con hexano, siguiendo con cloroformo y terminando con metanol.

Al obtener el extracto seco, se almacenó en un frasco de vidrio ámbar y fue puesto en un desecador hasta que se observe que este no tenga humedad, después se almacenó tapado en el refrigerador a 4°C (Juárez *et al.*, 2016).

5.3 Gelificación de los extractos en alginato

Se preparó una solución de Krebs-Ringer-Hepes (KRH) a 310 mOsm/L con las siguientes concentraciones: NaCl 7.889g, KCl 0.350 g, HEPES 5.960 g, KH₂PO₄ 0.163 g, MgSO₄ 0.296 g. Una solución Krebs-Ringer-Hepes (KRH) con calcio a 25 mM por 1 L con NaCl 7.773 g, KCl 0.350 g, HEPES 5.960 g, KH₂PO₄ 0.290 g, MgSO₄ 0.290 g, CaCl₂ 0.370 g y una solución de CaCl₂ a 100 mM por 1 L con CaCl₂ 14.70 g, KCl 0.149 g y HEPES 2.380 g, en 500 mL de agua destilada. Se ajustó el pH a 5.4, posteriormente se aforó a 1 L y las soluciones se ajustaron a un pH de 7.4, se esterilizaron en autoclave durante 15 minutos con una presión de 1.5 PSI a 121°C, se dejó a temperatura ambiente por 5 días para verificar que no crezca hongo, después de esto se almacenó a 4 °C.

Se preparó alginato al 5 % diluyéndolo en una solución libre de Ca^{2+} , posteriormente, se esterilizó y se almacenó a 4° C hasta su uso (Paredes-Juárez, 2013).

5.3.1 Extractos gelificados en alginato

Se llevó a cabo la gelificación de los extractos con alginato para formar los parches partiendo de alginato ultrapuro marca Meyer. Se mezclaron los extractos con alginato a una concentración de 50 mg/mL para posteriormente gelificar la mezcla para así formar el parche en un baño de CaCl_2 100 mM, el producto obtenido se lavó tres veces utilizando la solución de KRH y se almacenó hasta su uso para evaluar la eficiencia y la liberación de los extractos gelificados (Paredes-Juárez, 2013).

5.3.2 Eficiencia de encapsulación

La determinación de la eficiencia de encapsulación del extracto se llevó a cabo midiendo las absorbancias de acuerdo con la siguiente ecuación (López, 2012):

$$\%EE = \frac{Abs_{(EA)}}{Abs_{(L)} + Abs_{(CaCl_2)}} \times 100$$

Donde:

$Abs_{(EA)}$: corresponde a la absorbancia del extracto acuoso libre.

$Abs_{(L)}$: corresponde a la absorbancia obtenida en el agua utilizada para lavar los extractos.

$Abs_{(CaCl_2)}$: corresponde a la absorbancia obtenida en la solución de CaCl_2 después del tiempo formación de los parches.

Para los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico es la misma ecuación, solo se sustituye $Abs_{(EA)}$ por $Abs_{(EB)}$ donde este último corresponde a la absorbancia de los extractos acuoso libres.

5.3.3 Determinación de velocidad de liberación

La determinación de velocidad de liberación se realizó primero con la concentración más pequeña que en este caso es de 100 ppm de los extractos sin el alginato para tener una base. Con esa solución se realizan mediciones en el espectrofotómetro a diferentes longitudes de onda en los siguientes rangos 420, 450, 500, 550, 600, 650 y 700 nm. Cuando se observó la absorción más grande

se tomó esa longitud de onda y los siguientes experimentos de liberación se realizaron a esa longitud de onda.

Posteriormente, se preparó el extracto con el alginato y se gelificó a las concentraciones deseadas, se colocó en un tubo falcon con 10 mL de agua destilada, se dejó agitando y se tomaron muestras en los siguientes tiempos: 0, 15 min, 30 min, 45 min, 60 min, 75 min, 90 min, 180 min, 24 horas, 48 horas y 72 horas (modificado de Paredes-Juárez, 2013).

5.4 Bioensayos

5.4.1 Determinación de la CL₅₀ de los extractos en el modelo de *Artemia* spp.

La incubación se hizo con 0.08 g de quistes de *Artemia* spp. (marca Eclosión azul) en agua marina artificial al 3% (12 g de sal marina en 400 mL de agua destilada) bajo la luz blanca a temperatura ambiente y aireación usando una bomba de acuario por 24 horas (Juárez *et al.*, 2016). Al eclosionar los nauplios, se colocaron 20 de los mismos por cada tratamiento en 10 mL de agua marina artificial y en diferentes concentraciones de los extractos (50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm, 2000 ppm). Se puso un grupo control de DMSO y un blanco con sal marina artificial.

La solución madre se preparó disolviendo 100 mg de cada extracto (hexano, cloroformo y metanol) en 950 µL de agua destilada y 50 µL de dimetilsulfóxido (DMSO), para el caso del extracto metanólico, se disolvieron 100 mg del extracto en 1 mL de agua destilada.

Se dejó el ensayo por 24 horas en una cámara de crías que se encuentra a una temperatura de 25°C y un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas, terminando las 24 horas del experimento se procedió a sacar los tubos de la cámara de cría y se realizó el conteo de crustáceos vivos y/o muertos para evaluar el porcentaje de *Artemias* spp. muertas.

Todas las pruebas se realizaron por triplicado, posteriormente, el número de *Artemias* spp. muertas se registró en una hoja de cálculo con el software de Microsoft Excel, para después proceder a realizar el análisis estadístico en el programa Statgraphic (Statgraphic Centurión IX), por el método estadístico probit (Sánchez-Arreola y Bach, 2015) para así definir la concentración letal media (CL₅₀) de cada extracto vegetal.

5.4.2 Determinación de citotoxicidad en líneas celulares

5.4.2.1 HaCaT

Se preparó 44 mL de medio Advance DMEM Alta glucosa, 1% de antimicrobiano, 1% de L-glutamina, 20% de Suero Fetal Bovino Biowest, se llevó a incubación en una incubadora Thermo Scientific HERAcell VIOS 160ia 36.5 °C con una concentración de CO₂ al 5.2% cuidando su crecimiento con una confluencia de 60-70% (Rodríguez, 2015).

5.4.2.2 U937

Se prepararon 44 mL de medio RPMI, 1 % de antimicrobiano, 1% de L-glutamina, 10% de Suero Fetal Bovino Biowest, se llevó a incubación en una incubadora Thermo Scientific HERAcell VIOS 160ia 36.5 °C con un a concentración de CO₂ de 5.2% cuidando a que crezcan con una confluencia de 95-100%. Cabe mencionar que estas células no son adherentes (Rodríguez, 2015).

5.4.2.3 Técnica MTT para citotoxicidad

Para una caja de 24 pozos, se necesitará 50 µL, una de 48 pozos se necesitará 25 µL y una de 96 pozos se necesitará 12.5 µL.

Se preparó la sal de MTT (Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol) disuelto en solución PBS o solución Hartmann. La sal de MTT se disuelve por agitación, cabe mencionar que esta sal es fotosensible (García *et al.*, 2019).

Se agregó el MTT a cada pocillo de cultivo (dependiendo del número de pozos) y se deja en incubación por 2 horas en una incubadora Thermo Scientific HERAcell VIOS 160ia 36.5°C, 5.2% de CO₂ y 95% de humedad. Pasando este lapso, se supervisó en el microscopio para monitorear la formación de los cristales de formazán, esto es, cuando se forma un precipitado de color morado, una vez que esto sucede. El formazán es disuelto al eliminar el medio con la sal de MTT y se agregó 100 µL de DMSO. La placa se introdujo en el lector de microplacas, se agita por 10 segundos y se hizo la lectura de absorbancia a 540 nm (García *et al.*, 2019).

Se procedió a calcular la viabilidad celular calculando el promedio y la desviación estándar y se identificó el nivel de citotoxicidad con base a las ISO 10993 donde se destaca la clasificación de citotoxicidad.

Con base a el porcentaje de viabilidad celular: 100-75%: No citotóxico, 74-50%: Ligeramente citotóxico, 49-25%: Moderadamente citotóxicos, 24-0%. Se realizó por triplicado con el control respectivo para posteriormente comparar y graficar. Una vez que se obtienen las lecturas fotométricas, se calcularon los porcentajes de las desviaciones estándar porcentajes. Además, en cada triplicado se hizo un comparativo entre las dosis de manera pareada para obtener un valor de p y determinar si hay diferencias significativas o no (García *et al.*, 2019).

El porcentaje de viabilidad se calculó a partir de la ecuación:

$$Viabilidad (\%) = \left(\frac{ABS_{ctr} - ABS_{trat}}{ABS_{ctr}} \right) \times 100$$

Donde:

ABS_{ctr} = Absorbancia de células no tratadas.

ABS_{trat} = Absorbancia de células tratadas con muestras.

5.4.2.4 Tinción cristal violeta

Para la preparación de cristal violeta se usó 0.125 g de cristal violeta y se disolvió en 50 mL de metanol a 20%. Se retiró el medio y se agregó 1 mL de paraformaldehído al 4% y se dejó actuando por 5 minutos, posteriormente se quitó el fijador. Se agregó solución PBS o agua inyectable 1 mL por 3 minutos, se retiró el sobrenadante y se agregó 1 mL de cristal violeta por 1 minutos, se quitó la tinción y se hicieron lavados 3 veces, posteriormente, se observaron las placas y se guardaron a una temperatura de -20°C. (Checa-Rojas, 2020).

5.4.2.5 Extracción de ARN

Se añadió 1 mL de trizol y se incubó por 3 minutos a 36°C, 5.2% con una concentración de CO₂ y 95% de humedad, posteriormente, se añadió 260 µL de cloroformo y se invirtió 25 veces, se incubó 5 minutos en hielos. Pasando los 5 minutos se centrifugó a 12, 000 revoluciones por minuto a 4°C, se transfirió la fase acuosa a un tubo eppendorf nuevo. Se agregó 500 µL de isopropanol por cada mL de trizol y se incubó por 25 minutos en hielo, se centrifugó por 10 minutos a 12, 000 revoluciones por minuto a 4°C y se decantó.

Se agregaron 800 μL de etanol al 75% y se resuspendió, se procedió a centrifugar por 5 minutos a 12, 000 revoluciones por minuto a 4°C y se decantó el etanol, pasando esto, se resuspendió con agua libre de DNAsas y se procedió a cuantificar (Hernández, Guzmá, 2013).

5.5 Cromatografías

5.5.1 Cromatografía de capa fina

La cromatografía en capa fina se realizó con placas en ellas se siembra la muestra solubilizada en el solvente de extracción. Posteriormente, se introdujo en una cuba cromatográfica que tiene solvente (esto puede ser con una relación de 100:100, 50:50, 25:75) esto ayudó a que la muestra suba por capilaridad cuando llegue al punto alto se retiró de la cuba y se esperó a que se seque, para después revelarlo observando con luz UV corta y posteriormente en I_2 . Se tomó la medida de la altura que corrió el solvente y de la altura de corrida de la mancha primera para poder calcular la relación de frente (R_f) mediante la siguiente fórmula (Fórmula 1).

$$R_f = \frac{A_{\text{corrida}}}{A_{\text{solvente}}}$$

5.5.2 Cromatografía de columna

Se realiza una relación de peso extracto: peso sílica (1:20), se calculará el volumen de sílica y se tomará la columna para posteriormente llenarla con sílica 60-230 mesh, se colocará el solvente cuidando que no se seque. Después de esto, se colocará una pastilla del extracto con sílica y se procederá a realizar la columna cuidando que salga una gota por segundo. Se recolectarán las fracciones y se usará de nuevo la técnica de cromatografía de capa fina para observar cuales fracciones se pueden reunir para posterior realizar una evaporación de los solventes (Hernández, LR, 2007).

5.5.3 Cromatografía HPLC

Se deberá de realizar varios y diferentes ensayos para obtener las mejores condiciones cromatográficas para la determinación de las sustancias de este estudio. En esta etapa se deberá de hacer varios ensayos para ajustar la composición de la fase móvil, así como las presiones que se deben de desarrollar debe de ser de 30 a 500 atmósferas (Hernández, LR, 2007).

5.6 Espectroscopías

5.6.1 RMN

Se le adicionan a los extractos 250 μL de DMSO, una vez homogenizada la disolución se transfiere a un tubo eppendorf y se centrifuga a 14500 rpm. Posteriormente, 70 μL del sobrenadante se transfiere a un tubo de RMN de 1.7 mm y los espectros se miden usando la sonda triple inversa.

Los datos de área se transfieren a una hoja de cálculo de Excel y se calcula la concentración de los metabolitos secundarios por la correlación de las áreas de los picos de los compuestos con la concentración del estándar interno (Knight *et al.*, 2011).

5.6.2 Infrarrojo (IR)

Los compuestos separados se disuelven en un solvente según su polaridad, se colocan en celdas de cloruro de sodio y se analizarán en un espectrofotómetro de infrarrojo. Los resultados se compararán con las frecuencias de vibración y estiramiento característicos de cada grupo funcional (Knight *et al.*, 2011).

5.6.3 UV/VIS

Las muestras son analizadas en una longitud de onda de 515 nm la cual se establece a través del valor máximo de absorción obtenido al someter un estándar a un barrido en el espectrofotómetro (Knight *et al.*, 2011).

6 Resultados y Discusión

6.1 Obtención de los extractos

6.1.1 Colecta del material vegetal

Después del proceso de secado se obtuvo un total de 1241.1 g, indicándonos una pérdida aproximada de 75.31% de humedad, dándonos un rendimiento total de 83.62%, como se observa en la tabla 3.

$$\% H = \frac{M1 - M2}{M1} \times 100$$

Dónde:

% H = porcentaje de humedad.

M1 = peso de muestra fresca.

M2 = peso de muestra seca.

Tabla 3. Resultados del porcentaje de humedad de la especie *Tradescantia pendula*

Peso de muestra fresca (g)	5025 g
Peso de muestra seca (g)	1241.1 g
Porcentaje de humedad (%)	75.30 %

De igual manera, se obtuvo la identificación de la especie a través del Laboratorio Nacional de Identificación y Caracterización Vegetal del Centro Universitario de Ciencias Biológico-Agropecuarias (CUCBA) de la Universidad de Guadalajara, las muestras fueron depositadas en el herbario con el número IBUG 214426, como se puede observar en el Anexo 1.

6.1.2 Extractos vegetales

Los rendimientos de los extractos son los siguientes: extracto hexánico 23.60 % (peso de extracto/peso seco de material vegetal x 100), extracto clorofórmico 16.21 % y extracto metanólico 11.95% como se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Rendimiento de los extractos vegetales de *Tradescantia pendula*

Extracto	Masa total	Rendimiento (%)
Hexánico	0.5257	23.60
Clorofórmico	0.7653	16.21
Metanólico	10.3784	11.95

Jiménez-Arellanes y colaboradores (2012), obtuvieron un rendimiento 24.55 g de extracto hexánico crudo de la especie *Aristolochia taliscana*, dándoles un rendimiento del 1.2 %. Valenzuela-Huamán y sus colaboradores (2011), obtuvieron para el extracto clorofórmico 16 g de la especie *Scutellaria havanensis*, obteniendo un rendimiento del 8%. Y, por último, del extracto metanólico, los autores Aes – Mosqueda y sus colaboradores (2012), obtuvieron un rendimiento aproximado del 11 % de la especie *Chrsanthemum parthenium*. Esto puede deberse a que son diferentes especies, el rendimiento entre ellas pueden verse afectados por el simple hecho de que en ocasiones se pueden presentar diferente composición.

Para las pruebas de solubilidad, debido a la complejidad en composición de cada extracto, se evaluaron disolventes que podrían ser empleados como vehículo en ensayos biológicos. Estos se realizaron con los tres extractos en diferentes solventes de polaridad decreciente; obteniéndose los resultados consignados de la tabla 5. Sin embargo, solamente el DMSO permitió la disolución completa de los extractos, por lo que se eligió este vehículo para adicionar los extractos al medio de cultivo en los ensayos de letalidad media y en los ensayos de citotoxicidad.

Tabla 5. Pruebas de solubilidad de los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico de la especie vegetal *Tradescantia pendula*

Solventes	Extracto hexánico	Extracto clorofórmico	Extracto metanólico
Agua destilada	----	----	+---
DMSO	+++-	+++-	+++-
Metanol	----	----	++++
Cloroformo	----	++++	----
Hexano	++++	----	----

Nota lectura de solubilidad:

++++: totalmente soluble

+++ -: parcialmente soluble

++ -: poco soluble

+ ---: muy poco soluble

----: insoluble

6.2 Alginatos

6.2.1 Extractos en alginato

Se realizó el alginato con los extractos dando los siguientes resultados visuales como se observa en la figura 12 al 14.

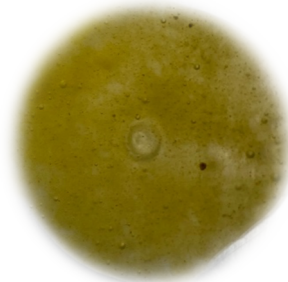


Figura 12. Extracto hexánico gelificado



Figura 13. Extracto clorofórmico gelificado

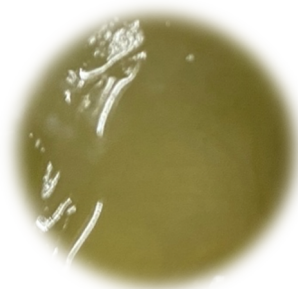


Figura 14. Extracto metanólico gelificado

Cabe mencionar que la gelificación se realizó por separado y se calculó el porcentaje de eficiencia de gelificación para cada uno. Obteniendo los siguientes valores de la tabla 6. Los diferentes colores que se puede observar es debido a que el extracto en su momento de fase de

maceración y de evaporación obtuvieron esas gamas de colores ya sea por la concentración y los diferentes solventes que se usaron.

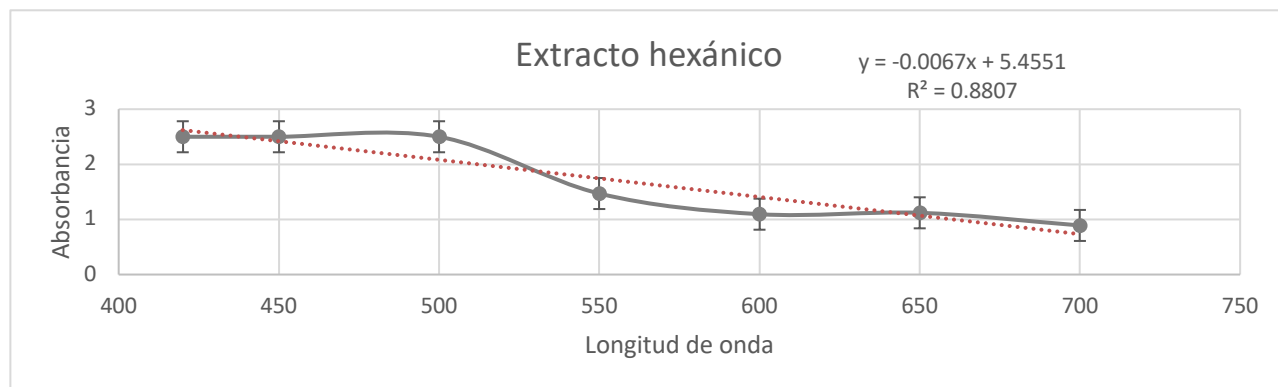
Tabla 6. Eficiencia de encapsulación

Extractos	Eficiencia de encapsulación
Hexánico	80%
Clorofórmico	70%
Metanólico	60%

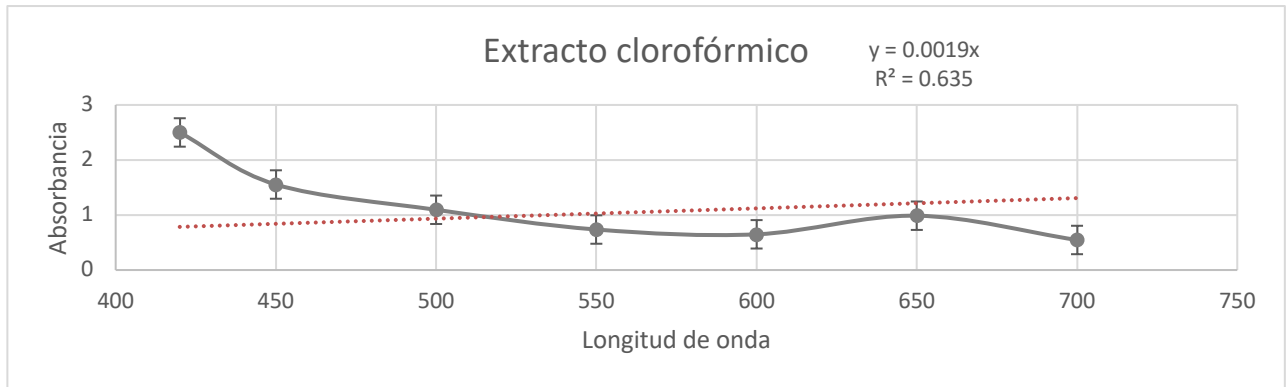
De acuerdo con Escobar-Rojas (2018), obtuvo una eficiencia de gelificación de valor de 76.92 % para los extractos de *Bougainvilleasp*, de igual manera, en un estudio realizado por López se reportó porcentajes de encapsulación del 65% utilizando el alginato al 2%, por lo cual, no se puede tomar en cuenta si el presente trabajo es aceptable o no, esto es por que en la literatura se ha manejado diferentes concentraciones de alginato y cabe mencionar que en este caso, dicho porcentaje es mayor.

6.2.2 Eficiencia de velocidad de liberación

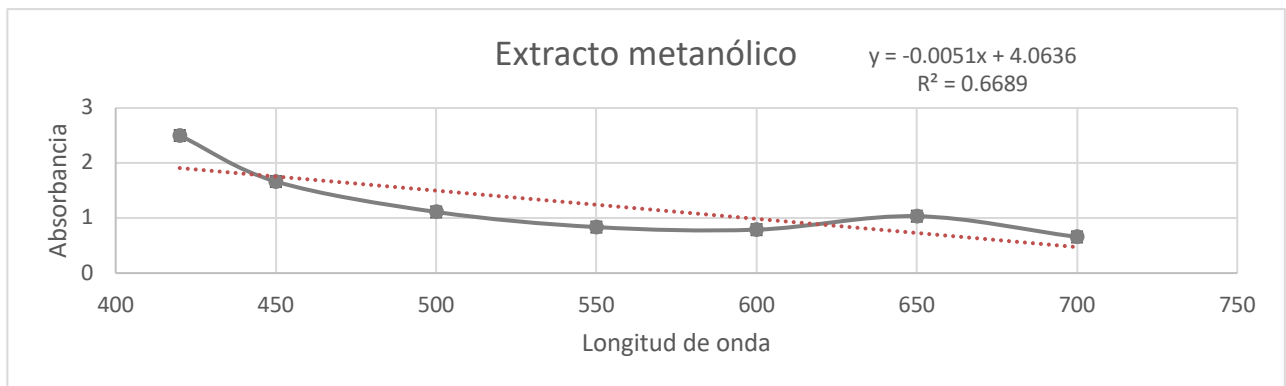
Para las diferentes curvas de calibración se empleó la ecuación de la recta con una R² aproximada de 0.99 para poder extrapolar los datos de las muestras de interés, para obtener estos datos se empleó un espectrofotómetro ajustando la longitud de onda para cada extracto.



Gráfica 1. Curva de liberación del extracto hexánico

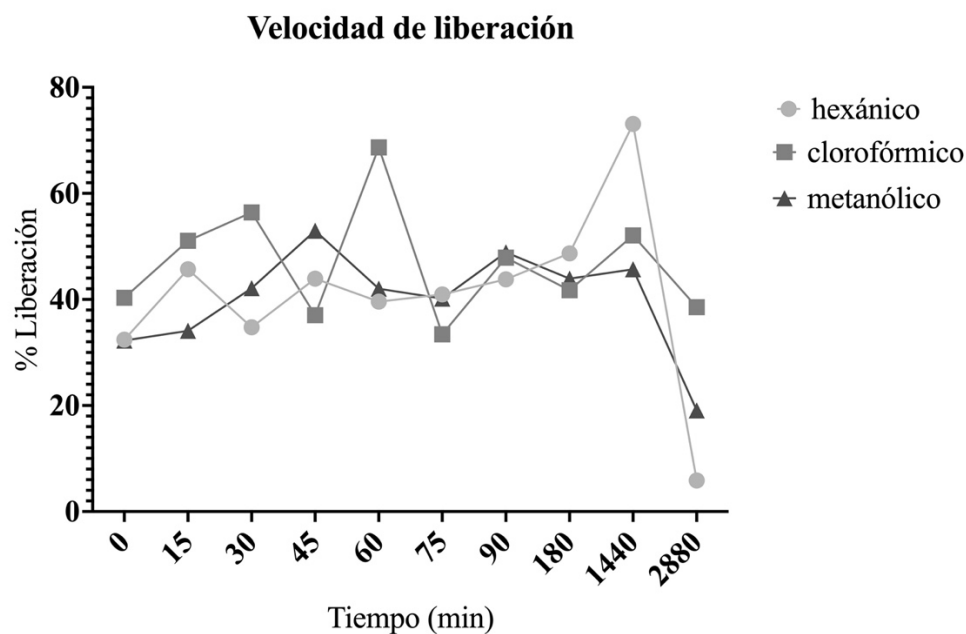


Gráfica 2. Curva de liberación del extracto clorofórmico



Gráfica 3. Curva de liberación del extracto metanólico

Se realizó la liberación de cada extracto gelificado en alginato, tomando medidas a diferentes tiempos de contacto. En la gráfica 4 se muestran las tres cinéticas realizadas con cada uno de los extractos. Las cinéticas se realizaron con las mismas especificaciones de tiempo y cantidades.



Gráfica 4. Velocidad de liberación de los extractos

Como se puede observar se obtuvieron diferentes porcentajes de liberación en diferentes tiempos de contacto con agua destilada, obteniendo un mayor porcentaje de liberación en la cinética del extracto hexánico de 73.10%, por segundo el clorofórmico obteniendo un porcentaje de 68.68% y, por último, el metanólico de 52.97% respectivamente.

Así mismo, los tiempos en los cuales se liberó el extracto gelificado fueron diferentes teniendo el mayor tiempo el extracto hexánico con 24 horas seguido del extracto clorofórmico con 60 minutos y, por último, el metanólico de 45 minutos.

Cabe destacar, que varios estudios han demostrado que la encapsulación a base de alginato de sodio tiene la desventaja de ser muy porosas e inestables a condiciones osmóticas, esto hace que disminuya su eficiencia de retención de la carga encapsulada (Araya, 2012). La eficiencia por lo tanto está ligada a la permeabilidad de la encapsulación. Sin embargo, los resultados con bajas concentraciones pueden ser afectados por la exposición prolongada a temperaturas y en condiciones de bajo pH durante la formación del gel de alginato, ya que este puede degradarse y no lograr una buena cohesividad entre las moléculas del biopolímero, que influye en su permeabilidad. Por ende, al formar un gel adecuado ayuda a la adhesión entre el biopolímero y el material a cubrir (Pedroza, 2002).

Los resultados obtenidos por los autores Chicaiza-Guishcaso y Flores-Granados, demostraron que a mayor cantidad de materia seca de alginato mayor rendimiento, en este caso, se realizó a 4 % (p/v) de alginato, con un rendimiento de 89% +- 4 y de 94% +- 5, respectivamente en *Hibiscus sabdariffa* L. En este caso de *Tradescantia pendula*, puede deberse a que son diferentes solventes que se manejaron, de igual manera entre especies esto puede variar a su composición química dando así diferentes resultados, igual hay que tomar en cuenta que en este trabajo se realizó a diferente concentración de alginato que fue mayor.

6.3 Bioensayos

Cabe mencionar, que en los ensayos de *Artemia* spp, ya sea solos y gelificados de los extractos gelificados de *Tradescantia pendula* su toxicidad se clasificaron según el CYTED que se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Clasificación de toxicidad según CYTED.

Extremadamente tóxico	1 – 10 µg/mL
Altamente tóxico	10 – 100 µg/mL
Moderadamente tóxico	100 – 500 µg/mL
Ligeramente tóxico	500 – 1000 µg/mL
Prácticamente tóxico	1000 – 1500 µg/mL
Relativamente inocuo	>1500 µg/mL

6.3.1 Determinación de la CL₅₀ de los extractos solos en el modelo de *Artemia* spp.

La CL₅₀ de los extractos de *Tradescantia pendula* frente a *Artemia* luego de 24 horas de exposición aparecen en la tabla 8. Los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico presentaron una toxicidad similar, aunque el extracto metanólico mostró ser de menor toxicidad con una CL₅₀ bastante alta.

Tabla 8. CL₅₀ e intervalos de confianza de los extractos de *Tradescantia pendula* frente a *Artemias*.

Extracto	CL ₅₀ µg/mL	I . C (95%)
Hexánico	63.5356	24.3455 – 105.075
Clorofórmico	23.1221	25.1692 – 48.1761
Metanólico	23.0516	128.57 – 78.6174

Además, los resultados obtenidos muestran que los extractos no se pueden aprovechar para realizar estudios farmacológicos con los cuales se puedan aprovechar sus propiedades terapéuticas debido a la alta toxicidad que se mostraron frente a las artemias. La anterior afirmación se sustenta por los valores obtenidos en los ensayos de toxicidad donde se muestra un valor alto de éste comparado con otros estudios de distintos extractos vegetales. Por lo que es mejor hacer el mismo experimento pero con los extractos gelificados en alginato, sobre todo en este caso, lo primero sería alertar a la población que hace consumo de esta especie ya que a largo plazo podría atraer efectos secundarios y aún se desconoce cuales podrían ser.

De acuerdo con la literatura, *Tradescantia discolor* no es tóxico, teniendo un valor de CL₅₀ de >1000 µg/mL.

6.3.2 Determinación de la CL₅₀ de los extractos gelificados en el modelo de *Artemia* spp.

La CL₅₀ de los extractos gelificados en alginato de *Tradescantia pendula* frente a *Artemia* aparecen en la tabla 9. Los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico presentaron una toxicidad similar, aunque el extracto hexánico mostró ser de menor toxicidad con una CL₅₀ bastante alta.

Tabla 9. CL₅₀ e intervalos de confianza de los extractos de *Tradescantia pendula* frente a *Artemias*.

Extracto	CL₅₀	I . C (95%)
Hexánico	3862.58 ppm	2851.43 – 8840.08
Clorofórmico	12021.9 ppm	4593.75
Metanólico	31282.8 ppm	-

Además, los resultados obtenidos muestran que los extractos se pueden aprovechar para realizar estudios farmacológicos con los cuales se podrían aprovechar sus propiedades terapéuticas debido a la baja toxicidad que se mostraron frente a las artemias. La anterior afirmación se puede sustentar por los valores obtenidos en los ensayos de toxicidad donde se muestra un valor alto de este comparado con otros estudios de distintos extractos vegetales.

Cabe mencionar, que en la literatura no se ha encontrado alguna comparación con esta clase de método.

6.3.3 Determinación de citotoxicidad en líneas celulares

Se determino el efecto citotóxico de los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico de *Tradescantia pendula*, se utilizaron dos líneas celulares HaCaT y U937, la coloración obtenida en el ensayo es proporcional a la actividad celular y por tanto a la viabilidad de estas.

Tabla 10. IC₅₀ de las dos líneas celulares con los respectivos extractos de *Tradescantia pendula*

IC₅₀ 24 horas		
Extracto	HaCaT	U937
Hexánico	150.5 µg/mL	87.72 µg/mL
Clorofórmico	150.5 µg/mL	89.19 µg/mL
Metanólico	150.5 µg/mL	61.61 µg/mL

En la literatura se ha encontrado que en la especie de *Struthanthus deppeanus* en el extracto hexánico en la línea celular HaCaT se tiene una IC₅₀ de 37.49 µg/mL, en extracto clorofórmico en la especie de *Azidirachta indica* se obtuvo una IC₅₀ de 102.01 µg/mL y, por último, en el extracto metanolico tuvo una IC₅₀ de 0.4120 µg/mL.

Por otra parte, en la línea celular U937 con el extracto vegetal *Solanum nudum* fue una IC₅₀ de 49.3 µg/mL en el solvente hexánico, de mientras que, en el solvente clorofórmico tuvo IC₅₀ de 23.5 µg/mL y en el solvente metanólico la IC₅₀ fue de 70.5 µg/mL.

6.3.3.1 HaCaT

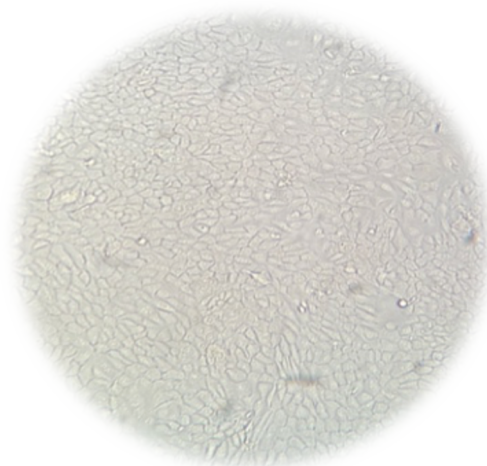
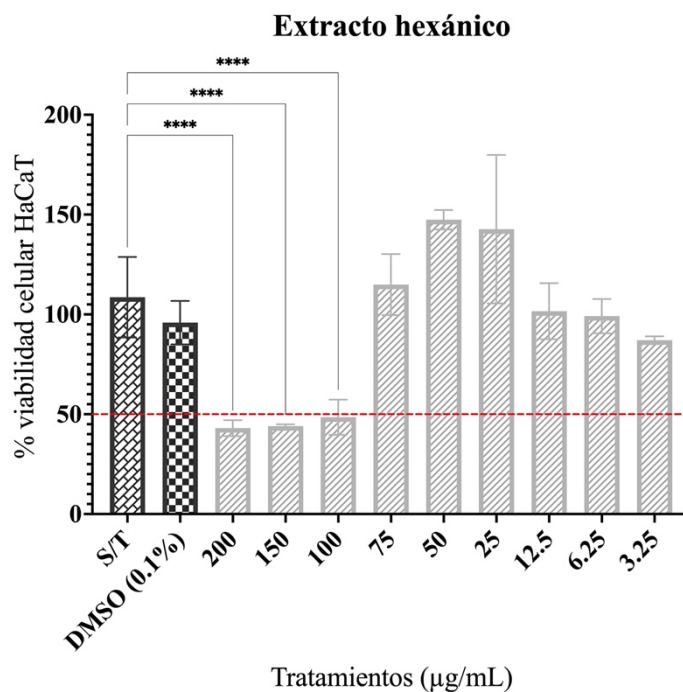


Figura 15. Línea celular HaCaT

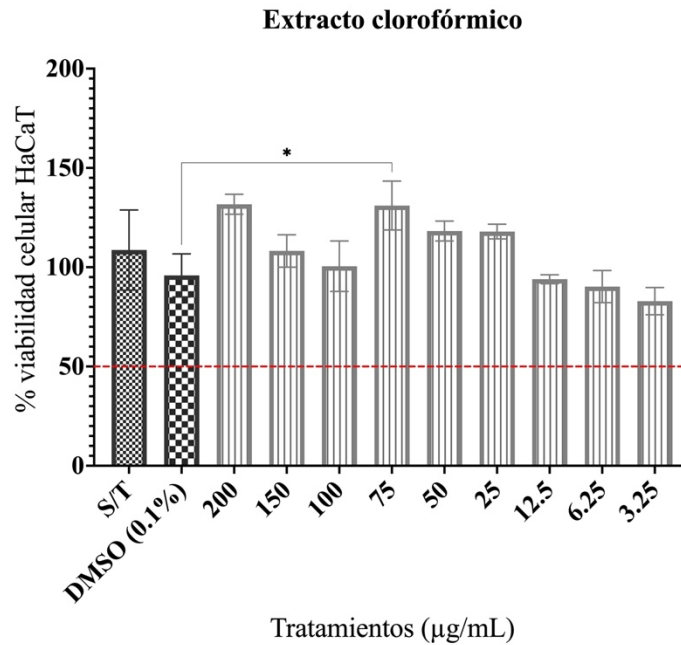
Como puede apreciarse en la gráfica 5 , se observaron diferencias significativas ($p < 0.0001$) entre el extracto hexánico evaluado, siendo que, en los valores de 200, 150 y 100 $\mu\text{g/mL}$ presenta una actividad citotóxica.



Gráfica 5. Viabilidad celular HaCaT en extracto hexánico

Como se puede apreciarse en la gráfica 6, se observaron diferencias significativas ($p = 0.0008$) entre el control negativo en la línea celular y el valor de 75 $\mu\text{g/mL}$ del extracto clorofórmico,

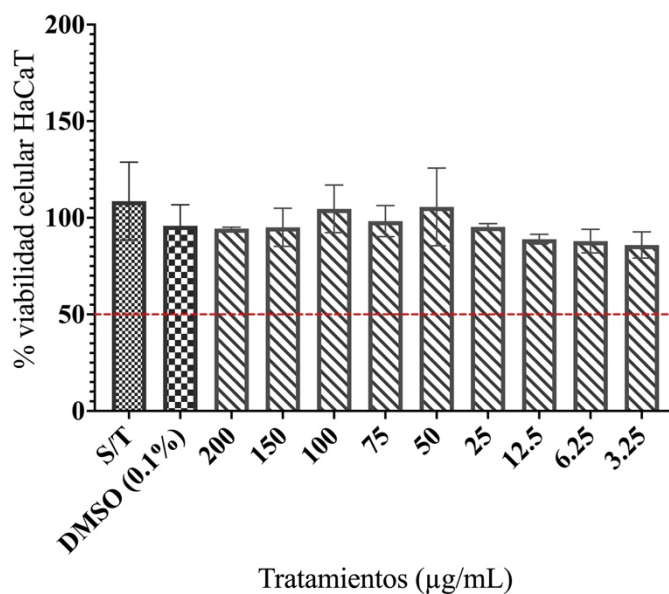
siendo que, en todas las concentraciones se observa una actividad no citotóxica ya que aumenta la viabilidad celular.



Gráfica 6. Viabilidad celular HaCaT en extracto clorofórmico

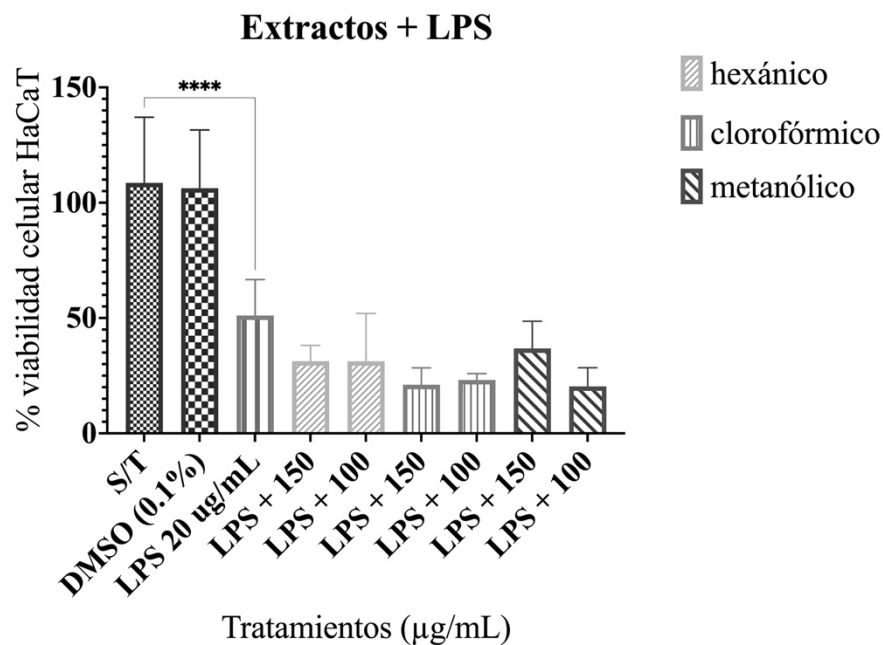
Sin embargo, en la gráfica 7 se puede observar que no hay diferencia significativa ($p = 0.2652$) entre el control y las concentraciones del extracto metanólico, en cambio podemos decir que las concentraciones se observa una actividad citotóxica leve y en algunos extractos la viabilidad celular se mantiene sin alteración.

Extracto metanólico



Gráfica 7. Viabilidad celular HaCaT en extracto metanólico

Se realizó el mismo experimento con el lipopolisacárido ya que este al solubilizarse actúa como una toxina liberando varias respuestas de inmunidad innata, como la secreción de citocina. Ya que las citocinas son un grupo de proteínas y glucoproteínas producidas por diversos tipos celulares que actúan fundamentalmente como reguladores de las respuestas inmunitaria e inflamatoria. En este experimento, se realizó con cada uno de los extractos en las concentraciones de 150 y 100 µg/mL, además, se agregó el lipopolisacárido como un control para observar la función de las citocinas, cabe mencionar, que en este caso se puede observar en la gráfica 8 que la viabilidad celular disminuyeron a partir del lipopolisacárido esto puede ser que existe el efecto llamado hormesis, que este puede definirse como “el proceso por el cual la exposición a una dosis baja de un agente químico o bien un factor ambiental, que es dañino a dosis altas, induce una respuesta adaptativa y/o un efecto benéfico en la célula o el organismo” (Rodríguez, 2015).



Gráfica 8. Viabilidad celular HaCaT de los tres extractos con el efecto del lipopolisacárido

6.3.3.2 U937

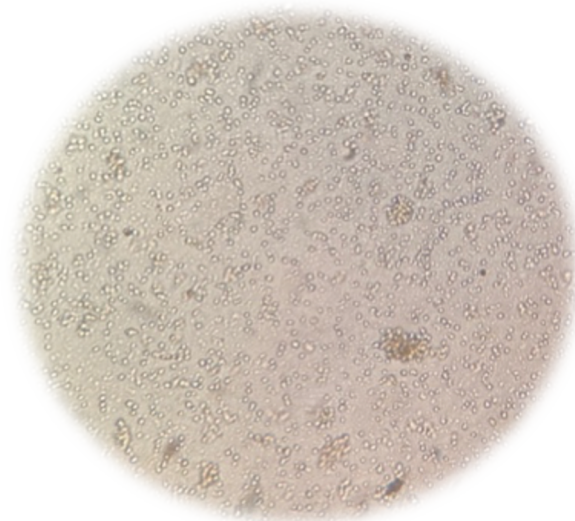
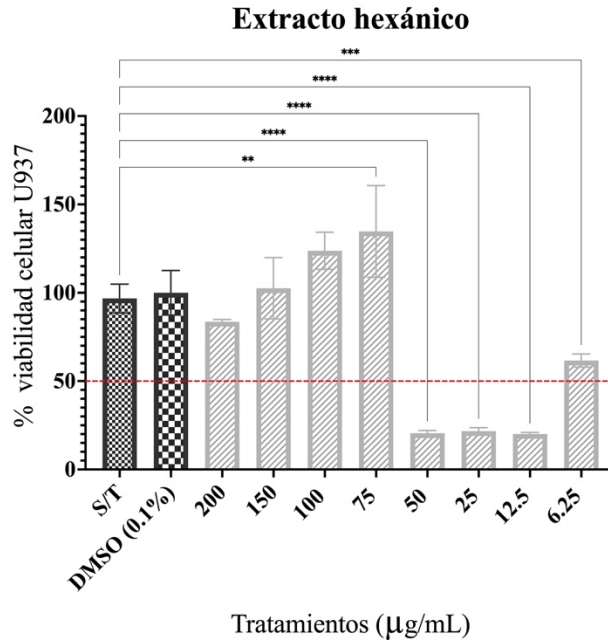


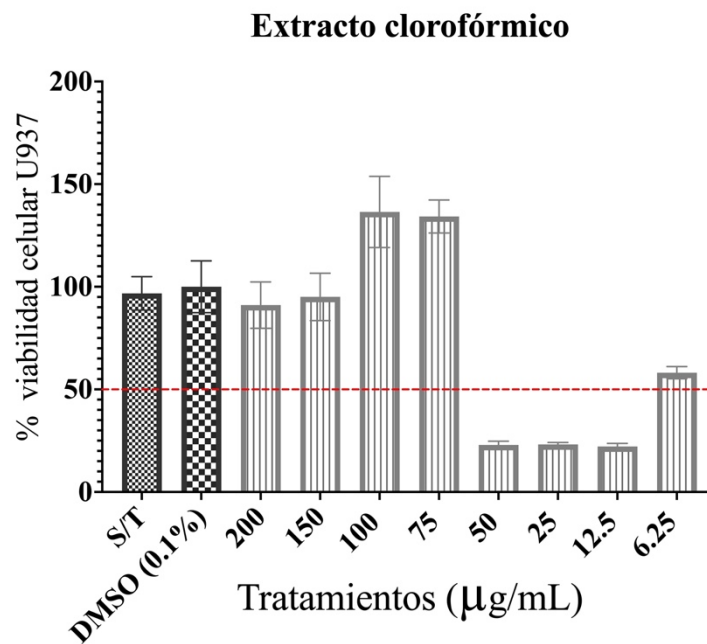
Figura 16. Línea celular U937

Como se puede apreciar en la gráfica 9, se observaron diferencias significativas ($p < 0.0001$) entre el extracto hexánico evaluado, siendo que, los valores de 50, 25 y 12.5 presenta una actividad citotóxica, aunque se puede decir que la concentración de 100 µg/mL tiene una actividad proliferativa.



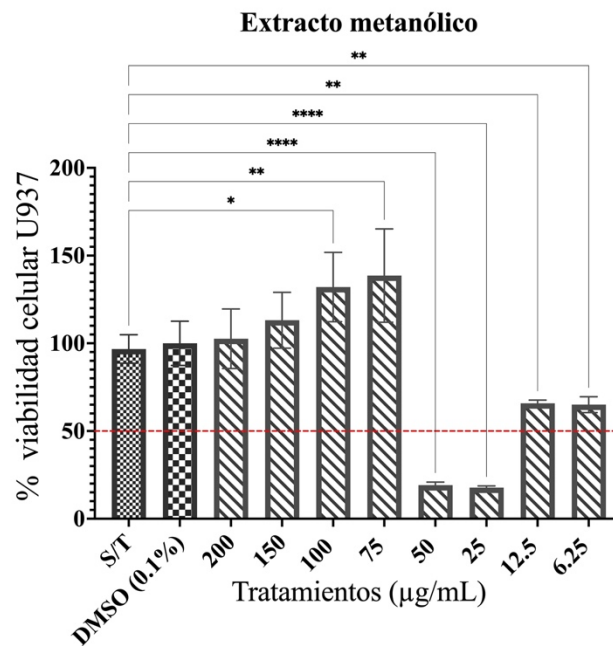
Gráfica 9. Viabilidad celular U937 del extracto hexánico

En la gráfica 10, se puede observar una diferencia significativa ($p < 0.0001$) entre todas las concentraciones del extracto clorofórmico, sin embargo, en la concentración de 100 µg/mL se puede observar que aumenta la actividad proliferativa, en cambio, en las concentraciones de 50, 25 y 12.5 µg/mL se puede observar que existe una actividad citotóxica en estas concentraciones. En el caso de la concentración de 6.25 nos podría indicar que existe una relevancia ante la hormesis que puede generar en este efecto.



Gráfica 10. Viabilidad celular U937 del extracto clorofórmico

Por último, en la gráfica 11 podemos decir que existe una diferencia significativa entre la mayoría de las concentraciones con el control positivo, mencionando que en la concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$ del extracto metanólico existe un gran aumento de la viabilidad con poca desviación estándar, por otra parte, en las concentraciones de 50 y 25 $\mu\text{g/mL}$ se observa un efecto citotóxico.



Gráfica 11. Viabilidad celular U937 del extracto metanólico

6.3.3.3 Técnica MTT para citotoxicidad

Cabe mencionar que se empleó como control positivo las células sin tratamiento y el lipopolisacárido, bajo el mismo esquema experimental que los extractos.

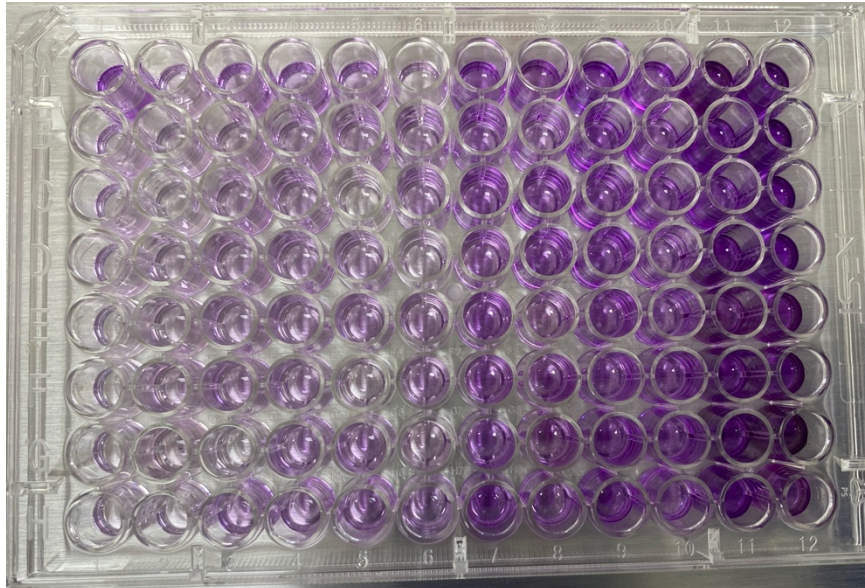


Figura 17. Técnica MTT en líneas celulares

Los datos de viabilidad del ensayo de MTT se obtuvieron en al menos tres experimentos biológicamente independientes que analizados para obtener una desviación estándar menor al 10 % de absorbancia respecto al tratamiento, se promediaron para determinar el porcentaje en la prueba de viabilidad (Bautista-Rodríguez, 2018), la lectura de densidad óptica se realizó en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 550 nm. La estimación de la concentración inhibitoria 50 (IC₅₀) en los diferentes experimentos se obtuvo a través del programa de Graphpad Prism 9 y para determinar la diferencia significativa del índice de citotoxicidad de cada línea se empleó el diseño estadístico ANOVA con la variable de Tukey con el programa estadístico Graphpad Prism 9. Se usa este modelo estadístico ya que hay un número elevado de comparaciones y así se puede controlar la tasa de error por familia en un nivel especificado.

6.3.3.4 Tinción cristal violeta

Las células que sufren muerte celular pierden su adherencia y posteriormente en proceso de tinción se pierden esta población de células, reduciendo la cantidad de tinción que será cuantificado. Este es un método de detección rápido y confiable que es adecuado para el examen del impacto del extracto de *Tradescantia pendula* como un agente terapéutico sobre la supervivencia celular y la inhibición del crecimiento. Sin embargo, está potencialmente comprometido por las respuestas

proliferativas que ocurren al mismo tiempo que las respuestas de muerte celular (Geserick *et al.*, 2009). Esta técnica nos ayuda a ver los cambios físicos que aparecen y poder explicarlos más fácil.

Nota: se realizaron mínimo tres experimentos independientes, empleando una campana de flujo laminar y la morfología se observó mediante microscopio óptico.

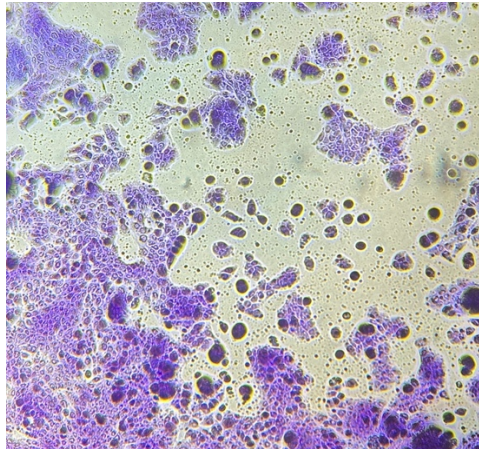


Figura 18. Control positivo de la línea celular HaCaT

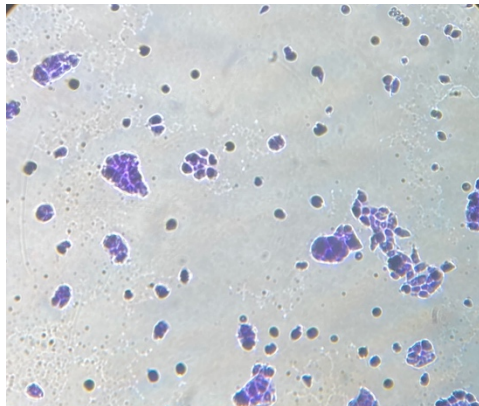


Figura 19. DMSO en línea celular HaCaT

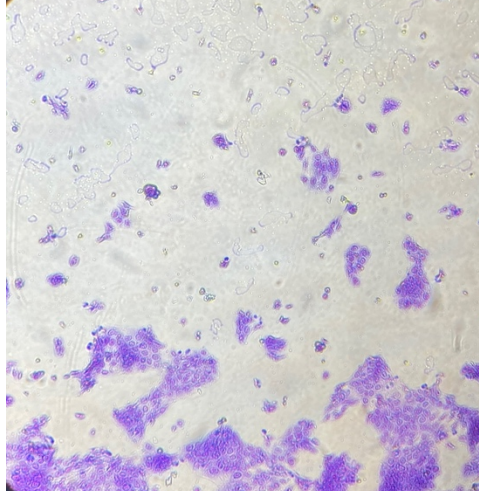


Figura 20. Lipopolisacárido 10 µg/mL en línea celular HaCaT

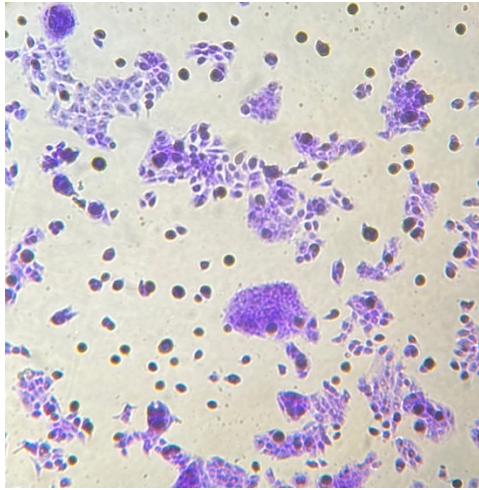


Figura 21. Lipopolisacárido 20 µg/mL en línea celular HaCaT

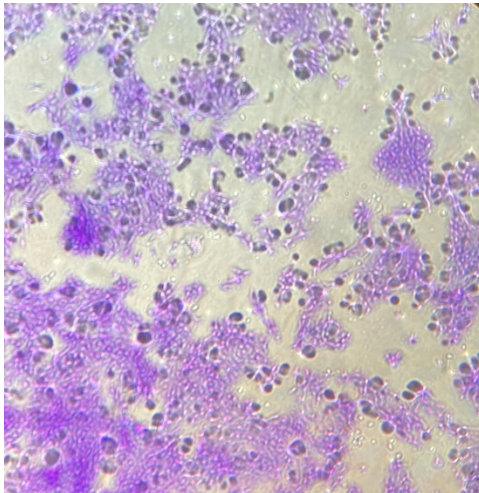
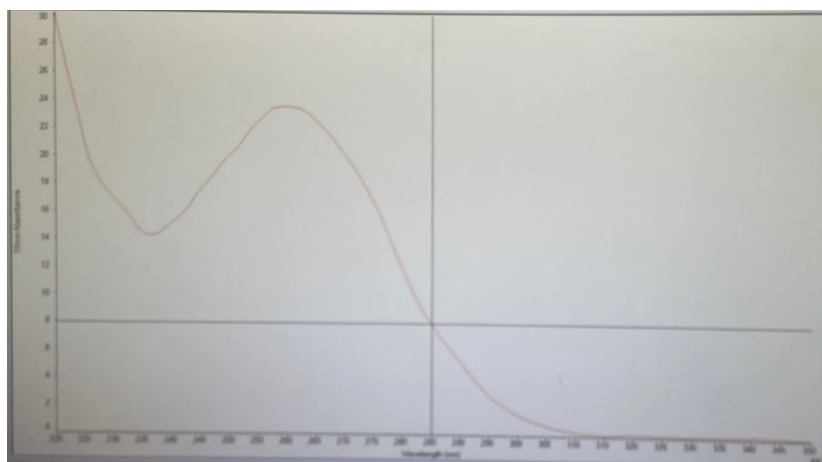


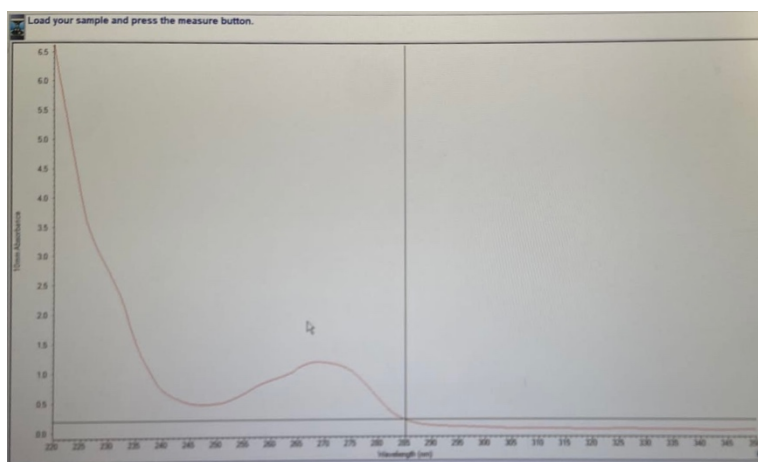
Figura 22. Lipopolisacárido 50 µg/mL en línea celular HaCaT.

6.3.3.5 Extracción de ARN

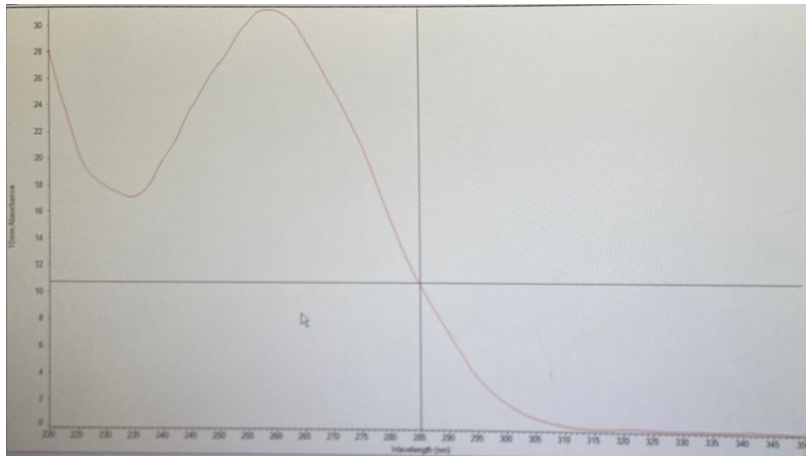
Se realizó la extracción de ARN y purificación de los tratamientos de los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico de *Tradescantia pendula*. La cuantificación se realizó en un espectrofotómetro de volumen múltiple. Se realizó la lectura de densidad óptica (DO) a 230 – 260 nm, para medir ácidos nucleicos y proteínas, respectivamente. Como se muestra en las gráficas 12 a la gráfica 18.



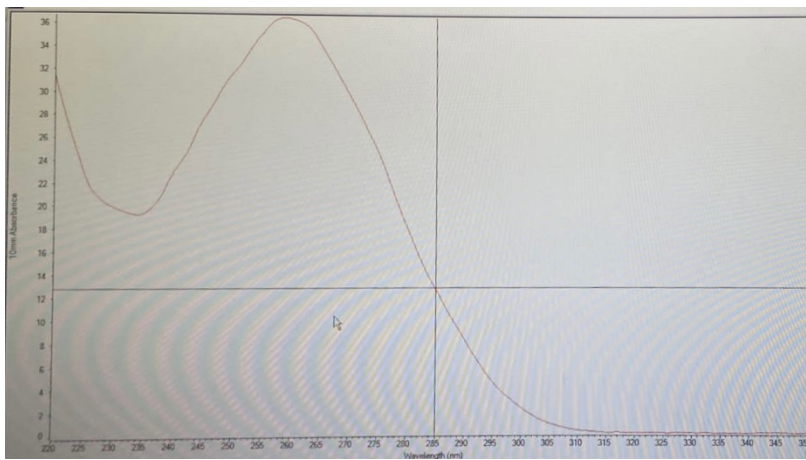
Gráfica 12. Cuantificación de ARN en línea celular HaCaT



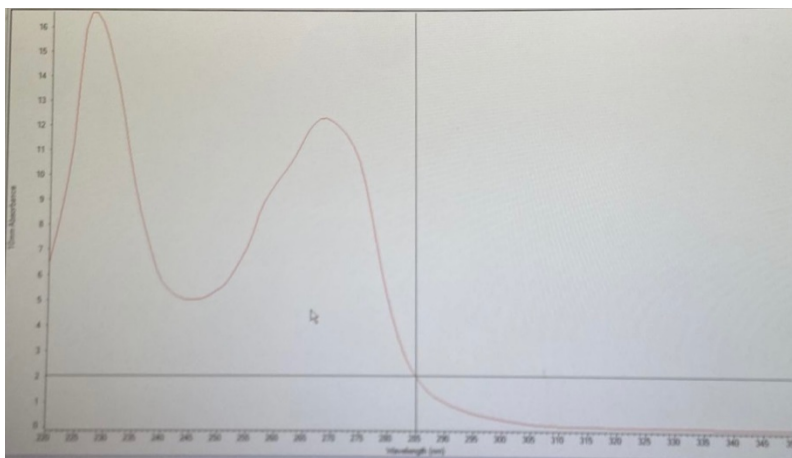
Gráfica 13. Cuantificación ARN del lipopolisacárido en línea celular HaCaT



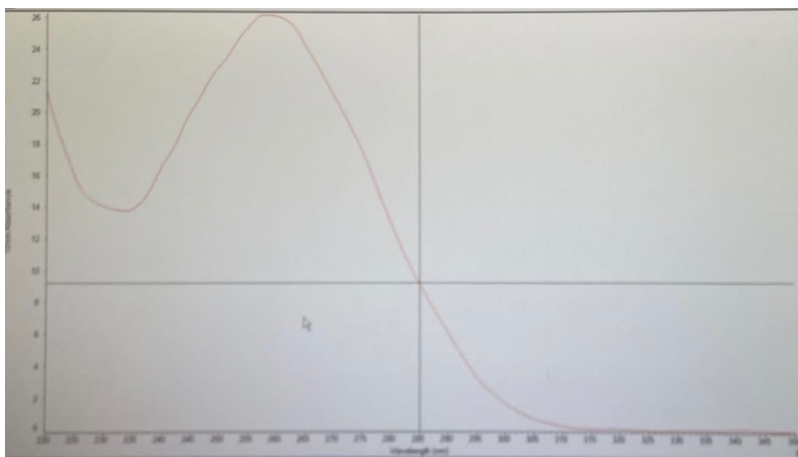
Gráfica 14. Cuantificación ARN del DMSO en línea celular HaCaT



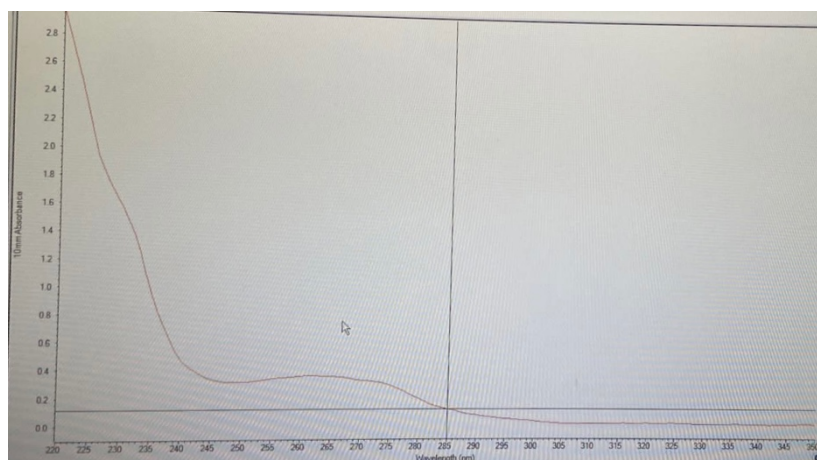
Gráfica 15. Cuantificación ARN del lipopolisacárido más el fármaco dexametasona en línea celular HaCaT



Gráfica 16. Cuantificación ARN del extracto hexánico de *Tradescantia pendula* en línea celular HaCaT



Gráfica 17. Cuantificación ARN del extracto clorofórmico de *Tradescantia pendula* en línea celular HaCaT



Gráfica 18. Cuantificación ARN del extracto metanólico de *Tradescantia pendula* en línea celular HaCaT

La integridad del ARN se analizó mediante electroforesis horizontal en gel de agarosa al 1.5% con bromuro de etidio como marcador de fluorescencia. Como se muestra en las figuras 23 y 24.

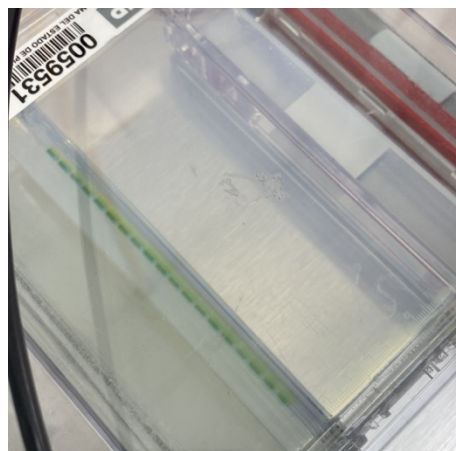


Figura 23. Gel de agarosa 1.5% de los ARN

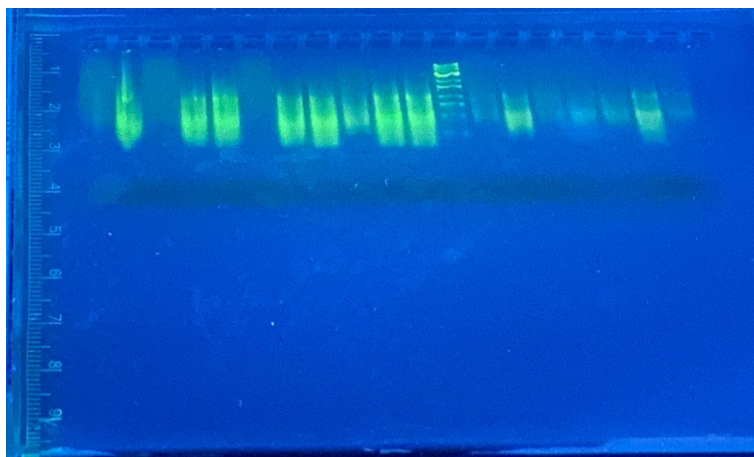


Figura 24. Gel de agarosa 1.5% de ARN línea celular HaCaT bajo luz UV.

6.4 Cromatografías

6.4.1 Cromatografía de capa fina

Se realizó este tipo de técnica, para confirmar la presencia de algunos metabolitos, se procedió a realizar una serie de cromatografías de capa fina con las fases móviles empleando el método rutinario observando las series eluotrópicas de los disolventes comenzando con los menos polares a los más polares y luego realizar las mezclas con los anteriores disolventes (hexano, cloroformo y metanol) para los dos extractos de *Tradescantia pendula* (Figura 25 y 26), con el objetivo de revelarlas en yodo, facilitando la identificación más detallada por extracto a partir de las bandas que se separan por cromatografía de capa fina, este tipo de revelador reaccionará con los componentes orgánicos presentes produciendo manchas pardas a simple vista, utilizando luz UV a 365 nm se observan compuestos con algún compuesto, con este revelador se puede apreciar que hay pequeñas diferencias por las diferentes tipos de fase móvil. Posteriormente, se analizó en técnicas espectroscópicas en IR y UV-VIS.

Cabe mencionar, que en el extracto hexánico se obtuvo un valor de referencia de 0.5, en cambio en el extracto clorofórmico se obtuvo un valor de referencia de 0.43.



Figura 25. Cromatografía de capa fina en extracto hexánico de *Tradescantia pendula*



Figura 26. Cromatografía de capa fina en extracto clorofórmico de *Tradescantia pendula*

6.4.2 Cromatografía de columna

Una vez que se encontró la mejor mezcla de disolventes para la separación de los compuestos se siguió con la cromatografía de columna con la fase estacionaria de gel sílice. A las fracciones obtenidas se les realiza cromatografía en capa fina con el mismo disolvente que se corrió.

Cabe mencionar, que las cargas fueron realizadas por orden de polaridad, cumpliendo así una relación de Hexano: Cloroformo.

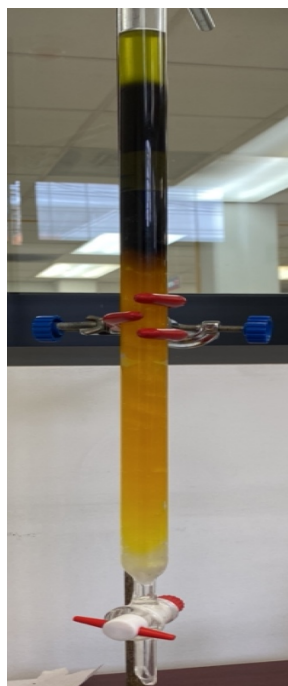


Figura 27. Cromatografía de columna.

En un estudio de González-Coronel *et al.*, 2016, se encontró que del extracto alcohólico de *Rhoe discolor* se determinó la presencia de alcaloides, taninos, quinonas, flavonoides, lactonas, terpenos y esteroides dejando descartada la presencia de los metabolitos esteroides y vincristina. Lo que sugiere que la presencia de los compuestos fenólicos en el extracto es responsable en el mecanismo de protección contra la gastritis. Sin embargo, en el caso de *Tradescantia pendula* se pudo observar que hay alta presencia de grasas y de clorofila.

6.4.3 Cromatografía HPLC

Cabe mencionar, que las fracciones que se usaron para la cromatografía de HPLC no se lograron separar.

6.5 Espectroscopias

6.5.1 RMN

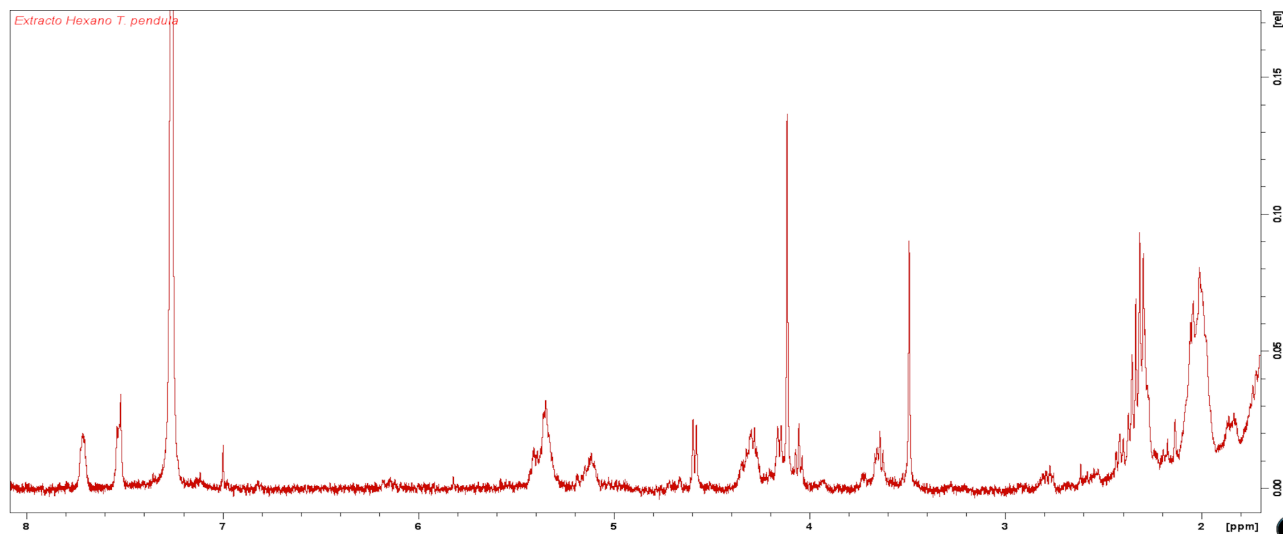


Figura 28. Espectroscopia RMN del extracto hexánico.

En la región de 7.26 podemos encontrar al cloroformo esto puede deberse a que hay un desplazamiento de disolventes. En la región de 8.11 a 6.9 podemos decir que hay señales que indican que hay compuestos aromáticos. En la región de 5.5 a 3.4 hay señales de algunas bases de hidroxilos, esto puede ser que en el extracto hexánico se encuentran algunas grasas insaturadas. En la región 4.84 podemos observar las señales de la presencia de agua durante el solvente y en la región de 3.30 podemos observar la ligera presencia del metanol. Por debajo de 2.5 a .5 encontramos algunos hidrógenos alquílicos con cadenas carbonadas alquílicas.

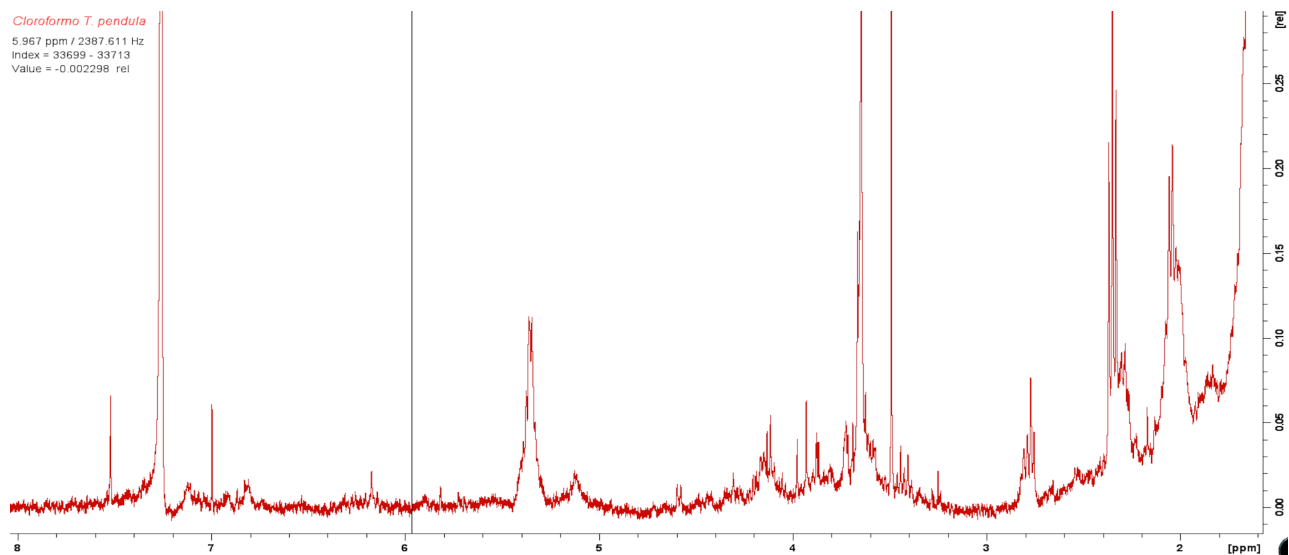


Figura 29. Espectroscopía RMN del extracto clorofórmico

En la región de 8 ppm podemos observar la señal del cloroformo, mientras que la región de 5 y 6 encontramos algunos doble enlaces, que estos compuestos podrían llegar a ser alcoholes con la probabilidad de llegar a ser ester. Antes de la región de 6 ppm podría ser un doble enlace, como la presencia de triglicéridos. En las regiones de 5 y 4 hay presencia de algunos ester, mientras que en la región de 4 y 3 podemos observar algunos hidroxilos. Lo que podemos decir es que según con estas señales de RMN podemos obtener algunas cadenas de alquílicos, con combinación de señales de alcohol con ester en la región entre 5.5 a 3

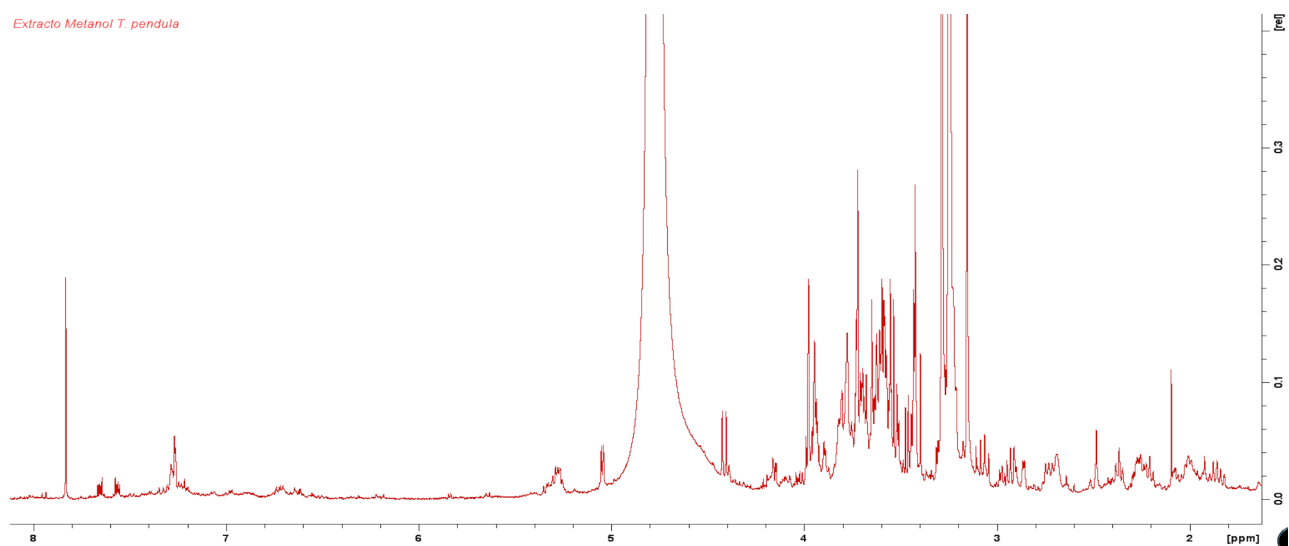


Figura 30. Espectroscopía RMN del extracto metanólico

A comparación de los espectros observados anteriormente, aquí podemos observar compuestos más polares. Por ejemplo, en las regiones de 8 ppm podemos observar algunos compuestos aromáticos, partiendo de las regiones de 8 hasta 6.5 ppm podemos decir que se encuentra la presencia de algunos flavonoides, como las flavonas, o incluso algunos aromáticos. En las regiones de 5 a 3 ppm podemos observar las señales de algunos hidroxilos, carbohidratos que a lo mejor podrían ser algunos azúcares, en la región de 5.5 hasta antes de 3 ppm podemos observar algunos carbonos, mientras y tanto, que en la región de 4 ppm podemos ver la señal de agua que es correspondiente al solvente que se usó para correr la muestra en el equipo, lo que se podría decir que es el desplazamiento del solvente. En la región de 2 ppm se encuentra la señal del metanol.

6.5.2 Infrarrojo (IR)

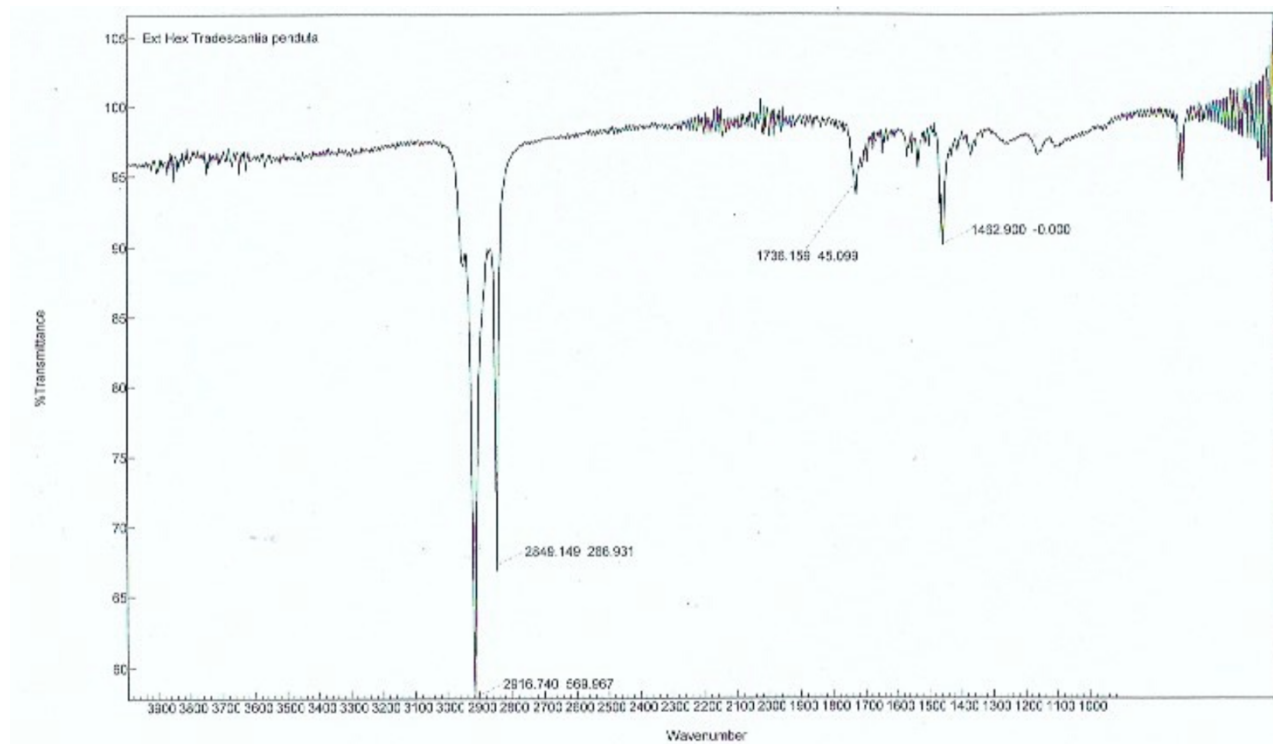


Figura 31. Espectroscopía IR del extracto hexánico.

En la figura 32, podemos observar que se encuentra debajo de los picos de 3000 es la tensión carbono sp^3 unido a hidrogeno alcano, mientras que en la señal 1736 podemos observar un carbonilo en poca cantidad cetona, en la señal de 1400 podemos obtener algunos metilos o metilenos muy probable tal vez esencia de compuestos sean cetonas.

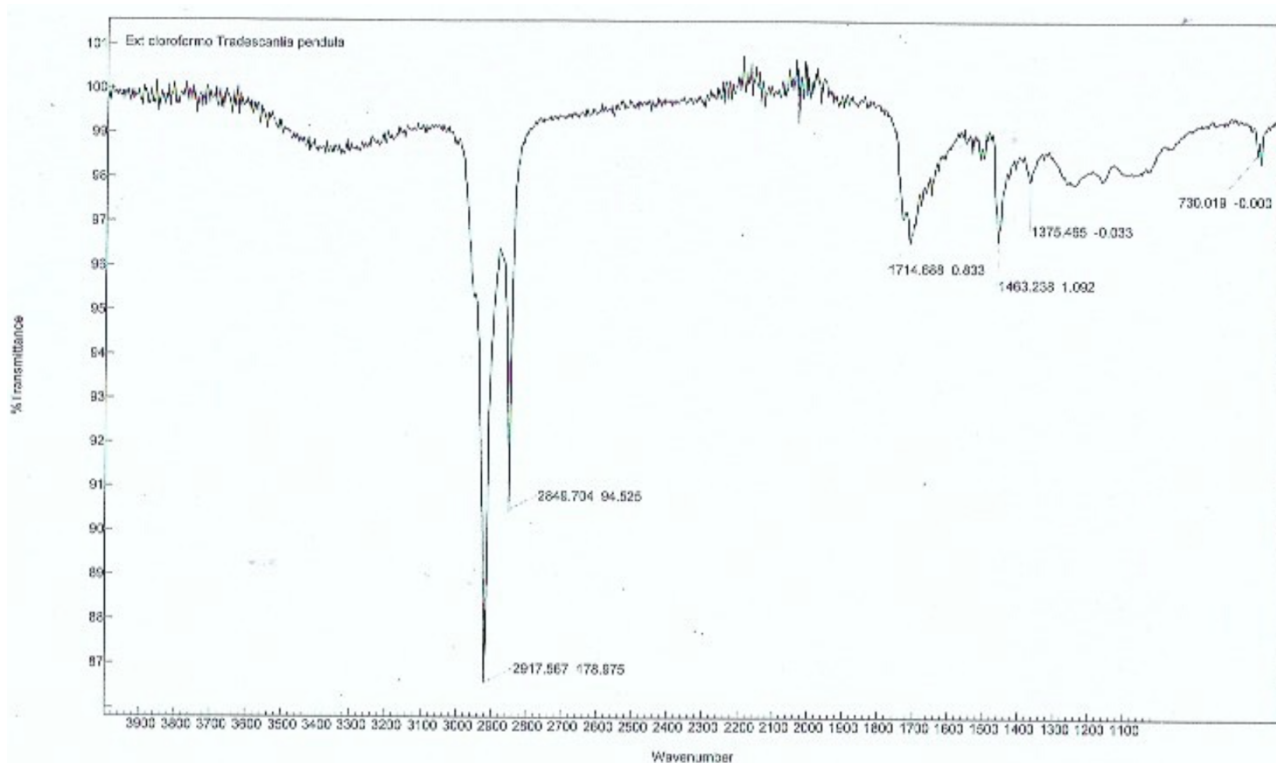


Figura 32. Espectroscopía IR del extracto cloroformico.

En la figura 33, podemos observar que aumenta la polaridad y es por eso por lo que aparecen más hidroxilos, por encima de los 3000 podemos observar que se encuentra un sp^2 unido a hidrogeno, la curva que se encuentra puede ser de la presencia de un hidroxilo o la misma humedad del agua del solvente, en el pico de 2848 podemos igual tener un carbono unido a un hidrogeno con sp^2 , en el pico de 2917 podemos visualizar algún alcano que podría tener la posibilidad de convertirse en alqueno, en 1714 es la presencia de agua pero no se descarta la posibilidad de obtener algún alcohol igual algunos de los grupos carbonilos, en el pico de 1375 podemos tener el metilo y en el pico más bajo que es de 730 podemos observar el balanceo de metileno.

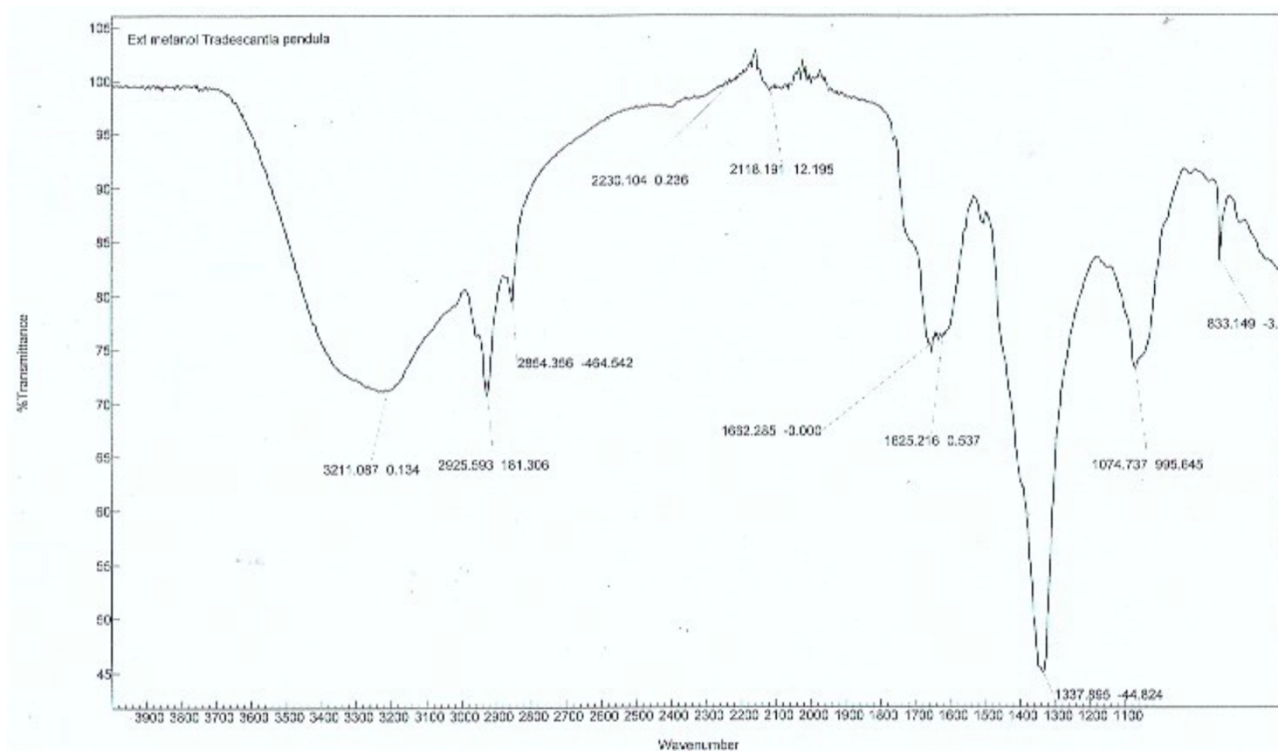


Figura 33. Espectroscopía del extracto metanólico.

En la figura 34, al momento de ser más polar, debería de salir más grupos hidroxilos y esto se puede llegar a confirmar con el área de la curva de la longitud de onda de 3000, debajo de esta longitud de onda podemos observar un carbono sp^2 unido a un hidrogeno, mientras, podemos sugerir que en la curva se podría tener la presencia de algunos alcoholes, en el pico de 1600 podemos decir que hay carbonilos o incluso tenemos la poca presencia de este grupo funcional, en este espectro hay más alcoholes y se puede confirmar con el espectro del mismo extracto pero en resonancia magnética nuclear ya que hay muchos más hidroxilos que pueden llegar a ser carbohidratos.

7 Conclusiones

- a) Los resultados obtenidos permiten concluir que el extracto de *Tradescantia pendula* sin encapsular tiene un efecto altamente tóxico, por lo cual, es de vital importancia conocer los efectos secundarios que pudiera provocar en el ser humano, con diferentes experimentos simulando a la flora intestinal.

- b) El extracto clorofórmico de *Tradescantia pendula* solo y gelificado ha presentado un resultado mayor en los experimentos llevados a cabo a comparación de los demás extractos, por lo cual ha sido de interés en los experimentos y poder llevar a cabo su beneficio antiinflamatorio y cicatrizante.

8 Conclusión general

Como se menciona a un principio del proyecto, lo que es la especie de *Tradescantia pendula* se le atribuye muchos beneficios médicos para el ser humano, sin embargo, esta especie no ha sido estudiada de una manera concreta y a fondo por lo tanto se tiene que buscar la manera de poder comprobar esta reacción al ser humano. Cabe mencionar, que esto podría incluso ayudar a la población de escasos recursos ya que en ciertas zonas del país se puede tener fácil acceso de esta especie. De igual manera, en los experimentos que se logró realizar en estos años del proyecto se pudo observar que efectivamente si hay cierto beneficio antiinflamatorio, aunque si el extracto no se encuentra gelificado se tendrá que checar sobre sus posibles efectos tóxicos hacia el ser humano.

9 Recomendaciones

- a) Continuar con la investigación de *Tradescantia pendula* para evaluar a profundidad todas sus actividades farmacológicas que pudiera tener.
- b) Se recomendaría realizar un estudio *in vivo* para la actividad cicatrizante y antiinflamatorio.
- c) Sería de vital importancia que se mantenga las costumbres y conocimientos ancestrales de nuestra cultura para motivar así las investigaciones y poder elaborar productos del área fitofarmacéutico.

10 Referencias

Acevedo Fernández, J.J., Angeles Chimal, J.S., Rivera, H.M., Petricevich López, V.L., Nolasco Quintana, N.Y., Collí Magaña, D.Y. & Santa-Olalla Tapia, J. (2013). Modelos in vitro para la evaluación y caracterización de péptidos bioactivos. En M. Segura Campos, L. Chel Guerrero & D. Betancur Ancona (Eds.), *Bioactividad de péptidos derivados de proteínas alimentarias* (pp. 29- 82). Barcelona: OmniaScience.

Alaba, C., Chichioco-Hernández, C. (2014). 15-Lipoxygenase inhibition of *Commelina benghalensis*, *Tradescantia fluminensis*, *Tradescantia zebrina*. *Asian Pac J Trop Bio.* 4(3): 184-188. Doi:10.1016/S2221-1691(14)60229-X.

Alexander A, Dwivedi S, Ajazuddin, Giri TK, Saraf S, Saraf S, Tripathi DK. Approaches for breaking the barriers of drug permeation through transdermal drug delivery. *J Control Release.* 2012;164(1):26-40.

Alonso, J. (2019). Plantas medicinales antiinflamatorias de uso tópico. Sociedad Latinoamericana de fitomedicina. www.fitomedicina.org

Andrighetti-Fröhner CR, Antonio RV, Creczynski-Pasa TB, Barardi CR, Simões CM. Cytotoxicity and potential antiviral evaluation of violacein produced by *Chromobacterium violaceum*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003;98:843-8.

Arts, R. W., Joosten, L., Netea, M., (2018). The potential role of trained immunity in autoimmune and autoinflammatory disorders. *Front Immunol.* 9: 298. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.00298/full>

Ávalos-García, A., Pérez-Urria Carril, E., (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal.* 2 (3), 119.145. ISSN 1989-3620. https://eprints.ucm.es/id/eprint/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf

Avello Lorca, M., López Canales, C., Gatica Valenzuela, C., Bustos Concha, E., Brieva Chait, A., Pastene Navarrete, E., & Bittner Berner, M. (2012). Efectos antimicrobianos de extractos de plantas chilenas de las familias Lauraceae y Atherospermataceae. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 17(1), 73-83.

Avendaño-Romero, G. C., López-Malo, A., Palou, E. (2013). Propiedades del alginato y aplicaciones en alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de alimentos.* 87-96. https://d1wqtxtslxzle7.cloudfront.net/46178354/ALGINATOS_I-with-cover-page.pdf?Expires=1621389936&Signature=UJrLYiLpGdfXwwXX3ZMWCedRgNx~54kgOGAir

U7ZouoMoRIyOFyrVvzZ6XWbDrPMZJmk0Jq97Tk7lQp6Mut0vkyQV3EwE~JbHSJ-
C0lQtpKi7dbfl27XcjkzI1iLXxwCHyqFQPOqJOTayEjcafqli6iF2S8agjupPQyfmrIXVa0~jYc-
YJkD8fsbFLj9kb2dxS4uoN7YKXBlxq~pv02p9tGzU5DF-T-WDGI5z8SS-
NxpUrcdvDNbaDvN4EZMhUOvl6n5SU2r-
zhN8IKRwFf~tKK8oWTt2wxpqDjQlquImV6vYlpxjIYrA~FdAXN6zq842CIrB9-
8fLGGKSNitFbe2w__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA

Balusu, S., Van Wonterghem, E., De Rycke, R., Raemdonck, K., Stremersch, S., Gevaert, K. (2016). Identification of a novel mechanism of blood brain communication during peripheral inflammation via choroid plexus-derived extracellular vesicles. *EMBO Mol Med.* 8 (10): 1162-1183. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27596437>

Benítez JM, Montáns FJ. The mechanical behavior of skin: Structures and models for the finite element analysis. *Computers & Structures.* 2017;190:75- 107.

Bermúdez A., Oliveira-Miranda M.A., Velásquez D., (2005). La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. *Interciencia*, 30(8), 453-459. ISSN 0378-1844.

Betancourt-Valladares, M., Domínguez-Montero, G., Casado-Hernández, I., Rodríguez-Martín, O., Fajardo-Tornés, Y. Consideraciones éticas en investigaciones experimentales con modelos animales. *Universidad de ciencias médicas camagüey.* 2015, 21(4). <https://www.medigraphic.com/pdfs/mediciego/mdc-2015/mdc154l.pdf>

Boer M, Duchnik E, Maleszka R, Marchlewicz M. Structural and biophysical characteristics of human skin in maintaining proper epidermal barrier function. *Postepy Dermatol Alergol.* 2016;33(1):1-5.

Bolzinger M-A, Briançon S, Pelletier J, Chevalier Y. Penetration of drugs through skin, a complex rate-controlling membrane. *Current Opinion in Colloid & Interface Science.* 2012;17(3):156-165.

Bourgau, F., Gravot, A., Milesi, S., Contier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science.* 161: 839-851.

Bouwstraa J, Honeywell-Nguyena P, Goorisa G, Ponecb M. Structure of the skin barrier and its modulation by vesicular formulations. *Progress in Lipid Research.* 2003;42:1-36.

Brown MB, Martin GP, Jones SA, Akomeah FK. Dermal and transdermal drug delivery systems: current and future prospects. *Drug Deliv.* 2006;13(3):175- 187.

Bussmann, R.W. 2015. Taxonomy - an irreplaceable tool for validation of herbal medicine. Pp. 87–118. In: Mukherjee, P.K. (ed.) Evidence-Based Validation of Herbal Medicine, Elsevier, Kolkata.

Caballero, P., Tejero-García, P., Alimentación y nutrición: repercusión en la salud y belleza de la piel. *Diet Nutr Eff Skin Beauty Health Nutr Clin Diet*. 10.12873/332

Cabrera-Carrión, J.L., Jaramillo-Jaramillo, C., Dután-Torres, F., Cun-Carrión, J., García, P. A., Rojas de Astudillo, L., (2017). Variación del contenido de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos en *Moringa oleifera* Lam. En función de su edad y altura. *Biagro*. 29 (1): 53-60. <http://ve.scielo.org/pdf/ba/v29n1/art06.pdf>

Carballo M Cortada, C, Gadano, A. Medicinal herbs: Risks and benefits in their

Castañeda, C. B., Ramos, LL. E., Ibáñez, V. L. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Médico*. 8(1).

Cerón-Carrillo, T., Munguía-Pérez, R., García, S., & Santiesteban-López, N. A. (2014). Actividad antimicrobiana de extractos de diferentes especies de Chile (*Capsicum*). *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 1(1).

Chanput W, Peters V, Wichers H. THP-1 and U937 Cells. In: Verhoeckx K, Cotter P, López-Expósito I, et al., editors. *The Impact of Food Bioactives on Health: in vitro and ex vivo models* [Internet]. Cham (CH): Springer; 2015. Chapter 14. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK500159/> doi: 10.1007/978-3-319-16104-4_14

Cordell GA. Biodiversity and drug discovery - a symbiotic relationship. *Phytochemistry* 2000;55:463-80.

Corral, A., *Revista cubana de Plantas Medicinales.*, Tamizaje, Tecnología, control de calidad y Farmacología del extracto de *Bougorvilleaspec tabilis* Willd., Vol. 2., Habana-Cuba., 1997., Pp. 19-25.

Cosme, I. (2008). El uso de plantas medicinales. *Revista intercultural*. 23-25. https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/8921/tra6_p23-26_2010-0.pdf;sequence=1

Cuesta Brey L, Sánchez Rodríguez K. Aspectos éticos de la experimentación con animales. *Bioética*. [Internet]. 2007 [citado 10 Jul 2013];7(2):25-7 Disponible en. <http://www.lebi.ucr.ac.cr/files/Etica/Etica%20animales.pdf>

Degim IT. New tools and approaches for predicting skin permeability. *Drug Discov Today*. 2006;11(11-12):517-523.

Desmarchelier, C., *Plantas Medicinales para la atención primaria en la salud. Vademécum de Fitoterapia.*, PRODAPP. Lima-Perú., 2005., Pp., 22.

Dominguez, M., y otros., Manual de Cirugía Menor., Arán., Madrid-España., 2002., Pp. 31, 35-36.

Domínguez, X., Métodos de Investigación fitoquímica. Editorial Limusa., México D.F-México., 1989., Pp. 211-228, 281.

Draget, K., I. 2000. Alginates. In Handbook of Hydrocolloids. Cambridge, Inglaterra: Woodhead Publishing Limited - Boca Raton, FL, EE.UU. CRC Press LLC. pp. 379-395.

Echegaray-Rodríguez, J.R., Echegaray-González, P., Mosquera-Fernandez, A., Gerrickaetxebarria-Peña, J. (2011). Fitoterapia y sus aplicaciones. Revista Española de Podología. XXII (6): 258-267.

Escobar, M. L., Rivera, A., Aristizábal, F. A. (2010). Estudio comparativo de los métodos de resazurina y MTT en estudios de citotoxicidad en líneas celulares tumorales humanas. Farmacología y Toxicología. Vol. 17. ISSN: 0121-4004.

Espinoza, M., Centurión H., Mayo M., Velázquez, M. (2017). Plantas aromáticas y medicinales Tropicales con potencial antimicrobiana. 1ra. Ed. UJAT: Colección: José N. Roviroso Biodiversidad, Desarrollo Sustentable y Trópico Húmedo. 978-607-606-386-6.

Farmacodinámica y fitofarmacia <http://www.farmafitolab.med.uchile.cl/fitofarmacología-fitoterapia.html>

Fernández-Calienes Valdés, Aymé, Mendiola Martínez, Judith, Monzote Fidalgo, Lianet, García Parra, Marley, Sariego Ramos, Idalia, Acuña Rodríguez, Deyanira, Scull Lizama, Ramón, & Gutiérrez Gaitén, Yamilet. (2009). Evaluación de la toxicidad de extractos de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de Artemia salina L.. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 61(3), 254-258. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602009000300009&lng=es&tlng=es.

Figueroa, O., y otros., Revista cubana Salud animal. Efecto de una solución de Mangle rojo en la cicatrización de heridas experimentales en conejos., Vol. 17., Habana-Cuba., 1995., Pp. 96-99.

Fink, S.L., & Cookson, B.T. (2005). Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. *Infection and Immunity*, 7, 1907-1916. <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.73.4.1907-1916.2005>

Foldvari M. Non-invasive administration of drug through the skin: challenges in delivery system design. *Pharm Sci Technolo Today*. 2000;3(12):417-425.

Freixa, B. (2001). Plantas medicinales y drogas vegetales. Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona. 20(6), 195. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-plantas-medicinales-drogas-vegetales-13015880>

Fricke SP, Buckley RG. Comparison of two colorimetric assays as cytotoxicity end point for an in vitro screen for antitumor agents. *Anticancer Res* 1996;16:3755-60.

Funami, T., Fang, Y., Noda, S., Ishihara, S., Nakauma, M., Draget K., Nishinari, K. y Phillips, G. 2009. Rheological properties of sodium alginate in an aqueous system during gelation in relation to supermolecular structures and Ca²⁺ binding. *Food Hydrocolloids*. 23(7):1746-1756.

Gallegos-Zurita, M. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud. *Anales de la Facultad de Medicina*. 77 (4). ISSN 1025-5583.

Gallegos-Zurita, M., Gallegos-Zurita D., (2017). Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de enfermedades de la piel en comunidades rurales. *Anales de la Facultad de Medicina*. 78 (3). <http://dx.doi.org/10.15381/anales.v78i3.13767>

García-Bacallao, L., Rojo-Domínguez, D. M., García-Gómez, L. V., Hernández Ángel, M., (2002) Plantas con propiedades antiinflamatorias. *Revista cubana de investigaciones Biomédicas*. 21(3). ISSN 1561-3011

García-Barreno, P. (2008). Inflamación. *Rev. R. Acad. Cienc. Exact. Fís. Nat.* 12 (1): 91-159. <https://rac.es/ficheros/doc/00681.pdf>

García-Contreras, R., Arenas-Arocena, M. C., Acosta-Torres, L., Rodríguez-Torres, M. P. (2019). Manual para la enseñanza práctica del ensayo MTT para evaluar la citotoxicidad de nanopartículas. Unidad León Escuela Nacional de Estudios Superiores. 18-21

Gimeno-Creus, E. (2004). Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *ELSEVIER*. 23 (6): 80-84. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-compuestos-fenolicos-un-analisis-sus-13063508>

Gimpel J. Aspectos bioéticos en el uso de animales de experimentación. En: Programa Fondecyt de CONICYT. Aspectos Bioéticos de la Experimentación Animal. Chile: Andros Impresores; 2009. p. 23-38.

Gombotz, W. R., Wee, S. F.(1998). Protein release from alginate matrices. *Advances Drug Delivery Reviews*. 31: 267-285.

González-Costa, M., Padrón-González, A. A. (2019). La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la medicina en el siglo XXI. *Revista Habaner*. 18 (1). ISSN 1729-519X

González-Stuart, A., Rivera J.O. (2009). Comparison of herbal products use in two largest border communities between the US and Mexico. *Herbalgram* 81: 58-66.

Gutiérrez-Grijalva, E. P., Basilio-Heredia, J., (2019). *Plantas Medicinales Mexicanas: La tradición a la ciencia*. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo CONACYT. <https://www.ciad.mx/notas/item/2151-plantas-medicinales-mexicanas-de-la-tradicion-a-la-ciencia>

Hadgraft J, Lane ME. Skin permeation: the years of enlightenment. *Int J Pharm.* 2005;305(1-2):2-12.

Hadgraft J. Skin deep. *Eur J Pharm Biopharm.* 2004;58(2):291-299.

Hernández E. M., López G. Y. R. y García P. A. 2005. Evaluación de derivados carboximetilados del alginato de sodio como superabsorbente. *Revista Cubana de Química*. Vol. XVII. 3: 239-240

Hernández-Alvarado, Jerelly, Zaragoza-Bastida, Adrian, López-Rodríguez, Gabino, Peláez-Acero, Armando, Olmedo-Juárez, Agustín, & Rivero-Perez, Nallely. (2018). Actividad antibacteriana y sobre nematodos gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: enfoque en Medicina Veterinaria. *Abanico veterinario*, 8(1), 14-27. <https://doi.org/10.21929/abavet2018.81.1>

Hernández, L. R. (2016). *Plantas medicinales: fuente natural de medicamentos*. Udlap Contexto <https://contexto.udlap.mx/plantas-medicinales-fuente-natural-de-medicamentos/>

Hewitt RE, McMarlin A, Kleiner D, Wersto R, Martin P, Tsokos M, Stamp GW, Stetler-Stevenson WG. Validation of a model of colon cancer progression. *J Pathol.* 2000 Dec;192(4):446-54. doi: 10.1002/1096-9896(2000)9999:9999::AID-PATH775>3.0.CO;2-K. Erratum in: *J Pathol* 2001 Aug;194(4):507. Tsoskas M [corrected to Tsokos M]. PMID: 11113861.

https://medicina.usmp.edu.pe/medicina/horizonte/2008_1/Art4_Vol08_N1.pdf

<https://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2006/un062g.pdf>

https://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/

Irma Colombo, Enrico Sangiovanni, Roberta Maggio, Carlo Mattozzi, Stefania Zava, Yolanda Corbett, Marco Fumagalli, Claudia Carlino, Paola Antonia Corsetto, Diletta Scaccabarozzi, Stefano Calvieri, Angela Gismondi, Donatella Taramelli, Mario Dell'Agli, "HaCaT Cells as a Reliable In Vitro Differentiation Model to Dissect the Inflammatory/Repair Response of Human Keratinocytes", *Mediators of Inflammation*, vol. 2017, Article ID 7435621, 12 pages, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/7435621>

Jaramillo-Jaramillo, C., Jaramillo-Espinoza, A., D'Armas, H., Troccoli, L., Rojas de Astudillo, L. (2016). Concentraciones de alcaloides, glucósidos cianogénicos, polifenoles y

saponinas en plantas medicinales seleccionadas en Ecuador y su relación con la toxicidad agua contra *Artemia salina*. *Revista de Biología Tropical*. 64 (3). <https://www.redalyc.org/jatsRepo/449/44946472020/html/index.html>

Jiménez Arellanes, María Adelina, Román Cortés, Nallely Rosalba, & García, Ignacio. (2011). Actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto hexánico y compuestos puros del rizoma de *Aristolochia taliscana*. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 42(3), 35-41. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952011000300005&lng=es&tlng=es.

Karadzovska D, Brooks JD, Monteiro-Riviere NA, Riviere JE. Predicting skin permeability from complex vehicles. *Adv Drug Deliv Rev*. 2013;65(2):265- 277.

Kendall AC, Nicolaou A. Bioactive lipid mediators in skin inflammation and immunity. *Prog Lipid Res*. 2013;52(1):141-164.

Knorr F, Lademann J, Patzelt A, Sterry W, Blume-Peytavi U, Vogt A. Follicular transport route--research progress and future perspectives. *Eur J Pharm Biopharm*. 2009;71(2):173-180.

Kotnik V. Complement in skin diseases. *Acta Dermatoven APA*. 2011;20(1):1- 11.

Kravzov-Jinich, Jaime, & Pérez-Hernández, Luis Alberto, & Moreno-Bonett, Consuelo, & Altagracia-Martínez, Marina (2013). Los medicamentos de receta de origen sintético y su impacto en el medio ambiente. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 44(4), 17-29. ISSN: 1870-0195. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57930578003>

Lai-Cheong JE, McGrath JA. Structure and function of skin, hair and nails. *Medicine*. 2013;41(6):317-320.

Landén N X, Li, D, Ståhle, M. Transition from inflammation to proliferation: A critical step during wound healing. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2016;73(20):3861-85

León, Claudia Jhoana, Gómez, Sandra Milena, Morantes, Sandra Johanna, Cordero, Claudia Patricia, & Ancízar, Fabio. (2006). Caracterización del perfil de sensibilidad de un panel de líneas celulares para valoración de citotoxicidad in vitro. *Biomédica*, 26(1), 161-168. Retrieved March 31, 2022, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572006000100019&lng=en&tlng=es.

Linares-Gimeno, N. (2013). *Plantas medicinales*. UPA Madrid. http://www.fademur.es/_documentos/ponencias/Ponencia_Fademur_farmacia_OK.pdf

Liu X, Kruger P, Maibach H, Colditz PB, Roberts MS. Using skin for drug delivery and diagnosis in the critically ill. *Adv Drug Deliv Rev*. 2014;77:40-49.

Liuzzi R, Carciati A, Guido S, Caserta S. Transport efficiency in transdermal drug delivery: What is the role of fluid microstructure? *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2016;139:294-305.

López, T. Plantas medicinales antiinflamatorias utilizadas para el tratamiento del reumatismo. (2003). Cuba. Normas de las especialidades médicas para el uso de fitofármacos y apifármacos. Ed Ciencias Médicas. ELSEVIER, 22(6), 118-122.

Losquadro WD. Anatomy of the Skin and the Pathogenesis of Nonmelanoma Skin Cancer. *Facial Plast Surg Clin North Am*. 2017;25(3):283-289.

Maldonado, Carla, Paniagua-Zambrana, Narel, Bussmann, Rainer W., Zenteno-Ruiz, Freddy S., & Fuentes, Alfredo F.. (2020). La importancia de las plantas medicinales, su taxonomía y la búsqueda de la cura a la enfermedad que causa el coronavirus (COVID-19). *Ecología en Bolivia*, 55(1), 1-5. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1605-25282020000100001&lng=es&tlng=es.

Mans DR, da Rocha AB, Schwartzmann G. Anticancer drug discovery and development in Brazil: targeted plant collection as a rational strategy to acquire candidate anti-cancer compounds. *Oncologist* 2000;5:185-98.

Maricich S, Wellnitz S, Nelson A, Lesniak D, Gerling G, Lumpkin E, Zoghbi H. Merkel Cells Are Essential for Light-Touch Responses. *Science*. 2009;324(5934).

Marwah H, Garg T, Goyal AK, Rath G. Permeation enhancer strategies in transdermal drug delivery. *Drug Deliv*. 2016;23(2):564-578.

Mathes SH, Ruffner H, Graf-Hausner U. The use of skin models in drug development. *Adv Drug Deliv Rev*. 2014;69-70:81-102.

Mathur V, Satrawala Y, Rajput M. Physical and chemical penetration enhancers in transdermal drug delivery system. *Asian Journal of Pharmaceutics*. 2010;4(3).

McLaughlin JL, Lingling LR, Anderson JE. The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drug Information J*. 1998;32:513-524.

Megías M, Molist P, Pombal MA. (2019). Atlas de histología vegetal y animal. Tipos celulares. <http://mmegias.webs.uvigo.es/8-tipos-celulares/listado.php>

Mendoza-Patiño, N., Figueroa-Hernández, J.L., (2006). Prevención de enfermedades con compuestos químicos de la alimentación. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 49(2), 64-65.

Menon GK, Cleary GW, Lane ME. The structure and function of the stratum corneum. *Int J Pharm*. 2012;435(1):3-9.

Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med.* 1982; 45:31-34.

Moncada-Mapelli, Enrique, & Salazar-Granara, Alberto. (2020). Medicina tradicional y COVID-19, oportunidad para la revaloración de las Plantas Medicinales Peruanas. *Revista del Cuerpo Médico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo*, 13(1), 103-104. Epub 31 de marzo de 2020. <https://dx.doi.org/10.35434/rcmhnaaa.2020.131.634>

Morales A, Pérez P, Mendoza R, Compagnone R, Suárez AI, Arvelo F et al. Cytotoxic and proapoptotic activity of ent-16 α -17 α -dihydroxykaurane on human mammary carcinoma cell line MCF-7. *Cancer Lett* 2005;218:109-16.

Morales Muñoz, H. (2015). Perfil de HPLC, RMN y actividad biológica de extractos etanólicos de geopropóleos de abejas meliponas de la Región Centro de Veracruz.

Morales-Rabanales, Q. N. (2018). Estudio fitoquímico e identificación de compuestos antimicrobianos de dos plantas de la familia Commelinaceae. Instituto Politecnico Nacional.

Moreno-Ortiz, Victor Cesar, Martínez-Núñez, Juan Manuel, Kravzov-Jinich, Jaime, Pérez-Hernández, Luis Alberto, Moreno-Bonett, Consuelo, & Altagracia-Martínez, Marina. (2013). Los medicamentos de receta de origen sintético y su impacto en el medio ambiente. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 44(4), 17-29. Recuperado en 13 de marzo de 2022, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952013000400003&lng=es&tlng=es.

Muñeton, P.P. (2009). Plantas medicinales: un complemento vital para la salud de los mexicanos. Entrevista con el Mtro. Erick Estrada Lugo. *Revista Digital Universitaria*. <http://www.revista.unam.mx/vol.10/num9/art58/int58.htm>.

Naik A, Kalia Y, Guy R. Transdermal drug delivery: overcoming the skin's barrier function. *Pharmaceutical Science & Technology Today*. 2000;3(9):318- 326.

Neupane R, Boddu SHS, Renukuntla J, Babu RJ, Tiwari AK. Alternatives to Biological Skin in Permeation Studies: Current Trends and Possibilities. *Pharmaceutics*. 2020;12(2).

Nieves, N., Rodríguez K., Cid M., Lezcano, Y., Rodríguez, R. y Daquinta M., 2010. Encapsulación de ápices de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*) en perlas de alginato. Influencia del AIBY el MH-5. *Centro Agrícola*, 37(4): 15-19.

Olivo-Vidal, Z. E., Ruíz-Ruíz J., Vega-Salazar M., Ochoa Díaz-López H., Irecta-Nájera, C., Sánchez-Chino X. M., (2020). Pharmacological Potential of *Tradescantia zebina* Leaf Extracts. *Journal of Bioengineering and biomedicine research*. 4(2), 33-37.

OMS. (2013). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Who. http://www.who.int/topics/traditional_medicine/WHO-strategy/es/

Paredes-Juarez G. A., et al., The role of pathogen-associated molecular patterns in inflammatory responses against alginate based microcapsules, *J. Control. Release* (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.09.009>

Parker, C.T., & Sperandio, V. (2009). Cell-to-cell signalling during pathogenesis. *Cell Microbiol. Mar.*, 11, 363-9

PENALOZA A, Giann C and PELAEZ J, Carlos A. Evaluación de la actividad biológica de extractos de crotalaria juncea mediante el modelo drosophila melanogaster. *Vitae [online]*. 2008, vol.15, n.2, pp.279-284. ISSN 0121-4004.

Pino Pérez O, Jorge Lazo F, Tacoronte Morales JE, Khambay BPS. Aislamiento y caracterización de compuestos activos de *Mammea americana* L. *Revista Cubana de Química*. 2007;19(1):74-77.

Rani, K., Tyagi, M., Singh, A., Shanmugam V., Shanmugam, A., Pillai, M., Srinivasan, A., (2019). Identification of annotated metabolites in the extract of *Centella asiatica*. *Academic Journals*. 13(5), 112-128. <https://doi.org/10.5897/JMPR2018.6711>

Rodríguez-Llimós, A. C., Chiappetta, D., Széliga, M. E., Fernández, A., Bregni, C. (2003) Micropartículas de alginate conteniendo paracetamol. *Ars Pharmaceutica*, 44 (4); 333-342 <http://www.ugr.es/~ars/abstract/44-333-03.pdf>

Rojas M W, Anaya, C, Cano R,J,M, Aristizábal, L,E, Gómez, B,H, Lopera H,L,M. *Inmunología de Rojas*. 2002. 113–153 p

Sala M, Diab R, Elaissari A, Fessi H. Lipid nanocarriers as skin drug delivery systems: Properties, mechanisms of skin interactions and medical applications. *Int J Pharm*. 2018;535(1-2):1-17.

Salazar Bell, Ivonne, Rodríguez Bertot, Román, Betancourt Hurtado, Cesar, Martínez Aguilar, Yordan, & Guillaume, Jacqueson. (2019). Analysis of the Secondary Metabolites of Leaf Powder of *Origanum vulgare* and *Ficus pandurata*. *Revista de Producción Animal*, 31(1), 61-63. Epub 24 de mayo de 2019. Recuperado en 13 de marzo de 2022, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-79202019000100061&lng=es&tlng=en.

Serrano C, Ortega T, Villar A. Biological activity of traditional medicines from Spain and Guatemala. *Artemia salina Bioassays: A revision*. *Phytotherapy Res*. 1996;10:S118-S120.

Sharma N, Agarwal G, Rana AC, Ali Z, Kumar D. A Review: Transdermal Drug Delivery System: A Tool For Novel Drug Delivery System. *International Journal of Drug Development & Research*. 2011;3(3):70-84.

Soni M, Kumar S, Gupta G. Transdermal Drug Delivery: A Novel Approach to Skin Permeation. *Journal of Pharmacy Research*. 2009;2(8):1184-1190.

Soria, Nélica. (2018). Las Plantas Medicinales y su aplicación en la Salud Pública. *Revista de salud publica del Paraguay*, 8(1), 7-8. <https://dx.doi.org/10.18004/rspp.2018.junio.7-8>

Tan, J., Yap, W., Tan, S., Lim, Y., Lee, S. (2014). Antioxidant content, antioxidant activity, and antibacterial activity of five plants from the commelinaceae family. *Antioxidants*. 3(4): 758-769. Doi:10.3390/antiox3040758

Tello-Ceron, Gladys, Flores Pimentel, Mercedes, & Gómez Galarza, Vilma. (2019). Uso de las plantas medicinales del distrito de Quero, Jauja, Región Junín, Perú. *Ecología Aplicada*, 18(1), 11-20. <https://dx.doi.org/10.21704/rea.v18i1.1301>

Toledo, V. M., (1994). La Biodiversidad Biológica de México. Nuevos retos para la investigación en los noventa. *Ciencias* 34:43–59

Torokne A, Vasdinnyi R, Asztalos BM. A Rapid Microbiotest for the Detection of Cyanobacterial Toxins. *Environ Toxicol*. 2007;64-68.

Trevizan, Juan, Soto, Emilio, Parra, Felipe, Bustos, Luis, & Parra, Claudio. (2020). Antioxidant activity of nine medicinal plants with commercial potential. *Idesia (Arica)*, 38(3), 53-58. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292020000300053>

Tsakovska I, Pajeva I, Al Sharif M, Alov P, Fioravanzo E, Kovarich S, Worth AP, Richarz AN, Yang C, Mostrag-Szlichtyng A, Cronin MTD. Quantitative structure-skin permeability relationships. *Toxicology*. 2017;387:27-42.

uses. *Theoria*. 2005;14(2):95-108.

V. Peña Blaque y V. Peña Blaque, «Sistemas de liberación controlada de medicamentos. Aplicaciones biomédicas.» 2016.

Van Smeden J, Janssens M, Gooris GS, Bouwstra JA. The important role of stratum corneum lipids for the cutaneous barrier function. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1841(3):295-313.

Vanhaecke P, Persoone G. The ARC-Test: a standardized short-term routine toxicity test with *Artemia nauplii*. *Methodology and evaluation. Ecotoxicological Testing for the Marine Environ*. 1984;143-157.

Varó I, Serrano R, Navarro JC, Lopez FJ, Amat F. Acute Lethal Toxicity of the Organophosphorus Pesticide Chlorpyrifos to Different Species and Strains of Artemia. *Bull Environ Contam Toxicol.* 1998;61:778-785.

Velázquez-Vázquez, G., Pérez-Armendáriz, B., Ortega-Martinez, L. D., & Nelly-Juarez, Z. (2019). Conocimiento etnobotánico sobre el uso de plantas medicinales en la Sierra Negra de Puebla, México. *Boletín Latinoamericano Y Del Caribe De Plantas Medicinales Y Aromáticas*, 18(3), 265-276. <https://doi.org/10.37360/blacpma.19.18.3.17>

Vélez-Terranova, M., Campos-Gaona, R., Sánchez-Guerrero, H., (2014). Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 17: 489-499. <https://www.redalyc.org/pdf/939/93935728004.pdf>

Vidal Gutiérrez, Max, Torres Moreno, Heriberto, Velázquez Contreras, Carlos Arturo, Rascón Valenzuela, Luisa Alondra, & Robles Zepeda, Ramón Enrique. (2020). Actividad antioxidante y antiproliferativa de seis plantas medicinales del noroeste de México. *Biotecnia*, 22(3), 40-45. Epub 10 de febrero de 2021. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v22i3.1169>

Wickett RR, Visscher MO. Structure and function of the epidermal barrier. *American Journal of Infection Control.* 2006;34(10):S98-S110.

Yabur., Bashan Y. y Hernández-Carmona G. 2007 Alginate from the macroalgae *Sargassum Sinicola* as a Novel Source for Microbial Immobilization Material in Wastewater Treatment and Plant Growth Promotion. *Journal of Applied Phycology*, 19(1):43- 53.

Yang G, Seok JK, Kang HC, Cho YY, Lee HS, Lee JY. Skin Barrier Abnormalities and Immune Dysfunction in Atopic Dermatitis. *Int J Mol Sci.* 2020;21(8).

Zhang XY, Li WG, Wu YJ, Zheng TZ, Li W, Qu SY et al. Proanthocyanidin from grape seeds potentiates antitumor activity of doxorubicin via immunomodulatory mechanism. *Int Immunopharmacol* 2005;5:1247-57.

Zhang, X. (2021). *Medicina tradicional: definiciones*. Organización Mundial de la Salud.

Zhang, X., (1996). *Traditional Medicine WHO*. *Hardard Medicus*. 39(3):103.

Zhang, X., (2002). *Pautas generales para las metodologías de investigación y evaluación de la medicina tradicional*. Ginebra: World Health Organization; 2002. Documento WHO 2000. 1.

Zsikó, Csányi, Kovács, Budai S, Gácsi, Berkó. Methods to Evaluate Skin Penetration In Vitro. *Scientia Pharmaceutica.* 2019;87(3).

11 Anexo



Laboratorio Nacional de Identificación
y Caracterización Vegetal



RESULTADO DE IDENTIFICACIÓN TRADICIONAL

Las Agujas, Zapopan, Jalisco, a 18 de mayo de 2022

Dra. Zaida Nelly Juárez
Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla
PRESENTE

Por este conducto, le notificamos los resultados de la identificación taxonómica de sus muestras correspondientes al número de orden SIST-TRA-2022-7. La determinación se realizó con base en características morfológicas, mediante el uso de claves dicotómicas y comparación con ejemplares depositados en el Herbario Luz María Villarreal de Puga del Instituto de Botánica de la Universidad de Guadalajara (IBUG). Después, los nombres fueron corroborados a través de consultas de las bases de datos electrónicas disponibles en la internet: Tropicos, International Plant Names Index (IPNI), la World Checklist of Selected Plant families (WCSP) y Plants of the World (POWO). Se siguió la clasificación de familias propuesta por el APG IV. El taxónomo a cargo de la identificación fue: Dr. Daniel Sánchez. Las muestras fueron depositadas, como respaldo y resguardo permanente, en el herbario IBUG (**214426**).

Núm. de muestra	Nombre científico	Familia
SIST-TRA-2022-7	<i>Tradescantia zebrina</i> Bosse [=<i>Tradescantia pendula</i> (Schnizl.) D.R.Hunt]	Commelinaceae

***Tradescantia pendula* representa un sinónimo de *T. zebrina*.**

ATENTAMENTE

Dr. Daniel Sánchez Carbajal
Representante de la Unidad de Sistemática
Laboratorio Nacional de Identificación y
Caracterización Vegetal, Universidad de Guadalajara

Vo. Bo.

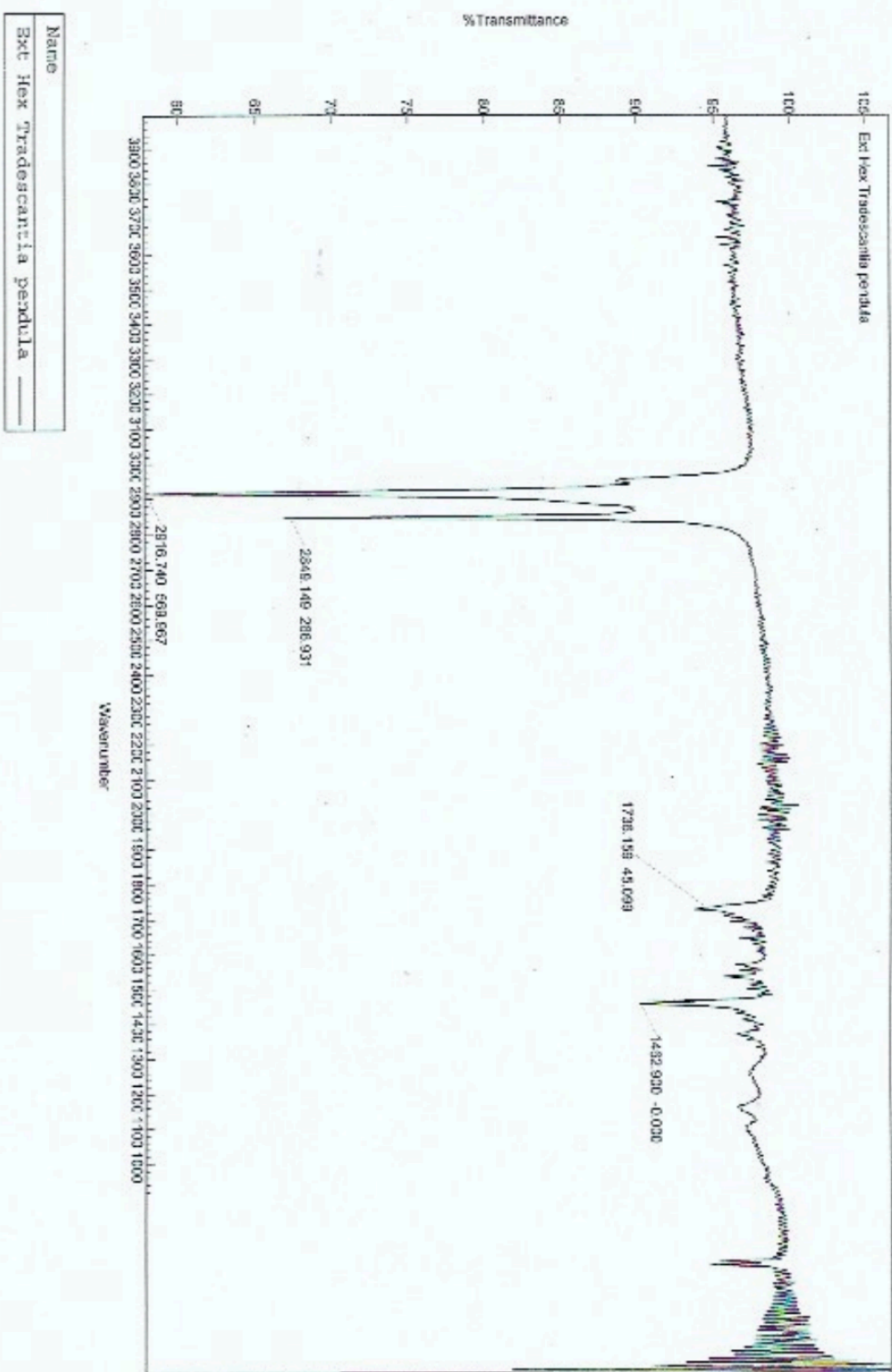
Dr. Pablo Carrillo Reyes
Curador Herbario, "Luz María Villarreal de Puga"
(IBUG), Instituto de Botánica de la Universidad de
Guadalajara

C.U.C.B.A



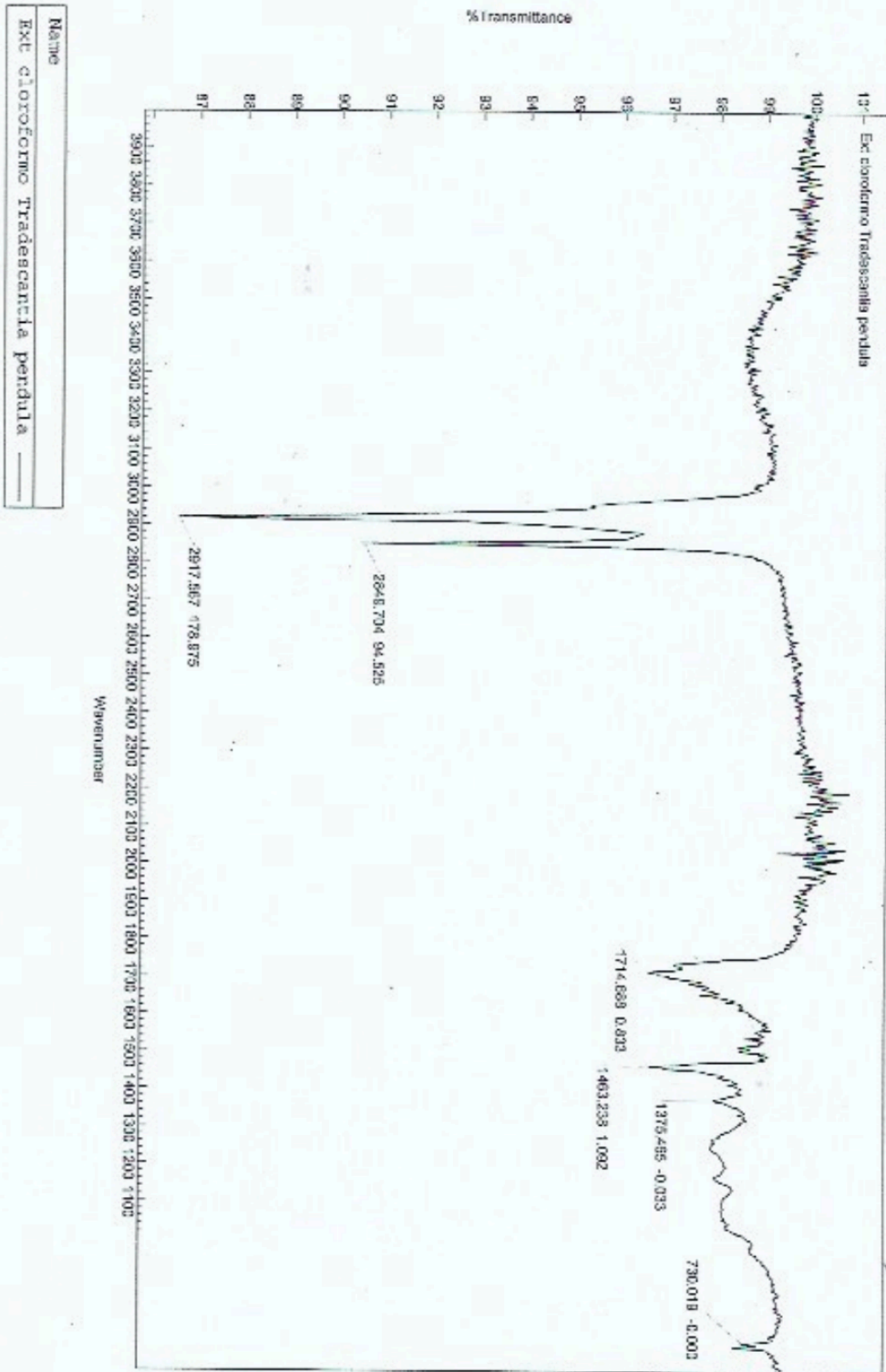
DEPARTAMENTO
DE BOTÁNICA
Y ZOOLOGÍA

Este documento contiene información propiedad de LaniVeg. Cualquier divulgación a terceros debe ser autorizada por el Responsable Técnico. Las firmas autógrafas que aparecen en el documento original se encuentran respaldadas por el responsable de control de documentos. Cualquier documento impreso sin sello de Copia Controlada será considerado como Copia No Controlada.

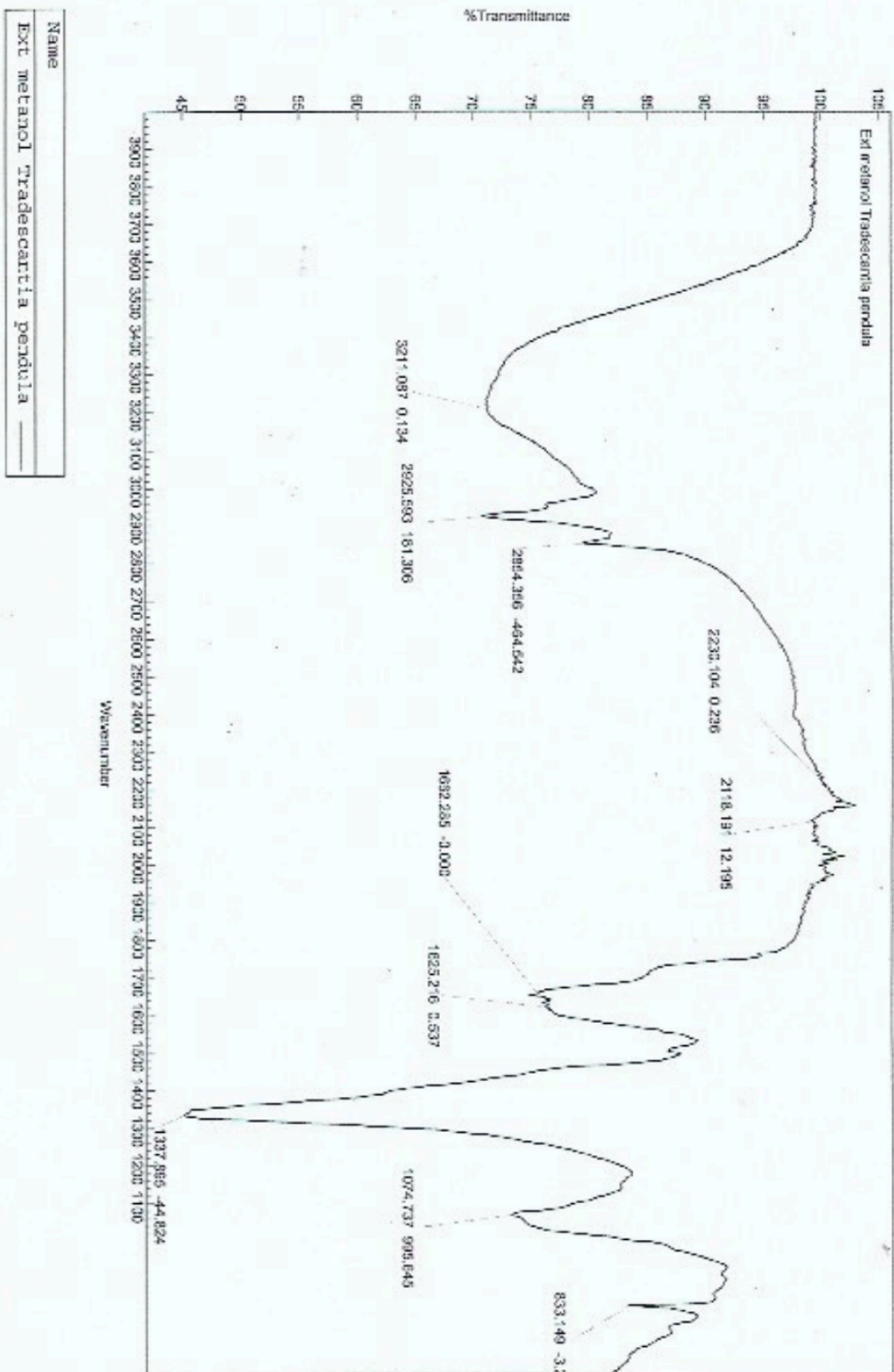


Anexo 2. Gráfica IR extracto hexánico

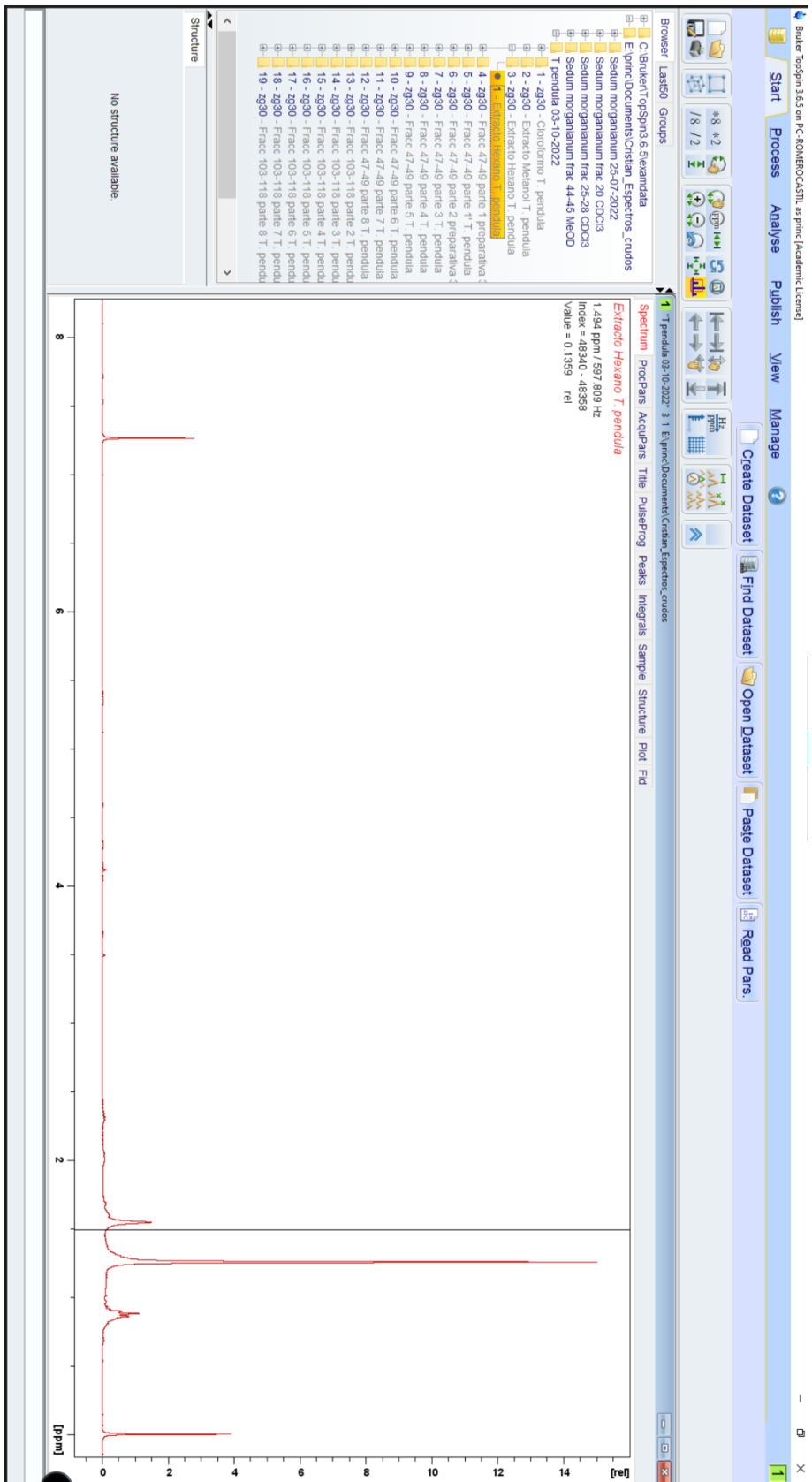
Agilent Resolutions Pro



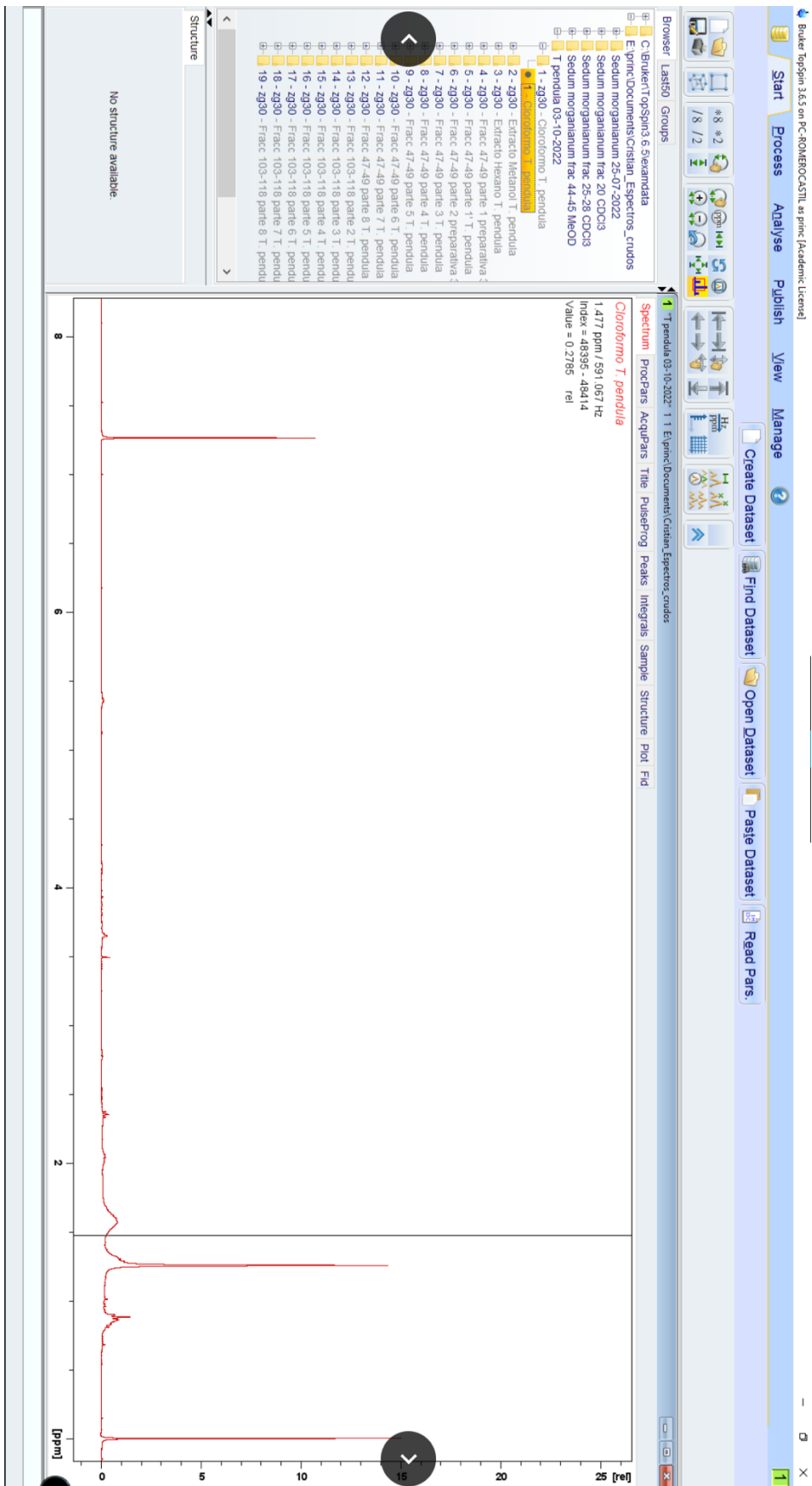
Anexo 3. Gráfica IR extracto cloroformico



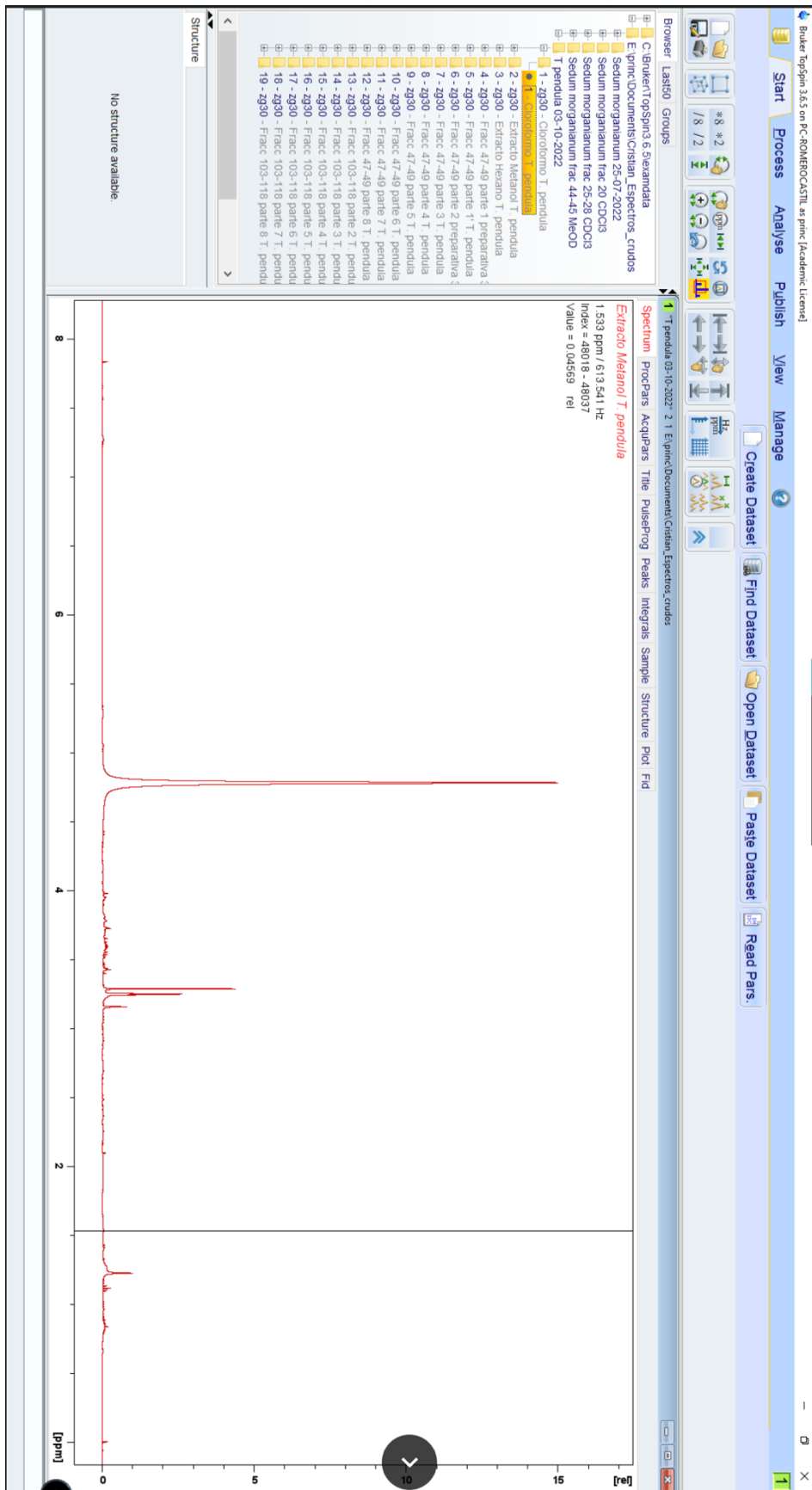
Anexo 4. Gráfica extracto metanólico



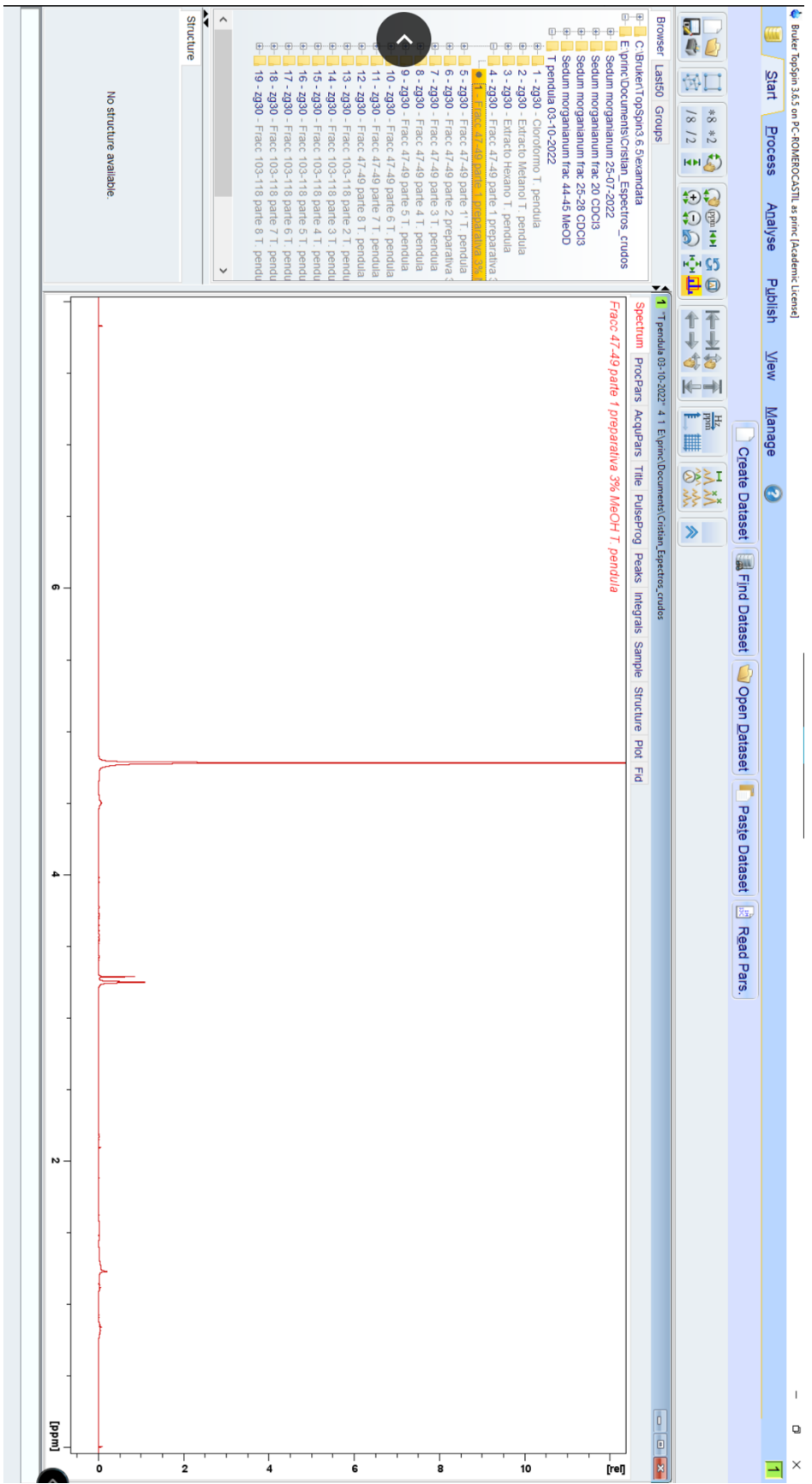
Anexo 5. Gráfica RMN hexánico



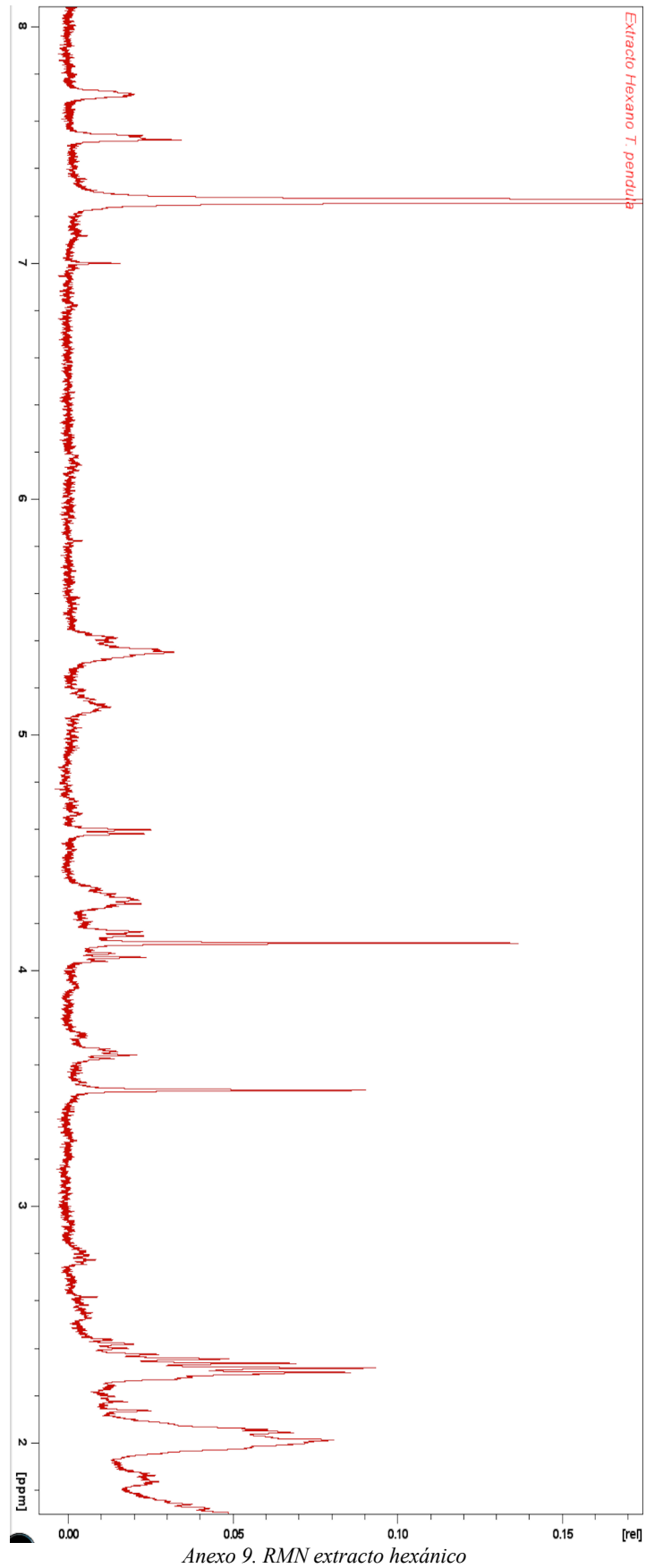
Anexo 6. Gráfica RMN extracto clorofórmico.

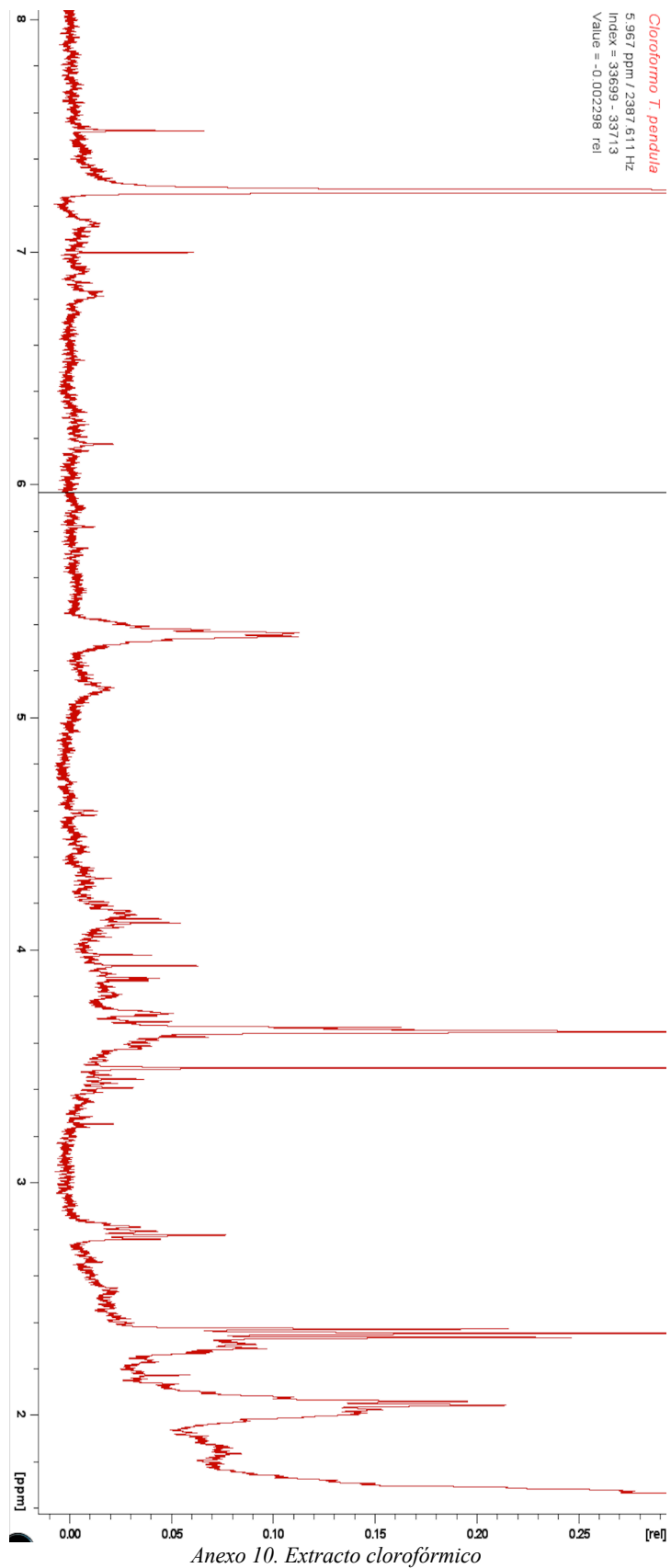


Anexo 7. Gráfica RMN extracto metanólico.

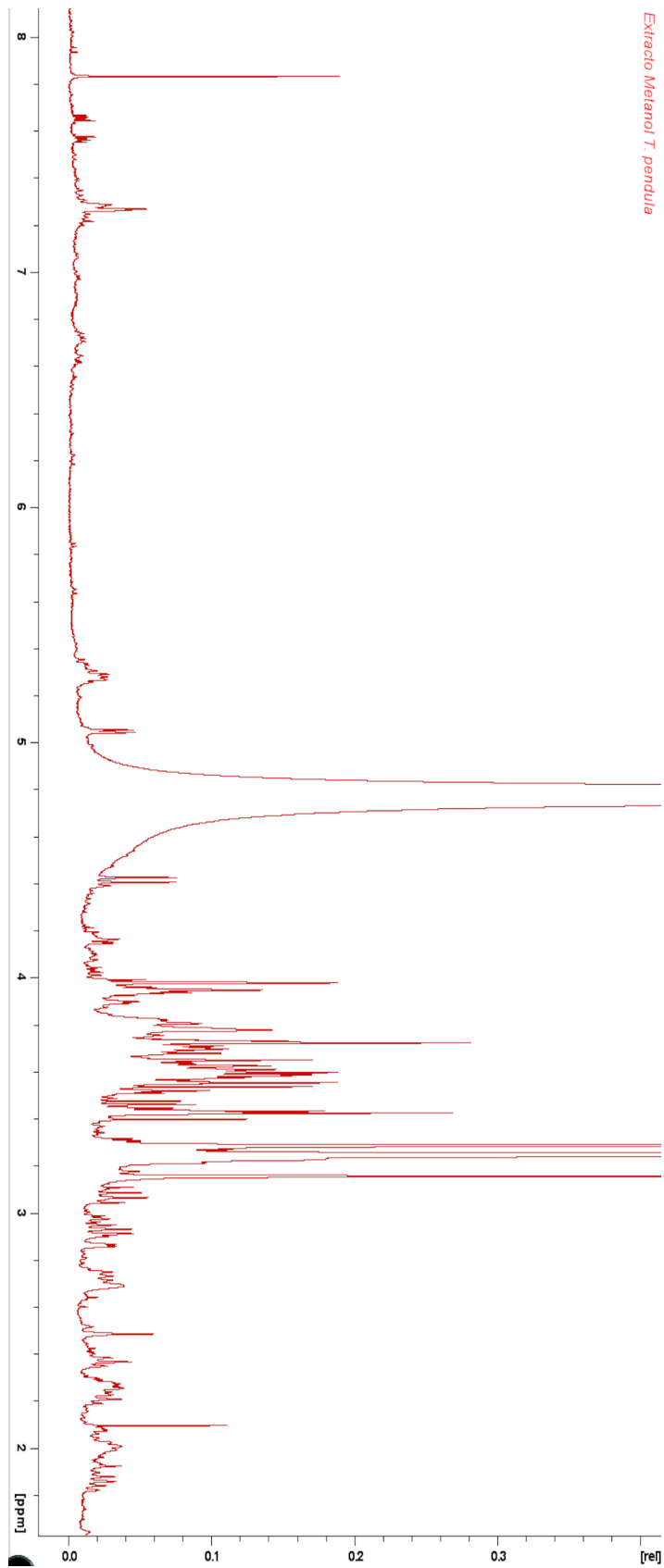


Anexo 8. Gráfica RMN fracciones 47-49 de placa preparativa.





Extracto Melanoid T. pendula



Anexo 11. RMN extracto metanólico