



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en Ciencias Biológicas

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIOXIDANTE DE  
*Cordia dodecandra*, *Melochia nodiflora* Y *Ruellia  
nudiflora* Y AISLAMIENTO DE UN METABOLITO  
SECUNDARIO**

Tesis que presenta

CARLOS EDUARDO CASTILLO GARCÍA

En opción al título de

MAESTRO EN CIENCIAS

(Ciencias Biológicas: Opción Biotecnología)

Mérida, Yucatán, México

2021



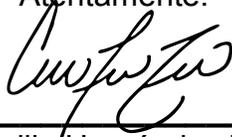
*CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A. C.*  
*POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS*



**RECONOCIMIENTO**

Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis de **Carlos Eduardo Castillo García**, titulado “**Actividad antibacteriana y antioxidante de *Cordia dodecandra*, *Melochia nodiflora* y *Ruellia nudiflora* y aislamiento de un metabolito secundario**”, fue realizado en el Laboratorio de Química de Productos Naturales de la **Unidad de Biotecnología**, del **Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.** bajo la dirección del **Dr. Sergio Rubén Peraza Sánchez** y en el Laboratorio de Microbiología de la **Unidad Experimental Marista, de la Universidad Marista de Mérida**, bajo la asesoría de la **Dra. Mariel Gullian Klanian**, dentro de la opción de Biotecnología, perteneciente al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas de este Centro.

Atentamente:



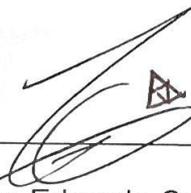
---

Dra. Cecilia Hernández Zepeda  
Directora de Docencia

Mérida, Yucatán, México, a 28 de octubre de 2021.

## DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en la sección de Materiales y Métodos, los Resultados y Discusión de este documento proviene de las actividades de investigación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que a razón de lo anterior y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y en el mismo tenor, reconozco que si derivaren de este trabajo productos intelectuales o desarrollos tecnológicos, en lo especial, estos se registrarán en todo caso por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.



---

Carlos Eduardo Castillo García

Este trabajo se llevó a cabo en la Unidad de Biotecnología del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. y en la Unidad Experimental Marista de la Universidad Marista de Mérida y forma parte del proyecto titulado “Actividad antibacteriana y antioxidante de *Cordia dodecandra*, *Melochia nodiflora* y *Ruellia nudiflora* y aislamiento de un metabolito secundario”, bajo la dirección del Dr. Sergio Rubén Peraza Sánchez y de la Dra. Mariel Gullian Klanian.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el otorgamiento de la beca con número de apoyo 871876 durante el transcurso de la realización de este trabajo de investigación.

Al Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY) por sus enseñanzas y uso de las instalaciones del Laboratorio de Química de Productos Naturales de la Unidad de Biotecnología.

A la Universidad Marista de Mérida, por la realización de los bioensayos en el Laboratorio de Microbiología de la Unidad Experimental Marista.

Expreso mi eterna gratitud a mis asesores, los doctores Sergio R. Peraza Sánchez y Mariel Gullian Klanian, por su paciencia, templanza y sabiduría a través del proceso de esta investigación.

Al M. en C. Luis W. Torres Tapia, del Laboratorio de Química de Productos Naturales de la Unidad de Biotecnología del CICY, por su auxilio, enseñanzas y supervisión en las técnicas de laboratorio empleadas en la parte experimental de mi tesis.

A la M. en C. Ma. Jo. Sánchez Solís y a la Dra. Mariana Delgadillo Díaz por sus enseñanzas, ánimos y amabilidad haciendo amena mi estancia en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Marista de Mérida.

A la Dra. Marcela Gamboa Angulo, por sus aportaciones y firmeza en clase y exámenes tutoriales.

A la Dra. Blanca Marina Vera Ku, por sus consejos y sugerencias con la finalidad de mejorar el trabajo de investigación.

A la Dra. Blondy Canto Canché, por la revisión de la tesis y sus consejos para mejorar su contenido.

A Neptis A. Estrada Alfaro, Karla L. Castro Valencia y José Lisandro Mendoza Munguía, por coincidir con mis locuras y ser excelentes amigos en la adversidad.

## **DEDICATORIAS**

A mis padres, por su amor, cariño, sustento y orgullo.

A mi hermano, por motivarme y sacarme una sonrisa cuando lo anhelaba.

A mis abuelos, por ser el pilar de mi vida.

A mí, por ser resiliente, no perder la cordura y paciencia durante el proceso.

A Dios, por todo lo anterior.

---

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN .....	1
CAPÍTULO I .....	3
ANTECEDENTES.....	3
1.1. Enfermedades de transmisión alimentaria.....	¡Error! Marcador no definido.
1.2. Bacterias.....	¡Error! Marcador no definido.
1.3. Antibióticos y resistencia bacteriana .....	4
1.4. Microorganismos de transmisión alimentaria.....	5
1.5. Actividad antioxidante .....	8
1.6. Uso de plantas medicinales .....	9
1.7. Plantas medicinales candidatas para evaluación antibacteriana y capacidad antioxidante.....	11
1.8. Técnicas cromatográficas.....	17
1.9. Técnicas espectroscópicas.....	18
JUSTIFICACIÓN .....	20
HIPOTESIS.....	21
OBJETIVO GENERAL.....	21
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
ESTRATEGIA EXPERIMENTAL .....	22
CAPÍTULO II .....	23

---

<b>ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE PLANTAS MEDICINALES.....</b>	<b>23</b>
<b>2.1. INTRODUCCIÓN. ....</b>	<b>23</b>
<b>2.2. MATERIALES Y MÉTODOS. ....</b>	<b>23</b>
<b>2.2.1. Elección de plantas .....</b>	<b>23</b>
<b>2.2.2. Colecta.....</b>	<b>24</b>
<b>2.2.3. Procesamiento y extracción de material vegetal .....</b>	<b>24</b>
<b>2.2.4. Evaluación de actividad antibacteriana.....</b>	<b>26</b>
<b>2.3. RESULTADOS. ....</b>	<b>27</b>
<b>2.3.1. Rendimiento de plantas medicinales.....</b>	<b>27</b>
<b>2.3.2. Evaluación de actividad antibacteriana.....</b>	<b>28</b>
<b>2.4. DISCUSIÓN. ....</b>	<b>32</b>
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>35</b>
<b>EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....</b>	<b>35</b>
<b>3.1. INTRODUCCIÓN. ....</b>	<b>35</b>
<b>3.2. MATERIALES Y MÉTODOS. ....</b>	<b>36</b>
<b>3.2.1. Cuantificación fitoquímica.....</b>	<b>36</b>
<b>3.2.1.1. Fenoles totales .....</b>	<b>36</b>
<b>3.2.1.2. Flavonoides totales.....</b>	<b>37</b>
<b>3.2.1.3. Flavonoides glicosilados.....</b>	<b>37</b>
<b>3.2.2. Capacidad antioxidante .....</b>	<b>37</b>

---

3.2.2.1. Ensayo del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) .....	37
3.2.2.2. Ensayo del radical ácido 2,2-azino bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS).....	38
3.2.2.3. Ensayo de cinética de poder reductor antioxidante férrico (FRAP).....	38
3.3. RESULTADOS. ....	39
3.3.1. Cuantificación de fenoles y flavonoides .....	39
3.3.2. Capacidad antioxidante .....	39
3.3.3. Bioautografía directa con DPPH .....	42
3.4. DISCUSIÓN. ....	44
CAPÍTULO IV .....	47
AISLAMIENTO Y ELUCIDACIÓN ESTRUCTURAL DE COMPUESTOS DE <i>CORDIA DODECANDRA</i> .....	47
4.1. INTRODUCCIÓN. ....	47
4.2. MATERIALES Y MÉTODOS. ....	47
4.2.1. Material vegetal .....	47
4.2.2. Aislamiento cromatográfico .....	47
4.2.3. Elucidación estructural.....	48
4.3. RESULTADOS Y DISCUSION.....	49
CAPITULO V.....	64
CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	64
5.1. CONCLUSIONES.....	64

---

---

<b>5.2. PERSPECTIVAS.....</b>	<b>65</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>66</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>79</b>

---

## LISTADO DE FIGURAS

<b>Figura 1.1.</b> Pared celular bacteriana: A. Gram-positiva y B. Gram-negativa.....	4
<b>Figura 1.2.</b> Principales clases de compuestos bioactivos en plantas .....	10
<b>Figura 1.3.</b> Estructura de alicina, compuesto aislado de <i>A. sativum</i> ... ..	10
<b>Figura 1.4.</b> Distribución de <i>C. dodecandra</i> en la península de Yucatán.....	12
<b>Figura 1.5.</b> Árbol de ciricote ( <i>Cordia dodecandra</i> ). A. Árbol y hojas, B. Tronco, C. Flor, D. Fruto..	13
<b>Figura 1.6.</b> Hoja de <i>Melochia nodiflora</i> Swartz. ....	15
<b>Figura 1.7.</b> Hierba de <i>Ruellia nudiflora</i> (Engelm y A. Gray) Urb.....	16
<b>Figura 2.1.</b> Procesamiento y extracción del material vegetal .....	25
<b>Figura 2.2.</b> Diagrama de flujo de bioensayo por agar difusión.....	27
<b>Figura 2.3.</b> Evaluación de inhibición de crecimiento bacteriano por el método de agar difusión ....	29
<b>Figura 2.4.</b> Evaluación de las fracciones de corteza de <i>C. dodecandra</i> por el método de agar difusión.....	30
<b>Figura 3.1.</b> Esquema general metodológico de la evaluación del análisis fitoquímico y capacidad antioxidante .....	36
<b>Figura 3.2.</b> Porcentaje de inhibición del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo).....	40
<b>Figura 3.3.</b> Porcentaje de inhibición del radical ABTS (ácido 2,2-azino bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) .....	40
<b>Figura 3.4.</b> Cinética de reacción FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).....	41
<b>Figura 3.5.</b> Bioautografía directa con DPPH al 0.2% de subfracciones de CDC-3c (AcOEt).....	43
<b>Figura 3.6.</b> Bioautografía directa con DPPH al 0.2% del compuesto CDC-14a1 (AcOEt). ....	43
<b>Figura 4.1.</b> Aislamiento cromatográfico de compuestos de corteza <i>C. dodecandra</i> (CDC-14a-1)..	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>Figura 4.2.</b> Cromatograma CLAR del compuesto CDC-14a1.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>Figura 4.3.</b> Espectro de infrarrojo del compuesto CDC-14a1.....	51

---

<b>Figura 4.4.</b> Espectro de masas del compuesto CDC-14a1.....	52
<b>Figura 4.5.</b> Espectro de <sup>1</sup> H-RMN del compuesto CDC-14a1.....	53
<b>Figura 4.6.</b> Correlaciones en el espectro COSY del compuesto CDC-14a1..	54
<b>Figura 4.7.</b> Estructuras parciales obtenidas a partir del espectro COSY. ....	55
<b>Figura 4.8.</b> Espectro de <sup>13</sup> C-RMN y DEPT-135 del compuesto CDC-14a1.....	56
<b>Figura 4.9.</b> Correlaciones en el espectro HSQC del compuesto CDC-14a1..	57
<b>Figura 4.10.</b> Región del espectro de HMBC mostrando las correlaciones entre los protones a 2.58 ppm (línea roja) y 2.99 ppm (línea azul) con diferentes átomos de carbonos.....	58
<b>Figura 4.11.</b> Primera parte de la estructura química de CDC-14a1 mostrando la correlación según el HMBC.....	58
<b>Figura 4.12.</b> Región del espectro de HMBC mostrando las correlaciones entre los protones a 5.22 ppm (línea verde) y 5.77 ppm (línea amarilla) con diferentes átomos de carbonos.....	59
<b>Figura 4.13.</b> Segunda parte de la estructura química de CDC-14a1 mostrando la correlación según el HMBC.....	60
<b>Figura 4.14.</b> Región del espectro de HMBC mostrando las correlaciones entre los protones a 6.71 ppm (línea rosa) y 7.20 ppm (línea violeta) con diferentes átomos de carbonos.....	61
<b>Figura 4.15.</b> Tercera parte de la estructura química de CDC-14a1 mostrando las correlaciones según el HMBC.....	62
<b>Figura 4.16.</b> Correlaciones de HSQC (→) y COSY (←) de CDC-14a1..	62
<b>Figura 4.17.</b> Correlaciones de HMBC (→) de CDC-14a1..	62
<b>Figura 4.18.</b> Estructura propuesta para el compuesto CDC-14a1... ..	62

---

## LISTADO DE TABLAS

<b>Tabla 1.1.</b> Patógenos prioritarios para la investigación y desarrollo de nuevos antibióticos según la OMS. ....	5
<b>Tabla 2.1.</b> Especies vegetales medicinales que se eligieron y se colectaron para su evaluación. .	24
<b>Tabla 2.2.</b> Rendimiento de extractos orgánicos de plantas medicinales .....	27
<b>Tabla 2.3.</b> Actividad antibacteriana de los extractos metanólicos de las diferentes partes vegetales de <i>C. dodecandra</i> , <i>M. nodiflora</i> y <i>R. nudiflora</i> . ....	29
<b>Tabla 2.4.</b> Actividad antibacteriana de las fracciones de corteza de <i>C. dodecandra</i> (CDC). ....	31
<b>Tabla 3.1.</b> Cuantificación de fenoles y flavonoides de los extractos metanólicos de <i>Cordia dodecandra</i> y <i>Melochia nodiflora</i> . ....	39
<b>Tabla 3.2.</b> Diferencias significativas entre extractos en la prueba FRAP. ....	42
<b>Tabla 4.1.</b> Desplazamientos químicos de <sup>1</sup> H-RMN (600 MHz, CD <sub>3</sub> OD) del compuesto CDC-14a1..	53
<b>Tabla 4.2.</b> Desplazamientos químicos de <sup>13</sup> C-RMN (150 MHz, en CD <sub>3</sub> OD) y DEPT-135 del compuesto CDC-14a1.....	56
<b>Tabla 4.3.</b> Asignaciones del compuesto CDC-14a1.....	63
<b>Tabla A1.</b> Actividad biológica de extractos y compuestos aislados del género <i>Cordia</i> .....	79
<b>Tabla A2.</b> Compuestos fitoquímicos aislados e identificados con actividad antibacteriana en especies del género <i>Cordia</i> .....	82



---

## ABREVIATURAS

CCD	Cromatografía en Capa Delgada
CLAR	Cromatografía Líquida de Alta Resolución
CDC	<i>Cordia dodecandra</i> corteza
ERO	Especies Reactivas de Oxígeno
RL	Radicales Libres
HAT	Transferencia de Átomos de Hidrógeno
ET	Transferencia de Electrones
$t_R$	Tiempo de Retención
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
COSY	Correlation Spectroscopy
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Correlation Spectroscopy
HMBC	Heteronuclear Multiple-Bond Correlation Spectroscopy
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

---

## RESUMEN

En la actualidad, la resistencia a los antibióticos es considerado uno de los mayores problemas de salud pública a nivel mundial, siendo más frecuente en infecciones bacterianas asociadas al tracto respiratorio, diarrea, meningitis, sífilis, gonorrea y la tuberculosis, causando la mayoría de las infecciones mortales. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, las enfermedades transmitidas por alimentos de origen bacteriano son de las principales muertes relacionadas a diarrea. Una alternativa viable para la búsqueda de nuevos compuestos activos contra este problema es el uso de la medicina tradicional. En la medicina tradicional maya, la corteza de *Cordia dodecandra*, la hoja de *Melochia nodiflora* y la planta entera de *Ruellia nudiflora* son empleadas para tratar infecciones gastrointestinales y respiratorias. En estas plantas su actividad biológica es limitada y su fitoquímica es desconocida; al mismo tiempo, las plantas de estos géneros han mostrado tener actividad antibacteriana y antioxidante.

En este trabajo se realizó una comparación de la actividad antibacteriana y antioxidante de los extractos metanólicos de las especies vegetales, siendo seleccionado el extracto de corteza de *C. dodecandra*, del cual la fracción de acetato de etilo mostró actividad antibacteriana contra distintas cepas bacterianas patógenas del humano, así también como actividad antioxidante por cuantificación e inhibición de radicales libres. De esta fracción activa se logró aislar y elucidar estructuralmente el compuesto nombrado como CDC-14a1 que resultó ser novedoso tanto para *C. dodecandra* como para el género *Cordia*.

---

---

## ABSTRACT

At present, resistance to antibiotics is considered one of the major public health problems worldwide, being more frequent in bacterial infections associated with the respiratory tract, diarrhea, meningitis, syphilis, gonorrhea, and tuberculosis, causing most of the deadly infections. According to the World Health Organization, foodborne illnesses of bacterial origin are among the main deaths related to diarrhea. A viable alternative for the search for new active compounds against this problem is the use of traditional medicine. In traditional Mayan medicine, the bark of *Cordia dodecandra*, the leaf of *Melochia nodiflora*, and the entire plant of *Ruellia nudiflora* are used to treat gastrointestinal and respiratory infections. In these plants, their biological activity is limited and their phytochemistry is unknown; at the same time, the plants of these genera have shown to have antibacterial and antioxidant activity.

In this work, a comparison was made of the antibacterial and antioxidant activity of the methanolic extracts of the plant species, being selected the bark extract of *C. dodecandra*, whose ethyl acetate fraction showed antibacterial activity against different human pathogenic bacterial strains, as well as antioxidant activity by quantification and inhibition of free radicals. From this active fraction, the compound named CDC-14a1 was isolated and structurally elucidated, which turned out to be novel for both *C. dodecandra* and the genus *Cordia*.

---

---

---

---

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas causadas por bacterias, virus, hongos y parásitos continúan siendo una gran amenaza para la salud pública (Cos *et al.*, 2006). A pesar de los avances de investigación microbiológica, el incremento de la resistencia microbiana por la presión selectiva que representa la utilización de antibióticos a gran escala, ha permitido el desarrollo de cepas con mecanismos de resistencia que, en muchas ocasiones, nos dejan con pocas alternativas para el tratamiento de las infecciones (Okeke *et al.*, 2005). La investigación de plantas medicinales es considerada como un enfoque viable para descubrir nuevos agentes bioactivos para resolver problemas generalizados de salud pública (Harvey y Edrada-Ebel, 2015).

Históricamente se ha demostrado que los productos de origen vegetal tienen un papel importante en el arsenal terapéutico a nivel internacional (Cañigual *et al.*, 2003). Hoy en día muchos países utilizan plantas para tratar diferentes patologías incluyendo enfermedades infecciosas de las vías respiratorias, gastrointestinales, urinarias y sistemas biliares (Ríos y Recio, 2005).

Por otro lado, actualmente existe una fuerte tendencia a buscar fuentes naturales de antioxidantes disponibles y eficientes para diversas aplicaciones como en las industrias alimentarias, en el área farmacéutica, para tratar enfermedades neurodegenerativas, diabetes, cáncer, trastornos cardiovasculares, procesos inflamatorios e infecciones, y en la cosmética, dirigida al proceso de envejecimiento, entre otras (Sindhi *et al.*, 2013).

Es importante la investigación de productos naturales que a menudo se basa en información etnobotánica y cabe decir que muchos de los fármacos utilizados hoy en día se desarrollaron a partir de plantas medicinales empleadas en las sociedades indígenas. Muchos de estos estudios han sido asociados sobre el uso tradicional de plantas medicinales con análisis fitoquímicos y farmacológicos para el desarrollo de nuevos fármacos (Heinrich, 2010).

La riqueza biológica de México es relevante debido a su diversidad cultural, donde su larga historia se ha traducido en el desarrollo de una vasta tradición etnobotánica, la cual incluye el conocimiento, el uso y el manejo de una gran cantidad de especies vegetales a través de complejas formas de interacción entre las comunidades locales y su entorno vegetal. El territorio mexicano es una región cultural y ecológicamente diversa, siendo una gran cubierta

---

vegetal a nivel de especies (Caballero *et al.*, 1998). El uso de plantas en México ha sido documentado desde tiempos prehispánicos (Viesca *et al.*, 2003). Un inventario actualizado de plantas vasculares nativas de México registra 23,314 especies, distribuidas en 2,854 géneros, 297 familias y 73 órdenes (Villaseñor, 2016). No obstante, queda por explorar el nivel de uso de las plantas medicinales por parte de los profesionales de la salud en México (Alonso-Castro *et al.*, 2017).

Cabe mencionar que en la península de Yucatán para la flora vascular se han registrado 168 familias, 970 géneros y 2,372 especies, de las cuales 99 familias se encuentran exclusivamente en Campeche, Quintana Roo o Yucatán (Duno *et al.*, 2018). Hasta el momento, se han registrado 680 especies de plantas para uso medicinal (Durán-García *et al.*, 2016).

En el presente proyecto de tesis se evaluaron, por medio de ensayos piloto, tres especies vegetales nativas de la península de Yucatán utilizadas en la medicina tradicional maya poco estudiadas: *Cordia dodecandra*, *Melochia nodiflora* y *Ruellia nudiflora*. El estudio se planteó para determinar sus propiedades fitoquímicas y farmacológicas a partir del conocimiento etnobotánico, y se seleccionó la especie vegetal *Cordia dodecandra* A. DC. para llevar a cabo un análisis farmacológico y fitoquímico.

---

---

## CAPÍTULO I

### ANTECEDENTES

#### 1.1. Enfermedades de transmisión alimentaria

Las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) abarcan un amplio espectro de dolencias y constituyen un problema de salud pública creciente en todo el mundo. La manifestación clínica más común de una enfermedad transmitida por los alimentos consiste en la aparición de afecciones gastrointestinales, donde la diarrea es el síntoma agudo más frecuente. Las infecciones diarreicas se presentan cada año en unas 550 millones de personas y provocan 230,000 muertes (OMS, 2017).

Se estima que cada año las enfermedades diarreicas cobran la vida de 2.2 millones de personas, presentándose en personas de 20 a 40 años; los niños y los ancianos son los que suelen sufrir sus efectos fulminantes (OMS, 2017; Hernández *et al.*, 2011).

Las enfermedades transmitidas por los alimentos son generalmente de carácter infeccioso o tóxico y son causadas por bacterias, virus, parásitos o sustancias químicas que penetran en el organismo a través del agua o los alimentos contaminados. En la actualidad es probable que las infecciones bacterianas sean responsables de una proporción cada vez mayor de muertes relacionadas con la diarrea (OMS, 2017).

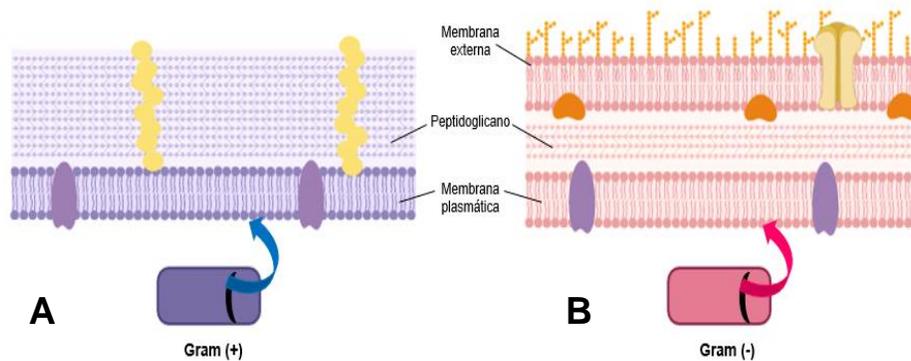
#### 1.2. Bacterias

Las bacterias son microorganismos unicelulares que se reproducen por fisión binaria, la mayoría son de vida libre e integran el reino procariota y presentan tres formas básicas: las bacterias esféricas o cocos, las alargadas o bacilos y las curvadas o espirilos. Se clasifican en bacterias Gram-negativas y Gram-positivas.

1. Gram-positivas: constituidas principalmente por peptidoglicano. Contienen una gran cantidad de ácido teicoico, teniendo la función de estabilizar la pared celular y un rol de virulencia, actuando como antígeno de superficie que se une a receptores específicos en las células del huésped (Figura 1.1).
2. Gram-negativas: poseen tres zonas: la membrana plasmática, el espacio periplásmico, que incluye una fina capa de peptidoglicano, y la membrana externa, exclusiva de las bacterias Gram-negativas. Esta última, es una bicapa lipídica anfipática que sirve de barrera

---

protectora, evitando o disminuyendo la entrada de sales biliares, antibióticos y otras sustancias tóxicas que podrían destruir o lesionar la bacteria (Figura 1.1) (Pérez y Mota, 2010).



**Figura 1.1.** Pared celular bacteriana: **A.** Gram-positiva y **B.** Gram-negativa.

### 1.3. Antibióticos y resistencia bacteriana

Los antibióticos son medicamentos utilizados para prevenir y tratar las infecciones bacterianas (OMS, 2018). Son sustancias antimicrobianas producidas por diversas especies que suprimen el crecimiento de otros microorganismos, difieren en cuanto a sus propiedades físicas, químicas y farmacológicas, su espectro antimicrobiano y su mecanismo de acción (Goodman y Gilman, 2007).

#### 1.3.1. Resistencia bacteriana

La resistencia bacteriana a los antibióticos es la capacidad de una bacteria para sobrevivir en concentraciones de antibiótico que inhiben y matan a otras de la misma especie (Alós, 2015). Hoy es una de las mayores amenazas para la salud mundial, veterinaria, seguridad alimentaria, agricultura y el desarrollo de antibióticos. De acuerdo con un informe de la OMS, la resistencia es más frecuente en casos de infecciones bacterianas que causan la mayoría de las infecciones mortales en todo el mundo, tales como enfermedades del tracto respiratorio, diarrea, meningitis, sífilis, gonorrea y la tuberculosis (OMS, 2018).

Para el año 2050 las muertes relacionadas con la resistencia bacteriana podrían superar las defunciones por cáncer. La OMS estableció una lista de “patógenos prioritarios” resistentes a los antibióticos, en la que se incluyen las 12 familias de bacterias más peligrosas para la salud

humana, elaborada con la finalidad de guiar, promover la investigación y desarrollo de nuevos antibióticos para combatir el creciente problema mundial de la resistencia a los antibióticos (Tabla 1.1) (OMS, 2017).

**Tabla 1.1.** Patógenos prioritarios para la investigación y desarrollo de nuevos antibióticos según la OMS.

<b>Bacteria:</b>	<b>Resistencia a:</b>
<b>Prioridad crítica</b>	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Carbapenémicos
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<i>Klebsiella</i> spp., <i>Escherichia coli</i> , <i>Serratia</i> sp. y <i>Proteus</i> sp. (Enterobacteriaceae)	Carbapenémicos, productoras de $\beta$ -lactamasas de espectro extendido
<b>Prioridad elevada</b>	
<i>Enterococcus faecium</i>	Vancomicina
<i>Staphylococcus aureus</i>	Meticilina (resistencia intermedia) y vancomicina
<i>Helicobacter pylori</i>	Claritromicina
<i>Campylobacter</i> sp.	Fluoroquinolonas
<i>Salmonella</i> sp.	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Cefalosporinas y fluoroquinolonas
<b>Prioridad media</b>	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Penicilina
<i>Haemophilus influenzae</i>	Ampicilina
<i>Shigella</i> sp.	Fluoroquinolonas

#### 1.4. Microorganismos de transmisión alimentaria

##### 1.4.1. *Staphylococcus aureus*

Son estafilococos patógenos, Gram-positivos, agentes causales de la mayoría de las infecciones, causando foliculitis, meningitis, neumonía y gastroenteritis por intoxicación alimentaria; se caracteriza por producir coagulasas, elaborar toxinas citolíticas, enzimas estafilocócicas y sintetizar en su mayoría un pigmento amarillo dorado que colorea las colonias (Pumarola *et al.*, 1987).

---

La patogenia es debida a la acción de antígenos de superficie, fermentos y enterotoxinas. Las enterotoxinas presentan la propiedad de ser resistentes al calor y al jugo gástrico. Se fijan en receptores nerviosos del tubo digestivo, produciendo náuseas, vómitos y diarrea por su acción estimulante del centro del vómito del sistema nervioso central, inhibiendo la absorción del agua y sodio en el intestino delgado (Addis y Sisay, 2015). Para producir cantidades suficientes de enterotoxinas estafilocócicas y causar enfermedad se requiere al menos  $10^5$  UFC (Bathia, 2007).

#### **1.4.2. *Escherichia coli* O157:H7**

Es una enterobacteria Gram-negativa poco exigente y resistente a los agentes externos, fermentadora de una amplia variedad de azúcares, móvil con flagelos peritricos y a menudo fimbriados. El serotipo de *E. coli* O157:H7 o enterohemorrágica se ha presentado en niños, adultos y animales. Produce una citotoxina llamada verotoxina, principal fuente de intoxicación alimentaria por *E. coli* en humanos provocando diarrea sanguinolenta, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (Pumarola *et al.*, 1987).

La verotoxina, homóloga de la toxina tipo shiga producida por *Shigella dysenteriae*, provoca secreción celular destruyendo a las células epiteliales del colon causando acumulación localizada de líquidos y lesiones por desprendimiento en el colon (Addis y Sisay, 2015). Esta bacteria puede crecer a temperaturas que oscilan entre 7 y 50 °C, con temperatura óptima de 37 °C, pudiendo proliferar en alimentos ácidos, hasta a un pH de 4.4 (OMS, 2018). Es altamente virulenta, con una dosis infecciosa baja: una inoculación de 10 a 100 UFC de *E. coli* O157:H7 es suficiente para causar infección, en comparación con la densidad de más de un millón de UFC necesarias para otras cepas patógenas de *E. coli* (Ewen *et al.*, 2010).

#### **1.4.3. *Salmonella* sp.**

Son enterobacterias móviles Gram-negativas que pueden producir gastroenteritis o enterocolitis y fiebre tifoidea. Poseen endotoxinas y toleran ácidos en las vesículas fagocíticas. Con pocas excepciones no fermentan la lactosa (Pumarola *et al.*, 1987).

Presentan fimbrias asociadas con su capacidad de adherencia en las células epiteliales del intestino delgado, y antígenos superficiales O y H relacionados con la virulencia, que le permiten sobrevivir en el interior de los fagocitos y de penetrar e invadir la célula del hospedero. Al llegar las bacterias al intestino, donde se adhieren a las células de la mucosa, penetran e

---

invaden el epitelio donde se multiplican y producen una reacción inflamatoria con pérdida de agua, electrolitos y producción de diarrea (Addis y Sisay, 2015). Los estudios indican una dosis infecciosa alta, mostrando la infección de  $10^6$  a  $10^9$  UFC (Ewen *et al.*, 2010).

#### **1.4.4. *Klebsiella* sp.**

Son enterobacterias inmóviles, Gram-negativas con una capa prominente de polisacáridos. Implicadas en neumonía, infecciones del tracto urinario, meningitis, sepsis (*K. pneumoniae*) e infecciones en tracto digestivo, colitis y faringitis aguda (*K. oxytoca*) (Pumarola *et al.*, 1987).

Desarrollan una cápsula que actúa como factor determinante en la virulencia de la bacteria protegiendo al microorganismo de la fagocitosis por parte de los polimorfonucleares y de los factores bactericidas séricos, inhibiendo la activación del complemento, especialmente del C3b. Los pilis son fundamentales en el proceso infeccioso por la adherencia del agente a las células del hospedero, lo cual conlleva a la proliferación de patógenos potenciales y puede conducir a infecciones (López y Echeverri, 2010).

#### **1.4.5. *Brucella* sp.**

Son pequeños bacilos Gram-negativos inmóviles causantes de brucelosis a consecuencia de zoonosis. Pueden penetrar la piel macerada o mucosa, sobre todo las de tracto digestivo, respiratorio o conjuntival provocando bacteriemia (Pumarola *et al.*, 1987).

Carece de los factores de virulencia clásicos que se han reportado en otros Gram-negativos, tales como: toxinas, pilis o flagelos. A pesar de esto, es una bacteria asombrosamente virulenta, siendo la dosis mínima infectante desde 10 hasta 100 células. Es una bacteria intracelular, capaz de evitar la fusión del fagosoma con los lisosomas, además de soportar el pH ácido del fagosoma permitiendo su supervivencia y la evasión de los diversos mecanismos antimicrobianos que poseen los macrófagos (Guzmán-Hernández *et al.*, 2016).

---

## 1.5. Actividad antioxidante

Un radical libre es aquella especie química que tiene en su estructura uno o más electrones no apareados. Son altamente reactivos y son clave para formar otros radicales libres en cadena, en una rápida propagación con moléculas aledañas y provocando mayor daño potencial, liberándose durante el metabolismo humano; y también se producen por contaminantes ambientales, radiaciones, consumo de drogas tóxicas, alimentación inadecuada y estrés (Núñez-Sellés, 2011). Estos compuestos inducen daño oxidativo a las biomoléculas, pudiendo causar muchas enfermedades, como la aterosclerosis, el envejecimiento, el cáncer, la diabetes mellitus, inflamación y enfermedades autoinmunes (Tlili *et al.*, 2013).

Las Especies Reactivas de Oxígeno (ERO) incluyen a los radicales libres (RL) y a moléculas derivadas del oxígeno de interés biológico con una elevada reactividad, capaces de producir radicales libres en el organismo humano (Núñez-Sellés, 2011). En plantas, existen estudios que muestran que la fotosíntesis es la fuente de ERO (Foyer y Shigeoka, 2011). Sin embargo, las plantas tienen sistemas de defensa contra las ERO por lo que su formación y su eliminación está en equilibrio (Pandhair y Sekhon, 2006).

Por otra parte, un antioxidante es una sustancia que forma parte de plantas o alimentos y teniendo la capacidad de prevenir los efectos adversos de especies reactivas sobre las funciones fisiológicas normales de los humanos, posee la capacidad de donar electrones neutralizando radicales libres (Coronado *et al.*, 2015). Los antioxidantes se derivan principalmente de alimentos y plantas medicinales, como frutas, verduras, cereales, champiñones, bebidas, flores y hierbas medicinales tradicionales (Xu *et al.*, 2017).

Los compuestos antioxidantes exhiben propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas, antimicrobianas, antimutagénicas y antialérgicas (Shebis *et al.*, 2013). Las plantas contienen una gran variedad de moléculas defensoras eliminadores de radicales libres, como flavonoides, antocianinas, taninos, lignanos, carotenoides, glutatión y vitaminas (Chiang *et al.*, 2013; Agati *et al.*, 2012; DellaPenna y Pogson, 2006).

Para evaluar las capacidades antioxidantes de los extractos de productos naturales, se han desarrollado diferentes ensayos de evaluación con diferentes mecanismos de acción (Sun *et al.*, 2017), por ejemplo, los ensayos basados en la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT-transfer, por sus siglas en inglés) que miden la capacidad de un antioxidante para extinguir los radicales libres mediante la donación de átomos de hidrógeno como el ensayo de capacidad de

---

oxígeno de absorbancia de radicales (ORAC, por sus siglas en inglés) que mide la capacidad antioxidante que rompe la cadena radical al monitorear la inhibición de la oxidación por el radical peróxido (Cao *et al.*, 1993).

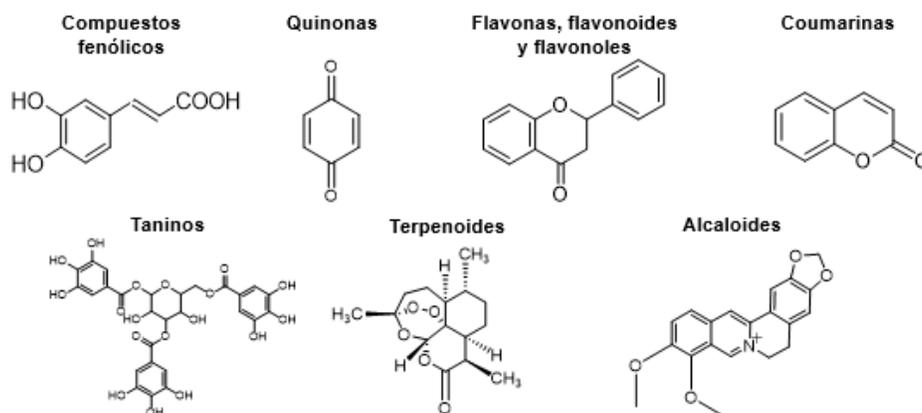
Los ensayos en la transferencia de un solo electrón (ET-transfer, por sus siglas en inglés) detectan la capacidad de un antioxidante para transferir un electrón para reducir iones metálicos, carbonilos y radicales. Ejemplos son los ensayos de Folin-Ciocalteu, el cual está basado en la oxidación de compuestos fenólicos en una disolución alcalina (Singleton y Rossi, 1965); el ensayo de poder antioxidante de reducción férrica (FRAP), basado en la reducción de  $Fe^{+3}$  a  $Fe^{+2}$  por antioxidantes en presencia de un ligando formando un complejo colorimétrico de  $Fe^{+2}$  (Benzie *et al.*, 1996); y los ensayos combinados (HAT-ET) como el ensayo del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y el radical ácido 2,2-azino bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS), ambos basados en la reducción de absorbancias por transferencia de átomos de hidrógeno o de electrones, generando un cambio específico en la coloración de la disolución (Re *et al.*, 1998; Brand-Williams *et al.*, 1994; Blois, 1958).

## **1.6. Uso de plantas medicinales**

Como expresa la Organización Mundial de la Salud (OMS), se entiende como medicina tradicional o popular al conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, sean o no explicables, usados para el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales (OMS, 2018).

Las plantas medicinales tradicionales pueden considerarse una parte importante de la etnofarmacología, que involucra el estudio científico de los materiales utilizados por los grupos étnicos y culturales como "medicina"; es sinónimo de estudio de las medicinas tradicionales (Evans y Trease, 2009). Las plantas medicinales se han convertido en el foco de inspiración de muchos estudios farmacológicos que buscan probar sus usos tradicionales (Maroyi, 2013).

Los principales grupos de compuestos que son responsables de la actividad antimicrobiana de las plantas incluyen los fenoles, ácidos fenólicos, quinonas, saponinas, flavonoides, taninos, coumarinas, terpenoides y alcaloides (Figura 1.2) que son sintetizados y depositados en partes específicas o en toda la planta (Ciocan y Bara, 2007).

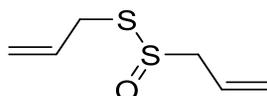


**Figura 1.2.** Principales clases de compuestos bioactivos en plantas.

Muchos medicamentos actualmente comerciales en la medicina moderna se usaron inicialmente en forma cruda en las prácticas de curación tradicionales o populares, que sugerían una actividad biológica potencialmente útil (Ciocan y Bara, 2007). Aunque la mayoría de los antibióticos utilizados clínicamente son producidos por microorganismos del suelo u hongos, las plantas también han sido empleadas como fuente de antibióticos (Evans y Trease, 2009).

Ejemplos de antimicrobianos obtenidos de plantas son el ácido sórbico producido por *Sorbus aucuparia* L., que antagoniza el desarrollo de hongos; berberina por *Berberis vulgaris* L., que afecta a diversos gérmenes como bacterias, hongos y protozoarios causantes de cólera y leishmaniasis cutánea; timol por *Thymus vulgaris* L., bactericida y fungicida; umbeliferona por *Hieracium pilosella* L., que es efectiva contra la brucelosis (Lazo, 1991).

La planta cuya acción antimicrobiana se conoce desde hace más tiempo es *Allium sativum* (ajo); utilizada durante la edad media para el tratamiento y prevención de la peste bubónica. También hay comunicaciones de médicos que acreditan la acción de *A. sativum* en la tuberculosis pulmonar, entre otras patologías (Bolton *et al.*, 1982). Su acción antibacteriana y antimicótica se debe especialmente a la alicina (Figura 1.3), compuesto sulfurado de un aroma muy penetrante (Lazo, 1991). No obstante, se han hecho muchos esfuerzos para descubrir nuevos compuestos antimicrobianos de diversos tipos de plantas (Chandra *et al.*, 2017).



**Figura 1.3.** Estructura de alicina, compuesto aislado de *A. sativum*.

---

## 1.7. Plantas medicinales candidatas para evaluación antibacteriana y capacidad antioxidante

A continuación, se describen las especies *Cordia dodecandra* A. DC., *Melochia nodiflora* Sw. y *Ruellia nudiflora* (Engelm y A. Gray) Urb. que fueron seleccionadas por sus descripciones etnobotánicas y porque no poseen o hay muy pocos estudios fitoquímicos y/o farmacológicos. Entre éstas, se seleccionó una para el aislamiento, elucidación estructural y evaluación biológica de sus metabolitos secundarios.

### 1.7.1. *Cordia dodecandra* A. DC.

*Cordia* es un género de árboles o arbustos con flores y de hoja caduca perteneciente a la familia Boraginaceae. El nombre *Cordia* fue otorgado al género en honor a Valerius Cordus, un botánico y farmacéutico alemán (Oza y Kulkarni, 2017). En la medicina popular, existen informes publicados de las especies del género *Cordia* que describen sus diversas actividades a través de una amplia variedad de métodos: actividad antimicrobiana, modificador de antibióticos, antiinflamatoria, antifertilidad, contra la toxicidad, mordeduras de serpientes, hipolipidémica, inmunomoduladora, insecticida y antioxidante (Ferreira Matias *et al.*, 2015).

Es necesario resaltar que algunas especies del género *Cordia* poseen una rica fuente de fitoconstituyentes. Los principales metabolitos secundarios aislados del género incluyen quinonas, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos de tipo oleanano, lupano y dammarano, esteroides, saponinas, flavonoides, lignanos y neolignanos, fenilpropanoides, polisacáridos y ácidos grasos (Oza y Kulkarni, 2017). Algunos extractos orgánicos y compuestos aislados con actividad biológica pertenecientes al género *Cordia* se describen más a detalle en las Tablas A1 y A2 (Anexos). La especie de *Cordia* que se seleccionó para el presente estudio es *Cordia dodecandra*.

### ***Cordia dodecandra* A. DC.**

**Reino:** Plantae

**Orden:** Lamiales

**Familia:** Boraginaceae

**Género:** *Cordia*

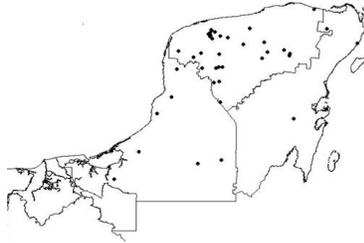
**Especie:** *Cordia dodecandra* A. DC.

**Sinónimos:** *Cordia heccaidecandra* Loesener, *Cordia dodecandra* Sessé y Moc.

---

**Nombres comunes:** siricote, ciricote, cómpite (español); *chak k'oopte'*, *k'an k'oppte'* (maya).

**Distribución:** Especie endémica de la península de Yucatán, incluyendo el norte de Belice y Guatemala. Se puede encontrar en diferentes tipos de vegetación, pero frecuentemente está asociada a pueblos y ciudades. Se cultiva en el sureste de México, Centroamérica y Cuba (Figura 1.4).



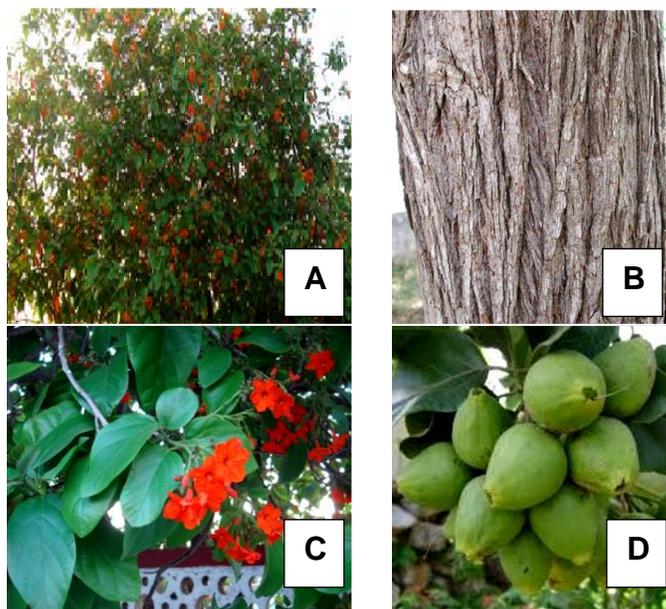
**Figura 1.4.** Distribución de *C. dodecandra* en la península de Yucatán.

[https://www.cicy.mx/sitios/flora%20digital/ficha\\_virtual.php?especie=1068](https://www.cicy.mx/sitios/flora%20digital/ficha_virtual.php?especie=1068)

## Información etnobotánica

### Descripción botánica

Árbol de 8 a 20 m de altura, usualmente de tronco corto y copa amplia, ramas gruesas, hispidulosas y café-tomentosas. Hojas oblongas suborbiculares, de 6 a 15 cm de largo y de 4 a 8 cm de ancho, redondeadas, obtusas en el ápice y en la base, margen entero o algo sinuado, escabrosas en haz y el envés (Figura 1.5, A y B). Inflorescencia cimosa con pocas flores, bastantes compactas: cáliz de 1 a 1.3 cm de largo, tomentosos cerca del ápice y los lóbulos; corola funeliforme de color naranja brillante de 3 a 5 cm de largo. Limbo estriado tomentoso a lo largo de las líneas y en los márgenes de los lóbulos, el limbo de 2.5 a 3.2 de ancho y de 12 a 16 lóbulos; filamentosos insertados de manera desigual en el tubo ovárico ovoide, asentado en un gran estilo alargado (Figura 1.5, C). El fruto es de color amarillo y al madurar tiene forma ovoide-oblonga, aguda en el ápice, de 2 cm de largo, comestible (Figura 1.5, D).



**Figura 1.5.** Árbol de ciricote (*Cordia. dodecandra*). **A.** Árbol y hojas, **B.** Tronco, **C.** Flor, **D.** Fruto.

### **Usos medicinales**

Con las flores se prepara una infusión que se endulza con miel y posteriormente se bebe caliente para combatir la tos. Para el asma y la bronquitis se utilizan 50 frutos maduros, los cuales se hierven con agua y miel dos días seguidos, los niños pueden comer hasta dos frutos al día y los adultos hasta diez. Las flores en infusión se utilizan para los hongos epidérmicos, lavándose durante varios días la parte afectada (Méndez-González *et al.*, 2012).

### **Usos registrados en la literatura**

Se ha reportado su uso para problemas estomacales como la diarrea y la disentería, empleándose la corteza en decocción, administrada oralmente. Para el tratamiento de afecciones respiratorias como la tos se bebe un jarabe elaborado con la corteza y madera como antitusivo, además se ha registrado su uso para el tratamiento de escalofríos. La corteza de esta planta en decocción se usa para aliviar la fiebre, la bronquitis y el asma, administrándose oralmente (Méndez-González *et al.*, 2012).

---

### 1.7.2. *Melochia nodiflora* Sw.

*Melochia* es un género de arbustos o hierbas con hojas simples y flores hermafroditas, con semillas negras y con fruto variable que pertenece a la familia Malvaceae (Sterculiaceae), representado por aproximadamente unas 68 especies (Baudillo-Rondón, 2007).

Hay estudios con actividades tales como antimicrobianas, antiinflamatorias, antioxidantes y citotóxicas. Los estudios fitoquímicos han resultado en el aislamiento de compuestos que consisten en varias clases que incluyen alcaloides, fenilpropanoides y compuestos diversos (Muqarrabun y Ahmat, 2015). La especie de *Melochia* que se seleccionó para el presente estudio es *Melochia nodiflora*.

#### ***Melochia nodiflora* Sw.**

**Reino:** Plantae

**Orden:** Malvales

**Familia:** Malvaceae (Sterculiaceae)

**Género:** *Melochia*

**Especie:** *Melochia nodiflora* Sw.

**Sinónimos:** No Aplica (NA)

**Nombres comunes:** Malva colorada (Cuba), *kabal pixoy*, *kabal chak pixoy* (maya).

**Distribución:** Especie endémica de la península de Yucatán poco distribuida. En México y Sudamérica se distribuye en las zonas de baja altitud.

#### **Información etnobotánica**

##### **Descripción botánica**

Hierba subfruticosa de 0.5 a 1.5 m de alto. Tallo glabrescente hasta pubescente con tricomas simples. Hojas membranosas; ovado-lanceoladas, tomentosas. Flores de 5 a 6.2 mm de largo, cinco pétalos de 4.9 a 5.5 mm de largo, rosados-carmín separados entre sí (Figura 1.6). El fruto es una cápsula de 5 a 6 mm de largo. Semillas pardas de 1.5 a 1.8 mm de largo, trígonas, una por celda (Baudillo-Rondón, 2007).



**Figura 1.6.** Hoja de *Melochia nodiflora* Swartz.

### **Usos medicinales**

Las hojas, la corteza y la raíz se emplean vía oral en niños que padecen falta de apetito, para el dolor de cabeza y calentura. Se usa contra la diarrea, disentería e inflamación abdominal, ya sea de forma individual o con la combinación de las partes vegetales (Cetina-Chan *et al.*, 2015).

### **Usos registrados en la literatura**

Sus hojas se han empleado como medicina para curar la diarrea (Cetina-Chan *et al.*, 2015).

#### **1.7.3. *Ruellia nudiflora* (Engelm y A. Gray) Urb.**

El género *Ruellia* comprende alrededor de 150 especies nativas del tropical y templado América del Norte y del Sur, perteneciente a la familia Acanthaceae. Se ha utilizado en la medicina tradicional para tratar varias enfermedades, especialmente dolencias gastrointestinales (Muthumani *et al.*, 2009). Los constituyentes químicos incluyen flavonoides, lignanos, coumarinas, alcaloides, triterpenos, esteroides, glucósidos fenólicos, fenil etanoides, glucósidos benzoxazinoides y otros (Samy *et al.*, 2013; 2011). La especie de *Ruellia* que se seleccionó para el presente trabajo es *Ruellia nudiflora*.

---

***Ruellia nudiflora* (Engelm y A. Gray) Urb.**

**Reino:** Plantae

**Orden:** Lamiales

**Familia:** Acanthaceae

**Género:** *Ruellia*

**Especie:** *Ruellia nudiflora* (Engelm y A. Gray) Urb.

**Sinónimos:** *Ruellia yucatanana* (Leonard) Tharp y F.A Barkley, *Ruellia nudiflora* var. *yucatanana* Leonard.

**Nombres comunes:** Maravilla de monte, verraco *xiiw*, cruz *xiiw* (español-maya), *che'su'uk*, *kabal xa'an*, *kabal ya'ax niik*, *pajkanul*, *xana mukuy* (maya).

**Distribución:** Ampliamente distribuida en el área, principalmente en lugares con un cierto grado de perturbación. A nivel global, se distribuye desde el sur de Estados Unidos a través de una gran parte de México hasta Centroamérica y las Antillas.

**Información etnobotánica**

**Descripción botánica**

Hierba perenne, erecta, de hasta 45 cm de alto. Hojas elípticas a obovadas, de hasta 12 cm de largo y hasta 7 cm de ancho. Flores subsésiles o con pedicelos de hasta 18 mm de largo, estambres incluidos sobresaliendo de la boca de la corola. El fruto es una cápsula, de hasta 2 cm de largo. Semillas de 3 mm de largo (Figura 1.7).



**Figura 1.7.** Hierba de *Ruellia nudiflora* (Engelm y A. Gray) Urb.

---

## Usos medicinales

Las hojas son hervidas en agua ingiriéndose la infusión contra la diarrea, vómito y falta de apetito en los niños. Para espasmos estomacales se hierve un trozo de raíz, previamente lavada y cortada, posteriormente se deja enfriar, se cuele y se administra oralmente un vaso, tres veces durante un solo día (Méndez-González *et al.*, 2012).

## Usos registrados en la literatura

Esta planta se emplea en problemas de tipo gastrointestinal, como vómito, diarrea y dolor de estómago. Para este último padecimiento se prepara una cocción de toda la planta que se bebe fría en ayunas durante tres días (Méndez-González *et al.*, 2012).

Con base en todo lo anterior, un elemento central de esta investigación es la evaluación de las tres especies: *C. dodecandra*, *M. nodiflora* y *R. nudiflora*. Cada una se sometió a ensayos preliminares de actividad antibacteriana y capacidad antioxidante, siendo la mejor candidata para ser sometida a estudios fitoquímicos y farmacológicos posteriores, aquella que tenga mayor actividad biológica.

### 1.8. Técnicas cromatográficas

La cromatografía es un método de separación de mezclas que consiste en una fase estacionaria y una fase móvil, la primera fase se refiere a un sólido o un líquido adherido sobre un sólido y la segunda fase puede ser un líquido o un gas el cual se hará pasar a través de la fase estacionaria (Coskun, 2016). Algunos ejemplos se describen a continuación:

Cromatografía líquida al vacío (CLV): En este tipo de cromatografía se utiliza una presión de vacío de 20-70 mm de Hg para hacer pasar la fase móvil a través de la fase estacionaria (Maurva *et al.*, 2018).

Cromatografía en columna por gravedad (CCG): La fase estacionaria se encuentra dentro de un tubo de vidrio y la fase móvil fluirá a través de la columna cromatográfica por acción de la gravedad, de esta forma los metabolitos eluyen de la columna por afinidad con el disolvente (Coskun, 2016).

---

Cromatografía por exclusión molecular (CEM): El principio es la separación por tamaño molecular, de tal forma que los metabolitos de mayor tamaño eluyen primero de la columna y los de menor tamaño después (SECyTA, 2014). Es común usar Sephadex LH-20, el cual es un polímero de dextrano, diseñado específicamente para la separación de productos naturales (GE Healthcare, 2014).

Cromatografía en capa delgada (CCD): En este tipo de cromatografía la fase estacionaria se encuentra adherida a un soporte que puede ser aluminio o vidrio, la cual se coloca en una cámara saturada de la fase móvil, eluyendo los metabolitos por capilaridad (Coskun, 2016; SECyTA, 2014).

### **1.9. Técnicas espectroscópicas**

Las técnicas de espectroscopía se utilizan en la elucidación o identificación de los metabolitos (Ringuelet y Viña, 2013), las cuales se basan en la interacción energía-materia, basándose en la absorción de la radiación electromagnética por parte de la molécula, provocando en la misma ciertos fenómenos que nos proporcionará información sobre la molécula (Silverstein *et al.*, 2005). Las técnicas espectroscópicas utilizadas son la espectroscopía de ultravioleta (UV), la espectroscopía de infrarrojo (IR), la resonancia magnética nuclear (RMN) y la espectrometría de masas (EM) (Ringuelet y Viña, 2013; Silverstein *et al.*, 2005).

En la espectroscopía de UV se utiliza la región ultravioleta del espectro electromagnético, dando a la molécula la energía necesaria para provocar transiciones electrónicas, obteniendo información sobre si existen grupos insaturados y/o heteroatómicos presentes en la molécula (Durst y Gokel, 2007).

En la espectroscopía de IR se utiliza la región infrarroja del espectro electromagnético, empleando una radiación de  $10,000-100\text{ cm}^{-1}$  (Silverstein *et al.*, 2005), proporcionando a la molécula la energía necesaria para provocar vibraciones moleculares, obteniendo información sobre los grupos funcionales presentes en la molécula (Barth, 2007; Silverstein *et al.*, 2005; Pasquini, 2003).

La espectrometría de masas esta basada en la obtención de iones en fase gaseosa o especies desorbidas de fases sólidas, luego estos iones se separan en función de su relación masa-carga ( $m/z$ ) y posteriormente son detectados y registrados, lo que nos proporcionará

---

información sobre la masa molecular y estructura química de la molécula a identificar (Silverstein *et al.*, 2005).

En la espectroscopía de RMN se utiliza la región de radiofrecuencias del espectro electromagnético, proporcionando a la molécula la energía necesaria para provocar transiciones de spin nuclear y electrónico, obteniendo información sobre el tipo, número y entorno químico del núcleo atómico. Los espectros de RMN más comunes son de protón y carbono, pues las moléculas orgánicas están conformadas principalmente de este tipo de núcleos atómicos (Bothwell y Griffin, 2011; Silverstein *et al.*, 2005).

---

## JUSTIFICACIÓN

Debido a la notable resistencia que manifiestan las bacterias y al surgimiento de cepas multirresistentes a los fármacos de última generación, se hace hincapié en la bioprospección de nuevas moléculas para el tratamiento de las enfermedades que estos microorganismos ocasionan. Una alternativa viable es el conocimiento de la medicina tradicional que, a través del uso ancestral de plantas medicinales, ha demostrado que constituye una fuente con un amplio armamento de compuestos activos responsables de aliviar o curar diversas afecciones. Por otra parte, la actividad antioxidante podría relacionarse con dicha actividad biológica, gracias a que los constituyentes involucrados pueden interferir con reacciones del metabolismo de los microorganismos, causando su inestabilidad y muerte.

La corteza de *C. dodecandra*, las hojas de *M. nodiflora* y la planta entera de *R. nudiflora*, son utilizadas en la medicina tradicional maya para el tratamiento de infecciones gastrointestinales y respiratorias. En la actualidad, dichas plantas poseen escasos estudios fitoquímicos y biológicos, lo cual abre posibilidades de investigación para encontrar nuevos componentes naturales que validen su uso tradicional. Nuestros estudios preliminares en *C. dodecandra* demostraron que esta planta presenta buena actividad antibacteriana y antioxidante en comparación con las otras dos especies. También en este trabajo se presenta un estudio sobre el aislamiento de *C. dodecandra* de un metabolito secundario y su actividad antioxidante.

---

## HIPÓTESIS

La actividad biológica que presenta la corteza de *Cordia dodecandra*, la hoja de *Melochia nodiflora* y la planta entera de *Ruellia nudiflora*, empleadas en la medicina tradicional maya para el tratamiento de infecciones gastrointestinales, se atribuye a la presencia de metabolitos secundarios con actividad antibacteriana y antioxidante.

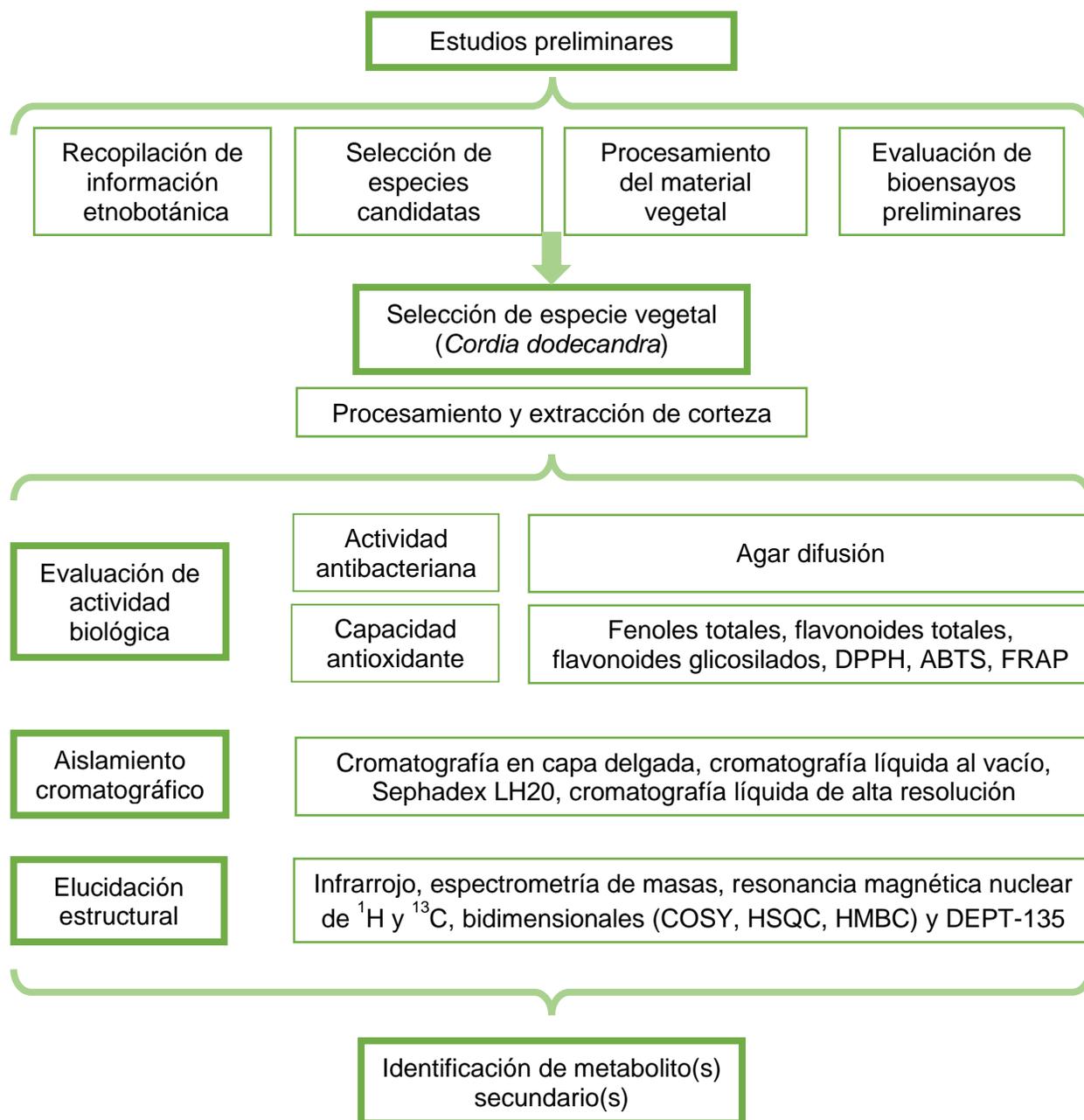
## OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antibacteriana y antioxidante de las plantas *Cordia dodecandra*, *Melochia nodiflora* y *Ruellia nudiflora* y aislar y elucidar estructuralmente los metabolitos secundarios de la planta con mayor actividad biológica.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Recopilar y seleccionar plantas medicinales con base en la medicina tradicional maya.
2. Evaluar la actividad biológica de los extractos orgánicos de la corteza de *C. dodecandra*, la hoja de *M. nodiflora* y la planta entera de *R. nudiflora* y seleccionar la planta con mayor actividad biológica.
3. Determinar la actividad antibacteriana del extracto de la planta seleccionada contra bacterias patógenas del ser humano mediante ensayos *in vitro* (agar difusión).
4. Cuantificar y determinar la capacidad antioxidante del extracto de la planta seleccionada mediante ensayos *in vitro* (fenoles totales, flavonoides totales, flavonoides glicosilados totales, ABTS, DPPH, FRAP y bioautografía).
5. Aislar metabolito(s) secundario(s) de la planta seleccionada mediante diversas técnicas cromatográficas (CCD, CLV, Sephadex LH-20 y CLAR).
6. Elucidar e identificar las estructuras químicas de los metabolitos secundarios mediante métodos espectroscópicos y espectrométricos (UV, IR, CG-EM, <sup>1</sup>H-RMN, <sup>13</sup>C-RMN, COSY, HSQC, HMBC, DEPT-135).

## ESTRATEGIA EXPERIMENTAL



---

---

## CAPÍTULO II

### ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE PLANTAS MEDICINALES

#### 2.1. INTRODUCCIÓN

Las plantas como medicina tradicional se han utilizado desde hace miles de años atrás ya que poseen una rica fuente de ingredientes fitoquímicos, algunos de los cuales tienen alto valor medicinal y son potencialmente útiles para el desarrollo de nuevos fármacos para el cuidado de la salud (Shakya, 2016).

El uso de fuentes etnobotánicas es importante como punto de partida para el desarrollo de nuevas drogas vegetales. Este enfoque se basa en que teniendo un conocimiento empírico de las plantas medicinales con uso tradicional hace que sean más seguras para uso humano que las plantas sin antecedentes. Otra ventaja del punto de partida de una especie candidata es la promesa de entregar el compuesto aislado original o para el desarrollo de una molécula semisintética para superar cualquier limitación de la molécula original (Katiyar *et al.*, 2012).

Con base en lo anterior, se puede establecer que la información etnobotánica es una herramienta útil para la selección de plantas candidatas a estudiar. En este capítulo, se describe la actividad antimicrobiana de las plantas candidatas *Cordia dodecandra*, *Melochia nodiflora* y *Ruellia nudiflora* por el método de agar difusión contra distintas bacterias patógenas del ser humano, donde la especie biológicamente más activa se seleccionará para futuros estudios fitoquímicos y biológicos.

#### 2.2. MATERIALES Y MÉTODOS

##### 2.2.1. Elección de plantas

Las especies vegetales se eligieron de acuerdo con las siguientes pautas (Tabla 2.1):

1. Que sean nativas de la península de Yucatán.
2. Que sean empleadas en la medicina tradicional maya.
3. Que no presenten amenaza con base en su población vegetal.

4. Por su amplia distribución geográfica.
5. Por su accesibilidad y facilidad al momento de recolección.
6. Sin o con pocos estudios previos, pero que, al mismo tiempo, pertenezcan a familias con antecedentes respecto a su actividad biológica y composición química.

**Tabla 2.1.** Especies vegetales medicinales que se eligieron y se colectaron para su evaluación.

Nombre científico	Nombre común	Familia	Partes que serán evaluadas
<i>Cordia dodecandra</i> A. DC.	Ciricote	Boraginaceae	Corteza, flor y hoja
<i>Melochia nodiflora</i> Sw.	Malva colorada	Malvaceae	Hoja y semilla
<i>Ruellia nudiflora</i> (Engelm and A. Gray) Urb.	Maravilla de monte	Acanthaceae	Planta entera

### 2.2.2. Colecta

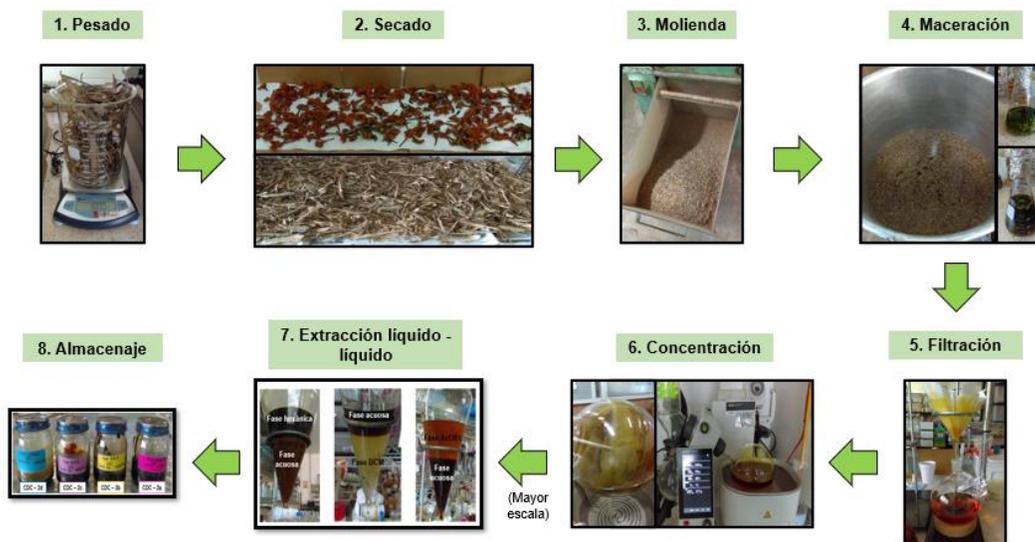
Para el escrutinio, se colectaron distintos ejemplares de corteza, flor y hoja de *C. dodecandra*, hoja y semilla de *M. nodiflora* y planta entera de *R. nudiflora* en marzo de 2019 en Mérida, Yucatán, México (20°58'04" N; 89°37'18" O). Mientras que la colecta a mayor escala de corteza de *C. dodecandra* se realizó en agosto de 2019 en el pueblo de Tahmek, Yucatán, México (22°52'22.8" N; 89°14'36.2" W). Se usaron referencias del Herbario CICY *U Najil Tikin Xiw* de la Unidad de Recursos Naturales del CICY para su identificación. En el herbario, se resguardó un ejemplar de *C. dodecandra* con el número de colecta Carlos Eduardo Castillo García y P. Simá 01 (Número de catálogo: 71008).

### 2.2.3. Procesamiento y extracción del material vegetal

Cada una de las partes vegetales se secaron a temperatura ambiente (25 °C) por cinco días bajo la sombra con movimiento ocasional, después se llevó a secado a 40 °C durante un día para la eliminación total de agua en una cámara de secado. Posteriormente, el material se trituró con ayuda de un molino de cuchillas industrial (marca Pagani, modelo 1520) con malla metálica de 2 mm de diámetro

hasta obtener 100 g de un polvo fino. Se extrajo el material molido con 500-1,000 mL de metanol (MeOH, grado analítico) por maceración dinámica con agitación ocasional por 48 h a 25 °C; el MeOH con el material extraído se filtró con papel poroso (150 mm, Whatman) para eliminar sólidos. Por último, el MeOH se eliminó con un evaporador rotatorio a presión reducida (100 a 250 mbar, 40 °C, Büchi 461) hasta obtener los extractos metanólicos. Por último, los extractos se almacenaron en frascos de vidrio y se pesaron para la obtención del rendimiento.

En el caso de la corteza a mayor escala de *C. dodecandra* (3.1037 Kg, peso seco), se usaron las mismas condiciones de secado, triturado y filtrado, con excepción de su extracción, en la cual se emplearon 20 L de MeOH. El extracto se concentró en un evaporador rotatorio industrial (150 a 210 mbar, 40 °C, Büchi R-220 SE), obteniéndose 116.4 g de extracto crudo metanólico. Posteriormente, se realizó una extracción líquido-líquido, empleándose 114.6 g, los cuales se disolvieron en 150 mL de MeOH más 450 mL de agua destilada (proporción 1:3) para obtener con ayuda de un sonicador (marca Ultrasonic Cleaner, Branson 5800, 2.5 gallon, 40 KHz) por 5 min para su completa disolución. Una vez obtenida la suspensión se realizó una partición cromatográfica líquido-líquido en un embudo de separación de 4 L utilizando disolventes orgánicos de polaridad ascendente (hexano, diclorometano y acetato de etilo). La separación se realizó por triplicado con cada disolvente, obteniéndose al final las correspondientes fracciones (Figura 2.1). Posteriormente, cada extracto y fracción se evaluó para determinar su actividad antibacteriana y, en su caso, actividad antioxidante.



**Figura 2.1.** Procesamiento y extracción del material vegetal de *Cordia dodecandra*, *Melochia nodiflora* y *Ruellia nudiflora*.

---

#### 2.2.4. Evaluación de actividad antibacteriana

Para la evaluación de la actividad biológica, se emplearon microorganismos patógenos del humano aislados de alimentos y caracterizados molecularmente, los cuales fueron proporcionados por el cepario de la Universidad Marista de Mérida: *Brucella* sp., *Escherichia coli* O157:H7, *Klebsiella* sp., *Proteus* sp., *Proteus mirabilis*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactie* y *Streptococcus pyogenes*. Estos microorganismos se encontraban en viales criopreservados en dimetilsulfóxido al 10% y almacenados a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Para el crecimiento y desarrollo de los microorganismos se utilizaron cajas Petri conteniendo agares no selectivos como el agar soya tripticasa (TSA). Los microorganismos se sembraron con la técnica de estriado en placa, y se dejaron incubar por un día a una temperatura de  $37 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ . A las 24 h, se tomaron varias colonias bacterianas puras y se transfirieron a un caldo nutritivo en constante agitación. Todo el material se esterilizó y el ensayo se realizó en una campana de extracción de flujo laminar clase II la cual se esterilizó previamente bajo luz UV.

A partir de un cultivo bacteriano, se tomó un inóculo que se suspendió en agua de peptona para la determinación turbidimétrica de la concentración de bacterias, empleándose el nefelómetro de McFarland a 625 nm (DR 2700, HACH, Colorado, EUA) con una densidad óptica (OD). La concentración de la bacteria se ajustó entre 0.08 a 0.10 nm para obtener una concentración aproximada de  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL. Como blanco se usó peptona estéril.

Los bioensayos de agar difusión se llevaron a cabo realizando una siembra de hisopado con la bacteria de interés sobre agar Müller-Hinton. Posteriormente, se colocaron discos de papel filtro de 6 mm de diámetro sobre el medio Müller-Hinton, donde cada disco se impregnó con 30  $\mu\text{L}$  de una disolución conteniendo 5 mg de los extractos crudos previamente disueltos en MeOH. Se usaron discos de ampicilina (30  $\mu\text{g}$ ) como control positivo y papel filtro impregnado con 30  $\mu\text{L}$  de MeOH como control negativo. Para las fracciones de los extractos, cada disco se impregnó con 5, 10 y 15 mg por cada muestra y como control positivo se usaron discos de ampicilina (30  $\mu\text{g}$ ) y trimetoprima con sulfametoxazol (25  $\mu\text{g}$ ). Las evaluaciones se hicieron por triplicado. Las placas se incubaron por 24 h a una temperatura de  $37 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Transcurridas 24 h, se analizaron los resultados de inhibición de crecimiento bacteriano utilizando un vernier para la medición del diámetro en milímetros (mm) de los halos de inhibición bacteriana. Cada halo se midió desde el borde del disco hasta el borde del crecimiento bacteriano. El procedimiento del bioensayo por agar difusión se presenta en la Figura 2.2.

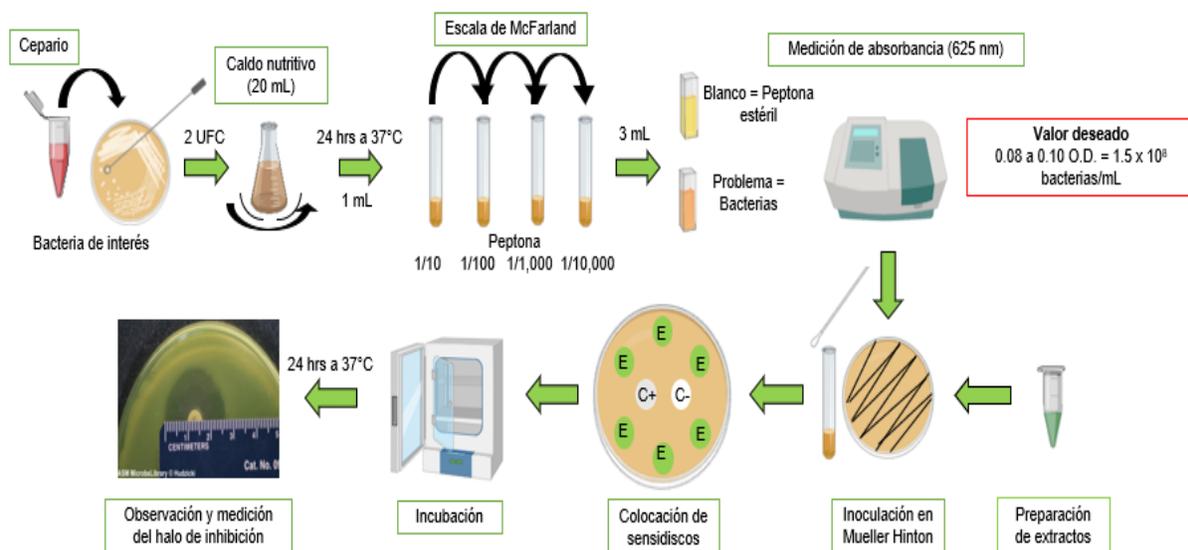


Figura 2.2. Diagrama de flujo de bioensayo por agar difusión.

## 2.3. RESULTADOS

### 2.3.1. Rendimiento de plantas medicinales

El rendimiento de las plantas se determinó a partir del material seco de los extractos orgánicos (escala pequeña: 100 g cada uno, escala grande: 3.1037 Kg, corteza; Tabla 2.2).

Tabla 2.2. Rendimiento de extractos orgánicos de plantas medicinales.

Nombre científico	Parte vegetal	Extracto obtenido (g)	Rendimiento (%)
<i>Cordia dodecandra</i>	Hoja (CDH)	9.16	9.16
	Flor fresca (CDF)	3.27	3.27
	Flor seca (CDS)	3.17	3.17
	Corteza (CDC)	5.63	5.63
116.40*		3.75*	
<i>Melochia nodiflora</i>	Hoja (MNH)	10.54	10.54
	Semilla (MNS)	4.88	4.88
<i>Ruellia nudiflora</i>	Planta entera (RNP)	8.79	8.79

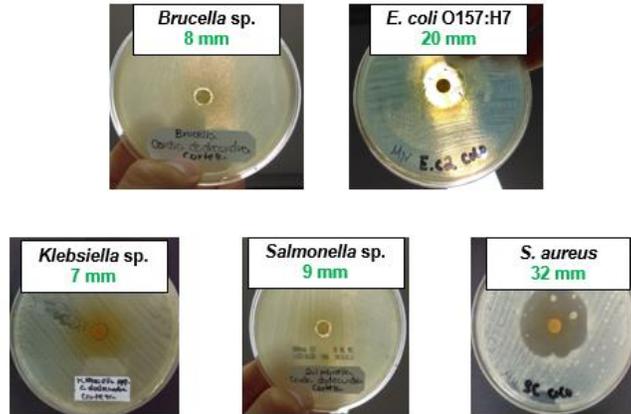
\*A partir de 3.1037 Kg de corteza.

---

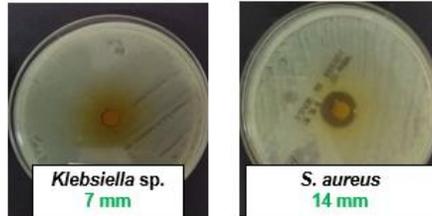
### 2.3.2. Evaluación de actividad antibacteriana

Cada extracto y fracción se evaluó con la técnica cualitativa de difusión en agar, con cada una de las bacterias patógenas antes mencionadas. El tamaño de los halos de inhibición obtenido de los bioensayos se presenta en las Figuras 2.3 y 2.4.

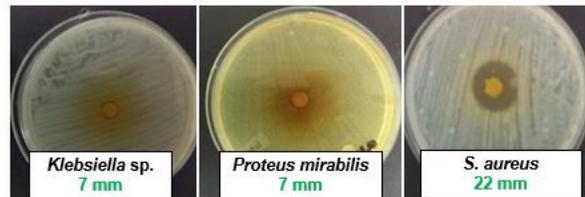
#### Corteza de *Cordia dodecandra*



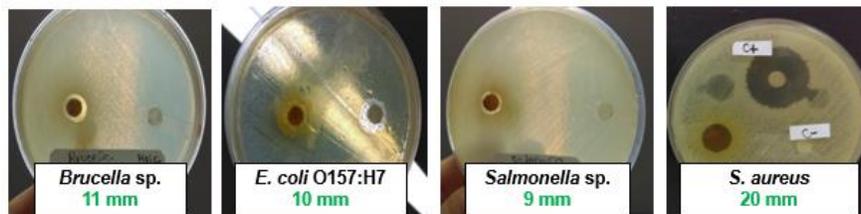
#### Flor fresca *Cordia dodecandra*



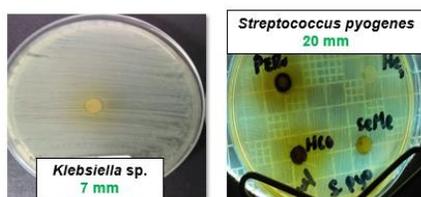
#### Flor seca de *Cordia dodecandra*



#### Hoja de *Melochia nodiflora*



Planta entera de *Ruellia nudiflora*



**Figura 2.3.** Evaluación de inhibición de crecimiento bacteriano por el método de agar difusión, empleando extractos metanólicos de *Cordia dodecandra*, *Melochia nodiflora* y *Ruellia nudiflora*.

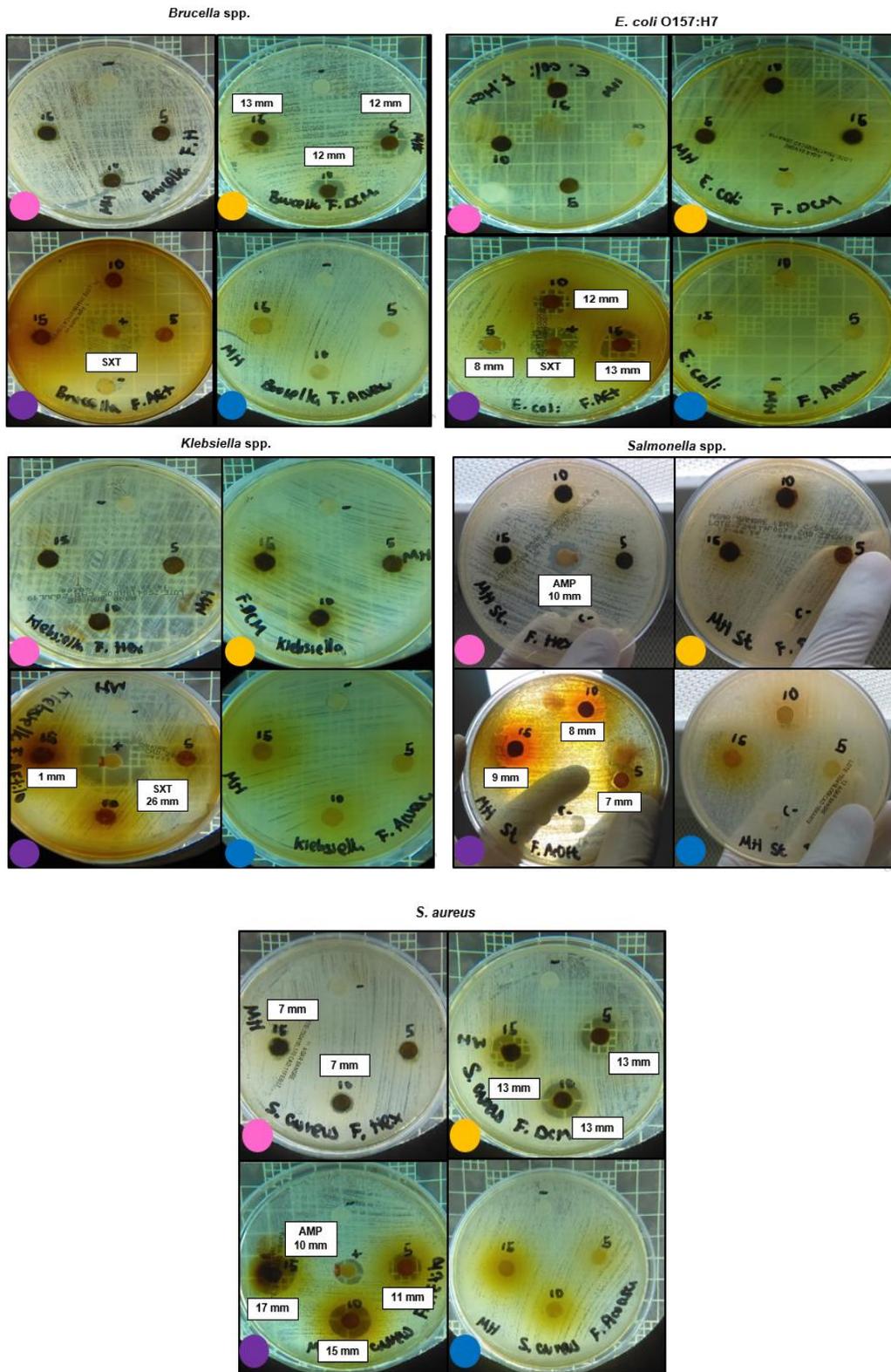
A continuación, se presenta la Tabla 2.3 resumiendo los resultados de actividad antibacteriana de los extractos metanólicos evaluados.

**Tabla 2.3.** Actividad antibacteriana de los extractos metanólicos de las diferentes partes vegetales de *Cordia dodecandra*, *Melochia nodiflora* y *Ruellia nudiflora*.

Bacteria	Extracto / Halo de inhibición (mm)						
	CDC	CDF	CDS	CDH	MNH	MNS	RNP
<i>Brucella</i> sp.	8	-	-	-	11	-	-
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	20	-	-	-	10	-	-
<i>Klebsiella</i> sp.	7	7	7	-	-	-	7
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	7	-	-	-	-
<i>Proteus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> sp.	9	-	-	-	9	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	32	14	16	-	20	-	-
<i>Streptococcus agalactie</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	-	-	-	-	-	-	20

CDC: *C. dodecandra* corteza, CDF: *C. dodecandra* flor fresca, CDS: *C. dodecandra* flor seca, CDH: *C. dodecandra* hoja, MNH: *M. nodiflora* hoja, MNS: *M. nodiflora* semilla, RNP: *R. nudiflora* planta entera, (-): sin actividad biológica.

Con base en la Tabla 2.3, se decidió continuar trabajando con la corteza de *C. dodecandra* (CDC) debido a su buena actividad antibacteriana en comparación con las otras partes y especies vegetales. Así, se evaluaron las fracciones obtenidas de la extracción líquido-líquido contra las cepas de *Brucella* sp., *E. coli* O157:H7, *Klebsiella* sp., *Salmonella* sp. y *S. aureus*. En la siguiente Figura 2.4 podemos apreciar los resultados de los bioensayos obtenidos a partir de las fracciones.



**Figura 2.4.** Evaluación de las fracciones de corteza de *Cordia dodecandra* por el método de agar difusión (rosa: fracción hexánica, amarillo: fracción diclometánica, violeta: fracción de acetato de etilo, azul: fracción acuosa).

En la Tabla 2.4 se muestra un resumen de la actividad antibacteriana de las fracciones de corteza de *C. dodecandra* mediante la prueba de agar difusión, para posteriormente realizar el aislamiento cromatográfico de manera biodirigida.

**Tabla 2.4.** Actividad antibacteriana de las fracciones de corteza de *Cordia dodecandra* (CDC).

Microorganismo	Fracción (mg) / Halo de inhibición (mm)												
	Hexano (CDC-2a)			DCM (CDC-2b)			AcOEt (CDC-2c)			Acuoso (CDC-2d)			C+
	5	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15	AMP SXT
<i>Brucella</i> sp.	-	-	-	12	12	13	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> O157:H7	-	-	-	-	-	-	8	12	13	-	-	-	14
<i>Klebsiella</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	7	-	-	-	26
<i>Salmonella</i> sp.	-	-	-	-	-	-	7	8	9	-	-	-	10
<i>S. aureus</i>	-	7	7	13	13	13	11	15	17	-	-	-	10

CDC: Corteza de *Cordia dodecandra*, C+: control positivo, AMP: ampicilina, SXT: sulfametoxazol/trimetoprima.

Observando los resultados en la Tabla 2.4 anterior, se consideró como la más activa la fracción de acetato de etilo (CDC-2c), especialmente contra las cepas de *S. aureus*, *Salmonella* sp. y *E. coli* O157:H7. Por lo tanto, se decidió continuar con el aislamiento cromatográfico con esta fracción. Al mismo tiempo, la fracción de diclorometano mostró actividad contra *S. aureus* y *Brucella* sp., por lo que, se podría continuar su fraccionamiento para posteriores investigaciones. Ambas fracciones, comparándolas con los controles positivos, dan una buena indicación sobre la posibilidad de encontrar un compuesto de interés que sea efectivo contra las cepas bacterianas evaluadas. Las fracciones hexánica y acuosa, no fueron activas contra las cepas bacterianas, descartando su fraccionamiento.

Cabe mencionar que, debido a la pandemia causada por la enfermedad COVID-19, no se continuó con la evaluación biológica de las subfracciones obtenidas de CDC-2c mediante la purificación cromatográfica.

---

## 2.4. DISCUSIÓN

La especie *C. dodecandra*, usada en la medicina tradicional contra infecciones respiratorias y gastrointestinales, exhibió actividad de sus extractos contra seis de las diez cepas bacterianas, mostrando mayor bioactividad en el extracto de corteza, con respecto a la flor y hoja. Esto último tiene sentido puesto que de acuerdo con Méndez-González *et al.* (2012), particularmente la parte vegetal empleada para curar las afecciones es la corteza. A pesar de que no existen reportes de la actividad antibacteriana sobre esta especie, el reporte por Oza y Kulkarni (2017) confirma la actividad antibacteriana de otras muchas especies del género *Cordia*. En concordancia con estos dos criterios, se podría decir que *C. dodecandra*, al igual que otras especies del género *Cordia*, presenta propiedades antibacterianas.

La especie *M. nodiflora*, usada para curar la diarrea y disentería, mostró bioactividad en su extracto metanólico de hoja contra cuatro de las diez cepas bacterianas. Por otro lado, el extracto de semilla no mostró bioactividad contra ninguna de las cepas. En tanto, se ha reportado actividad antibacteriana en extractos alcohólicos de hoja, tallo y flor de *M. villosa* (Armas *et al.*, 2013) y en hoja de *M. corchorifolia* (Rao *et al.*, 2012). Esto, sumado a lo que menciona Cetina-Chan *et al.* (2015), donde especifica el uso de la hoja de *M. nodiflora* en la medicina tradicional maya, se puede afirmar que la actividad biológica en esta especie esta presente en su hoja.

El extracto metanólico de la planta entera de la especie *R. nudiflora*, empleada para problemas gastrointestinales, sólo fue activa contra las cepas de *Klebsiella* sp. (7 mm) y *S. pyogenes* (20 mm). De igual manera, no existen estudios previos de esta especie, a pesar de ello, el estudio por Samy *et al.* (2015) afirma que varias especies del género *Ruellia* tienen actividad antimicrobiana y antibacteriana. Entre las especies más estudiadas, se encuentran los extractos alcohólicos de hoja de *R. patula* (Ramadevi *et al.*, 2016), activa frente a *B. subtilis* y *E. coli*, y los extractos de planta entera de *R. tuberosa*, activa frente a *E. coli.*, *K. pneumoniae*, *Salmonella* y *Staphylococcus* spp. (Arirudran *et al.*, 2011). De todos los extractos probados, *R. nudiflora* fue el que menor actividad tuvo, sin embargo, fue el único activo contra *S. pyogenes*, por lo que éste es el primer reporte de esta especie contra este patógeno.

La cepa de *S. aureus* fue la especie más susceptible a los extractos metanólicos de corteza (32 mm), flor fresca (14 mm) y flor seca (16 mm) de *C. dodecandra* y hoja (20 mm) de *M. nodiflora*. También, fue la más susceptible en algunas fracciones de *C. dodecandra*, como la de

---

diclorometano (15 mg), que fue activa contra esta cepa con 13 mm, y la fracción de acetato de etilo (15 mg), con 17 mm. En general, esta bacteria Gram-positiva fue más sensible que las Gram-negativas. Tanto las bacterias Gram-positivas como Gram-negativas poseen una pared celular con mureína que les confiere su estructura base y les da protección mecánica, es una capa gruesa en las bacterias Gram-positivas, mientras que las Gram-negativas tienen una capa delgada. El mantenimiento de esta estructura de mureína constituye un blanco ideal para compuestos activos, afectando la viabilidad de estas bacterias (Cervantes-Garcia *et al.*, 2014).

Por otro lado, la pared bacteriana en bacterias Gram-negativas es más compleja, que consta de dos membranas, una membrana citoplasmática o interna y una membrana externa compuesta por un complejo lipopolisacárido. En esta última, una de sus funciones es servir como barrera protectora, evitando o disminuyendo la entrada de sales biliares, antibióticos y otras sustancias que podrían lesionar a la bacteria. Por lo tanto, hace suponer que debido a la naturaleza o estructura química de la pared de la bacteria Gram-positiva, en este caso, *S. aureus*, fuera más susceptible a comparación de las demás bacterias Gram-negativas evaluadas.

Es importante considerar esta cepa de *S. aureus*, pues, a pesar de ser una cepa de origen alimenticio, la resistencia observada en estas bacterias naturalmente es debida a una proteína de unión a la penicilina (PBP, por sus siglas en inglés), que es codificada por el gen *mecA* (Cervantes-Garcia *et al.*, 2014). Dicho esto, los extractos y fracciones evaluados pueden ser el primer paso para la búsqueda de compuestos activos frente a este patógeno, siendo causante de una amplia variedad de enfermedades a nivel hospitalario y comunitario.

En la Figura 2.4 y Tabla 2.4 se presentó la actividad de manera general de los extractos de corteza de *C. dodecandra* y hoja de *M. nodiflora* contra bacterias Gram-negativas, como *Brucella* sp. con 8 y 11 mm, *E. coli* O157:H7 con 14 mm y 4 mm, *Klebsiella* sp. con 7 y 7 mm y *Salmonella* sp. con 9 y 9 mm de inhibición de crecimiento bacteriano, respectivamente. También, la fracción de diclorometano CDC-2b (15 mg) de *C. dodecandra* fue activa contra *Brucella* sp. (13 mm), mientras que la fracción de acetato de etilo CDC-2c de esta misma especie (15 mg) fue activa contra *E. coli* O157:H7 (13 mm), *Klebsiella* sp. (7 mm) y *Salmonella* sp. (9 mm). Esto puede sugerir que la naturaleza química de los metabolitos secundarios involucrados en la actividad biológica corresponde a compuestos de mediana a alta polaridad. Es necesario recordar que la partición líquido-líquido corresponde a la primera etapa del proceso de purificación biodirigido (Sarker *et al.*, 2012).

---

Es importante considerar estos extractos y fracciones, ya que *Brucella*, *E. coli*, *Klebsiella* y *Salmonella*, al ser bacterias Gram-negativas, poseen una membrana externa de naturaleza lipídica que regula la entrada de elementos, y al mismo tiempo, en esta membrana existen enzimas capaces de crear cambios en la estructura de compuestos activos (Tafur *et al.*, 2008). La actividad de estos extractos crudos metanólicos y fracciones derivadas de acetato de etilo que inhibieron el crecimiento de estas cepas bacterianas se podría atribuir principalmente a compuestos con estructura polifenólica, que promueven la lisis celular (Monroy-Vázquez *et al.*, 2007). Esto puede abrir la posibilidad de encontrar uno o más compuestos contra una o varias especies de bacterias patógenas.

El extracto crudo metanólico de *C. dodecandra* inhibió el crecimiento de la cepa de *Klebsiella* sp. (7 mm) a una concentración de 5 mg. Este resultado se asemeja al estudio por Eltayeib e Ishag (2015) donde el extracto crudo metanólico de *Cordia sinensis* fue activo contra esta misma especie, presentando 14 mm de inhibición a una concentración de 25 mg. Esto puede sugerir que al aumentar la concentración del extracto exista un incremento en la actividad biológica.

Los extractos metanólicos no mostraron actividad contra las cepas bacterianas *P. aeruginosa*, *S. agalactie* y *Proteus* sp. Esto puede deberse a múltiples factores, desde la obtención del extracto, incluyendo la polaridad de los compuestos, el método de extracción y el tipo de disolvente empleado (Xu *et al.*, 2017), hasta los mecanismos de defensa de la propia bacteria como las bombas de expulsión, cambios en la permeabilidad de la membrana, cambios en sitios de acción o modificación enzimática (Tafur *et al.*, 2008). Con base en todo lo anterior, sobresalen los extractos de corteza de *C. dodecandra* y hoja de *M. nodiflora*, ambas empleadas en la medicina tradicional maya sin estudios previos con anterioridad, los cuales presentaron una relevante actividad antibacteriana.

Otro rubro en consideración es la disponibilidad del material vegetal y la distribución geográfica, pues la planta *M. nodiflora* está limitada a sólo época de lluvia, mientras que *C. dodecandra* está ampliamente distribuida en cualquier periodo del año. A partir de estos puntos de vista, se establece que la corteza de la planta medicinal *C. dodecandra* es la mejor candidata debido a que su fitoquímica y actividad biológica es totalmente desconocida, además, otras especies del mismo género presentan propiedades antimicrobianas, por lo que permite suponer que esta especie podría tener estas propiedades, por ende, se pretende obtener el/los metabolito(s) responsable(s) de la bioactividad.

---

## CAPÍTULO III

### EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

#### 3.1. INTRODUCCIÓN

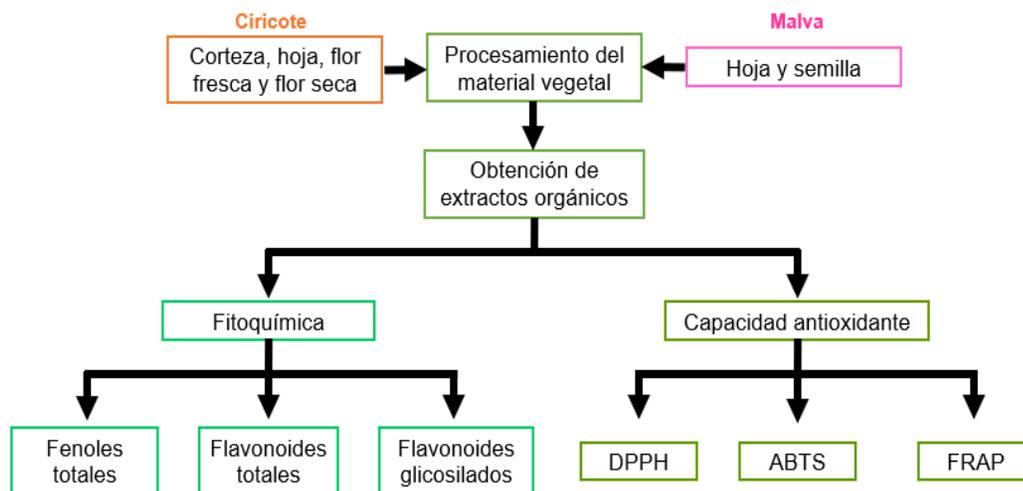
Los antioxidantes derivan principalmente de alimentos como frutas, verduras, cereales y plantas medicinales. Las plantas medicinales contienen, sin embargo, niveles significativamente más altos de compuestos antioxidantes que las verduras y frutas comunes y también exhiben una actividad antioxidante más fuerte (Tlili *et al.*, 2013). Un ejemplo acerca del uso de plantas medicinales con fines antioxidantes, son las hojas de té verde de *Camellia sinensis*, usada en la medicina tradicional china como estimulante, diurético, astringente y mejoramiento de la circulación sanguínea (Chopade *et al.*, 2008). Se ha demostrado en estudios *in vitro* e *in vivo* que *C. sinensis* contiene una gran concentración de compuestos fenólicos con actividad antioxidante, tanto reduciendo como controlando moléculas ERO (Higdon y Frei, 2003).

Actualmente existe una tendencia en buscar fuentes naturales de antioxidantes disponibles y eficientes para diversas aplicaciones. El principal objetivo en industrias alimentarias es evitar el deterioro de los alimentos por oxidación; en el área farmacéutica se utilizan para tratar enfermedades neurodegenerativas, diabetes, cáncer, trastornos cardiovasculares, procesos inflamatorios e infecciones, y en el área cosmetológica se utilizan principalmente como suplementos contra el proceso de envejecimiento (Sindhi *et al.*, 2013).

Por esta razón, otro de los objetivos de este trabajo fue evaluar la capacidad antioxidante de los extractos orgánicos de plantas medicinales como *Cordia dodecandra* DC. (ciricote) y *Melochia nodiflora* Sw. (malva) pertenecientes a las familias Boraginaceae y Malvaceae, respectivamente. Las partes vegetales de dichas plantas como la hoja, corteza, flor y semilla son utilizadas en la medicina tradicional maya y, a las cuales, de acuerdo a sus géneros, se les ha atribuido propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y antioxidantes (Al Muqarrabun y Ahmat, 2015; Oza y Kulkarni, 2017). En esta sección se evaluó la capacidad antioxidante, primeramente, cuantificando compuestos fitoquímicos y posteriormente se obtuvo la capacidad antioxidante de cada parte vegetal.

## 3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

A continuación, se presenta un esquema general metodológico (Figura 3.1) que describe el análisis fitoquímico y capacidad antioxidante de los extractos orgánicos.



**Figura 3.1.** Esquema general metodológico de la evaluación del análisis fitoquímico y capacidad antioxidante.

Previamente, se prepararon las muestras disolviendo cada extracto en metanol (200 mg de extracto + 2 mL de disolvente). Posteriormente, se realizó una dilución 1:20 (50  $\mu$ L de extracto + 950  $\mu$ L de disolvente) y se utilizó un sonicador eléctrico (Ultrasonic Processor 130 W, Sonics & Materials, Connecticut, EUA) para la completa disolución de las muestras. Todo el material se cubrió con papel de aluminio para protegerlo de la luz.

### 3.2.1. Cuantificación fitoquímica

#### 3.2.1.1. Fenoles totales

El contenido fenólico total se estimó utilizando el método de Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965). Se usó 50  $\mu$ L de extracto (agua desionizada estéril en el caso del blanco) y se colocó en tubos de ensayo por triplicado. Posteriormente, se añadió 250  $\mu$ L del reactivo Folin-Ciocalteu 1 N, y después de 8 min, se agregó un volumen de 750  $\mu$ L de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20% hasta su homogeneidad. Se dejó reposar por 30 min a 25 °C. La absorbancia de la muestra se midió a 765 nm utilizando un espectrofotómetro UV (DR 2700, HACH, Colorado, EUA). La concentración de fenoles totales se calculó con base en una curva estándar equivalente de

---

ácido gálico expresado en mg/g (mg GAE/100 g). Se utilizó una curva estándar de ácido gálico (GAE) en un rango de concentración 0 a 2,500 mg/g ( $y = 0.2968x - 0.0065$ ;  $R^2 = 0.9987$ ).

### **3.2.1.2. Flavonoides totales**

El contenido de flavonoides totales se estimó utilizando el método descrito por Dowd (1979). Un volumen de 67  $\mu\text{L}$  de extracto se vertió en un pocillo de una microplaca por quintuplicado. Posteriormente, se añadieron 20  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaNO}_2$  al 5% y se dejó reposar por 5 min. Se agregaron a la mezcla 20  $\mu\text{L}$  de  $\text{AlCl}_3$  al 10%, y un minuto después 133  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaOH}$  1 M. La absorbancia se midió a 415 nm usando un espectrofotómetro de microplacas (Multiskan EX, Thermo Fisher Scientific, Vaanta, Finlandia). La concentración de flavonoides totales se calculó con base en una curva estándar equivalente a quercetina en un rango de concentración 0 a 2,000 mg/g ( $y = 0.3412x - 0.0329$ ;  $R^2 = 0.9809$ ), y es expresado en mg/g (mg QE/100 g).

### **3.2.1.3. Flavonoides glicosilados**

El contenido de flavonoides glicosilados de los extractos se estimó utilizando el método descrito por De Albuquerque *et al.* (2014). Un volumen de 100  $\mu\text{L}$  de extracto se vertió en un pocillo de una microplaca por triplicado. Posteriormente, se agregaron 10  $\mu\text{L}$  de  $\text{AlCl}_3$  al 10% y después 300  $\mu\text{L}$  de  $\text{CH}_3\text{COONa}$ . La mezcla se incubó a 20 °C durante 2.5 h. La absorbancia se midió a 440 nm usando un espectrofotómetro de microplacas (Multiskan EX, Thermo Fisher Scientific, Vaanta, Finlandia). El contenido de flavonoides glicosilados se calculó con una curva estándar equivalente de quercetina expresado en mg/g (mg QE/100 g). Se utilizó la curva estándar de flavonoides totales.

## **3.2.2. Capacidad antioxidante**

### **3.2.2.1. Ensayo del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)**

La actividad antioxidante se determinó con el método descrito por Blois (1958) y Brand-Williams *et al.* (1994). El reactivo DPPH se preparó mezclando 3.9  $\mu\text{g}$  de DPPH más 14 mL de metanol al 80% y se estabilizó en la oscuridad durante 30 min a  $25 \pm 3$  °C en agitación constante (Vortex Mixer, Corning, Massachussets, EUA), hasta que su absorbancia alcanzó 712 nm. Posteriormente, se mezclaron 50  $\mu\text{L}$  de extracto con 150  $\mu\text{L}$  de disolución DPPH en un pozo de microplaca por triplicado. Después de 30 min de reacción, se midió la absorbancia a 541 nm con un espectrofotómetro de microplacas (Multiskan EX, Thermo Fisher Scientific, Vaanta,

---

Finlandia). El porcentaje de inhibición se calculó con la siguiente ecuación: porcentaje de inhibición (%) =  $(Abs_{control} - Abs_{muestra}/Abs_{control}) \times 100$ .

Para la bioautografía directa con DPPH, se utilizó CCD en fase normal (gel de sílice 60 F<sub>254</sub>, 5 cm x 5 cm, Merck, Alemania) para las subfracciones CDC-3a – CDC-3e y CCD en fase reversa con respaldo de aluminio (gel de sílice 60 RP-18 F<sub>254S</sub>, 5 cm x 5 cm, Merck, Alemania) para las subfracciones CDC-3f – CDC-3i y para el compuesto aislado CDC-14a1. Las subfracciones y el compuesto aislado a evaluar se disolvieron en MeOH (grado analítico) a una concentración al 1% y se aplicó con ayuda de un capilar. Como fase móvil se emplearon los sistemas CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-EtOH (95:5) para fase normal y H<sub>2</sub>O-ACN (7:3) para fase reversa, según el caso. Las placas cromatográficas fueron rociadas con una disolución de DPPH con metanol al 0.2%. Antes de su revelado, las placas fueron observadas mediante UV.

### **3.2.2.2. Ensayo del radical ácido 2,2-azino bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS)**

La actividad antioxidante se determinó con el método descrito por Re *et al.* (1998). El radical ABTS<sup>+</sup> se generó por oxidación de ABTS 7 mM con 2.45 mM de K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> en la oscuridad durante 16 h a 25 ± 3 °C. Transcurridas las 16 h, la disolución se mezcló con 25 mL de metanol al 80% en agitación por 20 min, hasta que su absorbancia alcanzó 712 nm. Se mezclaron 10 µL de extracto con 190 µL de ABTS en un pozo de microplaca por triplicado. Después de 8 min de reacción, se midió la absorbancia a 741 nm con un espectrofotómetro de microplacas (Multiskan EX, Thermo Fisher Scientific, Vaanta, Finlandia). El porcentaje de inhibición se calculó con la siguiente ecuación: porcentaje de inhibición (%) =  $(Abs_{control} - Abs_{muestra}/Abs_{control}) \times 100$ .

### **3.2.2.3. Ensayo de cinética de poder reductor antioxidante férrico (FRAP)**

Se determinó con el método descrito por Benzie & Strain (1996). El reactivo FRAP se preparó mezclando 100 mL de buffer CH<sub>3</sub>COONa (pH 3.6) con 10 mL de TPTZ (2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina) (31.2 mg en 331.2 µL de HCl) y 10 mL de FeCl<sub>3</sub> y se estabilizó por 3 h. Una vez estabilizada la disolución, se calentó a 37 °C por 15 min en baño maría. En tubos de ensayo se mezcló 100 µL de extracto con 3 mL de disolución FRAP, se agitó y se calentó por 5 min. La absorbancia de cada tubo se midió a 593 nm usando un espectrofotómetro UV (DR 2700, HACH, Colorado, EUA). Se utilizó una curva estándar de sulfato ferroso heptahidratado disuelto en 80 mL de agua en un rango de 0 a 2,500 µmol/L ( $y = 0.0007x - 0.036$ ).

### 3.3. RESULTADOS

#### 3.3.1. Cuantificación de fenoles y flavonoides

En la Tabla 3.1 se presentan los resultados de la cantidad de compuestos fenólicos, flavonoides totales y flavonoides glicosilados de los extractos metanólicos de diferentes partes vegetales de las especies en estudio.

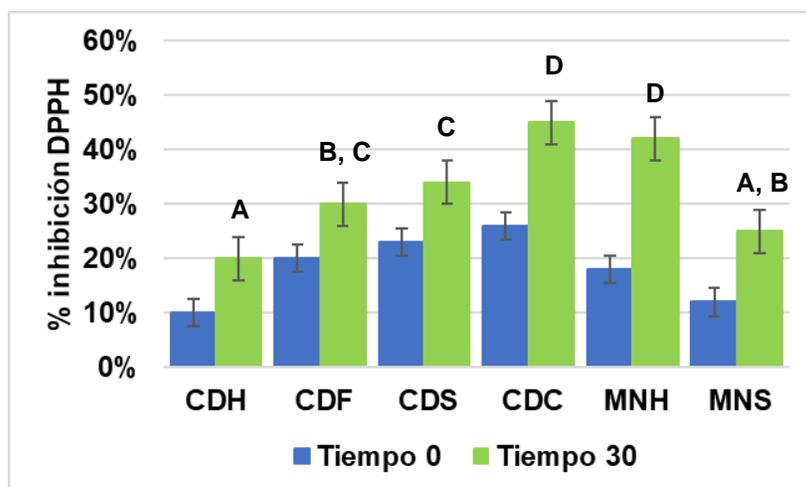
**Tabla 3.1.** Cuantificación de fenoles, flavonoides totales y flavonoides glicosilados de los extractos metanólicos de *Cordia dodecandra* y *Melochia nodiflora*.

Muestra	Fenoles totales [mg GAE/100g]	Flavonoides totales [mg QE/100 g]	Flavonoides glicosilados [mg QE/100 g]
<i>C. dodecandra</i> corteza (CDC)	521.03 ± 0.03 <sup>E</sup>	4.99 ± 0.05 <sup>E</sup>	4.79 ± 0.2 <sup>A</sup>
<i>C. dodecandra</i> flor fresca (CDF)	444.39 ± 0.25 <sup>C</sup>	3.47 ± 0.15 <sup>B</sup>	2.63 ± 0.1 <sup>A</sup>
<i>C. dodecandra</i> flor seca (CDS)	537.36 ± 0.11 <sup>F</sup>	4.24 ± 0.03 <sup>C</sup>	3.11 ± 0.2 <sup>A</sup>
<i>C. dodecandra</i> hoja (CDH)	349.56 ± 0.01 <sup>A</sup>	2.72 ± 0.13 <sup>A</sup>	2.78 ± 0.1 <sup>A</sup>
<i>M. nodiflora</i> hoja (MNH)	436.24 ± 0.09 <sup>B</sup>	4.64 ± 0.11 <sup>D</sup>	10.73 ± 0.1 <sup>B</sup>
<i>M. nodiflora</i> semilla (MNS)	475.01 ± 0.1 <sup>D</sup>	4.06 ± 0.2 <sup>C</sup>	3.00 ± 0.1 <sup>A</sup>

\*Letras diferentes por columna implica que hay diferencias significativas entre los extractos; n = 3; ANOVA, prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ), ± desviación estándar.

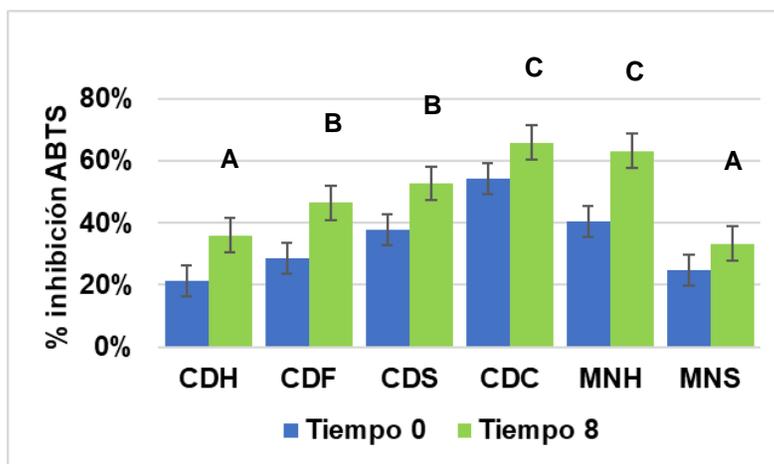
#### 3.3.2. Capacidad antioxidante

En la Figura 3.2 se analiza el porcentaje de inhibición del radical DPPH a través del tiempo. Véase que transcurridos 30 min, el radical es neutralizado en diferentes porcentajes empleando los extractos metanólicos de plantas medicinales.



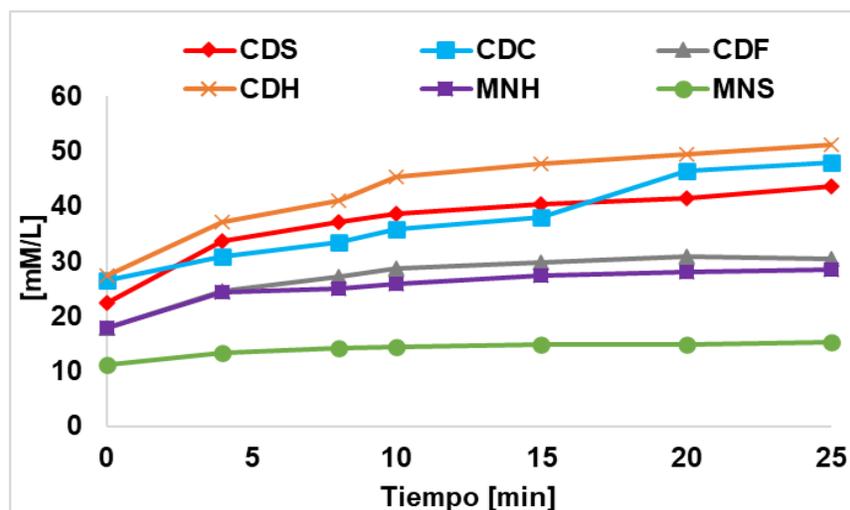
**Figura 3.2.** Porcentaje de inhibición del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) de extractos metanólicos de *Cordia dodecandra* y *Melochia nodiflora*. CDH: *C. dodecandra* hoja, CDF: *C. dodecandra* flor fresca, CDS: *C. dodecandra* flor seca, CDC: *C. dodecandra* corteza, MNH: *M. nodiflora* hoja, MNS: *M. nodiflora* semilla. Letras diferentes implica diferencias significativas entre extractos; ANOVA; prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ).

En la Figura 3.3 se analiza el porcentaje de inhibición del radical ABTS a través del tiempo. Transcurrido 8 min de reacción, el radical ABTS es neutralizado en diferentes porcentajes empleando los extractos metanólicos de plantas medicinales.



**Figura 3.3.** Porcentaje de inhibición del radical ABTS (ácido 2,2-azino bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) de extractos metanólicos de *Cordia dodecandra* y *Melochia nodiflora*. CDH: *C. dodecandra* hoja, CDF: *C. dodecandra* flor fresca, CDS: *C. dodecandra* flor seca, CDC: *C. dodecandra* corteza, MNH: *M. nodiflora* hoja, MNS: *M. nodiflora* semilla. Letras diferentes implica diferencias significativas entre extractos; ANOVA; prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ).

En la Figura 3.4 se analiza una cinética de reacción de poder antioxidante reductor férrico. En esta prueba, algunos extractos metanólicos poseen el poder de reducir el hierro al pasar el tiempo, mientras que con otros extractos se puede observar que mantienen una tendencia asíntota observándose diferencias significativas entre cada uno de los extractos. Así también, en la Tabla 3.2 se observan diferencias significativas entre cada extracto en la prueba de FRAP.



**Figura 3.4.** Cinética de reacción FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) de extractos metanólicos de *Cordia dodecandra* y *Melochia nodiflora*. Abreviaturas, CDH: *C. dodecandra* hoja, CDF: *C. dodecandra* flor fresca, CDS: *C. dodecandra* flor seca, CDC: *C. dodecandra* corteza, MNH: *M. nodiflora* hoja, MNS: *M. nodiflora* semilla.

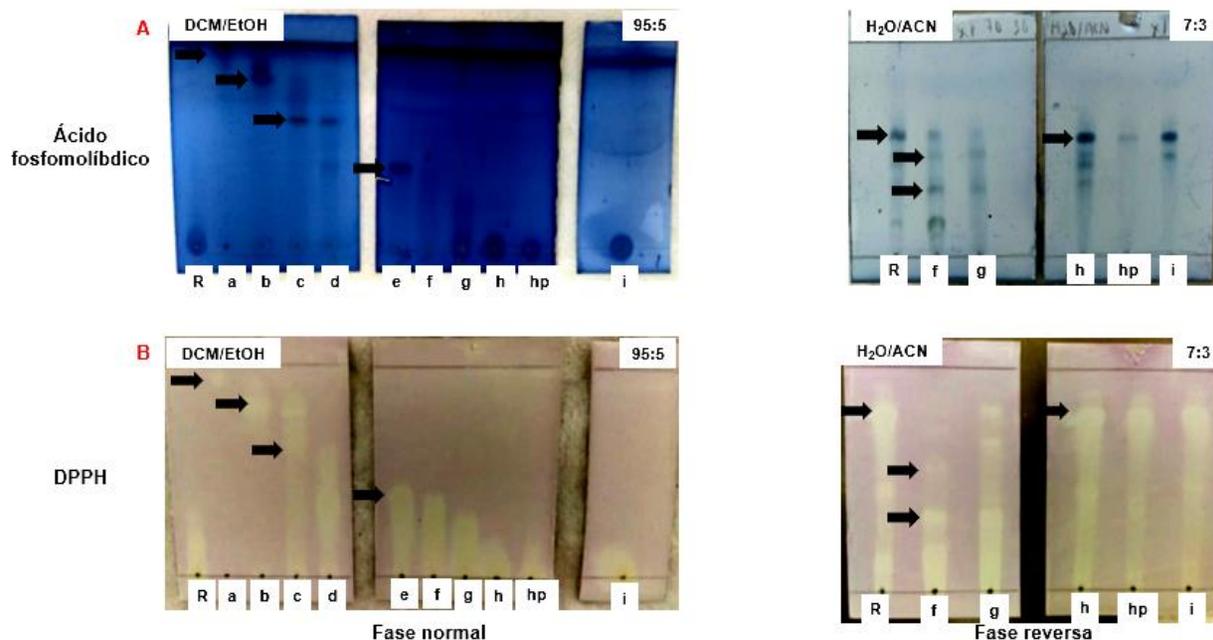
**Tabla 3.2.** Diferencias significativas entre extractos de *C. dodecandra* y *M. nodiflora* en la prueba FRAP.

Extractos	Medias	Diferencias significativas			
<i>M. nodiflora</i> semilla (MNS)	15.01	A			
<i>M. nodiflora</i> hoja (MNH)	28.14		B		
<i>C. dodecandra</i> flor seca (CDS)	30.07		B		
<i>C. dodecandra</i> flor fresca (CDF)	41.87			C	
<i>C. dodecandra</i> corteza (CDC)	47.62				D
<i>C. dodecandra</i> hoja (CDH)	49.42				D

Letras diferentes implica diferencias significativas entre extractos, n = 3, ANOVA; prueba de Tukey ( $p > 0.05$ ).

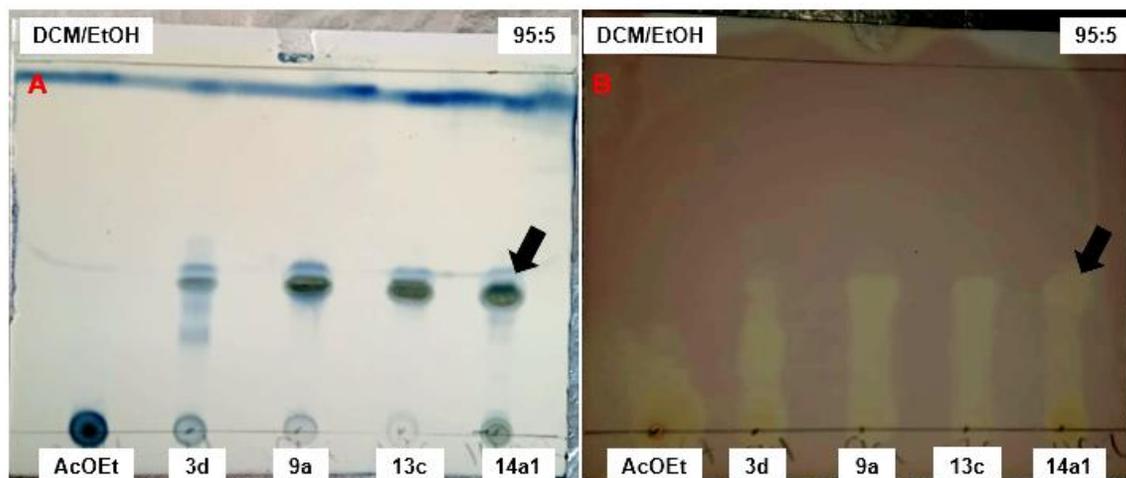
### 3.3.3. Bioautografía directa con DPPH

En la Figura 3.5 se muestran las placas cromatográficas reveladas con el radical DPPH. Véase que todas las subfracciones de CDC-3a – CDC-3i (AcOEt) tienen la capacidad de reducir al radical DPPH, observándose como bandas color amarillo pálido. Se compararon las placas reveladas con ácido fosfomolibdico (A) con placas reveladas con DPPH (B) para monitorear los compuestos; las placas se hicieron por duplicado.



**Figura 3.5.** Bioautografía directa con DPPH al 0.2% de subfracciones de CDC-3a – CDC-3i (AcOEt). Las flechas indican los compuestos con capacidad de reducir el DPPH dando seguimiento de los mismos compuestos con ácido fosfomolibdico. A) Revelado con ácido fosfomolibdico. B) Revelado con DPPH.

En tanto que en la Figura 3.6 se muestran las subfracciones de las que fue aislado el compuesto CDC-14a1, donde este último posee la capacidad de reducir al radical DPPH, observándose como bandas amarillas color pálido. Se comparó con una placa de ácido fosfomolibdico para el monitoreo de las bandas.



**Figura 3.6.** Bioautografía directa con DPPH al 0.2% de subfracciones derivadas de la fracción de AcOEt (CDC-2c) y del compuesto aislado y caracterizado estructuralmente CDC-14a1. Flecha indica el compuesto con capacidad de reducir el DPPH con el seguimiento con ácido fosfomolibdico. A) Revelado con ácido fosfomolibdico. B) Revelado con DPPH.

---

### 3.4. DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio dan información acerca del contenido de compuestos fitoquímicos de los extractos de cada una de las partes vegetales evaluadas. La flor y corteza de *C. dodecandra* mostraron el contenido fenólico más alto, seguido de la semilla de *M. nodiflora* y por último las hojas de ambas especies vegetales. No existe información acerca del contenido fitoquímico de *C. dodecandra*, sin embargo, hay reportes de otras especies del género *Cordia* donde evalúan el contenido fitoquímico en corteza (Nariya *et al.*, 2013; 2012; Al-Musayeib *et al.*, 2011), hoja (Abdel-Aleem *et al.*, 2019; Michielin *et al.*, 2011; Correia *et al.*, 2010) y en flor (Prakash *et al.*, 2020). Esto hace suponer que en diferentes partes vegetales de la especie evaluada podría haber compuestos con un perfil potencial de capacidad antioxidante con base en los reportes de las otras especies del género.

De igual manera, no hay estudios sobre el contenido fitoquímico de *M. nodiflora*, aunque existen reportes sobre la especie vegetal *M. corchorifolia* y su evaluación de partes aéreas (Palaksha *et al.*, 2013; Rao *et al.*, 2013). Esto rectifica que la parte vegetal con más compuestos fenólicos para las especies de este género son las partes aéreas como las hojas. Por otro lado, existe un reporte del aislamiento de estigmasteroles glicosilados de la especie vegetal *M. umbellata*, empleada como antihipertensiva, hepatitis y disminución del colesterol (Ridhay *et al.*, 2012); debido a que la metodología descrita por De Albuquerque *et al.* (2014) detecta la parte glicosilada de los flavonoides, es probable su cuantificación para este tipo de compuestos.

En las Figuras 3.2 y 3.3 se presentó el porcentaje de inhibición de DPPH y ABTS de los extractos metanólicos de *C. dodecandra* y *M. nodiflora*, donde el mayor porcentaje de inhibición de los radicales corresponde al extracto de corteza de *C. dodecandra* con 45% para DPPH y 66% para ABTS. Estos resultados son mayores a los estudios en *C. verbenacea* con un porcentaje de inhibición del 46% en ABTS en el extracto etanólico de hoja (Michielin *et al.*, 2011) y 31% y 39% en DPPH del extracto metanólico de corteza de *C. dichotoma* y *C. macleodii*, respectivamente (Nariya *et al.*, 2013; 2012). El segundo extracto con más actividad fue la hoja de *M. nodiflora* con 43% para DPPH y 63% para ABTS. A pesar de que no existen estudios de ABTS, Palaksha *et al.* (2013) reportaron un porcentaje de inhibición del 68% en DPPH del extracto etanólico para la especie de *M. corchorifolia* y, subsecuentemente, las demás partes vegetales con porcentajes de inhibición más bajos. Esto puede predecir el mecanismo de acción de los extractos, en este caso, por transferencia de átomos de hidrógeno

---

o electrones (Re *et al.*, 1998; Brand-Williams *et al.*, 1994; Blois, 1958), pudiendo bloquear los radicales en cadena mediante conversión de productos más estables.

Por otro lado, la técnica de FRAP, apoyada en el mecanismo óxido-reducción basado en la presencia de un ligando por antioxidantes formando un complejo colorimétrico (Benzie *et al.*, 1996), ofrece un panorama más específico sobre la actividad que ejercen los componentes de los extractos al reducir metales (Figura 3.4). Al ser una cinética de reacción, la técnica nos permite conocer el grado de reducción en tiempo real y conocer la potencia del extracto con el paso del tiempo. Algunas de las partes vegetales en FRAP difirieron de los resultados obtenidos con ABTS y DPPH; por ejemplo, la hoja que mostró la menor capacidad de reducir estos radicales presentó un buen poder al reducir el hierro, al igual que la corteza de *C. dodecandra* sin diferencias significativas entre sí, mientras que la flor fue la parte vegetal de esta especie con menor capacidad de reducción férrica y que tuvo diferencias significativas comparada con la de la hoja y de la corteza. Esto se asemeja al trabajo de Polka *et al.* (2019), donde describen diferencias significativas entre la flor comparada con la corteza y fruto de una especie vegetal.

Las partes vegetales de *M. nodiflora* (hoja y semilla), en comparación con las de *C. dodecandra*, estuvieron dentro de un rango bajo, por lo que estos extractos no tienen la capacidad antioxidante de reducir el hierro, sugiriendo que el mecanismo de acción de los compuestos involucrados de estos extractos no es por transferencia de electrones, si no por transferencia de átomos de hidrógeno.

Las placas cromatográficas (Figura 3.5) fueron observadas bajo luz ultravioleta antes de su revelado con DPPH. Todas las subfracciones de la fracción de acetato de etilo (CDC-2c) de la corteza de *C. dodecandra* (CDC-3a – CDC-3i) mostraron en onda corta (254 nm) y onda larga (365 nm) bandas que igualmente fueron detectadas al utilizar el revelador. Esto puede indicar la presencia de estructuras químicas con sistemas de conjugación como dobles enlaces o aromáticos, probablemente responsables de la actividad biológica. Por otra parte, la Figura 3.6 muestra como el compuesto aislado y caracterizado CDC-14a1 tiene propiedad antioxidante al reducir el radical de DPPH; no obstante, sería interesante probarlo con otros radicales libres para conocer más ampliamente su potencial biológico.

Con base en la actividad antioxidante observada en los extractos y subfracciones, es probable la existencia de compuestos antioxidantes en las diferentes partes vegetales de *C. dodecandra*

---

y *M. nodiflora*, y que estén relacionados con las características medicinales de las plantas. Como señalan diversos autores (Isa *et al.*, 2016; Eltayeib e Ishag, 2015; Okusa *et al.*, 2007), en los extractos y fracciones de varias partes vegetales de plantas del género *Cordia*, como corteza y hoja, existe la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, terpenoides y saponinas con actividad antimicrobiana, antiinflamatoria y antioxidante. De manera adicional, hay estudios de la hoja de especies del género *Melochia* con actividad antimicrobiana, antioxidante y citotóxica debido a la presencia de fenoles, flavonoides y alcaloides (Palaksha *et al.*, 2013; Rao *et al.*, 2013; 2012).

Los estudios anteriores son importantes para contribuir al conocimiento de estas especies y relacionar su actividad biológica con sus usos en la medicina tradicional. Y debido a que la fitoquímica de ambas especies es aún desconocida, sería interesante realizar estudios biodirigidos para comprobar su eficacia y otorgarles un valor agregado a estas especies vegetales.

---

## **CAPITULO IV**

### **AISLAMIENTO Y ELUCIDACIÓN ESTRUCTURAL DE UN COMPUESTO DE LA CORTEZA DE *Cordia dodecandra***

#### **4.1. INTRODUCCION**

El aislamiento e identificación de compuestos biológicamente activos a partir de fuentes naturales como las plantas involucran una secuencia de pasos. En la primera etapa, las primeras fracciones pueden ser divididas físicamente en una extracción líquido-líquido. En etapas posteriores, se hace uso de la cromatografía en columna, donde es sensato recoger sólo unas pocas sub-fracciones, unir aquellas que posean un perfil cromatográfico similar, seguido por su análisis mediante el bioensayo para determinar aquellas que contienen los compuestos activos; sin embargo, debe tenerse en cuenta que la separación de los metabolitos puede disminuir la actividad biológica durante el fraccionamiento biodirigido por pérdida de sinergismo. El punto final es el proceso de elucidación estructural, que implica tanto la acumulación de la información estructural obtenida de numerosas fuentes como la asimilación de estos datos en la estructura química, que rigurosamente hace encajar la información estructural disponible (Sarker *et al.*, 2012).

#### **4.2. MATERIALES Y METODOS**

##### **4.2.1. Material vegetal**

A partir de la subfracción CDC-3d (150 mg) derivada de la fracción activa de acetato de etilo (CDC-2c) se procedió con el aislamiento y purificación del compuesto.

##### **4.2.2. Aislamiento cromatográfico**

###### **4.2.2.1. Cromatografía en capa delgada (CCD)**

Durante el proceso del fraccionamiento se empleó CCD en fase normal con respaldo de aluminio (gel de sílice 60 F<sub>254</sub>, 5 cm × 5 cm, Merck, Alemania) y CCD en fase reversa con respaldo de aluminio (gel de sílice 60 RP-18 F<sub>254S</sub>, 5 cm × 5 cm, Merck, Alemania). Con el auxilio de un capilar se aplicaron alícuotas al 1%. El revelado de las placas se realizó con ayuda del UV (254 y 365 nm) y con el revelador ácido fosfomolibdico.

---

#### 4.2.2.2. Aislamiento cromatográfico de CDC-14a1

La subfracción CDC-3d (150 mg), derivada de la fracción activa de AcOEt (CDC-2c), se sometió a una columna flash (gel de sílice 60, 230-400 mesh, Merck, Alemania). La columna se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-EtOH en gradiente 97:3 a 1:1, obteniendo las subfracciones CDC-9a – CDC-9e. La subfracción CDC-9a (33 mg) se sometió a una Sephadex LH-20 (An), donde se obtuvieron las subfracciones CDC-13a – CDC-13d. Las subfracciones CDC-13b (13.2 mg) y CDC-13c (12.8 mg) fueron sometidas por separado a una Sephadex LH-20 (MeOH) que resultó en el aislamiento del compuesto CDC-14a1 (cristales en forma de aguja color amarillo, 10.8 mg) (Figura 4.1).

**CDC-14a1:** cristales en forma de aguja color amarillo pálido; **p.f.:** 201.8-204.4 °C; **IR** (MeOH, ATR)  $\nu_{\text{máx}}$  3281 (OH), 3033 (C<sub>sp2</sub>-H), 2919 y 2830 (C<sub>sp3</sub>-H), 1599 (C=O) cm<sup>-1</sup>; **<sup>1</sup>H-RMN** (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz)  $\delta$  2.58 (1H, dd, *J* = 17.1, 2.8 Hz, H-3'a), 2.99 (1H, dd, *J* = 17.0, 13.0 Hz, H-3'b), 5.22 (1H, dd, *J* = 13.1, 3.1 Hz, H-2'), 5.77 (1H, s, H-1'), 6.71 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3), 7.20 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-4) (Tabla 4.1); **<sup>13</sup>C-RMN** (CD<sub>3</sub>OD, 150 MHz)  $\delta$  44.0 (t, C-3'), 80.4 (d, C-2'), 96.5 (d, C-1'), 116.3 (d, C-3), 129.0 (d, C-4), 131.1 (s, C-5), 158.9 (s, C-2), 164.8 (s, C-6), 169.3 (s, C-1), 197.4 (s, C-4') (Tabla 4.2); **CG-EM** *m/z* 226 [M<sup>+</sup>] (C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>); **CCD** R<sub>f</sub> 0.22 en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-EtOH (95:5); **CG** *t<sub>R</sub>* = 19.56 min; **CLAR** *t<sub>R</sub>* = 31.62 min.

#### 4.2.2.3. Análisis por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR)

El análisis de pureza del compuesto CDC-14a1 (Figura 4.2) se llevó a cabo en el CICY, utilizando un equipo CLAR (marca Agilent, modelo 1260 Infinity) equipado con una lámpara de UV. El análisis fue realizado en una columna Avantor® Alltima (C18, 250 mm × 4.6 mm × 5 μm) usando un gradiente de MeOH (A), ACN (B) y TFA al 0.3% (C) con un flujo de 1 mL/min.

#### 4.2.3. Elucidación estructural

El espectro de infrarrojo (IR) fue obtenido en el Laboratorio de Química Farmacéutica de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY), con un espectrómetro con transformada de Fourier Nicolet iS5 FTIR (Thermo Scientific), equipado con un dispositivo ATR (Reflectancia Total Atenuada) iD7-ATR. Para el análisis del espectro se utilizó el software OMNIC<sup>MR</sup> (v. 9.3.32 Thermo Nicolet Corp.). Previo registro de la medición de fondo, la muestra se depositó en la superficie de un cristal de diamante y el análisis se realizó utilizando una ventana espectral de 500 a 4000 cm<sup>-1</sup>, con 32 barridos y una resolución de 4 cm<sup>-1</sup>.

---

Los cromatogramas y espectros de masas fueron obtenidos mediante un cromatógrafo de gases (modelo 7890A) acoplado a un detector másico (modelo 5975C) de baja resolución (ambos de marca Agilent Technologies) en el Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY) con las siguientes condiciones: 1  $\mu$ L de muestra; inyección de split 40:1; flujo de 1 mL/min (helio); columna DB-1701 (30 m  $\times$  250 mm  $\times$  0.25 mm); programa de temperatura del horno:  $T_1 = 140$  °C (3 min),  $T_2 = 280$  °C (50 min), gradiente de 10 °C/min; temperatura del inyector 280 °C, temperatura del cuadrupolo (MS quad) 150 °C.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT-135 y bidimensionales: Correlation Spectroscopy (COSY), Heteronuclear Single-Quantum Correlation Spectroscopy (HSQC) y Heteronuclear Multiple-Bond Correlation Spectroscopy (HMBC) fueron obtenidos con un espectrómetro Bruker de 600 MHz ( $^1\text{H}$ ) y 150 MHz ( $^{13}\text{C}$ ) en el Laboratorio Nacional de Nano y Biomateriales (LANNBIO) del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV) Unidad Mérida. El compuesto CDC-14a1 fue disuelto en metanol deuterado (0.5 mL, 99.96%, Sigma-Aldrich). Se usó tetrametilsilano (TMS) como referencia.

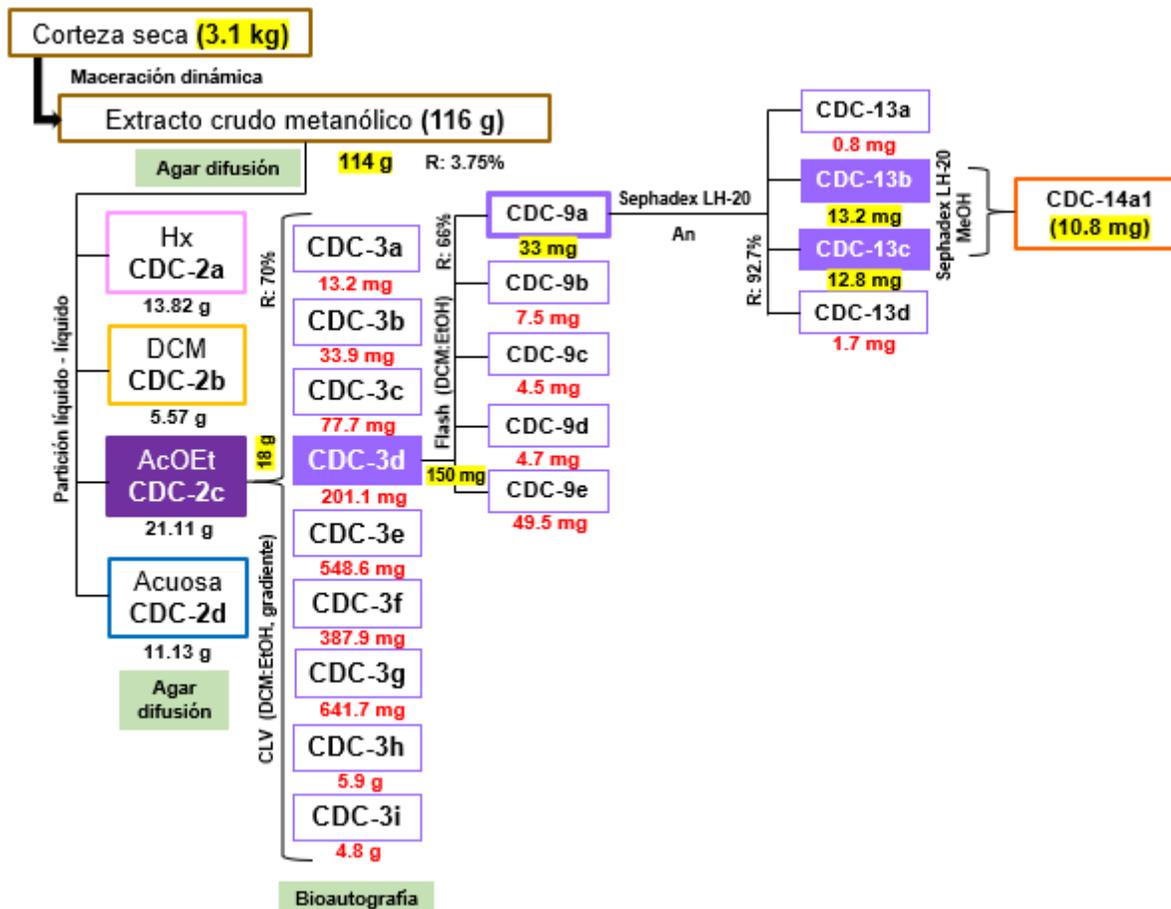
#### **4.2.4. Determinación de punto de fusión**

El rango de punto de fusión se determinó con el aparato Mel-Temp II (200 watts, marca Laboratory Devices). Se utilizó una pequeña cantidad del compuesto CDC-14a1 en tubos capilares sin heparina (1.40-1.60 mm, 75 mm, marca Lauka), empleándose un rango de temperatura de 200-210 °C.

### **4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **4.3.1. Diagrama general de aislamiento del compuesto de *C. dodecandra***

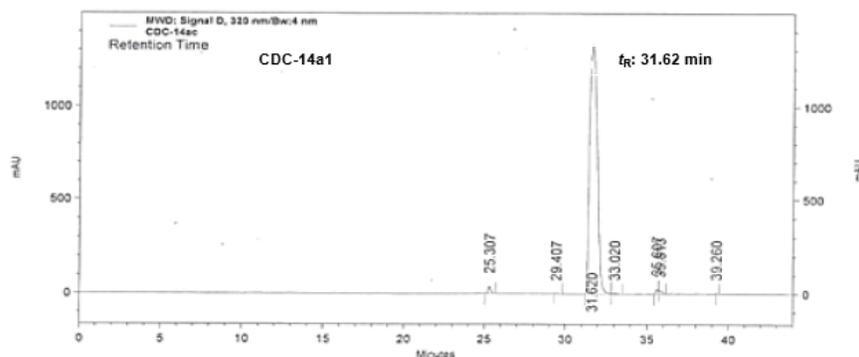
El siguiente diagrama muestra el aislamiento cromatográfico a partir de la fracción de acetato de etilo (CDC-2a) de corteza de *C. dodecandra*, fracción que tuvo mayor actividad biológica. Como resultado se obtuvo el primer compuesto aislado de esta especie vegetal (CDC-14a1), el cual se analizó por CLAR para confirmar su pureza.



**Figura 4.1.** Aislamiento cromatográfico del compuesto CDC-14a1 a partir de corteza de *C. dodecandra*. CDC: *C. dodecandra* corteza. R: rendimiento.

#### 4.3.2. Análisis por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR)

En la Figura 4.2 se muestra el cromatograma obtenido por CLAR del compuesto CDC-14a1 ( $t_R = 31.62$  min), confirmando su pureza. Como resultado de este análisis se decidió someter este compuesto a análisis espectroscópicos y espectrométricos para su elucidación estructural.



**Figura 4.2.** Cromatograma (CLAR) del compuesto CDC-14a1.

### 4.3.3. Análisis por espectroscopía de infrarrojo (IR)

El espectro de infrarrojo del compuesto CDC-14a1 reveló la presencia de una banda ancha característica de grupo hidroxilo (OH) a  $3281\text{ cm}^{-1}$ , también la presencia de protones unidos a carbono  $\text{sp}^2$  ( $3033\text{ cm}^{-1}$ ) y carbono  $\text{sp}^3$  ( $2919$  y  $2830\text{ cm}^{-1}$ ), típico de enlaces dobles y enlaces simples, respectivamente. Por último, se mostró la presencia de una banda intensa a  $1599\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a un carbonilo tipo cetona insaturado, haciendo notar que el corrimiento de esa banda a ese número de onda es debido a que el espectro fue obtenido mediante la técnica de ATR. Otro detalle por considerar para el desplazamiento de esta banda a una baja frecuencia serían los efectos de la insaturación debido a la unión directa o indirecta de un anillo aromático (Williams y Fleming, 1995) (Figura 4.3).

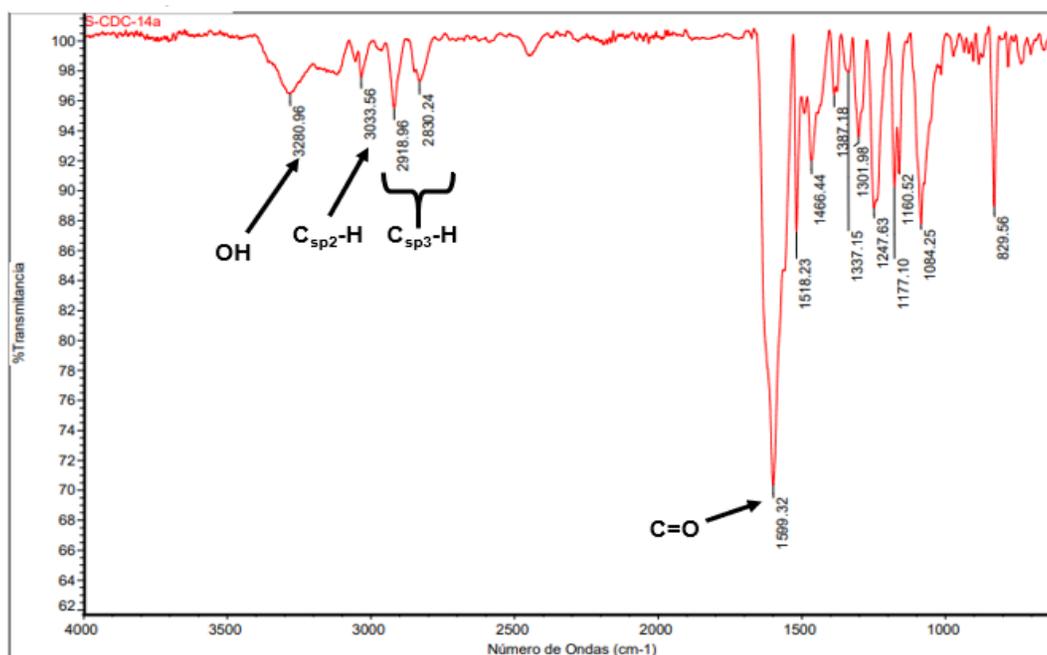


Figura 4.3. Espectro de infrarrojo del compuesto CDC-14a1.

### 4.3.4. Análisis por espectrometría de masas (EM)

El análisis de espectrometría de masas mostró un pico débil típico de la fragmentación de un alcohol como ion molecular  $[\text{M}^+]$  a  $226\text{ m/z}$ , correspondiente a la fórmula molecular  $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_6$ . La formación del pico base a  $59\text{ m/z}$  puede atribuirse a la pérdida de  $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ , siendo el fragmento más estable. Otros fragmentos como el de  $57\text{ m/z}$  se debe a la pérdida de  $\text{C}_4\text{H}_9$ , el fragmento a  $29\text{ m/z}$  es de un grupo etilo y la señal a  $18\text{ m/z}$  es debida a la pérdida de agua.

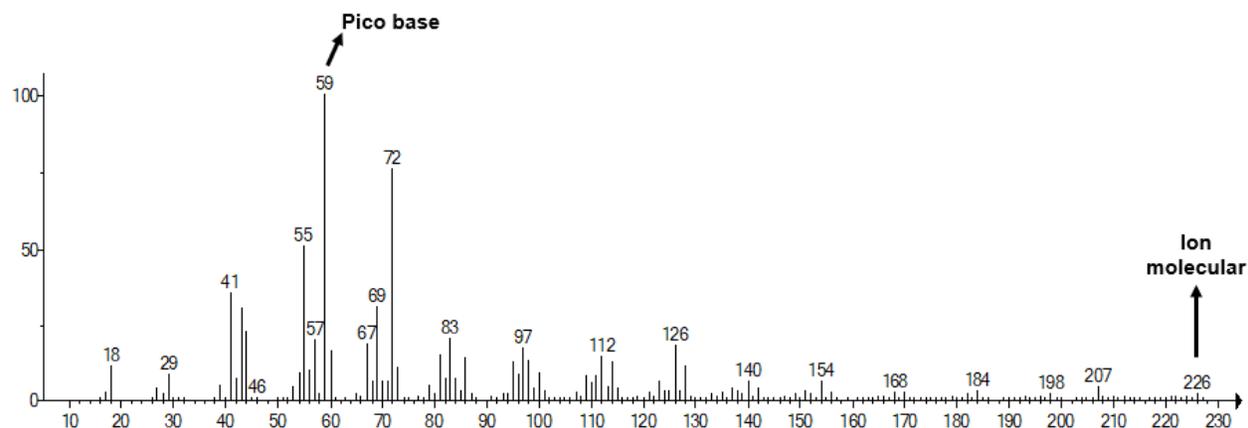


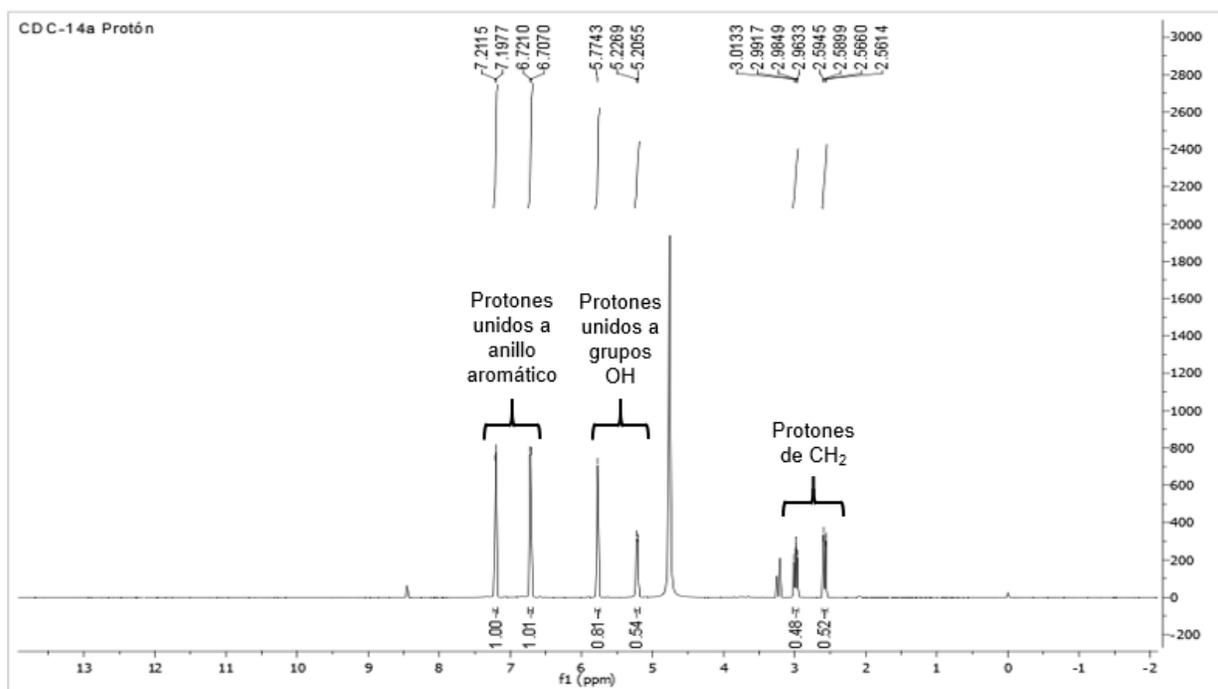
Figura 4.4. Espectro de masas del compuesto CDC-14a1.

### 4.3.5. Análisis por resonancia magnética nuclear (RMN)

#### 4.3.5.1. Espectro de $^1\text{H}$ -RMN del compuesto CDC-14a1

Al realizar el análisis del espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de CDC-14a1 se identificaron seis protones en total. Se observó la presencia de dos señales de doble de dobles a 2.58 y 2.99 ppm correspondientes a protones pertenecientes a un metileno. Asimismo, las señales que aparecen a 5.22 (doble de dobles) y 5.77 (singulete) ppm corresponden a protones de metinos base de alcohol. Por último, las señales encontradas a 6.71 y 7.20 ppm integran para un protón cada uno, observándose como dobletes de protones en la región de anillo aromático (Figura 4.5). Los análisis de DEPT-135 y HSQC permiten confirmar su vinculación.

Las constantes de acoplamiento ( $J$ ) indican la interacción de dos protones de tipo geminal correspondientes al grupo metileno (2.58 ppm,  $J = 17.1, 2.8$  Hz; 2.99 ppm,  $J = 17.0, 13.0$  Hz), al mismo tiempo, estos protones interactúan con un protón unido a un grupo hidroxilo (5.22 ppm,  $J = 13.1, 3.1$  Hz). En cuanto a los protones del anillo aromático (6.71 ppm,  $J = 8.4$  Hz y 7.20 ppm,  $J = 8.4$  Hz) nos indica que existe un acoplamiento de tipo *orto* (Tabla 4.1). El acoplamiento de estos protones se confirma con el análisis de COSY.



**Figura 4.5.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN del compuesto CDC-14a1. Disolvente:  $\text{CD}_3\text{OD}$ .

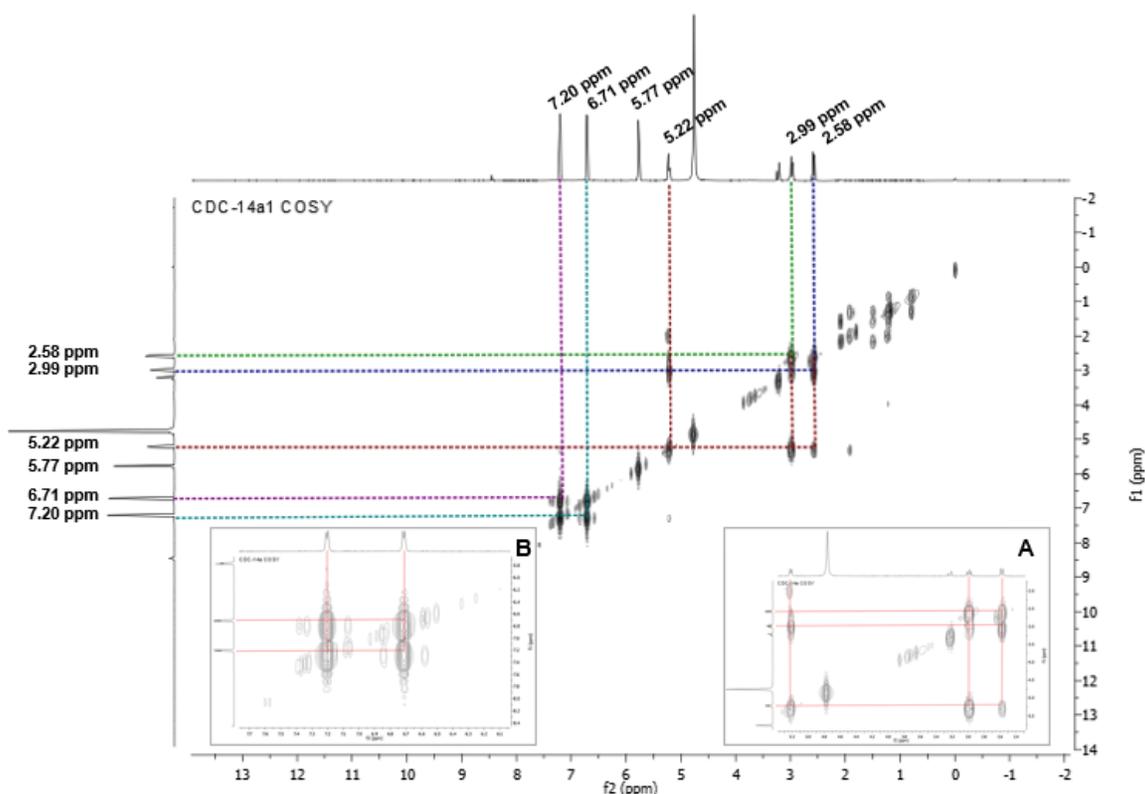
**Tabla 4.1.** Desplazamientos químicos de  $^1\text{H}$ -RMN (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) del compuesto CDC-14a1. \*

Protón	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)
H-1'	5.77 (s, 1H)
H-2'	5.22 (dd, $J = 13.1, 3.1$ Hz, 1H)
H-3'a	2.58 (dd, $J = 17.1, 2.8$ Hz, 1H)
H-3'b	2.99 (dd, $J = 17.0, 13.0$ Hz, 1H)
H-3	6.71 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H)
H-4	7.20 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H)

\*Los valores de los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se dan en partes por millón (ppm) en relación con la señal del disolvente (4.87 y 3.31 ppm); constantes de acoplamiento ( $J$ ) se dan en Hz.

#### 4.3.5.2. Espectro COSY del compuesto CDC-14a1

Las correlaciones encontradas en el análisis del espectro COSY permitieron correlacionar e identificar aspectos importantes. Por ejemplo, la interacción de los protones del metileno a 2.58 ppm ( $J = 17.1, 2.8$  Hz) y 2.99 ppm ( $J = 17.0, 13.0$  Hz) con el protón de un metino hidroxilado a 5.22 ppm ( $J = 13.1, 3.1$  Hz) (Figura 4.6). El protón de otro metino hidroxilado (s, 5.77 ppm) es el único que no tiene correlación con otro protón vecino, debido a que la constante de acoplamiento no tiene correlación alguna, lo cual sugiere que la constante de acoplamiento en este protón en particular sea influenciada por una variedad de factores como el ángulo diedro, la disposición relativa de los sustituyentes y la electronegatividad de los sustituyentes (Velasco, 1988). Asimismo, el análisis de COSY permitió confirmar la presencia de dos protones derivados de un anillo aromático en posición *orto* a 6.71 y 7.20 ppm, ambos protones con una constante de acoplamiento de  $J = 8.4$  Hz, siendo los únicos protones en el anillo aromático (Figura 4.6).

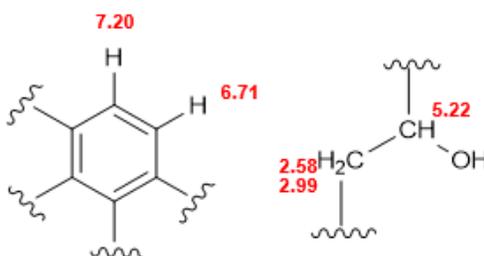


**Figura 4.6.** Correlaciones en el espectro COSY del compuesto CDC-14a1. **A.** Ampliación de correlación entre protones de un metileno ( $\delta$   $^1\text{H} = 2.58$  y  $2.99$  ppm) con un protón de un metino hidroxilado ( $\delta$   $^1\text{H} = 5.22$  ppm). **B.** Ampliación de correlación entre protones en posición *orto* del anillo aromático ( $\delta$   $^1\text{H} = 6.71$  y  $7.20$  ppm).

---

Estas señales de protones en *orto* son semejantes al compuesto hesperetina, flavonoide aislado e identificado en la flor de *Cordia sebestena* (6.84 y 6.90 ppm,  $J = 8.4$  Hz) (Prakash *et al.*, 2020). Por lo anterior, los carbonos restantes de la molécula, considerando el espectro de  $^{13}\text{C}$  (carbonos cuaternarios), son probablemente carbonos unidos a oxígeno.

Con base en la información que nos proporcionó el análisis de COSY, se pudieron obtener estructuras parciales de un anillo aromático y una cadena donde el metileno se correlaciona con un metino hidroxilado (Figura 4.7).

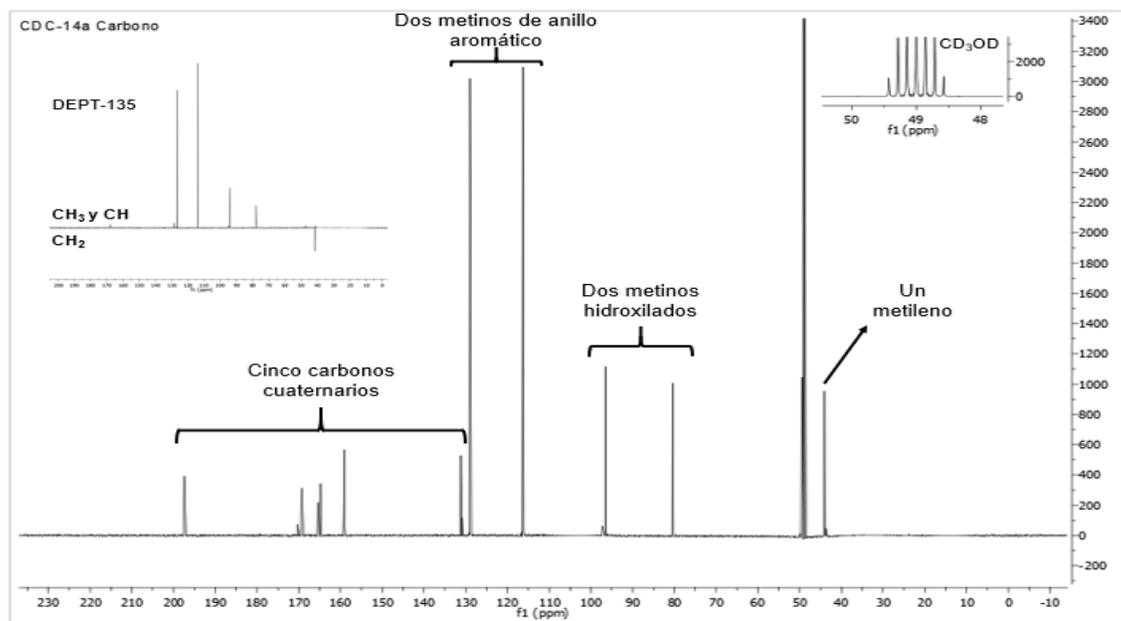


**Figura 4.7.** Estructuras parciales obtenidas a partir del espectro COSY.

#### 4.3.5.3. Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN del compuesto CDC-14a1

El análisis del espectro muestra diez señales correspondientes a diez carbonos. La señal con un desplazamiento a 44.0 ppm corresponde a un metileno ( $\text{CH}_2$ ). Por otro lado, las señales encontradas a 80.4, 96.5, 116.3 y 129.0 ppm indican cuatro metinos ( $\text{CH}$ ). De estos metinos, las señales que se encuentran por debajo de 100.0 ppm corresponden a metinos alifáticos hidroxilados, mientras que las señales arriba de 100.0 ppm indican metinos pertenecientes a anillo aromático. Estos carbonos fueron confirmados por el análisis de DEPT-135.

En la región correspondiente a cinco señales de carbonos cuaternarios (131.0 a 197.4 ppm), tal como las señales con desplazamiento a 158.9, 164.8 y 169.3 ppm, indican carbonos de anillo aromático unido a oxígeno debido a su desplazamiento a campo bajo, mientras que la señal más desplazada a campo bajo a 197.4 ppm corresponde a un carbonilo de cetona. De igual forma, estos carbonos cuaternarios son confirmados con el DEPT-135 al notar su ausencia en este espectro (Figura 4.8 y Tabla 4.2).



**Figura 4.8.** Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT-135 del compuesto CDC-14a1.

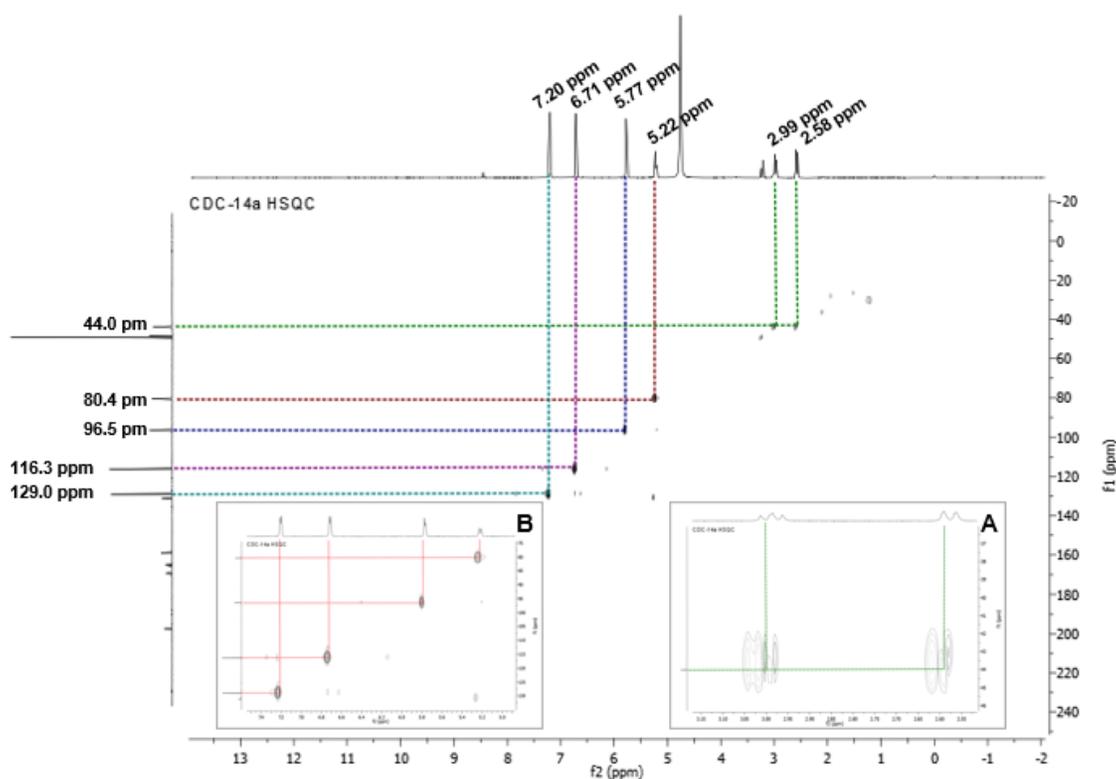
**Tabla 4.2.** Desplazamientos químicos de  $^{13}\text{C}$ -RMN (150 MHz, en  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) y DEPT-135 del compuesto CDC-14a1. \*

Carbono	$\delta$ (ppm)	DEPT-135
C-1	169.3	C (Ar)
C-2	158.9	C (Ar)
C-3	116.3	CH (Ar)
C-4	129.0	CH (Ar)
C-5	131.1	C (Ar)
C-6	164.8	C (Ar)
C-1'	96.5	CH
C-2'	80.4	CH
C-3'	44.0	$\text{CH}_2$
C-4'	197.4	$\text{C}=\text{O}$ (cetona)

\*Los valores de los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se dan en partes por millón (ppm) en relación con la señal del disolvente (49.1 ppm). Ar: perteneciente al anillo aromático.

#### 4.3.5.4. Espectro HSQC del compuesto CDC-14a1

El análisis del espectro HSQC permitió confirmar la identidad de diferentes señales, tales como los protones geminales pertenecientes al grupo metileno y que por lo tanto muestran correlaciones hacia un mismo átomo de carbono. Tal es el caso de la señal de carbono a 44.0 ppm que se correlaciona con los protones desplazados a 2.58 y 2.99 ppm (Figura 4.9), estas señales también son semejantes al compuesto hesperetina, identificado en *C. sebestena* (2.75 y 3.05 ppm) (Prakash *et al.*, 2020), coincidiendo con la de un metileno. De igual manera, existe correlación entre los átomos de carbono correspondientes a metinos, encontrados a 80.4, 96.5, 116.3 y 129.0 ppm con los protones desplazados a 5.22, 5.77, 6.71 y 7.20 ppm, respectivamente (Figura 4.9).

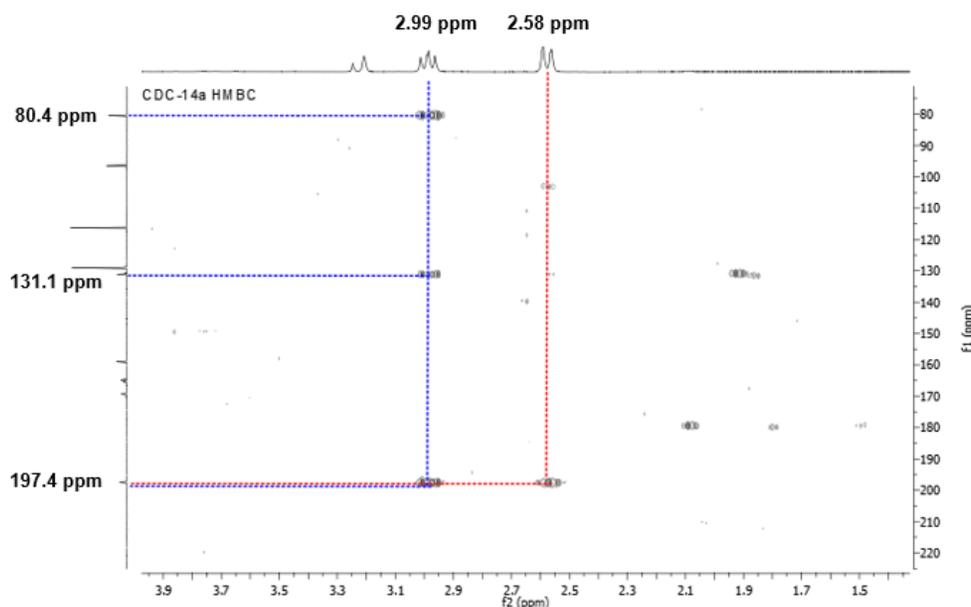


**Figura 4.9.** Correlaciones en el espectro HSQC del compuesto CDC-14a1. **A.** Correlación del metileno en el espectro entre el carbono a 44.0 ppm y los protones a 2.58 y 2.99 ppm. **B.** Correlación de metinos entre diferentes átomos de carbono y protones.

#### 4.3.5.5. Espectro HMBC del compuesto CDC-14a1

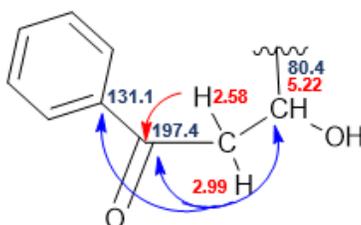
El espectro de HMBC muestra conexiones de los protones del metileno encontrados a 2.58 y 2.99 ppm, donde el primero solamente correlaciona con un carbono con desplazamiento a

197.4 ppm típico de un carbonilo perteneciente a una cetona; de igual forma, el protón a 2.99 ppm tiene interacción con este grupo carbonilo. También, este protón tiene conexión con un metino hidroxilado a 80.4 ppm y con un carbono cuaternario de anillo aromático a 131.1 ppm (Figura 4.10).



**Figura 4.10.** Región del espectro de HMBC mostrando las correlaciones entre los protones a 2.58 ppm (línea roja) y 2.99 ppm (línea azul) con diferentes átomos de carbonos.

Esto último fue importante ya que, junto con los resultados del espectro COSY, se pudo unir y construir las estructuras parciales antes mencionadas (Figura 4.7), donde se puede proponer que el grupo metileno y un grupo metino hidroxilado se unen con un carbonilo y una parte del anillo aromático (Figura 4.11).

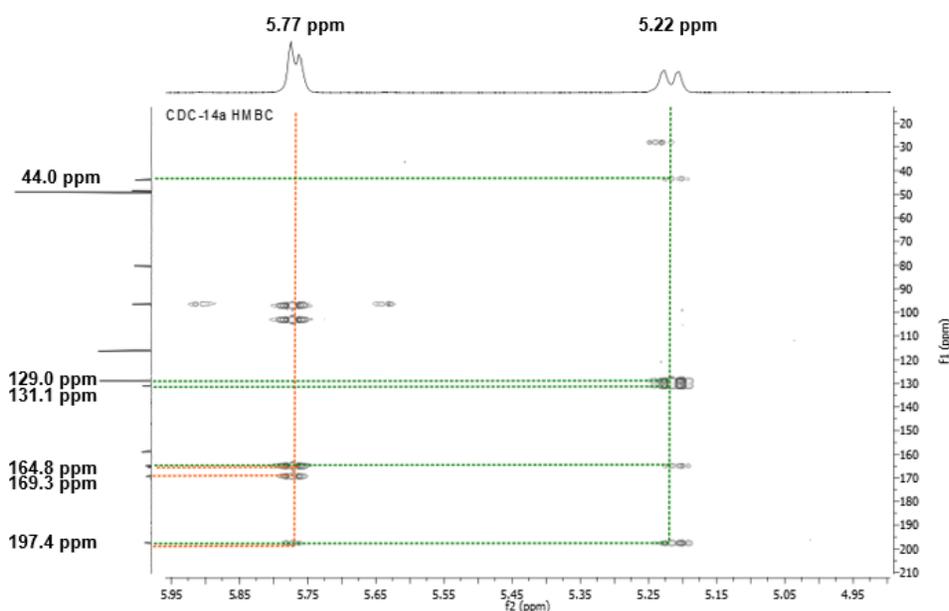


**Figura 4.11.** Primera parte de la estructura química de CDC-14a1 mostrando la correlación según el HMBC (flecha roja:  $\delta_H$  2.58, flecha azul:  $\delta_H$  2.99).

Hasta ahora se ha tomado en cuenta la señal del metileno ( $\delta_H$  2.58,  $\delta_C$  44.0) y su interacción con un metino hidroxilado ( $\delta_H$  5.22,  $\delta_C$  80.4), de los dos metinos disponibles en la molécula. Por lo tanto, se continuó analizando más a fondo las señales de ambos metinos hidroxilados. El

primer metino con desplazamiento a 5.22 ppm, tiene múltiples conexiones con el metileno a 44.0 ppm ( $\delta_H$  2.58 y 2.99), descrito anteriormente con el análisis de COSY, con un metino de anillo aromático a 129.0 ppm ( $\delta_H$  7.20), y con tres carbonos cuaternarios, uno ubicado a 197.4 ppm (carbonilo) y dos pertenecientes a anillo aromático, uno a 131.1 ppm (cuaternario) y otro a 164.8 ppm (cuaternario), que por su desplazamiento a campo bajo probablemente sea un carbono unido a oxígeno.

Por otro lado, el segundo metino a 5.77 ppm sólo tiene tres conexiones, dos con carbonos cuaternarios a 164.8 y 169.3 ppm, ambos que por su desplazamiento a campo más bajo deben estar unidos a oxígeno, y a 197.4 ppm perteneciente al carbonilo anteriormente mencionado en el espectro de  $^{13}C$  (Figura 4.12).



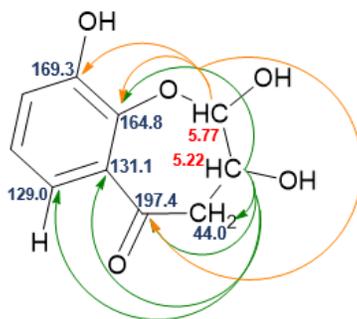
**Figura 4.12.** Región del espectro de HMBC mostrando las correlaciones entre los protones a 5.22 ppm (línea verde) y 5.77 ppm (línea amarilla) con diferentes átomos de carbonos.

Todas estas correlaciones permitieron identificar y definir la posición de cuatro de seis átomos de carbono del anillo aromático. Por otro lado, la señal a 5.22 ppm se correlaciona con dos carbonos del anillo aromático, un carbono cuaternario a 131.1 ppm y un metino a 129.0 ppm.

Por otra parte, el protón a 5.77 ppm se correlaciona con los carbonos a 164.8 y 169.3 ppm unidos a oxígeno, pertenecientes al anillo aromático. Con lo antes mencionado, se propone que el anillo aromático está unido a una parte cíclica, pues no hay metilos, confirmado anteriormente en el espectro de  $^{13}C$  y DEPT-135. No existen dobles enlaces, debido a que no

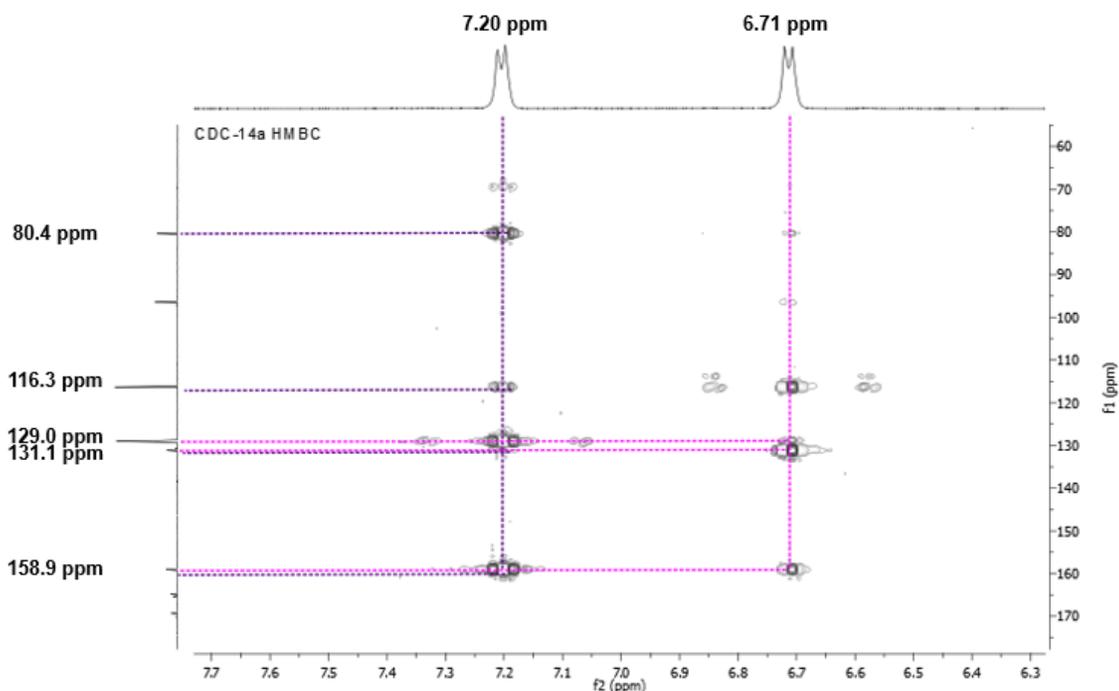
---

hay constantes de acoplamiento ( $J$ ) entre protones de naturaleza *cis* o *trans*. Así, se propone una segunda parte de la estructura química (Figura 4.13).



**Figura 4.13.** Segunda parte de la estructura química de CDC-14a1 mostrando la correlación según el HMBC (flecha verde:  $\delta_H$  5.22, flecha amarilla:  $\delta_H$  5.77).

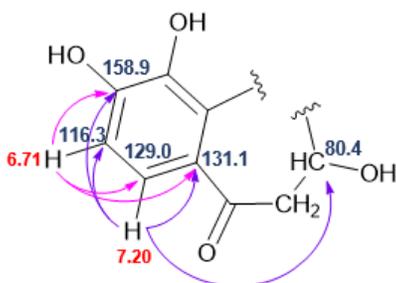
La última parte del espectro de HMBC muestra las correlaciones de los protones en posición *orto* del anillo aromático. El protón ubicado a 6.71 ppm mostró tener correlación con el metino vecino en posición *orto* (129.0 ppm) y con dos carbonos cuaternarios ubicados a 131.1 y 158.9 ppm. Mientras que el protón con un desplazamiento a 7.20 ppm mostró correlación con el metino vecino en posición *orto* (116.3 ppm), con los dos carbonos cuaternarios encontrados a (131.1 y 158.9 ppm) y con un metino hidroxilado (80.4 ppm) a cinco enlaces de distancia (Figura 4.14). Usualmente se observan correlaciones de dos a tres enlaces de distancia, sin embargo, existen reportes de compuestos con enlaces de rango muy largo de hasta cinco enlaces de distancia ( $^5J$ ), tal es el caso del compuesto 4,4-dimetilantracén-1,9,10-(4*H*)-triona y del compuesto etilcrotonato (Araya *et al.*, 2000; Araya *et al.*, 1999); estos dos compuestos, al igual que la molécula propuesta de CDC-14a1, comparten la presencia de insaturaciones como carbonilos de cetonas que pueden alcanzar una longitud mayor y, por lo tanto, presentar un rango mayor a lo establecido.



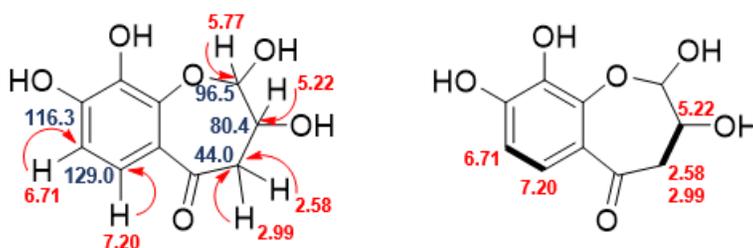
**Figura 4.14.** Región del espectro de HMBC mostrando las correlaciones entre los protones a 6.71 ppm (línea rosa) y 7.20 ppm (línea violeta) con diferentes átomos de carbonos.

Este último análisis permitió confirmar la posición de los protones aromáticos en orientación *orto* ( $J = 8.4$  Hz), debido a que ambos protones interactúan con su carbono vecino ( $\delta_{\text{H}} 6.71$  con  $\delta_{\text{C}} 129.0$  y  $\delta_{\text{H}} 7.20$  con  $\delta_{\text{C}} 116.3$ ). Este acoplamiento también se observó en el análisis de COSY mostrado en la Figura 4.6.

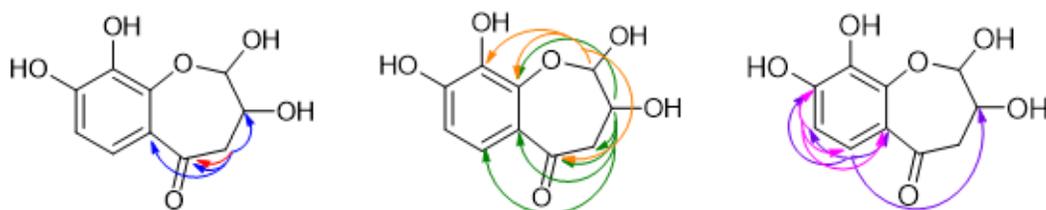
Cabe indicar que, por primera ocasión, se observó la interacción de ambos protones con el carbono cuaternario a 158.9 ppm que, por su desplazamiento a campo bajo, es otro carbono unido a oxígeno. Los análisis anteriores permitieron identificar y definir la posición de los dos protones aromáticos y de los grupos hidroxilo en la molécula, por lo que se presenta la última parte de la estructura química de la molécula propuesta (Figura 4.15) y correlaciones generales observadas en HSQC, HMBC y COSY (Figuras 4.16 y 4.17). Finalmente, en la Figura 4.18 se muestra la molécula propuesta para el compuesto CDC-14a1 y en la Tabla 4.3 se proporcionan los valores de RMN encontrados.



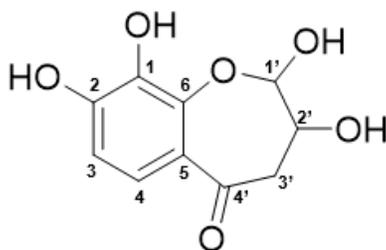
**Figura 4.15.** Tercera parte de la estructura química de CDC-14a1 mostrando las correlaciones según el HMBC (flecha rosa:  $\delta_H$  6.71, flecha violeta:  $\delta_H$  7.20).



**Figura 4.16.** Correlaciones de HSQC ( $\rightarrow$ ) y COSY ( $\leftarrow$ ) de CDC-14a1.



**Figura 4.17.** Correlaciones de HMBC ( $\rightarrow$ ) de CDC-14a1.



**Figura 4.18.** Estructura propuesta para el compuesto CDC-14a1.

Con base en una revisión hecha en la literatura con el apoyo de bases científicas (*Scifinder*, *ScienceDirect* y *PubMed*), se pudo ver que existen conocimientos previos acerca de la fitoquímica y actividad biológica de distintos compuestos del género *Cordia*, sin embargo, no se encontró reportes de este metabolito secundario, por lo cual es nuevo, y es el primero en ser aislado e identificado de la corteza de *C. dodecandra*.

**Tabla 4.3.** Asignaciones del compuesto CDC-14a1 basadas en los datos espectroscópicos de RMN. \*

No.	<sup>1</sup> H, δ	<sup>1</sup> H, δ	<sup>13</sup> C, δ			
		COSY	<sup>13</sup> C	DEPT-135	HSQC	HMBC
C-1	–	–	169.3	–	–	–
C-2	–	–	158.9	–	–	–
C-3	6.71	7.20	116.3	CH	116.3	129.0, 131.1, 158.9
C-4	7.20	6.71	129.0	CH	129.0	80.4, 116.3, 131.4, 158.9
C-5	–	–	131.1	–	–	–
C-6	–	–	164.8	–	–	–
C-1'	5.77	–	96.5	CH	96.5	164.8, 169.3, 197.4
C-2'	5.22	2.58, 2.99	80.4	CH	80.4	44.0, 129.0, 131.1, 164.8, 197.4
C-3'	2.58	2.99, 5.22	44.0	CH <sub>2</sub>	44.0	197.4
	2.99	2.58, 5.22				80.4, 131.1, 197.4
C-4'	–	–	197.4	–	–	–

\* Los valores de los desplazamientos químicos (δ) se dan en partes por millón (ppm).

---

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

#### 5.1. CONCLUSIONES

1. Los extractos metanólicos de la corteza de *Cordia dodecandra*, de la hoja de *Melochia nodiflora* y de la planta entera de *Ruellia nudiflora*, tienen buena actividad antibacteriana al presentar halos de inhibición contra cepas bacterianas patógenas, siendo *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* sp., *Brucella* sp. y *Klebsiella* sp. las cepas más susceptibles.
2. La fracción CDC-2b (DCM) de *C. dodecandra* fue activa contra dos de las cinco cepas bacterianas, mientras que la fracción CDC-2c (AcOEt) se destacó por ser activa contra cuatro de las cinco cepas bacterianas evaluadas.
3. Los seis extractos metanólicos de las especies *C. dodecandra* y *M. nodiflora* presentan propiedades antioxidantes al demostrar buenos resultados en la cuantificación de diferentes compuestos fenólicos.
4. Los extractos metanólicos de corteza de *C. dodecandra* y hoja de *M. nodiflora* poseen mayor actividad antioxidante al reducir radicales libres como DPPH, ABTS y FRAP, en comparación a otros extractos vegetales.
5. El compuesto CDC-14a1 aislado de *C. dodecandra* mostró tener actividad antioxidante al reducir el radical DPPH durante el bioensayo de bioautografía directa.
6. La molécula propuesta del compuesto CDC-14a1, caracterizada estructuralmente mediante varios métodos espectroscópicos (IR, EM y RMN), constituye un compuesto novedoso para el género *Cordia* y es el primer metabolito secundario aislado e identificado en la corteza de la especie vegetal *C. dodecandra*, de acuerdo con una búsqueda realizada en la base de datos *SciFinder*, en la cual no hay registros de reportes en la literatura de metabolitos aislados de *C. dodecandra*.

---

## 5.2. PERSPECTIVAS

1. Realizar el análisis de masas de alta resolución del compuesto CDC-14a1.
2. Evaluar el compuesto identificado CDC-14a1 y antibióticos de referencia contra distintas cepas de bacterias patógenas del ser humano.
3. Así mismo, evaluar la actividad antioxidante del compuesto identificado CDC-14a1 contra otros radicales libres, con la finalidad de tener un conocimiento más amplio acerca de su actividad biológica.
4. Continuar con el aislamiento y purificación cromatográfica de las subfracciones derivadas de la fracción activa CDC-2c (AcOEt) de *C. dodecandra*.
5. Realizar el aislamiento cromatográfico a partir de la fracción activa CDC-2b (diclorometano), lo cual permitiría contribuir a la identificación de otros metabolitos secundarios con actividad biológica de la especie *C. dodecandra*.

---

## BIBLIOGRAFIA

- Abdel-Aleem, E. R., Attia Eman, Z., Farag, F. F., Samy, M. N. y Desoukey, S. Y. (2019). Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant, anti-inflammatory, analgesic, antipyretic and antidiabetic activities of *Cordia myxa* L. *Clinical Phytoscience*, 1, 1-9.
- Addis, M. y Sisay, D. (2015). A review on major food borne bacterial illnesses. *Journal of Tropical Diseases*, 3 (4), 1-7.
- Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S. y Tattini, M. (2012). Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant Science*, 196, 67-76.
- Anjali, B. G., Sunil, A. N. y Anuja, N. P. (2011). Use of apigenin from *Cordia dichotoma* in the treatment of colitis. *Fitoterapia*, 7, 1052-1056.
- Al Muqarrabun, L. y Ahmat, N. (2015). Medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of family Sterculiaceae: a review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 92, 514-530.
- Al-Musayeib, N., Perveen, S., Fatima I., Nasir, M. y Hussain A. (2011). Antioxidant, anti-glycation and anti-inflammatory activities of phenolic constituents from *Cordia sinensis*. *Molecules*, 12, 10214-10226.
- Alonso-Castro, A. J., Zapata-Morales, J. R., Ruiz-Padilla, A. J., Solorio-Alvarado, C. R., Rangel-Velázquez, J. E., Cruz-Jiménez G. y Ortiz-Andrade, R. (2017). Use of medicinal plants by health professionals in Mexico. *Journal of Ethnopharmacology*, 198, 81-86.
- Alós, J. (2015). Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33 (10), 692-699.
- Araya-Maturana, R., Cassels, B., Delgado-Castro, T., Hurtado-Guzmán, C. y Jullian, C. (1999). Complete assignment of the  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of a series of 5,8-disubstituted-4,4-dimethylantracene-1,9,10(4H)-triones. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 37, 312-316.
- Araya-Maturana, R., Cardona, W., Delgado-Castro, T. y Jullian, C. (2000). Complete assignment of the  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of 4,4-dimethylantracene-1,9,10(4H)-trione and

---

the regioisomeric monomethyl derivatives. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 38, 135-136.

Arirudran, B., Saraswathy, A. y Krishnamurthy, V. (2011). Antimicrobial activity of *Ruellia tuberosa* L. (whole plant). *Pharmacognosy Journal*, 3 (23), 91-95.

Assefa, B. A., Mohammedbrhan, A., Zewdneh, S., Desalegn, A. G., Getnet, M. A. y Eshetie, M. B. (2016). Antidiarrheal activity of methanolic extract of the root bark of *Cordia africana*. *Journal of Experimental Pharmacology*, 8, 53-59.

Barth, A. (2007). Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1767, 1073-1101.

Bathia A, Z. S. (2007). *Staphylococcus aureus* enterotoxins: a review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 1 (3), 188-197.

Baudillo-Rondón, J. (2007). Estudio taxonómico del género *Melochia* L. (Sterculiaceae) en el estado Sucre, Venezuela. *Revista Científica UDO Agrícola*, 7 (1), 122-137.

Benzie, I. y Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 236, 70-76.

Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.

Bolton, S., Null, G., y Troetel, W. (1982). The medicinal uses of garlic fact and fiction. *American Pharmacy*, 22 (8), 40-43.

Bothwell, J. H. F. y Griffin, J. L. (2011). An introduction to biological nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Biological Reviews*, 86, 493-510.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. y Berset, C. (1994). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28, 25-30.

Caballero, J., Casas, A., Cortés, L., y Mapes, C. (1998). Patrones en el conocimiento, uso y manejo de plantas en pueblos indígenas de México. *Estudios Atacameños. Arqueología y Antropología Surandinas*, 3 (16), 181-195.

- 
- Cañigueral, S., Dellacassa, E. y Bandoni, A. L. (2003). Medicinal plants and phytotherapy: dependence indicators or development issues? *Acta Farmaceutica Bonaerense*, 22 (3), 265-277.
- Cao, G., Alessio, H. M. y Cutler, R. G. (1993). Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 14 (3), 303-311.
- Cervantes-Garcia, Garcia-Gonzalez y Salazar-Schettino. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Patología Clínica*, 61 (1), 28-40.
- Cetina-Chan, A., Mendéz-González, M., Pacheco-Garrido, G., Manus-Gómez, M. P., Dorantes-Euan, A., Torres-Avilez, W. y Duran-García, R. (2015). Guía de la colección de Plantas Medicinales del Jardín *Tsu'U Kaax U Bu' Tuni Ti Tsak* (El cerro de las medicinas). Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C., Mérida, Yucatán, México, pp. 123
- Chandra, H., Bishnoi, P., Yadav, A., Patni, B., Mishra, A. y Nautiyal, A. (2017). Antimicrobial resistance and the alternative resources with special emphasis on plant-based antimicrobials: a review. *Plants*, 6 (4), 1-16.
- Chiang, C. J., Kadouh, H. y Zhou, K. (2013). Phenolic compounds and antioxidant properties of gooseberry as affected by *in vitro* digestion. *LWT-Food Science and Technology*, 51 (2), 417-422.
- Chopade, V. V, Phatak, A. A., Upaganlawar, A. B. y Tankar, A. A. (2008). Green tea (*Camellia sinensis*): chemistry, traditional, medicinal uses and its pharmacological activities-a review. *Pharmacognosy Reviews*, 2 (3), 157-162.
- Ciocan, I. D. y Bara, I. I. (2007). Plant products as antimicrobial agents. *Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară*, 8, 151-156.
- Comisión Nacional de Arbitraje Médico (2017). Patógenos prioritarios para la investigación y desarrollo de nuevos antimicrobianos. <http://www.conamed.gob.mx/gobmx/boletin/pdf/boletin11/patogenos.pdf> [Acceso 14 octubre 2020]
- Coronado, M., Vega, S., Gutiérrez, R., Vázquez, M. y Radilla, C. (2015). Antioxidants: present perspective for the human health. *Revista Chilena de Nutrición*, 42 (2), 206-212.

- 
- Correia Da Silva, T., Souza, V. K., Da Silva, A. P., Lyra Lemos R. P. y Conserva, M. L. (2010). Determination of the phenolic content and antioxidant potential of crude extracts and isolated compounds from leaves of *Cordia multispicata* and *Tournefortia bicolor*. *Pharmaceutical Biology*, 48 (1), 63-69.
- Cos, P., Vlietinck, A., Berghe, D. y Maes, L. (2006). Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger *in vitro* "proof-of-concept." *Journal of Ethnopharmacology*, 106 (3), 290-302.
- Coskun, O. (2016). Separation techniques: chromatography. *Northern Clinics of Istanbul*, 3 (2), 156-160.
- De Albuquerque, C. H., Tavares, J. F., De Oliveir, S. L., Silva, T. S., Gonçalves, G. F., De Oliveira Costa, V. C. y Da Silva, M. S. (2014). Flavonoides glicosilados de *Erythroxylum pulchrum* A. St.-Hil. (Erythroxylaceae). *Quimica Nova*, 37 (4), 663-666.
- De Stefano, R. D., Morillo, I. R., Tapia-Muñoz, J. L., Hernández-Aguilar, S., Can, L. L., Cetzalix, W. y Fernández-Concha, G. C. (2018). Aspectos generales de la flora vascular de la península de Yucatán mexicana. *Botanical Sciences*, 96 (3), 515-532.
- De Oliveira, J. C. S., da Camara, C. A. G. y Schwartz, M. O. E. (2007). Volatile constituents of the stem and leaves of *Cordia* species from mountain forests of Pernambuco (north-eastern Brazil). *Journal of Essential Oil Research*, 19 (5), 444-448.
- De Sousa Nogueira, T. B., de Sousa Nogueira, R. B., de Silva, D. A., Tavares, J. F., de Oliveira, E. L., de Oliveira Pereira, F., de Souza Fernandes, M. M., de Medeiros F. A., do Socorro Ferreira, R., Braz Filho, R., da Silva, Maciel, J. K. y de Souza, M. F. (2013). First chemical constituents from *Cordia exaltata* Lam. and antimicrobial activity of two neolignans. *Molecules*, 18 (9), 11086-11099.
- Dettrakul, S., Surerum, S. Rajviroongit, S. y Kittakoop, P. (2009). Biomimetic transformation and biological activities of globiferin, a terpenoid benzoquinone from *Cordia globifera*. *Journal of Natural Products*, 72 (5), 861-865.
- DellaPenna, D. y Pogson, B. J. (2006). Vitamin synthesis in plants: tocopherols and carotenoids. *Annual Review of Plant Biology*, 57 (1), 711-738.

- 
- Dewanjee, S., Gangopadhyay, M., Bhattacharya, N., Khanra, R. y Dua, T. K. (2015). Bioautography and its scope in the field of natural product chemistry. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 5 (2), 75-84.
- Dowd, L. E. (1979). Spectrophotometric determination of quercetin. *Analytical Chemistry*, 31, 1184-1187.
- Durán-García, R., Méndez-González, M. y Larqué-Saavedra, A. (2016). The biodiversity of the Yucatan peninsula: a natural laboratory. *Progress in Botany*, 78 (130), 237-258.
- Durst, H. D. y Gokel G. W. (2007). *Química Orgánica Experimental*. Reverté, S. A. Barcelona, España. pp. 129-133.
- Eltayeib, A. A. e Ishag, W. (2015). Phytochemical screening, antimicrobial, antioxidant and cytotoxicity activities of bark's crude extracts of *Cordia sinensis*. *Advancement in Medicinal Plant Research*, 3 (2), 39-45.
- Evans, W. y Trease, G. (2009). *Pharmacognosy*. Saunders Ltd, London, pp. 600.
- Fernandes de Oliveira, A. M., Sousa Pinheiro, L., Souto Pereira, C. K., Neves Matias, W., Albuquerque Gomes, R., Souza Chaves, O., Vanderlei de Souza M. F., Nóbrega de Almeida, R. y Simões de Assis, T. (2012). Total phenolic content and antioxidant activity of some Malvaceae family species. *Antioxidants*, 1 (1), 33-43.
- Fernández, L. R., Cirigliano, A., Fabani, M. P., Lima, B., Alberti, S., Kramer, F., Tapia, A., Cabrera, G., Palermo J. y Sánchez, M. (2013). Antioxidant neolignans from *Cordia americana*. *Planta Medica*, 79 (18), 1724-1729.
- Ferreira Matias, E. F., Ferreira Alves, E., do Nascimento Silva, M. K., de Alencar Carvalho, V. R., Melo Coutinho, H. D. y Martins da Costa, J. G. (2015). The genus *Cordia*: botanists, ethno, chemical and pharmacological aspects. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25 (5), 542-552.
- Food Safety Education conference (2010). Infective doses and pathogen carriage. [https://pregunteleakaren.gov/wps/wcm/connect/0bc4b079-8d90-445c-9aab43fde153642a/Slides\\_FSEC\\_JGreig\\_Doses.pdf?MOD=AJPERES&CACHEID=7510a54d08c7-4603-93a0-11c640903ac6](https://pregunteleakaren.gov/wps/wcm/connect/0bc4b079-8d90-445c-9aab43fde153642a/Slides_FSEC_JGreig_Doses.pdf?MOD=AJPERES&CACHEID=7510a54d08c7-4603-93a0-11c640903ac6) [Acceso 11 noviembre 2020]

- 
- Fouseki, M. M., Damianakos, H., Karikas, G. A., Roussakis, C., Gupta, M. P. y Chinou I. (2016). Chemical constituents from *Cordia alliodora* and *C. collococa* (Boraginaceae) and their biological activities, *Fitoterapia*, 115, 9-14.
- Foyer, C. H. y Shigeoka, S. (2011). Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis. *Plant Physiology*, 155 (1), 93-100.
- GE Healthcare, Life Sciences. (2014). Size exclusion chromatography principles and methods. Appendix 1, 83-87.
- Goodman, L. y Gilman, A. (2007). Las bases farmacológicas de la terapéutica. McGraw-Hill Interamericana, Connecticut, pp. 2017.
- Gupta, R. y Gupta, G. (2018). Isolation and characterization of flavonoid glycoside from *Cordia obliqua* Willd. Leaf. *International Journal of Green Pharmacy*, 12 (2), 73-79.
- Guzmán-Hernández, R. L., Contreras-Rodríguez, A., Ávila-Calderón, E. D. y Morales-García, M. D. (2016). Brucelosis: zoonosis de importancia en México. *Revista Chilena de Infectología*, 33 (6), 656-662.
- Harvey, A., Edrada-Ebel, R. y Quinn, R. (2015). The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics area. *Nature Reviews Drug Discovery*, 14 (2), 1-52.
- Heinrich, M. (2010). Ethnobotany and natural products: the search for new molecules, new treatments of old diseases or a better understanding of indigenous cultures? *Frontiers in Medicinal Chemistry*, 2, 431-450.
- Hernández, C., Aguilera, M. G. y Castro, G. (2011). Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 31 (4), 137-151.
- Hernandez, T., Canales, M., Teran, B., Avila, O., Duran, A., Garcia, A. y Avila, G. (2007). Antimicrobial activity of the essential oil and extracts of *Cordia curassavica* (Boraginaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 111 (1), 137-141.
- Higdon, J. y Frei, B. (2003). Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43 (1), 89-143.

- 
- Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. American Society for Microbiology. Author Information, 1-23.
- Isa, A. I., Saleh, M. I., Abubakar A., Dzoyem, J. P., Adebayo, S. A., Musa, I., Sani U. F. y Daru P. A. (2016). Evaluation of anti-inflammatory, antibacterial and cytotoxic activities of *Cordia africana* leaf and stem bark extracts. Bayero Journal of Pure and Applied Sciences, 9 (1), 228-235.
- Katiyar, C., Kanjilal, S., Gupta, A. y Katiyar, S. (2012). Drug discovery from plant sources: An integrated approach. AYU (An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda), 33 (1), 10.
- Lazo, W. (1991). Antimicrobianos producidos por plantas. Boletín Micológico, 6 (1-2), 37-39.
- López Vargas, J. A. y Echeverri Toro, L. M. (2010). *K. pneumoniae*: ¿la nueva “superbacteria”? Patogenicidad, Epidemiología y Mecanismos de Resistencia. 23 (2), 157-165.
- Maroyi, A. (2013). Traditional use of medicinal plants in south-central Zimbabwe: Review and perspectives. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 9 (1), 1-18.
- Matias, E. F.F., Alves, E. F., Silva, K. N., Carvalho, R. A., Medeiros, C. R., Santos, A. V., Bitu, C. N., Souza, E. S., Figueredo, F. G., Boligon, A. A., Athayde, M. L., Costa G. M. y Coutinho D. M. (2016). Potentiation of antibiotic activity of aminoglycosides by natural products from *Cordia verbenacea* DC. Microbial Pathogenesis, 95, 111-116.
- Maurya, A., Kafani, K., Verma, S. C., Singh, R. y Srivastava, A. (2018). Vacuum liquid chromatography: simple, efficient and versatile separation technique for natural products. Organic and Medicinal Chemistry, 7 (2), 1-3.
- Méndez-González, M., Borges-Argáez, R., Peraza-Sánchez, S. R., Dorantes-Euan, A., Tapia-Muñoz, J. L., y Duran-García, R. (2012). Flora medicinal de los mayas peninsulares. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C. Mérida, Yucatán, México, pp. 264.
- Michielin, E. M., de Lemos, W. L., Ferreira, E. A., Pedrosa, R. C. y Ferreira, R. S. (2011). Radical-scavenging activity of extracts from *Cordia verbenacea* DC. obtained by different methods. Journal of Supercritical Fluids, 56 (1), 89-96.
- Miguel, M., Garcia-Bores, A., Meraz, S., Piedra, E., Vila, M., Serrano, R., Orozco, J., Jiménez,

- 
- M., Chavarría, J., Peñalosa, I., Ávila, J. y Hernández T. (2016). Antimicrobial activity of essential oil of *Cordia globosa*. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 10 (11), 179-184.
- Monroy-Vázquez, A., González-González, R., García-Martínez, I., Totosaus, A. y de la Fuente-Salazar, K. (2007). Actividad antimicrobiana de extractos de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y chile ancho (*Capsicum annuum* L. *grossum sendt*). Investigación Multidisciplinaria Universitaria, 6 (6), 112-116.
- Muthumani, P., Venkatraman, S., Meera, R. y Kameswari, B. (2009). Phytochemical investigation of *Ruelia patula*, *Luffa cylindrica* and *Llephantopus scaber*. Der Pharma Chemica, 1 (1), 210-218.
- Nariya, P. B., Bhalodia, N. R., Shukla, V. J. y Nariya, M. B. (2010). *In vitro* evaluation of antimicrobial and antifungal activity of *Cordia macleodii* Bark. (Hook. F. & Thomson). International Journal of PharmTech Research, 2 (4), 2522-2526.
- Nariya, P. B., Shukla, V. J., Acharya, R. N. (2012). Phytochemical screening and *in vitro* evaluation of free radical scavenging activity of *Cordia macleodii* bark (Hook. F. y Thomson). Free Radicals and Antioxidants, 2 (3), 36-40.
- Nariya, P. B., Nayan, R. B., Shukla, V. J., Acharya, R. N., Nariya, M. B. (2013). *In vitro* evaluation of antioxidant activity of *Cordia dichotoma* (Forst.) bark. AYU (An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda), 34 (1), 124-127.
- Núñez-Sellés, A. J. (2011). Antioxidant therapy, oxidative stress and antioxidant products: challenges and opportunities. Revista Cubana de Salud Pública, 21 (37), 644-660.
- Okeke, I. N., Laxminarayan, R., Bhutta, Z. A., Duse, A. G., Jenkins, P., Brien, T. y Pablos-Mendez, A. (2005). AMR Resistance in Developing Countries, 5, 481-493.
- Okusa, P. N., Penge, O., Devleeschouwer, M. y Duez, P. (2007). Direct and indirect antimicrobial effects and antioxidant activity of *Cordia gillettii* De Wild (Boraginaceae). Journal of Ethnopharmacology, 112 (3), 476-481.
- Okusa, P. N., Stévignya, C., Néвраumonta, M., Gelbckec, M., Van Antwerpenc, P., Braekmana, J. C., Due, P. (2014). Ferulaldehyde and lupeol as direct and indirect antimicrobial

---

compounds from *Cordia gillettii* (Boraginaceae) root barks. Natural Product Communications, 9 (5), 619-622.

- OMS. (2017). Lista de prioridad global de bacterias resistentes a los antibióticos para guiar la investigación, el descubrimiento y el desarrollo de nuevos antibióticos. (Actualizado 27 de febrero 2017). Disponible en <https://www.who.int/es/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> [Acceso mayo 2019]
- OMS. (2017). Enfermedades diarreicas (Actualizado 2 de mayo 2017). Disponible en <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease> [Acceso mayo 2019]
- OMS. (2018a). *E. coli*. (Actualizado 7 de febrero 2018). Disponible en <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli> [Acceso mayo 2019]
- OMS. (2018b). Resistencia a los antibióticos. (Actualizado 5 de febrero 2018). Disponible en <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/es/%0D> [Acceso mayo 2019]
- Osho, A., Chiagoziem, A., Adeosun, C. B., Tolu, O. y Olubunmi, A. (2016). Phytochemical, sub-acute toxicity and antibacterial evaluation of *Cordia sebestena* leaf extracts. Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology, 27 (2), 163-170.
- Oza, M. J. y Kulkarni, Y. A. (2017). Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of the medicinal species of the genus *Cordia* (Boraginaceae). Journal of Pharmacy and Pharmacology, 69 (7), 755-789.
- Palaksha, M. N., Ravishankar, K. y Girijasastry, V. (2013). Preliminary phytochemical screening and *in-vitro* free radical scavenging activity of *Melochia corchorifolia* plant extracts. International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry, 3 (2), 378-383.
- Palaksha, M. N., Ravishankar, K. y Girijasastry, V. (2016). Comparative *in vitro* antioxidant activity on *Melochia corchorifolia*, *Sida acuta* and *Saccharum officinarum* leaf extracts and their phenolic contents. Saudi Journal of Medical and Pharmaceutical Sciences, 2 (8), 198-204.
- Pandhair, V. y Sekhon, B. S. (2006). Reactive oxygen species and antioxidants in plants: An

- 
- overview. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 15 (2), 71-78.
- Parks, J., Gyeltshen, T., Prachyawarakorn, V., Mahidol, C., Ruchirawat, S. y Kittakoop, P. (2010). Glutarimide alkaloids and a terpenoid benzoquinone from *Cordia globifera*. *Journal of Natural Products*, 73 (5), 992-994.
- Pasquini, C. (2003). Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 14, 198-219.
- Pérez, M. y Mota, M. (2010). Morfología y estructura bacteriana. *Revista de Actualización Clínica Investiga*, 49, 1-9.
- Prakash, S., Elavarasan, N., Subashini, K., Kanaga, S., Dhandapani, R., Sivanandam, M., Kumaradhas, P., Thirunavukkarasu, C. y Sujatha, V. (2020). Isolation of hesperetin - a flavonoid from *Cordia sebestena* flower extract through antioxidant assay guided method and its antibacterial, anticancer effect on cervical cancer via *in vitro* and *in silico* molecular docking studies. *Journal of Molecular Structure*, 1207 (127751), 1-12.
- Pumarola, A., Rodríguez-Torres, A., Garcia-Rodríguez, J. A. y Piédrola-Angulo, G. (1987). *Microbiología y Parasitología Médica*. Salvat, Barcelona, pp. 909.
- Rao, B.G., Rao, Y. V. y Rao, T. M. (2013). Hepatoprotective and antioxidant capacity of *Melochia corchorifolia* extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 6 (7), 537-543.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. y Rice-Evans, C. (1998). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
- Ridhay, A., Noor, A., Soekamto, N. H., Harlim, T., Altena, I. y Stapf, H. (2012). A stigmasterol glycoside from the root wood of *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var, *degrabata* K. *Indonesian Journal of Chemistry*, 12 (1), 100-103.
- Ringuelet, J. y Viña, S. (2013). *Productos naturales vegetales*. Editorial la Universidad de la Plata. Buenos Aires, Argentina, 4-10.
- Ríos, J. L. y Recio, M. C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100 (1-2), 80-84.

- 
- Salazar-Aranda, R., Pérez-López, L. A., López-Arroyo, J., Alanís-Garza, B. A. y Waksman, N. (2011) Antimicrobial and antioxidant activities of plants from northeast of Mexico. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 1-6.
- Samy M. N., Khalil H. E., Sugimoto S., Matsunam K. y Otsuka H. (2011). Three new flavonoid glycosides, byzantionoside B 6'-O-sulfate and xyloglucoside of (Z)-hex-3-en-1-ol from *Ruellia patula*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 59 (6), 725-729.
- Samy, M. N., Khalil, H. E., Wanas, A. S., Sugimoto S., Matsunam, K. y Otsuka, H. (2013). Chemical constituents from the leaves of *Ruellia tuberosa*. *Chemistry of Natural Compounds*, 49, 175-176.
- Sarker, S. D., Latif, Z. y Gray, A. I. (2012). Natural products isolation: an overview. *Natural Products Isolation*, 864, 1-25.
- Sertie, J. A. A., Basile, A. C., Panizza, S., Matida, A. K. y Zelnik, R. (1990). Anti-inflammatory activity and sub-acute toxicity of artemetin. *Planta Medica*, 56 (1), 36-40.
- Shakya, A. K. (2016). Medicinal plants: future source of new drugs. *Asian Journal of Microbiology. Biotechnology and Environmental Sciences*, 8 (1), 57-59.
- Shebis, Y., Iluz, D., Kinel-Tahan, Y., Dubinsky, Z. y Yehoshua, Y. (2013). Natural antioxidants: function and sources. *Food and Nutrition Sciences*, 4 (6), 643-649.
- Silverstein, R. M., Webster, F. X. y Kiemle, D. J. (2005). *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 7<sup>th</sup> edition. John Wiley y Sons, INC. United States of America.
- Sindhi, V., Gupta, V., Sharma, K., Bhatnagar, S., Kumari, R. y Dhaka, N. (2013). Potential applications of antioxidants-a review. *Journal of Pharmacy Research*, 7 (9), 828-835.
- Singleton, V. L. y Rossi, J. A. J. (1985). Colorimetry to total phenolics with phosphomolybdic acid reagents. *American Journal of Enology and Viniculture*, 16, 144-158.
- Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines (SECyTA) (2014). [Online] (Actualizado 2014). Disponible en: <https://www.secyta.es/es/node/10> [Acceso septiembre 2021].
- Sun, Y., Yang, C. y Tsao, R. (2017). Nomenclature and general classification of antioxidant activity/capacity assays. *Measurement of antioxidant activity and capacity: Recent*

---

Trends and Applications, 1, 1-19.

Tafur, D., Villegas, V. y Torres, A. (2008). Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Infectio*, 12 (3), 217-226.

Tlili, N., Elfalleh, W., Hannachi, H., Yahia, Y., Khaldi, A., Ferchichi, A. y Nasri, N. (2013). Screening of natural antioxidants from selected medicinal plants. *International Journal of Food Properties*, 16 (5), 1117-1126.

Velasco, D. (1988). Estudio teórico experimental de cetoximas y aldonitrilos paracetilados. Tesis de Doctorado. Universitat de Barcelona, España. pp. 273.

Viesca, C., Aranda A., Sánchez G., Ramos, M. y Sanfilippo J. (2003). La materia médica en el *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, 46 (1), 12-17.

Villaseñor, J. L. (2016). Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87, 559-902.

Williams, D. H. y Fleming, I. (1995). *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*. London: McGraw-Hill.

Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J y Li, H. (2017). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: extraction, assessment and resources. *International Journal of Molecular Sciences*, 18 (1), 20-31.

---

## ANEXOS

### Anexo 1

Debido a que la fitoquímica y farmacología de *Cordia dodecandra* está sin explorar, se han elaborado las Tablas A1 y A2 con estudios relacionados a distintas especies pertenecientes al género *Cordia*, tanto a nivel químico como farmacológico, con la finalidad de familiarizarse con las clases de metabolitos secundarios que podrían estar presentes en la especie vegetal *C. dodecandra*, objeto de estudio en el presente trabajo.

**Tabla A1.** Actividad biológica de extractos y compuestos aislados del género *Cordia*.

Espece (nombre común)	Usos en medicina tradicional	Parte vegetal utilizada	Actividad biológica	Tipo y/o compuestos químicos	Referencia
<i>C. africana</i> Lam. (teca de Sudán)	Enfermedad hepática, amebiasis, dolor de estómago, diarrea	Corteza de raíz	No indica	Fenoles, flavonoides, terpenoides, saponinas	Assefa <i>et al.</i> , 2016
		Hoja y corteza	Antioxidante <i>S. aureus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. typhi</i>	Fenoles, flavonoides	Isa <i>et al.</i> , 2015
<i>C. americana</i> L. (guayaibí)	Inflamación y heridas	Corteza	Antioxidante <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>Y. enterocolitica</i> , <i>S. aureus</i>	Rufescenólidos B, C, D, ácidos yunnaneicos I y J	Fernández <i>et al.</i> , 2013
<i>C. boissieri</i> DC. (anacahuita)	Tos, bronquitis, tuberculosis, fiebre, neumonía	Flor	Antioxidante <i>S. aureus</i>	No indica	Salazar-Aranda <i>et al.</i> , 2011
		Fruto	<i>S. aureus</i>	Ácido oleico, ácido linoleico	Alanis-Guzmán <i>et al.</i> , 1998
<i>C. collococa</i> L.	Enfermedades pulmonares, contusiones,	Hoja	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>E.</i>	Afzelin y quercitrina	Fouseki <i>et al.</i> , 2016

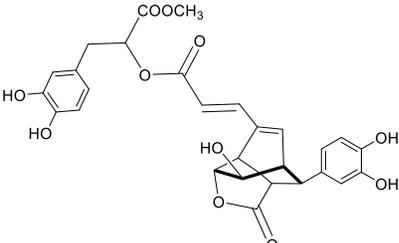
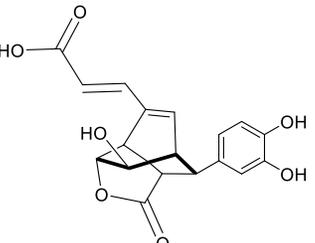
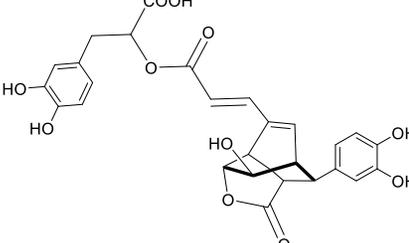
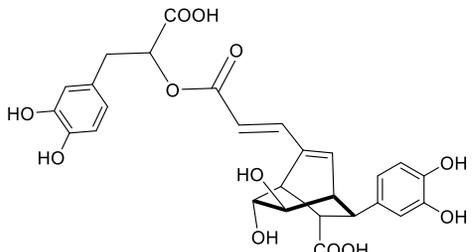
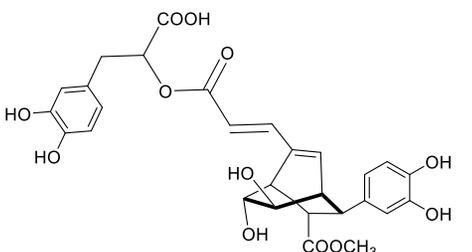
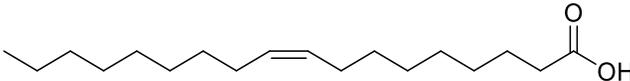
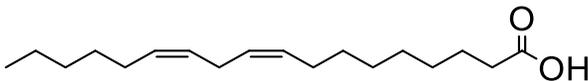
	hinchazón		<i>cloacae, K. pneumoniae, E. coli</i>		
<i>C. curassavica</i> Jacq. (barredor)	Resfriado, tos, inflamación, dolor de cabeza, afecciones gastrointestinales, problemas de piel	Hoja, tallo	No indica	Aceites esenciales	De Oliveira <i>et al.</i> , 2007
		Partes aéreas	<i>S. aureus, S. epidermidis, V. cholerae</i>		Hernández <i>et al.</i> , 2007
<i>C. dichotoma</i> Forster (bohkar)	Fiebre, hemorragias, envenenamiento de araña, dispepsia, diarrea, colitis, sensación de quemadura	Corteza	<i>E. coli, P. aeruginosa, S. pyogenes, S. aureus</i>	Alcaloides, coumarinas, flavonoides, esteroides, taninos	Nariya <i>et al.</i> 2011
			Antioxidante	Apigenina	Anjali <i>et al.</i> , 2011
<i>C. exaltata</i> Lam (alatrique blanco)	Enfermedades respiratorias	Fruto	<i>S. aureus, S. epidermidis, B. subtilis, P. aeruginosa, E. coli, S. flexneri</i>	8,8'-Dimetil-3,4,3',4'-dimetilendioxi-7-oxo-2,7'-ciclolignano y 8,8'-dimetil-4,5-dimetoxi-3',4'-metilendioxi-7-oxo-2,7'-ciclolignano	De Sousa Nogueira <i>et al.</i> , 2013
<i>C. gillettii</i> De Wild	Malaria, diarrea, enfermedades de la piel, heridas, fiebre	Corteza de raíz	Antioxidante	Alcaloides, saponinas, flavonoides, terpenoides	Okusa <i>et al.</i> , 2007
			<i>S. aureus, E. coli, P. aeruginosa</i>		Friedelina, ferulaldehído y lupeol
<i>C. globifera</i> Smith (Sak Hin)	Malaria	Raíz	Antioxidante	Cordiarimidias A y B	Parks <i>et al.</i> , 2010
			<i>M. tuberculosis</i>	Globiferina y cordiachrome C	Dettrakul <i>et al.</i> , 2009
<i>C. macleodii</i> Hook. (dahiphal)	Fiebre, heridas, ictericia	Corteza	<i>E. coli, P. aeruginosa, S. pyogenes, S. aureus</i>	Alcaloides, flavonoides, esteroides, terpenoides y coumarinas	Nariya <i>et al.</i> , 2010
		Hoja y flor	Antioxidante	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico, quercetina, kaemferol	El-Sayed <i>et al.</i> , 1998
<i>C. sebestena</i> L. (árbol nomeolvides)	Fiebre, tos, desórdenes gastrointestinales e influenza	Hoja	<i>B. subtilis, B. cereus, S. aureus, E. coli, P. aeruginosa</i>	Alcaloides, fenoles, flavonoides, esteroides, triterpenos	Osho <i>et al.</i> , 2016
<i>C. sinensis</i> Lam.	Desórdenes	Corteza	Antioxidante.	Alcaloides, fenoles y	Eltayeib e Ishag, 2015

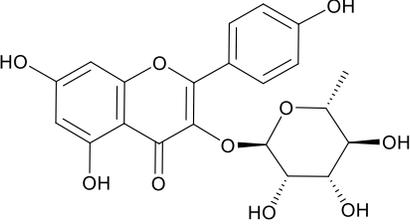
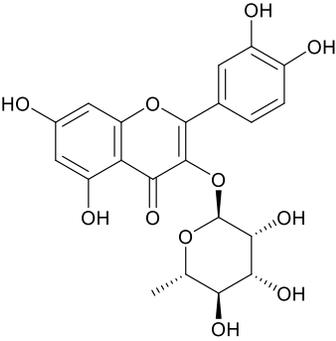
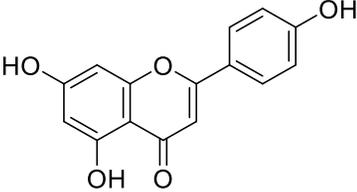
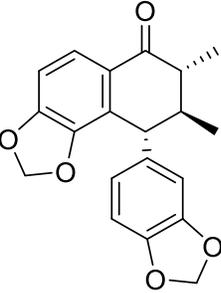
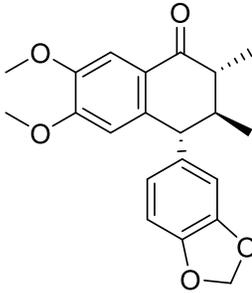
---

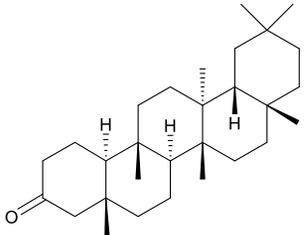
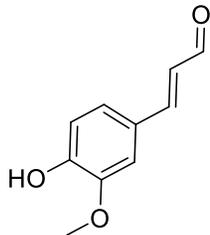
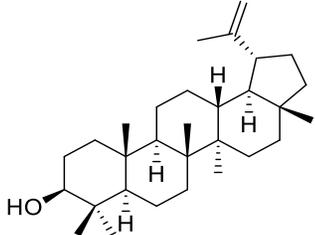
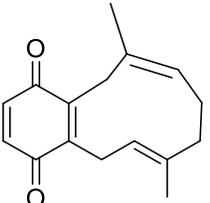
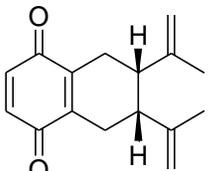
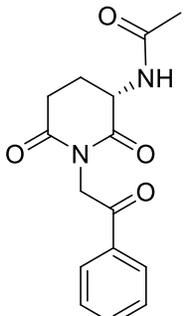
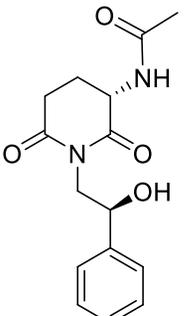
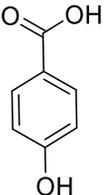
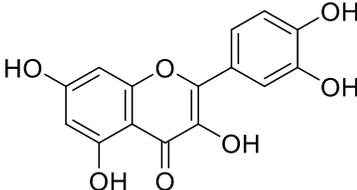
(andrab)	gastrointestinales y respiratorios		<i>P. aeruginosa, K pneumoniae, S. aureus, B. subtilis</i>	flavonoides	
<i>C. verbenacea</i> DC. (erva-baleeira)	Dolores, inflamación, úlceras, artritis, desórdenes gastrointestinales y respiratorios, antitumoral	Hoja	<i>E. coli, P. aeruginosa, S. aureus</i>	Flavonoides, esteroides, coumarinas, quinonas, saponinas, alcaloides, terpenoides	Matias <i>et al.</i> , 2015

## ANEXO 2

**Tabla A2.** Compuestos fitoquímicos aislados e identificados con actividad antibacteriana en especies del género *Cordia*.

Especie (nombre común)	Estructura química (fórmula molecular)	Referencias
Corteza de <i>C. americana</i> L. (guayaibí)	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-start;"> <div style="text-align: center;">  <p><b>Rufescenólido B</b> (C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>O<sub>11</sub>)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>Rufescenólido C</b> (C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>O<sub>7</sub>)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>Rufescenólido D</b> (C<sub>27</sub>H<sub>24</sub>O<sub>11</sub>)</p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-start; margin-top: 20px;"> <div style="text-align: center;">  <p><b>Ácido yunnaneico I</b> (C<sub>27</sub>H<sub>26</sub>O<sub>12</sub>)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>Ácido yunnaneico J</b> (C<sub>28</sub>H<sub>28</sub>O<sub>12</sub>)</p> </div> </div>	Fernández <i>et al.</i> , 2013
Fruto de <i>C. boissieri</i> DC. (anacahuita)	<div style="text-align: center; margin-bottom: 20px;">  <p><b>Ácido oleico</b> (C<sub>18</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub>)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>Ácido linoleico</b> (C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>)</p> </div>	Alanis-Guzmán <i>et al.</i> , 1998

<p>Hoja de <i>C. collococa</i></p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p><b>Afzelina</b> (C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>10</sub>)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>Quercitrina</b> (C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>11</sub>)</p> </div> </div>	<p>Fouseki <i>et al.</i>, 2016</p>
<p>Corteza de <i>C. dichotoma</i> Forster (bohkar)</p>	<div style="text-align: center;">  <p><b>Apigenina</b> (C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)</p> </div>	<p>Anjali <i>et al.</i>, 2011</p>
<p>Fruto de <i>C. exaltata</i> Lam (alatrique blanco)</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub></p> </div> <div style="text-align: center;"> <p><b>Ciclolignanos</b></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub></p> </div> </div>	<p>Nogueira <i>et al.</i>, 2014</p>

<p>Corteza de raíz <i>C. gilletii</i> De Wild</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p><b>Friedelina</b> (C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>Ferulaldehyde</b> (C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>Lupeol</b> (C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O)</p> </div> </div>	<p>Okusa <i>et al.</i>, 2014</p>
<p>Raíz de <i>C. globifera</i> Smith (Sak Hin)</p>	<div style="display: grid; grid-template-columns: 1fr 1fr; gap: 20px;"> <div style="text-align: center;">  <p><b>Globiferin</b> (C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>Cordiachrome C</b> (C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>Cordiarimida A</b> (C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>Cordiarimida B</b> (C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)</p> </div> </div>	<p>Parks <i>et al.</i>, 2010; Dettrakul <i>et al.</i>, 2009</p>
<p><i>C. macleodii</i> Hook. (dahiphal)</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p><b>Ácido <i>p</i>-hidroxibenzoico</b> (C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>Quercetina</b> (C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>)</p> </div> </div>	<p>El-Sayed <i>et al.</i>, 1998</p>



--	--	--

