



"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Teapa, Tabasco a 02 de noviembre del 2020
Oficio N°: ITSS-DIBQ-303/2020
Asunto: El que se indica.

C. Karla Yesenia Posada Mayorga.

Pasante de la carrera de Ingeniería Bioquímica.
P r e s e n t e.

Por este medio le informo que de acuerdo a la modalidad de Titulación que ha seleccionado: Titulación Integral por la opción 09 Tesis Profesional, y en virtud de que la comisión revisora integrada por: M. en C. Miriam Sánchez de Dios, M. en C. José Alfredo Jiménez Juárez, M.en C. Leticia Almeida López, determinan que se cumple satisfactoriamente con las observaciones que en proceso de revisión se hizo a su trabajo recepcional titulado: "**Actividad antioxidante *in vitro* de extractos etanólicos de *Cnidocolus chayamansa***". Esta usted autorizado (a) para reproducirlo y concluir los requisitos formales que establece el Lineamiento de Titulación de esta Institución.

Sin otro asunto que tratar, me despido de Usted con un cordial saludo.

ATENTAMENTE
Excelencia en Educación Tecnológica®
Innovación Tecnológica y Superación por Siempre

Q.C.B. Jesús Armando Romero González
Jefe de División de Ingeniería Bioquímica ITSS



c.c.p. Archivo.

Carretera Teapa-Tacotalpa km. 4.5, Fco. Javier Mina, Teapa, Tabasco

Tel. (932) 32 4 06 50, Ext. 131 e-

mail: regionsierra@itss.edu.mx | academia_bioquimica@itss.edu.mx

www.tecnm.mx | www.itss.edu.mx





**Instituto Tecnológico Superior
De la Región Sierra**



**Actividad antioxidante *in vitro* de extractos
etanólicos de *Cnidocolus Chayamansa*.**

Modalidad:

Tesis profesional

(Opción 1)

Para obtener el título de:

Ing. Bioquímica

Presenta:

Karla Yesenia Posada Mayorga

Director de tesis:

Dra. Miriam Sánchez de Dios

Teapa, Tabasco

Noviembre 2020.

Agradecimientos

Al Instituto Tecnológico Superior de la Región Sierra:

Agradezco a mi casa de estudios en la cual adquirí los conocimientos y practicas necesarias para poder llegar a ser la profesionista que hoy soy.

A la Dra. Miriam Sánchez de Dios gracias por su entrega en la realización de este proyecto, por su apoyo y sus consejos a lo largo de toda mi carrera.

Al jefe de carrera Químico Jesús Armando Romero González por sus grandes consejos, apoyo incondicional y por ser un excelente Jefe de Carrera pero sobre todo por ser un excelente ser humano y amigo.

A mis Profesores:

Al **Ing. José Alfredo Jiménez Juárez**, a la **M. en C. Leticia Almeida López**, a la **M. en C. Carolina Vázquez Hernández**, al **MIPA. Juan Carlos Aguilar Arpaíz** y a la **M. en C. Fanny Adabel González Alejo**, gracias por todo el apoyo, consejos y conocimientos brindados, gracias por haber sido parte fundamental de mi formación académica. Así mismo agradezco al laboratorista el **Ing. Job Altamirano** y a la técnica administrativa **Roxy Ruth Gómez Reyes** por todo el apoyo que nos brindaron cuando lo requeríamos.

A ECOSUR:

Agradezco a “El Colegio de la Frontera Sur” (**ECOSUR** unidad Villahermosa) por darme la oportunidad de realizar este proyecto en su reconocida institución, así mismo agradezco de manera muy especial a la **Dra. Zendy Evelyn Olivo Vidal** por todo el apoyo, amabilidad y conocimientos brindados a lo largo de esta estancia y darme la oportunidad de colaborar en su proyecto que fue de gran importancia para la realización de mi tesis. De igual forma agradezco a la **Dra. Xariss Myriam Sánchez Chino** por su apoyo en la elaboración de este proyecto. También agradezco al **Ing. Miguel de la Rosa Carrillo**, a la **Mtra. Lorena Reyes Sánchez** y al **Ing. Roberto Solís** por la aportación y apoyo técnico en la realización de este trabajo.

Dedicatorias

A Dios:

Agradezco en primer lugar a mi **DIOS**; Señor Jehová gracias por todas las bendiciones que me has brindado, por darme la vida, la salud y la oportunidad de lograr una meta más en mi camino, por ser siempre la luz que me guía y me ilumina.

A mis Padres:

Sra. Doris Mayorga Ruíz & Sr. Fortino Posada García, es un orgullo para mí tenerlos como padres, agradezco inmensamente todos sus esfuerzos y cuidados que me han brindado a lo largo de mi vida, pero sobre todo les agradezco ese amor infinito que siempre me han dado, por haber hecho de mí lo que soy ahora, no me alcanzarían las palabras para expresar la gratitud y amor que les tengo, es por ello que dedico muy en especial la realización de este trabajo a mi madre quien ha estado a lo largo de mi vida cuidándome, apoyándome y aconsejándome siempre para ser la gran profesionalista que hoy soy.

A mis abuelos:

Sr. Carlos Mayorga Guerrero, por ser el mejor abuelito que la vida me pudo dar, por ese carácter tan hermoso que siempre reflejaba y que siempre me motivaba a mí a ser mejor persona, por su cariño inmenso y su gran apoyo, a pesar que no alcanzó a verme realizada como una profesionalista sé que estuviera muy orgulloso de mí.

Sra. María de los Ángeles Ruíz Ramos, dedico muy en especial mi tesis a mi mamita Angelita por ser una mujer tan virtuosa que siempre me llenaba de buenos consejos y que sé que siempre procuro nuestro bien y estuviera tan orgullosa y feliz de verme realizada gracias mamita por enseñarnos el camino de Dios y enseñarnos a ser mujeres de mucho valor

Contenido

Agradecimientos.....	I
Dedicatorias	II
Contenido.....	III
Índice de figuras.....	V
Índice de cuadros.....	VI
Índice de graficas	VII
Abreviaturas	VIII
Resumen.....	10
I. Introducción.....	12
II. Fundamento Teórico.	13
2.1 Etnofarmacología.....	13
2.2 Plantas medicinales	14
2.3 <i>Cnidocolus Chayamansa</i>	16
2.3.1 Importancia de <i>C. Chayamansa</i> e información botánica y etnobotánica	17
2.4 Compuestos bioactivos en las plantas.....	20
2.4.1 Compuestos fenólicos.....	21
2.4.1.1 Actividad biológica de los compuestos fenólicos	22
2.4.2 Ácidos fenólicos	24
2.4.3 Ácidos hidroxicinámicos.....	25
2.4.4 Ácidos hidroxibenzoicos	26
2.5 Especies reactivas de oxígeno	31
2.6 Daño oxidativo y estrés oxidante	32
2.7 Oxidación y radicales libres	33
2.8 Compuestos antioxidantes.....	34
2.9 Enfermedades Crónicas No Transmisibles.....	37
2.9.1 Relación entre las ECNT y el estrés oxidativo	38
III. Objetivos	40
3.1 Objetivo general.....	40
3.2 Objetivos específicos	40

IV. Planteamiento del problema	41
V. Justificación	42
VI. Materiales y métodos	43
6.1 Recolección de las muestras	43
6.2 Método.....	45
6.3 Secado y preparación de las muestras.....	46
6.4 Obtención de extractos	46
6.5 Determinación de compuestos fenólicos	46
6.6 Determinación de la capacidad antioxidante	47
6.7 Análisis estadísticos.....	49
VII. Resultados y discusión	50
7.1 Determinación de sólidos totales	50
7.2 Calibración del método	50
7.3 Determinación de compuestos fenólicos	52
7.4 Determinación de actividad antioxidante	56
7.5 Comparación entre Compuestos fenólicos y actividad antioxidante	58
VIII. Conclusión	59
IX. Recomendaciones	60
X. Referencias.....	61
XI. Anexos.....	70
10.1 Anexo 1.....	70

Índice de figuras

Figura 1. Distribución geográfica de <i>Cnidocolus</i> spp.....	17
Figura 2. Detalle de hojas, flores y frutos de la planta <i>C. Chayamansa</i>	18
Figura 3. Estructura química de ácidos fenólicos.	25
Figura 4. Estructuras químicas de ácidos hidroxicinámicos.	26
Figura 5. Unidades monoméricas de taninos condensados (catequina y galocatequina) y taninos hidrolizables (ácido gálico y elágico).	27
Figura 6. Estructuras químicas de flavonoides.	28
Figura 7. Sistemas antioxidantes en el estrés oxidativo.	36
Figura 8. Estrés oxidativo y daños oxidativos.....	38
Figura 9. Mapa de Teapa, Tabasco marcado en los lugares donde se obtuvo las cinco diferentes muestras de <i>C. Chayamansa</i>	43
Figura 10. Diagrama experimental.	45
Figura 11. Reacción entre el ácido gálico y el reactivo de Folin-Ciocalteu.....	47
Figura 12. Reacción del DPPH.....	48
Figura 13. Determinación de humedad en muestras por el método de secado en estufa (marca Amerex instruments, Inc.) a 45°C temperatura constante.....	70
Figura 14. Preparación de los extractos a diferentes concentraciones.	70
Figura 15. Preparación de la solución de ácido gálico.....	71
Figura 16. Reactivo DPPH.....	71
Figura 17. Preparación de las muestras para leer en el espectro.	72
Figura 18. Lectura en el espectrofotómetro UV-1800 marca SHIMADZU.....	72

Índice de cuadros

Cuadro 1. Principios activos de plantas comercializadas con mayor frecuencia en México.....	15
Cuadro 2. Clasificación de compuestos fenólicos.	22
Cuadro 3. Especies reactivas de oxígeno.	32
Cuadro 4. Descripción de las características del lugar y de las condiciones de las muestras <i>C. Chayamansa</i> recolectada para realizar la investigación.	44
Cuadro 5. Porcentaje de sólidos totales de <i>C. Chayamansa</i>	50
Cuadro 6. Datos para la realización de la curva tipo de Ác. Gálico.	51
Cuadro 7. Concentración de compuestos fenólicos totales (mg EAG/g de hoja o tallo seco) de <i>C. Chayamansa</i>	53
Cuadro 8. Actividad antioxidante Método DPPH.	56
Cuadro 9. Muestras de compuestos fenólicos obtenidos y % captación de RL.....	58

Índice de graficas

Gráfico 1. Curva de calibración para el método Folin-Ciocalteu de determinación de fenoles totales.	52
Gráfico 2. Concentración de Compuestos Fenólicos totales en hojas de <i>C. Chayamansa</i>	54
Gráfico 3. Concentración de Compuestos fenólicos totales en tallos de <i>C. Chayamansa</i>	54
Gráfico 4. Comparación de hojas y tallos de sus compuestos fenólicos obtenidos..	55
Gráfico 5. Actividad antioxidante de hojas y tallos de <i>C. Chayamansa</i>	57

Abreviaturas

%	Porcentaje
°C	Grado Celsius
µg	Microgramo
µL	Microlitro
µM	Micrómetro
ADN	Ácido desoxirribonucleico
<i>C. Chayamansa</i>	<i>Cnidoscolus Chayamansa</i>
CAT	Catalasa
CB	Compuestos bioactivos
-COOH	Grupo carboxilo
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidracilo
E. Coli	Escherichia coli
EAG	Equivalente de Ácido Gálico
ECNT	Enfermedades crónicas no transmisibles
ECOSUR	El Colegio de la Frontera Sur
ERN	Especies Reactivas de Nitrógeno
ERO	Especies reactivas de oxígeno
Fe-S	Hierro-azufre
g	Gramo
GPx	Glutación peroxidasa
GR	Glutación reductasa
GST	Glutación sulfhidril transferasa
H ₂ O	Molécula de agua
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
HOCl	Ácido hipocloroso
HOCL	Ácido hipocloroso
Kg	Kilogramo
L	Litros

LANIES	Laboratorio Nacional de Innovación Ecotecnológica para la Sustentabilidad
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
M	Muestra
m	metros
mg	Miligramo
ml	Mililitro
mM	Milimolar
Na ₂ CO ₃	Carbonato de sodio
NADPH+	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (abreviada NADP+ en su forma oxidada y NADPH+ en su forma reducida)
-NH	Grupo amino
nm	Nanómetro
O ₂	Oxígeno
OH	Grupos hidroxilo
OMS	Organización Mundial de la Salud
pH	Potencial de hidrógeno
RL	Radicales libres
-SH	Grupo sulfhidrilo
SIBE	Sistema de Información Bibliográfico Especializado
SOD	Superóxido dismutasa
TC	Taninos condensados
TH	Taninos hidrolizables
UV	Ultravioleta
VIH	Virus de la inmunodeficiencia Humana
VSH	Virus simplex humano
WHO	World Health Organization

Resumen

La *Cnidocolus Chayamansa*, a veces llamada árbol de espinacas, es un arbusto perenne de rápido crecimiento nativo de México que produce muchas hojas atractivas, grandes y de color verde oscuro (Berkelaar, 2006). Las hojas de *C. Chayamansa* contienen proteínas, vitaminas, minerales, aminoácidos, ácidos grasos, flavonas y glucósidos cianogénicos. Sus principales actividades biológicas investigadas son antioxidante, hipoglucemiante, antiinflamatoria, hepatoprotectora, cardioprotectora, hipocolesterolemiante y su DL. (Pérez-González et al., 2016).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el contenido de compuestos fenólicos y determinar la actividad antioxidante de diversos extractos etanólicos de la planta de *C. Chayamansa* de 5 muestras recolectadas en el municipio Teapa, Tabasco e Ixtapangajoya, Chiapas, por los métodos de la técnica de Folin-Ciocalteu y por el método de la decoloración del radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH) respectivamente.

La mayor concentración de compuestos fenólicos que se obtuvo en hojas fue de 9.49 mg EAG/g de hoja seca con el disolvente de etanol al 50% y en tallos 14.83 mg EAG/g de tallo seco con el disolvente de etanol al 0% ambos en la muestra de la Col. La Sierra Secc. Arroyo, Teapa Tabasco.

Para determinar la actividad antioxidante se seleccionaron los extractos de etanol al 50 % y 0 % debido a que eran los que contenían mayor concentración de compuestos fenólicos totales. Las muestras que presentaron mayor actividad antioxidante fueron en hojas con un 92.98 % de decoloración en etanol al 50 % de en las muestras de la Ranchería el Cacatal y en tallos con un 105.60 % de decoloración en etanol al 50 % en la muestra de la Col. Lázaro cárdenas de Teapa, Tabasco.

La chaya demostró contener altos niveles de compuestos fenólicos y una gran capacidad antioxidante principalmente en el tallo, por lo que resultaría una buena

fuelle para la elaboración de diversos productos alimenticios benéficos para la salud (funcionales o nutraceúticos) y para la economía.

I. Introducción

Dentro de la familia de las Euphorbiaceae se encuentra la especie *C. Chayamansa*, la cual es originaria de los estados Yucatán y Tabasco, del sur de México, es conocida y cultivada también en Mesoamérica (Valenzuela *et al.*, 2015). De forma común es conocida por el nombre de "chaya" y es apreciada por su valor nutricional ya que representa una fuente alimenticia importante por su alto contenido de proteínas y minerales como es el calcio, potasio, hierro, fósforo y algunas vitaminas, como el ácido ascórbico (Loarca-Piña *et al.*, 2010).

A la *C. Chayamansa* se le han atribuido diversas propiedades medicinales, en especial para el tratamiento del cáncer, gangrena, hipertensión, úlceras, diabetes mellitus, como diurético, reumatismo, trastornos gastrointestinales y procesos inflamatorios. (Pérez-González *et al.*, 2016).

La *C. Chayamansa* es una planta rica en compuestos fenólicos entre los cuales se encuentran los flavonoides, que son responsables del buen funcionamiento de las plantas y poseen propiedades antioxidantes, además de tener efectos anticancerígenos, antibacteriales o antimutagénicos (Pérez-González *et al.*, 2016) Los antioxidantes pueden inhibir o retardar el proceso oxidativo, interfiriendo con la iniciación o propagación de las reacciones en cadena de la auto oxidación; además de eliminar de nuestro organismo los radicales libres (RL). El exceso de RL está relacionado con una mayor incidencia de diversas enfermedades degenerativas (Praticò & Delanty, 2000).

Debido a que la *C. Chayamansa* representa un medio ideal para la obtención de dichos compuestos, el objetivo del presente proyecto fue analizar la actividad antioxidante mediante ensayos *in vitro* de extractos etanólicos, para crear evidencia científica sobre los efectos del consumo de alimentos tradicionales y su impacto en el desarrollo y prevención de enfermedades crónicas relacionadas con el metabolismo, especialmente las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT)

II. Fundamento Teórico.

2.1 Etnofarmacología

La investigación etnofarmacológica fue definida por Porredón (1998), como una integración de diferentes especialidades (botánica taxonómica, etnobotánica, química extractiva y estructural y farmacología experimental y clínica, principalmente) que estudia de un modo científico las propiedades terapéuticas atribuidas por el saber tradicional a todo tipo de productos naturales que han estado en uso o se aplican actualmente. En contraste con la definición anterior, Osorio en 2009 menciona que la etnofarmacológica estudia únicamente los diferentes usos de las plantas medicinales en diferentes pueblos y culturas dentro del contexto histórico, por lo que de forma general podemos definir a la etnofarmacología como la ciencia que estudia los productos naturales que contengan sustancias dotadas de actividad biológica.

El uso de medicinas alternativas como las plantas medicinales y los suplementos dietarios ha sido una práctica tradicional que no ha caído en desuso (Barthelson *et al.*, 2006), ya que muchos de los compuestos químicos que se usan en la actualidad en los medicamentos se obtienen de plantas y de hongos, algunos de los cuales se han encontrado de manera azarosa y otros en comunidades que los usan tradicionalmente para curarse (Vogel, 1991).

Este patrimonio cultural se ha transmitido de generación en generación, de manera que algunas costumbres subsisten y son ejercidas de manera cotidiana, tanto en áreas rurales como urbanas (Bye & Linares, 1987; Campos, 1993; Yeh *et al.*, 2003). Estas prácticas médicas permanecen vigentes debido a que, entre otras cosas, los tratamientos tradicionales están basados en la enfermedad como es concebida dentro de su cultura, por lo que es pertinente percibir el tratamiento tradicional como un aspecto integrado en ella (Ryesky, 1976), además, la gran diversidad vegetal y la amplia riqueza cultural de México han favorecido el aprovechamiento de las plantas con fines medicinales desde épocas prehispánicas (Martínez, 1996).

2.2 Plantas medicinales

Las plantas constituyen un recurso valioso en los sistemas de salud de los países en desarrollo. Aunque no existen datos precisos para evaluar la extensión del uso global de plantas medicinales (Sheldon *et al.*, 1997) la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que más del 80 % de la población mundial utiliza, rutinariamente, la medicina tradicional para satisfacer sus necesidades de atención primaria en salud (Katewa *et al.*, 2004), y que al menos 35,000 especies vegetales presentan potencial para uso medicinal (Annan & Houghtonb, 2008), gran parte de los tratamientos tradicionales implica el uso de extractos de plantas o sus principios activos (Shrestha & Dhillion, 2003).

Según la OMS (1979) una planta medicinal es definida como cualquier especie vegetal que contiene sustancias que pueden ser empleadas para propósitos terapéuticos o cuyos principios activos pueden servir de precursores para la síntesis de nuevos fármacos. Para que una medicina pueda considerarse tradicional, además de sus elementos teórico-prácticos, debe cumplir con el requisito de tener arraigo histórico, cultural y social, en el entramado de la tradición de un pueblo, así, la medicina tradicional se define en concordancia con la tradición del pueblo que la utilice (Zuluaga & Correa, 2002).

Estas plantas también tienen importantes aplicaciones en la medicina moderna. Entre otras, son fuente directa de agentes terapéuticos, se emplean como materia prima para la fabricación de medicamentos semisintéticos más complejos, la estructura química de sus principios activos puede servir de modelo para la elaboración de drogas sintéticas y tales principios se pueden utilizar como marcadores taxonómicos en la búsqueda de nuevos medicamentos (Akerlele, 1993).

En México existe una extensa variedad de tratamientos fitoterapéuticos que forman parte de la herbolaria tradicional mexicana. Soportada por aproximadamente 4,500 especies, ésta ocupa el segundo lugar a nivel mundial en el número de plantas

medicinales registradas (Martínez, 1996; Barragán-Solís, 2006), por lo tanto el cuadro 1 se muestra los principios activos de plantas comercializadas en México.

Cuadro 1. Principios activos de plantas comercializadas con mayor frecuencia en México.

Nombre común	Nombre científico	Uso	Actividad
Árnica (árnica mexicana)	Heterotheca inuloides Cass.	Colitis y dolores de inflamación	Antiinflamatorio
Cuachalalate	Amphypterigium adstringens Schl.	Para quemar grasa, Colitis	Antimicrobiano y antiinflamatorio
Tila	Tila mexicana Schl. Tila sp.	Regula presión, para los nervios	Antihipertensivo y antiespasmódico
Cola de caballo	Equisetum hyemale L. E. robustum Schlecth & Cham.	Enfermedades renales (limpia los riñones)	Antiinflamatorio Y antifúngico
Gordolobo	Gnaphalium sp. G. conoideum Kunth.	Tos, asma y bronquitis	Antimicrobiano y antifúngico
Salvia	Salvia officinalis L. Salvia sp. Lippia geminata H.B.K.	Problemas intestinales	Antioxidante y antiinflamatorio
Siete azahares	Magnolia officinalis.	Para los nervios	Antihipertensivo

Damiana	Turnera diffusa Willd.	Sistema nervioso, afrodisiaco	Antihipertensivo Y antioxidante
Boldo	Peumus boldus Molina.	Enfermedades hepáticas y renales	Antioxidante y alcaloide
Chaya	<i>Cnidocolus Chayamansa</i>	Diabetes mellitus, colesterol, algunos tipos de cáncer	Antioxidante y Antiinflamatorio

Nota: Principio activo y usos de plantas comercializadas con mayor frecuencia en México.

Fuente: Modificado de (García de Alba García et al., 2012) y adaptado de (Vargas & Petricevich, 2018).

2.3 *Cnidocolus Chayamansa*

La *C. Chayamansa*, a veces llamada árbol de espinacas, es un arbusto perenne de rápido crecimiento nativo de México que produce muchas hojas atractivas, grandes y de color verde oscuro. Puede crecer bien en una amplia gama de suelos, tanto en climas cálidos y lluviosos como en áreas con sequías ocasionales. Crece fácil y rápidamente, especialmente a temperaturas más altas, y las hojas nuevas crecen rápidamente después de la cosecha. Las hojas tienen un menor contenido de humedad que la mayoría de las otras plantas de hoja verde como la espinaca o la lechuga. (Berkelaar, 2006).

Las hojas jóvenes y las puntas gruesas y tiernas del tallo se cortan y se hierven como “espinacas”. Las hojas no tienen un sabor fuerte o distinto, tienden a adquirir sabores de cualquier condimento que se agregue. Quizás la diferencia más notable de muchos tipos de hojas cocidas es que las hojas de *C. Chayamansa* tienen una sensación

"densa". *C. Chayamansa* es excepcionalmente alta en proteínas, calcio, hierro y vitamina A. Carece de problemas de plagas y es poco probable que se vuelva maleza, ya que rara vez produce semillas y es generalmente propagado solo por esquejes (Berkelaar, 2006).

2.3.1 Importancia de *C. Chayamansa* e información botánica y etnobotánica

La *C. Chayamansa*, es empleada como alimento en el sureste de México por su alto valor nutricional y como especie medicinal para tratar diabetes, reumatismo, trastornos gastrointestinales, así como diurético y antihipertensivo. Las hojas de *C. Chayamansa* contienen proteínas, vitaminas, minerales, aminoácidos, ácidos grasos, flavonas y glucósidos cianogénicos. Sus principales actividades biológicas investigadas son antioxidante, hipoglucemiante, antiinflamatoria, hepatoprotectora, cardioprotectora e hipocolesterolemiante. (Pérez-González *et al.*, 2016).

La *C. Chayamansa* es un arbusto cultivado en la región maya de Guatemala, Belice, el sureste de México y parte de Honduras (BDMTM, 2015) (Figura 1). Pertenece a la familia Euphorbiaceae y el género *Cnidoscolus*, está compuesta por 50 especies de las cuales 20 son endémicas de México (Ross-Ibarra & Molina-Cruz, 2002; Steinmann, 2002).

Figura 1. Distribución geográfica de *Cnidoscolus* spp.

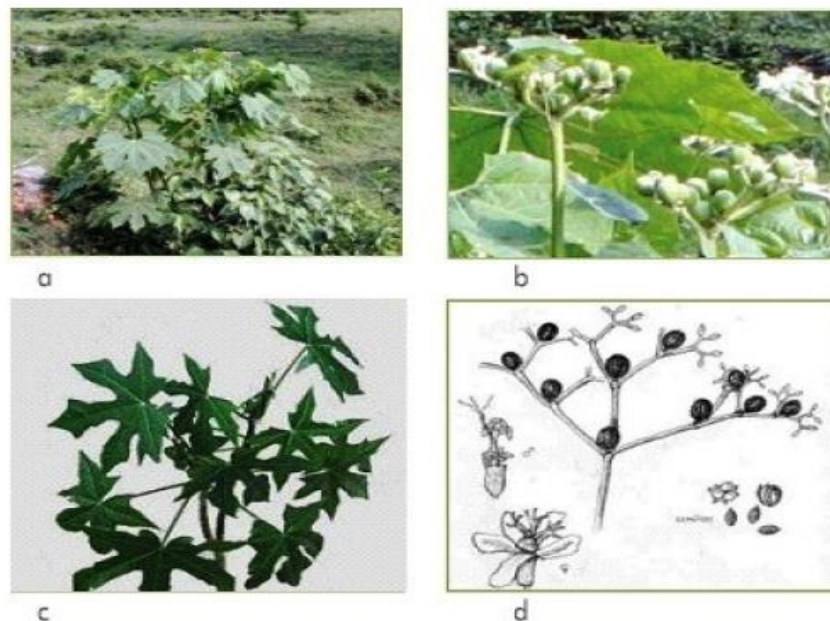


Nota: Clasificación botánica de *C. Chayamansa*: Reino: Plantae, División: Magnoliophyta, Clase: Magnoliopsida, Orden: Malpighiales, Familia: Euphorbiaceae, Subfamilia: Crotonoideae, Género: *Cnidoscolus*, Especie: *Chayamansa*. Fuente: Adaptado de (Ross-Ibarra & Molina-Cruz, 2002).

Aunque es poco conocida fuera de la región, existen evidencias que la *C. Chayamansa* era una planta importante para los mayas de la península de Yucatán y Centroamérica.

Descripción botánica. Los arbustos de *C. Chayamansa* a menudo crecen hasta 3 m (10 pies) de altura y 2 m (6.5 pies) de ancho (Ross-Ibarra & Molina-Cruz 2002). Las flores (masculinas y femeninas) nacen en largas cimas pedunculadas (figura 2). Las vainas y semillas de semillas son extremadamente raras. Las hojas contienen cantidades variables de una toxina productora de cianuro, un glucósido de ácido cianhídrico. Cuando las hojas se hierven, la toxina se libera como un gas que se disipa de forma segura en el aire, dejando la porción cocida segura para comer.

Figura 2. Detalle de hojas, flores y frutos de la planta *C. Chayamansa*.



Nota: Donde. Arbusto (a), inflorescencia (b), detalle de hojas (c) y detalle de inflorescencia de flores y fruto (d). Adaptado de (Cifuentes et al., 2010).

El crecimiento de la planta es rápido, las hojas son comestibles y los brotes pueden ser producidos en corto período de 8 a 10 semanas.

Su propagación por estaca es fácil y las secciones de tallo leñoso fácilmente dan raíz, es una especie resistente al ataque de plagas y enfermedades, pero se ha descrito que *Corythucha* spp (insecto) y *Puccinia* spp (hongo) la atacan, el hongo ataca el tallo

y el insecto afecta la hoja; en la época de floración las mariposas del género *Lipidopteria* depositan su huevecillos (Steinmann, 2002). Dada la facilidad de cultivarla y por su alto valor nutritivo, se ha propuesto a la *C. Chayamansa* como cultivo con potencial comercial para regiones fuera de Mesoamérica (Kuti & Torres, 1996; Loarca-Piña, Mendoza *et al.*, 2010), además, es resistente a la sequía por lo que puede cultivarse en áreas con poca precipitación estacional (Peregrine, 1983).

Usos: *C. Chayamansa* se ha utilizado como alimento desde la época precolombina, y todavía se consume regularmente, especialmente en América Central y el sur de México. También se ha utilizado como planta medicinal. Por lo general, se comen las hojas cocidas, o se hacen té o infusiones a partir de las hojas. Aunque se han hecho muchos reclamos medicinales para la *C. Chayamansa*, se usa principalmente para la diabetes y los problemas renales. Ross-Ibarra y Molina-Cruz (2002) cuentan una encuesta de 1991, realizada en el estado de Morelos (México), en la que se entrevistó a 85 personas. 60 usaron *C. Chayamansa* para problemas renales (por ejemplo, hojas mezcladas en un batido); 21 para diabetes (para bajar el azúcar en la sangre); 10 para úlceras, presión arterial y picaduras de escorpiones; y 4 para otros fines.

Por su valor nutricional (alto contenido de aminoácidos, proteínas y minerales), las hojas de *C. Chayamansa* son muy empleadas en el sureste de México y Centroamérica para el consumo humano en preparación de platillos y bebidas.

Dentro de sus usos etnomedicinales, las hojas de *C. Chayamansa* son empleadas para curar la gripe, como diurético, contra procesos inflamatorios, energizante, laxante y para incremento de la memoria (Loera *et al.*, 2001). En los estados de Morelos y Tabasco, la *C. Chayamansa* se emplea para el dolor de riñones, para bajar de peso, bajar los niveles de glucosa y colesterol en sangre y para tratar el alcoholismo (Bautista-Cruz *et al.*, 2011). El látex de la hoja es utilizado para tratar padecimientos oftálmicos como irritación, manchas en la córnea y lagunas en los ojos y la sabia del tallo es empleada contra piquetes de insectos, acné, erupciones de la piel y picadura de alacrán, aplicándola directamente sobre el área de la piel dañada (Valenzuela *et al.*, 2015).

Otros usos etnomédicos son en trastornos digestivos como diarrea, empacho, calor en el intestino, flatulencia, estreñimiento, disentería, inflamación en el estómago y mal de boca, también es empleada para lavados vaginales después del parto así como en heridas por quemaduras (Valenzuela *et al.*, 2015), para tratar diabetes, arteriosclerosis, cálculos biliares, bajar colesterol, laxante, estimulante para producción de leche materna, problemas digestivos y diurético (González-Laredo *et al.*, 2003).

2.4 Compuestos bioactivos en las plantas

Los compuestos bioactivos (CB) también denominados fitoquímicos se encuentran en las plantas, son metabolitos secundarios asociados a las rutas metabólicas de su crecimiento y desarrollo; aunque sus funciones no se conocen completamente, se dice que la mayoría cumplen funciones de defensa dentro de la planta, pueden tener efectos farmacológicos y toxicológicos en el ser humano y animales (Manach *et al.*, 2004; Bernhoft *et al.*, 2010; Muñoz *et al.*, 2010), no son esenciales para el crecimiento y el desarrollo, pero se ha demostrado que intervienen en los procesos biológicos, teniendo por lo tanto un impacto sobre las funciones del organismo y sobre la salud. La actividad más conocida y estudiada de los CB es su capacidad antioxidante; además, estos compuestos presentan actividad antiinflamatoria y pueden actuar como reguladores de genes implicados en procesos inflamatorios, neurodegenerativos y cancerígenos, entre otros (Manach *et al.*, 2004; Muñoz *et al.*, 2010; Valares, 2011; Zervas & Tsiplakou, 2011). Los CB pueden clasificarse de diferentes maneras, generalmente se clasifican por sus elementos estructurales y son: compuestos fenólicos, compuestos azufrados, terpenoides y fibra (Manach *et al.*, 2004).

Las plantas vasculares sintetizan una gran cantidad de moléculas orgánicas, como consecuencia de su metabolismo secundario. Los fenoles son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se localizan en todas las partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo. Estos compuestos

participan de diversas funciones, tales como la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática, la fotosíntesis, la formación de componentes estructurales, la alelopatía y la defensa ante los factores adversos del ambiente (Robbins, 2003).

Los fenoles están asociados al color, las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza), las características nutritivas y las propiedades antioxidantes de los alimentos de origen vegetal. La característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol (Kähkönen *et al.*, 2001).

2.4.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos muestran una gran diversidad de estructuras, que van desde moléculas simples (vainillina, ácido gálico, ácido cafeico) a polifenoles tales como estilbenos, flavonoides y polímeros derivados de estos diversos grupos. El termino polifenol se utiliza como sinónimo de compuestos fenólicos, pero debe ser restringido a moléculas que llevan al menos dos anillos fenólicos. Algunos compuestos fenólicos están muy distribuidos mientras que otros son específicos de ciertas plantas, familias o solo se encuentran en ciertas etapas de desarrollo de la planta (Cheynier, 2012).

Se pueden clasificar en diferentes grupos en función al número de anillos de fenol que contiene y de los elementos estructurales que unen entre sus anillos (Manach *et al.*, 2004). Que se muestran en el cuadro 2.

Cuadro 2. Clasificación de compuestos fenólicos.

Clasificación	Estructura de acuerdo al número de grupos fenol (C6) y enlaces carbono (-Cn)
Fenoles simples, benzoquinonas	C6
Ácidos fenólicos	C6-C1
Ácidos fenilacéticos, acetofenoles	C6-C2
Ácidos hidroxicinámico, isocumarina	C6-C3
Naftoquinona	C6-C4
Xantanos	C6-C1-C6
Flavonoides, isoflavonas	C6-C3-C6
Estilbeno, antraquinona	C6-C2-C6
Lignanós, neolignanó	(C6-C3) ₂
Bioflavonoides	(C6-C3-C6) ₂
Ligninas	(C6-C3) _n
Melanoidinas	(C6) _n
Taninos	(C6-C3-C6) _n

Nota: Los ácidos fenólicos se dividen en dos grupos: los ácidos hidroxicinámicos y los ácidos hidroxibenzoicos, entre estos últimos se encuentra el ácido gálico el cual ha sido nuestro blanco de comparación para la planta C. Chayamansa ya que tienen estructuras similares. (Muñoz et al., 2010; Peñarrieta et al., 2014).

2.4.1.1 Actividad biológica de los compuestos fenólicos

Los polifenoles poseen acciones molusquicidas, antihelmínticas, antihepatotóxicas, antiinflamatorias, antidiarreicas, antiúlceras, antivirales, antialérgicas y vasodilatadoras. Se ha verificado que inhiben la replicación del virus de la inmunodeficiencia Humana (VIH) y del virus simplex humano (VSH), inhiben las glucosil transferasas del *Streptococcus mutans* (caries dental), inhiben la autoxidación del ascorbato, también inhiben efectos citotóxicos, la promoción del crecimiento tumoral y la enzima xantina

monoamina oxidasa. La actividad antioxidante de los fenoles es el origen de funciones biológicas tales como la antimutagénica, anticancerígena y antienvjecimiento (Velioglu *et al.*, 1998; Proestos *et al.*, 2005).

Los flavonoides, en particular, exhiben una amplia gama de efectos biológicos, incluyendo actividad antibacteriana, antiviral, antiinflamatoria, antialérgica, antioxidante, antitrombótica y vasodilatadora (Yen *et al.*, 1993; Siddhuraju & Becker, 2003).

Existe evidencia epidemiológica acerca de los beneficios para la salud del consumo abundante de frutas y verduras en la dieta. Altas ingestas de frutas y verduras están asociadas con el mantenimiento de la salud y la prevención de enfermedades. El pensamiento vigente vincula el alto contenido de antioxidantes con la inhibición de las enfermedades provocadas por el daño oxidativo, tales como la enfermedad cardíaca, las hemiplejias y el cáncer (Robbins, 2003).

Se ha probado, tanto epidemiológica, así como experimentalmente, la relación existente entre una ingesta aumentada de antioxidantes en la dieta, así como de vitaminas C y E, y β caroteno y la prevención de la enfermedad coronaria. Hertog, (1993) determinó que la ingesta de flavonoides en la dieta, la mayoría a partir de té, se asoció con una reducción de las muertes por enfermedades coronarias. Los flavonoides de las plantas, específicamente los del té, son poderosos antioxidantes, comprobados *in vitro* en un sistema de oxidación de lipoproteínas (LDL) simulando lo que ocurre en el cuerpo humano (Vinson *et al.*, 1995).

Las hierbas utilizadas para realzar y complementar los sabores de los alimentos son fuentes de compuestos fenólicos; el consumo de hierbas está asociado con una baja incidencia de cáncer y baja mortalidad por esta misma enfermedad (Wei-Zheng & Wang, 2001).

Los flavonoides y otros compuestos fenólicos actúan en forma preventiva en el desarrollo del cáncer y de la enfermedad coronaria. La ingestión de vino tinto desalcoholizado o de una mezcla de compuestos fenólicos extraída del vino tinto mejora el estatus antioxidante del plasma en humanos. El consumo de dietas controladas altas en frutas y verduras incrementa significativamente la capacidad antioxidante del plasma en humanos. Estudios epidemiológicos han demostrado una asociación negativa significativa entre la ingesta de frutas y verduras y la mortalidad debida a la enfermedad cardíaca (Kähkönen *et al.*, 1999).

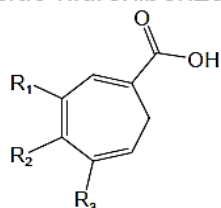
Dietas ricas en compuestos fenólicos se asocian con mayor expectativa de vida. Estas propiedades incluyen actividad anticáncer, antiviral, antiinflamatoria, efectos sobre la fragilidad capilar, y habilidad para inhibir la agregación de las plaquetas humanas. Estos compuestos pueden moderar la peroxidación de los lípidos involucrados en la aterogénesis, trombosis y carcinogénesis. Sus propiedades conocidas incluyen la captura de RL, fuerte actividad antioxidante, inhibición de las enzimas hidrolíticas y oxidativas (fosfolipasa A2, ciclooxigenasa, lipoxigenasa) y acción antiinflamatoria (Siddhuraju *et al.*, 2003).

2.4.2 Ácidos fenólicos

Existen 2 clases de ácidos fenólicos: derivados del ácido benzoico y derivados del ácido cinámico (figura 3). Los ácidos hidroxibenzoicos son compuestos de estructuras complejas tales como taninos hidrolizables (TH) y taninos condensados (TC). Los ácidos hidroxicinámicos son más comunes que los hidroxibenzoicos y consisten principalmente en ácido p-cumárico, ferúlico, cafeico y sinápico (Manach *et al.*, 2004).

Figura 3. Estructura química de ácidos fenólicos.

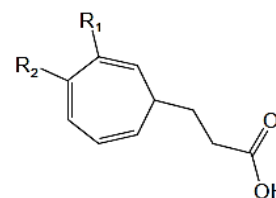
Ácido hidroxibenzoicos



R₁=R₂= OH; R₃= H: Ácido protocatequídico

R₁=R₂=R₃= OH: Ácido gálico

Ácidos hidroxicinámicos



R₁= OH; R₂= H: Ácido cumárico

R₁=R₂= OH: Ácido cafeico

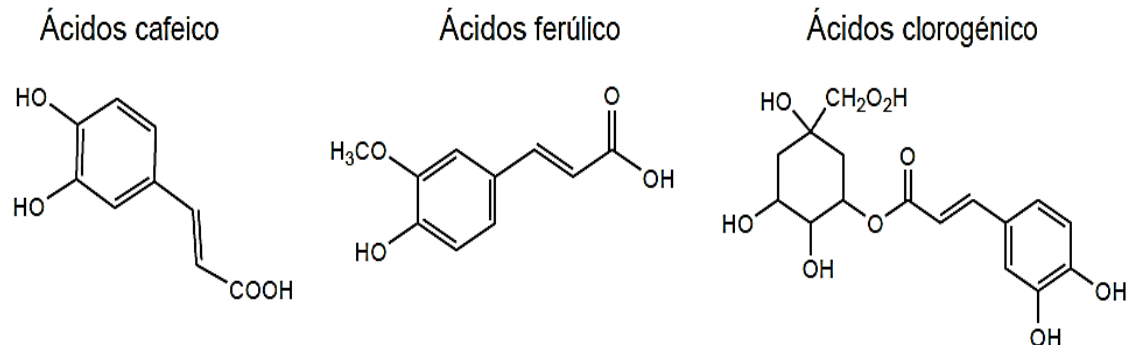
R₁= CH₃ O; R₂= OH: Ácido ferúlico

Fuente:(Manach et al., 2004).

2.4.3 Ácidos hidroxicinámicos

Los ácidos hidroxicinámicos se encuentran en forma libre, excepto en alimentos procesados que han sido congelados, esterilizados o fermentados. Las formas unidas son derivados glicosilados o ésteres de ácido quínico, ácido shiquímico y ácido tartárico. El ácido cafeico y quínico se combinan para formar ácido clorogénico, que se encuentra en muchos tipos de fruta y en altas concentraciones en el café. El ácido ferúlico es el ácido fenólico más abundante que se encuentra en los granos de cereales, que constituyen su principal fuente alimentaria. El contenido en ácido ferúlico del grano de trigo es de 0.8 a 2.0 g/kg de peso seco, que puede representar hasta un 90 % de los polifenoles totales. El ácido ferúlico se encuentra principalmente en las partes externas del grano. La capa de aleurona y el pericarpio de grano de trigo contienen el 98 % del ácido ferúlico total. Las harinas de arroz contienen aproximadamente la misma cantidad de ácidos fenólicos que la harina de trigo (63 mg/kg), aunque el contenido de la harina de maíz es aproximadamente tres veces superior (Manach et al., 2004). (Figura 4).

Figura 4. Estructuras químicas de ácidos hidroxicinámicos.



Fuente: (Manach et al., 2004).

2.4.4 Ácidos hidroxibenzoicos

- **Taninos**

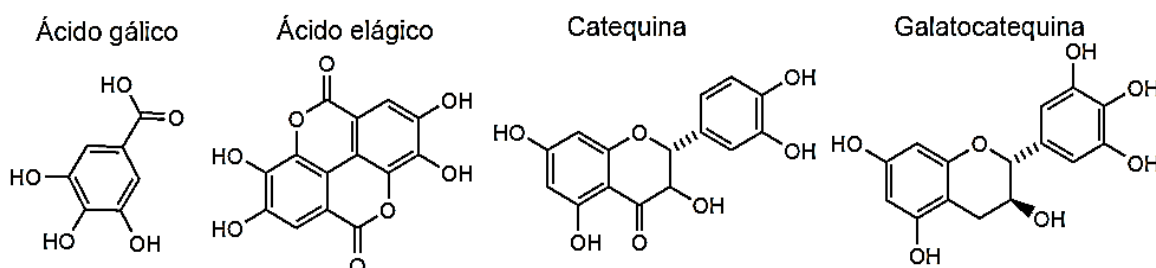
Son polímeros polifenólicos solubles en agua, de alto peso molecular y tiene capacidad para formar complejos principalmente con proteínas debido a la presencia de un gran número de grupos hidroxilo y fenólicos, se encuentran en árboles forrajeros, arbustos, legumbres, frutas, cereales y granos (Jonker & Yu, 2017).

Los TH son complejas moléculas con un poliol como grupo central tal como, glucosa, glucitol, ácido quínico, quercitol o ácido shiquímico que es parcial o totalmente esterificado con un grupo fenólico, es decir, ácido gálico (ácido 3, 4, 5-trihidroxibenzoico; galotaninos) o un regulador de ácido gálico hexahidroxidifénico. Los últimos grupos fenólicos resultantes pueden esterificarse u oxidarse para producir TH más complejos.

Los TC o también conocidos como proantocianidinas son principalmente polímeros de las unidades de flavan-3-ol (epi) catequina y (epi) galocatequina, que están unidas por enlaces interflavonoides C4-C8 y C4-C6, el número de unidades monoméricas puede variar y esto determina el grado de polimerización de di-, tri-, tetraflavonoides a oligómeros superiores (Patra & Saxena, 2010). Las interacciones con las proteínas se

dan, por ejemplo, mediante enlaces de hidrógeno entre los grupos hidroxilo (OH) de proantocianidina (TC) y el grupo amino (-NH) de péptidos u otros sustratos, también se deben a interacciones hidrofóbicas entre el anillo de fenol de proantocianidina y el grupo carboxilo (-COOH) de proteína. Las proantocianidinas también pueden unirse a metales, aminoácidos esenciales, hidratos de carbono, enzimas digestivas y microorganismos, pero con una menor afinidad que con las proteínas de la dieta (Jonker & Yu, 2017). en la figura 5 se muestran unidades monoméricas de taninos condensados e hidrolizables.

Figura 5. Unidades monoméricas de taninos condensados (catequina y galocatequina) y taninos hidrolizables (ácido gálico y elágico).



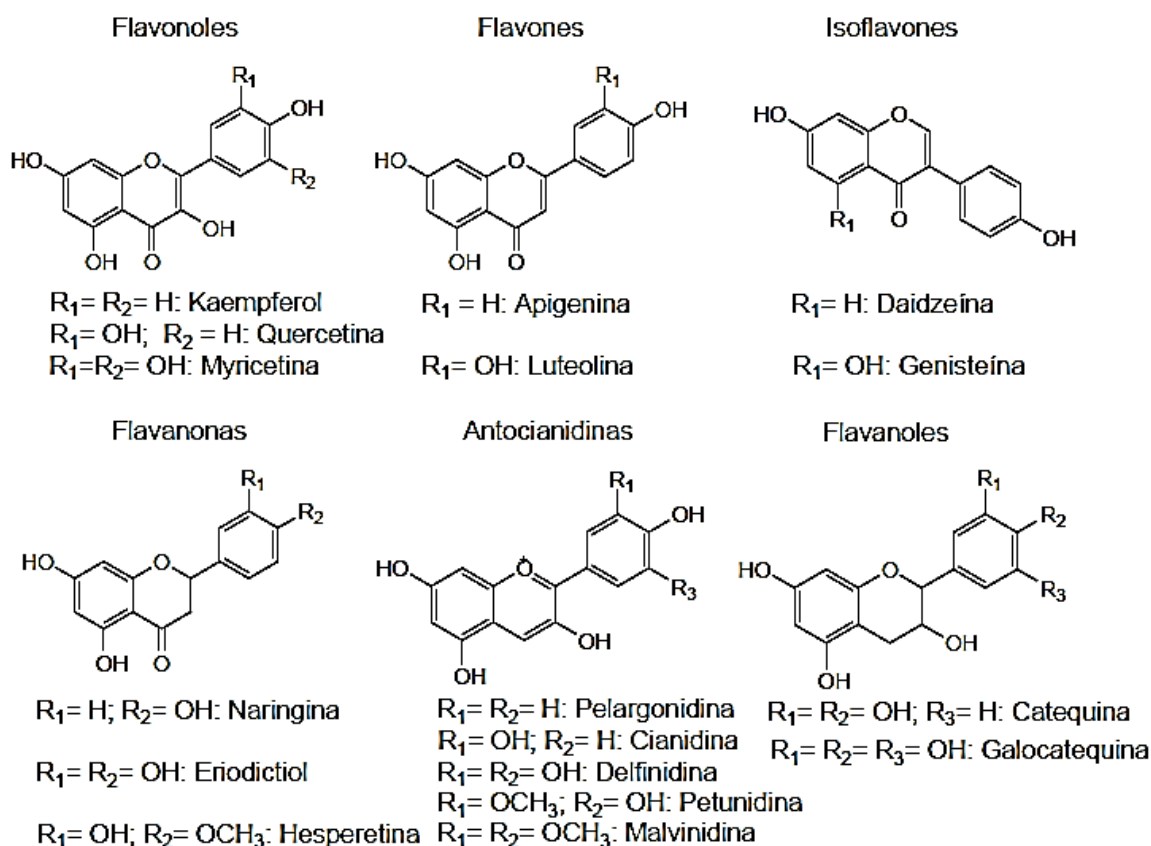
Fuente: Patra & Saxena, 2010; Jonker & Yu, 2017).

- **Flavonoides**

Los flavonoides constituyen una clase diversa de metabolitos que están ubicuamente presentes en el reino vegetal, contienen más de 10,000 estructuras diferentes. El nombre *flavonoid* se deriva de la palabra latina amarillo, *flavus*, y apunta al color de muchos flavonoides. Los flavonoides son responsables de gran parte de la pigmentación amarilla, roja, azul y morada de las plantas (Gholami *et al.*, 2014). El hombre los consume cotidianamente en la dieta, ya que están presentes en las frutas rojas como las moras, fresas, zarzamoras, frutas cítricas, chocolate, nueces, bebidas derivadas de la uva como el vino tinto, el té verde y negro, así como en otros alimentos (Estrada-Reyes *et al.*, 2012).

Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo y fenólicos con excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante (Martínez-Flórez *et al.*, 2002), que se muestra en la figura 6.

Figura 6. Estructuras químicas de flavonoides.



Fuente: (Manach *et al.*, 2004).

Son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpirano, compuesto por dos anillos fenilos (A y B) ligados a través de un anillo de pirano (C). La actividad de los flavonoides como antioxidantes depende de las propiedades oxido-reductoras de sus grupos hidroxilo y fenólicos, así como de la relación estructural entre las diferentes partes de la estructura química

En función de sus características estructurales se pueden clasificar en diferentes grupos.

- ✓ **Flavonas:** Son mucho menos comunes que los flavonoles en frutas y verduras. Las flavonas consisten principalmente en glucósidos de luteolina y apigenina. Las únicas fuentes comestibles importantes de flavonas identificadas hasta la fecha son el perejil y el apio. Cereales como el mijo y el trigo contienen C-glucósidos de flavonas (Martínez *et al.*, 2002; Manach *et al.*, 2004).

- ✓ **Flavonoles:** Son los flavonoides más abundantes en los alimentos, los principales representantes son quercetina que posee un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo •OH en posición 3 del anillo C y kaempferol (Martínez *et al.*, 2002). Están generalmente presentes a concentraciones relativamente bajas de 15 a 30 mg/kg de peso fresco. Las fuentes más ricas son cebollas (hasta 1.2 g/kg de peso fresco), col rizada, poro, brócoli y arándanos. El vino tinto y el té también contienen hasta 45 mg de flavonoles/L. Estos compuestos están presentes en formas glicosiladas. El resto de azúcar asociado es muy a menudo glucosa o ramanosa, pero también pueden estar implicados otros azúcares (por ejemplo, galactosa, arabinosa, xilosa, ácido glucurónico). Estos flavonoles se acumulan en los tejidos externos y aéreos (piel y hojas) debido a que su biosíntesis es estimulada por la luz. Existen diferencias marcadas en la concentración entre trozos de fruta en el mismo árbol e incluso entre los diferentes lados de una sola pieza de fruta, dependiendo de la exposición a la luz solar. Del mismo modo, en las hortalizas de hojas como la lechuga y la col, la concentración de glicósidos es ≥ 10 veces más alta en las hojas exteriores verdes que en las hojas internas de color claro. Este fenómeno también explica el mayor contenido de flavonoles en tomates cherry que de tomates estándar, porque tienen diferentes proporciones de piel (Manach *et al.*, 2004).

- ✓ **Flavanonas:** Se encuentran en los tomates y ciertas plantas aromáticas como la menta, pero están presentes en altas concentraciones sólo en los cítricos. Las principales agliconas son naringenina en pomelo, hesperetina en naranjas

y eriodictiol en limones. Las flavanonas están generalmente glicosiladas por un disacárido en la posición 7, una neohesperidosa, que imparte un sabor amargo (tal como la naringina en el pomelo), o una rutinosa, que no tiene sabor. El jugo de naranja contiene entre 200 y 600 mg de hesperidina/L y de 15 a 85 mg de narirutina/L; en un solo vaso de jugo de naranja puede contener de 40 a 140 mg de glucósidos de flavanona. Debido a que las partes sólidas de los cítricos, particularmente el albedo (la parte esponjosa blanca) y las membranas que separan los segmentos, tienen un contenido muy alto de flavanona, la fruta entera puede contener hasta 5 veces más que un vaso de jugo de naranja (Manach *et al.*, 2004).

- ✓ **Antocianidinas:** Se presentan unidas al grupo •OH en posición 3 pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C. Los pigmentos que producen las antocianinas existen en diferentes formas químicas, tanto coloradas como incoloras, según el pH. Aunque son altamente inestables en la forma de aglicona (antocianidinas), mientras están en plantas, son resistentes a la luz, pH y condiciones de oxidación que pueden degradarlos. La degradación se evita mediante glicosilación, generalmente con una glucosa en la posición 3, y esterificación con diversos ácidos orgánicos (ácidos cítrico y málico) y ácidos fenólicos. Además, las antocianinas se estabilizan mediante la formación de complejos con otros flavonoides (copigmentación). En la dieta humana, las antocianinas se encuentran en el vino tinto, ciertas variedades de cereales y ciertos vegetales frondosos y de raíz (berenjenas, col, frijoles, cebollas, rábanos), pero son más abundantes en la fruta. La cianidina es la antocianidina más común en los alimentos (Manach *et al.*, 2004).

- ✓ **Isoflavonas:** Son flavonoides con similitudes estructurales con los estrógenos. Aunque no son esteroides, tienen grupos hidroxilo en las posiciones 7' y 4' en una configuración análoga a la de los hidroxilos en la molécula de estradiol. Esto les confiere propiedades pseudohormonales, incluyendo la capacidad de unirse a los receptores de estrógenos, y los mismos se clasifican a menudo como

estrogénicos. Las isoflavonas se encuentran casi exclusivamente en plantas leguminosas. También están presentes en el vino tinto, pero el té verde y el chocolate son, con mucho, las fuentes más ricas. La catequina y la epicatequina son los principales flavanoles de los frutos, mientras que la galocatequina, la epigalocatequina y el galato de epigalocatequina se encuentran en ciertas semillas de plantas leguminosas. En contraste con otras clases de flavonoides, los flavonoles no son glicosilados (Manach *et al.*, 2004).

2.5 Especies reactivas de oxígeno

Es el término que se le da a las moléculas radicales y no radicales que son agentes oxidantes y/o son fácilmente convertidos a radicales. Los RL y el conjunto de especies reactivas que se les asocian juegan un papel central en el equilibrio homeostático (Avello & Suwalsky, 2006), estas Especies Reactivas de Oxígeno (ERO) son moléculas altamente reactivas que atacan constantemente al organismo mediante reacciones bioquímicas de óxido reducción, que ocurren como parte normal del metabolismo celular o por factores patológicos (Quintanar & Calderón, 2009).

El oxígeno es una molécula básicamente oxidante, es el principal responsable de la producción de especies reactivas del oxígeno. En condiciones normales, las células metabolizan la mayor parte del oxígeno (O_2) con la formación de agua y sin la producción de intermediarios dañinos, mientras que un pequeño porcentaje (en torno al 5 %) generan RL. Los oxidantes pueden también proceder del exterior, ya sea directamente o como consecuencia del metabolismo de ciertas sustancias (Avello y Suwalsky, 2006).

La expresión “ERO” es un término colectivo que involucra no sólo los RL derivados del oxígeno, sino también a los no radicales derivados de la reducción molecular del oxígeno, y que además son muy reactivos, como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el ácido hipocloroso (HOCl). En el cuadro 3 se muestran los ERO con radicales y no radicales.

Cuadro 3. Especies reactivas de oxígeno.

Radicales	No radicales
Superóxido ($O_2^{\bullet-}$)	Oxígeno singulete (1O_2)
Radical hidroxilo ($\bullet OH$)	Peróxido de hidrógeno (H_2O_2)
Peroxilo ($ROO\bullet$)	Ozono (O_3)
Alcoxilo ($RO\bullet$)	Ácido hipocloroso ($HOCl$)
Peroxilo lipídico ($LOO\bullet$)	Ácido nitroso (HNO_2)
Peroxinitrito ($ONOO^-$)	Trióxido de dinitrógeno (N_2O_3)
Óxido nítrico ($NO\bullet$)	Peróxido lipídico ($LOOH$)

Fuente: (Pedraza & Cárdenas, 2006; Pham-Huy et al., 2008)

2.6 Daño oxidativo y estrés oxidante

En las células y en los organismos en condiciones normales se mantiene un balance entre la producción de ERO y nitrógeno con los sistemas antioxidantes; de tal manera que la toxicidad por oxidación es limitada, pero cuando este equilibrio se pierde es debido a una excesiva producción de ERO o una deficiencia de los mecanismos antioxidantes, lo que conlleva a daños en las moléculas (Pedraza & Cárdenas, 2006; Quintanar & Calderón, 2009). Muchas de estas moléculas deben ser reparadas (tal como el ADN) o incluso reemplazadas (tal como muchos tipos de proteínas oxidadas). Así, por ejemplo, algunas proteínas en cuya estructura se encuentra el grupo prostético hierro-azufre (Fe-S) importantes para el metabolismo de *E. coli* pueden ser dañadas por los niveles de 0.1 a 0.2 μM de O_2 .

Como se mencionó el “estrés oxidativo” es causado por la pérdida del balance entre condiciones oxidantes y defensas antioxidantes. En esta situación se presentan daños de las macromoléculas por el rompimiento o modificación de su estructura, trayendo como consecuencia una alteración en la función o incluso, la muerte de la célula. El estudio del estrés oxidativo ha cobrado considerable importancia debido a las

consecuencias que puede tener en la salud. También se ha observado que diversos factores ambientales, como los contaminantes en el aire y la radiación pueden favorecer el desbalance oxidante/antioxidante (Pedraza & Cárdenas, 2006; Quintanar y Calderón, 2009).

El daño oxidativo está definido como "El daño biomolecular causado por el ataque de las especies reactivas sobre los constituyentes de organismos vivos". Los niveles elevados de daño oxidativo pueden resultar no sólo del estrés oxidativo, sino también de la falla de los sistemas de reparación o reemplazo (Halliwell, 2007; Quintanar & Calderón, 2009). Algunas enfermedades inflamatorias y psicológicas, además del envejecimiento están relacionadas con este fenómeno (Gutteridge & Halliwell, 2002).

2.7 Oxidación y radicales libres

En la química, la oxidación de un compuesto se debe a la pérdida de electrones o de hidrógenos, así como la ganancia de oxígeno en una molécula. Los oxidantes tienen afinidad para reaccionar con macromoléculas nucleofílicas, muchas de ellas de gran importancia biológica tales como proteínas, ácidos nucleicos, hidratos de carbono y lípidos (Pedraza & Cárdenas, 2006; Halliwell, 2007; Quintanar & Calderón, 2009).

Un RL puede ser definido como cualquier especie molecular capaz de existir independientemente, que contenga uno o más electrones desapareados (que ocupan por sí mismos un orbital atómico o molecular). La presencia de un electrón desapareado da lugar a ciertas propiedades comunes que son compartidas por la mayoría de los radicales. Muchos radicales son inestables y altamente reactivos. Pueden donar un electrón o aceptar un electrón de otras moléculas, por lo tanto, se comportan como oxidantes o reductores (Pedraza & Cárdenas, 2006; Lobo *et al.*, 2010). Los objetivos de los RL incluyen todo tipo de moléculas en el cuerpo, como pueden ser los lípidos, ácidos nucleicos y las proteínas (Lobo *et al.*, 2010).

La mayor parte de los compuestos químicos de importancia biológica están formados por átomos unidos por enlaces covalentes, en estos enlaces dos átomos comparten un par de electrones en un orbital molecular y cada electrón muestra una rotación o giro opuesto a su par. En las células se llevan a cabo reacciones químicas que rompen estos enlaces de manera heterolítica, haciendo que una de las partes conserve dos electrones y la otra tenga deficiencia de dos electrones, lo cual genera compuestos estables nucleofílicos o electrofílicos, respectivamente, que son los conocidos aniones y cationes.

Sin embargo, algunas reacciones químicas, las radiaciones electromagnéticas y otros factores, pueden romper estos enlaces de la forma llamada homolítica, proceso después del cual cada parte conserva un solo electrón que estará desapareado, generándose así las especies químicas llamadas RL. Los RL son muy reactivos por que tienden a reducirse, esto se refiere a que sustraen un electrón de átomos o moléculas estables, las cuales son oxidadas, con la finalidad de alcanzar su propia estabilidad. Una vez que el RL ha conseguido un electrón de otra molécula; ésta (pierde al electrón) se oxida y deja a otro electrón desapareado, lo que la convierte a su vez en un RL, iniciándose y después propagándose la reacción, dando como resultado una reacción en cadena (Avello & Suwalsky, 2006; Quintanar & Calderón, 2009).

2.8 Compuestos antioxidantes

Un antioxidante es cualquier sustancia que, a bajas concentraciones, comparado con el sustrato oxidable, retarda o previene significativamente la oxidación del sustrato (Gutteridge & Halliwell, 2002). Los mecanismos de defensa antioxidantes con los que el organismo enfrenta el daño oxidante son muy diversos y específicos; para hacer frente a la multiplicidad de formas de RL y especies reactivas; con un gran número de sitios de acción en el organismo y en las células, pudiendo clasificarse de la siguiente manera:

a) Antioxidantes endógenos

Macromoléculas que inhiben especies reactivas y evitan su acción. Por ejemplo, proteínas que acumulan o transportan metales de transición, como la transferrina y la ceruloplasmina o como el oxígeno, la hemoglobina y la mioglobina.

Enzimas con gran afinidad para catalizar con altas velocidades la reacción de reducción parcial de una especie reactiva, por ejemplo: la superóxido dismutasa (SOD) que cataliza la dismutación del O_2 a H_2O_2 ; la glutatión peroxidasa (GPx) es una enzima dependiente de selenio y cataliza la reducción del H_2O_2 ; la glutatión sulfhidril transferasa (GST) que cataliza el ataque nucleofílico del cosustrato glutatión sobre el centro electrófilo de un gran número de oxidantes y la catalasa (CAT) que reduce el H_2O_2 a H_2O (Blokhina *et al.*, 2003; Quintanar & Calderón, 2009).

Sustratos antioxidantes, son empleados por las enzimas para poder reducir parcialmente a los RL y las especies reactivas. Por ejemplo; el glutatión y el NADPH⁺ (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato, abreviada NADP⁺ en su forma oxidada y NADPH⁺ en su forma reducida). El glutatión es un tripéptido (γ -glutamilcisteinil-glicina) con gran facilidad para ceder electrones (nucleofílico) debido a su grupo sulfhidrilo (-SH) y su potencial redox; una vez que queda oxidado se puede regenerar gracias a la enzima glutatión reductasa (GR) que lo reduce con la oxidación de NADPH⁺. El NADPH⁺ tiene un potencial redox negativo y por ende es un importante donador de electrones e hidrógenos, con lo que puede pasar a NADP⁺, siendo empleado por diversas enzimas como cosustrato.

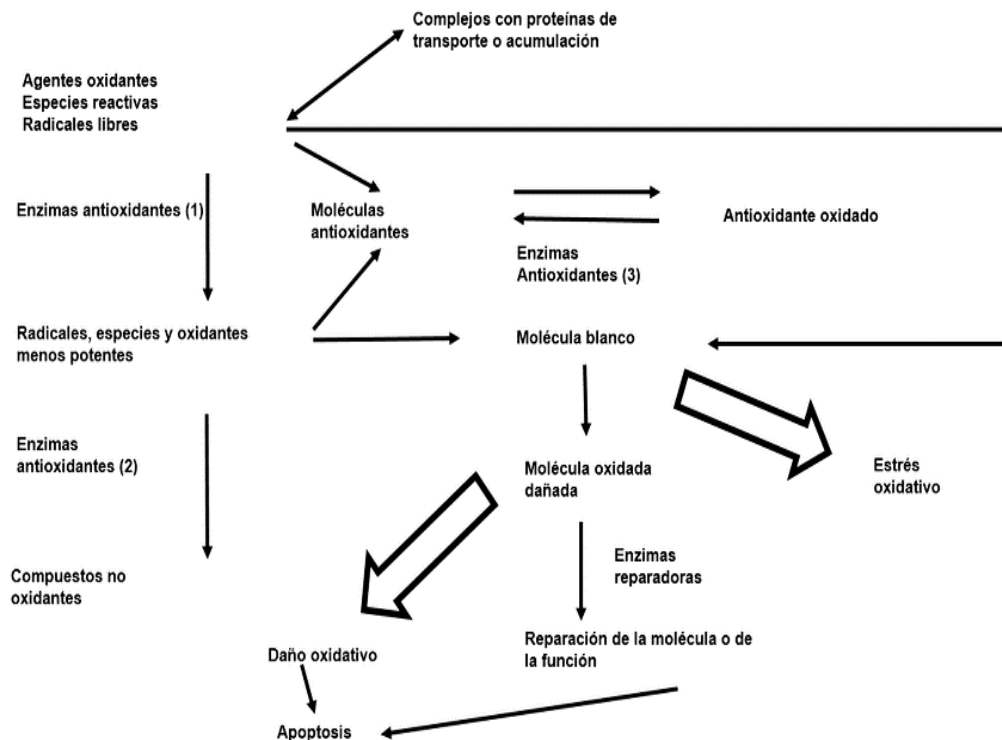
b) Antioxidantes exógenos

Son aquellos que provienen de la dieta, tales como la vitamina E (α -tocoferol), vitamina C (ácido ascórbico), β -caroteno (provitamina A), cobre, selenio, zinc, manganeso, polifenoles, licopenos, ácidos egálicos, flavonoides (quercetina, catequinas,

hespiridina) y taninos entre otros (Dragsted, 2008; Rendón-Ramírez *et al.*, 2007; Quintanar & Calderón, 2009).

En la figura 7 se muestra un esquema de sistemas antioxidantes en el estrés oxidativo, el esquema muestra los complejos de transporte o acumulación de oxidantes, la interacción con moléculas antioxidantes y los 3 tipos de enzimas antioxidantes. Los tipos 1 reducen parcialmente a los agentes oxidantes, generando oxidantes menos potentes (por ejemplo: SOD). Los tipos 2 reducen a los oxidantes a compuestos no oxidantes (por ejemplo: CAT). Los tipos 3 son las enzimas encargadas de reducir nuevamente (regenerar) a los antioxidantes que fueron oxidados para reducir a los oxidantes (por ejemplo: GR). A pesar de las defensas las macromoléculas pueden verse afectadas por la oxidación, esto produce daño oxidativo y requiere de ser reparado por las enzimas correspondientes (por ejemplo: polimerasas). Si la reparación falla o el daño es muy extenso se puede generar apoptosis.

Figura 7. Sistemas antioxidantes en el estrés oxidativo.



Fuente: (Quintanar & Calderón, 2009.)

2.9 Enfermedades Crónicas No Transmisibles

Las ECNT, se definen como un proceso de evolución prolongada, que no se resuelven espontáneamente y rara vez alcanzan una cura completa, las cuales generan una gran carga social tanto desde el punto de vista económico como desde la perspectiva de dependencia social e incapacitación. Tiene una etiología múltiple y con un desarrollo poco predecible, presentan múltiples factores de riesgo, con algunas excepciones su origen no es contagioso (McKenna & Collins, 2010).

Los problemas principales (cardiopatía, episodios cerebrovasculares, cáncer, diabetes y enfermedades respiratorias crónicas) son causados por factores de riesgo como la hipertensión, el azúcar sanguíneo elevado, la hiperlipidemia, y sobrepeso/obesidad, que a la vez son el resultado de regímenes alimentarios no saludables, inactividad física, consumo de tabaco y exceso de alcohol. (Robledo & Escobar, 2010). Las características de la alimentación con alto contenido en grasas saturadas, azúcares y sal y la baja ingesta de frutas, verduras, granos integrales, cereales y legumbres y la poca realización de actividad física son factores clave en el aumento de la prevalencia del sobrepeso y la obesidad. El consumo de tabaco es la principal causa de muertes prevenibles relacionado con las muertes por cáncer y cardiopatías.

Las ECNT están liderando las causas de muerte prematura y permanente discapacidad, la diabetes es la mayor causante de ceguera y falla renal y la mayor parte de las amputaciones están relacionadas con esta enfermedad (WHO *et al.*, 2005).

De igual manera se consideran ECNT las discapacidades tanto visuales como auditivas. De acuerdo a la OMS, alrededor del 80 % de todas las ECNT ocurren en países de bajos y medianos ingresos donde vive la mayoría de la población de todo el mundo. Estas generan o empeoran las condiciones de pobreza afectando el desarrollo económico y el bienestar de cualquier nación. Sin embargo, existe un importante

conocimiento científico que permite prevenir y controlar estas enfermedades, a través de respuestas costo–efectivas (WHO, 2006).

2.9.1 Relación entre las ECNT y el estrés oxidativo

En la figura 8 se muestra la instauración del proceso de estrés oxidativo ocurre por la existencia de un desequilibrio entre los sistemas oxidativos y los mecanismos antioxidantes, a favor de los primeros, llevando a la generación de grandes cantidades de RL o detrimento de la velocidad de neutralización de éstos (Halliwell & Whiteman, 2004). Este proceso conduce a la oxidación de biomoléculas con la consiguiente pérdida de sus funciones biológicas; así como al descontrol homeostático junto al potencial daño oxidativo contra las células y tejidos (Hicks *et al.*, 2006). La cronicidad del estrés oxidativo conlleva importantes implicaciones en el desarrollo de las ECNT, tales como la obesidad, la aterogénesis, la diabetes, los trastornos neurodegenerativos y el cáncer (Galili *et al.*, 2007).

Figura 8. Estrés oxidativo y daños oxidativos.



Fuente: (Salas-Salvadó *et al.*, 2008)

Por otro lado, se desarrollan las defensas antioxidantes que, por su parte, tienen la función de inactivar las ERO y/o RL y, como consecuencia, proteger contra los daños

oxidativos (Mayne, 2003). Tales acciones pueden ser llevadas a cabo por medio de distintos mecanismos, impidiendo la formación de los RL y/o especies reactivas (sistema de prevención); inhibiendo la acción de éstos (sistema barredor) o favoreciendo la reparación y la reconstitución de las estructuras biológicas dañadas (sistema de reparación) (Hicks *et al.*, 2006).

La superación de los sistemas pro-oxidantes por los antioxidantes favorece la instauración del estrés oxidativo; caracterizado por la producción exacerbada de RL y ERO. Esta situación conlleva el desarrollo de daños oxidativos, por medio de oxidación a las biomoléculas y/o por la alteración de la homeostasis celular. A su vez, los daños oxidativos, están involucrados en la etiología de enfermedades crónicas no transmisibles.

III. Objetivos

3.1 Objetivo general

Determinar la actividad antioxidante *in vitro* de extractos etanólicos de *Cnidoscolus Chayamansa*.

3.2 Objetivos específicos

- Recolectar muestras de *Cnidoscolus Chayamansa* de 5 lugares diferentes de Teapa, Tabasco e Ixtapangajoyá, Chiapas.
- Determinar la composición de sólidos totales en hojas y tallos de *Cnidoscolus Chayamansa*.
- Obtener extractos de *Cnidoscolus Chayamansa* a diferentes concentraciones de etanol (0 %, 50 %, 80 % y 100 %).
- Determinar la concentración de compuestos fenólicos por el método de Folin-Ciocalteu en los extractos obtenidos.
- Determinar la actividad antioxidante mediante la técnica de atrapamiento de radicales libres por el método del 2,2-difenil-1-picrilhidracilo. (DPPH).

IV. Planteamiento del problema

Los radicales libres (RL) son protagonistas de numerosas enfermedades entre las cuales se encuentran las ECNT como la diabetes mellitus, obesidad, cáncer, hipertensión arterial sistémica, etc. Y algunas otras enfermedades del sistema respiratorio (enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma, hipertensión pulmonar, etc.) y del sistema nervioso como el Alzheimer y la enfermedad de Parkinson, etc.

Los RL provocan reacciones en cadena, estas reacciones solo son eliminadas por la acción de otras moléculas llamadas antioxidantes. (Ramos *et al.*, 2008; González *et al.*, 2015). Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas y pueden ser obtenidos de forma natural mediante el consumo de alimentos, o en forma de fármacos; sin embargo, el uso de fármacos representa altos costos aunado a los efectos adversos que provocan, por lo que buscar una alternativa natural es la mejor opción.

El uso de plantas medicinales constituye un recurso valioso para el tratamiento de las enfermedades antes mencionadas; además, el uso de plantas medicinales puede complementar los tratamientos alopáticos y mejorar la calidad de vida.

Por lo anterior, en el presente proyecto se evaluó la actividad antioxidante *in vitro* de extractos etanólicos de *C. Chayamansa*, con el objetivo de obtener mayor información y evidencia, de los metabolitos secundarios presentes en esta planta y su posible acción biológica.

V. Justificación

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, con diferentes estructuras, propiedades químicas y actividad biológica, englobando más de 8.000 compuestos distintos. (Gutiérrez *et al.*, 2008)

Como antioxidantes, los polifenoles pueden proteger las células contra el daño oxidativo y por lo tanto limitar el riesgo de varias enfermedades degenerativas asociadas al estrés oxidativo causado por los RL (Martínez-Flórez *et al.*, 2002). El estrés oxidativo se define comúnmente como el desequilibrio entre las especies oxidantes y reductoras a nivel celular en un organismo. (Miller *et al.*, 1993)

Entre los compuestos fenólicos más importantes se encuentran los flavonoides los cuales, además de su comprobada actividad antioxidante, se les ha atribuido una gran diversidad de efectos terapéuticos, tales como actividades cardiotónicas, antiinflamatoria, hepatoprotectora, antineoplástica, antimicrobial, etc. (Narayana *et al.*, 2001). Debido a esto, resulta de gran importancia el estudio de los componentes de las plantas, con el fin de conocer su composición y actividad o función.

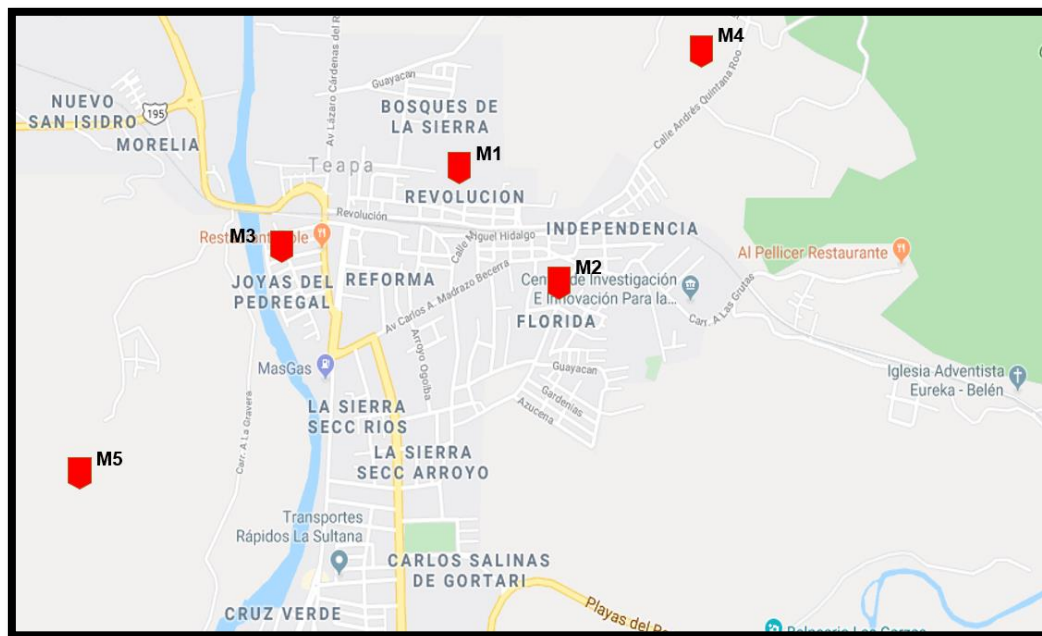
En el presente trabajo de investigación se estudió la planta *C. Chayamansa* para ampliar la información actual respecto a su composición, ya que diversas investigaciones han reportado algunos compuestos químicos importantes en su composición, como proteínas, β -caroteno, vitaminas, ácido ascórbico, calcio, hierro y compuestos fenólicos, los cuales tienen un efecto positivo contra algunas enfermedades degenerativas (García-Rodríguez *et al.*, 2014) además de ayudar a evitar o retardar las ECNT. Sin embargo, aún faltan mayores estudios respecto a la actividad antioxidante de la misma, la cual fue objetivo de estudio de este proyecto.

VI. Materiales y métodos

6.1 Recolección de las muestras

La recolección de la planta *C. Chayamansa* se realizó en cinco diferentes lugares del municipio de Teapa, Tabasco e Ixtapangajoya, Chiapas, que se pueden observar en la figura 9.

Figura 9. Mapa de Teapa, Tabasco marcado en los lugares donde se obtuvo las cinco diferentes muestras de *C. Chayamansa*.



Nota: Dónde: M1 “Col. La Sierra”, M2 “Col. Florida”, M3 “Col. Lázaro Cárdenas”, M4 “Ejido las Delicias” (todas las anteriores pertenecientes al municipio de Teapa, Tabasco) y M5 “Ranchería el Cacatal” (Ixtapangajoya, Chiapas)

La descripción de las muestras, la dirección de los sitios de recolección y las características de los mismos, se muestran en el cuadro 4.

Cuadro 4. Descripción de las características del lugar y de las condiciones de las muestras *C. Chayamansa* recolectada para realizar la investigación.

Muestra	Lugar de colecta	Condiciones del lugar
M1 de <i>C. Chayamansa</i> 	Av. Carlos A. Madrazo Becerra. Col. La Sierra Secc. Arroyo, Teapa Tabasco	La planta se encuentra sembrada en una casa con un suelo árido rodeado de concreto, en el cual el árbol ha crecido significativamente.
M2 de <i>C. Chayamansa</i> 	Calle Macuilis Col. Florida, Teapa Tabasco	El árbol está sembrado en la esquina de una calle con tierra colorada y es la única planta del lugar, cabe mencionar que el árbol es de tamaño pequeño
La M3 de <i>C. Chayamansa</i> 	Calle Amatista, Joyas del Pedregal Col. Lázaro Cárdenas, Teapa, Tabasco	En esta zona se encuentra sembrados diversos tipos de árboles y plantas a orilla del río.
M4 de <i>C. Chayamansa</i> 	Ejido Las Delicias Teapa, Tabasco	Se tiene cultivos de <i>C. Chayamansa</i> , entre otras plantas en una parcela de traspatio, la tierra es colorada y blanda.

Muestra	Lugar de colecta	Condiciones del lugar
M5 de <i>C. Chayamansa</i>	Ranchería Ixtapangajoya, Chiapas	La planta se encuentra sembrada en una parcela grande con otras plantas y rodeada de animales, el suelo es tierra blanda.

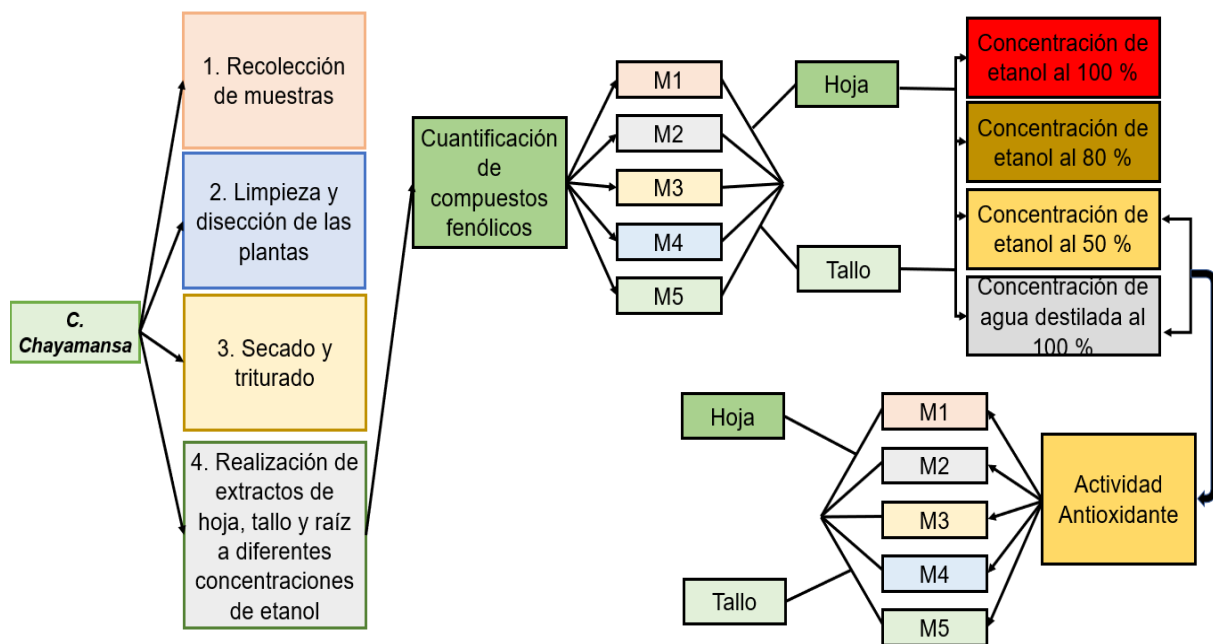


Fuente: Elaboración Propia.

6.2 Método

Los análisis fueron realizados en el Laboratorio LANIES. En la figura 10 se describe el diagrama experimental de la investigación. El método fue de diseño experimental y análisis cuantitativo.

Figura 10. Diagrama experimental.



Nota: Dónde: M1 "Col. La Sierra", M2 "Col. Florida", M3 "Col. Lázaro Cárdenas", M4 "Ejido las Delicias" (todas las anteriores pertenecientes al municipio de Teapa, Tabasco) y M5 "Ranchería el Cacatal" (Ixtapangajoya, Chiapas).

6.3 Secado y preparación de las muestras

La planta *C. Chayamansa* se lavó con agua destilada para retirar los restos de tierra, posteriormente se retiró el exceso de agua y se separó en sus partes: tallos y hojas, después se dejaron secar para determinar la humedad por el método de secado en estufa de la marca Amerex instruments, Inc. (Ver anexo 1) a 45° C (temperatura constante) durante 8 días, hasta obtener el peso constante de cada una de las muestras.

6.4 Obtención de extractos

Una vez secas cada una de las partes de la planta se procedió a moler por separado, hasta reducir el tamaño de las partículas a polvo con ayuda de un mortero y pistilo. Se obtuvieron extractos a una concentración de 1g de muestra/ 10 ml de disolvente: en agua, etanol-agua (50:50), etanol-agua (80:20) y etanol absoluto, se agitó y se dejó reposar por 24 h en oscuridad, pasado el tiempo se filtraron las muestras y almacenaron a temperatura de refrigeración para su uso posterior. (Ver anexo 1)

6.5 Determinación de compuestos fenólicos

La determinación de fenoles se realizó mediante la técnica de Folin-Ciocalteu, la cual se basa en la propiedad de los fenoles de reaccionar frente a agentes oxidantes. Este reactivo contiene molibdato y tungstato sódico que, al reaccionar con los compuestos fenólicos presentes, forman complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. (Peterson, 1979). En medio básico la transferencia de electrones reduce estos complejos a óxidos de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}), cromógenos de color azul intenso que son proporcionales a la cantidad de grupos fenólicos presentes en la molécula de interés (Julkunen-Tiitto, 1985)

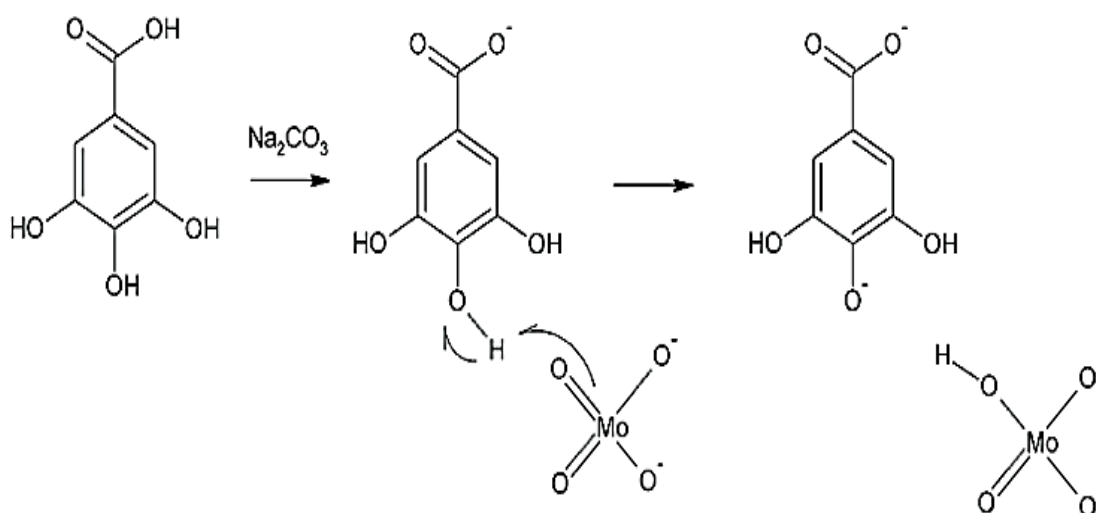
Para el ensayo se preparó la siguiente reacción: a 100 μ L de extracto correspondiente diluido se agregaron 500 μ L de reactivo Folin-Ciocalteu (1:10 en agua destilada) se agitó e incubó 2 min a temperatura ambiente. Se agregan 400 μ L de Na_2CO_3 al 10 %

y se incubó a 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se leyó a 760 nm en el espectrofotómetro UV-1800 de la marca SHIMADZU. (Ver anexo 1). Todas las muestras se realizaron por triplicado.

Se realizó una curva de calibración con ácido gálico (patrón) por medio de un análisis estadístico de regresión simple lineal. Los resultados fueron expresados en mg de ácido gálico equivalentes por gramo de extracto de la muestra.

En la figura 11 se muestra la reacción entre el ácido gálico y el reactivo de Folin Ciocalteu.

Figura 11. Reacción entre el ácido gálico y el reactivo de Folin-Ciocalteu.



Fuente: (Núñez-Gastélum et al., 2017).

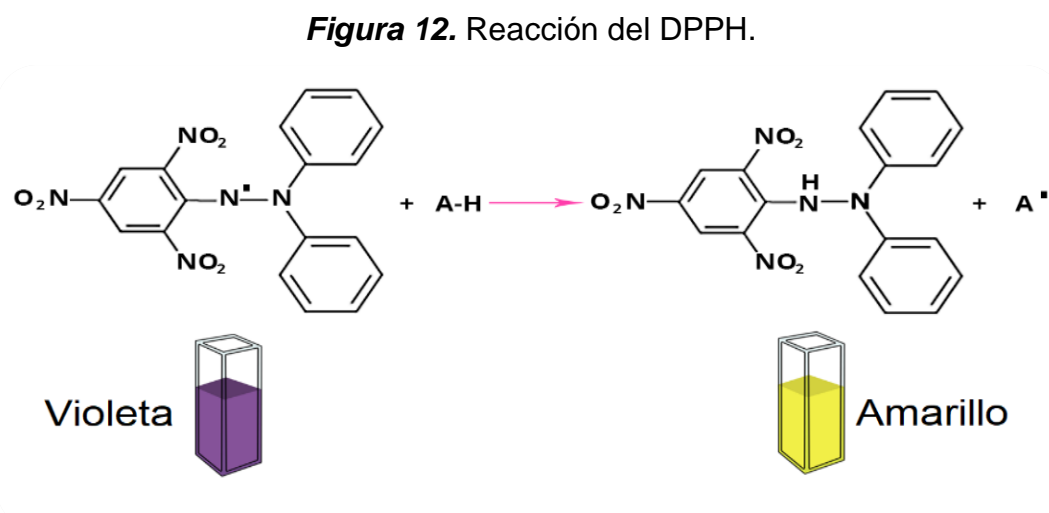
6.6 Determinación de la capacidad antioxidante

La capacidad para capturar radicales libres de los extractos fue determinada utilizando como referencia la disolución de 1,1-Difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) de acuerdo al método reportado por (Fukumoto & Mazza, 2000), el cual se basa en la estabilidad del radical DPPH que se atribuye a la deslocalización del electrón desapareado, esta deslocalización también le otorga una coloración violeta caracterizada por una banda de absorción, en solución etanólica, centrada alrededor de 520 nm. Cuando una

disolución de DPPH entra en contacto con una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno o con otra especie radical se produce la forma reducida DPPH-H o DPPH-R decolorándose hacia amarillo pálido por la reacción de la presencia de una sustancia antioxidante y por lo tanto la pérdida de la absorbancia (Molyneux, 2004).

Para la determinación de la actividad antioxidante, se eligieron los extractos que tenían la mayor concentración de compuestos fenólicos de las plantas, se tomaron 100 μ L de muestra de cada extracto a la concentración correspondiente y se le adicionó a cada uno 1000 μ L de una solución 0.1 mM de DPPH (ver anexo 1) en etanol, se agitó y se dejó reaccionar por 30 min protegidas de la luz. Por último, se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm, los valores de la absorbancia fueron utilizados para determinar el % de captación de radicales libres (DPPH).

En la figura 12 se muestra la reacción de decoloración del radical DPPH en presencia de un agente antioxidante.



Fuente: Modificado de (Barrales-Cureño et al., 2017).

6.7 Análisis estadísticos

Los datos fueron procesados estadísticamente con el programa Statgraphics plus[®] 4.0, los resultados obtenidos se utilizaron dentro del programa fue la ANOVA multifactorial que ejecuta un análisis de varianza de varios factores para repetición. Realiza varias pruebas y gráficas para determinar qué factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre repetición.

VII. Resultados y discusión

7.1 Determinación de sólidos totales

El principal componente de las hojas de *C. Chayamansa* es agua, la cual representa un 76.36 %, este parámetro es importante si se requiere almacenar la muestra ya que es propensa a ser atacada por microorganismos y tiende a pudrirse, por ello principalmente se procedió a la eliminación de la humedad en las muestras y la determinación de sólidos totales se hizo por el método de secado de estufa, los resultados se muestran en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Porcentaje de sólidos totales de *C. Chayamansa*.

Porcentaje de sólidos		
Muestra	Hoja	Tallo
M1	19.76	10.57
M2	26.39	14.23
M3	22.45	11.47
M4	22.41	9.35
M5	19.36	9.76

Nota: M1 "Col. La Sierra"; M2 "Col. Florida"; M3 "Col. Lázaro Cárdenas"; M4 "Ejido las Delicias" y M5 "Ranchería El Cacatal" Fuente: Elaboración propia.

7.2 Calibración del método

Se calibró el método de determinación de polifenoles totales por medio del reactivo de Folin-Ciocalteu, empleando ácido gálico como patrón, ya que la estructura de esta es similar a los compuestos fenólicos que hay en las plantas.

En el Cuadro 6 se presentan los valores correspondientes a las distintas concentraciones de ácido gálico.

Cuadro 6. Datos para la realización de la curva tipo de Ác. Gálico.

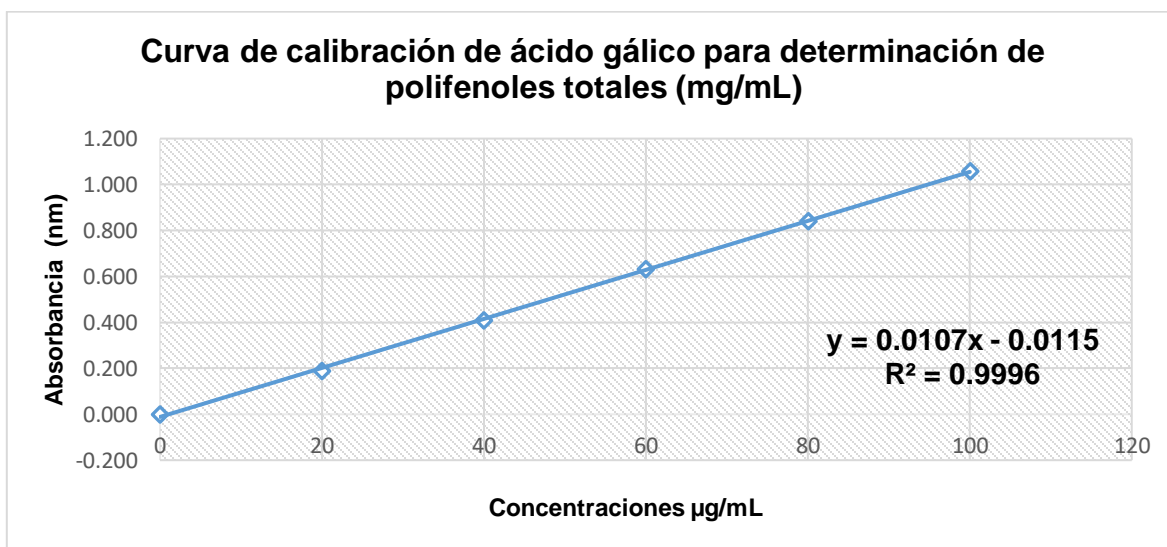
Sol de ácido gálico (µL)	Agua destilada (µL)	Concentración (µg/mL)
0	1000	0
20	980	20
40	960	40
60	940	60
80	920	80
100	900	100

Nota: Curva de Calibración del método de Folin-Ciocalteu, usando como patrón ácido gálico, las mediciones se realizaron por triplicado.

Los datos del Cuadro 6 fueron sometidos a un análisis estadístico de regresión simple lineal, con el objeto de obtener una curva de calibración del método y la ecuación que vincula las dos variables. El análisis de regresión permite obtener un modelo que relacione una variable dependiente “y” (Densidad óptica a 765 nm) con una variable independiente “x” (concentración de ácido gálico mg/L).

El coeficiente de determinación simple R^2 indica cuál es el porcentaje de variabilidad en que la variable “y” puede ser explicada por la variable independiente “x”. Como resultado del mencionado análisis se obtuvo la siguiente curva de ajuste mostradas en el grafico 1.

Gráfico 1. Curva de calibración para el método Folin-Ciocalteu de determinación de fenoles totales.



La concentración se expresa en mg/L de ácido gálico.

Donde:

Y = Concentración de polifenoles totales en mg por litro de ácido gálico

$$Y = 0.0107 x - 0.0115$$

$R^2 = 0.9996$ % (coeficiente de determinación).

Esto significa que el 0.9996 % de la variabilidad de la variable concentración puede ser explicada por la variable densidad óptica a 765 nm.

7.3 Determinación de compuestos fenólicos

Se determinaron los compuestos fenólicos que existen en las diferentes partes de la planta por el método de Folin-Ciocalteu y se leyeron en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 760 nm.

En el Cuadro 7 se muestra los promedios de las partes de la planta, así como su desviación estándar.

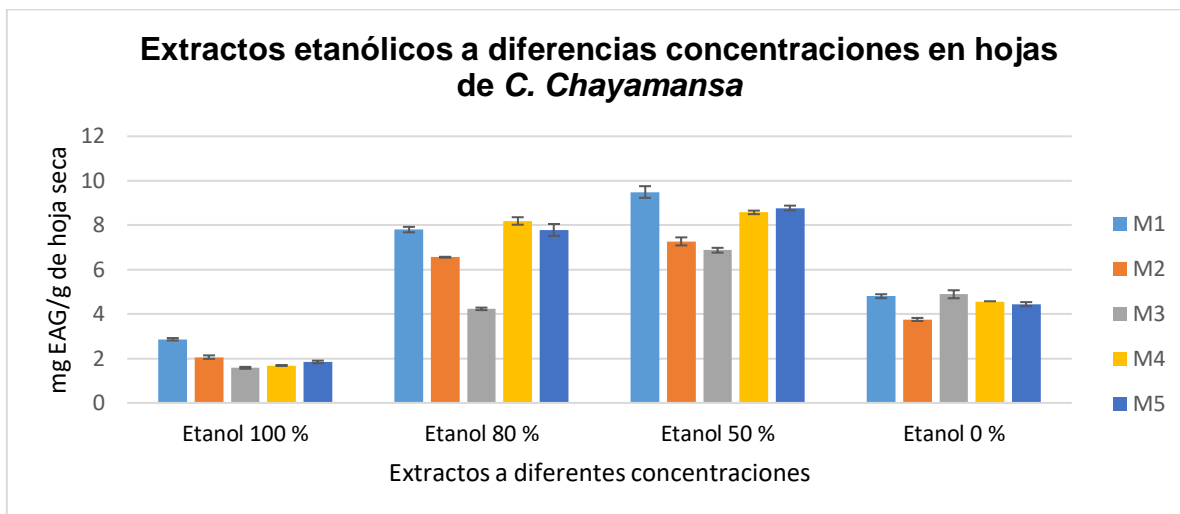
Cuadro 7. Concentración de compuestos fenólicos totales (mg EAG/g de hoja o tallo seco) de *C. Chayamansa*.

		Etanol 100% *	Etanol 80 %*	Etanol 50 %*	Etanol 0%*
	M1	2.86 ± 0.05	7.80 ± 0.12	9.49 ± 0.26	4.80 ± 0.08
	M2	2.06 ± 0.07	6.55 ± 0.01	7.26 ± 0.18	3.75 ± 0.06
HOJA	M3	1.57 ± 0.04	4.23 ± 0.05	6.87 ± 0.10	4.88 ± 0.18
	M4	1.68 ± 0.01	8.18 ± 0.16	8.57 ± 0.07	4.54 ± 0.03
	M5	1.84 ± 0.05	7.78 ± 0.26	8.77 ± 0.10	4.44 ± 0.09
	M1	0.58 ± 0.21	1.16 ± 0.14	3.13 ± 0.07	14.83 ± 0.42
	M2	0.57 ± 0.01	1.05 ± 0.01	3.10 ± 0.26	10.40 ± 0.20
TALLO	M3	0.29 ± 0.02	0.84 ± 0.01	3.35 ± 0.09	8.18 ± 0.75
	M4	0.62 ± 0.02	1.97 ± 0.05	3.21 ± 0.05	9.92 ± 0.63
	M5	0.64 ± 0.03	2.32 ± 0.05	3.23 ± 0.08	13.10 ± 0.32

* Unidad de medida: mg EAG/g de planta

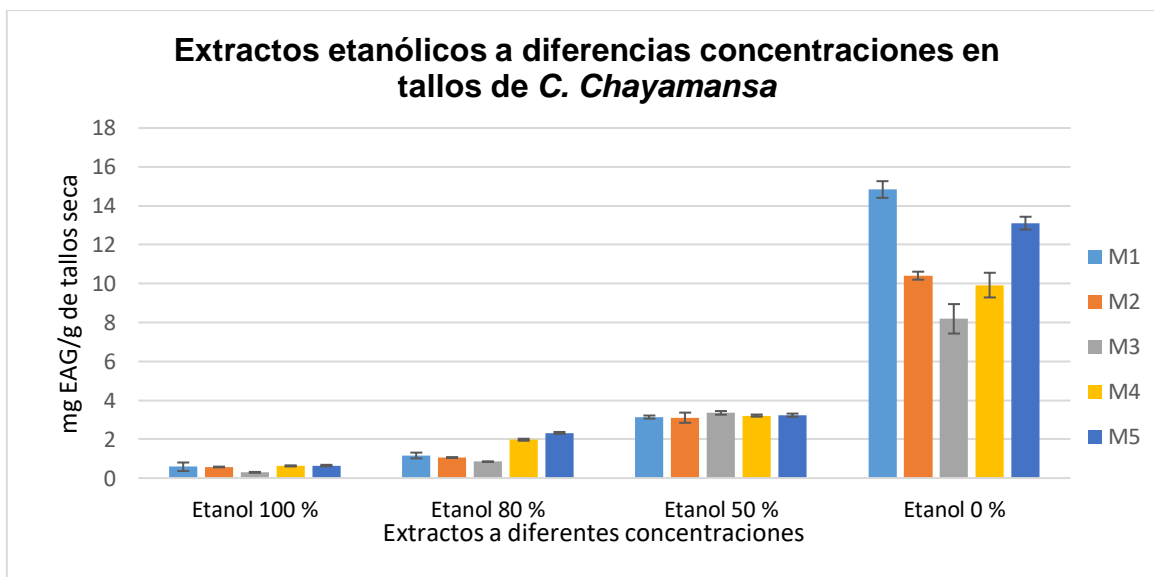
En la gráfica 2 y 3 se muestra la concentración de compuestos fenólicos totales de hojas y tallos respectivamente.

Gráfico 2. Concentración de Compuestos Fenólicos totales en hojas de *C. Chayamansa*.



Nota: Dónde: M1 “Col. La Sierra”; M2 “Col. Florida”; M3 “Col. Lázaro Cárdenas”; M4 “Ejido las Delicias” y M5 “Ranchería El Cacatal”.

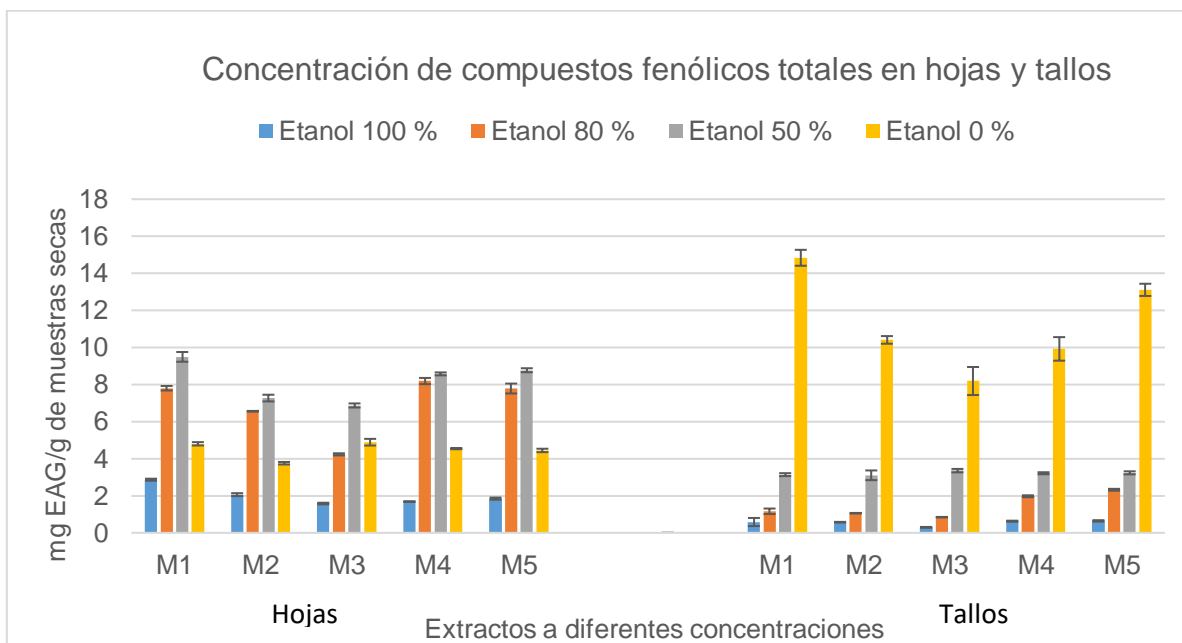
Gráfico 3. Concentración de Compuestos fenólicos totales en tallos de *C. Chayamansa*.



Nota: Dónde: M1 “Col. La Sierra”; M2 “Col. Florida”; M3 “Col. Lázaro Cárdenas”; M4 “Ejido las Delicias” y M5 “Ranchería El Cacatal”.

En el grafico 4 se presenta la comparación de las hojas y tallos del *C. Chayamansa* de sus compuestos fenólicos obtenidos a partir del método Folin-Ciocalteu.

Gráfico 4. Comparación de hojas y tallos de sus compuestos fenólicos obtenidos.



En las gráficas 2 al 4 se puede observar que la concentración del extracto de etanol al 50 % en hojas es la que tuvo mayores compuestos fenólicos, en contraste con los tallos se observó que en las concentraciones de 0 % presentan mayores compuestos fenólicos.

El contenido fenólico obtenido en el presente estudio fue de 2.0, 6.91, 8.19 y 4.48 mg EAG/g de hoja seca de *C. Chayamansa* y de 0.54, 1.47, 3.20 y 11.29 mg EAG/g de tallo seco de *C. Chayamansa* en los solventes de etanol al 100%, 80%, 50 % y 0% respectivamente para hojas y tallos.

Estos resultados fueron menores a los obtenidos por Loarca-Piña *et al.*, (2010), quienes reportaron un contenido fenol y flavonoides de 71.3 ± 1.7 mg EAG/g de extracto seco de chaya en extracto metanólico y $42,7 \pm$ Se obtuvieron 3,7 mg (+) de equivalente de catequina/g de extracto seco para fenoles totales y flavonoides, respectivamente, puede suponerse que la diferencia de los compuestos fenólicos obtenidos se debió al extracto utilizado ya que en ambos fueron extractos diferentes,

en el presente proyecto se utilizó etanol como disolvente a diferentes concentraciones ya que se desea que los extractos puedan ser consumidos a futuro y en el informe de Loarca-Piña utilizaron solo extracto metanólico.

Valenzuela Soto *et al.*, (2015) informaron que el contenido fenólico fue de 6.34 mg EAG/ml en la infusión de hojas de chaya orgánica hidropónica, dicho valor se asemeja al que se obtuvo en este proyecto en el extracto etanólico al 80 % de la hoja el cual fue de 6.91 mg EAG/g de hoja seca de *C. Chayamansa*, sin embargo cabe mencionar que en el trabajo de Valenzuela Soto, el extracto usado fue únicamente una infusión preparada de agua destilada estéril a 90 °C, y las plantas de *C. Chayamansa* no fueron cultivadas de forma tradicional, estas se cultivaron en bolsas de polietileno negro, las cuales contenían como sustrato una mezcla de arena de río y compost. La arena de río fue lavada y esterilizada con una solución de hipoclorito de sodio al 5 % y el compost fue preparado mediante compostaje de estiércol de bovino es por ello que pueden variar los compuestos fenólicos.

7.4 Determinación de actividad antioxidante

Para determinar la actividad antioxidante se eligieron los extractos de etanol al 50 % y etanol al 0 % ya que son los que contenían mayor concentración de compuestos fenólicos, en el Cuadro 8 se muestran los resultados, con su desviación estándar.

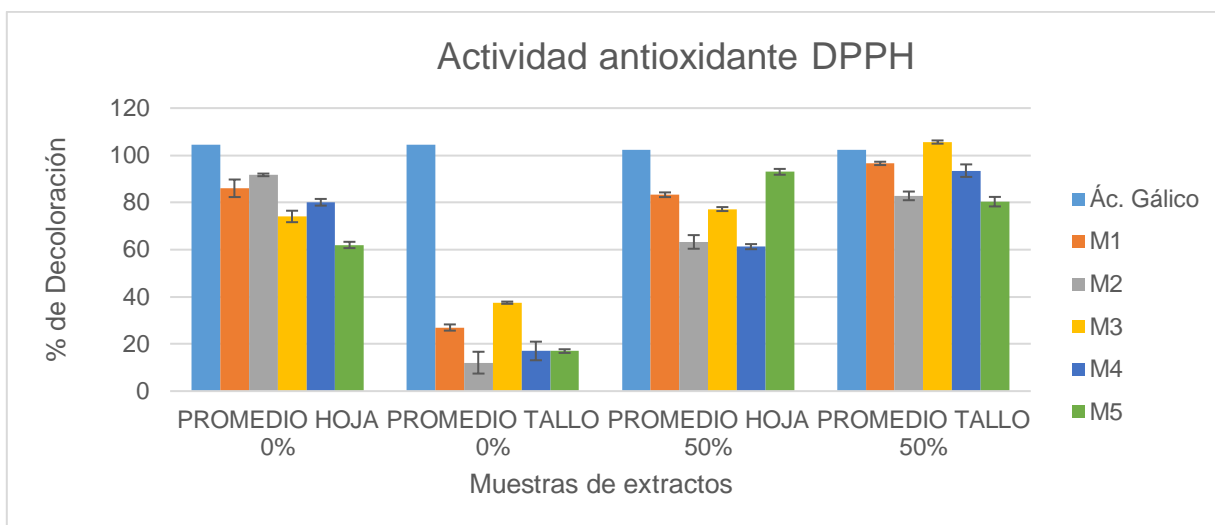
Cuadro 8. Actividad antioxidante Método DPPH.

	M1	M2	M3	M4	M5
Hoja 0 %*	86.00±3.72	80.17±0.55	74.05±2.43	62.74±1.41	61.97±1.33
Tallo 0 %*	26.96±1.31	12.06±4.62	37.48±0.48	17.02±3.94	16.97±0.78
Hoja 50 %*	83.26±0.99	63.25±2.89	77.18±0.84	61.25±1.07	92.98±1.23
Tallo 50 %*	96.55±0.70	82.78±1.83	105.60±0.67	93.48±2.64	80.33±2.01

*Nota:**Unidad de medida: % de Decoloración

En la gráfica 5 se muestra los valores obtenidos de la actividad antioxidante que se presentaron en las distintas concentraciones de etanol.

Gráfico 5. Actividad antioxidante de hojas y tallos de *C. Chayamansa*.



Los valores de la absorbancia que fueron utilizados para determinar el % de captación de radicales libres (DPPH) se determinaron mediante la fórmula siguiente:

$$\% \text{ inhibición} = \%I = \frac{A - A_1}{A} * 100$$

A=Absorbancia del blanco

A₁= Absorbancia de la muestra

Con respecto a la evaluación de la capacidad antioxidante, se obtuvo un valor de 75.58 % de inhibición en hojas de extracto de etanol al 50% y 78.76 % de inhibición en hojas de extracto de etanol al 0% En cuanto a los tallos los resultados fueron 91.75 y 22.10 % de inhibición en extracto de etanol al 50 % y etanol 0% respectivamente. Estos resultados difieren de los reportados, Loarca-Piña *et al.*, (2010) y quienes obtuvieron una menor capacidad antioxidante (45.5% de inhibición de los radicales DPPH) en extractos metanólico de chaya. Mientras que, en los resultados reportados por Valenzuela Soto *et al.*, (2015) se obtuvo un valor de 5.9 mM equivalente de Trolox/ml de té de hoja de chaya.

7.5 Comparación entre Compuestos fenólicos y actividad antioxidante

En el Cuadro 9 se muestra la comparación entre los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante obtenida de las hojas y tallos de *C. Chayamansa* de los diferentes solventes.

Cuadro 9. Muestras de compuestos fenólicos obtenidos y % captación de RL.

Muestra	Extracto	Compuestos Fenólicos**	% de Captación de RL.***
Ácido Gálico			103.373658725547
Hoja	Etanol 100 %	2.00693373	ND*
	Etanol 80 %	6.91312024	ND*
	Etanol 50%	8.19578112	75.5884071780213
	Etanol 0 %	4.48702916	78.7600619794693
Tallo	Etanol 100 %	0.54394073	ND*
	Etanol 80 %	1.47160878	ND*
	Etanol 50%	3.20937718	91.7532475782119
	Etanol 0 %	11.2933215	22.1011427464652

Nota: *No determinado ** Unidad de medida: mg EAG/g de planta ***Unidad de medida: % de Decoloración.

VIII. Conclusión

La planta de *C. Chayamansa* demostró tener altos contenidos de compuestos fenólicos, principalmente en tallos con disolvente de etanol al 0 % donde se obtuvo un 14.83 % de mg EAG/g de tallo seco, en contraste a las hojas donde se obtuvo 9.49 % de mg EAG/g de hoja seca con disolvente de etanol al 50 %, ambos de la M1 la cual corresponde a la Colonia “La Sierra” de municipio de Teapa, Tabasco. Se puede deducir que es la muestra que con mayores contenidos fenólicos y esto puede deberse a las características con las cuales creció la planta de dicho lugar. Por lo anterior se decidió determinar la capacidad antioxidante únicamente de los extractos de etanol al 50 % y 0 % de todas las muestras, de las cuales la que demostró tener mayor capacidad antioxidante fue en tallos de etanol al 50 % de la M3 (Col. Lázaro Cárdenas) con un 105.60 % de decoloración. Por lo que se concluye que la mayor cantidad de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de la planta *C. Chayamansa* se encuentran en los tallos.

Para conocer exactamente de qué compuesto fenólico se trata se recomienda realizar un análisis de perfil bidimensional de polifenoles el cuál se realiza por medio de cromatografía.

Por las investigaciones realizadas en el presente proyecto puede afirmarse que la planta de *C. Chayamansa* es recomendable para tratar diversa ECNT, principalmente las enfermedades de diabetes y enfermedades renales. Por lo que se espera en un futuro poder continuar realizando investigaciones *in vivo* para poder establecer dosis exactas del consumo de la planta y con ello tener beneficios.

IX. Recomendaciones

A partir del conocimiento originado en esta tesis, quedan abiertas diferentes opciones de investigación.

Con respecto al proceso de obtención del extracto, pueden explorarse diferentes solventes, tiempos de contacto con la planta, temperaturas de tratamiento y relaciones entre el sólido y los líquidos, así como el grado de molienda de las plantas.

Para las actividades biológicas del extracto, debe evaluarse la presencia de actividad antimicrobiana y antiinflamatoria del extracto, ante diferentes grupos bacterianos y virales de interés. También es posible explorar los efectos terapéuticos en el ser humano de este extracto, ya sea desde un punto de vista general, empleándolo como suplemento dietario, o bien desde un punto de vista específico.

X. Referencias

- Akerele, O. (1993). Las plantas medicinales: un tesoro que no debemos desperdiciar. *Foro mundial de la salud* 14, 390-395.
- Annan, K., & Houghtonb, P. J. (2008). Antibacterial, antioxidant and fibroblast growth stimulation of aqueous extracts of *Ficus asperifolia* Miq. and *Gossypium arboreum* L., wound-healing plants of Ghana. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(1), 141-144. doi:10.1016/j.jep.2008.06.017.
- Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*, (494), 161-172 doi: 10.4067/S0718-04622006000200010.
- Barragán-Solís, A. (2006). La práctica de la autoatención por fitoterapia en un grupo de familias mexicanas. *Archivos en Medicina Familiar*, 8(3), 155-162.
- Barrales-Cureño, H. J., Díaz, C. R., Reyes-Reyes, C., & Langer, N. (2017). Análisis del Comportamiento Antioxidante de Frutos de Arándano (*Vaccinium corymbosum* L.). *Sexto congreso internacional de investigación en ciencias básicas y agrónomicas* (págs. 64-80). Texcoco, México: CIESTAAM.
- Barthelson, R. A., Sundareshan, P., Galbraith, D. W., & Woosley, R. L. (2006). Development of a comprehensive detection method for medicinal and toxic plant species. *American journal of botany*, 93(4), 566-574. doi: 10.3732/ajb.93.4.566.
- Bautista-Cruz, A., Arnaud-Viñas, M. R., Martínez-Gutiérrez, G. A., Sánchez-Medina, P. S., & Pacheco, R. P. (2011). The traditional medicinal and food uses of four plants in Oaxaca, Mexico. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(15), 3404-3411.
- BDMTM. (18 de Junio de 2015). (*Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana*). Obtenido de Universidad Nacional Autónoma de México: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx>
- Berkelaar, D. P. (2006). *Chaya*. Echo, Florida.: Editorial: Technical Note.
- Bernhoft, A., Siem, H. L., Bjertness, E., Meltzer, M. H., Flaten, T. P., & Holmsen, E. (2010). Bioactive compounds in plants—benefits and risks for man and animals. *The Norwegian Academy of Science and Letters*, Oslo.
- Blokhina, O., Virolainen, E., & Fagerstedt, K. V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of botany*, 91(2), 179-194.

-
- Bye, R., & Linares, E. (1987). Usos pasados y presentes de algunas plantas medicinales encontradas en los mercados mexicanos. *América indígena*, 47(2), 200-230.
- Campos, N. R. (1993). "Estudios urbanos en Mexico sobre el uso de las plantas medicinales". En J. Kumate, *La investigación científica de la herbolaria medicinal mexicana* (pág. 272 páginas). México: Secretaría de Salud.
- Cheyrier, V. (2012). Phenolic compounds: from plants to foods. *Phytochemistry Reviews*, 11(2-3), 153-177.
- Dragsted, L. O. (2008). Biomarkers of exposure to vitamins A, C, and E and their relation to lipid and protein oxidation markers. *European journal of nutrition*, 47(2), 3.
- Estrada-Reyes, R., Ubaldo-Suarez, D., & Araujo-Escalona, G. A. (2012). Flavonoids and Central Nervous System. *Salud Mental*, 35(5), 375-384.
- Fukumoto, L. R. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(8), 3597-3604.
- Galili, G., Shaaltiel, Y., Bartfeld, D., Hashmueli, S., Baum, G., Brill-Almon, E., & Futerman, A. H. (2007). Production of glucocerebrosidase with terminal mannose glycans for enzyme replacement therapy of Gaucher's disease using a plant cell system. *Plant biotechnology journal*, 5(5), 579-590.
- García de Alba García, J. E., Robles Arellano, G., Zañudo Hernández, J., Salcedo Rocha, A. L., & García de Alba Verduzco, J. E. (2012). Conocimiento y uso de las plantas medicinales en la zona metropolitana de Guadalajara. *Desacatos*, (39), 29-44.
- García-Rodríguez, R. V., Gutiérrez-Rebolledo, G. A., Méndez-Bolaina, E., Sánchez-Medina, A., Maldonado-Saavedra, O., Domínguez-Ortiz, M. Á., . . . Cruz-Sánchez, J. S. (2014). *Cnidocolus chayamansa* Mc Vaugh, an important antioxidant, anti-inflammatory and cardioprotective plant used in Mexico. *Journal of ethnopharmacology*, 151(2), 937-943. doi: 10.1016/j.jep.2013.12.004.
- Gholami, A., De Geyter, N., Pollier, J., Goormachtig, S., & Goossens, A. (2014). Natural product biosynthesis in *Medicago* species. *Natural product reports*, 31(3), 356-380.

-
- González, R. G., Hernández, A. D., & Portillo, J. A. (2015). Visión panorámica de las enfermedades crónico-degenerativas. *Revista Internacional de Acupuntura*, 9(2), 57-69, doi: 10.1016/j.acu.2015.06.004.
- González-Laredo, R., De La Hoya, M. F., Quintero-Ramos, M. J., & Karchesy, J. J. (2003). Flavonoid and cyanogenic contents of chaya (spinach tree). *Plant Foods for Human Nutrition*, 58(3), 1-8.
- Gutiérrez, A. D., Ortiz, G. C., & Cisneros, A. M. (2008). *Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal*. Memorias del Simposio de Metrología, Universidad Autónoma de Querétaro, Santiago de Querétaro, México.
- Gutteridge, J. M., & Halliwell, B. (2002). Antioxidant Protection and Ixygen Radical Signaling. En D. L. Gilbert, & C. A. Colton, *Reactive oxygen species in biological systems* (págs. 189-218). Boston, Massachusetts : Springer.
- Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 1147-1150.
- Halliwell, B., & Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British journal of pharmacology*, 142(2), 231-255.
- Hertog, M. G., Feskens, E. J., Kromhout, D., Hollman, P. C., & Katan, M. B. (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *The lancet*, 342(8878), 1007-1011 doi: 10.1016/0140-6736(93)92876-U.
- Hicks, J. J., Torres-Ramos, Y. D., & Sierra-Vargas, M. P. (2006). Estrés oxidante. Concepto y clasificación. *Revista de Endocrinología y nutrición*, 14(4), 223-226.
- Jonker, A., & Yu, P. (2017). The occurrence, biosynthesis, and molecular structure of proanthocyanidins and their effects on legume forage protein precipitation, digestion and absorption in the ruminant digestive tract. *International journal of molecular sciences*, 18(5), 1105 doi: 10.3390/ijms18051105.
- Julkunen-Tiitto, R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of agricultural and food chemistry*, 33(2), 213-217.

-
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., & Heinonen, M. (2001). Berry phenolics and their antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, *49*(8), 4076-4082.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J.-P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., & Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, *47*(10), 3954-3962.
- Katewa, S. S., Chaudhary, B. L., & Jain, A. (2004). Folk herbal medicines from tribal area of Rajasthan, India. *Journal of Ethnopharmacology*, *92*(1), 41-46 doi: 10.1016/j.jep.2004.01.011.
- Kuti, J. O., & Torres, E. S. (1996). Potential nutritional and health benefits of tree spinach. *Progress in new crops*, *13*(5), 516-520.
- Loarca-Piña, G., Mendoza, S., Ramos-Gómez, M., & Reynoso, R. (2010). Antioxidant, Antimutagenic, and Antidiabetic Activities of Edible Leaves from *Cnidocolus chayamansa* Mc. Vaugh. *Journal of Food science*, *75*(2), LXXV(2), 68-72.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, *4*(8), 118.
- Loera, J. A., Black, S. A., Markides, K. S., Espino, D. V., & Goodwin, J. S. (2001). The use of herbal medicine by older Mexican Americans. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, *56*(11), M714-M718 doi: 10.1093/gerona/56.11.M714.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, *79*(5), 727-747 doi: 10.1093/ajcn/79.5.727.
- Martínez, M. (1996). *Las plantas medicinales de México*. México: Editorial Botas.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & M, T. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, *17*(6), 271-278.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, *17*(6), 271-278.

-
-
- Mayne, S. T. (2003). Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *The Journal of nutrition*, 133(3), 933S-940S.
- McKenna, M., & Collins, J. (2010). Current issues and challenges in chronic disease control. En P. L. Remington, R. C. Brownson, & M. V. Wegner, *Chronic disease epidemiology and control* (págs. (Ed. 3), 1-26). Washington, USA: American Public Health Association.
- Miller, J. K., Brzezinska-Slebodzinska, E., & Madsen, F. C. (1993). Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *Journal of dairy science*, 76(9), 2812-2823 doi: 10.3168/jds.S0022-0302(93)77620-1.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26(2), 211-219.
- Muñoz, Q. S., Olza, M. J., & Gómez, L. C. (2010). Compuestos bioactivos en los alimentos de origen vegetal. En A. Gil, *Tratado de nutrición* (Vol. II, págs. 1-765). Madrid: Editorial: Panamericana.
- Narayana, K. R., Reddy, M. S., Chaluvadi, M. R., & Krishna, D. R. (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*, 33(1), 2-16.
- Núñez-Gastélum, J. A., Muñoz-Bernal, Ó. A., Torres-Aguirre, G. A., Rosa, L. A., Rodrigo-García, J., Ayala-Zavala, J. F., & Álvarez-Parrilla, E. (2017). Nuevo acercamiento a la interacción del reactivo de Folin-Ciocalteu con azúcares durante la cuantificación de polifenoles totales. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 20(2), 23-28.
- OMS, W. H. (1979). *The selection of essential drugs. Second Report of the WHO Expert Committee*. The selection of essential drugs.
- Organization, W. H. (2006). *Stop the global epidemic of chronic disease: a practical guide to successful advocacy*. WHO.
- Organization, W. H., Canada, P. H., & Canada. (2005). *Preventing chronic diseases: a vital investment*. Public Health Agency of Canada.

-
- Osorio, D. E. (2009). *Aspectos básicos de farmacognosia*. Antioquia, Colombia: Facultad de Química Farmacéutica de la Universidad de Antioquia.
- Patra, A. K., & Saxena, J. (2010). A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*, *71*(11-12), 1198-1222 doi: 10.1016/j.phytochem.2010.05.010.
- Pedraza, C. J., & Cárdenas, R. N. (2006). Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes. Aspectos básicos. *Educación química*, *17*(2), 164-173.
- Peñarrieta, J. M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2014). Phenolic compounds in food. *Revista boliviana de química*, *31*(2), 68-81.
- Peregrine, W. T. (1983). Chaya (*Cnidoscolus aconitifolius*) a potential new vegetable crop for Brunei. *International Journal of Pest Management*, *29*(1), 39-41.
- Pérez-González, Zuleima, M., Gutiérrez-Rebolledo, G. A., & Jiménez-Arellanes, M. A. (2016). Importancia nutricional, farmacológica y química de la chaya (*Cnidoscolus chayamansa*). Revisión bibliográfica. *Temas de Ciencia y Tecnología*, *20*(60), 43-56.
- Peterson, G. L. (1979). Revisión del método de cuantificación de la proteína de fenol Folin de Lowry, Rosebrough, Farr y Randall. *Bioquímica analítica*, *100* (2), 201-220.
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*, *4*(2), 89.
- Porredón, A. T. (1998). Contribución de la Etnofarmacología a la obtención de nuevos fármacos de origen vegetal. *Real Academia de Farmacia de Barcelona.*, *1*(49).
- Praticò, D., & Delanty, N. (2000). Oxidative injury in diseases of the central nervous system: focus on alzheimer's disease. *The American journal of medicine*, *109*(7), 577-585.
- Proestos, C., Chorianopoulos, N., Nychas, G. J., & Komaitis, M. (2005). RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, *53*(4), 1190-1195.
- Quintanar, E. M., & Calderón, S. J. (2009). La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *Revista de educación bioquímica*, *28*(3), 89-101.

-
- Ramos, E., Castañeda, B., & Ibáñez, L. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. *Rev Acad Peru Salud*, 15(1), 42-46.
- Rendón-Ramírez, A., Cerbón-Solórzano, J., Maldonado-Vega, M., Quintanar-Escorza, M. A., & Calderón-Salinas, J. V. (2007). Vitamin-E reduces the oxidative damage on δ -aminolevulinic dehydratase induced by lead intoxication in rat erythrocytes. *Toxicology in vitro*, 21(6), 1121-1126.
- Robbins, R. J. (2003). Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(10), 2866-2887.
- Robledo, M. R., & Escobar, D. F. (2010). Las enfermedades crónicas no transmisibles en Colombia. *Boletín del observatorio en salud*, 3(4).
- Ross-Ibarra, J., & Molina-Cruz, A. (2002). The ethnobotany of chaya (*Cnidoscolus aconitifolius* ssp. *aconitifolius* Breckon): a nutritious maya vegetable. *Economic Botany*, 56(4), 350.
- Ryesky, D. (1976). *Conceptos tradicionales de la medicina en un pueblo mexicano: un análisis antropológico*. México: Editorial: Edimex. 1 ed.
- Salas-Salvadó, J., Garcia-Arellano, A., Estruch, R., Marquez-Sandoval, F., Corella, D., Fiol, M., . . . E, R. (2008). Components of the Mediterranean-type food pattern and serum inflammatory markers among patients at high risk for cardiovascular disease. *European journal of clinical nutrition*, 62(5), 651.
- Sheldon, J. W., Balick, M. J., Laird, S. A., & Milne, G. M. (1997). Medicinal plants: can utilization and conservation coexist? *Advances in economic botany*, 12, i-104.
- Shrestha, P. M., & Dhillon, S. S. (2003). Medicinal plant diversity and use in the highlands of Dolakha district, Nepal. *Journal of ethnopharmacology*, 86(1), 81-96. doi: 10.1016/S0378-8741(03)00051-5.
- Siddhuraju, P., & Becker, K. (2003). Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(8), 2144-2155 doi: 10.1021/jf020444.
- Steinmann, V. W. (2002). Diversidad y endemismo de la familia Euphorbiaceae en México. *Acta Botánica Mexicana*, (61), 61-93.

-
- Tabuti, J. R., Lye, K. A., & Dhillon, S. S. (2003). Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. *Journal of Ethnopharmacology*, 88(1), 19-44.
- Valares, M. C. (2011). *Variación del metabolismo secundario en plantas debida al genotipo y al ambiente (Tesis de Doctorado)*. Universidad de Extremadura, Badajoz, España.
- Valenzuela, S. R., Morales, R. M., Verde, S. M., Oranday, C. A., Preciado-Rangel, P., Antonio, G. J., & Esparza-Rivera, J. R. (2015). Cnidocolus chayamansa hidropónica orgánica y su capacidad hipoglucemiante, calidad nutraceutica y toxicidad. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 6(4), 815-825. doi: 10.29312/remexca.v6i4.621.
- Vargas, R. A., & Petricevich, V. L. (2018). Importancia biológica de los compuestos fenólicos. *Inventio. La génesis de la cultura universitaria en Morelos*, 14(34).
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(10), 4113-4117.
- Vinson, J. A., Dabbagh, Y. A., Serry, M. M., & Jang, J. (1995). Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(11), 2800-2802 doi: 10.1021/jf00059a005.
- Vogel, H. G. (1991). Similarities between various systems of traditional medicine. Considerations for the future of ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 35(2), 179-190. doi: 10.1016/0378-8741(91)90071-K.
- Wei-Zheng, & Wang, S. Y. (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(11), 5165-5170 doi: 10.1021/jf010697n.
- Yeh, G. Y., Eisenberg, D. M., Kaptchuk, T. J., & Phillips, R. S. (2003). Systematic review of herbs and dietary supplements for glycemic control in diabetes. *Diabetes care*, 26(4), 1277-1294. doi: 10.2337/diacare.26.4.1277.

-
- Yen, G. C., Duh, P. D., & Tsai, C. L. (1993). Relationship between antioxidant activity and maturity of peanut hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(1), 67-70 doi: 10.1021/jf00025a015.
- Zervas, G., & Tsiplakou, E. (2011). The effect of feeding systems on the characteristics of products from small ruminants. *Small Ruminant Research*, 101(1-3), 140-149.
- Zuluaga, G., & Correa, C. (2002). *Medicinas tradicionales: introducción al estudio de los sistemas tradicionales de salud y su relación con la medicina moderna*. Bogotá, Colombia: Editorial Kimpres.

XI. Anexos

10.1 Anexo 1.

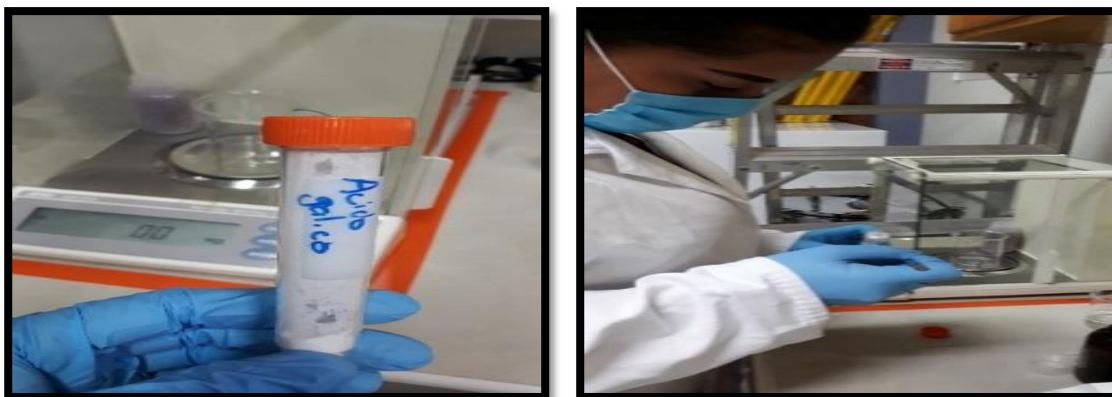
Figura 13. Determinación de humedad en muestras por el método de secado en estufa (marca Amerex instruments, Inc.) a 45°C temperatura constante.



Figura 14. Preparación de los extractos a diferentes concentraciones.



Figura 15. Preparación de la solución de ácido gálico.



Nota: Número CAS Número registrado CAS: 149-91-7; Nomenclatura IUPAC Unión Internacional de Química Pura y Aplicada: ácido 3, 4, 5-trihidroxibenzoico; Sinonimias. Ácido 3, 4, 5-trihidroxibenzoico; Peligrosidad del Ácido Gálico. Número RTECS Registro de Efectos Tóxicos de Sustancias Químicas: LW7525000.

Figura 16. Reactivo DPPH.



Nota: Especificaciones del producto: Número de Producto: G7384; Numero CAS: 149-91-7; MDL: MFCD00002510; Formula: C7H6O5; Formula Weight: 170.12 g/mol.

Figura 17. Preparación de las muestras para leer en el espectro.



Nota: Para realizar las lecturas en el espectro se utilizaron tubos Eppendorf, en donde se colocaron las muestras a determinadas concentraciones y diluciones.

Figura 18. Lectura en el espectrofotómetro UV-1800 marca SHIMADZU.



Nota: Las lecturas en el espectro se realizaron con dos diferentes absorbancias, para la lectura de compuestos fenólicos se leyeron a 760 nm y para la actividad antioxidante se leyeron a 517 nm.