



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Estudio comparativo de la actividad antibacteriana
y perfil cromatográfico de *Prosopis laevigata* de tres
zonas distintas

Tesis para obtener grado de:
Especialización en Biotecnología

Presenta:

Biól. Carla Angélica Anastacio del Ángel

Directora: Dra. Elisa Vega Avila

Asesora: Dra. Gloria Maribel Trejo Aguilar

Lector: Dr. Octavio Loera Corral

Ciudad de México, 2018.

*“Muchas son las lecciones que se pueden extraer del estudio de las plantas, si se procura
el verdadero espíritu de la sabiduría”*

John Balfour

DEDICATORIA

A mis padres Isabel del Ángel y Rogelio Anastacio por quererme a pesar de mis momentos de intensidad, por estar siempre apoyándome en cada paso que he dado en la vida, por todos los consejos y sobre todo por creer en mí y darme ánimos para continuar.

GRACIAS POR TODO, LOS AMO PAPÁS.

A mis hermanos César y Alberto por preocuparse por mí y ayudarme a ser una mejor persona.

A mi abuelito “Lalito” quien ya no está con nosotros físicamente, pero desde el cielo nos cuida, por todos los consejos dados y por ser siempre un ejemplo por seguir.

TE QUIERO Y EXTRAÑO.

A mis mejores amigas, Carmen Martínez C., Lizbeth Morales, Nancy Dorantes y Laura Reyes por su valiosa amistad, por siempre tener las palabras necesarias en los peores momentos, por ser mis confidentes y mis cómplices en esta vida.

LAS ADORO CON TODO MI CORAZÓN

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, por haberme dado la oportunidad de estudiar en sus instalaciones y por brindarme las herramientas necesarias para la realización de esta investigación.

A mi directora de tesis, la Dra. Elisa Vega Avila por todo el conocimiento brindado a lo largo de esta investigación.

A mi asesora de tesis, la Dra. Gloria Maribel Trejo, por el apoyo y conocimiento brindado y por ser parte de este trabajo.

A el Dr. Octavio Loera Corral, por tomarse el tiempo de realizar la revisión de esta tesis.

A mis compañeros de laboratorio Sara, Omar, Alejandra, Fernanda y Johav, por estar siempre disponibles.

A las Doctoras Claudia Barbosa y Leticia Pacheco por su amistad, las charlas interminables y todos sus consejos.

ÍNDICE

	Pág.
ABREVIATURAS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE CUADROS	viii
RESUMEN.....	ix
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Importancia del género <i>Prosopis</i>	1
1.1.1. Uso maderable	1
1.1.2. Uso alimenticio	2
1.1.3. Importancia ecológica.....	2
1.1.4. Etnobotánica	2
1.2. Enfermedades gastrointestinales.....	3
1.2.1. Bacterias causantes de la disentería bacilar.....	4
1.3. Distribución geográfica de <i>Prosopis laevigata</i>	5
1.4. Descripción botánica	5
2. ANTECEDENTES.....	6
2.1. Aspectos fitoquímicos de <i>Prosopis laevigata</i>	6
2.2. Antecedentes farmacológicos de <i>Prosopis laevigata</i>	7
3. JUSTIFICACIÓN.....	8
4. HIPÓTESIS	8
5. OBJETIVOS.....	9
5.1. General.....	9
5.2. Particulares.....	9
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
6.1. Diseño experimental.....	10
6.2. Obtención del material vegetal	11
6.2.1. Autenticación del material vegetal	11
6.3. Preparación de extractos metanólicos.....	11
6.3.1. Detección de alcaloides.....	12
6.4. Obtención de las fracciones.....	12
6.5. Evaluación de la actividad antibacteriana.....	12
6.6. Cuantificación de polifenoles totales.....	13
6.7. Cuantificación de flavonoides totales.....	14

6.8.	Evaluación de la actividad antioxidante.	14
6.9.	Análisis cromatográfico (HPLC).....	16
6.9.1.	Preparación de muestras y estándares analizados	16
6.9.2.	Condiciones para el análisis cromatográfico	16
6.10.	Análisis estadístico	17
7.	RESULTADOS.....	18
7.1.	Obtención de los extractos ricos en alcaloides	18
7.1.1.	Obtención de las fracciones.....	18
7.2.	Actividad antibacteriana de los extractos, fracciones y precipitados de tallo de <i>Prosopis laevigata</i>	19
7.3.	Cuantificación de polifenoles totales y flavonoides totales	21
7.4.	Actividad antioxidante.....	22
7.5.	Análisis cromatográfico.....	24
7.5.1.	Espectros de las muestras analizadas.....	27
7.5.2.	Concentración de catequina	34
8.	DISCUSIÓN.....	35
8.	CONCLUSIÓN	39
9.	BIBLIOGRAFÍA.....	40
	ANEXOS	48

ABREVIATURAS

OMS	Organización Mundial de la Salud.
MIC	Concentración Mínima Inhibitoria (por sus siglas en inglés).
ATCC	American Type Culture Collection.
AcOEt	Acetato de etilo.
Na ₂ CO ₃	Carbonato de Sodio.
DMSO	Dimetilsulfóxido.
UFC	Unidades Formados de Colonias.
Mo	Molibdeno.
NaNO ₂	Nitrito de sodio.
AlCl ₃	Cloruro de Aluminio.
NaOH	Hidróxido de Sodio.
CI ₅₀	Concentración Inhibitoria 50.
HPLC	Cromatografía Líquida de alta resolución.
t _r	Tiempo de retención.
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo.
EAG	Equivalentes de ácido gálico.
EC	Equivalentes de catequina.
n	Número de muestras analizadas.

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Árbol de mezquite (<i>Prosopis laevigata</i>)	3
Figura 2. Distribución geográfica de <i>Prosopis laevigata</i> en México. Tomado de INEGI 2018.	5
Figura 3. Criterios botánicos para la clasificación del mezquite. Tomado de Palacios (2006).	11
Figura 4. Reacción química entre el radical DPPH ^o y la especie antioxidante. Tomada de Toro G. y col., 2011.	15
Figura 5. Espectro de absorción del estándar de quercetina. $t_r = 5.398$ minutos.	24
Figura 6. Espectro de absorción del estándar de ácido gálico. $t_r = 13.806$ minutos	25
Figura 7. Espectro de absorción del estándar de ácido clorogénico. $t_r = 20.393$ minutos.	25
Figura 8. Espectro de absorción del estándar de rutina. $t_r = 22.241$ minutos.	26
Figura 9. Espectro de absorción del estándar de catequina. $t_r = 22.438$ minutos.	26
Figura 10. Cromatograma del precipitado del mezquite de Oaxaca.	27
Figura 11. Espectro de absorción correspondiente a un t_r de 22.193 minutos. Precipitado a pH 5.0 del mezquite de Oaxaca.	27
Figura 12. Cromatograma de elución del precipitado a pH 5.0 del mezquite de Hidalgo	28
Figura 13. Espectro de absorción correspondiente a un t_r de 22.514 minutos. Precipitado a pH 5.0 del material de Hidalgo	28
Figura 14. Cromatograma de la fracción a pH 5.0 del mezquite de Veracruz	29
Figura 15. Espectro de absorción correspondiente a un t_r de 22.217 minutos. Precipitado a pH 5.0 del mezquite de Veracruz	30
Figura 16. Cromatograma de la fracción orgánica a pH 5.0 del mezquite de Oaxaca.	31
Figura 17. Espectro de absorción correspondiente a un t_r de 21.556 minutos. Fracción a pH 5.0 del mezquite de Oaxaca	31
Figura 18. Cromatograma de la fracción orgánica a pH 5.0 del mezquite de Hidalgo	32
Figura 19. Espectro de absorción correspondiente a un t_r de 22.614 minutos. Fracción pH 5.0 del mezquite de Hidalgo	32
Figura 20. Cromatograma del extracto metanólico del mezquite de Veracruz	33
Figura 21. Espectro de absorción correspondiente a un t_r de 22.408 minutos. Extracto metanólico de Veracruz	33
Figura 22. Cromatograma del extracto metanólico del mezquite de Hidalgo	33
Figura 23. Espectro de absorción correspondiente a un t_r de 22.758 minutos. Extracto metanólico de Hidalgo	33

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Gradiente de separación_____	17
Cuadro 2. Presencia de alcaloides en los extractos metanólicos de tallos de <i>Prosopis laevigata</i> _____	18
Cuadro 3. Concentración Mínima Inhibitoria (mg/ml) de los extractos y fracciones de tallos de <i>Prosopis laevigata</i> sobre microorganismos causantes de infecciones intestinales _____	19
Cuadro 4. Cuantificación de compuestos polifenólicos y flavonoides en los extractos y fracciones de tallo de <i>Prosopis laevigata</i> _____	21
Cuadro 5. Actividad antioxidante ($\mu\text{g/ml}$) de los extractos y fracciones de tallo de <i>Prosopis laevigata</i> obtenida a 30 minutos _____	23
Cuadro 6. Porcentaje de catequina en las muestras analizadas _____	34

RESUMEN

Prosopis laevigata, mejor conocido como mezquite, es una planta ampliamente distribuida en zonas áridas y semiáridas del país, se emplea en la industria maderable, en el sector alimenticio y en la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones de los ojos, cólico en bebés, el salpullido, la tos pasmada, tos ferina, fiebre, dolor de muelas, ronquera, faringitis y padecimientos del aparato digestivo.

Dentro de los padecimientos del aparato digestivo se encuentra la disentería, enfermedad gastrointestinal que afecta a las poblaciones de bajos recursos, afectando principalmente a los niños menores de cinco años y a los ancianos, estas enfermedades infecciosas son ocasionadas por bacterias como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. y *Shigella* spp.

En la presente investigación se obtuvieron los extractos metanólicos ricos en alcaloides de los tallos de mezquite colectados en tres zonas diferentes del país (Oaxaca, Hidalgo y Veracruz), dichos extractos se fraccionaron usando un sistema ácido-base y un solvente de polaridad intermedia. A los extractos completos y sus fracciones se les determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) sobre las bacterias *E. coli* (ATCC 8739), *S. typhi* (ATCC 6539) y *S. flexneri* (ATCC 29003). Se cuantificaron los polifenoles y flavonoides totales, así como la actividad antioxidante. Se realizó un análisis cromatográfico de los extractos metanólicos y las dos fracciones obtenidas a pH 5.0 (precipitado y fracción orgánica), se encontró que el flavonoide catequina está presente en el precipitado y la fracción orgánica de tallos colectados en Oaxaca, en los extractos metanólicos del material vegetal procedentes de Veracruz y de Hidalgo en un porcentaje del 0.50 a 0.86 %. En cuanto a las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (mg/mL) para la bacteria *E. coli*, el extracto, las fracciones a pH 5.0 y 10.0 y el precipitado a pH 5.0 del mezquite de Oaxaca mostraron actividad con MICs de 0.618 ± 0.125 , 0.555 ± 0.166 , 0.666 ± 0.000 mg/mL, respectivamente. Para la bacteria *S. typhi*, el precipitado a pH 5.0 y la fracción a pH de 10.0 del mezquite de Oaxaca presentaron la mejor actividad antibacteriana con un MIC de 0.499 ± 0.231 , mientras que, para la bacteria *S. flexneri* la mejor actividad la presentó el precipitado a pH 5.0 del mezquite de Veracruz con un MIC de 0.291 ± 0.191 . El precipitado a pH 5.0 del mezquite de Veracruz presentó la mayor cantidad de compuestos polifenólicos con 9.40 ± 1.37 mg EAG/100 mg de muestra, mientras que el extracto metanólico del mezquite proveniente de Oaxaca presentó la

menor cantidad de compuestos polifenólicos (2.55 ± 0.47 mg EAG/100 mg de muestra), en la cuantificación de flavonoides se observó que la fracción orgánica a pH de 5.0 del mezquite de Hidalgo y el extracto metanólico del mezquite de Veracruz presentaron la mayor cantidad (3.07 ± 0.06 y 3.22 ± 0.01 mg EC/100 mg de muestra respectivamente). La actividad antioxidante fue evaluada empleando el método del DPPH, los resultados obtenidos permitieron observar que la fracción a pH de 5.0 del mezquite de Hidalgo presentó la mejor actividad con un IC_{50} de $7.21 \mu\text{g/mL}$.

1. INTRODUCCIÓN

México cuenta con una gran riqueza biológica debido a su topografía y variaciones climáticas, que le permite poseer una de las floras más ricas del continente Americano, ocupa el quinto lugar con respecto a la diversidad vegetal presente en el país, que se llega a extender a más de 30 mil especies de plantas vasculares (Gheno-Heredia y col., 2011; Schlaepfer y Mendoza-Espinoza, 2010), esta diversidad a su vez, permite encontrar una amplia gama de principios activos que hacen a las plantas eficaces en el tratamiento de diversas enfermedades presentes en los seres humanos; mientras que, la concentración de los compuestos depende de factores como: la edad del organismo, el clima, la época del año en la que se recolecto, el tipo de suelo y la humedad (Ocegueda y col., 2005).

En México se calcula que son cerca de 4 mil especies que se emplean en la medicina tradicional y de estas 3,600 se recolectan de manera silvestre, solo 250 cuentan con estudios farmacológicos, 370 son cultivadas en huertos familiares y 35 se consideran especies amenazadas (Schlaepfer y Mendoza-Espinoza, 2010).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que entre el 65-80 % de los habitantes de regiones menos desarrolladas emplean las plantas para el cuidado primario de la salud (Calixto, 2005), algunas de las especies empleadas en medicina tradicional mexicana pertenecen al género *Prosopis* (Biblioteca digital de la Medicina tradicional, 2017).

1.1. Importancia del género *Prosopis*

Los mezquites son de gran interés para el ser humano, debido a que son plantas abundantes en muchas regiones áridas y semiáridas de América, algunas veces son el único tipo de vegetación presente en las zonas (Rzedowski, 1988), esta planta es de gran importancia económica (Ríos Saucedo y col., 2013), en la industria maderable, en el sector alimenticio, así como en la medicina tradicional, debido a que la mayoría de sus estructuras (hojas, tallos, flores y frutos) son aptos para su aprovechamiento. El mezquite a su vez destaca en su papel ecológico (Estrada, 1993; Rodríguez Saucedo y col., 2014) y es considerado uno de los recursos vegetales más útiles (Cervantes Ramírez, 2006).

1.1.1. Uso maderable

La producción forestal de la madera de mezquite se emplea para la elaboración de utensilios de cocina, construcción de cercas, durmientes y postes, combustible (leña y carbón) (Ríos Saucedo y col., 2013), muebles, puertas, ventanas, pisos, objetos

decorativos, (Rodríguez Saucedo y col., 2014), madera aserrada, mangos de herramientas y hormas para zapatos en escala industrial (CONAFOR, 2018).

1.1.2. Uso alimenticio

Las vainas del mezquite se emplean como fuente de alimento adicional para el ser humano, debido a que se pueden consumir hervidas, secas o molidas; la harina obtenida a base de estas se usa para la elaboración de pan o pinole de mezquite, queso de mezquite, piloncillo, atole o bebidas fermentadas, como fruta seca, fruta en almíbar; a su vez es un alimento valioso para el ganado, debido a que sus vainas son una fuente rica en nutrientes (Gallegos-Infante y col., 2013; Ríos Saucedo y col., 2013). Las semillas se fermentan para producir condimentos, mientras que la goma presenta una consistencia suave y sabor dulce, la cual se usa como dulce para niños (Gallegos-Infante y col., 2013).

1.1.3. Importancia ecológica

El mezquite juega en papel fundamental en el medio ambiente ya que es un excelente mejorador de suelos debido a que sus hojas depositan un mantillo orgánico de importancia considerable, promueve el crecimiento de matorrales previniendo la erosión del suelo y es un gran fijador de nitrógeno (Ríos Saucedo y col., 2013; López Franco y col., 2006), así mismo actúa como planta nodriza de numerosas especies de roedores y aves (López Franco y col., 2006; Cervantes Ramírez 2006)

1.1.4. Etnobotánica

En México se ha reportado el uso etnobotánico de las especies *P. juliflora*, *P. glandulosa* y *P. laevigata* (Biblioteca digital de la medicina Tradicional Mexicana, 2017) para el tratamiento de afecciones de los ojos (conjuntivitis), empleando infusiones de algunas partes de la planta, para ello se muelen los cogollos tiernos y se cuelan en un trapo limpio, se aplica una gotita de ese jugo en el ojo afectado o bien se machacan los retoños con leche materna (Orozco Villa fuerte y col., 2003), contra los cólicos de bebés, se utiliza la corteza de las ramas jóvenes hervida en agua o leche y se da a tomar. En el tratamiento del salpullido, se dan baños con el cocimiento de las flores; contra la tos pasmada, la resina obtenida de la planta se usa a su vez para remediar la tos ferina, la fiebre, el dolor de muelas, la ronquera y la faringitis.

Para la especie *P. laevigata* (Figura 1) se reporta en la Biblioteca digital de la Medicina Tradicional Mexicana que algunas partes del mezquite son empleadas para el tratamiento

de los padecimientos del aparato digestivo como son las inflamaciones del tubo digestivo, males de estómago y disentería.



Figura 1. Árbol de mezquite (*Prosopis laevigata*)

1.2. Enfermedades gastrointestinales.

A nivel mundial las enfermedades gastrointestinales son la segunda causa de muerte en niños menores de cinco años y ancianos de escasos recursos, ocasionando el deceso de 525 mil niños (OMS, 2017); estas enfermedades infecciosas son ocasionadas por bacterias (*Escherichia coli*, *Salmonella spp* y *Shigella spp*), virus (Rotavirus y virus Norwalk) y parásitos (*Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*) al ser consumidas mediante alimentos y agua contaminados con materia fecal (Hernández Cortez y col., 2011).

Estas enfermedades se clasifican en cuatro tipos:

- Diarrea acuosa o secretora, caracterizada por evacuaciones intestinales frecuentes, se contrae mediante la ingestión de *Vibrio cholerae* y *Escherichia coli*.
- Diarrea invasiva o disentería de origen bacteriano o amebiano, es caracterizada por tener episodios diarreicos que se inician en forma aguda, corresponde a los casos que se acompañan de sangre en las heces (Hernández Cortez y col., 2011).
- La disentería parasitaria o amibiasis intestinal, también conocida como colitis amebiana es provocada por el parásito *Entamoeba histolytica* o *Entamoeba dispar* cuya infección se produce tras la ingestión de quistes (Menéndez Bueyes, 2012).

- La disentería bacilar es una infección bacteriana que afecta el intestino grueso y la porción distal del intestino delgado caracterizada por presentar diarrea acompañada de fiebre, náusea y algunas veces toxemia, vómito y cólicos, en los casos representativos las heces contienen sangre y moco, resultado de la confluencia de microabscesos causados por los microorganismos invasores, en muchos casos se presenta la diarrea acuosa como cuadro inicial (León-Ramírez, 2002). Los microorganismos causantes de esta enfermedad son: *E. coli* diarreagénicas, *Shigella spp.* y *Salmonella spp.* entre otros (Hernández Cortez y col., 2011).

1.2.1. Bacterias causantes de la disentería bacilar.

Escherichia coli es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo de la familia Enterobacteriaceae, tribu *Escherichia* (Rodríguez-Ángeles, 2002). Es una bacteria habitual del intestino del ser humano y de otros mamíferos, la mayoría de las cepas de esta bacteria son inofensivas, aunque algunas cepas pueden provocar graves enfermedades de transmisión alimentaria. La infección por dicha bacteria se transmite generalmente por consumo de agua o alimentos contaminados, como productos cárnicos poco cocidos y leche cruda (OMS, 2017).

Shigella flexneri es un microorganismo Gram negativo, no encapsulado, anaerobio facultativo, inmóvil, oxidasa negativa, fermentador de la glucosa (León-Ramírez, 2002), es un género de bacterias patógenas que produce en el ser humano la enfermedad conocida como shigelosis por consumo de alimentos contaminados. Esta bacteria es muy sensible a condiciones medioambientales y se destruye fácilmente. El crecimiento de *Shigella* puede ocurrir en circunstancias especiales, como en el caso de alimentos expuestos a temperaturas altas y humedad relativa baja, durante el almacenamiento o transporte. Puede sobrevivir en alimentos con pH ácido, como algunas frutas y verduras y alimentos envasados al vacío o con atmósfera modificada (Elika, 2008).

Salmonella typhi pertenece a la familia Enterobacteriaceae, es un bacilo Gram negativo, no formadora de esporas, anaerobio facultativo, provisto de flagelos y móvil (Jurado Jiménez, 2010), en el ámbito mundial, está asociada con mucha frecuencia a las enfermedades diarreicas, las cuales continúan siendo una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad sobre todo en lactantes, niños y ancianos. La salmonelosis es causada por una gran cantidad de especies del género *Salmonella*. Se caracteriza por uno

o más de tres signos (septicemias, enteritis aguda que puede convertirse en crónica). La enfermedad es vista en todos los animales y ocurre a nivel mundial; *S. typhi* se adquiere por vía oral al ingerir bebidas y comidas contaminadas, especialmente aves y huevos (Parra y col., 2002).

1.3. Distribución geográfica de *Prosopis laevigata*

En México a *Prosopis laevigata* (mezquite), es un recurso con amplia distribución geográfica y así como ecológica, llega a crecer en zonas áridas y semiáridas (Rodríguez Saucedo, 2014). Se localiza en el centro y sur del país, principalmente en los estados de Guerrero, Querétaro, Estado de México, Michoacán, Morelos, Puebla, Veracruz, Oaxaca, Hidalgo, San Luis Potosí, Nuevo León, Aguascalientes, Durango, Guanajuato, Jalisco y Zacatecas (Figura 1) (Instituto Nacional de Ecología, 2016), se agrupa en poblaciones que son conocidas como mezquiteras o mezquitales (Ríos Saucedo y col., 2013).

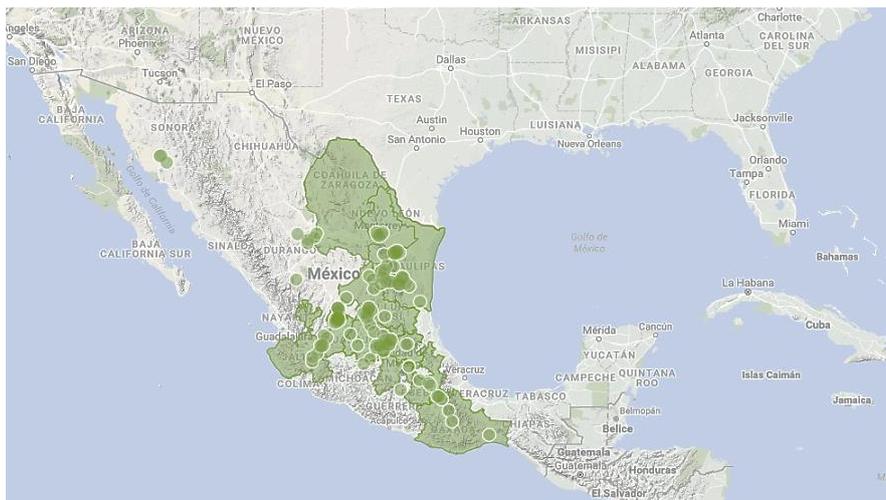


Figura 2. Distribución geográfica de *Prosopis laevigata* en México. Tomado de INEGI 2018.

1.4. Descripción botánica

Prosopis laevigata crece en zonas con lluvias menores a los 100 mm anuales, soporta temperaturas máximas superiores a 40 °C (Burkart, 1976), es un árbol espinoso perenne que llega a medir hasta 10 m de altura, provisto de una raíz principal que puede medir hasta 50 m de profundidad y sus raíces laterales se extienden a aproximadamente un radio de 15 m, presenta un tronco leñoso, de corteza oscura o negruzca, con ramas flexuosas, formando una copa esférica, con hojas compuestas, bipinnadas, con 12 o 15 pares de folíolos oblongos o lineares que van de cinco a 10 mm de largo, este árbol florece en los

meses de febrero-mayo; sus flores están agrupadas en racimos en forma de espiga mostrándose de color amarillo verdoso, presenta frutos en forma de vainas o legumbres alargadas que miden de entre 15 a 30 cm con tonalidades de color paja o rojizo violáceo, el mesocarpio contiene una pulpa gruesa y esponjosa de sabor dulce y contiene de 12 a 20 semillas. El periodo de fructificación comprende los meses de mayo-agosto y se cosecha entre agosto-octubre. Las semillas son de forma oblonga o aplastada con colores que varían de café claro a oscuro (Cervantes Ramírez, 2006).

2. ANTECEDENTES

Las leguminosas son una de las familias más importantes dentro de las angiospermas debido a su distribución cosmopolita y son una fuente de alimentación a nivel mundial, sus metabolitos secundarios presentan actividades estrogénica, antioxidante, alelopática, antimicrobiana, insecticida, antiinflamatoria, antialérgica y anticolesterolémica (Taisma, 2017).

2.1. Aspectos fitoquímicos de *Prosopis laevigata*

El mezquite contiene una gran variedad de metabolitos secundarios, derivados de numerosas rutas de biosíntesis a través de las cuales se sintetizan y acumulan en los órganos de las plantas (Zamacona Montañez y Castro Durán, 2010), estos compuestos se producen como mecanismos de defensa contra patógenos, animales herbívoros o para atraer insectos polinizadores (Ardoino y col., 2013).

En estudios de la especie *P. laevigata* se muestra la presencia de compuestos polifenólicos, alcaloides, saponinas, aminoácidos y carbohidratos (Zamacona Montañez y Castro Durán, 2010; Hernández Marín, 2015; Matta y col., 2017). La fracción polar obtenida del extracto acetónico de las hojas de *P. laevigata* presentó actividad antioxidante, asimismo, el perfil cromatográfico obtenido mediante HPLC permitió identificar, al ácido gálico, catequina, galocatequina, galato de epicatequina, rutina y luteolina, compuestos de tipo polifenólico, que pueden explicar la actividad antioxidante de las hojas del mezquite (García-Andrade y col., 2013).

Oduol y col. (1986) reportan que las vainas de mezquite tienen proteínas en concentraciones que varían de 9 a 17%, dependiendo de la especie, mientras que el contenido de azúcares varía de 15 a 40%. Goycolea y col. (2001) reportan que la goma de la corteza del mezquite tiene un polisacárido de la familia de los galactomananos,

gomas que se emplean en la industria alimenticia en las áreas de cárnicos y helados como espesante o gelificante (Alzate Tamayo y col., 2008).

2.2. Antecedentes farmacológicos de *Prosopis laevigata*

En investigaciones previas se demostró que el extracto n-hexánico de las hojas redujo el número de parásitos en gerbos (Trejo Espino y col., 2010). El extracto metanólico de hojas también inhibió el crecimiento de *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* con un rango de concentraciones mínimas inhibitorias (MIC) que van desde 0.7 a 10.2 mg/mL (Hernández Marín, 2015).

Los extractos hexánicos de tallos y hojas inhibieron el crecimiento de *S. aureus* (MIC de 0.5 mg/mL) y *Streptococcus faecalis* (MIC de 8 mg/mL), mientras que el extracto acetónico de hojas, inhibió el crecimiento de *S. aureus* (MIC de 4 mg/mL), *S. faecalis* (MIC de 8 mg/mL) y *Proteus mirabilis* (MIC de 8 mg/mL), en tanto que, el extracto metanólico de tallos y hojas afectó el crecimiento de *S. aureus* (MIC de 4 mg/mL) (Salinas Sánchez y col., 2009).

3. JUSTIFICACIÓN

Las plantas medicinales se emplean de manera empírica en la medicina tradicional de diferentes países para el tratamiento de diversas enfermedades de etiología infecciosa y de ahí la importancia de sustentar sus usos medicinales, siendo *P. laevigata* una de las especies empleadas en México.

Mediante el análisis cromatográfico (HPLC) de las hojas de *P. laevigata* se identificaron compuestos de tipo fenólico a los cuales se les adjudicó la actividad antioxidante, y es posible que este tipo de compuestos se encuentren presentes en otras partes de la planta.

4. HIPÓTESIS

Los extractos metanólicos y sus fracciones obtenidas de tallos de *P. laevigata* colectados en diferentes zonas del país contienen compuestos que presentan actividades antibacteriana y antioxidante.

5. OBJETIVOS

5.1. General

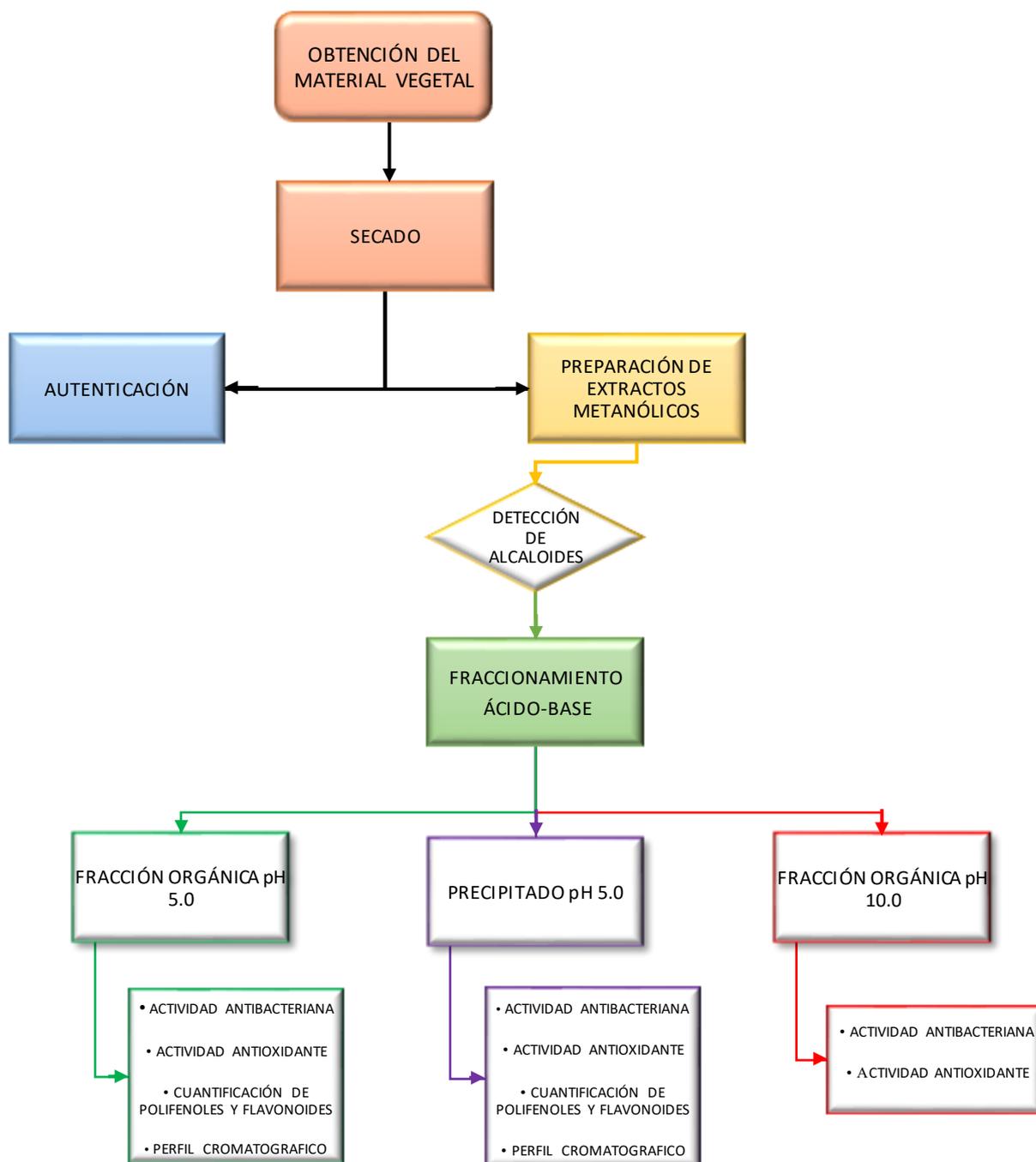
Fraccionar los extractos metanólicos de tallos de *Prosopis laevigata* procedentes de tres zonas del país y evaluar las actividades antibacterianas, antioxidante, así como obtener el perfil cromatográfico.

5.2. Particulares

- Recolectar las plantas y autenticar el material vegetal procedente de tres zonas del país.
- Obtener y fraccionar los extractos metanólicos de los tallos de las plantas, empleando un sistema de pH y un solvente de polaridad intermedia.
- Evaluar la actividad antibacteriana de los extractos completos y las fracciones contra *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Salmonella typhi* (ATCC 6539) y *Shigella flexneri* (ATCC 29003).
- Cuantificar los polifenoles y flavonoides totales y evaluar la actividad antioxidante de los extractos completos y las fracciones.
- Obtener el perfil cromatográfico de los extractos completos y las fracciones ácidas e identificar al menos uno de los compuestos.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Diseño experimental



6.2. Obtención del material vegetal.

Para la obtención del material vegetal se tomó en cuenta la fecha de floración, así como la distribución ecológica de los ejemplares (Palacios Romero y *col.*, 2016). El material vegetal se colectó en los municipios de: San Francisco el Grande, Oaxaca; La Lima, Tantoyuca, Veracruz y La Vega, Cardonal, Hidalgo.

6.2.1. Autenticación del material vegetal

Una vez colectado el material vegetal (con flores, hojas, frutos y tallos) se trasladó al herbario Metropolitano Ramón Riba de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, en donde se preparó para su preservación, se prensó y secó para, ser identificado con base a criterios botánicos (Palacios, 2006).

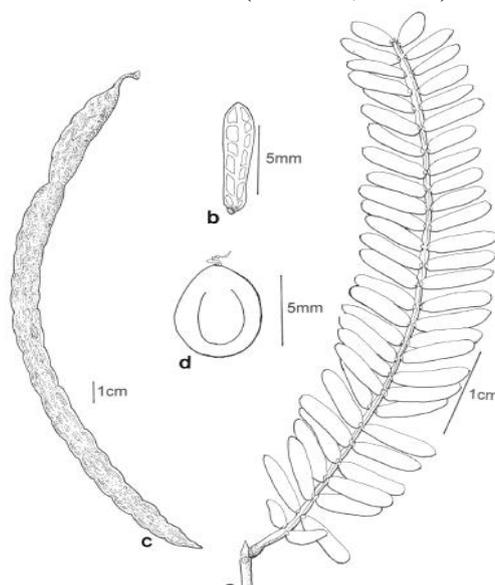


Figura 3. Criterios botánicos para la clasificación del mezquite. Tomado de Palacios (2006).

6.3. Preparación de extractos metanólicos.

El material (tallos y hojas) se limpió, separó y se colocó en bolsas de papel para protegerlo del polvo durante el proceso de secado, posteriormente los tallos secos se trituraron y guardaron en frascos de vidrio hasta su uso.

Los extractos se obtuvieron por maceración con metanol durante 72 horas, en condiciones de obscuridad a temperatura ambiente, y el material extraído se filtró empleando papel filtro Whatman No. 4; a una porción del filtrado se le determinó la presencia de alcaloides (Maldoni, 1991) y el material vegetal residual se maceró nuevamente con metanol en las condiciones previamente descritas. El proceso se repitió hasta que el filtrado correspondiente dio negativo para la prueba de alcaloides. Los filtrados obtenidos se

mezclaron y el metanol se eliminó con un rotoevaporador (BUCHI) para obtener así los extractos metanólicos de tallo.

6.3.1. Detección de alcaloides.

Se tomó una porción del extracto (3.0 mL) y se eliminó el metanol (en baño de agua), posteriormente se disolvió con 20 mL de ácido clorhídrico al 5.0 % v/v, se filtró (papel Whatman No. 4) y dividió en tres tubos de ensayo. Al tubo 1 se le agregó 3 gotas del reactivo de Mayer, al tubo 2, tres gotas del reactivo de Drangendorff y al tercer tubo no se le agregó ninguno de los reactivos (Maldoni, 1991).

Los alcaloides precipitan con los metales presentes en los reactivos previamente mencionados, por lo que la formación de un precipitado o turbidez indica la presencia de alcaloides (Ríos, 2013).

6.4. Obtención de las fracciones.

Cada uno de los extractos se disolvieron en ácido tartárico al 2.0% p/v, la solución se filtró (con papel Whatman del No. 4) y se maceró en un embudo de separación con acetato de etilo (AcOEt) durante 24 horas. Se obtuvieron tres fases (la fase orgánica pH 5.0, una emulsión y la fase acuosa). La emulsión se trató con etanol dando como resultado la formación de un precipitado y dos fases, el proceso se repitió hasta que la emulsión no se formó. A la fase acuosa se le ajustó el pH a 10.0 con carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 10% y posteriormente se maceró con acetato de etilo, obteniéndose la fase orgánica (fracción de acetato de etilo pH 10.0) y la fase acuosa. Las fracciones orgánicas (pH 5.0 y pH 10.0) se concentraron por rotoevaporación (el precipitado y las dos fracciones se guardaron para su posterior análisis).

6.5. Evaluación de la actividad antibacteriana.

Se cuantificó la actividad antimicrobiana de los extractos completos y sus fracciones contra las cepas *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Salmonella typhi* (ATCC 6539) y *Shigella flexneri* (ATCC 29003), determinando la MIC mediante la técnica de diluciones modificada por Sarker y col. (2007) en placas estériles de 96 pozos y resazurina como indicador de viabilidad.

Los extractos, fracciones y compuestos a evaluar se diluyeron inicialmente en Dimetilsulfóxido (DMSO) a la concentración de 13.33 mg/mL y 10.0 mg/mL en DMSO al 100%. Previo a la prueba cada muestra se diluyó nuevamente (1:10) con agua destilada

estéril y de ésta última se colocaron 100 μ L en cada pozo de la fila A (cada extracto o fracción se colocó por triplicado), y se realizaron diluciones dobles consecutivas utilizando como disolvente Solución Salina Fisiológica (SSF), quedando en cada pozo de la placa 50 μ L de las diluciones. Los controles empleados se colocaron, en las columnas 10 (DMSO al 10%), 11 (agua destilada estéril) y 12 (mezcla de antibióticos (10 000 Unidades de penicilina/mL y 10 mg de estreptomicina/mL) de la fila A, de las placas. Después se adicionó 10 μ L de la suspensión de bacterias viables (4×10^6 UFC/mL), 10 μ L de resazurina sódica (0.675% p/v en agua) y 30 μ L de caldo Müller-Hinton 3x como medio de cultivo. Este procedimiento se realizó bajo estrictas condiciones de esterilidad. Las placas se incubaron a 37° C/ 24 horas y finalmente se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC). La concentración mínima inhibitoria es aquella a la cual la resazurina permanece de color azul (Vega-Avila y col., 2012).

6.6. Cuantificación de polifenoles totales.

Se determinaron los compuestos polifenólicos empleando el reactivo de Folin-Ciocalteu, dicho reactivo contiene ácido fosfomolibdico/fosfotúngstico, en el cual, el Mo (VI), de color amarillo, es reducido a Mo (V) por los compuestos fenólicos en un medio básico, dando un complejo de color azul intenso, que absorbe a 760 nm (Skerget y col., 2005).

El contenido de polifenoles totales se cuantificó en los extractos y las fracciones realizando modificaciones a la técnica reportada por Shohael y col. (2002).

Se colocaron en una serie de tubos cantidades diferentes de ácido gálico (4, 8, 12, 16 y 20 μ g), y en otra serie de tubos se pusieron 50 μ L de extractos, fracciones y precipitados (5 mg/mL). Después se adicionó 200 μ L de agua destilada y 250 μ L del reactivo de Folin-Ciocalteu (1N), se dejó reposar durante cinco minutos y posteriormente se agregó 1250 μ L de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 20 % y se agregó agua destilada hasta un volumen final de 2.0 mL. Se agitaron los tubos y se dejaron reposar durante dos horas a temperatura ambiente, en condiciones de obscuridad, posteriormente se midió la absorbancia a 760 nm, empleando como blanco una mezcla que contenía todos los reactivos con excepción del ácido gálico o muestra problema. Se graficó la absorbancia contra los microgramos de ácido gálico y mediante análisis de regresión lineal se obtuvo la ecuación de la recta ($y=111.87x + 4.3612$) y el coeficiente de regresión lineal ($R^2= 0.9569$). Dicha ecuación se empleó para calcular la concentración de polifenoles totales (Cuadro 5). El contenido total se expresa como mg equivalentes de ácido gálico/100 mg de muestra. Esta

determinación se realizó por triplicado y se reporta el valor medio \pm la desviación estándar.

6.7. Cuantificación de flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales se cuantificó en los extractos y las fracciones realizando modificaciones a la técnica reportada por Wolfe *y col.* (2003).

Se colocaron en una serie de tubos cantidades diferentes de catequina (4, 8, 12, 16 y 20 μg), y en otra serie de tubos se pusieron 50 μL de extractos, fracciones y precipitados (5 mg/mL). Posteriormente se adicionó 1600 μL de agua destilada y 75 μL de nitrito de sodio al 5% (NaNO_2), después de seis minutos se agregó 150 μL de cloruro de aluminio al 10 % (AlCl_3) y se dejó reposar cinco minutos, y después de ese tiempo se adicionó 500 μL de hidróxido de sodio 1M (NaOH), y la mezcla se llevó a 2.5 mL con agua destilada. Posteriormente se midió la absorbancia a 510 nm, empleando como blanco una mezcla que contenía todos los reactivos con excepción de la catequina o muestra problema. Se graficó la absorbancia contra los microgramos de catequina y mediante análisis de regresión lineal se obtuvo la ecuación de la recta ($y = 0.0252x + 0.0002$) y el coeficiente de regresión lineal ($R^2 = 0.9959$). Dicha ecuación se empleó para calcular la concentración de flavonoides totales (Cuadro 5). El contenido total se expresa como mg equivalentes de catequina/100 mg de muestra. Esta determinación se realizó por triplicado y se reporta el valor medio \pm la desviación estándar.

6.8. Evaluación de la actividad antioxidante.

El DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) es un radical que tiene un electrón desapareado, dicho radical presenta un color violeta que absorbe a 517 nm. Cuando la solución de DPPH^o reacciona con el sustrato antioxidante, que dona un átomo de hidrógeno, el color violeta cambia a color amarillo, el cual es monitoreado espectrofotométricamente y se utiliza para la determinación de las propiedades antioxidantes (Kedare *y col.*, 2011).

Donde:

A_m es la absorbancia de la mezcla

A_b es la absorbancia del blanco

A_{DPPH} es la absorbancia de DPPH

6.9. Análisis cromatográfico (HPLC)

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), es una técnica que se utiliza para separar los componentes de una mezcla. El sistema cromatográfico consiste en una fase estacionaria y una fase móvil. Los componentes de la solución eluyen de acuerdo con las interacciones de los compuestos con la fase estacionaria y con la fase móvil. Estas interacciones determinan la separación de los contenidos en la muestra (Soledispa Cañarte y col., 2017).

6.9.1. Preparación de muestras y estándares analizados

Previo al análisis por HPLC, las muestras y los estándares se disolvieron en reactivos grado HPLC. Las concentraciones empleadas para los estándares fueron de 0.070 mg/mL (ácido gálico), 0.10 mg/mL (ácido clorogénico, quercetina y rutina) y 0.18 mg/mL (ácido protocatéuico y catequina). La concentración de las muestras fue de 1.0 mg/mL. Posteriormente los estándares y las muestras se filtraron en membranas de nylon de 0.45 μm y se recolectaron en viales de vidrio de 1 mL.

6.9.2. Condiciones para el análisis cromatográfico

El análisis se realizó en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC) WATERS® 600, acoplado a un detector de arreglo de Diodos 2996 e inyector automático 717 plus y se empleó una columna Fortis C₁₈ de dimensiones 150 x 4.6 mm y 5 μm de tamaño de partícula. El horno se mantuvo a 35 °C durante todo el análisis. Se obtuvieron los espectros de absorción de los compuestos separados en un intervalo de 200-500 nm. El volumen de inyección fue de 10 μL . Para la separación se empleó un sistema de gradiente que consideró como fase “A” agua acidulada con ácido fosfórico a un pH de 2.5. Para la fase “B” se empleó acetonitrilo grado HPLC. La programación del gradiente se describe en el Cuadro 1:

Cuadro 1. Gradiente de separación

TIEMPO (MINUTOS)	Flujo (mL/min)	A (%)	B (%)
0	0.8	100	0
10	0.8	85	15
15	0.8	80	20
25	0.8	100	0
40	0.8	100	0

6.10. Análisis estadístico

La concentración de los polifenoles, flavonoides, así como la actividad antioxidante se obtuvieron mediante un análisis de regresión lineal utilizando el programa Excel®.

El efecto de los extractos y sus fracciones sobre las bacterias (*E. coli*, *S. typhi* y *S. flexneri*) se determinó empleando las pruebas, “U de Mann-Whitney y Wilcoxon Rank-Sum” mediante el programa NCSS. Los valores fueron considerados estadísticamente significativos cuando $p \leq 0.05$.

7. RESULTADOS

7.1. Obtención de los extractos ricos en alcaloides

Las pruebas realizadas en los extractos metanólicos con los reactivos para detectar alcaloides (Drangendorff y Mayer) fueron positivas, la presencia de este metabolito se observa en el Cuadro 2. Se formó más precipitado en los extractos que tienen mayor número de signos positivos, y el extracto metanólico proveniente del tallo de mezquite de Oaxaca presentó mayor contenido de alcaloides en tanto que los extractos obtenidos del material colectado en los estados de Hidalgo y Veracruz, mostraron cantidades similares de alcaloides.

Cuadro 2. Presencia de alcaloides en los extractos metanólicos de tallos de *Prosopis laevigata*

Lugar de colecta	Muestra	Alcaloides	
		Drangendorff	Mayer
Oaxaca	Extracto metanólico	+++	+++
Hidalgo	Extracto metanólico	++	++
Veracruz	Extracto metanólico	++	++

+++ abundante

7.1.1. Obtención de las fracciones

Durante el fraccionamiento de los extractos metanólicos ricos en alcaloides, se obtuvieron las fracciones orgánicas a pH 5.0, precipitados a pH 5.0 y las fracciones orgánicas a pH 10.0.

7.2. Actividad antibacteriana de los extractos, fracciones y precipitados de tallo de *Prosopis laevigata*.

Los valores de las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (MIC), obtenidos de los extractos, fracciones y precipitados de tallo sobre las tres cepas bacterias (*E. coli*, *S. typhi* y *S. flexneri*) probadas se reportan en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Concentración Mínima Inhibitoria (mg/ml) de los extractos y fracciones de tallos de <i>Prosopis laevigata</i> sobre microorganismos causantes de infecciones intestinales				
Lugar de colecta	Extracto/fracción/precipitado	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. flexneri</i>
Oaxaca	Extracto metanólico	0.618 ± 0.125	0.582 ± 0.154	0.499 ± 0.231 ^{&}
	Fracción orgánica a pH 5	0.555 ± 0.166	0.666 ± 0.000	NA
	Precipitado a pH 5	0.666 ± 0.000*	0.499 ± 0.231	0.375 ± 0.171*
	Fracción orgánica a pH 10	0.666 ± 0.000	0.499 ± 0.231	NA
Hidalgo	Extracto metanólico	NA	NA	0.5 ± 0.00
	Fracción orgánica a pH 5	NA	0.666 ± 0.000*	0.375 ± 0.171*
	Precipitado a pH 5	0.618 ± 0.125	0.666 ± 0.000	NA
	Fracción orgánica a pH 10	NA	0.666 ± 0.000	NA
Veracruz	Extracto metanólico	0.618 ± 0.125	0.618 ± 0.125	0.500 ± 0.000
	Fracción orgánica a pH 5	NA	0.536 ± 0.200	NA
	Precipitado a pH 5	NA	NA	0.291 ± 0.191** ^{&}
	Fracción orgánica a pH 10	0.555 ± 0.166	NA	0.500 ± 0.000**

NA = No activo a las concentraciones probadas, n=9; * p=0.045; ** p=0.039, & p=0.021

Efecto de los extractos y fracciones sobre *E. coli*.

Los extractos metanólicos obtenidos de los tallos de mezquite, colectados en Oaxaca y Veracruz con un MIC de 0.618 ± 0.125 mg/mL y sus fracciones orgánicas a pH 10.0 presentaron actividad antibacteriana con un MIC de 0.666 ± 0.000 y 0.555 ± 0.166, mg/mL, respectivamente. Este efecto también se observó en los precipitados obtenidos a pH 5.0 del material colectado en Oaxaca (MIC de 0.666 ± 0.000 mg/mL) e Hidalgo (MIC de 0.618 ± 0.125 mg/mL).

Sin embargo, el extracto metanólico de Hidalgo y sus fracciones orgánicas obtenidas a pH 5.0 y 10.0 y el precipitado obtenido a pH 5.0 del material colectado en Veracruz no afectaron el crecimiento de esta bacteria a las concentraciones empleadas en este estudio.

Efecto de los extractos y fracciones sobre *S. typhi*.

Los extractos metanólicos de los tallos de mezquite colectadas en Oaxaca y Veracruz y sus fracciones orgánicas obtenidas a pH 5.0 presentaron actividad antibacteriana, con MIC de 0.582 ± 0.154 , 0.618 ± 0.125 , 0.666 ± 0.00 y 0.536 ± 0.200 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Con respecto al material colectado en Hidalgo, las fracciones orgánicas obtenidas a pH 5.0 y 10.0 y el precipitado afectaron el crecimiento de esta bacteria con un MIC de 0.666 ± 0.00 mg/mL. A pesar de que el precipitado y la fracción orgánica a pH 10.0, obtenidos del extracto metanólico del material colectado en Oaxaca, presentaron un valor menor de MIC (0.499 ± 0.23 mg/mL), el análisis estadístico indicó que no hubo diferencia significativa ($p > 0.05$) con respecto al valor de MIC más alto (0.666 ± 0.00 mg/mL).

El extracto metanólico del material proveniente de Hidalgo, así como el precipitado y la fracción orgánica a pH 10.0 obtenidos del extracto metanólico de Veracruz, no presentaron actividad contra esta bacteria, a la concentración máxima probada (0.666 ± 0.00 mg/mL).

Efecto de los extractos y fracciones sobre *S. flexneri*.

Los extractos metanólicos de los tallos de mezquite colectados en Hidalgo y Veracruz, así como la fracción orgánica a pH 10.0 del material de Veracruz presentaron actividad antibacteriana con un MIC de 0.5 ± 0.00 mg/mL. Para el extracto metanólico del material de Oaxaca se obtuvo un MIC de 0.499 ± 0.23 mg/mL. El análisis estadístico indicó que no hay diferencia significativa entre estos valores ($p > 0.05$).

Con respecto al precipitado a pH de 5.0 del material colectado en Oaxaca y la fracción orgánica a pH 5.0 del material vegetal de Hidalgo afectaron el crecimiento de esta bacteria con un MIC de 0.375 ± 0.17 mg/mL. El análisis estadístico indicó que hay diferencia significativa ($p = 0.039$) con respecto al MIC del extracto metanólico de Hidalgo.

El precipitado a pH 5.0 del material colectado en Veracruz presentó un valor menor de MIC (0.291 ± 0.19 mg/mL), el análisis estadístico indicó que existe diferencia significativa con respecto al extracto metanólico completo de Veracruz ($p = 0.039$) y la fracción orgánica a pH 5.0 de Hidalgo y el precipitado a pH 5.0 de Oaxaca ($p = 0.021$) y el extracto metanólico de Oaxaca ($p < 0.05$).

Las fracciones orgánicas a pH 5.0 y 10.0 del material colectado en Oaxaca, el precipitado a pH 5.0 y la fracción orgánica a pH 10.0 del material colectado en Hidalgo y la fracción orgánica a pH 5.0 de Veracruz no presentaron actividad contra esta bacteria.

7.3. Cuantificación de polifenoles totales y flavonoides totales

En el Cuadro 4 se observa el contenido de polifenoles totales (PT) y de flavonoides totales (FT) de los extractos metanólicos, fracciones orgánicas y precipitados obtenidos de los tallos de mezquite.

Cuadro 4. Cuantificación de compuestos polifenólicos y flavonoides en los extractos y fracciones de tallo de <i>Prosopis laevigata</i>			
Lugar de colecta	Extracto/fracción/precipitado	POLIFENOLES mg EAG/ 100 mg de muestra	FLAVONOIDES mg EC/ 100 mg de muestra
Oaxaca	Extracto metanólico	2.55 ± 0.47	1.45 ± 0.01
	Fracción orgánica pH 5	3.35 ± 0.06	1.30 ± 0.49
	Precipitado a pH 5	7.78 ± 1.73	ND
Hidalgo	Extracto metanólico	2.88 ± 0.32	1.70 ± 0.37
	Fracción orgánica pH 5	3.67 ± 0.00	3.07 ± 0.06
	Precipitado a pH5	3.85 ± 0.06	ND
Veracruz	Extracto metanólico	6.25 ± 0.70	3.22 ± 0.01
	Fracción orgánica pH 5	2.97 ± 0.38	1.39 ± 0.12
	Precipitado a pH5	9.40 ± 1.37	1.07 ± 0.15

EAG= equivalentes de ácido gálico; EC= equivalentes de catequina; ND = No determinado

Los extractos metanólicos de los tallos de mezquite colectados en los estados de Oaxaca e Hidalgo presentaron valores cercanos de PT (2.55 ± 0.47 y 2.88 ± 0.32 mg EAG / 100 mg de muestra, respectivamente), mientras que el extracto metanólico de los tallos de mezquite colectados en Veracruz presentó la cantidad mayor de PT (6.25 ± 0.70 mg EAG / 100 mg de muestra).

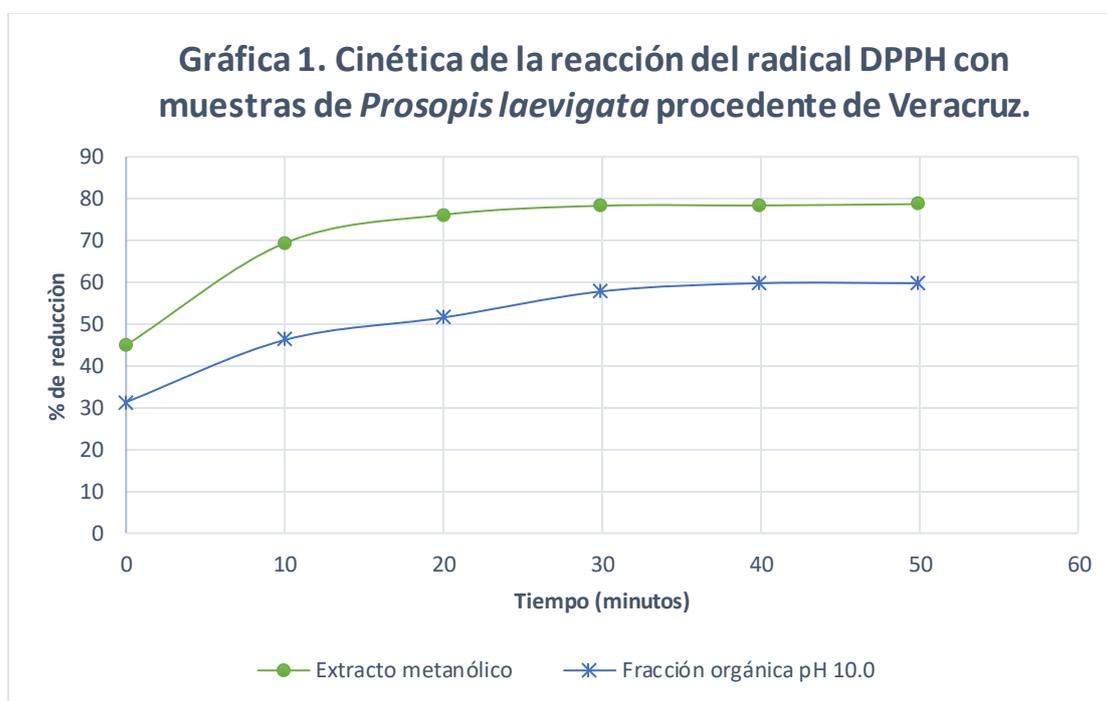
Con respecto a las fracciones orgánicas a pH 5.0 del material colectado en los estados de Oaxaca, Hidalgo y Veracruz, la cantidad de PT fueron de 3.35 ± 0.06, 3.67 ± 0.00 y 2.97 ± 0.38 mg EAG / 100 mg de muestra, respectivamente.

El contenido de PT en los precipitados de Oaxaca, Hidalgo y Veracruz fueron de 7.78 ± 1.73, 3.85 ± 0.06, 9.40 ± 1.37, respectivamente

Con respecto a los FT se observa que, el extracto metanólico del material colectado en Veracruz (3.22 ± 0.01 mg EC/100 mg de muestra) y la fracción orgánica a pH 5.0 procedente del material de Hidalgo (3.07 ± 0.06 mg EC / 100 mg de muestra) presentaron la mayor cantidad de flavonoides.

7.4. Actividad antioxidante

En la Gráfica 1, se presenta la cinética de la reacción entre el radical DPPH^o y dos de las muestras analizadas a las concentraciones de 250 a 3 $\mu\text{g/mL}$, donde se observa que la reacción se estabiliza a los treinta minutos, razón por la cual se utilizó este tiempo para evaluar el efecto antioxidante de los extractos y fracciones.



En el Cuadro 5 se muestra la Concentración Inhibitoria 50 (IC₅₀) al tiempo de 30 minutos.

Cuadro 5. Actividad antioxidante (µg/ml) de los extractos y fracciones de tallo de <i>Prosopis laevigata</i> obtenida a 30 minutos		
Lugar de colecta	Control/extracto/fracción/precipitado	CI ₅₀ (µg/mL)
	ÁCIDO GÁLICO	0.41
Oaxaca	Extracto metanólico	27.33
	Fracción orgánica de tallo a pH 5	131.21
	precipitado pH 5.0	17.50
	Fracción orgánica a pH 10	NA
Hidalgo	Extracto metanólico	23.28
	Fracción orgánica de tallo a pH 5	7.21
	precipitado pH 5.0	13.09
	Fracción orgánica a pH 10	68.16
Veracruz	Extracto metanólico	37.38
	Fracción orgánica de tallo a pH 5	29.58
	precipitado pH 5.0	20.00
	Fracción orgánica a pH 10	174.54

NA = No activo a las concentraciones probadas

Con respecto a los extractos metanólicos, el extracto de Hidalgo (CI₅₀= 23.80 µg/mL) presentó mejor actividad antioxidante que los extractos de Oaxaca (CI₅₀= 27.33 µg/mL) y Veracruz (CI₅₀= 37.38 µg/mL).

Las fracciones ácidas obtenidas del tallo de Veracruz presentaron la mejor actividad antioxidante, siendo la fracción orgánica a pH 5.0 la más bioactiva. También la fracción ácida de Oaxaca (precipitado a pH 5.0) y de Veracruz (precipitado a pH 5.0) inhibieron el 50% del radical DPPH^o a concentraciones ácidas.

Las fracciones obtenidas a pH 10.0 presentaron menor actividad antioxidante que los extractos metanólicos y las fracciones ácidas correspondientes.

Sin embargo, la actividad antioxidante de las fracciones ácidas fue menor que la del ácido gálico (CI₅₀= 0.41 µg/mL), compuesto que se usó como referencia.

7.5. Análisis cromatográfico

El análisis de compuestos polifenólicos se llevó a cabo empleando un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC). Bajo las condiciones cromatografías señaladas en el apartado 6.9.2, se obtuvieron los cromatogramas de las muestras analizadas a una longitud de 280 nm, que esta reportada para la cuantificación de polifenoles (Molina Quijada y col., 2010).

A partir de los cromatogramas obtenidos, se seleccionaron los picos correspondientes a los tiempos de retención (t_r) similares o cercanos a los determinados experimentalmente para los estándares individuales. Una vez seleccionados, se procedió a realizar la extracción de los espectros de absorción, para corroborar la identificación de los polifenoles. En las figuras 5, 6, 7, 8 y 9, se presentan los espectros de absorción obtenidos experimentalmente para la quercetina, ácido gálico, ácido clorogénico, rutina, y catequina. Para realizar la identificación de los polifenoles en las muestras analizadas, es necesario que el t_r y el espectro de absorción sean iguales a las determinadas en los estándares analizados.

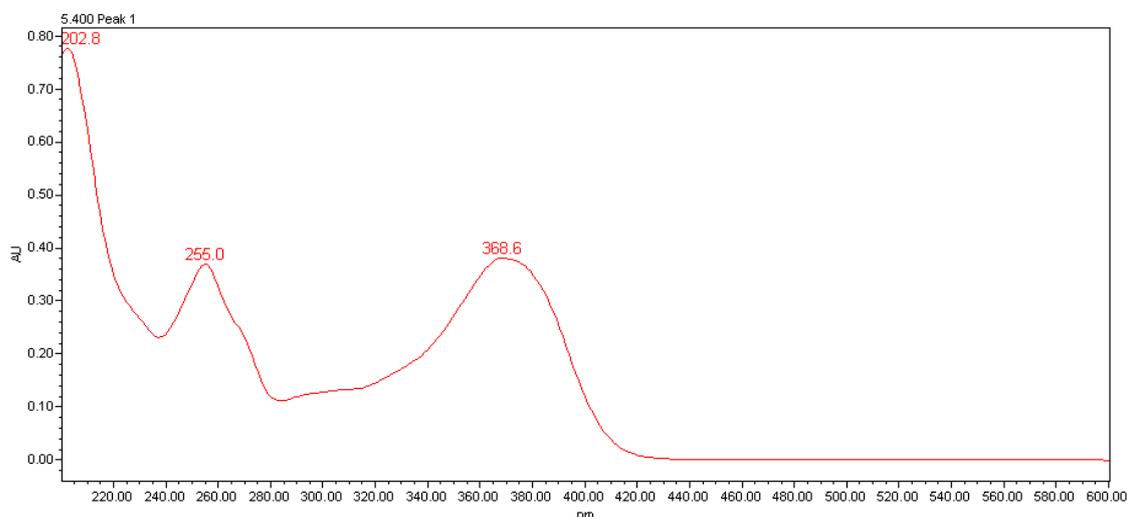


Figura 5. Espectro de absorción del estándar de quercetina. t_r = 5.398 minutos.

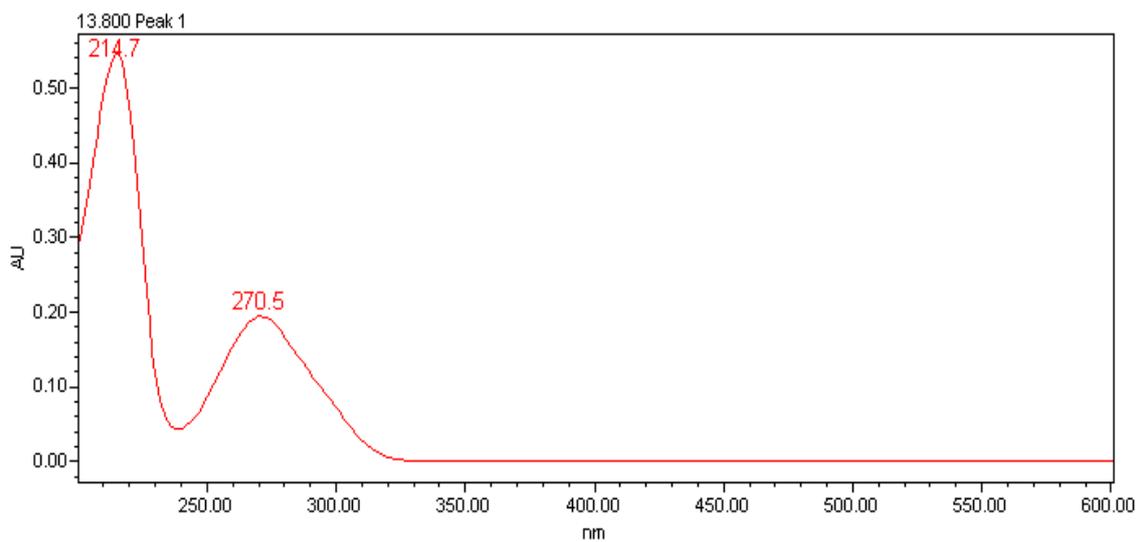


Figura 6. Espectro de absorción del estándar de ácido gálico. $t_r = 13.806$ minutos

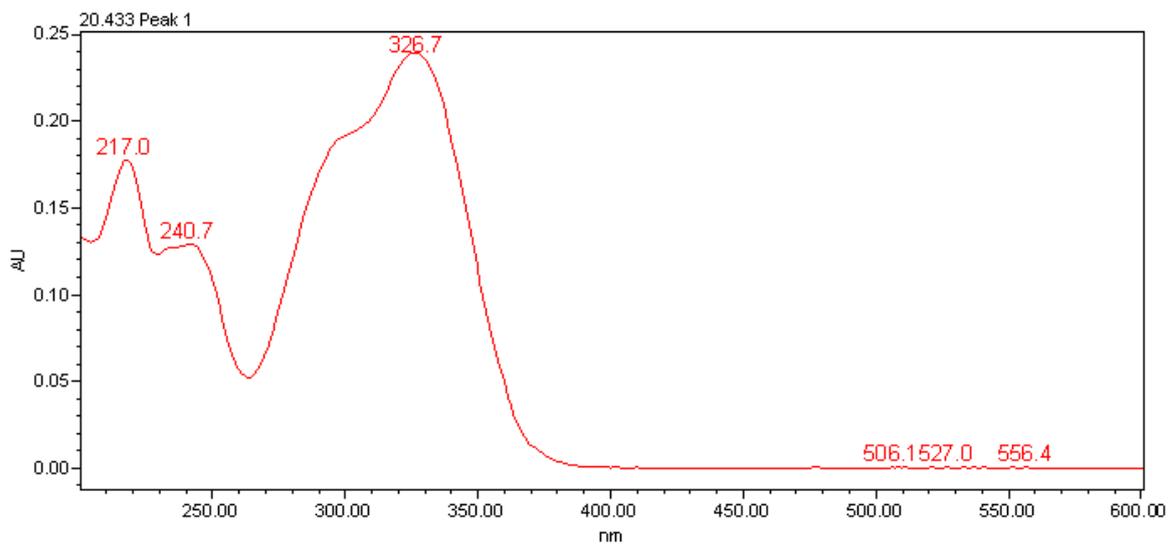


Figura 7. Espectro de absorción del estándar de ácido clorogénico. $t_r = 20.393$ minutos.

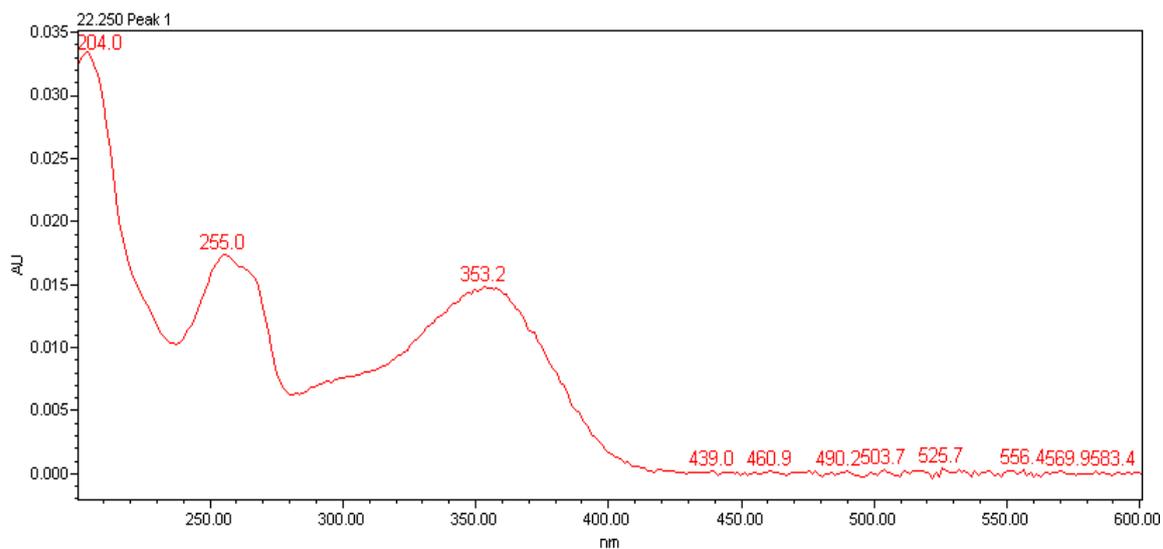


Figura 8. Espectro de absorción del estándar de rutina. $t_r = 22.241$ minutos.

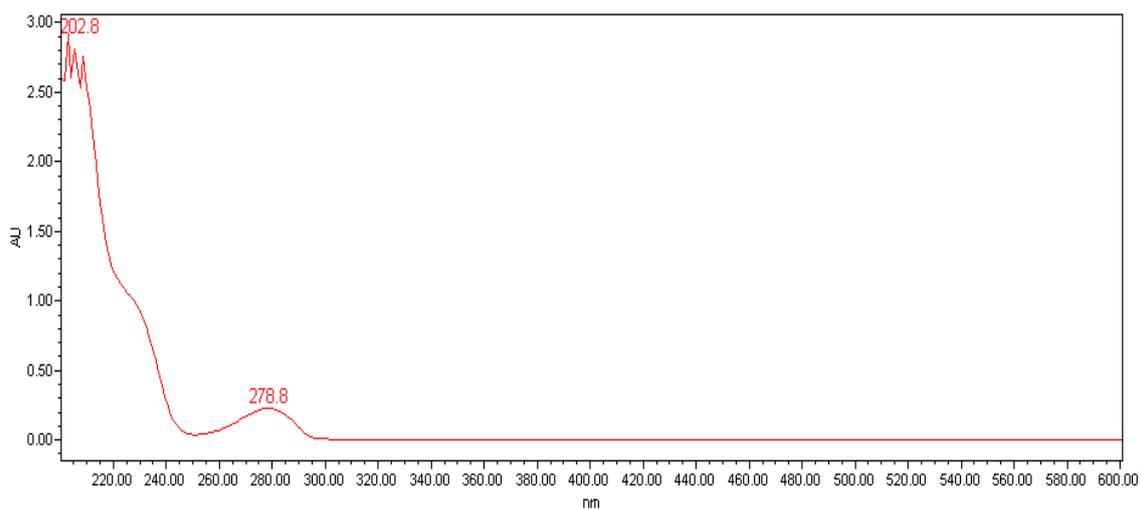


Figura 9. Espectro de absorción del estándar de catequina. $t_r = 22.438$ minutos.

7.5.1. Espectros de las muestras analizadas

A partir de los cromatogramas obtenidos para cada muestra analizada, se buscaron e identificaron los picos que coincidieran en t_r y espectro de absorción de los estándares analizados.

Análisis cromatográfico de los precipitados a pH 5.0

En las Figuras 10, 11, 12, 13, 14 y 15 se muestran los cromatogramas de elución y los espectros de absorción identificados de los precipitados obtenidos del material de Oaxaca, Hidalgo y Veracruz, que corresponden a los tiempos de retención de los estándares analizados.

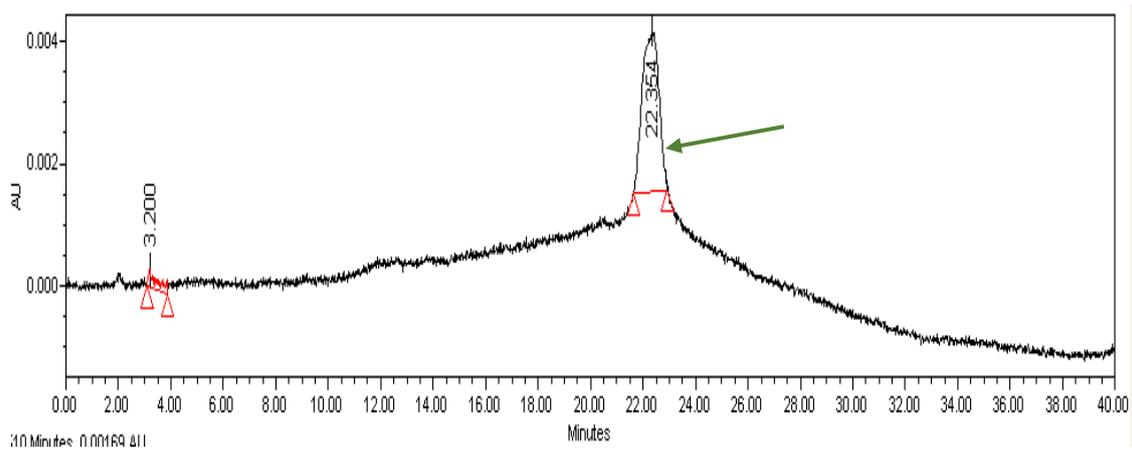


Figura 10. Cromatograma del precipitado del material de mezquite de Oaxaca.

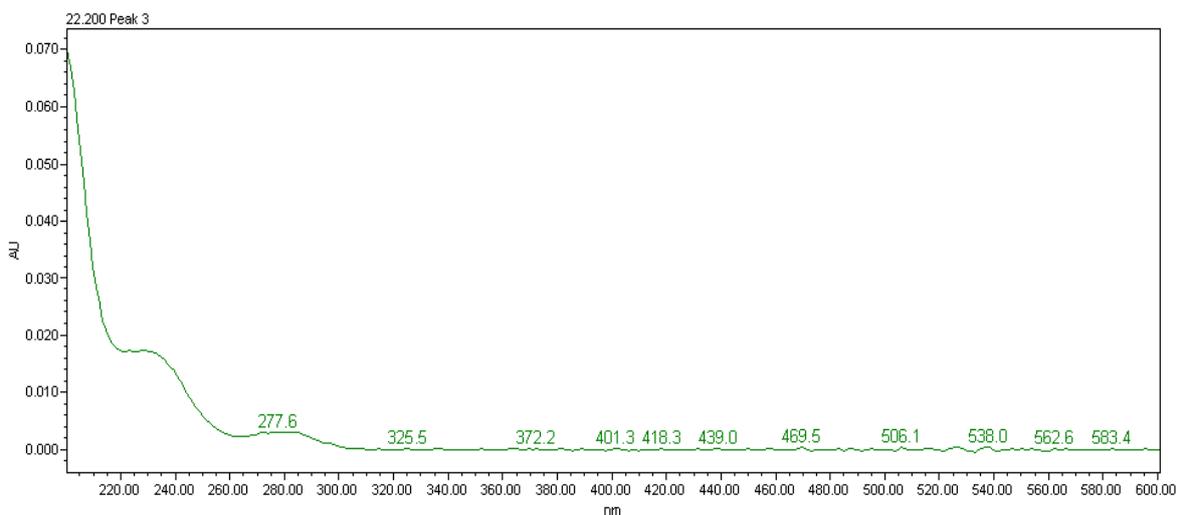


Figura 11. Espectro de absorción correspondiente a un t_r de 22.193 minutos. Precipitado a pH 5.0 del mezquite de Oaxaca.

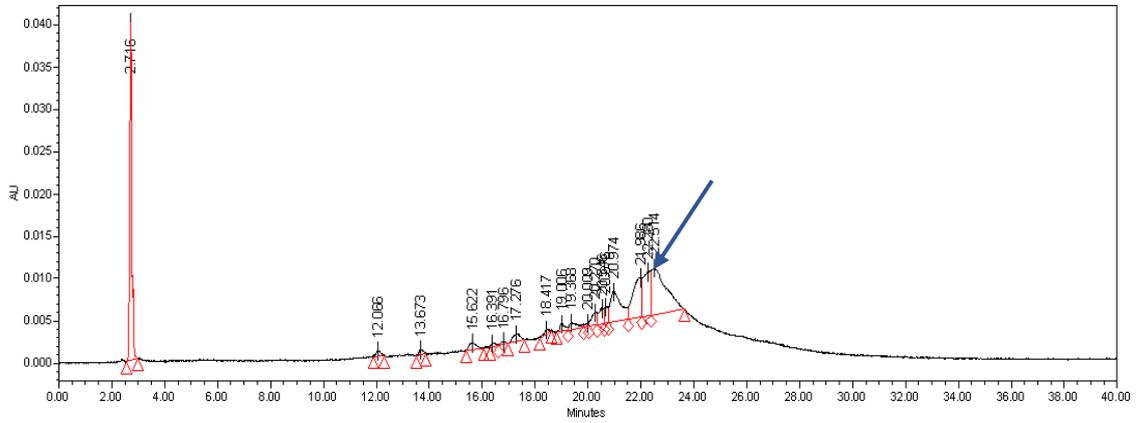


Figura 12. Cromatograma de elución del precipitado a pH 5.0 del mezquite de Hidalgo.

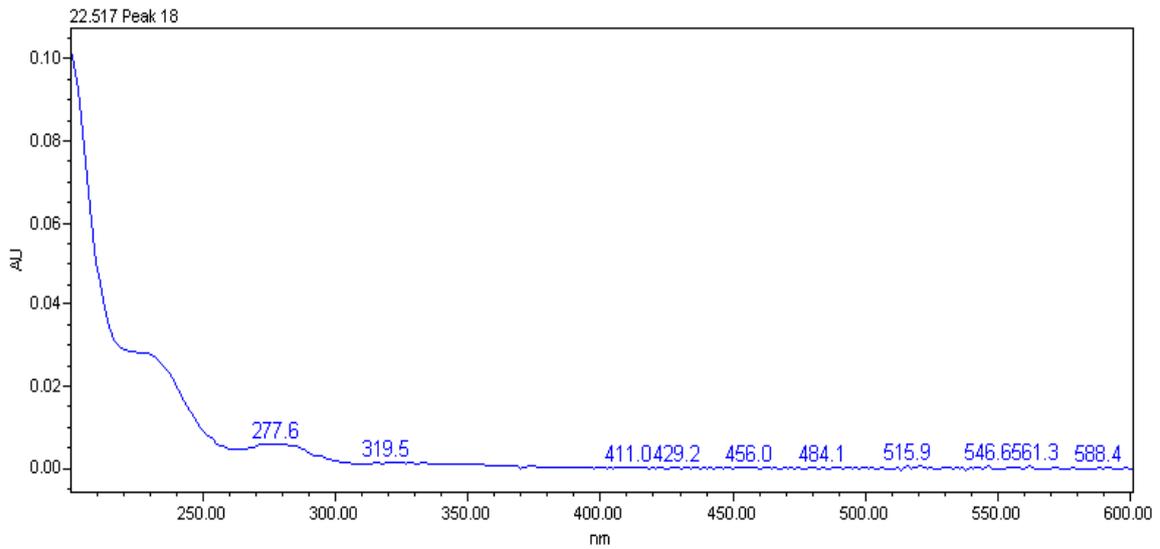


Figura 13. Espectro de absorción correspondiente a un t_r de 22.514 minutos. Precipitado a pH 5.0 del material de Hidalgo.

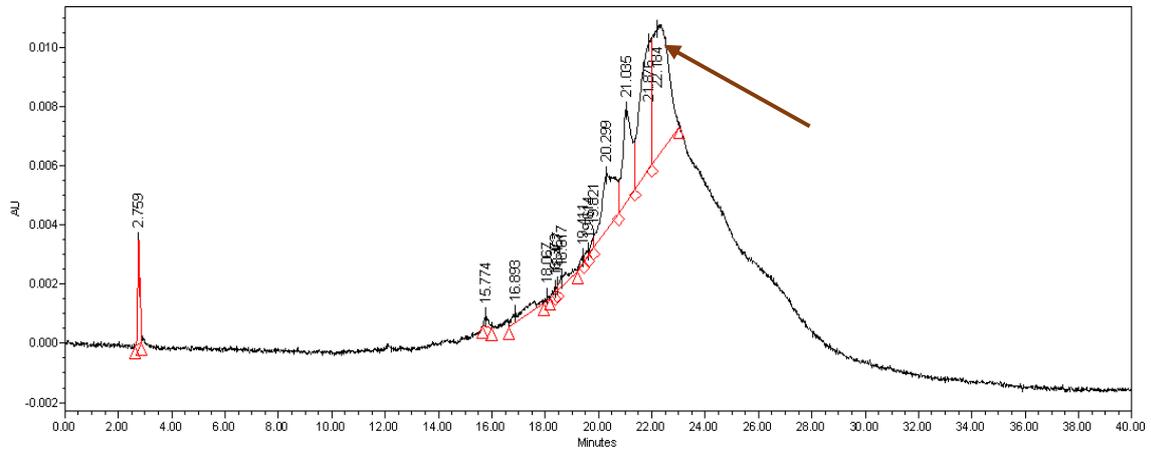


Figura 14. Cromatograma del precipitado a pH 5.0 del material de Veracruz.

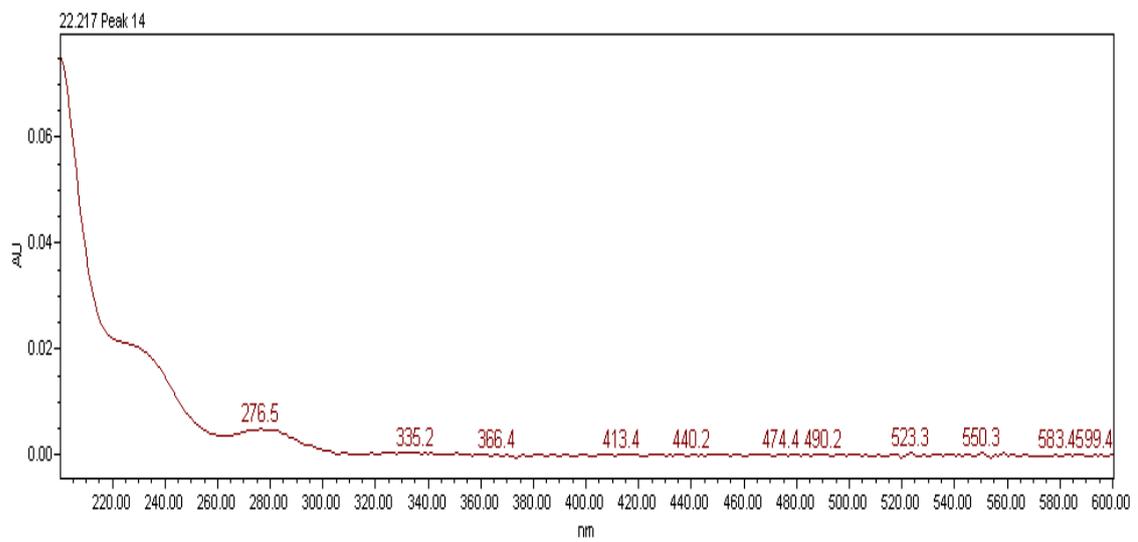


Figura 15. Espectro de absorción correspondiente a un t_r de 22.217 minutos. Precipitado a pH 5.0 del mezquite de Veracruz.

Análisis cromatográfico de las fracciones orgánicas a pH 5.0

En las Figuras 16, 17, 18 y 19 se muestran los cromatogramas de elución y los espectros de absorción que corresponden a los tiempos de retención cercanos o iguales a los estándares analizados. Estos resultados corresponden a las fracciones orgánicas pH 5.0 de Oaxaca e Hidalgo.

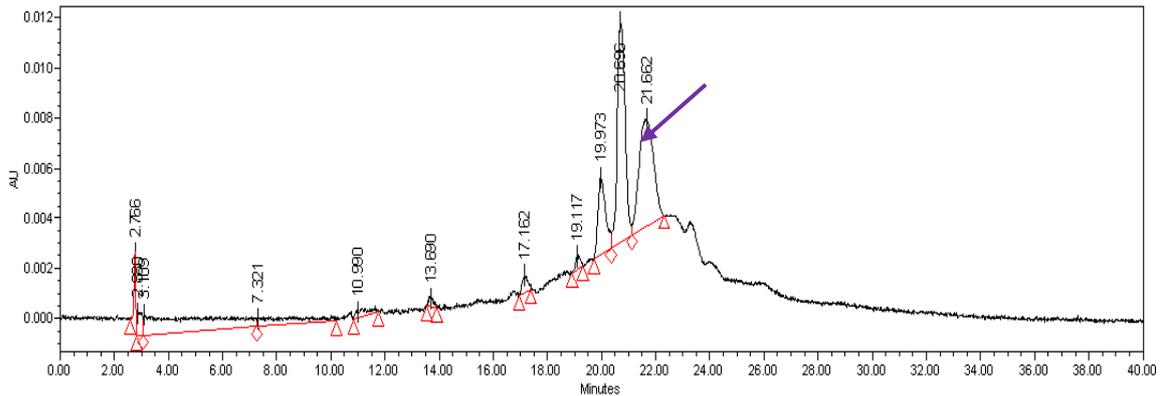


Figura 16. Cromatograma de la fracción a pH 5.0 del mezquite de Oaxaca.

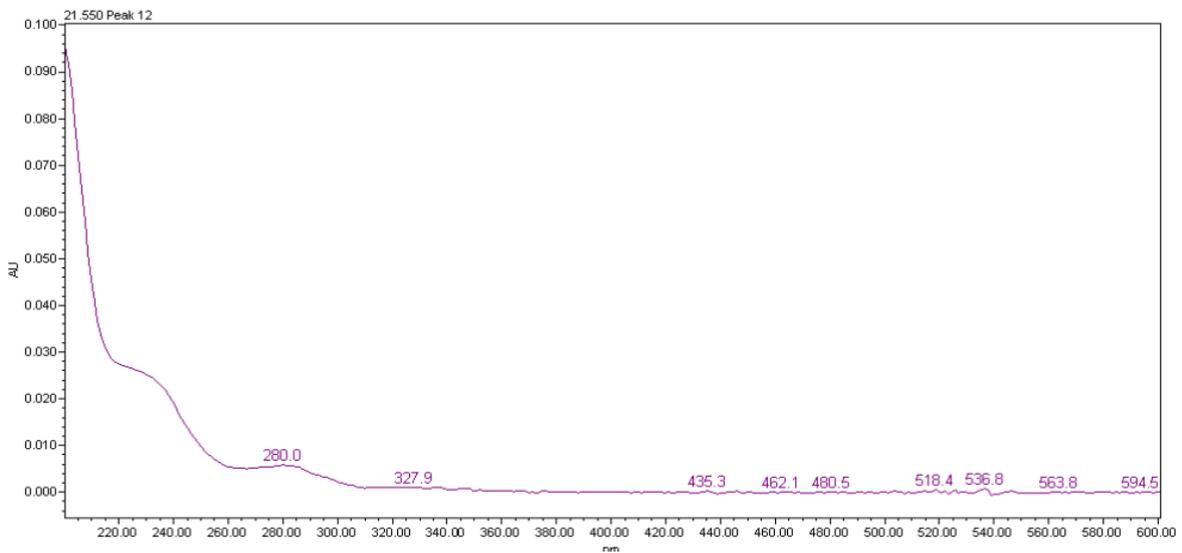


Figura 17. Espectro de absorción correspondiente a un t_r de 21.556 minutos. Fracción a pH 5.0 del mezquite de Oaxaca.

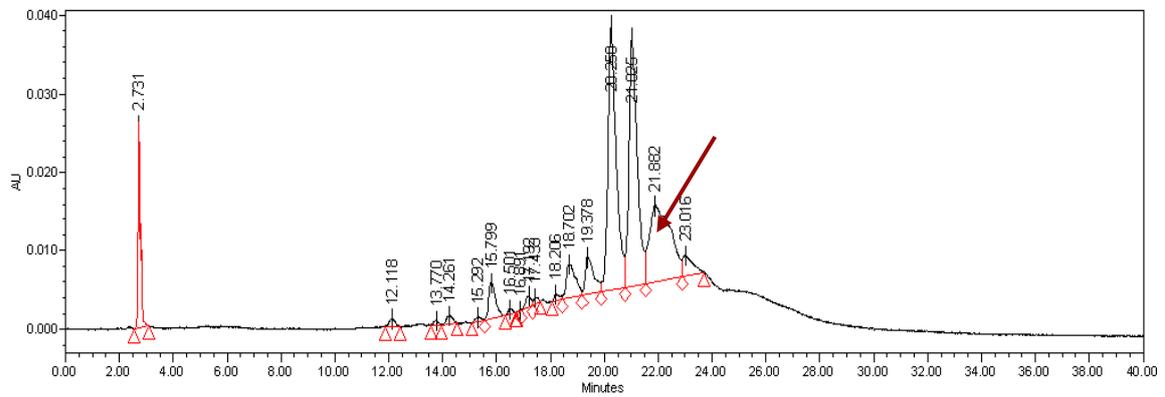


Figura 18. Cromatograma de la fracción orgánica a pH 5.0 del mezquite de Hidalgo.

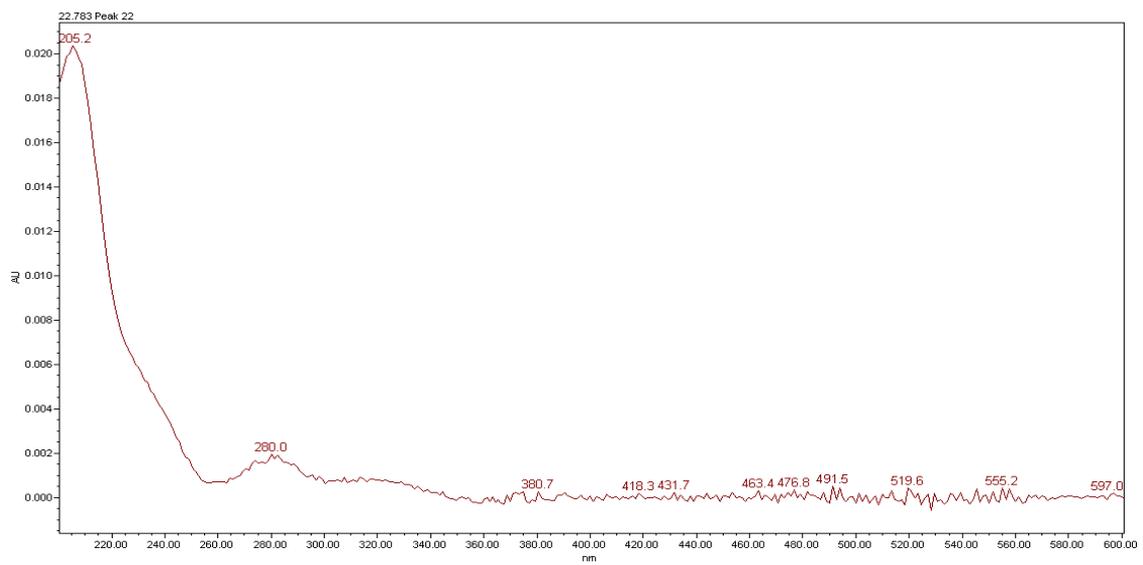


Figura 19. Espectro de absorción correspondiente a un t_r de 22.614 minutos. Fracción a pH 5.0 del mezquite de Hidalgo

Análisis cromatográfico de los extractos metanólicos

En las Figuras 20, 21, 22 y 23 se muestran los cromatogramas de elución y los espectros de absorción cercanos o iguales a los tiempos de retención de los estándares analizados. Estos resultados corresponden a los extractos metanólicos de Veracruz e Hidalgo.

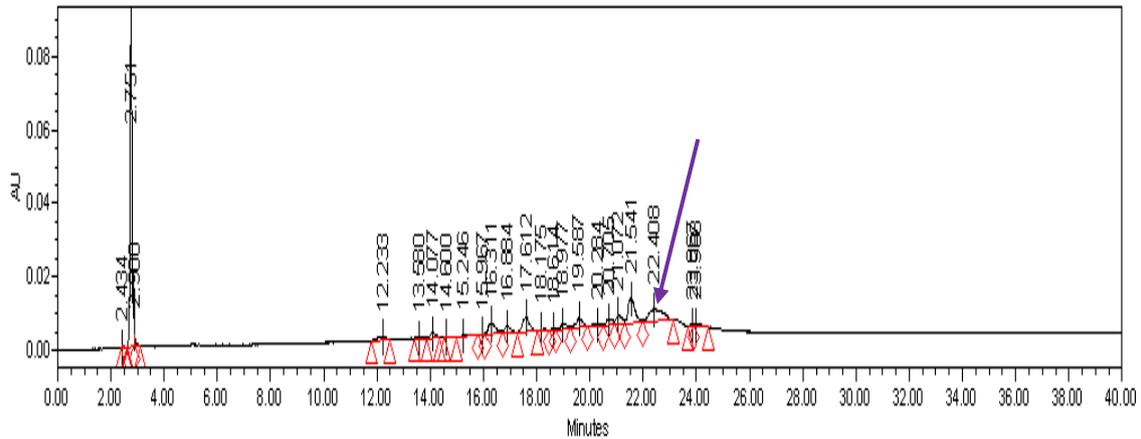


Figura 20. Cromatograma del extracto metanólico del mezquite de Veracruz

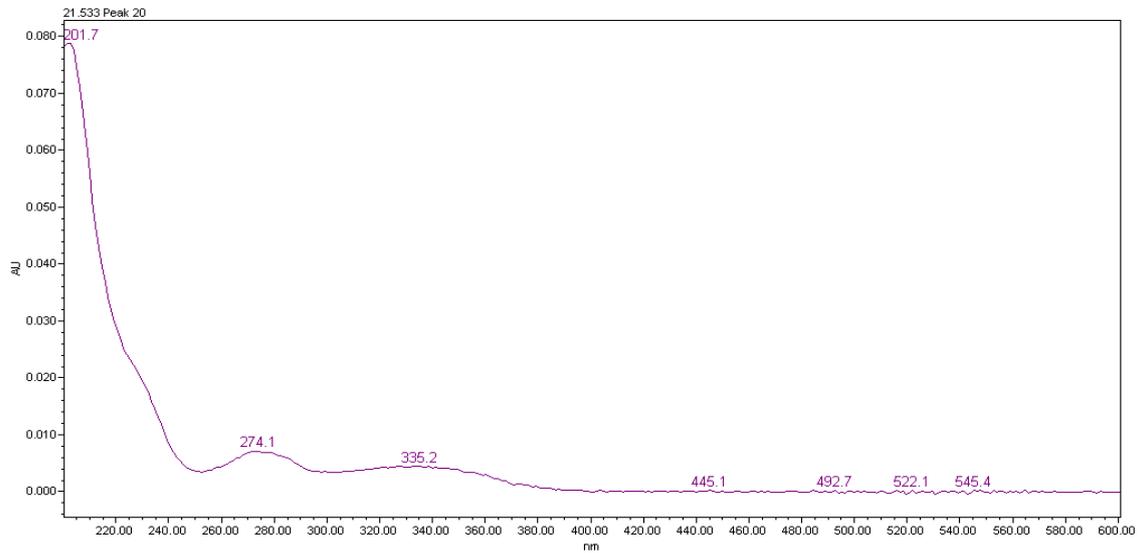


Figura 21. Espectro de absorción correspondiente a un tr de 22.408 minutos. Extracto metanólico del mezquite de Veracruz.

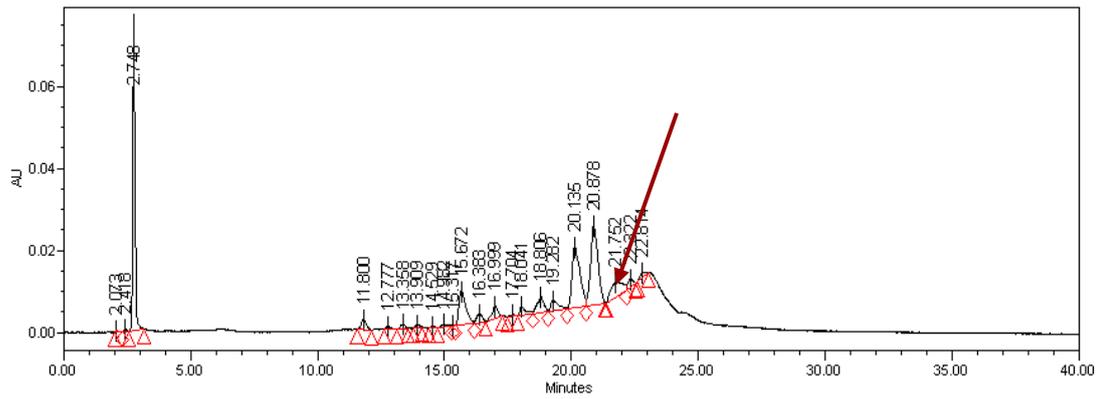


Figura 22. Cromatograma del extracto metanólico del mezquite de Hidalgo.

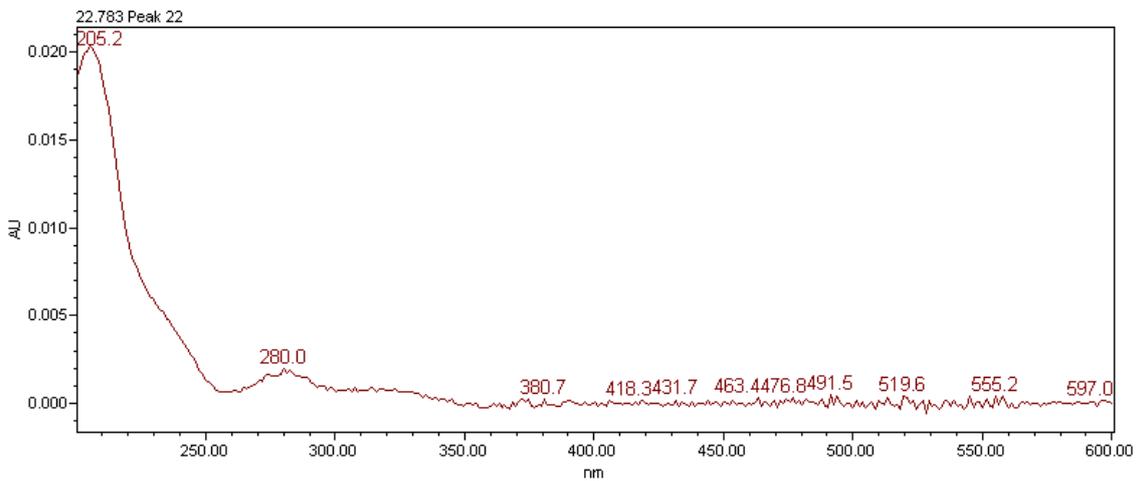


Figura 23. Espectro de absorción correspondiente a un t_r de 22.758 minutos. Extracto metanólico de Hidalgo.

De los cromatogramas obtenidos de las muestras analizadas mediante el HPLC, se observa que hay una similitud entre el espectro del estándar de catequina con algunos de los espectros obtenidos en las muestras de los precipitados a pH de 5.0 obtenidos de los tallos de mezquite de Oaxaca, Veracruz e Hidalgo, así como en las fracciones a pH 5.0 de los tallos de mezquite de Oaxaca e Hidalgo y en los extractos metanólicos de los tallos de mezquite de Veracruz e Hidalgo.

7.5.2. Concentración de catequina

En el Cuadro 6 se observa el porcentaje de catequina presente en las muestras analizadas por medio de HPLC.

Cuadro 6. Porcentaje de catequina en las muestras analizadas

Muestra	% de catequina
Precipitado a pH 5.0 de tallo de Mezquite de Oaxaca	0.77 ± 0.25
Precipitado a pH 5.0 de tallo de Mezquite de Hidalgo	0.74 ± 0.16
Precipitado a pH 5.0 de tallo de Mezquite de Veracruz	0.65 ± 0.18
Fracción orgánica a pH 5.0 del tallo de mezquite de Oaxaca	0.50 ± 0.02
Fracción orgánica a pH 5.0 del tallo de mezquite de Hidalgo	0.86 ± 0.01
Extracto metanólico del tallo de mezquite de Hidalgo	0.70 ± 0.24
Extracto metanólico de tallo de Mezquite de Veracruz	0.74 ± 0.06

Del análisis cromatográfico (HPLC) de los extractos metanólicos, las fracciones obtenidas a pH de 5.0 y los precipitados, se obtuvo el porcentaje de catequina en las muestras, siendo la fracción orgánica a pH 5.0 del mezquite de Hidalgo el que presentó el mayor porcentaje de catequina (0.86 ± 0.01 %), mientras que los precipitados a pH 5.0 de los mezquites de Oaxaca (0.77 ± 0.25 %) e Hidalgo (0.74 ± 0.16 %) y los extractos metanólicos de los mezquites de Hidalgo (0.70 ± 0.24 %) y Veracruz (0.74 ± 0.06 %), presentaron concentraciones similares, en tanto que, el precipitado a pH 5.0 del mezquite de Veracruz (0.65 ± 0.18 %) y la fracción orgánica a pH 5.0 del mezquite de Oaxaca (0.50 ± 0.02 %) presentaron un porcentaje menor de catequina.

8. DISCUSIÓN

Los registros etnobotánicos indican que en México se emplean 343 especies de plantas contra enfermedades de índole infecciosa, 200 se usan para tratar malestares gastrointestinales, 118 contra padecimientos respiratorios y 71 contra enfermedades cutáneas (Sharma y col., 2017). Dentro de las plantas empleadas en México en la medicina tradicional para tratar enfermedades como, la disentería se encuentran *P. glandulosa*, *P. juliflora* y *P. laevigata* (Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana, 2017), siendo *P. laevigata* seleccionada por nuestro grupo de trabajo, por ser la especie menos estudiada.

En la presente investigación se obtuvieron extractos metanólicos ricos en alcaloides, los cuales fueron fraccionados con un sistema de partición a pH de 5.0 y 10.0, y así, obtener fracciones crudas, ricas en compuestos fenólicos (pH 5.0) y alcaloides (pH 10.0). El tratamiento de las fracciones orgánicas obtenidas a pH 5.0, condujo a la obtención de un precipitado y a una fracción que se denominó “fracción orgánica pH 5.0”. Dentro de los compuestos aislados de *P. juliflora* están la juliflorina y el mesquitol. La juliflorina, es un alcaloide responsable de las actividades antidermatofílica y antibacteriana (Ahma y col, 1986), en tanto que el mesquitol es un flavonoide que inactiva los radicales libres y estimula el sistema de defensa endógeno, por lo que es capaz de tratar y prevenir enfermedades como el cáncer y la diabetes (Rao y col, 2003).

Los extractos metanólicos, fracciones y precipitados obtenidos de los tallos de *P. laevigata* (Cuadro 3) provenientes de tres zonas de la República Mexicana (Oaxaca, Hidalgo y Veracruz), inhibieron el 53 % de las bacterias *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* y *Shigella flexneri*, las cuales son de interés, debido a que son tres de las ocho bacterias implicadas en la disentería bacilar (Hernández Cortez y col., 2011). La bacteria más afectada fue *S. flexneri* por los compuestos presentes en los precipitados a pH 5.0 del material colectado en Hidalgo y Veracruz, así como fracción orgánica a pH 5.0 del material proveniente de Hidalgo, cabe mencionar que la fracción orgánica a pH 10.0 del material colectado en Veracruz también inhibió esta bacteria con un MIC de 0.5 ± 0.000 mg/mL. Los resultados obtenidos son de interés, debido a que las concentraciones mínimas inhibitorias son menores a 1.0 mg/mL (Ríos y Recio, 2005).

Con respecto a la actividad antibacteriana de las fracciones crudas ricas en alcaloides obtenidas de las vainas y las flores de *P. juliflora*, el mejor efecto fue contra *E. coli*, *S.*

aureus, *B. cereus*, *P. putida*, *Klebsiella spp*, *Salmonella spp*, *Acinetobacter spp* y *Alcaligen spp*, con MICs de 25 µg/mL a 100 µg/mL. Estos extractos contienen alcaloides de tipo piperidina (Singh y col., 2011), entre los cuales se encuentran la juliflorina, julifloricina, julifloridina (Ahmad y col., 1978), juliprosina, juliprosinina (Ahmad y col., 1989) y prosofinina (Singh y col., 2011). También los extractos hidroalcohólicos de las vainas de *P. juliflora* presentaron actividad antibacteriana contra *E. coli* (ATCC 25922) con un MIC de 1.25 mg/mL (Tajbakhsh y col., 2015). Con respecto a *Prosopis laevigata*, Salinas Sánchez y col. (2009) reportan que el extracto metanólico de tallos presentan actividad antibacteriana contra *E. coli* (ATCC 8937) y *S. typhi* (ATCC 06539) con un MIC > 8 mg/mL, siendo la cepa *S. typhi* igual a la empleada en este trabajo. Sin embargo, este dato es más alto que el valor obtenido en el presente trabajo, a pesar de que Salinas Sánchez y col. también emplearon un método de dilución.

También se emplea el método de difusión en disco donde se miden los halos de inhibición bacteriana en mm (Sánchez y col., 2016). El efecto del extracto metanólico de *P. laevigata* sobre cepas bacterianas aisladas en hospitales se evaluó primero con el método de difusión y posteriormente se determinó su concentración mínima bactericida (mg/mL). A continuación se muestran las cepas aisladas y los valores obtenidos con ambas técnicas; *K. pneumoniae* (1.4 ± 0.3 mm, 3.8 ± 0.01 mg/mL), *E. faecalis* (1.7 ± 0.03 mm, 2.7 ± 0.1 mg/mL), *E. coli* (1.5 ± 0.03 mm, 1.5 ± 0.2 mg/mL) y *S. aureus* (2.6 ± 0.03 mm, 0.7 ± 0.01 mg/mL). La Concentración Mínima Bactericida (CMB) es diferente a la concentración mínima inhibitoria (MIC). Para conocer la CMB, primero se evalúa la MIC y posteriormente se resiembró una cantidad del inóculo presente en los tubos o pozos tratados con las muestras y se considera la CMB aquella que permitió sobrevivir a menos de 0.01 % del inóculo original (Campus, 2018). Con base a los resultados anteriores se concluye que *S. aureus* fue la bacteria más afectada por el extracto metanólico de *P. laevigata*.

Los compuestos polifenólicos son metabolitos secundarios, presentes en las plantas, que tienen diferentes estructuras químicas, entre los que se encuentran los ácidos fenólicos, flavonoides, cumarinas, lignanos y taninos (Ávalos y Pérez, 2009). Los resultados obtenidos en esta investigación muestran que la mayor cantidad de compuestos polifenólicos totales los presentaron los precipitados a pH 5.0 del material colectado en Veracruz (9.40 ± 1.37 mg EAG/100 mg) y Oaxaca (7.78 ± 1.73 mg EAG/100 mg). Sin embargo, no se observa una correlación entre el contenido de polifenoles totales y

flavonoides. García-Andrade y col. (2013) fraccionaron el extracto acetónico de hojas de *P. laevigata* mediante cartuchos pre-empacados (Waters Sep-Pack C18) y empleando como eluyentes agua (AE1), metanol: agua 1:1 (AE2) y metanol (AE3) y cuantificaron los polifenoles totales y encontraron que el contenido en mg EAG/100 mg fue de 4.70 ± 0.228 , 4.96 ± 0.356 y 10.35 ± 0.474 respectivamente. Mostrándose que el rango de compuestos polifenólicos entre los tallos y las hojas se encuentran en un mismo orden de magnitud.

La ingesta de compuestos polifenólicos (ácidos fenólicos, flavonoides, quinonas, cumarinas, lignanos, stilbenos, taninos), compuestos nitrogenados (alcaloides, aminas, betalinas), vitaminas y terpenoides es de gran relevancia ya que este grupo de compuestos presentan actividad antioxidante (Cai y col., 2004). Los antioxidantes son de gran importancia, debido a que inhiben la oxidación de lípidos y otras moléculas como las proteínas, por lo que desempeñan un papel importante en la adsorción y neutralización de los radicales libres (Quiñones Gálvez y col., 2013). El desequilibrio entre los radicales libres y los antioxidantes puede conducir a un estrés oxidativo que puede estar involucrado en varias enfermedades entre las que se encuentran la arterosclerosis, el envejecimiento y cáncer (Tenkerian y col., 2015).

Los resultados obtenidos en la presente investigación (Cuadro 5) indican que la fracción orgánica (pH 5.0) y el precipitado del material colectado en Hidalgo mostró, la mejor actividad antioxidante con CI_{50} de 7.21 y 13.09 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. Las CI_{50} de los precipitados obtenidos del material colectado en los estados de Oaxaca (17.50 $\mu\text{g/mL}$) y Veracruz (20.00 $\mu\text{g/mL}$) indican que dichos precipitados presentan una buena capacidad de neutralizar los radicales libres. Cabe mencionar que la menor actividad antioxidante la presentaron las fracciones obtenidas a pH 10.0, las cuales son ricas en alcaloides.

La fracción AE3, obtenida del extracto acetónico de hojas de *P. laevigata* (García-Andrade y col, 2013), mostró la mejor actividad antioxidante ($CI_{50} = 93.26 \mu\text{g/mL}$), efecto que los autores asociaron al contenido de compuestos polifenólicos (10.35 ± 0.474 mg EAG/100 mg), entre los que se identificaron al galato de epicatequina, rutina y luteolina.

También se evaluó el contenido de polifenoles (Gallegos-Infante y col., 2013) y la inhibición de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad en la harina (pinole) de las vainas de *P. laevigata* y se observó que el contenido de estos compuestos, así como su efecto antioxidante, varió con respecto a la temperatura empleada para tostar las vainas.

El extracto etanólico de la corteza *P. juliflora* también presentó actividad antioxidante ($CI_{50} = 37.08 \mu\text{g/mL}$), efecto que se asoció al contenido de compuestos de tipo fenólico (Siahpoosh y Mehrpeyma, 2014).

En la presente investigación se logró identificar al flavonoide catequina distribuido en menos del 1% en las muestras (Cuadro 6). Sin embargo, en las figuras (12, 14, 16, 18, 20 y 22), se observan en los cromatogramas varios picos correspondientes a diferentes tiempos de retención, y es importante mencionar que el pico que eluye a los 22.478 minutos presenta el mismo espectro de absorción que el estándar de catequina. En esta investigación también se emplearon como estándares a los ácidos gálico y clorogénico y los flavonoides rutina y quercetina. El flavonoide identificado está presente en mayor cantidad en el material procedente del estado de Hidalgo.

En las hojas de *P. laevigata* (García-Andrade y col., 2013), se han identificado y cuantificado compuestos fenólicos en el extracto acetónico, siendo el ácido gálico, rutina y catequina algunos de los compuestos encontrados. En esta investigación no se encontraron el ácido gálico y la rutina, lo que sugiere que la presencia y contenido de estos compuestos depende de la parte de la planta estudiada.

La catequina está asociado a la actividad antibacteriana, en donde su mecanismo de acción está ligado con la habilidad de inactivar adhesinas microbianas, así como el transporte de enzimas y proteínas de envoltura celular (Ramar y Gopalakrishnakone, 2008). Este flavonoide también inhibe el crecimiento de *Helicobacter pylori* (diámetro de 16 mm) (Díaz Gómez, 2012), *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. flexneri* y *S. aureus* (Osuna Torres, 2005), siendo *E. coli* y *S. flexneri* dos de las bacterias empleadas en este estudio, por lo que se podría asociar el efecto antibacteriano con la catequina.

8. CONCLUSIÓN

El material obtenido de los tallos procedentes de las tres zonas del país inhibió el crecimiento de tres de las bacterias que provocan disentería con valores de MIC < 1000 µg/mL, por lo que se puede considerar que el mezquite tiene potencial antibacteriano y se identificó en las fracciones ácidas a la catequina, flavonoide al que se le pueden asociar las actividades antibacteriana y antioxidante. Así mismo, sólo la fracción orgánica pH 10.0 del material colectado en Veracruz inhibió el crecimiento de *S. flexneri* con un MIC de 0.500 ± 0.000 µg/mL, efecto que podría asociarse a la presencia de alcaloides.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Ahmad V. U., Basha A. y Haque U. (1978). New alkaloids from *Prosopis juliflora*, Zeitschrift für Naturforschung. **33**:347-348.
- Ahmad A, Khan KA, Ahmad VU y Qazi S. (1986) Antibacterial activity of juliflorine isolated from *Prosopis juliflora*. Planta Med. **4**:285-288.
- Ahmad V. U., sultana A. y Qazi S. (1989). Alkaloids from the leaves of *Prosopis juliflora*. Journal Natural Products. **5**:497-501
- Alzate Tamayo L. Ma., Arteaga González D. M. y Jaramillo Garcés Y. (2008). Propiedades farmacológicas del algarrobo (*Hymenaea courbaril* Linneaus) de interés para la industria de alimentos. Rev. Lasallista de Investigación. **5(2)**:100-111.
- Ardoino S. M., Boeris M. A. y Toso R. E. (2013). Caracterización fitoquímica de *Prosopis flexuosa* var. *flexuosa* (algarrobo) y *Prosopis flexuosa* var. *depressa* (alpataco), plantas con acción farmacológica. Rev. Ciencias Veterinarias. **15(1)**: 115-125.
- Astudillo L, Guillermo-Hirschmann S, Herrera JP y Cortés M. (2014). Proximate composition and biological activity of Chilean *Prosopis* species. J Sci Food Agric. **80**: 567-573.
- Ávalos G. A. y Pérez Urria C. E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. **2 (3)**: 119-145.
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (2017). Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Mezquite. Recuperado del sitio web <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7712>.
- Burkart, A. (1976). A monograph of the genus *Prosopis* (Leguminosae subfam. Mimosoideae). J Arnold Arbor. **57**: 219-249.
- Brand-Williams W., Cuvelier M. E. y Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss u Technol.* **28**: 25-30.
- Cai Y., Luo Q., Sun M. y Corke H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life Sci. **74**: 2157-2184.

- Calixto J. B. (2005). Twenty-five years of research on medical plants in Latin America. *Journal of Ethnopharmacology*. **100**:131-134.
- Campus U. (2018). Microbiología general y bucal. Recuperado del sitio web http://campus.usal.es/~micromed/Practicas_odontologia/unidades/labv/LabMicro/Anfiblograma.html.
- Cervantes Ramírez Ma. C. (2006). Plantas de importancia económicas en zonas áridas y semiáridas de México. 53-62
- CONAFOR. (2018). *Prosopis laevigata* (Humb. et Bonpl. ex Willd). Recuperado de <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/988Prosopis%20laevigata.pdf>
- Díaz Gómez R. O. (2012). Efecto antimicrobiano del ácido gálico y de la catequina sobre *Helicobacter pylori* y *Escherichia coli*. Tesis de licenciatura. Facultad de ciencias agronómicas. Universidad de Chile.
- Elika. (2008). Shigella. Recuperado del sitio web <https://dieteticaieselgetares.files.wordpress.com/2017/02/shigella.pdf>
- Estrada S. L. (1993). Estudios sobre el potencial técnico de aprovechamiento de la goma, vainas, hojas y madera del mezquite (*Prosopis* spp) en México. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Estado de México, México.
- Gallegos-Infante J. A., Rocha-Guzmán N. E., González-Laredo R. F. y García-Casas M. A. (2013). Efecto del procesamiento térmico sobre la capacidad antioxidante de pino le a base de vainas de mezquite (*Prosopis laevigata*). *CyTA – Journal of Food*. **11** (2):162-170.
- García-Andrade M., González.Laredo R. F., Rocha.Guzmán N. E., Gallegos-Infante J. A., Rosales-Castro M. y Medina-Torres L. (2013). Mesquite leaves (*Prosopis laevigata*), a natural resource with antioxidant capacity and cardioprotection potential. *Industrial Crops and Products* **44**:336– 342.
- Gaudreau H., Champagne C.P., Remondetto G.E., Bazinet L. y Subirade. M. (2014). Effect of catechins on the growth of oxygen-sensitive probiotic bacteria. *Food Research International*. **66**: 514-520.

- Gheno-Heredia Y. A., Nava-Bernal G., Martínez-Campos A. R. y Sánchez Vera-E. (2011). Las Plantas medicinales de la organización de parteras y médicos indígenas tradicionales de Ixhuatlancillo, Veracruz, México y su significancia cultural. *Polibotánica*. **31**:199 - 251.
- Goycoolea F.M., Milas M. y Rinaudo M. (2001) Associative phenomena in galactomannan-deacylated xanthan system. *Int. J. Biol. Macromol.* **29**: 181-192
- Hernández Cortez C., Aguilera Arreola M. G. y Castro Escarpulli G. (2011). Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enf. Inf. Microbiol.* **31 (4)**: 137-151.
- Hernández Marín D. A. (2015). Aislamiento y purificación de metabolitos secundarios de plantas con actividad antimicrobiana contra microorganismos farmacorresistentes del grupo ESKAPE. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de ciencias Biológicas.
- Instituto Nacional de Ecología. (2016). Localización geográfica. Recuperado del sitio web <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/72/descrip.html>
- Jurado Jiménez R., Arenas Muñoz C., Doblas Delgado A., Rivero A. y Torre Cisneros J. (2010). Fiebre tifoidea y otras infecciones por salmonellas. *Medicine.* **10 (52)**: 3497-3501.
- Kedare S, Singh R. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Tech.* **48 (4)**: 412-422.
- Lakshmibai R, Amirtham D y Radhika S. (2015). Preliminary phytochemical analysis and antioxidant activities of *Prosopis juliflora* and *Mimosa pudica* leaves. *Int J Sci Eng Technol Res.* **4**: 5766-5770.
- León Ramírez S. (2002). Shigelosis (disentería bacilar). *Salud en Tabasco.* 8(1): 22-25.
- López Franco Y. L., Goycoolea F. M., Valdez M. A. y Calderón de la Barca A. Ma. (2006). Goma de mezquite: una alternativa de uso industrial. *Interciencia.* **31(3)**: 183-189.
- Maldoni B. (1991). Alkaloids: Isolation and purification. *J. Chem. Educ.* **68 (8)**:700-703.

- Matta D., Nanda H. y Mahalingam G. (2017). Phytopharmaceutical potentials of *Prosopis laevigata*, *Symplocos cochinchinensis* and *Nymphaea alba*: a review. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. **10**: 63-68.
- Menéndez Bueyes L. R. (2012). Medicine, disease and death in late Antiquity Italy: An approach to the *Historia Langobardorum* of Paulus Diaconus. *Stud. hist., H.^a antig.* **30**: 217-251.
- Molina Quijada D. M. A., Medina Juárez L. A. González Aguilar G. A., Robles Sánchez R. M. y Gamez Meza N. (2010). Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de cáscara de uva (*Vitis vinifera* L.) de mesa cultivada en el noroeste de México. *CyTA - Journal of Food*, **8(1)**: 57-63.
- Muñoz Jáuregui A. M., Alvarado Ortiz Ureta C., Blanco Blasco T., Castañeda B., Ruiz Quiroz J. y Alvarado Yarasca A. (2014). Determinación de compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante en mieles peruanas de diferentes fuentes florales. *Rev Soc Quím. Perú.* **80 (4)**: 287-297.
- Oduol P. A., Felker P., McKinley C. R. y Meier C. E. (1986). Variation among selected *Prosopis* families for pod sugar and pod protein contents. *Forest Ecology and Management*. **16**: 423-431.
- OMS. (2017). Enfermedades diarreicas. Recuperado el 5 de julio de 2017 del sitio web <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/es/>.
- Ocegueda S., Moreno E. y Koleff P. 2005. Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica. *CONABIO. Biodiversitas*. **62**:12-15.
- Orozco Villafuerte J., Cruz Sosa F., Ponce Alquicira E. y Vernon Carter E. J. (2003). Mesquite gum: fractionation and characterization of the gum exuded from *Prosopis laevigata* obtained from plant tissue culture and from wild trees. **54**: 327 - 333.
- Osuna Torres L., Tapia Pérez M. E. y Aguilar Contreras A. (2005). Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales, estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico. Recuperado de <https://books.google.com.mx/books?isbn=844752986X>.
- Palacios R. A. (2006). Los Mezquites Mexicanos: Biodiversidad y Distribución Geográfica. *Bol. Soc. Argent. Bot.* **41 (1-2)**: 99-121.

- Palacios Romero A., Rodríguez Laguna R., Hernández Flores M. L., Jiménez Muños E. y Tirado Torres D. (2016). Distribución potencial de *Prosopis laevigata* (Hum. et Bonpl. ex Willd). M. C. Johnston basada en un modelo de nicho ecológico. *Revista Mexicana De Ciencias Forestales*. **7 (34)**:35-46.
- Parra M., Durango J. y Maltar S. (2002). Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por *Salmonella*. *MVZ-Cordoba*. **7 (2)**: 187-200.
- Quiñones Gálvez J, Trujillo Sánchez R., Capdesuñer Ruiz Y., Quirós Molina Y. y Hernández de la Torre M. (2013). Potencial de actividad antioxidante de extractos fenólicos de *Theobroma cacao* L. (cacao). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. **18 (2)**:201-215.
- Ramar P. S. y P. Gopalakrishnakone.2008. Therapeutic Potential of Plants as Antimicrobials for Drug Discovery. Published by Oxford University Press.1-12.
- Rao R. J., Tiwari A. K., Kumar U. S., Reddy S. V., Ali A. Z. y Rao J. M., (2003). Novel 3-O-Acyl Mesquitol Analogues as Free-Radical Scavengers and Enzyme Inhibitors: Synthesis biological Evaluation and Structure–Activity Relationship, *Science direct: Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **13**: 2777–2780.
- Rechab S. O., Kareru G. P., Kutima L. H., Nyagah C.G., Njonge F. K., Wamburu R. W. y Cheruitot K. (2015). Antibacterial activity of methanolic extracts of *Prosopis juliflora* against gram negative bacteria. *European Journal of Experimental Biology*. **5 (11)**: 43-46.
- Ríos J. M. (2013). Detección de alcaloides en semillas de plantas herbáceas nativas. *Multequina* **22**: 51-55.
- Ríos Saucedo J. C., Martínez Salvador M. y Mojica Guerrero A. S. (2013). Caracterización ecológica y socioeconómica del mezquite (*Prosopis* spp.). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. 43 - 69.
- Ríos J. L. y Recio M. C. (2005), "Medicinal plants and antimicrobial activity", *Ethnopharmacology*. **100**: 80.
- Rodríguez Ángeles G. (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud pública de México*. **44(5)**: 464-475.

- Rodríguez Saucedo, E. N., Rojo Martínez, G. E., Ramírez Valverde, B., Martínez Ruiz, R., Chong Hermida, M. de la C., Medina Torres, S. M. y Piña Ruiz, H. H. (2014). Análisis técnico del árbol del mezquite (*Prosopis laevigata* Humb. & Bonpl. ex Willd.) en México. *Ra Ximhai*. **10 (3)**: 173-193.
- Rodríguez Vaquero, M. J., Alberto, M. R. y Manca de la Nadra, M. C. (2005). Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*. **18 (2)**: 93-101.
- Rzedowski, J. (1988). Análisis técnico de la distribución geográfica del complejo *Prosopis* (Leguminosae, Mimosoidea) en Norteamérica. *Acta Botánica Mexicana*. **3**:7-19.
- Salinas-Sánchez D. O., Arteaga-Najera G. L., León-Rivera I., Dorado-Ramírez O., Valladares-Cisneros M. G. y Navarro-García V. M. (2009). Antimicrobial activity of medicinal plants from the Huautla Sierra Biosphere Reserve in Morelos (México). *Polibotánica*. **28**: 213 - 225.
- Sánchez E., Rivas Morales C., Castillo S., Leos-Rivas C., García-Becerra L. y Ortiz Martínez D. M. (2016). Antibacterial and antibiofilm activity of methanolic plant extracts against nosocomial microorganism. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.1-8.
- Sarker S, D., Nahar L. y Kumarasamy Y. (2007). Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening phytochemicals. *Methods* **42**: 321 - 324.
- Schlaepfer L. y Mendoza-Espinoza J. A. (2010). Las plantas medicinales en la lucha contra el cáncer, relevancia para México. *Rev. Mex. de Ciencias Farmacéuticas*. **4 (4)**: 18-27.
- Siahpoosh A. y Mehrpeyma M. (2014). Antioxidant effects of *Albizialebbek* and *Prosopis juliflora* barks. *Int J Biosci*. **5**:273-284.
- Singh S., Swapnil y Verma S. K. (2011). Antibacterial properties of alkaloid rich fractions obtained from various parts of *Prosopis juliflora*. *International Journal of Pharma Sciences and research* **2(3)**: 114-120.

- Shohaël A. M., Chakrabarty M. B., Ali K. W., Hahn E. J., Lee H. L. y Paek K. Y. (2002). Enhancement of eleutherosides production in embryogenic cultures of *Eleutherosides sessiliflorus* in response to sucrose-induced osmotic stress. *Process. Biochem* **41**:512-518.
- Skerget M, Kotnik P, Hadolin M, Hras A, Simoncic M. y Knez Z. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chem.*; **89(2)**: 191-198.
- Soledispa Cañarte P. A., Miranda Martínez M. y García Mir V. (2017). Validación de una técnica por cromatografía líquida de alta resolución para la determinación de isoflavonas totales. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*. **5 (2)**:106-113
- Taisma Ma. A. (2017). Usos medicinales de *Prosopis juliflora* (Sw) DC. en comunidades rurales de la península de Paraguaná, Venezuela. *Rev. Peruana de Biología*. **24(1)**: 79-86.
- Tajbakhsh S., Barmak A., Vakhshiteh F. y Gharibi M. (2015). *In vitro* antibacterial activity of the *Prosopis juliflora* seed pods on some common pathogens. *Journal of clinical & diagnostic research*. **9(8)**:13-15.
- Tenkerian C., El-Sibai, M., Daher, C.F. y Mroueh, M. (2015). Hepatoprotective, antioxidant and anticancer effects of the *Tragopogon porrifolius* methanol extracts. *Evidence-Based Complementary and alternative Medicine*. Art ID161720.
- Trejo Espino J. L., Rodríguez Monroy M., Vernon Carter E. J. y Cruz Sosa F. (2010). Emulsifying properties of the gum produced by *Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. ex Willd) M.C. Johnston (mesquite) cells suspension culture in bioreactor. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. **9(3)**: 251-260.
- Toro G. A., Vigo López F. y Muedas Taipe G. (2011). Evaluación de la actividad antioxidante del pisco peruano mediante voltametría cíclica. *Rev Soc Quím Perú*. **77 (2)**: 127-134.
- Vega-Avila E., Tapiá-Aguilar R., Reyes-Chilpa R., Guzmán-Gutiérrez L., Pérez-Flores. J. y Velasco-Lezama R. (2012). Actividad antibacteriana y antifúngica de *Justicia spicigera*. *Rev. Latinoamer. Quím*. **40 (2)**: 75-82.

Wolfe, K., Wu, X. y Liu, R.H. (2003). Antioxidant activity of apple peels. *Agric. Food Chem.* 51:609-614.

Zamacona Montañez, X. D. y Castro Durán, E. (2010). Identificación y obtención de alcaloides en variedades de Mezquite (*Prosopis juliflora* y *Prosopis pallida*).

ANEXOS. Constancias de participación en eventos de difusión nacionales e internacionales



UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
METROPOLITANA
Unidad Iztapalapa
Unidad Lerma



IRH



Departamento
de Recursos
de la Tierra

POSGRADO
EN
BIOTECNOLOGÍA

A través de la Rectoría de la Unidad Iztapalapa, la Rectoría de la Unidad Lerma, la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, la División de Ciencias Básicas e Ingeniería, el Departamento de Biotecnología, la Coordinación del Posgrado en Biotecnología, y la Coordinación de Ingeniería Bioquímica Industrial otorgan la presente



CONSTANCIA

A:
Anastasio del Ángel C. A., Trejo
Aguilar G. M., Pacheco L. y
Vega Avila E.

Por su participación con la presentación ORAL con el trabajo "Estudio Comparativo de la actividad antibacteriana de *Prosopis laevigata* proveniente de los Estados de Oaxaca y Hidalgo" en el marco de "Juntos por la Ciencia" que comprende a la XI Semana de Biotecnología y el III Simposio Anual de Recursos Hídricos, que se llevó a cabo del 4 al 8 de Septiembre de 2017, en las instalaciones de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

Dr. José Octavio Nateras Domínguez
Rector de la Unidad Iztapalapa

Dr. Emilio Sordo Zabay
Rector de la Unidad Lerma

Dr. Gabriel Soto Cortés
Director de la División de Ciencias
Básicas e Ingeniería, Unidad Lerma

Dr. Ricardo Beristain Cardoso
Coordinador del Simposio Anual
de Recursos Hídricos

Dra. Edith Ponce Alquicira
Directora de la División de Ciencias
Biológicas y de la Salud, Unidad Iztapalapa

Dra. María del Carmen Fajardo Ortiz
Jefa del Departamento de
Biotecnología

M. en C. Dulce María Sánchez-Díaz Lima
Coordinadora de la Licenciatura en
Ingeniería Bioquímica Industrial

Dra. Gabriela Mariana Rodríguez Serrano
Coordinadora del Posgrado
en Biotecnología

Amipronat



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



**La Asociación Mexicana de Investigación en Productos Naturales, A. C.
Y la Universidad Autónoma del Estado de Morelos
EXTIENDEN LA PRESENTE**

C O N S T A N C I A

A

Carla Angélica Anastasio del Ángel, Elisa Vega Avila, Leticia Pacheco,
Gloria Maribel Trejo Aguilar y Alma Socorro Sobrino Figueroa.

Por su valiosa participación como ponentes en Modalidad de **CARTEL** del trabajo

**Actividad antioxidante de las fracciones obtenidas de
tallo de *Prosopis laevigata* de tres zonas distintas.**

durante la 14ª. Reunión Internacional de Investigación
en Productos Naturales, celebrada del 23 al 26 de mayo de 2018
en Cuernavaca, Morelos, México

Dra. María Luisa del Campo
Presidente del Comité Organizador

Dr. Sergio Rubén Peraza Sánchez
Presidente de la AMIPRONAT

14A. RIIPN

XXIII Simposio del Departamento de Ciencias de la Salud 2018
UAM Iztapalapa

LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
y
EL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA SALUD

Otorgan la presente

Constancia

Anastacio del Ángel Carla Angélica, Trejo Aguilar Gloria Maribel y Vega Avila Elisa

Por la presentación del trabajo:

"ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE LOS EXTRACTOS METANÓLICOS Y LAS FRACCIONES DE *Prosopis laevigata* DE TRES ZONAS DEL PAÍS"

en el XXIII Simposio del Departamento de Ciencias de la Salud
22 al 26 de Octubre de 2018
Sala Cuicacalli

Dr. José Luis Gómez Olivares
Jefe del Depto. de Ciencias de la Salud

Biol. Esp. Andrea Cortés Panamierro

Dra. Norma Edith López Díaz-Guerrero
Coordinadora

Dra. Elsa Cervantes Ríos
Coordinadora

ACTA DE IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS

No. 00197

Matricula: 2172801484

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y PERFIL CROMATOGRÁFICO DE PROSOPIS LEAVIGATA DE TRES ZONAS DISTINTAS.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 12:00 horas del día 29 del mes de noviembre del año 2018 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. ELISA VEGA AVILA
DRA. GLORIA MARIBEL TREJO AGULLAR
DR. OCTAVIO LOERA CORRAL

siendo las dos primeras asesoras de la alumna y lector el tercero, de la Idónea Comunicación de Resultados, se reunieron a evaluar la presentación cuya denominación aparece al margen, para la obtención del diploma de:

ESPECIALIZACION EN BIOTECNOLOGIA

DE: CARLA ANGELICA ANASTACIO DEL ANGEL

y de acuerdo con el artículo 79 fracción II del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, se comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



CARLA ANGELICA ANASTACIO DEL ANGEL

ALUMNA

REVISÓ

LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISION DE CBS

DRA. SARA LUCIA CAMARGO RICALDE

ASESORA

DRA. ELISA VEGA AVILA

ASESORA

DRA. GLORIA MARIBEL TREJO AGULLAR

LECTOR

DR. OCTAVIO LOERA CORRAL