

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE INGENIERÍA



PERFIL FITOQUÍMICO Y POTENCIAL BIOACTIVO DE EXTRACTOS
DE HOJA Y RAMA DE *Eysenhardtia texana*

Por:

FABIOLA SUÁREZ CAMACHO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México

Junio, 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

PERFIL FITOQUÍMICO Y POTENCIAL BIOACTIVO DE EXTRACTOS DE HOJA Y

RAMA DE *Eysenhardtia texana*

Por:

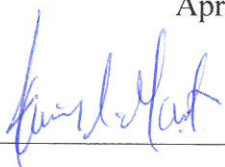
FABIOLA SUÁREZ CAMACHO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Aprobada por el Jurado Examinador



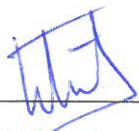
Dr. Javier Israel Montalvo Arredondo

Presidente



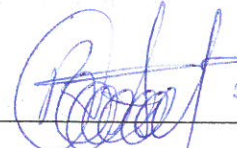
Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez

Vocal




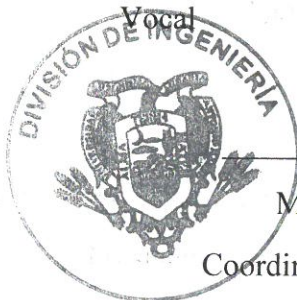
Dra. María Liliana Flores López

Vocal



Dr. Armando Robledo Olivo

Vocal



M.C Sergio Sánchez Martínez

Coordinador de la División de Ingeniería.

Saltillo, Coahuila, México

Junio, 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

PERFIL FITOQUÍMICO Y POTENCIAL BIOACTIVO DE EXTRACTOS DE HOJA Y
RAMA DE *Eysenhardtia texana*

Por:

FABIOLA SUÁREZ CAMACHO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

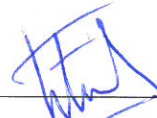
INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez

Asesor Principal Interno



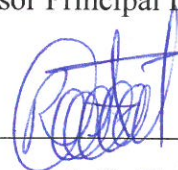
Dra. María Liliana Flores López

Asesor Principal Externo



Dr. Julio César López Romero

Asesor



Dr. Armando Robledo Olivo

Asesor

Saltillo, Coahuila, México

Junio, 2023

MANIFIESTO DE HONESTIDAD ACADÉMICA

La suscrita **Fabiola Suárez Camacho**, alumna del programa docente de Ingeniero Biotecnología, con número de matrícula **41173197** y autor de la presente tesis manifiesta que:

1. Reconozco que el plagio académico constituye un delito que está penado en nuestro país.
2. Las ideas, opiniones, datos e información publicadas por otros autores y que han sido incluidas en este trabajo, han sido debidamente citadas, reconociendo la autoría de la fuente original.
3. Toda la información consultada ha sido analizada e interpretada por el suscrito y redactada según su criterio y apreciación, de tal manera que no se ha incurrido en el “copiado y pegado” de dicha información.
4. Reconozco la responsabilidad sobre los derechos del autor de los materiales bibliográficos consultados por cualquier vía y manifiesto no haber hecho mal uso de ellos.
5. Entiendo que la función y alcance de mi comité de asesoría está circunscrito a la orientación de guía respecto a la metodología de investigación realizada para el presente trabajo, así como el análisis e interpretación de los resultados obtenidos. Por lo tanto, eximo de toda responsabilidad relacionada al plagio académico a mi comité de asesoría y acepto que cualquier responsabilidad al respecto es únicamente mía.

ATENTAMENTE



Fabiola Suárez Camacho

Tesista

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento principalmente a Dios, el cual en mi vida se expresa como un todo y al universo que forma parte de él, por darme la dicha de estar en este presente.

A mi familia, quienes son mi pilar y mi principal motivo de vida, les agradezco por siempre darme la ilusión de siempre regresar a casa, por darme ánimos y por estar conmigo en esta vida.

A mi **ALMA MÁTER** por darme la oportunidad de desarrollarme en sus instalaciones, agradeciendo a todas las personas que forman parte de la institución, al personal académico y administrativo.

A la **Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez** por permitirme ser parte de este proyecto, por su apoyo, disposición y confianza, por siempre buscar alternativas y mostrar interés en mi desarrollo. Le agradezco por siempre hacerme sentir bienvenida en el Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos.

A la **Dr. María Liliana Flores López** por guiarme, por darme ánimos, por tener la disponibilidad y paciencia, durante todo el tiempo de este proyecto. No hay palabras para terminar de expresar mi agradecimiento hacia usted.

Al **Dr. Julio César López Romero** y al **Dr. Heriberto Torres Moreno** por hacer lo necesario para poder realizar mi estancia en la Universidad de Sonora y darme las herramientas necesarias y el conocimiento para desarrollar parte fundamental de este proyecto.

A la **Dra. Susana González Morales** del Departamento de Horticultura de la UAAAN por las facilidades brindadas para la realización de los experimentos.

Al **Dr. Javier Israel Montalvo**, **Dr. Marco Adán Juárez**, **M.C Carmen Julia**, **Dr. Alberto Rodríguez** y al **Dr. Miguel Ángel Pérez** por todo el aprendizaje obtenido.

Agradezco al **Ing. Pablo Virgen**, que con amabilidad me aceptó a formar parte del equipo de trabajo para la realización de mis prácticas profesionales, dándome una pequeña muestra del campo laboral.

Al **Dr. Jorge Guía García** y a la **M.C Tomasa Quiterio Gutiérrez**, quienes has sido mi mayor referencia de compañerismo. Gracias por explicarme y orientarme en todo momento, por resolverme dudas y acompañarme desde el inicio. Les agradezco y aprecio muchísimo.

A mis amigos y compañeros de laboratorio: **Edgar Hernández, Lorena Santiago, Rosalina Aparicio, Carmina Sánchez** y **Gustavo Flores**, gracias por su tiempo, sus ánimos y por apoyarme para que este proyecto se llevara a cabo.

A mis amigos y compañeros de carrera **Adrián Mederos** quien es mi mejor amigo y quien a lo largo de mi formación académica me ha acompañado, **Jhonatan García, Ernesto Juárez** y **Manuel Macías**.

También agradezco a mis amigos **Julio González, María Luisa Pérez, Yamilet Pineda, Javier Rodríguez, Noé Ramírez, Pablo Daniel López, Rafael Valencia** que me han acompañado desde el inicio de mi vida universitaria.

Especialmente agradezco a **Javier Hernández**, quien es parte importante de mi día a día, le agradezco por su compañía, tiempo, paciencia y por todo el cariño hacia mí.

Por último, agradezco a todas las personas, las cuales sus nombres no están en este apartado, les agradezco por formar parte de mi vida, tratarme con respeto y amabilidad.

DEDICATORIA

A mi madre, Sra. Lorenza Remedios Camacho Reséndiz, por estar presente y apoyarme en todo momento, quien ha sido mi más grande ejemplo; siendo una mujer excepcional y a quien le atribuyo todos mis logros. Gracias por dejarme ser yo misma, por aceptarme y enseñarme a nadar contracorriente.

A mi padre, Sr. José Rodolfo Suárez García quien ha sido parte fundamental de mi desarrollo personal. Gracias por marcar mi vida, contigo aprendí que las segundas partes pueden ser mejores.

A mi hermana Patricia Suárez Camacho, a quien admiro, por ser una mujer resistente, centrada y con carácter. Gracias por cuidarme y ser una buena hermana mayor.

A mi hermana Jessica Suárez Camacho, quien es una mujer muy fuerte, admirable y sensible, le agradezco por ser un ejemplo de vida.

A Juan Pablo Suárez Camacho, quien es mi hermano menor, a quien vi crecer y formarse como un joven responsable, serio y considerado. Que, aunque hayas crecido, te veré con cariño, como al pequeño que con ilusión conocí a mis seis años.

A mis sobrinos Christian Amador Suárez, Leonardo Arredondo Suárez, Vania Amador Suárez, quienes son mi más grande alegría, que, con el siempre hecho de saber que son parte de mi familia me hacen mi día. Los quiero mucho mis niños.

También agradezco a los papás de mis sobrinos por quererlos y cuidarlos.

A mi abuelo David Suárez Landaverde, a quien recuerdo con gran cariño, le agradezco por su presencia, por sus buenos tratos hacia mí, por hacer mi infancia más bonita. Me acompaña y me da luz en todo momento.

A mi abuela Juana García Salinas, a quien le tengo un gran afecto, gracias por sus bendiciones, las recibo con todo cariño. Y siempre esperando a volverla a ver.

Al resto de mi familia, porque son parte de mi vida, a todos mis tíos y tías, a primos, especialmente a Liliana Jiménez Suárez, con la que he crecido y ha sido como una hermana para mí. Te quiero mucho Lili

Especialmente al Lic. César Mexicano Moncada quien me ha dado su apoyo fraternal y me ha demostrado que la familia va más allá de la relación sanguínea. Lo admiro y lo aprecio mucho.

Los quiero tanto, les agradezco infinitamente, con ustedes la vida me ha demostrado que puede ser muy bonita.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	I
DEDICATORIA	IV
ÍNDICE GENERAL	V
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
ÍNDICE DE CUADROS	VIII
RESUMEN	1
ABSTRACT	3
1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. Antecedentes	5
1.2 Justificación	7
1.3 Hipótesis.....	9
1.4 Objetivo general	9
1.5 Objetivos específicos	9
2. REVISIÓN DE LITERATURA	10
2.1 Medicina tradicional.....	10
2.2 Plantas medicinales de uso tradicional en zonas áridas y semiáridas de México	11
2.3 Compuestos bioactivos.....	13
2.4 <i>Eysenhardtia texana</i>	14
2.5 Características morfológicas	15
2.6 Distribución geográfica.....	16
2.7 Composición química.....	17
3. MATERIALES Y MÉTODOS	18
Etapa I. Obtención de extractos de hoja y rama de <i>E. texana</i> mediante la técnica de agitación convencional utilizando solventes de diferente polaridad	18
3.1 Reactivos	18
3.2 Obtención de materia prima	19
3.2.1 Caracterización fisicoquímica de materia prima.....	20
3.3 Producción de extractos de <i>Eysenhardtia texana</i>	20
3.3.1 Concentración de extractos acuosos e hidroalcohólicos por medio de liofilización	21

3.3.2	Concentración de extractos etanólicos por medio de evaporador rotatorio.....	22
Etapa II.	Caracterización de extractos de <i>E. texana</i> en función de contenido de fenoles totales y actividad antioxidante.....	22
3.4	Contenido fenólico total (CFT).....	22
3.5	Actividad antioxidante	23
3.5.1	Actividad antioxidante por el método de DPPH.....	23
3.5.2	Actividad antioxidante por el método de ABTS.....	24
3.5.3	Actividad antioxidante por el método de FRAP.....	24
Etapa III.	Evaluación de la bioactividad <i>in vitro</i> de los extractos de <i>E. texana</i>	25
3.6.	Actividad antimicrobiana.....	25
3.6.1	Concentración mínima inhibitoria (CMI).....	25
3.6.2	Concentración Mínima Bactericida (CMB)	26
3.7	Actividad antiproliferativa	27
3.8	Análisis estadísticos	28
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
Etapa I.	Obtención de extractos de hoja y rama de <i>E. texana</i> mediante la técnica de agitación convencional utilizando solventes de diferente polaridad.....	29
4.1	Caracterización fisicoquímica de materia prima.....	29
4.2	Producción de extractos de <i>Eysenhardtia texana</i>	30
Etapa II.	Caracterización de extractos de <i>E. texana</i> en función de contenido de fenoles totales y actividad antioxidante.....	32
4.3	contenido de fenoles totales y actividad antioxidante.....	32
Etapa III.	Evaluación de la bioactividad <i>in vitro</i> de los extractos de <i>E. texana</i>	34
4.4	Actividad antimicrobiana.....	34
4.5	Actividad antiproliferativa y citotóxica	36
5.	CONCLUSIONES	38
6.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Jefe de los indios Kikapúes.	10
Figura 2. Distribución de zonas secas de México.	11
Figura 3. Elaboración de té y alimento para aliviar afecciones.	15
Figura 4. Arbusto de <i>E. texana</i> : (A) órganos aéreos y (B) ejemplar completo.	16
Figura 5. Distribución geográfica de <i>E. texana</i>	16
Figura 6. Ubicación geográfica del muestreo de <i>E. texana</i>	19
Figura 7. A) Recolección <i>E. texana</i> , B) Identificación por microscopio, C) Separación, limpieza y secado de hoja y rama, D) Trituración y tamizaje, y G) Peso y almacenaje.	19
Figura 8. A) Humedad, B) Ceniza, C) Proteína, D) Grasas.	20
Figura 9. A) Peso de muestra, B) Incorporación de solventes, C) Recubrimiento con aluminio, D) Agitación, E) Filtración.	21
Figura 10. A) Ultracongelación y B) Liofilización.	21
Figura 11. A) Concentrado por arrastre de vapor, B) Concentrado de rama, C) Concentrado de hoja, D) Secado, E) Resina obtenida de rama y F) Resina obtenida de hoja.	22
Figura 12. A) Peso de muestra, B) Dilución de muestra con solventes, C) Agitación hasta homogenización, D) Reacción en microplaca y E) Lectura por microplaca y registro de absorbancias.	23
Figura 13. A) Preparación de los extractos, B) Agitación de la dilución, C) Reacción en microplaca, D) Reacción bajo oscuridad, D) Lectura por microplaca y registro de absorbancias.	25
Figura 14. A) Montaje de prueba antimicrobiana por medio de determinación de concentración mínima inhibitoria.	26
Figura 15. Siembra en cajas Petri para la determinación mínima bactericida	27

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Ejemplos de plantas nativas de zonas áridas y semiáridas y su distribución geográfica en México.	12
Cuadro 2. Extractos de plantas nativas de zonas áridas y semiáridas y sus compuestos bioactivos asociados a actividades biológicas.	14
Cuadro 3. Compuestos reportados en un extracto metanol-diclorometano de partes aéreas de <i>E. texana</i>	17
Cuadro 4. Análisis fisicoquímico de hoja y rama de <i>E. texana</i>	29
Cuadro 5. Rendimiento (%) de extractos de hoja y rama de <i>E. texana</i>	31
Cuadro 6. Contenido de fenoles totales (CFT) y actividad antioxidante de extractos de hoja y rama de <i>E. texana</i>	32
Cuadro 7. Actividad antimicrobiana (mg/mL) de los extractos de <i>E. texana</i> evaluados contra <i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i>	34
Cuadro 8. Actividad antiproliferativa y citotóxica.	36

RESUMEN

Eysenhardtia texana es una especie nativa del sur-centro del estado de Texas y norte de México, también conocida como el “riñón de Texas” y en el norte de México conocida como “Palo dulce”. Tradicionalmente, ha sido utilizada por los indios Kikapúes para tratar y aliviar afecciones renales; sin embargo, existe limitada información sobre su potencial biológico. Es por ello, que los objetivos de la presente investigación fueron: (1) caracterizar fisicoquímicamente las hojas y ramas de *E. texana*, (2) obtener y caracterizar extractos de hoja y rama de *E. texana* producidos mediante agitación convencional utilizando solventes de diferente polaridad; y (3) determinar el potencial antimicrobiano y antiproliferativo de extractos de hoja y rama de *E. texana*.

En general, las hojas y ramas de *E. texana* presentaron un alto contenido de carbohidratos, grasas y proteínas. Se obtuvieron tres extractos de hojas (acuoso EA-H, hidroalcohólico EHA-H y etanólico EE-H) y tres de ramas (acuoso EA-R, hidroalcohólico EHA-R y etanólico EE-R) de *E. texana* mediante la técnica de agitación convencional, presentando mayor rendimiento los extractos que utilizaron como solvente el agua (EA-H = $56.25 \pm 4.23\%$ y EA-R = $28.27 \pm 1.63\%$). Se realizó la caracterización de los extractos de *E. texana* en función del contenido de fenoles totales (CFT), presentando mayores ($p < 0.05$) valores en hoja el EE-H y en rama el EA-R (108.95 ± 23.31 y 85.89 ± 0.08 mg EAG/g extracto, respectivamente).

En cuanto a la actividad antioxidante, los tratamientos EE-H y EE-R presentaron mayor actividad captadora de radicales en ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina6-sulfónico) y DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo). Mientras que, el mayor poder reductor férrico lo presentaron los extractos de hoja EHA-H y EE-H y de rama los extractos EHA-R y EE-R. Los resultados observados evidencian el efecto del solvente y el órgano de la planta utilizado en las propiedades de los extractos obtenidos.

Se evaluó la actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos de *E. texana*, mostrando actividad promisoriosa contra *Staphylococcus aureus*. Los extractos de *E. texana* presentaron moderado efecto antiproliferativo y baja citotoxicidad, logrando menos del 40% de inhibición en todos los tratamientos.

Esta investigación presenta, por primera vez, las propiedades biológicas de *E. texana*, ofreciendo nuevos conocimientos sobre sus beneficios. Con ello, se pueden plantear alternativas efectivas y económicamente viables para abordar problemas de interés social en las áreas de desarrollo de esta planta

Palabras clave: *Eysenhardtia texana*; extractos; compuestos bioactivos; actividad antioxidante; actividad antimicrobiana; actividad antiproliferativa

ABSTRACT

Eysenhardtia texana is a native species found in south-central Texas and northern Mexico, commonly known as "Texas kidney" and "Palo dulce" in northern Mexico. Traditionally, it has been utilized by the Kickapoo Indians to treat and alleviate renal conditions. However, limited information is available regarding its biological potential. Thus, the objectives of this study were: (1) to physicochemically characterize the leaves and branches of *E. texana*, (2) to obtain and characterize extracts from *E. texana* leaves and branches using solvents with varying polarity through conventional agitation, and (3) to assess the antimicrobial and antiproliferative potential of these extracts.

Overall, *E. texana* leaves and branches exhibited high contents of carbohydrates, fats, and proteins. Three extracts from *E. texana* leaves were obtained (aqueous EA-H, hydroalcoholic EHA-H, and ethanolic EE-H), and three from branches (aqueous EA-R, hydroalcoholic EHA-R, and ethanolic EE-R) by means of conventional agitation. Water as a solvent yielded the highest extract yields (EA-H = $56.25 \pm 4.23\%$ and EA-R = $28.27 \pm 1.63\%$). The extracts were characterized based on their total phenol content (TPC), with the highest values observed in EE-H for leaves and EA-R for branches (108.95 ± 23.31 and 85.89 ± 0.08 mg GAE/g extract, respectively).

In terms of antioxidant activity, EE-H and EE-R demonstrated higher radical scavenging activity in ABTS (2,2'-azinobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) and DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assays. The leaf extracts EHA-H and EE-H, as well as the branch extracts EHA-R and EE-R, exhibited the highest ferric reducing power. These results highlight the influence of both the solvent and plant organ used on the extract properties.

The antimicrobial activity of *E. texana* extracts was evaluated *in vitro*, demonstrating promising activity against *Staphylococcus aureus*. The extracts displayed moderate antiproliferative effects and low cytotoxicity, with inhibition rates below 40% in all treatments.

This study presents novel insights into the biological properties of *E. texana*, shedding light on its potential benefits. This knowledge can contribute to the development of effective and economically viable alternatives to address socially significant issues related to this plant.

Keywords: *Eysenhardtia texana*, extracts, bioactive compounds, antioxidant activity, antimicrobial activity, antiproliferative activity

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

El uso de la etnobotánica para el tratamiento de enfermedades ha sido fundamental para el desarrollo del hombre (Pardo de Santayana & Gómez Pellón, 2003). Además de considerarse como patrimonio cultural, la Organización Mundial de la Salud (OMS) fomenta el uso de la medicina tradicional segura y efectiva en la atención primaria desde 1996, lo cual ha dado lugar a programas de conservación de especies medicinales (Morón Rodríguez & Jardines Méndez, 1997).

La búsqueda de compuestos presentes en las plantas vuelve a tomar importancia debido a la disminución de la eficacia de medicamentos sintéticos utilizados para el tratamiento de distintas enfermedades (Petrovska, 2012). Actualmente, en México hay registro de más de 4,000 especies de plantas con propiedades medicinales, de las cuales aproximadamente solo el 5% se han investigado (Loraine & Mendoza-Espinoza, 2010). En el norte de México, especies de zonas áridas y semiáridas han demostrado bioactividad importante gracias a su adaptabilidad al ambiente extremo donde habitan (Guía-García et al., 2021). Especies como *Flourensia cernua*, *Rhus microphylla*, *Myrtillocactus geometrizans*, *Juglans microcarpa* y *Carya ovata*, se han caracterizado por su actividad antimicrobiana, citotóxica, antioxidante y por su alto contenido de fenoles totales, entre otras (Guía-García et al., 2021; Jasso de Rodríguez et al., 2019; Méndez et al., 2012).

Algunas especies del género *Eysenhardtia* han demostrado gran potencial para el uso medicinal y para el control de fitopatógenos. Por ejemplo, el extracto metanólico de *E. platycarpa* ha mostrado actividad antiinflamatoria y citotóxica sobre *Artemia salina* (especie de crustáceo branquiópodo), y extractos metanólicos de *E. polystachya* han presentado actividad fungicida contra *Sclerotium cepivorum* y *Rhizoctonia solani* (BernabéAntonio et al., 2017; Domínguez-Villegas et al., 2013). Sin embargo, los estudios sobre compuestos bioactivos y mecanismos de acción son limitados.

En el caso de *E. texana*, comúnmente conocida en el sur de Estados Unidos de América como el “riñón de Texas” y en el norte de México como “Palo dulce”, ha sido tradicionalmente utilizada por los indios Kikapúes como infusiones de la hoja para tratar distintas afecciones renales. Por otro lado, solo se cuenta con un estudio realizado por

Wäechter et al. (1998) donde se detectaron dos compuestos flavonoides obtenidos de un extracto metanol-diclorometano obtenido de las partes aéreas de la planta.

Considerando la importancia de la búsqueda de nuevos y eficaces fármacos de base natural y las actividades demostradas por plantas de zonas áridas y semiáridas, en el presente proyecto se plantea el estudio del perfil fitoquímico y potencial bioactivo de extractos de hoja y rama de *E. texana* obtenidos mediante agitación convencional utilizando solventes de diferente polaridad, para su posible uso medicinal.

1.2 Justificación

Las infecciones causadas por bacterias representan un desafío de salud global. El uso desmedido de antibióticos para el tratamiento de estas infecciones ha dado lugar a la formación de bacterias resistentes, provocando una disminución de la eficacia de dichos antibióticos y reduciendo opciones de tratamiento.

Por otro lado, el cáncer es la causa principal de mortalidad en todo el mundo. Según reportes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el año 2020, aproximadamente 10 millones de defunciones fueron asociadas a algún tipo de cáncer. En México, el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) menciona que el 9% de las defunciones en el año 2020 se debieron a tumores malignos presentes en tejidos, sistema nervioso, hueso y cartílago. Este tipo de afecciones están relacionadas con el estrés oxidativo generado por la acumulación de moléculas oxidantes como son los radicales libres, los cuales causan daños moleculares a las células.

Los tratamientos utilizados actualmente resultan costosos debido a su limitado acceso, además de ser invasivos debido a que actúan indistintamente sobre células cancerosas y no cancerosas causando efectos secundarios sobre la salud.

Debido a los graves problemas de salud provocadas por estas afecciones se buscan fuentes naturales de compuestos bioactivos de importancia medicinal para la fabricación de nuevos fármacos eficaces, no invasivos y que sean de mayor acceso al público. En este sentido, las plantas de zonas áridas y semiáridas toman relevancia, debido a sus propiedades biológicas interesantes, pues estudios han demostrado que este tipo de plantas poseen capacidad antioxidante, antimicrobiana y antiproliferativa, entre otras.

La presente investigación tiene impacto en los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la Agenda 2030 de la Organización de las Naciones Unidas (ONU), particularmente con el tercer objetivo “Salud y Bienestar”, debido a que se buscan alternativas para el tratamiento de enfermedades que afectan a la salud pública.

En México, dentro de los Programas Nacionales Estratégicos (PRONACES) se relaciona en los programas “Salud” y “Sistemas Socioecológicos y Sustentabilidad”, ya que impulsa la investigación y el desarrollo de medicina tradicional y herbolaria y promueve el uso y aprovechamiento sustentable de los recursos naturales presentes en el país.

Debido a la importancia de los problemas de salud asociados a las infecciones causadas por bacterias y los diferentes tipos de cáncer, en el presente trabajo se plantea el estudio del perfil fitoquímico y potencial bioactivo de extractos de hoja y rama de *E. texana* obtenidos mediante agitación convencional utilizando solventes de diferente polaridad, para su posible uso medicinal.

1.3 Hipótesis

Al menos un extracto de *Eysenhardtia texana* posee actividad antimicrobiana sobre las cepas *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* y actividad antiproliferativa sobre las líneas celulares de cáncer de mama (MDA-MB-231 y MCF7); además de no presentar citotoxicidad sobre la línea celular sana epitelial pigmentaria retiniana (ARPE-19).

1.4 Objetivo general

Realizar la caracterización fisicoquímica de la materia prima de hoja y rama de *E. texana*. Obtener extractos de hoja y rama de *E. texana* mediante técnica de agitación convencional utilizando solventes de diferente polaridad y caracterizar los extractos por su contenido de fenoles totales, actividad antioxidante, potencial antimicrobiano y antiproliferativo.

1.5 Objetivos específicos

- Caracterizar fisicoquímicamente las hojas y ramas de *E. texana*.
- Obtener extractos de hojas y ramas de *E. texana* mediante la técnica de agitación convencional utilizando solventes de diferente polaridad.
- Caracterizar los extractos de *E. texana* en función del contenido de fenoles totales y actividad antioxidante.
- Evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos de *E. texana* sobre patógenos de importancia clínica *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.
- Determinar el efecto antiproliferativo de extractos de *E. texana* sobre las líneas celulares de cáncer de mama (MDA-MB-231 y MCF7) y el efecto citotóxico sobre la línea celular epitelial pigmentaria retiniana (ARPE-19).

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Medicina tradicional

El empleo de las plantas medicinales fue inicialmente de manera instintiva, y con la experiencia, la humanidad consolidó este conocimiento. En la actualidad, vuelve a tomar relevancia el uso de plantas medicinales debido al interés por medicamentos de base natural, así como la disminución de eficacia de los medicamentos sintéticos (Petrovska, 2012).

Según la OMS, en países en desarrollo se estima que el 80% de la población recurren al uso de medicina a base de plantas para la cura de enfermedades frecuentes (PrietoGonzález et al., 2004). Esto debido a sus compuestos bioactivos, los cuales poseen propiedades curativas y nutritivas que son beneficiosas para la salud (Garcia-Oliveira et al., 2021).

El uso de plantas medicinales forma parte importante de la cultura mexicana. En ese contexto, los grupos indígenas del sur del país como los Mayas, Nahuas, Zapotecas y Mixes tienen un amplio conocimiento sobre el tratamiento de afecciones gastrointestinales, dermatológicas, respiratorias y ginecológicas (Heinrich et al., 1998).

En el norte del país, los indios Kikapúes han utilizado plantas nativas para fines curativos y medicinales (Figura 1). Por ejemplo, el uso de la infusión de *Cutleaf brickellia* “prodigiosa” para lavar las llagas y reducir el riesgo de infección. Otro ejemplo, es el uso de *Agave americana* “maguey”, la pulpa se calienta en plancha y se aplica en los pies para eliminar el dolor por cansancio y/o el uso de *Carya illinoensis* “nogal” con el cual se realiza una cocción de las cáscaras para el remedio de hepatitis y espesamiento de sangre (Latorre et al., 1977).



Figura 1. Jefe de los indios Kikapúes.

Fuente: Etnias del mundo (2023).

2.2 Plantas medicinales de uso tradicional en zonas áridas y semiáridas de México

En México, el 63% de la extensión territorial (aproximadamente 128 millones de hectáreas) presentan algún nivel de aridez (Figura 2). Estas zonas se distinguen por su mínima y esporádica precipitación pluvial, por sus temperaturas extremas (-10 °C a más de 45 °C), contenido de salinidad, entre otros factores abióticos (Andrade-Bustamante et al., 2017; Arámbula, 2005; Díaz-Padilla et al., 2011). Estas características impulsan a las plantas nativas al desarrollo de compuestos interesantes debido a su especialización biológica (Andrade-Bustamante et al., 2017; Castillo et al., 2010).

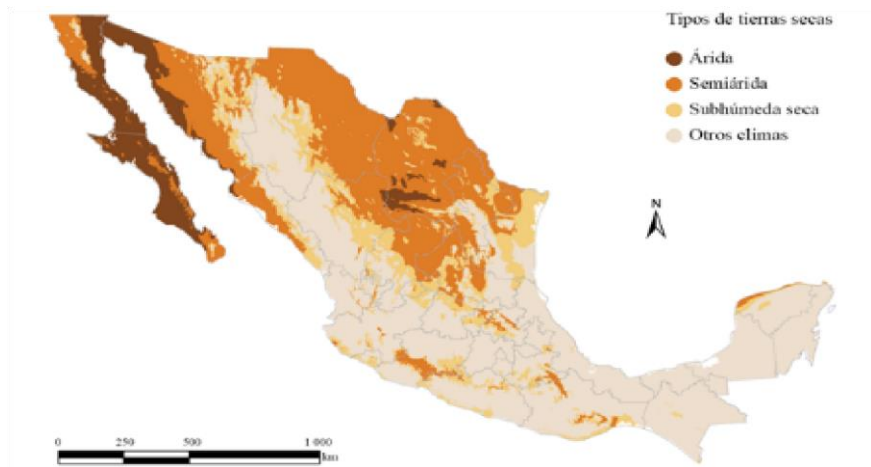


Figura 2. Distribución de zonas áridas y semiáridas de México.

Fuente: (Díaz-Padilla et al., 2011)

Las plantas nativas de zonas áridas y semiáridas de México han demostrado propiedades biológicas medicinales de importancia (Cuadro 1). Entre ellas destacan: *Flourensia cernua*, de la cual estudios de extractos de sus hojas y ramas han demostrado capacidades antioxidantes, antiinflamatorias y apoptóticas (Jasso de Rodríguez, CarrilloLomelí, et al., 2017), además de actividad antifúngica (Castillo et al., 2010).

Cuadro 1. Ejemplos de plantas nativas de zonas áridas y semiáridas y su distribución geográfica en México.

Planta	Distribución geográfica	Ilustración
<i>Flourensia cernua</i> (Hojasén)	Norteamérica, Desierto chihuahuense y estados de Coahuila, Durango, San Luis Potosí y Zacatecas	
<i>Rhus microphylla</i> (Agrillo)	Sudoeste de los Estados Unidos de América y Centro y Norte de México.	
<i>Myrtillocactus geometrizans</i> (Garambullo)	Norte, Centro y Sur de México.	
<i>Juglans microcarpa</i> (Nogal)	Norte de México y Sur de Estados Unidos de América.	
<i>Carya ovata</i> (Nogalillo americano)	Canadá, Estados Unidos de América y Norte de México.	

Fuente: (Castillo et al., 2010; Guia-García et al., 2021; Jasso de Rodríguez et al., 2019; Jasso de Rodríguez, Carrillo-Lomelí, et al., 2017).

Otros ejemplos son: *Rhus microphylla* y *Myrtillocactus geometrizans*, en las cuales se ha reportado alto contenido de fenoles totales y actividades antiproliferativa y antifúngica (Guia-García et al., 2021). En el caso de *Juglans* spp. y *Carya ovata*, en el primer reporte científico sobre sus extractos etanólicos de hojas y ramas, se ha demostrado su actividad antifúngica sobre *Fusarium oxysporum* (hongo de importancia comercial) en tomate en condiciones de invernadero (Jasso de Rodríguez et al., 2019).

2.3 Compuestos bioactivos

Los compuestos bioactivos (CBs) presentes en las plantas, también llamados metabolitos secundarios, poseen capacidad farmacológica o toxicológica en especies humanas y animales (Ávalos García & Pérez Urria, 2009). Los CBs son productos de vías secundarias bioquímicas en las células de las plantas y no son indispensables para su funcionamiento diario (Adlercreutz, 2010). Se caracterizan por su bajo peso molecular y actúan como inmunomoduladores; entre los principales grupos de CBs se encuentran: compuestos fenólicos, terpenos y compuestos que contienen nitrógeno (Parbat et al., 2021). A estos grupos de compuestos se les atribuye propiedades antioxidantes, citotóxicas, antiinflamatorias, antimicrobianas, entre otros (Guía-García et al. 2021). Estas características han sido aprovechadas para obtener preparaciones curativas como aceites, píldoras, ungüentos e infusiones (Almajano et al., 2008; Prieto-González et al., 2004; Romano & Hazekamp, 2013).

La importancia comercial de estos biocompuestos ha dado lugar al desarrollo de nuevas técnicas de extracción para su uso, ya sea como compuestos puros o extractos crudos (Wijngaard et al., 2012). Existen métodos de extracción convencionales (ej., extracción Soxhlet, maceración e hidrodestilación) y no convencionales (ej., extracción asistida por ultrasonido, extracción óhmica, extracción por fluidos supercríticos). El uso depende, primordialmente, de la química de los CBs, su disponibilidad, naturaleza y su potencial aplicación (Guía-García et al., 2022; Azmir et al., 2013).

Estudios sobre diferentes extractos a base de plantas de zonas áridas y semiáridas han demostrado la relación de diferentes tipos de extractos de plantas, los CBs que poseen y la bioactividad que se les adjudica. En el Cuadro 2 se presentan algunos ejemplos de CBs de extractos de plantas nativas de zonas áridas y semiáridas y su actividad biológica.

Cuadro 2. Extractos de plantas nativas de zonas áridas y semiáridas y sus compuestos bioactivos asociados a actividades biológicas.

Tipo de Extracto/ Planta	Compuestos Bioactivos	Actividad Biológica	Referencia
Extracto etanólico del tallo de <i>Opuntia</i>	Flavonoides	Citotoxicidad y actividad antioxidante	(Kaur et al., 2012)
Extracto crudo de semillas de <i>Lupinus mexicanus</i>	Alcaloides	Acción antifúngica	(Zamora-Natera, 2008)
Extracto etanólico de hojas de <i>Larrea tridentata</i>	Terpenos, polifenoles	Inhibición de crecimiento bacteriano	(Méndez et al., 2012)
Extractos etanólicos e hidroalcohólicos de hojas de <i>Agave americano</i>	Flavonoides, esteroides y fenoles	Propiedades antiinflamatorias antiedematosas	(López-Romero et al., 2018)

Las interesantes actividades biológicas mencionadas y la limitada información sobre las especies vegetales con uso medicinal presentes en México han dado lugar a su investigación. Tal es el caso de *E. texana*, la cual se describe a continuación.

2.4 *Eysenhardtia texana*

Estudios han demostrado que la familia *Eysenhardtia* posee gran cantidad de metabolitos secundarios, además de ser agentes potenciales en el tratamiento de malestares, enfermedades urinarias y metabólicas; también se han reportado sus actividades antimicrobianas y antiproliferativas (García-Campoy et al., 2020).

En el caso de *E. texana*, los indios Kikapúes han utilizado esta planta para la preparación de infusiones hechas de hojas para tratar y aliviar afecciones renales (Figura 3) (Latorre et al., 1977). Sin embargo, no se cuenta con información detallada del uso medicinal de *E. texana*. A la fecha, solo se ha reportado un estudio sobre la actividad inhibitoria de un extracto metanol-diclorometano obtenido de las partes aéreas sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* (Wächter et al., 1999).



Figura 3. Elaboración de té y alimento para aliviar afecciones.

Fuente: Etnias del mundo (2023).

2.5 Características morfológicas

E. texana es una especie nativa del sur-centro del estado de Texas y norte de México, también conocida como el “riñón de Texas” y en el norte de México conocida como “Palo dulce” (Sargent, 1892; Texas A & M University, 2018). Es un arbusto con ramificaciones de 1 a 3 m de altura, que posee espigas de flores blancas pequeñas de 7 cm, las cuales son fragantes, al igual que las hojas, las cuales poseen glándulas (Figura 4) (Sargent, 1892; Wächter et al., 1999).

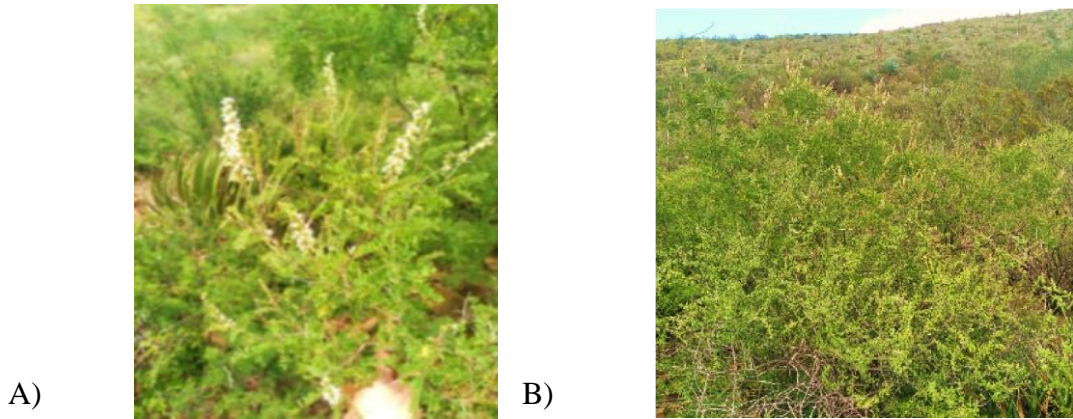


Figura 4. Arbusto de *E. texana*: (A) órganos aéreos y (B) ejemplar completo.

2.6 Distribución geográfica

La presencia de *E. texana* se extiende desde la zona centro-sur de Texas al noreste de México, teniendo mayor presencia en los estados de Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas y áreas orientales del desierto de Chihuahua (Figura 5). Se distribuye hacia el sur, exceptuando las zonas costeras del Golfo de México hasta el norte de San Luis Potosí (Sargent, 1892).

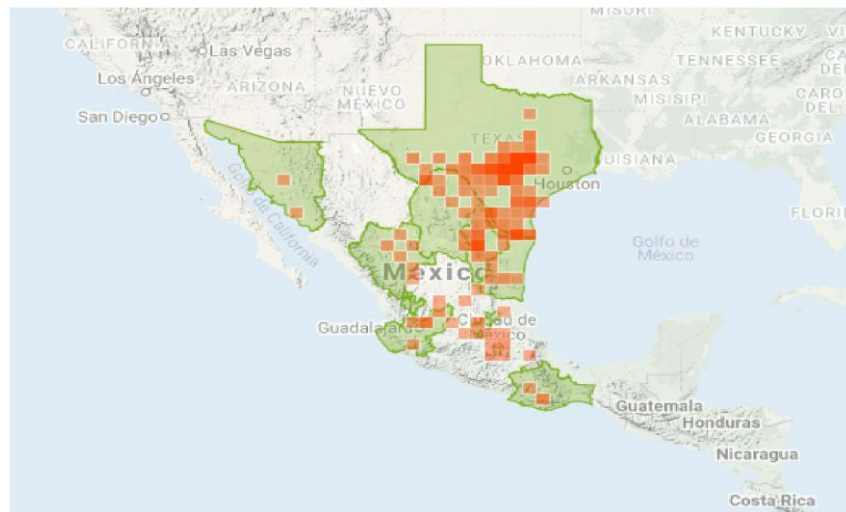


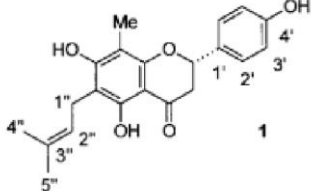
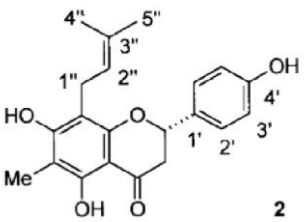
Figura 5. Distribución geográfica de *E. texana*

Fuente: Naturalista (2023).

2.7 Composición química

Existe limitada información sobre la composición química de *E. texana*. Actualmente, solo se ha reportado la composición de un extracto metanol-diclorometano obtenido de las partes aéreas de la planta, el cual se resume en el Cuadro 3 (Wächter et al., 1999).

Cuadro 3. Compuestos reportados en un extracto metanol-diclorometano de partes aéreas de *E. texana*.

Compuesto	Estructura
4,5,7-Trihidroxi-8-metil-6-(3-metil-[2butenil])-(2S)flavanona (1)	
4,5,7-Trihidroxi-8-metil-6-(3-metil-[2butenil])-(2S)flavanona (2)	

Adaptado de Wächter et al. (1999).

Considerando la gran biodiversidad de plantas que México posee, en específico aquellas de las zonas áridas y semiáridas, es importante investigar nuevas fuentes de compuestos bioactivos de plantas de uso medicinal tradicional. En el presente proyecto, se tiene como objetivo la caracterización de extractos de rama y hoja de *E. texana* obtenidos mediante agitación convencional utilizando solventes de diferente polaridad, así como el estudio de su perfil fitoquímico y potencial bioactivo en términos de actividades antioxidante, antimicrobiana y antiproliferativa.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Fermentaciones y Biomoléculas del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos (DCTA) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), en Saltillo, Coahuila y en los laboratorios de Productos Naturales y Microbiología de la Universidad de Sonora (UNISON) en Caborca, Sonora, México. La experimentación de este trabajo consta de tres etapas: I) Obtención de extractos de hoja y rama de *E. texana* mediante la técnica de agitación convencional utilizando solventes de diferente polaridad; II) Caracterización de extractos de *E. texana* en función de contenido de fenoles totales y actividad antioxidante; y III) Evaluación de la bioactividad *in vitro* de los extractos de *E. texana*.

Etapa I. Obtención de extractos de hoja y rama de *E. texana* mediante la técnica de agitación convencional utilizando solventes de diferente polaridad

3.1 Reactivos

Todos los reactivos utilizados en esta investigación son de grado analítico. Los reactivos utilizados fueron diluidos en agua y etanol absoluto 99.9% en la mayoría de las pruebas. En la Etapa I los solventes utilizados fueron agua, etanol; para la determinación de proteína se utilizó la mezcla digestora ácido bórico 2.2% (v/v) e indicador mixto de Fermont (México) y ácido sulfúrico marca Jalmek (México). En la determinación de grasas se utilizó hexano Jalmek (México). En la Etapa II, se utilizó el reactivo Folin-Ciocalteu (FC) (Merk, Suiza), carbonato de sodio y ácido gálico de Sigma (Japón). Para la determinación de actividad antioxidante se utilizó DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), Na₂CO₃ (carbonato de sodio), ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) marca Sigma (Japón) persulfato de potasio (K₂S₂O₈), FRAP (poder de reducción antioxidante del ión férrico), buffer de acetato, TPTZ (2,4,6-Tririridil-S-Triazina), HCl y cloruro férrico. En la Etapa III se utilizó caldo Mueller-Hinton (MHB) marca Difco (EUA.), MTT, medio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), Formazán (1-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-3,5difenilformazan, Formazán azul de tiazolil) marca Sigma (Japón), Cloruro de Sodio (NaCl), Fermont (México), DMSO (dimetilsulfóxido) Sigma Aldrich (EUA), éster fenético del ácido cafeico.

3.2 Obtención de materia prima

La recolección de hojas y ramas de la planta de alo dulce se llevó a cabo en el mes de agosto de 2021, ubicado a $25^{\circ}32'21.0''N$ $101^{\circ}01'04.0''W$ en terrenos del municipio de Congreso Cañada Ancha, en Coahuila, México (Figura 6).



Figura 6. Ubicación geográfica del muestreo de *E. texana*.

Las hojas y ramas fueron recolectadas y transportadas al Laboratorio de Fermentaciones y Biomoléculas del DCTA de la UAAAN, donde se separó la hoja de la rama, se lavó con agua destilada y se secó a temperatura ambiente hasta peso constante. Posteriormente, las hojas y ramas fueron trituradas a velocidad baja en una licuadora marca Osterizer (USA). Se realizó tamizaje a través de malla no. 20 y fueron almacenados a temperatura ambiente en condiciones de obscuridad hasta su uso (Figura 7).

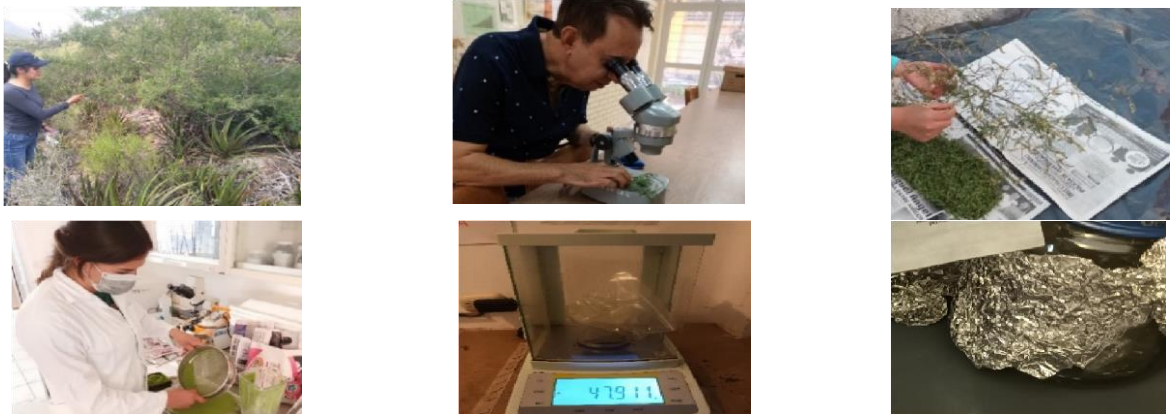


Figura 7. A) Recolección *E. texana*, B) Identificación por microscopio, C) Separación, limpieza y secado de hoja y rama, D) Trituración y tamizaje, y G) Peso y almacenaje.

3.2.1 Caracterización fisicoquímica de materia prima

La caracterización bromatológica de hojas y ramas de *E. texana* se realizó mediante las metodologías recomendadas por el Método Oficial de Análisis (AOAC, 1990). La humedad se determinó por gravimetría en una estufa a 60°C. El contenido de cenizas se evaluó por incineración en una mufla a 550°C. La determinación de grasas se realizó por gravimetría mediante el método de Soxhlet y el nivel de proteína cruda por el método microKjendahl con un factor de conversión de 6.25 (Figura 8). Todas las pruebas se realizaron por triplicado.

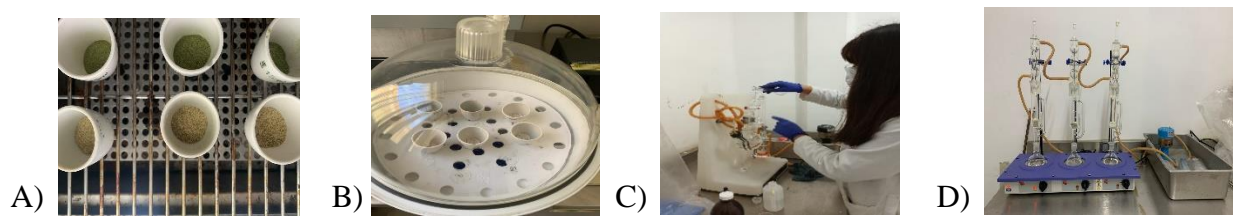


Figura 8. A) Humedad, B) Ceniza, C) Proteína, D) Grasas.

3.3 Producción de extractos de *Eysenhardtia texana*

Para la preparación de extractos, se siguió la metodología empleada por Jasso de Rodríguez et al. (2017) con algunas adaptaciones. Se pesaron 5.7 g de cada muestra y se colocaron en matraces cubiertos con aluminio a los cuales se añadieron 62.5 mL del respectivo solvente: (1) EA-acuoso (100% agua destilada), (2) EHA-hidroalcohólico (agua: etanol 1:1, v/v) y (3) EE-etanólico (100% etanol absoluto). Se cubrió la boca de cada matraz con parafilm y aluminio. Las mezclas se agitaron mecánicamente en un shaker marca New Brunswick Scientific (EU) durante 22 h a 150 rpm a temperatura ambiente. Después de las 22 h, se llevó a cabo la filtración de dichos extractos con la bomba de vacío Biobase (China) y embudo Büchner de 90 mm (Figura 9). Posteriormente, las mezclas acuosas (EA) e hidroalcohólicas (EHA) fueron concentradas por liofilización como se describe en la Sección 3.3.1 y la mezcla etanólica (EE) fue concentrado por evaporador rotatorio IKA RV 10 (China), como se describe en la Sección 3.3.2.

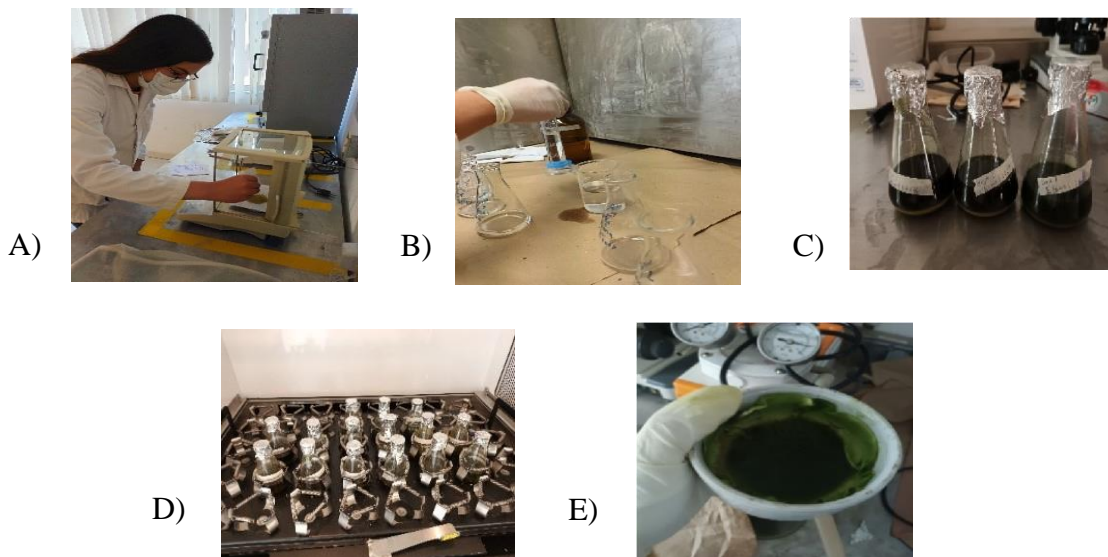


Figura 9. A) Peso de muestra, B) Incorporación de solventes, C) Recubrimiento con aluminio, D) Agitación, E) Filtración.

3.3.1 Concentración de extractos acuosos e hidroalcohólicos por medio de liofilización

Las mezclas acuosas e hidroalcohólicas se vertieron en tubos Falcon de 45 mL, se cubrieron con parafilm y fueron trasladados al Laboratorio de Horticultura de la UAAAN donde llevaron a ultracongelación a una temperatura de -80°C en un ultracongelador (Labconco, USA); posteriormente, fueron llevadas a liofilización a -55°C con una presión de 0.133 mbar (Labconco, USA). Después, los extractos se almacenaron bajo condiciones de oscuridad a temperatura ambiente hasta su uso y se midió el rendimiento expresándose en porcentaje (%), para luego ser almacenados hasta su posterior uso.

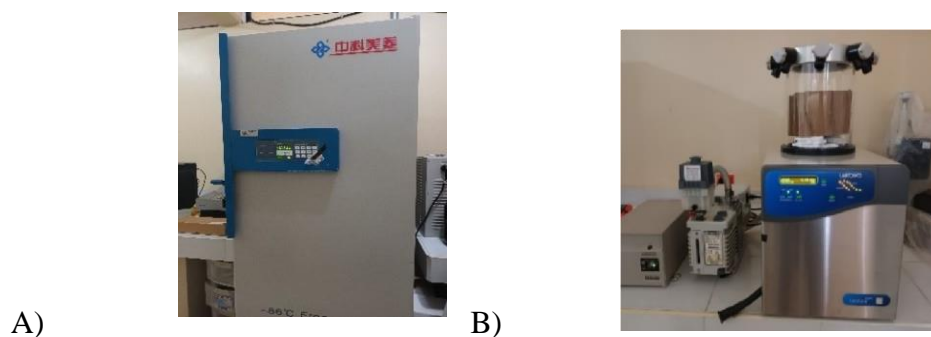


Figura 10. A) Ultracongelación y B) Liofilización.

3.3.2 Concentración de extractos etanólicos por medio de evaporador rotatorio

Las mezclas etanólicas se llevaron a un evaporador rotatorio (IKA RV 10, China) para su concentración. La temperatura empleada para la mezcla etanólica fue de 78°C. Al término del proceso se obtuvo una resina, la cual fue vertida en una placa Petri de vidrio para eliminar el solvente residual a 35°C durante 24 h en un horno de secado. Posteriormente, se determinó el rendimiento (porcentaje, %) y se almacenaron bajo oscuridad a temperatura ambiente hasta su uso (Figura 11). Las extracciones se realizaron por triplicado.

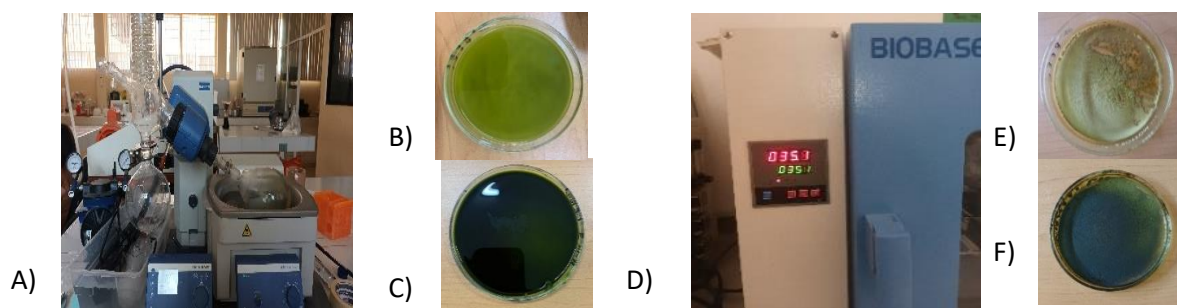


Figura 11. A) Concentrado por arrastre de vapor, B) Concentrado de rama, C) Concentrado de hoja, D) Secado, E) Resina obtenida de rama y F) Resina obtenida de hoja.

Para su caracterización, los extractos obtenidos fueron identificados de la siguiente manera: EA-H, EHA-H y EE-H para hojas (H) y EA-R, EHA-R y EE-R para ramas (R).

Etapla II. Caracterización de extractos de *E. texana* en función de contenido de fenoles totales y actividad antioxidante

3.4 Contenido fenólico total (CFT)

El CFT se determinó mediante el método de FC adaptado a microplaca de Müller et al. (2010). Se pesaron 20 mg de cada extracto de *E. texana* y se disolvieron bajo agitación hasta completa homogenización en 5 mL del respectivo solvente. Después, se tomaron 20 μ L de cada solución obtenida y se mezclaron con 100 μ L de una solución diluida del reactivo de FC (1:10, v/v en agua destilada) en una microplaca de 96 pocillos, la cual se agitó suavemente y se dejó reaccionar por 5 min. En cada muestra se añadieron 75 μ L de Na₂CO₃ (7.5 %, p/v en agua destilada), y se agitó suavemente por 30 min bajo condiciones de oscuridad. Posteriormente, se leyó la absorbancia a 750 nm en un lector de microplacas (BIOBASE-EL

10A, Jinan, SHG, China) y se registraron las absorbancias. Los datos se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto (mg EAG/g extracto), comparando los resultados con una curva de calibración de ácido gálico (Figura 12). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

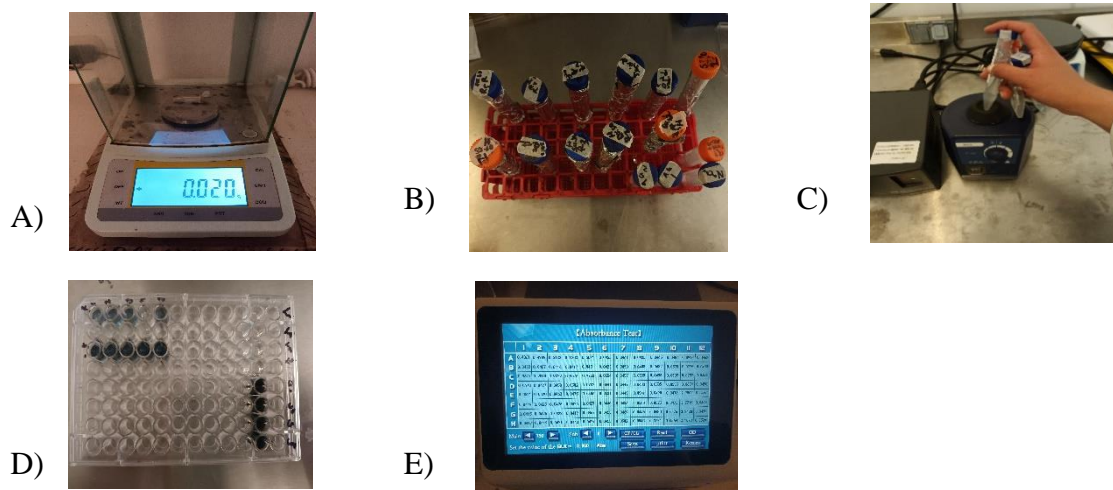


Figura 12. A) Peso de muestra, B) Dilución de muestra con solventes, C) Agitación hasta homogenización, D) Reacción en microplaca y E) Lectura por microplaca y registro de absorbancias.

3.5 Actividad antioxidante

3.5.1 Actividad antioxidante por el método de DPPH

La capacidad de captura de radicales libres de los extractos se determinó mediante el ensayo DPPH adaptado de Charles-Rodríguez et al. (2020). Se pesaron 20 mg de todas las muestras y fueron disueltos en su respectivo solvente de extracción, y se realizaron diluciones en el rango de 50, 100, 250, 500, 750 y 1000 mg/L. Se tomaron 25 μ L de cada muestra diluida y se mezclaron con 200 μ L de solución de DPPH (150 μ M, disueltos en etanol absoluto) en una microplaca de 96 pocillos. La reacción se incubó en condiciones de oscuridad a temperatura ambiente durante 30 min. La absorbancia se midió a 520 nm en un lector de microplacas completamente automático (BIOBASE-EL 10A, Jinan, SHG, China), utilizando etanol absoluto como control. Los resultados se expresaron como porcentaje de actividad

depuradora de radicales DPPH (% RSA, por sus siglas en inglés), determinada mediante la siguiente ecuación:

$$RSA(\%) = \frac{(A_{control} - A_{muestra})}{A_{control}} \times 100 \quad \text{Ec. 1}$$

donde $A_{control}$ = absorbancia del control y $A_{muestra}$ = absorbancia de la muestra. La actividad antioxidante se expresó como CI_{50} (concentración del extracto que causa el 50% de RSA). Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

3.5.2 Actividad antioxidante por el método de ABTS

La actividad antioxidante por el método de ABTS se realizó mediante la metodología adaptada de Guia-García et al. (2021). La solución de ABTS se preparó a una concentración de 7 mM en agua destilada y se mezcló con una solución de persulfato de potasio (2.45 mM); la mezcla se mantuvo a 4°C durante 14-16 h en condiciones de oscuridad. La solución se ajustó con etanol absoluto al 20% (v/v) a una absorbancia de $0.700 \pm 0,010$ a 750 nm. Posteriormente, se agregaron 10 μ L de cada muestra diluidas a una microplaca de 96 pocillos y se mezclaron con 200 μ L de la solución ABTS, las mezclas se mantuvieron durante 10 min en condiciones de oscuridad y luego se midió la absorbancia a 750 nm. El control utilizado fue el solvente de cada extracto. Los resultados se calcularon usando la ecuación descrita para el ensayo DPPH (Ec. 1). Todos los experimentos se llevaron a cabo por triplicado.

3.5.3 Actividad antioxidante por el método de FRAP

La capacidad reductora férrica se evaluó según la metodología adaptada a microplaca descrita por Garcia-Oliveira et al. (2021). El reactivo FRAP de trabajo se preparó haciendo reaccionar buffer de acetato 300 mM (pH 3,6) con TPTZ 40 mM (disuelto en HCl 40 mM) y cloruro férrico acuoso 20 mM (10:1). En una microplaca de 96 pocillos se adicionaron 10 μ L de cada muestra más 290 μ L de reactivo FRAP. La reacción se dejó incubar a 37 °C por 30 min bajo condiciones de oscuridad. Se realizaron las lecturas de absorbancia a 630 nm en un lector de microplaca (Thermo Scientific, China) (Figura 13). Las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado.

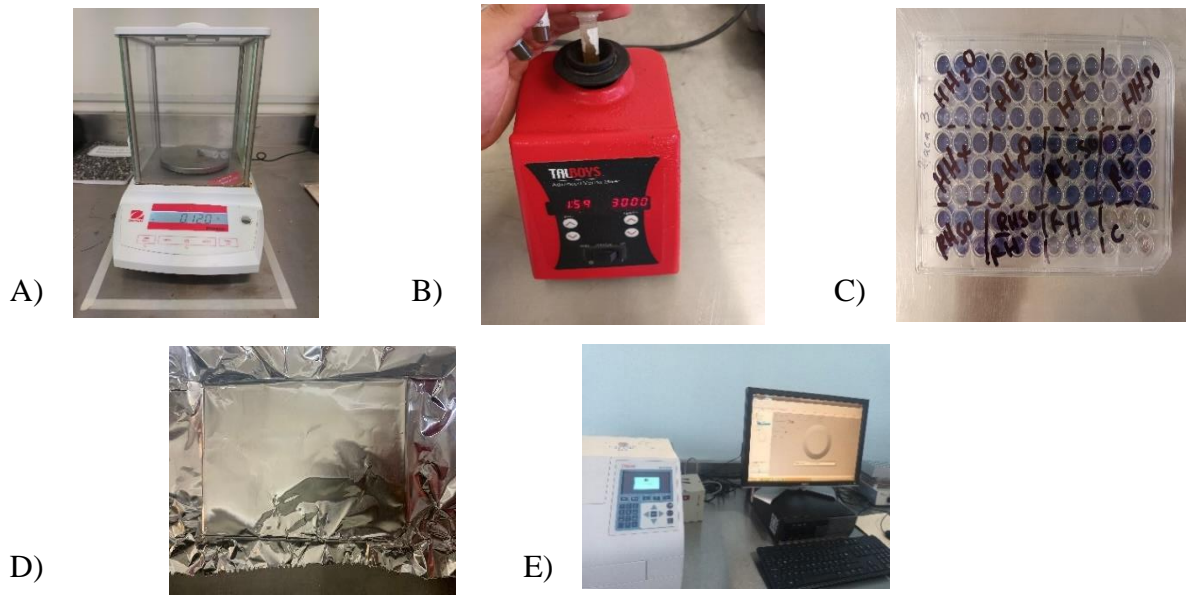


Figura 13. A) Preparación de los extractos, B) Agitación de la dilución, C) Reacción en microplaca, D) Reacción bajo oscuridad, D) Lectura por microplaca y registro de absorbancias.

Etapas III. Evaluación de la bioactividad *in vitro* de los extractos de *E. texana*

3.6. Actividad antimicrobiana

3.6.1 Concentración mínima inhibitoria (CMI)

Los microorganismos utilizados en esta investigación fueron *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Escherichia coli* (ATCC 25922) adquiridos en la American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, USA), pertenecientes al Laboratorio de Microbiología de la Universidad de Sonora. La metodología de este ensayo fue adaptada de López-Romero et al. (2018). Las cepas bacterianas fueron sembradas en agar MH por 16-18 h antes de su uso. Posteriormente, se tomó biomasa bacteriana y se introdujo en solución salina estéril (0.85%, p/v) con la finalidad de obtener el inóculo de trabajo. Éste fue ajustado a una lectura de 0.09 a 0.10 a una absorbancia de 620 nm, lo cual representa una concentración de 0.5 en escala McFarland (1.5×10^8 células bacterianas/mL). Se realizaron diluciones seriadas de los extractos en caldo MHB para obtener las concentraciones del ensayo que fueron de 10 a 1 mg/mL. En la prueba se utilizaron tres controles, que se describen a continuación: 1) DMSO

(inferior al 2% por pozo en función del volumen), 2) gentamicina (12 µg/mL) y 3) caldo MH estéril. Para la determinación de la actividad antimicrobiana se tomaron 200 µL de cada una de las concentraciones de cada tratamiento y se colocaron en microplacas de 96 pocillos. Posteriormente, se realizó la inoculación de cada una de las cepas de manera independiente en cada uno de los pozos (15 µL) y se determinaron las lecturas de absorbancia del tiempo 0 en el lector de microplacas a longitud de onda 620 nm (Thermo Scientific, China). Posteriormente, las microplacas inoculadas fueron incubadas por 24 h a temperatura 37°C y se tomaron lecturas nuevamente a longitud de onda 620 nm (Figura 14). La CMI₉₀ se determinó utilizando la Ec. 2. La prueba se realizó por triplicado.

$$MIC_{90} = \frac{(OD_{620nm} \text{ untreated bacteria} - OD_{620nm} \text{ treatment})}{(OD_{620nm} \text{ untreated bacteria})} \times 100 \geq 90\% \quad \text{Ec. 2}$$



Figura 14. A) Montaje de prueba antimicrobiana por medio de determinación de concentración mínima inhibitoria.

3.6.2 Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Para la determinación de la CMB se tomaron muestras de pocillos que no presentaron turbidez en la prueba determinación de CMI. Se tomaron 10 µL de cada pozo y se sembraron en cajas de Petri que contenían agar cuenta en placa, las cuales fueron incubadas a 37°C por 24 h. Posteriormente, se realizó la lectura de las placas de Petri inoculadas. La concentración más baja que presentó ausencia de crecimiento fue considerada como la CMB.

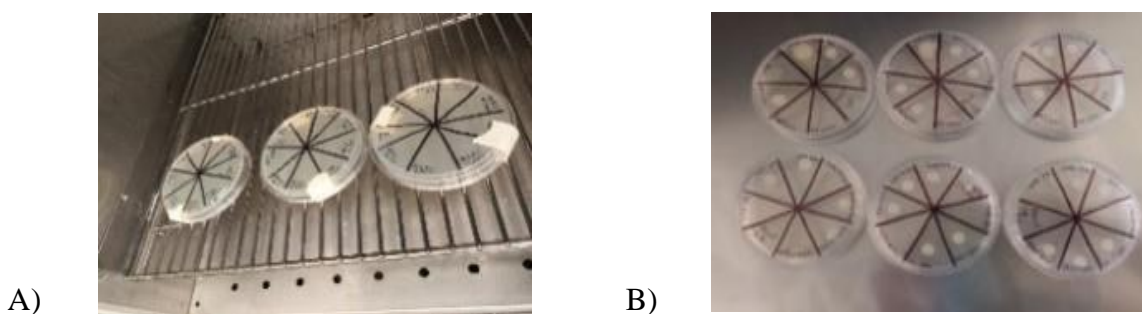


Figura 15. Siembra en cajas Petri para la determinación mínima bactericida

3.7 Actividad antiproliferativa

La actividad antiproliferativa se determinó mediante el ensayo MTT adaptada de López-Romero et al. (2018). Las líneas celulares utilizadas fueron MCF-7 (cáncer de mama), MDA-MB-231 (cáncer de mama) y la línea celular sana ARPE-19 (epitelio pigmentario de la retina), las cuales fueron obtenidas de la American Type Culture Collection. Éstas fueron cultivadas en medio DMEM suplementado con 5% de suero fetal bovino. En cada pozo de una microplaca de 96 pozos se agregaron 50 μL del cultivo celular (1×10^4 células), el cual fue incubado por 24 h a 37°C en atmósfera de 5% de CO_2 . Posteriormente, a cada pozo se agregaron 50 μL los extractos evaluados (disueltos en medio DMEM a concentraciones de 200, 100, 50, 25 y 12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y fueron incubados por 48 h. Es importante mencionar que, en las diluciones, la concentración de DMSO utilizada no excedió el 0.5%. Posteriormente, se añadió MTT (5 mg/mL) y se incubó durante 4 h. Los cristales de formazán obtenidos fueron resuspendidos en isopropanol y se realizaron lecturas a 570 y 630 nm en el lector de microplacas. Los resultados obtenidos se presentaron como valores CI_{50} . Se utilizó éster fenético del ácido cafeico como control positivo de la actividad antiproliferativa. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

3.8 Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos de la caracterización bromatológica de rama y hoja de *E. texana*, el perfil fitoquímico y actividad antioxidante fueron analizados mediante el análisis de varianza (ANOVA) utilizando el software FAUANL (Olivares, 1994). Se realizó la comparación de medias mediante el método de Tukey y diferencias entre tratamientos de $p < 0.05$ se consideraron significantes.

El análisis de regresión lineal en el software Microsoft Excel se aplicó para determinar la concentración requerida del extracto de *E. texana* para reducir el 50% para la actividad citotóxica y antiproliferativa.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Etapa I. Obtención de extractos de hoja y rama de *E. texana* mediante la técnica de agitación convencional utilizando solventes de diferente polaridad

4.1 Caracterización fisicoquímica de materia prima

En el Cuadro 4 se presentan los resultados de la caracterización fisicoquímica de hoja y rama de *E. texana*. La humedad obtenida de hoja y rama fue relativamente baja (0.290.31%) y no presentaron diferencias significativas entre muestras. Estos valores pueden relacionarse al proceso de obtención, pues previamente se realizó un secado similar a lo reportado por Dionicio Concepción (2020), en el cual la humedad de la hoja de *R. microphylla* presentó un valor de 2.2 ± 0.9 .

Cuadro 4. Análisis fisicoquímico de hoja y rama de *E. texana*

Parámetros evaluados	Hoja (% peso seco)	Rama (% peso seco)
Humedad (%)	0.29 ± 0.03^a	0.31 ± 0.02^a
Proteína (%)	12.73 ± 0.81^a	6.46 ± 0.36^b
Grasa (%)	20.20 ± 1.78^a	1.60 ± 0.20^b
Ceniza (%)	5.31 ± 0.21^a	5.92 ± 0.39^a
Carbohidratos totales (%)	61.47 ± 2.83^b	85.71 ± 0.97^a

Valor promedio \pm desviación estándar (n = 3); los valores de la misma columna seguidos por letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

El contenido de proteína de la hoja de *E. texana* fue de $12.73 \pm 0.8\%$ acercándose a lo reportado por Forbes (1992) para *E. polystachya*, con un valor de 17.20%; mientras que, la proteína obtenida de la rama de *E. texana* fue $6.46 \pm 0.36\%$ teniendo una diferencia de casi el doble. Esta característica es esperada, ya que en los tejidos de las hojas de las plantas hay mayor presencia de proteínas involucradas en los mecanismos de defensa, las cuales les pueden conferir resistencia, protección y capacidad antifúngica al tejido (Blanco-Labra, 2002; Sepúlveda-Jiménez et al., 2003).

Es interesante el alto contenido de grasas detectado en las hojas, con un valor de $20.20 \pm 1.78\%$, debido a que las hojas se caracterizan por la presencia de grasas insaturadas, éstas forman parte importante de la membrana de la célula, en el almacenamiento de energía e influyendo en su permeabilidad. El contenido de grasas obtenidas en las hojas de *E. texana*

podría representar una fuente vegetal novedosa para la elaboración de aceites, plastificantes o lubricantes (Sustaita-Rodríguez, 2019; Hulbert, 2021; Herrera Coronado et al., 2006). Por otra parte, las ramas presentaron un valor significativamente menor de grasas ($1.60 \pm 0.20\%$) que hojas, comparable al de otras plantas que comparten hábitat con *E. texana*, como los estudios proximales de las hojas de *Agave lechuguilla* de 0.36% y del cladodio de *Opuntia ficus indica* con valores de 0.11% (Guzmán Loayza et al., 2007; Jiménez Muñoz et al., 2016).

En cuanto al contenido de ceniza, tanto hojas y ramas de *E. texana* presentaron valores similares (5.31-5.92%), semejante a lo reportado para *E. polystachya* con un valor de 7.17% en ceniza de la hoja (Forbes, 1992). El contenido de cenizas en las plantas de las zonas áridas y semiáridas está posiblemente asociado con la capacidad de retención de minerales. Además, se considera que la acumulación de estas sales minerales forma parte del método de defensa de la planta (Andrade-Bustamante et al., 2017; Barroso et al., 2005).

En el caso de los carbohidratos totales, las hojas presentaron un valor de $61.47 \pm 2.83\%$ y las ramas de $85.71 \pm 0.97\%$, demostrando ser estadísticamente diferentes. Estudios de plantas de zonas áridas y semiáridas han mostrado alto contenido de carbohidratos como la hoja de *R. microphylla* con un valor de 78.1% reportado por Dionicio Concepción (2020). De acuerdo con Centina-Alcalá et al. (2001), el alto contenido de carbohidratos es importante para la realización de la fotosíntesis mayormente realizado en las hojas y la reserva de energía en el tallo de planta, siendo de gran utilidad esta reserva energética en temporada de sequía para la sobrevivencia de las plantas.

La interesante composición detectada en las hojas y ramas de *E. texana* es un indicativo del potencial de la planta para el aprovechamiento en la elaboración de diferentes productos de base natural. Cabe señalar que este es el primer estudio que presenta la caracterización de hojas y ramas de *E. texana*, el cual puede tomarse como antecedente para su futura investigación y aplicación.

4.2 Producción de extractos de *Eysenhardtia texana*

Los rendimientos de los extractos obtenidos a partir de hoja y rama de *E. texana* se presentan en el Cuadro 5. Para la concentración de los extractos se realizaron dos metodologías, considerando las propiedades de los solventes: los extractos obtenidos por

liofilización fueron acuosos e hidroalcohólicos y por evaporador rotatorio los extractos etanólicos.

Cuadro 5. Rendimiento (%) de extractos de hoja y rama de *E. texana*.

	Extracto	Rendimiento
Hoja	EA-H	56.25 ± 4.23 ^{Aa}
	EHA-H	34.35 ± 2.64 ^{Ab}
	EE-H	24.27 ± 2.11 ^{Ac}
Rama	EA-R	28.27 ± 1.63 ^{Ba}
	EHA-R	16.20 ± 1.33 ^{Bb}
	EE-R	14.31 ± 3.62 ^{Bb}

Valor promedio ± desviación estándar (n = 3); los valores seguidos por letras minúsculas (a-c) entre grupo son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$); los valores seguidos por letras mayúsculas (A-B) comparan el mismo solvente con diferente órgano de la planta. H: Hoja; R: Rama; EA: extracto acuoso; EHA: extracto hidroalcohólico; EE: extracto etanólico.

Los análisis de varianza mostraron diferencia significativa en los rendimientos de los extractos en relación con los solventes exceptuando los extractos hidroalcohólicos y etanólicos de la rama de *E. texana*. Los porcentajes de rendimiento tanto en hoja y en rama se comportaron en orden de mayor a menor de la manera siguiente: EA>EHA>EE.

Los resultados obtenidos se comportaron de manera similar a lo reportado por Soto García & Rosales-Castro et al. (2016) en el estudio realizado para la corteza de *Quercus sideroxylla* mostrando mayor rendimiento en extractos hidroalcohólicos 50:50 con un valor de 24.95% notándose una disminución de rendimiento en los extractos que contenían mayor concentración de etanol (agua 20:80 etanol) con un valor de 19.15%.

De acuerdo con Dirar et al. (2019), los solventes de extracción y los CBs presentes en la mezcla influyen en el porcentaje de rendimientos de plantas de uso medicinal; además, los rendimientos altos mostrados por los extractos acuosos se podrían asociar a la solubilidad de carbohidratos polares y glucósidos de los metabolitos secundarios presentes, los que es diferente en extractos hidroalcohólicos y etanólicos, los cuales han presentado mayor solubilidad de compuestos fenólicos y otros compuestos solubles en alcoholes.

Etapa II. Caracterización de extractos de *E. texana* en función de contenido de fenoles totales y actividad antioxidante

4.3 contenido de fenoles totales y actividad antioxidante

En el Cuadro 6 se muestran las propiedades antioxidantes de extractos de hoja y rama de *E. texana* obtenidos con diferentes solventes, en los cuales se determinó el CFT y actividad antioxidante por los ensayos DPPH, ABTS y FRAP.

Cuadro 6. Contenido de fenoles totales (CFT) y actividad antioxidante de extractos de hoja y rama de *E. texana*.

	CFT	ABTS	DPPH	FRAP
Solvente	mg EAG/g extracto	CI ₅₀ , mg/mL	CI ₅₀ , mg/mL	
	<u>µM Fe(II)/g extracto</u>			
Hoja				
EA-H	43.94 ± 0.43 ^b	74.88 ± 0.23 ^c	13.19 ± 1.32 ^b	104.80 ± 9.20 ^b
EHA-H	60.67 ± 1.39 ^b	35.40 ± 2.61 ^b	45.01 ± 2.82 ^c	271.80 ± 17.61 ^a
EE-H	108.95 ± 23.31 ^a	25.02 ± 1.07 ^a	3.87 ± 0.95 ^a	288.06 ± 15.93 ^a
Rama				
EA-R	85.89 ± 0.08 ^a	32.84 ± 1.61 ^b	14.35 ± 0.68 ^b	149.59 ± 7.02 ^b
EHA-R	76.95 ± 3.47 ^{ab}	51.68 ± 0.61 ^c	52.32 ± 0.91 ^c	277.80 ± 11.58 ^a
EE-R	69.00 ± 7.25 ^b	21.84 ± 1.87 ^a	10.57 ± 0.12 ^a	280.03 ± 1.52 ^a

Valor promedio ± desviación estándar; los valores de la misma fila seguidos por letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). EA: extracto acuoso; HAE: extracto hidroalcohólico; EE: extracto etanólico.

En los extractos de hojas se detectó el mayor CFT en el tratamiento EE-H, con valores de 108.95 ± 23.31 mg EAG/g extracto; seguido por los tratamientos EHA-H y EE-H con valores de 60.67 ± 1.39 y 43.94 ± 0.43 mg EAG/g extracto, respectivamente, los cuales, no presentaron diferencias significativas entre ellos. En el caso de los extractos de rama, los tratamientos EA-R y EE-R fueron diferentes estadísticamente en el CFT, siendo mayores los

valores en el EA-R con un valor de 85.89 ± 0.08 mg EAG/g extracto; mientras que, el extracto EHA-R no presentó diferencias significativas con los tratamientos EA-R y EE-R.

Aunque no existe algún reporte del CFT de *E. texana*, su contenido es comparable con especies que comparten su hábitat. Tal es el caso de los extractos etanólicos de las hojas de *F. cernua* reportado por Jasso de Rodríguez et al. (2019), con un valor de 301.00 mg EAG/g extracto. Otro ejemplo es lo observado por Guia-García et al. (2021) en el estudio de frutos de *R. microphylla* donde el extracto acuoso exhibió un valor de 75.34 mg EAG/g extracto y el extracto hidroalcohólico un valor de 62.00 mg EAG/g extracto. En el estudio realizado por Wong-Paz et al. (2015) se reportó que la cantidad de CFT se puede deber a diferentes factores, por ejemplo, al tejido vegetal empleado, condiciones ambientales y desarrollo fenológico, entre otros.

En la determinación de la capacidad antioxidante, los extractos EE-H y EE-R presentaron mayor actividad captadora de radicales en ABTS y DPPH. En el tratamiento EEH por ABTS se detectaron valores de CI_{50} de 25.02 ± 1.07 mg/mL y por el método de DPPH valores de 3.87 ± 0.95 mg/mL. En el caso de la actividad antioxidante de EE-R se detectaron valores de CI_{50} de 21.84 ± 1.87 mg/mL y de 10.57 ± 0.12 mg/mL con los métodos de ABTS y DDPH, respectivamente. Por otro lado, el mayor poder reductor férrico lo presentaron los extractos de hoja EHA-H y EE-H y de rama EHA-R y EE-R, teniendo mayor poder reductor que ambos extractos acuosos (Cuadro 6).

El presente estudio reporta por primera vez la actividad antioxidante de *E. texana*; sin embargo, los valores obtenidos son comparables con estudios que se han realizado con plantas nativas del desierto Chihuahuense. Extractos etanólicos de hojas de *F. cernua* han mostrado actividad antioxidante bajo las técnicas ABTS y DPPH de 32.50 y 43.30%, respectivamente, los cuales se expresaron como porcentaje de actividad eliminadora; además, exhibieron un poder reductor férrico de 1.2 mM Fe(II)/L (Jasso de Rodríguez et al., 2019). Por su parte, *J. microcarpa* ha mostrado, mediante la técnica de DPPH, actividad antioxidante de 89.6% expresado como porcentaje de actividad eliminadora y mediante FRAP, valores de 69.40 μ g Fe(II)/100 mg extracto de acuerdo con el reporte de Jasso de Rodríguez et al. (2019). Otro ejemplo, es el estudio realizado por Guia-García et al. (2021) con los extractos de frutos de *M. geometrizzans*, los cuales mostraron una actividad antioxidante interesante, donde

extractos acuosos presentaron valores de actividad antioxidante, expresados en CI₅₀ por los métodos de ABTS y DPPH, de 5.65 y 8.75 mg/mL, respectivamente, y poder reductor férrico por el método de FRAP de 136.94 µM Fe(II)/g extracto, similares a los obtenidos en la presente investigación para extractos de hojas y ramas de *E. texana*.

La actividad antioxidante mostrada por los extractos de *E. texana*, puede ser un indicativo de propiedades biológicas de importancia médica; por ejemplo; efecto citotóxico, antiinflamatorio, antifúngico, entre otros.

Etapa III. Evaluación de la bioactividad *in vitro* de los extractos de *E. texana*

4.4 Actividad antimicrobiana

En el Cuadro 7 se presentan la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) de extractos de hojas y ramas contra las bacterias

S. aureus y *E. coli*.

Cuadro 7. Actividad antimicrobiana (mg/mL) de los extractos de *E. texana* evaluados contra *S. aureus* y *E. coli*.

Actividad antimicrobiana (mg/mL)				
	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
	CMI	CMB	CMI	CMB
Hoja				
EA-H	>10	>10	>10	>10
EHA-H	5	10	>10	>10
EE-H	2	4	>10	>10
Rama EA-R				
	>10	>10	>10	>10
EHA-R	5	5	>10	>10
EE-R	4	8	>10	>10

EA: extracto acuoso; EHA: extracto hidroalcohólico; EE: extracto etanólico. (CMI) concentración mínima inhibitoria; (CMB) concentración mínima bactericida.

El EE-H mostró mayor efecto inhibitorio sobre la cepa *S. aureus* (CMI de 2 mg/mL y una MBC 4 mg/mL) seguido por el EHA-H (CMI de 5 y una MBC 10 mg/mL). Por otro lado, el EA-H no presentó actividad antimicrobiana a la concentración más alta evaluada (10 mg/mL),

En el caso de los extractos de rama, al igual que en la hoja, el extracto EE-R presentó mayor inhibición en el crecimiento de *S. aureus* (CMI de 4 mg/mL y una MBC de 8 mg/mL), seguido del EHA-R con valores de CMI de 5 mg/mL y una MBC de 10 mg/mL. De manera similar que los extractos de hoja, el extracto acuoso de rama EA-R no mostró actividad inhibitoria en ninguna de las cepas bajo estudio.

Se puede observar que los extractos etanólicos de *E. texana* son activos a una concentración menor a 10 mg/mL; además, ninguno de los extractos acuosos presentó actividad a esta concentración. Por otro lado, ninguno de los extractos tuvo actividad sobre la bacteria *E. coli* a la concentración alta evaluada (10 mg/mL). Fernández Riverón et al. (2003) reportó que las características estructurales de las bacterias y su variabilidad genética pueden inactivar los agentes antimicrobianos. *E. coli* muestra un complejo de membranas y un espacio periplásmico que le confiere rigidez que le da mayor resistencia, y posiblemente, los extractos de *E. texana* no consiguieron atacar estas estructuras (Souza-Valeria et al 2001).

El tratamiento EE-R presentó mayor inhibición en el crecimiento de *S. aureus* (CMI de 4 mg/mL y una MBC de 8 mg/mL), seguido por el tratamiento EHA-R con valores de CMI de 5 mg/mL y una MBC de 10 mg/mL. El efecto inhibitorio puede relacionarse con la presencia de compuestos biológicos como el contenido de fenoles mostrado, además pudiendo tener otros compuestos biológicos mostrados en diferentes plantas de zonas áridas y semiáridas. Guia-García et al. (2021) reportó la presencia de ácido gálico, elágico y ferúlico en extractos acuosos e hidroalcohólicos de *R. microphylla*, los cuales tienen actividad antioxidante, propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y anticancerígenas. entre otros. Estos resultados obtenidos de los extractos demuestran una MBC mejor que los obtenidos por López-Romero (2018), donde extractos de *A. angustifolia* presentaron una MBC de 60 mg/mL contra *S. epidermidis*, además de que no mostraron actividad bactericida sobre *S. aureus*.

Esta investigación presenta por primera vez el estudio de la actividad antimicrobiana de extractos acuosos, hidroalcohólicos y etanólicos de *E. texana*, el cual puede ser tomado como un antecedente para la realización de futuras investigaciones.

4.5 Actividad antiproliferativa y citotóxica

En el Cuadro 8, se muestra la actividad antiproliferativa de extractos de hojas y ramas de *E. texana* sobre dos líneas celulares de cáncer de mama (MDA-MB-231 y MCF7) y la línea celular sana epitelial de la retina (ARPE-19).

Cuadro 8. Actividad antiproliferativa y citotóxica.

Inhibición (%) a la concentración 200 µg/mL			
Tratamiento	MDA-MB-231	MCF7	ARPE-19
Hoja			
EA-H	21.63 ± 1.79	20.91 ± 3.2	27.48 ± 2.76
EHA-H	27.90 ± 4.76	33.34 ± 6.13	33.82 ± 3.38
EE-H	21.63 ± 1.79	20.91 ± 3.2	27.48 ± 2.76
Rama EA-			
R	18.97 ± 2.04	25.1 ± 5.06	21.31 ± 2.87
EHA-R	26.64 ± 6.52	35.61 ± 3.00	26.64 ± 6.52
EE-R	23.95 ± 2.88	33.34 ± 2.05	18.73 ± 2.31

EA: extracto acuoso; EHA: extracto hidroalcohólico; EE: extracto etanólico. Las líneas celulares de cáncer de mama MDA-MB-231, MCF7 y la línea celular sana epitelial de la retina ARPE-19.

En los resultados obtenidos se logra observar una inhibición menor del 40% en todos los tratamientos, por lo que ningún extracto logra disminuir considerablemente la proliferación en las líneas celulares cancerígenas MDA-MB-231 y MCF7, por lo que no fue posible determinar el valor de CI_{50} . En general, los resultados indican que los extractos de *E. texana* no presentan actividad antiproliferativa relevante contra las líneas celulares bajo estudio.

Por lo lado, la citotoxicidad de los extractos no es elevada contra la línea celular sana (ARPE-19). Se ha visto esta característica en el estudio de los extractos hidroalcohólicos y acuosos de frutos de *R. microphylla* y *M. geometrizans*, los cuales presentaron valores de CI_{50} de 800 $\mu\text{g/mL}$ también sobre la línea celular ARPE-19 (Guía-García et al., 2021).

Dada la baja toxicidad presentada sobre las células sanas y las interesantes actividades antioxidantes y antimicrobianas observadas, se puede considerar factible el uso potencial de los extractos de *E. texana* para el desarrollo de productos bioactivos, tales como fármacos naturales, alimentos funcionales, entre otros. Además, el alto contenido de carbohidratos, grasas y proteínas presentes en la planta puede representar una fuente de innovadora de nutrientes naturales.

Esta investigación presenta, por primera vez, las propiedades biológicas de *E. texana*, ofreciendo nuevos conocimientos sobre sus beneficios. Con ello, se pueden plantear alternativas efectivas y económicamente viables para abordar problemas de interés social en las áreas de desarrollo de esta planta.

5. CONCLUSIONES

- En la presente investigación se logró la obtención y caracterización fisicoquímica de las hojas y ramas de *E. texana*, las cuales presentaron un alto contenido de carbohidratos, grasas y proteínas, por lo que puede representar una fuente innovadora de nutrientes naturales.
- Se obtuvieron extractos de hojas y ramas acuosos, hidroalcohólicos y etanólicos de *E. texana* mediante la técnica de agitación convencional, presentando mayor rendimiento los extractos que utilizaron agua como solvente, relacionándose con su capacidad de solubilidad de carbohidratos, glucósidos, entre otros metabolitos secundarios.
- Se realizó la caracterización de los extractos de *E. texana* en función del contenido de fenoles totales y actividad antioxidante, destacando los extractos etanólicos.
- Se evaluó la actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos de *E. texana*, mostrando actividad promisorio contra *S. aureus*.
- Los extractos de *E. texana* presentaron moderado efecto antiproliferativo y baja citotoxicidad, lo cual hace factible el uso de esta planta para fines biológicos, tales como el desarrollo de alimentos funcionales, fármacos de base natural, entre otros.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adlercreutz, H. (2010). Phytoestrogens and human health. In: Bioactive compounds in plants—benefits and risks for man and animals, 78.
- Almajano, M. P., Carbo, R., Jiménez, J. A. L., & Gordon, M. H. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chemistry*, 108(1), 55-63.
- Andrade-Bustamante, G., Manelik García-López, A., Cervantes-Díaz, L., Aíl-Catzim, C. E., Borboa-Flores, J., & Rueda-Puente, E. O. (2017). Estudio del potencial biocontrolador de las plantas autóctonas de la zona árida del noroeste de México: Control de fitopatógenos. *Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias*, 49(1), 127–142.
- AOAC, 1990. Association of Official Analytical Chemists. In: Official, M. (Ed.). AOAC, Washington, DC, USA
- Arámbula, L. A. T. (2005). Problemática y alternativas de desarrollo de las zonas áridas y semiáridas de México. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, IV(2), 17–21.
- Ávalos García & Pérez-Urria, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca Biología Serie Fisiología Vegetal*, 2(3), 119–145. <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/viewFile/798/814>
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ... & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*, 117(4), 426-436.
- Barroso, F. G., Pedreño, A., Martínez, T., Robles Cruz, A. B., & González-Rebollar, J. L. (2005). Potencialidad de las especies C4 como alimento para el ganado en repoblaciones de zonas semiáridas. *Producciones agroganaderas: Gestión eficiente y conservación del medio natural (Vol. I)*, 347-353.
- Bernabé-Antonio, A., Maldonado-Magaña, A., Ramírez-López, C. B., Salcedo-Pérez, E., Meza-Contreras, J. C., González-García, Y., López-Dellamary Toral, F. A., & CruzSosa, F. (2017). Establishment of callus and cell suspension cultures of

- Eysenhardtia polystachya* (Ortega) and fungistatic activity of their extracts. South African Journal of Botany, 112, 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.05.023>
- Blanco-Labra, A. & Aguirre-Mancilla. (2002). Proteínas involucradas en los mecanismos de defensa de plantas. Acta Universitaria, 12(3), 3–28.
- Castillo, F., Hernández, D., Gallegos, G., Mendez, M., Rodríguez, R., Reyes, A., & Aguilar, C. N. (2010). *In vitro* antifungal activity of plant extracts obtained with alternative organic solvents against *Rhizoctonia solani* Kühn. Industrial Crops and Products, 32(3), 324–328. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.05.013>
- Centina-Alcalá, Ortega-Delgado, González-Hernández, Vergas-Hernández, Colinas-León, V.-M. (2001). Fotosíntesis y contenido de carbohidratos de *Pinus greggii* Engelm. en respuesta a la poda y al régimen de riego en vivero. Agrociencia 35, 599-607
- Charles-Rodríguez, A. V., Rivera-Solís, L. L., Martins, J. T., Genisheva, Z., Robledo-Olivo, A., González-Morales, S., ... & Flores-López, M. L. (2020). Edible films based on black chia (*Salvia hispanica* L.) seed mucilage containing *Rhus microphylla* fruit phenolic extract. Coatings, 10(4), 326.
- Díaz-Padilla, G., Sánchez-Cohen, I., Guajardo-Panes, R. A., Ángel-Pérez, D., Ana, L., RuízCorral, A., ... & Ibarra-Castillo, D. (2011). Mapeo del índice de aridez y su distribución poblacional en México. Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente, 17(SPE), 267-275.
- Dionicio Concepción, O. (2020) Obtención de extractos de hojas de agrillo (*Rhus microphylla*) mediante proceso óhmico y su caracterización fisicoquímica. Tesis para obtener el grado de Licenciado en Biotecnología. Universidad Interserrana del Estado de Puebla Ahuacatlán. Ahuacatlán, Puebla.
- Dirar, A. I., Alsaadi, D. H. M., Wada, M., Mohamed, M. A., Watanabe, T., & Devkota, H. P. (2019). Effects of extraction solvents on total phenolic and flavonoid contents and biological activities of extracts from Sudanese medicinal plants. South African Journal of Botany, 120, 261–267. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.07.003>
- Domínguez-Villegas, V., Domínguez-Villegas, V., García, M. L., Calpena, A., ClaresNaveros, B., & Garduño-Ramírez, M. L. (2013). Anti-inflammatory,

antioxidant and cytotoxicity activities of methanolic extract and prenylated flavanones isolated from leaves of *Eysehardtia platycarpa*. Natural Product Communications, 8(2), 1934578X1300800211.

Fernández Riverón, F., López Hernández, J., Ponce Martínez, L. M., & Machado Betarte, C. (2003). Resistencia bacteriana. Revista cubana de medicina militar, 32(1), 0-0.

García-Campoy, A., Garcia, E., & Muñiz-Ramirez, A. (2020). Phytochemical and pharmacological study of the *Eysenhardtia* genus. Plants, 9(9), 1124.

García-Oliveira, P., Barral, M., Carpena, M., Gullón, P., Fraga-Corral, M., Otero, P., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. (2021). Traditional plants from Asteraceae family as potential candidates for functional food industry. Food and Function, 12(7), 2850–2873. <https://doi.org/10.1039/d0fo03433a>

Guía-García, J. L., Charles-Rodríguez, A. V., López-Romero, J. C., Torres-Moreno, H., Genisheva, Z., Robledo-Olivo, A., ... & Flores-López, M. L. (2021). Phenolic composition and biological properties of *Rhus microphylla* and *Myrtillocactus geometrizans* fruit extracts. Plants, 10(10), 2010.

Guía-García, J. L., Charles-Rodríguez, A. V., Reyes-Valdés, M. H., Ramírez-Godina, F., Robledo-Olivo, A., García-Osuna, H. T., Cerqueira, M. A., & Flores-López, M. L. (2022). Micro and nanoencapsulation of bioactive compounds for agri-food applications: A review. Industrial Crops and Products, 186, 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115198>

Guzmán Loayza, D., & Chávez, J. (2007). Estudio bromatológico del cladodio del nopal (*Opuntia ficus-indica*) para el consumo humano. Revista de la Sociedad Química del Perú, 73(1), 41-45.

Heinrich, M., Ankli, A., Frei, B., Weimann, C., & Sticher, O. (1998). Medicinal plants in Mexico: Healers' consensus and cultural importance. Social Science and Medicine, 47(11), 1859–1871. [https://doi.org/10.1016/S0277-9536\(98\)00181-6](https://doi.org/10.1016/S0277-9536(98)00181-6)

Herrera Coronado, M., Vega y León, S., Gutiérrez Tolentino, R., García Fernández, B. & Díaz González, G. (2006). Los ácidos grasos omega-3 y omega-6: nutrición, bioquímica y salud. Revista de educación bioquímica, 25(3), 72-79.

- Hulbert, A. J. (2021). The under-appreciated fats of life: The two types of polyunsaturated fats. *Journal of Experimental Biology*, 224(8). <https://doi.org/10.1242/JEB.232538>
- Jasso de Rodríguez, D. J., Puente-Romero, G. N., Díaz-Jiménez, L., Rodríguez-García, R., Ramírez-Rodríguez, H., Villarreal-Quintanilla, J. A., Flores-López, M. L., CarrilloLomelí, D. A., & Genisheva, Z. A. (2019). *In vitro* gastrointestinal digestion of microencapsulated extracts of *Flourensia cernua*, *F. microphylla*, and *F. retinophylla*. *Industrial Crops and Products*, 138. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.06.007>
- Jasso de Rodríguez, D., Carrillo-Lomelí, D. A., Rocha-Guzmán, N. E., Moreno-Jiménez, M. R., Rodríguez-García, R., Díaz-Jiménez, M. L. V., Flores-López, M. L., & Villarreal-Quintanilla, J. A. (2017). Antioxidant, anti-inflammatory and apoptotic effects of *Flourensia microphylla* on HT-29 colon cancer cells. *Industrial Crops and Products*, 107, 472–481. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.03.034>
- Jasso de Rodríguez, D., Gaytán-Sánchez, N. A., Rodríguez-García, R., Hernández-Castillo, F. D., Díaz-Jiménez, L., Villarreal-Quintanilla, J. A., Flores-López, M. L., CarrilloLomelí, D. A., & Peña-Ramos, F. M. (2019). Antifungal activity of *Juglans* spp. and *Carya* sp. ethanol extracts against *Fusarium oxysporum* on tomato under greenhouse conditions. *Industrial Crops and Products*, 138. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.06.005>
- Jasso de Rodríguez, L. C. G.-H. (2017). *Psacalium paucicapitatum* has in vitro antibacterial activity. *Industrial Crops and Products*, 107, 489–498. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.025>
- Jiménez-Muñoz, E., Prieto-García, F., Prieto-Méndez, J., & Acevedo-Sandoval, O. A. (2016). Potencialidad en la obtención de pulpa de celulosa para elaboración de papel Physicochemical characterization of four species of agaves with potential in obtaining pulp for paper making. 83(197), 233–243.
- Kaur, M., Kaur, A., & Sharma, R. (2012). Pharmacological actions of *Opuntia ficus indica*: A Review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(7), 15-18.

- Latorre, D. L., Latorre, F. A., Dolores, L., & Latorre, F. A. (1977). Plants used by the Mexican Kickapoo Indians Published by : Springer on behalf of New York Botanical Garden Press Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/4253858> Plants used by the Mexican Kickapoo Indians '. 31(3), 340–357.
- López-Romero, J. C. (2018). Antioxidant and antimicrobial activity of *Agave angustifolia* extract on overall quality and shelf life of pork patties stored under refrigeration. *Journal of Food Science and Technology*, 55(11), 4413–4423. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3351-3>
- López-Romero, J. C., Ayala-Zavala, J. F., González-Aguilar, G. A., Peña-Ramos, E. A., & González-Ríos, H. (2018). Biological activities of *Agave* by-products and their possible applications in food and pharmaceuticals. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(7), 2461–2474. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8738>
- Loraine, S., & Mendoza-Espinoza, J. A. (2010). Las plantas medicinales en la lucha contra el cáncer, relevancia para México. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 41(4), 18-27.
- Méndez, M., Rodríguez, R., Ruiz, J., Morales-Adame, D., Castillo, F., Hernández-Castillo, F. D., & Aguilar, C. N. (2012). Antibacterial activity of plant extracts obtained with alternative organics solvents against food-borne pathogen bacteria. *Industrial Crops and Products*, 37(1), 445–450. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.07.017>
- Morón Rodríguez, F. J., & Jardines Méndez, J. B. (1997). La medicina tradicional en las universidades médicas. *Revista cubana de plantas medicinales*, 2(1), 35-41.
- Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A. M., & Böhm, V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*, 43, 992–999. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2010.02.004>
- Olivares, S.E., 1994. Paquete de diseños experimentales. FAUANL. Versión 2., Marín, N.L.
- Parbat, A. Y., Malode, G. P., Shaikh, A. R., Panchale, W. A., Manwar, J. V., & Bakal, R. L. (2021). Ethnopharmacological review of traditional medicinal plants as immunomodulator. *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*, 6(2), 043-055.

- Pardo de Santayana, M., & Gómez Pellón, E. (2003). Etnobotánica: Aprovechamiento tradicional de plantas y patrimonio cultural. *Anales Jardín Botánico de Madrid*, 60(1).
- Petrovska, B. B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy Reviews*, 6(11), 1–5. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.95849>
- Prieto-González, S., Garrido-Garrido, G., González-Lavaut, J. A., & Molina-Torres, J. (2004). Actualidad de la Medicina Tradicional Herbolaria Actualidad de la Medicina Tradicional Herbolaria. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 35(1), 19–36. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181226086004>
- Romano, L. L., & Hazekamp, A. (2013). Aceite de cannabis: evaluación química de un nuevo medicamento derivado del cannabis. 1(1), 1–12.
- Sargent, C. (1892). *The Silva of North America* 3: 29. <http://www.tropicos.org/NamePublicationDetail.aspx?nameid=13009345>
- Sepúlveda Jiménez, G., Porta Ducoing, H., & Rocha Sosa, M. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(3), 355-363.
- Soto-García, M., & Rosales-Castro, M. (2016). Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxylla*. *Maderas. Ciencia y tecnología*, 18(4), 701-714.
- Sustaita-Rodríguez, A., Rocha-Gutiérrez, B. A., García-Triana, A., Ramos-Sánchez, V. H., Beltrán-Piña, B. G., & Chávez-Flores, D. (2019). Epoxidación enzimática de metil ésteres de ácidos grasos de origen vegetal y sus aplicaciones como alternativa para sustituir a los derivados del petróleo. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 22, 1-17.
- Texas A & M University. (2018). *Texas Kidneywood*. 47.

- Wächter, G. A., Hoffmann, J. J., Furbacher, T., Blake, M. E., & Timmermann, B. N. (1999). Antibacterial and antifungal flavanones from *Eysenhardtia texana*. *Phytochemistry*, 52(8), 1469-1471
- Wijngaard, H., Hossain, M. B., Rai, D. K., & Brunton, N. (2012). Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin. 46, 505–513. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.09.027>
- Wong-Paz, J. E., Contreras-Esquivel, J. C., Rodríguez-Herrera, R., Carrillo-Inungaray, M. L., López, L. I., Nevárez-Moorillón, G. V., & Aguilar, C. N. (2015). Total phenolic content, *in vitro* antioxidant activity and chemical composition of plant extracts from semiarid Mexican region. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8(2), 104-111.
- Zamora-Natera, F., García-López, P., Ruiz-López, M., & Salcedo-Pérez, E. (2008). Composition of alkaloids in seeds of *Lupinus mexicanus* (Fabaceae) and antifungal and allelopathic evaluation of the alkaloid extract. *Agrociencia*, 42(2), 185-192.