



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BÁSICAS



EFFECTO ANTIINFLAMATORIO DE LOS EXTRACTOS ORGÁNICOS DE *Neurolaena lobata* (L.) Cass EN CÉLULAS RAW-Blue

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

JUDITH VIANEY GARCÍA MORALES

BAJO LA DIRECCIÓN DE:

DR. RICARDO LÓPEZ RODRÍGUEZ

EN CODIRECCIÓN EXTERNA DE:

DRA. MARIBEL LUCILA HERRERA RUIZ (CIBIS-IMSS)

CUNDUACÁN, TABASCO, A 22 DE NOVIEMBRE DE 2024

Declaración de Autoría y Originalidad

En la Ciudad de Cunduacán, el día 22 del mes noviembre del año 2024, el que suscribe Judith Vianey García Morales alumna del Programa de Licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo con número de matrícula 192A20030, adscrito a la División académica de Ciencia Básicas, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como autora de la Tesis presentada para la obtención del (título, diploma o grado según sea el caso) título en Química Farmacéutica Bióloga y titulada Efecto antiinflamatorio de los extractos orgánicos de *Neurolaena lobata* (L.) Cass en células RAW-Blue dirigida por Dr. Ricardo López Rodríguez y Dra. Maribel Lucila Herrera Ruiz.

DECLARO QUE:

La Tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la LEY FEDERAL DEL DERECHO DE AUTOR (Decreto por el que se reforman y adicionan diversas disposiciones de la Ley Federal del Derecho de Autor del 01 de Julio de 2020 regularizando y aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad o contenido de la Tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente

Villahermosa, Tabasco a 22 de noviembre de 2024.

Judith Vianey García Morales

Nombre y Firma

DIRECCIÓN

Cunduacán, Tabasco; a 21 de noviembre de 2024.

C. JUDITH VIANEY GARCÍA MORALES
PASANTE DE LA LIC. EN QUÍMICO
FARMACÉUTICO BIÓLOGO
PRESENTE

Por medio del presente, me dirijo a usted para hacer de su conocimiento que proceda a la impresión del trabajo titulado **"EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE LOS EXTRACTOS ORGÁNICOS DE *Neurolaena Lobata* (L.) Cass EN CÉLULAS RAW-Blue"**, dirigido por el Dr. Ricardo López Rodríguez con la codirección externa de la Dra. Maribel Lucila Herrera Ruíz, bajo la modalidad de titulación por **TESIS**. La comisión de revisión conformada por el Dr. Ever Arquímedes Blé González, Dr. Ricardo López Rodríguez, Dra. María Antonia Lunagómez Rocha y Dra. Patricia Mendoza Lorenzo, liberó el documento en virtud de que reúne los requisitos para el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente.

Sin otro particular, reciba usted un cordial saludo.

ATENTAMENTE



DRA. HERMICENDA PÉREZ VIDAL
DIRECTORA



C.c.p. Archivo.

DIR'DRA.HPV/kfvg

Km.1 Carretera Cunduacán-Jalpa de Méndez, A.P. 24, C.P. 86690, Cunduacán, Tab., México.
Tel/Fax: (993) 3581500 Ext. 6702,6701 E-Mail: direccion.dacb@ujat.mx

www.ujat.mx

LICENCIATURA - EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE LOS EXTRACTOS ORGÁNICOS DE *Neurolaena lobata* (L.) Cass EN CÉLULAS RAW-Blue

INFORME DE ORIGINALIDAD

20%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	gacetajuchiman.ujat.mx Internet	342 palabras — 2%
2	ouci.dntb.gov.ua Internet	294 palabras — 1%
3	repositorio.espe.edu.ec Internet	219 palabras — 1%
4	hdl.handle.net Internet	157 palabras — 1%
5	digi.usac.edu.gt Internet	152 palabras — 1%
6	www.mdpi.com Internet	89 palabras — < 1%
7	idoc.pub Internet	86 palabras — < 1%
8	doi.org Internet	85 palabras — < 1%
9	repositorio.xoc.uam.mx Internet	77 palabras — < 1%



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS BÁSICAS
ESTUDIOS
TERMINALES

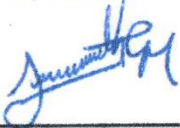
Carta de Cesión de Derechos

Villahermosa, Tabasco a 21 de noviembre de 2024.

Por medio de la presente manifestamos haber colaborado como AUTOR(A) y/o AUTORES(RAS) en la producción, creación y/o realización de la obra denominada "Efecto antiinflamatorio de los extractos orgánicos de *Neurolaena lobata* (L.) Cass en células RAW-Blue".

Con fundamento en el artículo 83 de la Ley Federal del Derecho de Autor y toda vez que, la creación y/o realización de la obra antes mencionada se realizó bajo la comisión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, entendemos y aceptamos el alcance del artículo en mención, de que tenemos el derecho al reconocimiento como autores de la obra, y la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco mantendrá en un 100% la titularidad de los derechos patrimoniales por un período de 20 años sobre la obra en la que colaboramos, por lo anterior, cedemos el derecho patrimonial exclusivo en favor de la Universidad.

COLABORADORES


Judith Vianey García Morales

EGRESADA


Dr. Ricardo López Rodríguez (DACB-UJAT)

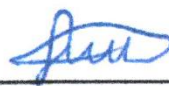
DIRECTOR


Dra. Maribel Lucila Herrera Ruiz (CIBIS-IMSS)

CODIRECTORA

TESTIGOS


Sissi Brisseida del Rosario Oliva Campos


María Fernanda de la Cruz Pérez

Dedicatoria

A Dios por el amor, el refugio y la guía ofrecida en cada etapa de mi vida, en especial en los momentos de mayor incertidumbre.

A mis padres, Mercedes y Alejandro, por el amor, el apoyo incondicional y sus sabios consejos. Asimismo, por la enseñanza del respeto y la perseverancia, que fueron los valores fundamentales para alcanzar esta meta. Este logro es un logro compartido.

A mis hermanos, Fausto y Angélica, por su constante cuidado, apoyo y por inspirarme a seguir adelante en cada paso.

A la Q.E.D. Mtra. Petronila García Salvador, por ser una segunda madre y por su guía en todo momento, brindándome siempre su cariño.

A mis familiares, quienes siempre estuvieron a mi lado, ofreciendo su amor, apoyo y consejos.

Agradecimientos

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) y a la División Académica de Ciencias Básicas (DACB) por la oportunidad, la infraestructura y las gestiones necesarias para mi formación integral.

Al Laboratorio de Química Orgánica y Productos Naturales (LQPN) y al Centro de Investigación Biomédica del Sur (CIBIS-IMSS) por permitirme desarrollar mi trabajo de tesis. En especial, reconozco a los investigadores de ambas instituciones por su apasionado amor por la ciencia y por su apoyo durante este proceso.

A mis asesores de tesis:

La Dra. Maribel Lucila Herrera Ruiz por su invaluable colaboración y contribución a mi proyecto de tesis, a mi estancia de investigación y a mi formación académica.

El Dr. Ricardo López Rodríguez porque mediante su paciencia, confianza y enseñanza logró transmitir en mí el gusto por la ciencia, asimismo por contribuir a mi crecimiento académico.

A los miembros de mi Comisión Revisora por enriquecer este trabajo:

Dr. Ever Arquímedes Blé González.

Dra. Patricia Mendoza Lorenzo.

Dra. Nancy Romero Ceronio.

Dra. María Antonia Lunagómez Rocha.

A cada uno de mis profesores por su vocación de enseñar, por los conocimientos transmitidos y por su guía en este proceso.

En especial, al Dr. Abraham Gómez Rivera por abrirme las puertas del LQPN, por todos los aprendizajes compartidos y por mi crecimiento académico y de investigación en su área de especialidad.

A la Dra. Yury Maritza Zapata Lopera, por su colaboración de manera sustancial en mi proyecto de tesis durante mi estancia de investigación en el CIBIS-IMSS.

A mis amigos (Cristel, Karen, Andy, Edgar, Shaula, Diana, Sheila, Haidee, Kristell y Stepani) y compañeros de la universidad por los momentos inolvidables que compartimos.

Finalmente, a todas las personas que por su vocación o amistad me permitieron adquirir los conocimientos necesarios para mi formación profesional como personal.

Índice de contenido

Resumen.....	1
Palabras claves	1
Abstract	2
Keywords	2
1. Introducción.....	3
2. Marco teórico	4
2.1 Familia Asteraceae	4
2.1.1 Usos en la medicina tradicional de especies de la familia Asteraceae	4
2.2 <i>Neurolaena lobata</i> (L.) Cass.	5
2.2.1 Botánica y taxonomía	5
2.2.2 Nombres comunes y usos de <i>N. lobata</i> (L.) Cass en la medicina tradicional mexicana.....	7
2.2.3 Estudios sobre el perfil metabólico de <i>N. lobata</i>	8
2.2.4 Actividad biológica.....	11
2.3 Generalidades de la inflamación.....	12
2.3.1 Importancia epidemiológica	13
2.3.2 Mecanismos de la respuesta inflamatoria	14
2.3.3 Fase aguda	15
2.3.4 Fase crónica.....	17
2.4 Vía de señalización NF- κ B	17
2.5 Función de NF- κ B en macrófagos	19
2.6 Tratamientos de la inflamación	20
2.6.1 Antiinflamatorios esteroideos (Corticoides)	22
2.6.2 Antiinflamatorios no esteroideos (AINE's)	24
2.7 Reacciones adversas de los fármacos antiinflamatorios	26
2.8 Evaluación de la actividad antiinflamatoria <i>in-vitro</i>	27
3. Justificación	29
4. Pregunta de investigación	30
5. Hipótesis	30
6. Objetivos.....	30
6.1 Objetivo general.....	30

6.2 Objetivos específicos	30
7. Metodología	31
7.1 Diseño experimental	31
7.2 Colecta e identificación de <i>N. lobata</i>	32
7.3 Obtención de los extractos orgánicos de <i>N. lobata</i> (L.) Cass.	32
7.4 Determinación del Contenido de Flavonoides Totales (CFT)	33
7.4.1 Curva de calibración con patrón de rutina.....	33
7.4.2 Análisis de los flavonoides en los extractos orgánicos de <i>N. lobata</i> (L.) Cass.	33
7.5 Determinación del Contenido de Polifenoles Totales (CPT).....	34
7.5.1 Curva de calibración con patrón de ácido gálico	34
7.5.2 Análisis de polifenoles en los extractos orgánicos de <i>N. lobata</i> (L.) Cass.	34
7.6 Identificación química preliminar mediante cromatografía en capa fina (CCF)	34
7.7 Determinación del perfil químico de los extractos orgánicos de <i>N. lobata</i> por CLAR-DAD y CG-EM	35
7.8 Cultivo de células RAW-Blue para evaluar la inflamación	36
7.9 Evaluación antiinflamatoria <i>in-vitro</i> de los extractos de <i>N. lobata</i> empleando células RAW-Blue.....	37
7.10 Viabilidad celular por el ensayo de MTT	39
7.11 Análisis estadístico	40
8. Resultados y discusión	41
8.1 Cuantificación del contenido de polifenoles y flavonoides totales en <i>N. lobata</i> ...	41
8.2 Identificación preliminar de los compuestos químicos por CCF	42
8.3 Perfil metabólico de <i>Neurolaena lobata</i> por CLAR-DAD	45
8.4 Evaluación del efecto antiinflamatorio.....	52
8.5 Viabilidad celular de los extractos de <i>N. lobata</i>	55
9. Conclusiones	56
10. Recomendaciones	57
Referencias citadas	58
Anexo	72
Abreviaturas	72
Fórmulas químicas	75
Glosario	76

Constancia de presentación del trabajo en congresos.....	77
Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional.....	79

Índice de tablas

Tabla 1. Cuantificación de polifenolesy flavonoides totales en <i>N. lobata</i>	41
Tabla 2. Perfil químico de las partes aéreas de <i>N. lobata</i> obtenida por CLAR-DAD de los extractos de mediana y alta polaridad.....	47

Índice de figuras

Figura 1.Fotografía de <i>Neurolaena lobata</i> (L.) Cass	6
Figura 2. Pirámide taxonómica de <i>Neurolaena lobata</i> (L.) Cass.....	7
Figura 3. Flavonoides aislados de las hojas de <i>N. lobata</i>	9
Figura 4. Pirrolizidinas identificadas en hojas de <i>N. lobata</i>	10
Figura 5. Lactonas sesquiterpénicas purificadas de las partes aéreas de <i>N. lobata</i>	11
Figura 6. Síntomas de la inflamación	13
Figura 7. Vía de señalización NF- κ B activada por vía canónica.....	19
Figura 8. Mecanismo de acción antiinflamatorio de los corticoesteroides	23
Figura 9. Mecanismo de acción de los AINE´s.....	25
Figura 10. Procedimiento experimental.....	31
Figura 11. Muestreo celular de macrófagos	37
Figura 12. CCF fase normal.....	43
Figura 13. CCF fase reversa.....	45
Figura 14. Cromatogramas de los extractos de mediana y alta polaridad	46
Figura 15. Espectro UV-330 nm de ácidos fenólicos.....	49
Figura 16. Espectro UV-330 nm de flavonoles	50
Figura 17. Espectros UV-330 nm de flavonas	51
Figura 18. Efecto antiinflamatorio de los extractos de <i>N. lobata</i>	53
Figura 19. Viabilidad celular de los extractos de <i>N. lobata</i>	56

EFFECTO ANTIINFLAMATORIO DE LOS EXTRACTOS ORGÁNICOS DE *Neurolaena lobata* (L.) Cass EN CÉLULAS RAW-Blue

Resumen

La inflamación es una respuesta fisiológica que forma parte de los mecanismos de defensa del organismo, en etapa crónica puede estar asociada a múltiples enfermedades, entre ellas las de tipo crónico degenerativo. El tratamiento agudo, pero sobre todo crónico de la inflamación consiste en utilizar fármacos del grupo de los no-esteroidales (AINE's) o esteroidales. Entre las limitantes del uso prolongado de estas sustancias resaltan los costos y los efectos adversos. En este contexto, se hace necesaria la búsqueda continua de terapias más eficientes a partir de plantas medicinales debido a su riqueza metabólica. En este estudio, *Neurolaena lobata* (Asteraceae) conocida como "Quina verde", fue sometida a la extracción consecutiva de sus partes aéreas con *n*-hexano (NI H) acetato de etilo (NI A) y etanol (NI E). Estos extractos fueron evaluados a 100 y 200 µg/mL en el modelo de células macrófagas RAW-Blue, diseñadas para presentar un gen reportero de fosfatasa alcalina embrionaria inducible por NF-κB/FA-1, y monitorear esta respuesta tras la estimulación receptores de reconocimiento de patrones con lipopolisacárido (LPS). El análisis de cromatografía de capa fina (CCF) y el análisis de cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) de los extractos de NI A y NI E permitieron identificar dos ácidos fenólicos y siete flavonoides, caracterizados por ejercer diferentes actividades farmacológicas, como la antiinflamatoria, sugiriendo que el efecto inhibitorio de NF-κB registrado en el cultivo celular RAW-Blue, podría ser debido a la acción de las moléculas identificados en esta investigación, especialmente en el extracto NI A.

Palabras claves

Neurolaena lobata, polifenoles y flavonoides, vía NF-κB, antiinflamatorio, cultivo de células RAW-Blue.

Abstract

Inflammation is a physiological response part of the body's defense mechanisms. In the chronic stage, it can associate with multiple diseases, including chronic degenerative diseases. The acute, but especially chronic, treatment of inflammation consists of using drugs from the non-steroidal (NSAIDs) or steroidal group. Among the limitations of the prolonged use of these substances are the costs and adverse effects. In this context, the continuous search for more efficient therapies from medicinal plants is necessary due to their metabolic richness. In this study, *Neurolaena lobata* (Asteraceae), known as 'Quina verde' was subjected to the consecutive extraction of its aerial parts with *n*-hexane (NI H), ethyl acetate (NI A), and ethanol (NI E). These extracts were evaluated at 100 and 200 µg/mL in the RAW-Blue macrophage cell model, engineered to present an NF-κB/AP-1 inducible embryonic alkaline phosphatase reporter gene and to monitor this response after stimulation of pattern recognition receptors with lipopolysaccharide (LPS). Thin-layer chromatography (TLC) and high-performance liquid chromatography (HPLC) analysis of the NI A and NI E extracts allowed the identification of two phenolic acids and seven flavonoids, characterized by different pharmacological activities, such as anti-inflammatory, suggesting that the inhibitory effect of NF-κB recorded in the RAW-Blue cell culture could be due to the action of the molecules identified in this research, especially in the NI A extract.

Keywords

Neurolaena lobata, polyphenols and flavonoids, NF-κB signaling pathway, anti-inflammatory, RAW-Blue culture cells

1. Introducción

La inflamación es una respuesta defensiva del huésped frente a diversos factores, en el que participan distintos mediadores químicos que intervienen durante toda la respuesta como en la etapa de resolución, sin embargo, la exposición prolongada o excesiva de las células huésped en este estado, conlleva a la evolución de la respuesta inflamatoria aguda a crónica (Chen *et al.*, 2017; Antonelli y Kushner, 2017). Por tal razón, es posible relacionar a la inflamación crónica con diversos padecimientos, resultando en un proceso alarmante por la cantidad de personas afectadas. En nuestro país, las enfermedades de tipo crónico-degenerativas están catalogadas dentro de los diez principales padecimientos y causas de muertes durante el 2022 al 2023, de acuerdo a lo reportado por la Secretaría de Salud (SSA, 2024) y el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI, 2023; 2024).

Los tratamientos farmacológicos para este tipo de enfermedades incluyen fármacos antiinflamatorios esteroides o no esteroideos (AINE's). Si bien, estas intervenciones convencionales son efectivas en muchos casos, se asocian a efectos secundarios indeseables. Así, por ejemplo, el uso excesivo y prolongado de los AINE's, ocasiona daño a diferentes órganos del huésped, contribuyendo al desarrollo de otras patologías (Bindu *et al.*, 2020). Además, estas sustancias aumentan el riesgo de problemas gastrointestinales, cardiovasculares y hemorragia intracerebral. Su uso a largo plazo está asociado a la presencia de hepatotoxicidad, nefrotoxicidad e hipersensibilidad a otros fármacos (Lanas *et al.*, 2014; Bindu *et al.*, 2020; Wirth *et al.*, 2024). Por otro lado, Koshi *et al.* (2022) menciona que el uso de dosis altas de corticoesteroides puede llevar a complicaciones como el sangrado intestinal, desarrollar diabetes, hipertensión y eventos cardiovasculares. Por estas razones, la medicina moderna ha buscado otras alternativas para tratar los síntomas de la inflamación.

Las plantas medicinales han desempeñado un rol importante en el cuidado de la salud desde tiempos antiguos. Su uso como remedios ha sido transmitido entre generaciones, e incluso, a través del tiempo ha llamado la atención de investigadores, que dirigen sus esfuerzos a encontrar una explicación científica de como las plantas son capaces de moderar o curar las enfermedades. Hoy en día, las plantas medicinales representan una

fuerza potencial de metabolitos con diversos efectos biológicos como los antiinflamatorios, por lo que son una opción redituable en la investigación de nuevos fármacos.

Actualmente, es necesario reforzar con fundamentos científicos, el uso tradicional de especies con propiedades antiinflamatorias como *Neurolaena lobata* (L.) Cass., para incrementar la certeza terapéutica y coadyuvar al mejoramiento y aprovechamiento de la especie, reduciendo el factor de riesgo toxicológico. En este contexto, el presente proyecto tiene como objetivo evaluar el efecto antiinflamatorio de los extractos orgánicos *N. lobata*, en un ensayo *in-vitro* con células RAW-Blue, así como conocer el contenido metabólico de los extractos orgánicos activos.

2. Marco teórico

2.1 Familia Asteraceae

Las plantas pertenecientes a la familia Asteraceae se encuentran ampliamente distribuidas en diversos tipos de latitudes y altitudes, por lo que es posible encontrarlas en climas y vegetaciones variadas debido a sus excelentes mecanismos de dispersión y adaptabilidad a diferentes ambientes. De esta familia se han descrito más de 1600 géneros, y 25000 especies (Tapia, 2010; Rolnik & Olas, 2021).

2.1.1 Usos en la medicina tradicional de especies de la familia Asteraceae

La extraordinaria diversidad de las Asteraceae repartidas por todo el mundo, se traduce en amplios conocimientos medicinales a base de plantas. A lo largo de la historia, numerosas especies de esta familia han sido empleadas para tratar la inflamación, infecciones por microbios y para trastornos hepáticos, principalmente (Rolnik & Olas, 2021).

En esta familia se encuentran especies de *Carduus*, para el alivio de hemorroides y *Cichorium intybus* útil para la inflamación, los problemas hepáticos, la gota, el

reumatismo y la disminución de apetito. Asimismo, está presente *Ambrosia cumanensis* para disminuir el dolor de estómago, gases y dolores corporales. Otra especie medicinal es *Bidens pilosa* utilizada para tratar resfriados, problemas hepáticos, reumatismo y reducir la presión. Por otro lado, *Neurolaena lobata* se ha empleado para el tratamiento de la inflamación de la piel, problemas hepáticos, biliares, diabetes, hipertensión, diferentes tipos de cáncer, úlceras, dolor en general e infecciones causadas por protozoos como la malaria (Berger *et al*, 2001; Lajter *et al*, 2014; Torres *et al*, 2019; Rolnik & Olas, 2021).

2.2 *Neurolaena lobata* (L.) Cass.

2.2.1 Botánica y taxonomía

Botánicamente *Neurolaena lobata* (L.) Cass., se describe como un arbusto o hierba sufrútice, que llega a medir entre 1-4 m de altura. El termino sufrútice permite identificar a la especie en estudio como una planta de tallo leñoso similar a un arbusto mientras que la parte superior se asemeja a las hierbas (Cátedra de Sistemática Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales [CSVFCAF], s.f). Esta planta exhibe flores tubulares amarillas o amarillas anaranjadas en forma de cabezuelas de hasta 20 flores. Mientras que el fruto es de tipo aquenio cilíndrico y oscuro, esparcidamente pubescente, de 2-4 mm de largo, coronado por el papus uniseriado con más de 30 cerdas de color blanco amarillento (5 mm de largo aproximadamente). Por otro lado, las hojas pubescentes y lanceoladas están divididas en tres partes que miden entre 5-30 cm de largo, tal como se observa en la figura 1. Cuando es joven, el tallo de la planta es estriado y pubescente, en su forma adulta es poco ramificado y erecto. Proviene de Centroamérica por lo que es posible encontrarla en estados del sur de México; también se ha identificado en el norte de Sudamérica como Colombia y Perú; en climas cálido o semicálido que oscilan los 5 y los 1200 msnm (metros sobre el nivel del mar). Suelen estar en matorrales húmedos, orillas de arroyos y caminos (Nash & Williams, 1976; Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana [BDMTM], 2009; World Flora Online [WFO]; 2024).

Figura 1.

Fotografía de *Neurolaena lobata* (L.) Cass

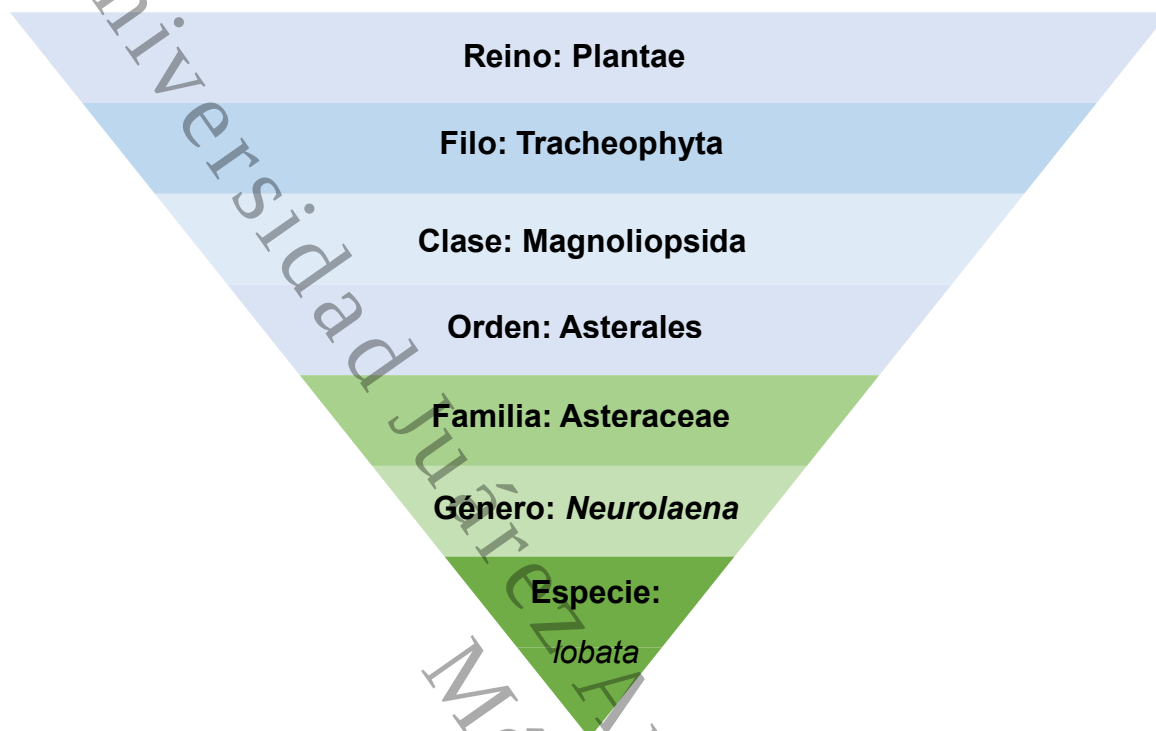


Nota. Imagen propia, 12 de septiembre de 2023, fotografía tomada en el Jardín de Dios, Zunú y Patastal, Tacotalpa, Tabasco.

Por otra parte, esta especie ha sido descrita por diversos taxonomistas en diferentes lugares y momentos de la historia de acuerdo con sus características (ej. la morfología). Lo anterior ha dado como resultado una abundancia de nombres de especies (sinonimias) que han permitido ampliar la información taxonómica y el conocimiento del organismo (Dayrat, 2005; Valdecasas *et al.*, 2007). Algunas sinonimias de esta planta son *Calea lobata* (L.) Sw., *Calea suriani* Cass., *Conyza lobata* L., *Conyza symphytifolia* Mill., *Eupatorium chrysocephalum* Klatt, *Eupatorium valverdeanum* Klatt, *Neurolaena fulva* B.L.Turner, *Neurolaena lobata* (L.) R.Br., *Neurolaena integrifolia* Klatt, *Neurolaena suriani* (Cass.) Cass., *Pluchea symphytifolia* (Mill.) Gillis, sin embargo, el nombre científico aceptado es *Neurolaena lobata* (L.) Cass (Global Biodiversity Information Facility [GBIF], 2023; WFO; 2024). En la figura 2 se presenta una pirámide invertida de la clasificación taxonómica de la especie en estudio.

Figura 2.

Pirámide taxonómica de *Neurolaena lobata* (L.) Cass.



Nota. Adaptado de GBFI (2023).

2.2.2 Nombres comunes y usos de *N. lobata* (L.) Cass en la medicina tradicional mexicana

Esta planta es conocida por diversos nombres, por ejemplo, mano de lagarto, tabaquillo o tres puntas en Guatemala; contragavilana en Panamá; zebapique o *Jackass Bitters* en Trinidad y Tobago y el Caribe (Nash & Williams, 1976; Torres *et al.*, 2019; Nayak *et al.*, 2014). En México es nombrada Quina verde, oreja de burro o següite para sabañón. Existen zonas donde conserva su nombre en lengua indígena, tales como, *ya'ax t'unu' ix bek'em* en la lengua tének del noroeste de San Luis Potosí, o bien, *tchpincuy* en el noroeste de Veracruz y *sabañonxihuit* en la lengua náhuatl en Puebla (BDMTM, 2009). Lo anterior sustenta el uso de *N. lobata* en la medicina tradicional mexicana en estados de la región Este y Sursureste.

Entre los usos de esta especie se reporta el aplicar localmente el jugo de las hojas para tratamiento de enfermedades infecciosas que causan inflamación, comezón, prurito y ampollas entre los dedos de los pies como el sabañón. También ha sido de gran utilidad como antiséptico en heridas infectadas y para el control de la fertilidad (BDMTM, 2009). Además, las hojas machacadas y hervidas en agua se beben en la tarde y en la noche, por dos días para el tratamiento de enfermedades digestivas en el que las deposiciones se acompañan de sangre y moco, tal como la disentería; es importante no consumir chile durante el tratamiento, ya que, la capsaicina presente en el chile activa el receptor potencial transitorio de vaniloide 1 (TRPV1) causando en el tracto gastrointestinal ardor, calor y dolor (BDMTM, 2009; Gonlachanvit *et al.*, 2008).

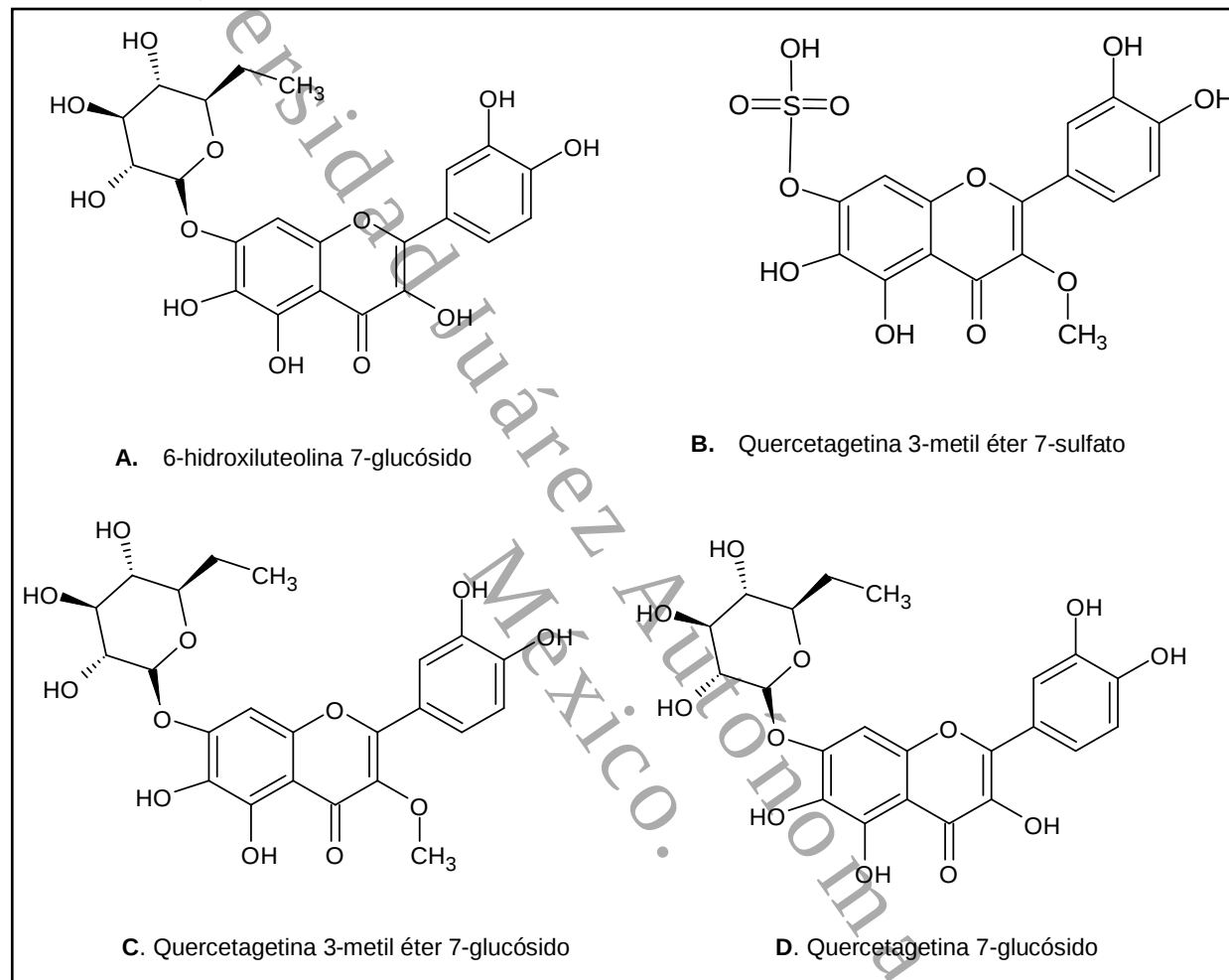
2.2.3 Estudios sobre el perfil metabólico de *N. lobata*

Estudios fitoquímicos y farmacológicos de *Neurolaena lobata*, se han realizado con el objetivo de establecer una base científica del uso tradicional de esta especie.

En un primer estudio realizado por Kerr *et al.* (1981), se determinó la presencia de doce flavonoides de las hojas en tres extractos: diclorometano, acetato de etilo y agua. En el extracto de diclorometano (CH_2Cl_2) se identificaron el 6-hidroxikaempferol 3,7-dimetil éter; quercetagetina 3,7-dimetil éter; quercetagetina 3,6-dimetil éter (axilarina); 6-hidroxluteolina 3'-metil éter; 6-hidroxikaempferol 7-glucósido. En el extracto de acetato de etilo se observó la presencia de quercetagetina y 6-hidroxluteolina 7-glucósido (ver figura 3A). En el extracto acuoso, se identificaron quercetagetina 3-metil éter 7-sulfato (ver figura 3B), 6-hidroxikaempferol 3-metil éter 7-sulfato; 6-hidroxikaempferol 3-metil éter 7-glucósido; quercetagetina 3-metil éter 7-glucósido (ver figura 3C), y quercetagetina 7-glucósido (ver figura 3D).

Figura 3.

Flavonoides aislados de las hojas de *N. lobata*

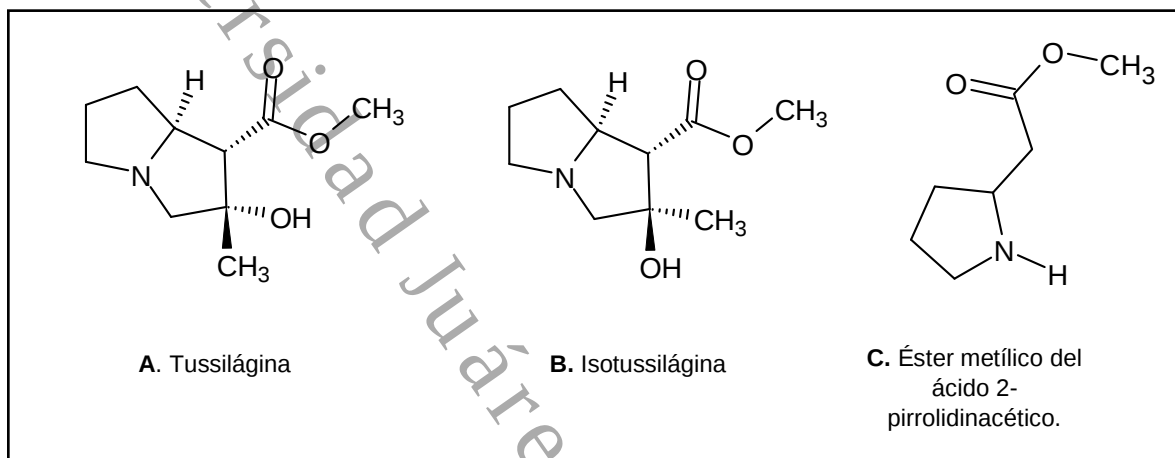


Nota. Imagen propia, 01 de julio de 2014. Estructuras químicas realizadas en ADC/ Labs ChemSketch 5.0

En un segundo estudio, Passreiter (1998) aisló y caracterizó tres alcaloides de pirrolizidina no tóxicos a partir de un extracto metanólico de las hojas de *N. lobata*. Por medio de los análisis de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-EM) y resonancia magnética nuclear de protón (RMN¹H), estos compuestos fueron identificados como tussilágina, isotussilágina y un éster metílico de un alcaloide de pirrolizidina (ver figura 4).

Figura 4.

Pirrolizidinas identificadas en hojas de N. lobata



Nota. Imagen propia, 01 de julio de 2014. Estructuras químicas realizadas en ADC/ Labs ChemSketch 5.0

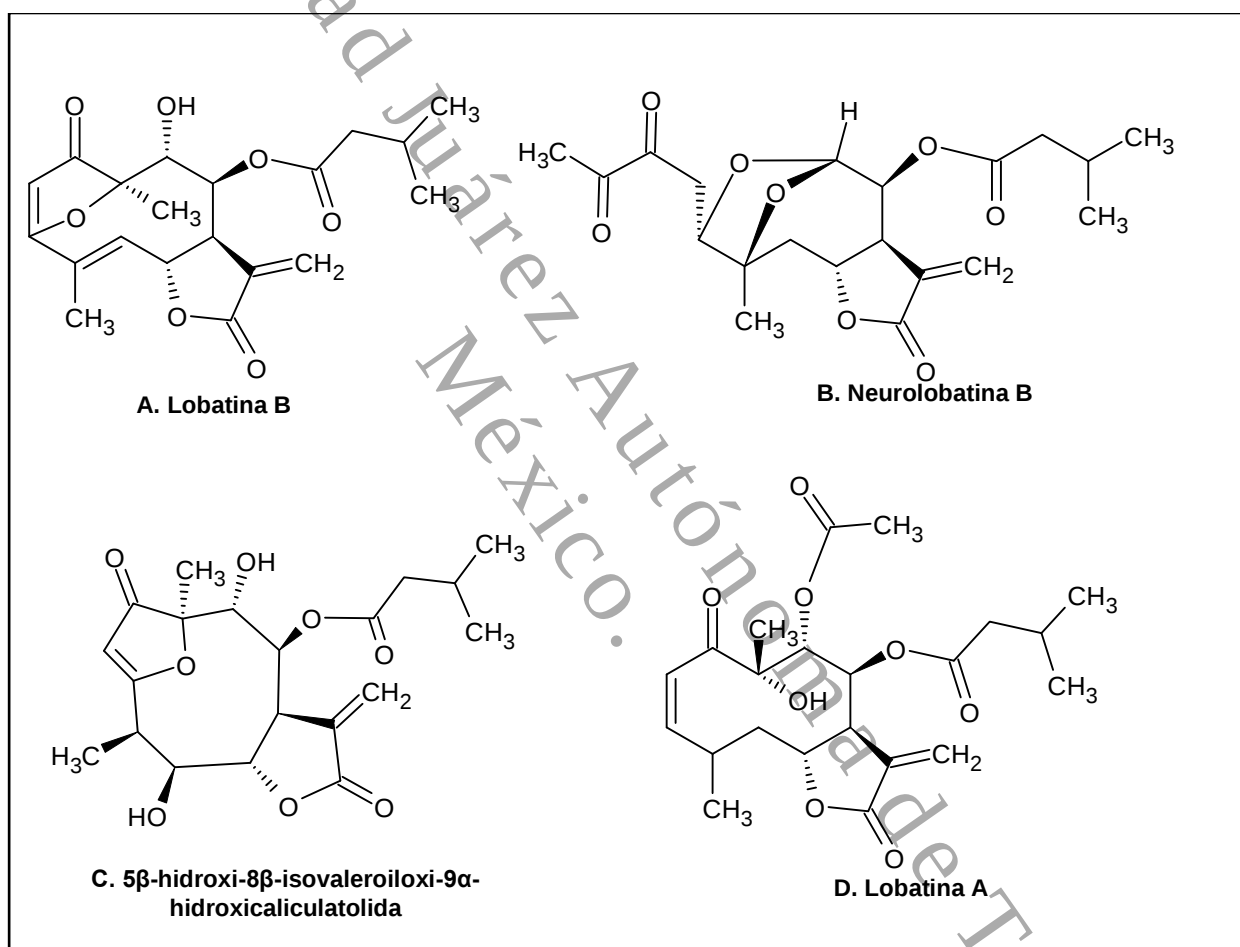
En un tercer estudio, Walshe-Roussel *et al.* (2013) aisló cinco lactonas sesquiterpénicas del extracto crudo etanólico al 80 % de las hojas de esta especie, identificando tres compuestos tipo lactonas germacranólidas (neuroleninas B, C y D), y dos furanoheliangólidos (lobatina B, ver figura 5A; y 8 β -isovalerianiloxi-9 α -hidroxicaliculatolida).

Posteriormente, Latjer *et al.* (2014) aisló cinco lactonas sesquiterpénicas de un extracto de diclorometano de las partes aéreas de la planta seca. Entre los compuestos aislado se encontraron dos lactonas seco -sesquiterpénicas isoméricas con un acetal bicíclico, denominadas neurolobatina A y neurolobatina B (ver figura 5B). Además, se identificaron la 5 β -hidroxi-8 β -isovaleroiloxi-9 α -hidroxicaliculatolida (ver figura 5C), 3-epímero de desacetilisovaleroilheliangina previamente identificada en *Calea megacephala*, y eudesmanolida 3 β -acetoxi-8 β -isovaleroiloxireynosina. En otro estudio, McKinnon *et al.* (2014) purificó ocho lactonas sesquiterpénicas adicionales de las partes áreas de la misma planta, a través de una combinación de extracción con metanol, bipartición con diclorometano y distintas técnicas cromatográficas. Mediante espectrometría de masas y

RMN de protón (^1H) como de carbón (^{13}C), se caracterizaron cinco germacranólidos (neuroleninas A, B, C, D, y la lobatina A; ver figura 5D) y tres furanoheliangólidos (lobatina B, ver figura 5A; 8 β -isovalerianiloxi-9 α -acetoxicaliculatolida y 8 β -isovalerianiloxi-9 α -hidroxicaliculatolida).

Figura 5.

Lactonas sesquiterpénicas purificadas de las partes aéreas de N. lobata



Nota. Imagen propia, 01 de julio de 2014. Estructuras químicas realizadas en ADC/ Labs ChemSketch 5.0

2.2.4 Actividad biológica

Se ha reportado que posee una amplia variedad de propiedades farmacológicas, entre ellas, la antinociceptiva, antiulcerogénica, antimicrobiana, antiprotozoaria contra *Leishmania mexicana*, *L. braziliensis*, *Plasmodium falciparum*, *Trichomonas vaginalis* y

Trypanosoma cruzi; también se le describen efectos de cicatrización e hipoglucemiantes (Gracioso *et al.*, 1998, 2000; Berger *et al.*, 2001; Nayak *et al.*, 2014; Andrade-Cetto *et al.*, 2019). En particular, se ha demostrado el efecto antiinflamatorio y antiproliferativo de los extractos orgánicos de *N. lobata*, atribuidos principalmente a las lactonas sesquitérpenicas en modelos *in-vitro* como *in-vivo*.

Cabe destacar que los estudios *in-vitro* han revelado la capacidad de estos extractos para modular la producción de citocinas proinflamatorias en diversas líneas celulares. Por ejemplo, Walshe-Roussel *et al.* (2013) encontró que el extracto etanólico (EtOH) de las hojas de *N. lobata* regula la producción del factor de necrosis tumoral alfa (TNF) en células de leucemia monocítica humanas (THP-1) estimuladas con lipopolisacáridos (LPS). En otro estudio, Latjer *et al.* (2014) reportó que las lactonas sesquitérpenicas disminuyen la producción de interleucina-8 (IL-8) en células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEctert) inducidas con LPS, mientras que McKinnon *et al.* (2014) observó que las lactonas sesquitérpenicas inhiben la expresión del ARNm del gen para IL-8, reducen la expresión de E-selectina en células HUVEctert y disminuyen la respuesta inflamatoria en un modelo de edema plantar inducido por carragenina.

2.3 Generalidades de la inflamación

La inflamación es la respuesta de células inmunes como no inmunes de un organismo, desencadenada por diversos estímulos que incluye factores físicos, químicos, biológicos, psicológicos o agentes infecciosos. Se caracteriza por la liberación de citocinas inflamatorias (mediadores extracelulares) y activación de mediadores intracelulares, como el factor de transcripción NF- κ B, que promueven la infiltración de leucocitos en el sitio de daño (Chen *et al.*, 2017; Antonelli & Kushner, 2017).

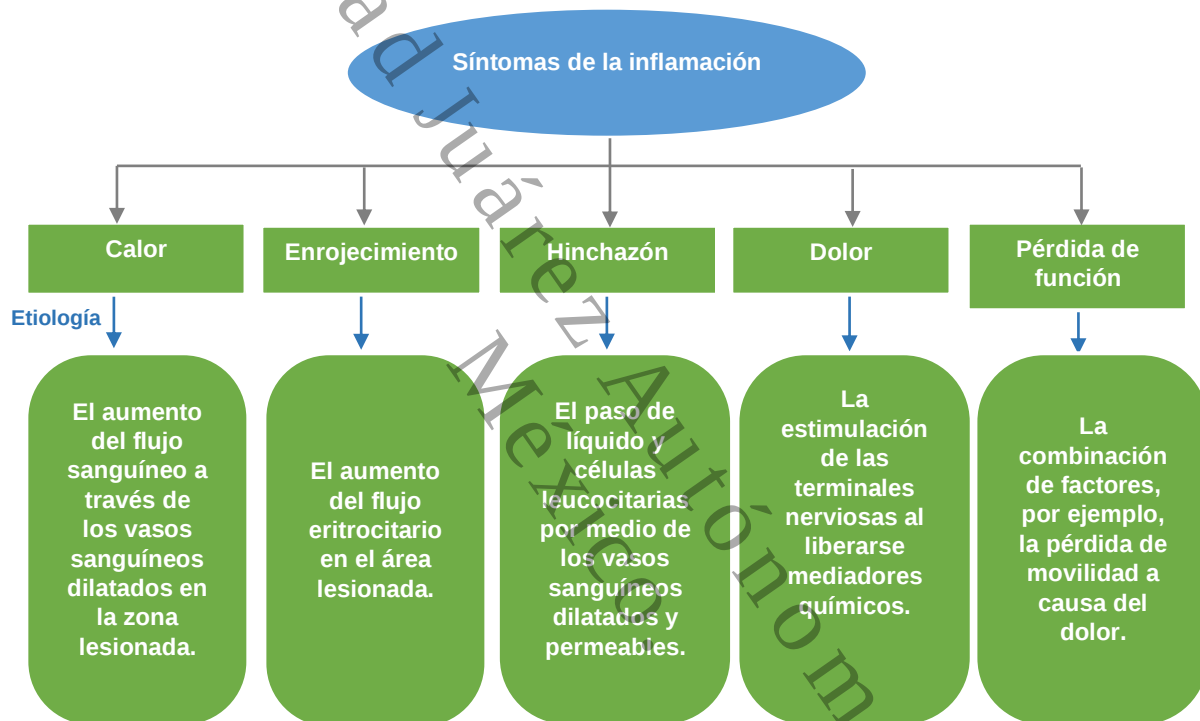
Clásicamente, Aulo Cornelio Celso describió la inflamación como una hemostasia tisular alterada donde los signos cardinales son el enrojecimiento, hinchazón, calor y dolor; a los que Virchow agregó la pérdida de función como un quinto síntoma. No obstante, esta clasificación no es exhaustiva, ya que existen enfermedades inflamatorias que no manifiestan ninguno de ellos (Chandrasoma & Taylor, 1998; Ahmed, 2011; Institute for

Quality and Efficiency in Health Care [IQWiG], 2021). En la figura 6, se detalla cada uno de estos síntomas.

Además, cuando la inflamación se vuelve grave produce otros síntomas sistémicos, destacando la fatiga, el cansancio y trastornos psicológicos (IQWiG, 2021; Pahwa *et al.*, 2023).

Figura 6.

Síntomas de la inflamación



Nota. Información adaptada de Chandrasoma y Taylor (1998) y Punchard *et al.* (2004).

2.3.1 Importancia epidemiológica

La inflamación está presente en muchas patogénesis causadas por infecciones bacterianas, virales, fúngicas o parasitarias; en enfermedades ambientales (inhalación de humo, exposición al amianto, etc.); en enfermedades autoinmunes, intestinales, endocrinológicas, cardiovasculares; así como en enfermedades crónicas, como diabetes, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), alergias y artritis reumatoide (Pahwa *et al.*, 2023; Schmid-Schönbein, 2006).

En 2022, la SSA informó los principales padecimientos en la población mexicana respecto al año anterior en el orden de mayor a menor casos presentados, encontrando las infecciones respiratorias agudas (10 477 481), infecciones de vías urinarias (2 886 014), infecciones intestinales (2 825 735), COVID-19 (2 526 649), úlceras, gastritis y duodenitis (871 175), vulvovaginitis (474 854), y conjuntivitis (455 316). Por su parte, el INEGI presentó las principales causas de muerte registradas en 2022, con la prevalencia de algunas enfermedades mediadas por inflamación: diabetes mellitus tipo II fue la segunda causa de muerte con 115 681 fallecimientos; la COVID-19 con un total de 36 880 decesos; otras enfermedades fueron influenza y neumonía con 30 062 muertes; y EPOC con 18 560 casos. En el siguiente año y durante el primer semestre, INEGI reportó estas mismas enfermedades mediadas por la inflamación dentro de las principales causas de muerte (a excepción de COVID-19): diabetes tipo II con 55 885; influenza y neumonía con 16 386; y EPOC con 9 953 fallecimientos (SSA, 2023; INEGI, 2023, 2024).

2.3.2 Mecanismos de la respuesta inflamatoria

La respuesta inflamatoria inicia con un estímulo que pueden ser de distinta naturaleza, como resultado activan determinados mediadores intracelulares y extracelulares. Sin embargo, convergen un mecanismo que se puede resumir en cuatro pasos: 1) los estímulos dañinos son reconocidos por los receptores de patrones de la superficie celular; 2) se activan las vías inflamatorias; 3) tiene lugar la liberación de marcadores inflamatorios; y 4) se atraen células inflamatorias (Antonelli & Kushner, 2017; Chen *et al.*, 2017).

En el primer paso, la célula huésped identifica la infección o el sitio de daño por medio de receptores transmembranas conocidos como receptores de reconocimiento de patrones (PRR) que detectan patrones de daños asociados a patógenos (PAMP's), patrones moleculares asociados al daño (DAMP's), o inclusive ambas. Dentro de los PRR se encuentran a los receptores tipo Toll (TLR), receptores de lectina tipo C (CLR), receptores RIG-1 (RLR) y receptores tipo NOD (NLR). Mientras que los PAMP's son estructuras microbianas, tal como, el LPS de las bacterias Gram-negativas. Por otro lado, los DAMP's son moléculas endógenas obtenidas del daño tisular (Ahmed, 2011).

En el segundo paso, comienza la dinámica de la transmisión de señales que promueven la activación de genes involucrados en la producción de mediadores pro-inflamatorios, a través de diversas vías de señalización dirigidas al núcleo celular. No obstante, las transducciones de señales de los PRR coinciden con frecuencia en la activación factores de transcripción para citocinas y quimiocinas proinflamatorias, incluida el factor de transcripción NF- κ B siendo de las vías de señalización más estudiadas (Ahmed, 2011; Chen *et al.*, 2017).

En el tercer paso, se liberan las moléculas inflamatorias dependiendo del tipo de estímulo que desencadenó la respuesta. Por ejemplo, en una infección bacteriana las citoquinas proinflamatorias son el TNF, IL-1 β e IL-6, mientras que en una infección viral está presente el IFN-1 (Ahmed, 2011).

En el cuarto paso, las células efectoras como los monocitos y neutrófilos son atraídas al sitio de daño por la presencia de quimiocinas y moléculas co-estimuladores, esta etapa involucra la dilatación de vénulas y arteriolas y aumento de la permeabilidad de los vasos sanguíneos (Henson *et al.*, 1984). Además, se observa una disfunción del tejido a través de la actividad proteolítica y la regeneración de nueva producción humoral para el crecimiento celular y la reforma de tejido conectivo y funcional novedoso a través de una respuesta inflamatoria típica (Schmid-Schönbein, 2006).

Posteriormente, la respuesta inflamatoria va progresando hasta identificar el peligro potencial, de esta forma, inicia el estado de resolución, sin embargo, si esta respuesta orquestada se interrumpe o por algún motivo no llega a solucionarse, entonces contribuye al desorden de órganos y la muerte (Ahmed, 2011; Schmid-Schönbein, 2006). De este modo, la inflamación depende de la duración del proceso, así como de factores inmunológicos para clasificarse en dos fases: fase aguda y fase crónica (Arulselvan *et al.*, 2016).

2.3.3 Fase aguda

La inflamación aguda es inducida por una lesión, invasión microbiana o compuestos nocivos, dicha respuesta es inmediata y ocurre en días (Pahwa *et al.*, 2023).

El estímulo dañino provoca la contracción de los pequeños vasos sanguíneos en el área dañada, proceso producido por mediadores químicos como los autacoides locales (ej. óxido nítrico (NO)) y metabolitos lipídicos. Asimismo, la vasodilatación es causada por otros mediadores químicos derivados de los leucocitos como la histamina y bradicinina, en consecuencia, aumenta el flujo sanguíneo y la presión hidrostática intravascular. A continuación, las paredes de los vasos sanguíneos se vuelven más permeables y el aumento de la presión hidrostática intravascular proporciona un gradiente para la extravasación al exudado (incluye glóbulos blancos, glóbulos rojos, y proteínas como factores de la coagulación y anticuerpos) a través de las vénulas poscapilares hacia el tejido. Para que ocurra la extravasación de leucocitos al sitio de daño, se necesitan de moléculas de adhesión que permitan que los leucocitos se adhieran a la pared endotelial del vaso, por ejemplo, la selectina-P, ligandos de integrinas y selectina-E. Además, el flujo sanguíneo permite romper las uniones entre la selectina y el leucocito, para posteriormente reformar la unión con la siguiente selectina y permitir el rodamiento de estas células. El siguiente paso es la adhesión firme del glóbulo blanco sobre las células endoteliales del vaso, donde aumenta la afinidad del leucocito por medio de las moléculas de antígeno funcional linfocitario-1 (LFA-1) y Mac-1 hacia las moléculas de adhesión células vascular (VCAM-1), provocando que la célula cambie su forma redonda a una esparcida sobre la superficie endotelial para permitir su paso a través de la capa de endotelio, de esta forma, se inicia la extravasación. Después de esta migración, el leucocito sigue una señal quimioatrayente para llegar al sitio de daño. Cabe mencionar que, el macrófago es el leucocito encargado de los cambios vasculares, debido a su producción de citocinas proinflamatorias como TNF, IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 e IL-18, que tienen como resultado una amplificación en la cascada de adhesión leucocitaria. El macrófago también es capaz de sintetizar otros mediadores, tales como, las prostaglandinas, leucotrienos, radicales de oxígenos, NO y peróxido de hidrógeno (Reiguero *et al.*, 2010; Pober & Sessa, 2014).

La inflamación termina cuando se identifica el peligro potencial y se elimina. Esta etapa de resolución es realizada por mecanismos donde intervienen neutrófilos y macrófagos. Uno de los principales mecanismos consiste en parar la infiltración del exudado mediante el agotamiento de quimiocinas. Por ejemplo, la proteólisis de quimiocinas CXC y CC,

causa que los neutrófilos y monocitos no sean atraídos al sitio de inflamación. Otro mecanismo, es la inducción de apoptosis de neutrófilos que llaman a los carroñeros para eliminarlas por contacto entre células. O bien, un macrófago proinflamatorio que cambia a macrófago de resolución (produce citocinas antiinflamatorias) puede eliminar a los neutrófilos apoptóticos (Ahmed, 2011; Ortega-Gómez *et al.*, 2013).

Por otro lado, en el exudado puede haber una gran cantidad de un determinado tipo de leucocito (dependiendo el estímulo de la inflamación) que, acorde a la duración de la respuesta, puede cambiar a otro tipo de leucocito. Esta selectividad se puede deber a un cambio de las moléculas de adhesión que conduce a la activación de linfocitos (CD4⁺, Th1 y Th2) y células efectoras. Por lo tanto, al excederse esta respuesta y al aparecer este tipo de células inmunes, ya se habla de la inflamación en fase crónica (Pober & Sessa, 2014).

2.3.4 Fase crónica

La inflamación crónica o inflamación lenta a largo plazo dura de meses a años tras una exposición prolongada a la estimulación o a una resolución inadecuada contra las moléculas del mismo organismo. La extensión y los efectos de la inflamación crónica son distintos para cada cuerpo, ya que involucran la causa de lesión y la capacidad del organismo para remediar y superar el daño. Se ha informado que la inflamación crónica contribuye a numerosas enfermedades como la aterosclerosis que puede aumentar los eventos del infarto al miocardio y accidentes cerebrovasculares; la enfermedad renal crónica; la enfermedad de Crohn donde aparecen úlceras en el revestimiento del intestino grueso y el recto; la diabetes en la cual se liberan moléculas proinflamatorias por infiltración de macrófagos al tejido pancreático; la artritis reumatoide, el asma, las enfermedades autoinmunes y el cáncer (Germolec *et al.*, 2018; Pahwa *et al.*, 2023).

2.4 Vía de señalización NF- κ B

De acuerdo con Ahmed (2011), la interacción entre los receptores de reconocimiento de patrones (PRR's) y los patrones moleculares asociados a patógenos o daño

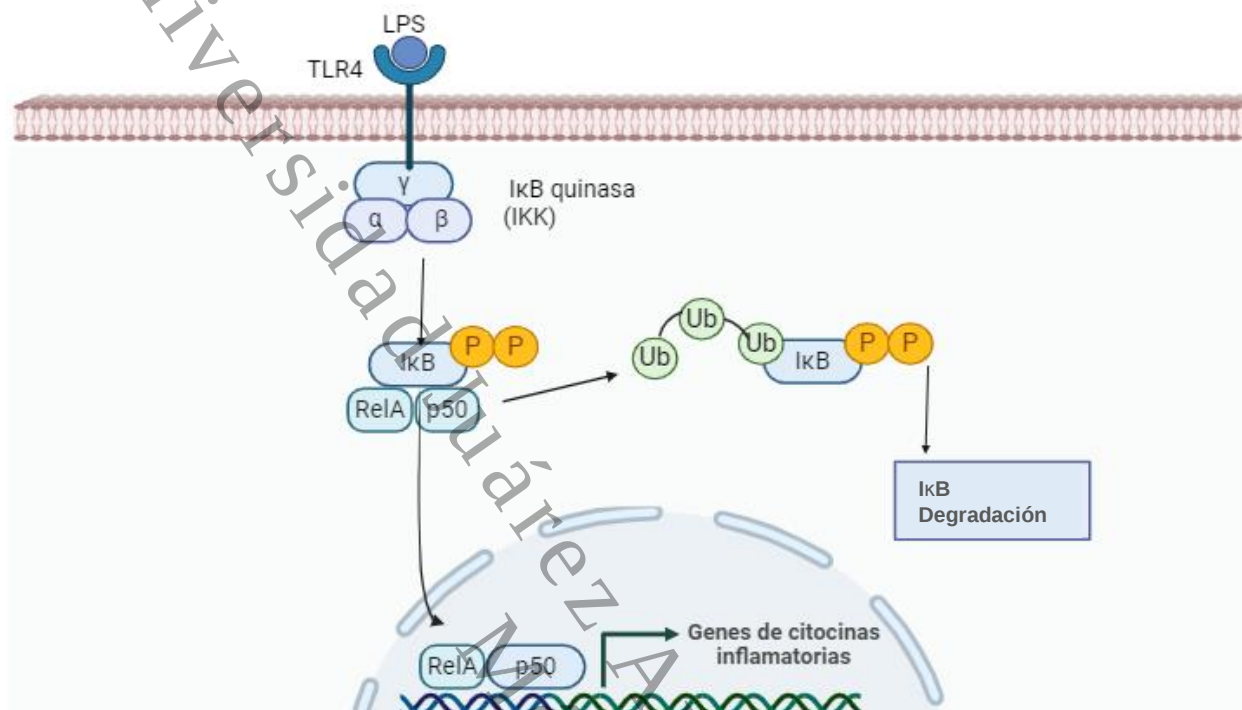
(PAMP's/DAMP's) activan vías inflamatorias hacia el núcleo de la célula para llevar a cabo la transcripción de genes que producen citocinas proinflamatorias (Liu *et al.*, 2017).

El factor de transcripción inducible NF- κ B fue identificado como un regulador de la expresión del gen de la cadena ligera κ en las células B, el cual, se encuentra conformado por una familia proteica de cinco factores de transcripción encontrando a RelA/p65, RelB, c-Rel, p50 (NF- κ B1) y p52 (NF- κ B2). A su vez, esta vía de señalización se ha clasificado en dos tipos: la vía clásica (canónica) y la vía alternativa (no canónica) de acuerdo con Hayden y Ghosh (2012).

En la vía canónica, la cascada de NF- κ B es activada por varios estímulos como el reconocimiento de citocinas (ej. el receptor TNF o IL-1), el reconocimiento de PAMP's por PRR (ej. TLR4), y receptores de antígenos, entre otros. En condiciones fisiológicas y en la vía canónica, los dímeros de NF- κ B se encuentran en estado de reposo en el citoplasma asociado con la proteína cinasa I κ B (IKK) conformada por dos subunidades quinasa IKK α e IKK β , una subunidad reguladora, como IKK γ . Al recibir algún estímulo, este lo lleva a la fosforilación de residuos de serina conservados en I κ B, proceso que conduce a la ubiquitinación de dichos residuos denominados caja de destrucción para degradar las proteínas I κ B, de tal forma, activan sus dímeros. En consecuencia, los dímeros activados Rel A y p50, se desplazan al núcleo y se unen a secuencias específicas del DNA para iniciar la transcripción de genes, proceso que se puede observar en la figura 7. La respuesta transcripcional termina con la resíntesis de las proteínas I κ B típicas y de la eliminación de los dímeros NF- κ B activos del DNA. Por otro lado, la vía no canónica depende de la activación IKK α que fosforila a p100 y produce complejos NF- κ B2/RelB para la traslocación del complejo al núcleo (Lawrence, 2009; Hayden & Ghosh, 2012).

Figura 7.

Vía de señalización NF- κ B activada por vía canónica.



Nota. La vía canónica se activa por el reconocimiento del TLR a moléculas de origen bacteriano como el LPS, que al degradarse el IKKB permite la activación de Rel A para la transcripción de genes de citocinas proinflamatorias.

Imagen adaptada de Lawrence (2009), 17 de junio de 2024. Creada en el software BioRender.

2.5 Función de NF- κ B en macrófagos

Existen agentes celulares inmunes innatos implicados en la inflamación tales como los macrófagos, neutrófilos y células dendríticas (Regueiro *et al.*, 2010). Sin embargo, para estudios de la presente tesis se explicará solamente la función de la vía de señalización NF- κ B en los macrófagos, además de que esta vía se ha estudiado ampliamente. Los macrófagos provienen de los monocitos, células circulantes que se dirigen a órganos y tejidos para diferenciarse en macrófagos. Dependiendo del tejido en donde se encuentre van a presentar distintas formas, no obstante, cumplen con dos funciones: fagocitar y digerir patógenos, así como participar en la respuesta inflamatoria. Esta última función se activa con el reconocimiento patrones moleculares muy conservados

presentes en distintos patógenos como el LPS en bacterias Gram- Negativas (Regueiro *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2017).

En condiciones fisiopatológicas los macrófagos activados se diferencian fenotípicamente en macrófagos activados clásicos (M1) y activados alternativamente (M2). Por un lado, los M1 producen citocinas proinflamatorias entre las que se encuentra al TNF α , IL-1, IL-6, IL-12, IFN-I, quimiocina y ciclooxygenasas. Mientras que los M2 sintetizan citocinas antiinflamatorias como la IL-10 e IL-13, que disminuyen los niveles de citocinas proinflamatorias como la IL-12, además, intervienen en la resolución de la inflamación. El LPS es un activador del TLR4 que conduce a la despolarización del macrófago a M1, además, la proteína MyD88 se activa con la estimulación del TLR para fosforilar los factores de transcripción que terminan en la expresión de citocinas proinflamatorias. La vía de señalización del TLR también es dependiente de TRIF para inducir genes por IFN y mediar los IFN-I. Esta vía permite atraer proteínas TRAF a TRIF para activar la cinasa 1 a unión a TANK e IKK ϵ , al activarse se induce la dimerización de IRF3, que induce la transcripción de IFN-I, IFN- α e IFN- β (Kawai & Akira, 2010; Wang *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2017).

En este sentido, la función proinflamatoria de NF- κ B está relacionada con el aumento de la producción de citocinas y quimiocinas inflamatorias. Además de regular la proliferación celular, la apoptosis, la morfogénesis y la diferenciación (Liu *et al.*, 2017).

2.6 Tratamientos de la inflamación

Los esteroideos y los AINE's son los dos grupos de fármacos considerados antiinflamatorios que permiten tratar la inflamación (Josep, 2014). Por otra parte, la dieta y el estilo de vida son factores clave para eliminar los desencadenantes de la inflamación, como señala Pahwa *et al.*, (2023). Estas alternativas pueden ser:

- *Disminuir el consumo de sal:* para moderar el estrés oxidativo, evitando la producción de citocinas proinflamaorias en células mononucleares como Th17, relacionado a la aparición de enfermedades autoinmunes (Klenewietfeld *et al.*, 2013).

- *Emplear aceites de origen vegetal:* debido a que, los aceites monoinsaturados como el aceite de oliva, ayudan a contrarrestar la inflamación al regular las vías de señalización intracelulares y la expresión genética (Volpe *et al.*, 2015; Kurowska *et al.*, 2023).
- *Consumir frutos secos:* un estudio realizado por Gorji *et al.* (2018), encontró que el consumo de almendras, avellanas y nueces puede ser un factor para mejorar en padecimientos relacionados con la neuroinflamación crónica. En otra revisión hecha por Pahwa *et al.* (2023), se informa que las almendras están relacionadas con la reducción del riesgo de enfermedades cardiovasculares y diabetes.
- *Emplear la dieta de bajo índice glucémico:* para reducir la ingesta de alimentos con altos contenidos de carbohidratos refinados que provocan el aumento de los niveles de glucosa en sangre y están en relación con el alto riesgo de padecer enfermedades crónicas (ej., diabetes mellitus tipo II), ya que, elevan las concentraciones de marcadores de la inflamación como PCR, TNF- α , IL-1 β y IL-6. Por lo que, se debe evitar el consumo de alimentos inflamatorios como refrescos embotellados, pan, pasta y jarabe de maíz con fructosa (Pahwa *et al.*, 2023; Kurowska *et al.*, 2023).
- *Reducir la ingesta de grasas saturadas totales y grasas trans:* busca disminuir el consumo de alimentos horneados, procesados y ultraprocesados. Así como, las carnes y los lácteos que pueden contribuir a una mayor carga de grasas saturadas y trans que aumentan la producción de citocinas proinflamatorias IL-1, IL6 y TNF- α . Por otro lado, el aceite de pescado aporta grasas poliinsaturadas omega-3 que actúan como antiinflamatorio al estar asociado con la reducción de niveles de TNF- α , PCR e IL-6 (Pahwa *et al.*, 2023; Kurowska *et al.*, 2023).
- *Incrementar el consumo de frutas y verduras:* pueden proteger contra la inflamación reduciendo los niveles de citocinas inflamatorias, NO y estrés oxidativo, por lo que se recomiendan alimentos naturales con altos contenidos de antioxidantes y polifenoles, por ejemplo, los arándanos, las manzanas, las coles de Bruselas, el repollo, el brócoli y la coliflor. De igual forma, los alimentos de origen vegetal aportan fibra soluble e insoluble que pueden reducir los niveles de IL-6 y TNF- α (Pahwa *et al.*, 2023; Kurowska *et al.*, 2023).

- *Añadir micronutrientes a la dieta:* magnesio, vitamina D, vitamina E, zinc y selenio. El magnesio figura como uno de los factores dietéticos más antiinflamatorios, y su ingesta está asociada con la disminución de la actividad de hsCRP, IL-6 y TNF- α . La vitamina D ejerce su actividad antiinflamatoria mediante la supresión de mediadores inflamatorios como las prostaglandinas y el factor NF- κ B. La vitamina E, el zinc y el selenio actúan como antioxidantes en el cuerpo (Pahwa et al., 2023).
- *Usar hierbas y especias:* representan otra alternativa en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, ya que, principalmente presentan altos contenidos de ácidos fenólicos, flavonoides y terpenos. Algunos ejemplos son el jengibre, la cúrcuma, ajo, el cannabis, las semillas de sésamo (el aceite de sésamo reduce la síntesis de prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos), el hisopo y el *Harpagophytum procumbens* tienen propiedades antiinflamatorias, sin embargo, siempre se debe consultar con un médico antes de su uso (Pahwa et al., 2023; Kurowska et al., 2023).
- *Realizar ejercicio físico:* en una revisión hecha por Duchnik et al. (2023), notó que realizar ejercicio moderado puede traer beneficios en la salud de las personas, entre ellos, la de amortiguar la respuesta antiinflamatoria y coadyuvar en el tratamiento dietético de la misma.

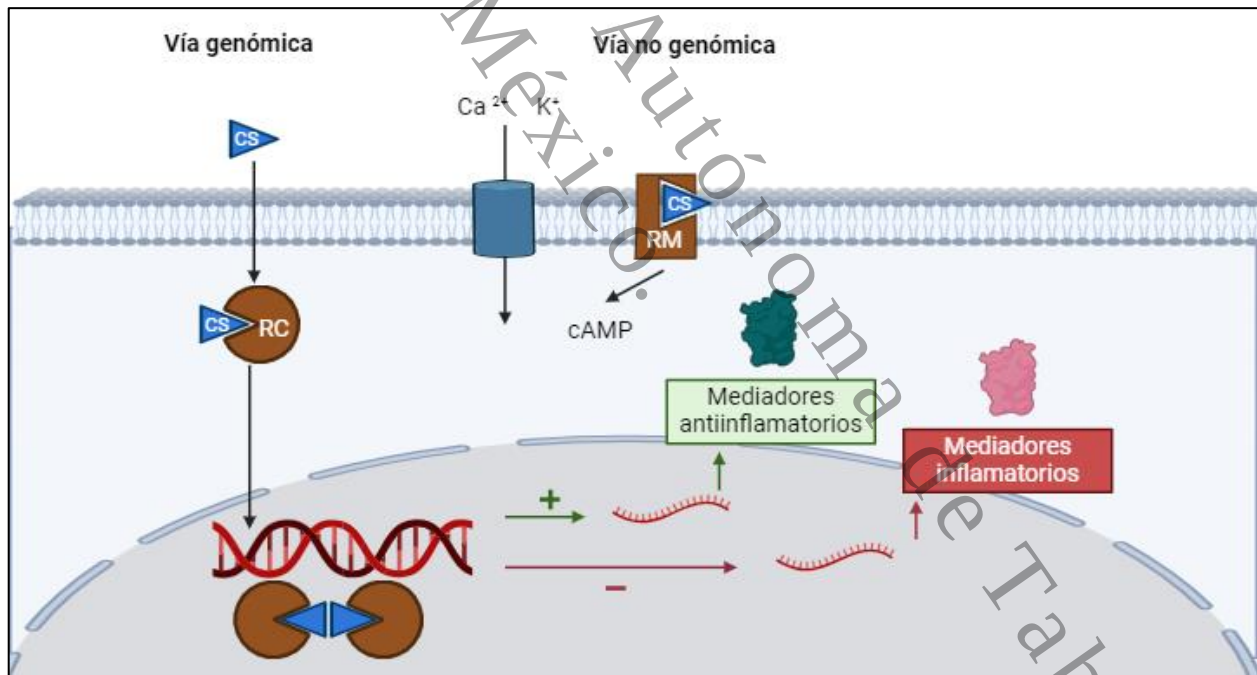
2.6.1 Antiinflamatorios esteroideos (Corticoides)

Los corticoides son hormonas esteroideas producidas por la corteza suprarrenal, o bien, semisintéticas de estructuras y efectos farmacológicos similares a los primeros que están implicados en varios mecanismos en la inflamación. Los esteroides se originan del mismo precursor el colesterol, sin embargo, se diferencian por su función hormonal: los mineralocorticoides mantienen el equilibrio de Na⁺ y K⁺, los glucocorticoides regulan el metabolismo de la glucosa, y los andrógenos suprarrenales complementan a los esteroides sexuales sintetizados en las gónadas. En consecuencia, estos fármacos ejercen su acción mediante múltiples vías bioquímicas, destacando los mecanismos genómicos y no genómicos (Josep, 2014; Fox, 2021; Hodgens y Sharman, 2023).

En el mecanismo genómico interaccionan los corticoides con los receptores glucocorticoides citoplasmáticos para el desplazamiento de este complejo al núcleo y su unión en regiones promotoras del ácido desoxirribonucleico (ADN) que inducen la transcripción de genes para moléculas antiinflamatorias, entre ellas, IL-10 y la lipocortina-1. La transrepresión es otro mecanismo de esta clase donde ocurre la inhibición de los factores de transcripción (ej. NF- κ B) mediante la activación del receptor por su ligando, en consecuencia, los genes para citocinas proinflamatorias no se transcriben. Por otro lado, el mecanismo no genómico implica la activación de receptores intracelulares y/o asociados a la membrana (ver figura 8). Proceso que desencadena variadas interacciones, incluso la inhibición de la fosfolipasa A₂ (Sibila *et al.*, 2017; Ericson-Neilsen y Kaye, 2014).

Figura 8.

Mecanismo de acción antiinflamatorio de los corticosteroides



Nota. Los esteroides actúan como antiinflamatorios mediante tres vías: la transactivación permite la transcripción de agentes antiinflamatorios, la transrepresión inhiben la síntesis de moléculas inflamatorias y el incremento de mensajeros antiinflamatorios por receptores de membrana.

Imagen adaptada de Sibila *et al.* (2017), 19 de septiembre de 2024. Creada en el software BioRender.

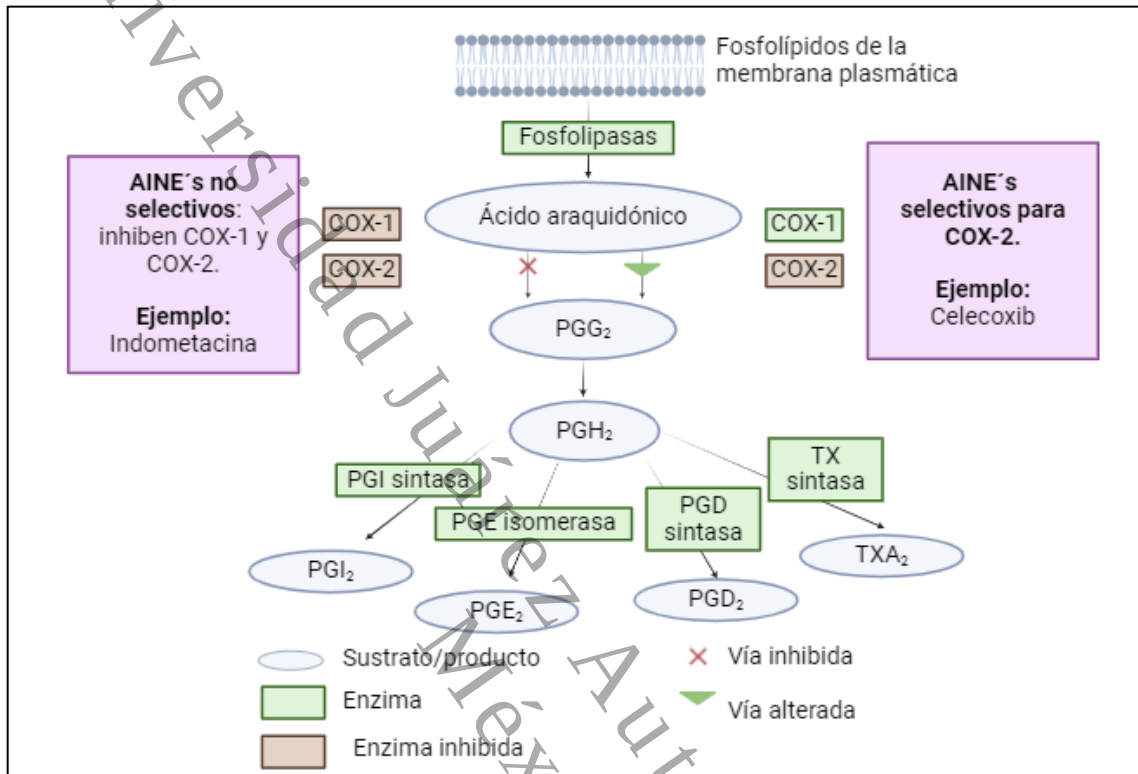
Los fármacos antiinflamatorios del grupo esteroideal se recetan en la artritis inflamatoria, el lupus sistémico, la sarcoidosis y el asma. No obstante, puede producir efectos secundarios negativos sobre las funciones metabólicas del organismo. Algunos de estos fármacos son dexametasona, hidrocortisona y prednisona (Pahwa *et al.*, 2022; Josep, 2014). Mientras que el efecto mineralocorticoide se ha empleado para los trastornos relacionados a la producción de estas hormonas esteroideas, tales como la deficiencia de la aldosterona sintasa, o bien, un exceso de mineralocorticoides (ej., síndrome de Cunn). Dentro de esta categoría de sustancias químicas se encuentra la aldosterona y la fludrocortisona (Ericson-Neilsen y Kaye, 2014).

2.6.2 Antiinflamatorios no esteroideos (AINE's)

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE's) son fármacos de distintas estructuras químicas que inhibe la enzima ciclooxigenasa (COX) involucradas en la síntesis de prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos. Estas sustancias presentan efecto antiinflamatorio, antipirético y analgésico, sin embargo, así como bloquean la inflamación también puede ocasionar efectos no deseables como la aparición de úlceras gastroduodenal (Lanas *et al.*, 2014). El principal mecanismo de acción de este grupo de fármacos es el bloqueo de la enzima COX, que convierte al ácido araquidónico proveniente de los fosfolípidos de la membrana plasmática en prostaglandinas, la cual, pertenece a una familia de lípidos llamada eicosanoides, y por acción enzimática se convierten en otras prostaglandinas, como se observa en la figura 9.

Figura 9.

Mecanismo de acción de los AINE's.



Nota. Las prostaglandinas son productos del ácido araquidónico. Al administrar los antiinflamatorios no esteroideos (AINE's), se bloquea la vía principal de las prostaglandinas mediante la inhibición enzimática de las ciclooxigenasas. COX-1 y COX-2, ciclooxigenasas 1 y 2; PGG₂, PGH₂, PGE₂ y PGD₂, prostaglandinas G₂, H₂, E₂ y D₂; PGI₂, prostacilinas; TXA₂, tromboxano A₂; TX, tromboxano.

Imagen adaptada de Lucas (2016) y Fox (2021), 19 de septiembre de 2024. Creada en el software BioRender.

Las prostaglandinas se encuentran en casi todas las células y cumplen con funciones reguladoras a nivel sistémico. Actualmente, se conoce la existencia de dos isoenzimas de la COX: la COX-1 se encuentra de forma constitutiva en el organismo, mientras que la COX-2 se expresa de forma inducible por citocinas en la respuesta inflamatoria. Por lo anterior, el efecto antiinflamatorio observado es resultado de la inhibición específica de estas isoenzimas, asimismo, los efectos adversos. Por lo que diversas investigaciones se han centrado en el desarrollo de AINE's de la siguiente generación con el objetivo de

disminuir los efectos negativos sobre la mucosa gástrica, al ser preferentemente selectivos para COX-2 (Fox, 2021).

Por una parte, los AINE's tradicionales son fármacos que actúan inhibiendo una enzima ciclooxigenasa, ya sea, COX-1 o COX-2. Algunos de estos principios activos son el ibuprofeno, diclorofenaco, naproxeno, aceclofenaco y el ácido acetilsalicílico. La indometacina también es un fármaco de este grupo, siendo un derivado del ácido indol acético nombrada químicamente como ácido 1-(*p*-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metilindol-3-acético. Esta sustancia ha sido empleada principalmente para el tratamiento del dolor musculoesquelético crónico y algunos tipos de artritis (reumatoide, espondilitis anquilosante, gota y osteoartritis), por su acción al bloquear inespecíficamente a la COX-1 para la consecuente disminución de protaciclina (PGI_2) y prostaglandina E_2 (PGE_2) (Josep, 2014; Lanás *et al.*, 2014; Lucas, 2016; Fox, 2021).

Por otro parte, los inhibidores selectivos para COX-2 son fármacos como celecoxib, etoricoxib, lumiracoxib, parecoxib y rofecoxib que bloquean los mecanismos de la inflamación y evitan bloquear los mecanismos protectores de la COX-1 pero eso no indica que el fármaco no produzca efectos secundarios al administrarse con frecuencia (Josep, 2014; Lanás *et al.*, 2014).

2.7 Reacciones adversas de los fármacos antiinflamatorios

El tratamiento farmacológico de la inflamación consiste en el uso de corticoides y de AINE's, no obstante, estos fármacos pueden causar efectos adversos por su uso a largo plazo, o bien, por utilizar dosis altas de estos fármacos para el caso de los corticoides (Lanás *et al.*, 2014; Koshi *et al.*, 2022).

Empezando con los corticoides, pueden provocar efectos adversos como problemas gastrointestinales, dermatológicos, diabetes, osteoporosis, supresión suprarrenal, dislipidemias, inmunosupresión, trastornos mentales por su uso prolongado. Además, está relacionado a problemas cardiovasculares a causa de terapias con dosis elevadas de dichos fármacos (Liu *et al.*, 2013; Koshi *et al.*, 2022).

Por su parte, Lanás *et al.*, (2014) observó que el uso recurrente de los AINE's puede conducir a riesgos cardiovasculares (CV) como el síndrome coronario agudo (SCA), y episodios CV de carácter aterotrombótico (accidente cerebrovascular y problemas

arteriales periféricos). Además, se asocia a lesiones y complicaciones del tracto gastrointestinal, disminución de la función renal y enfermedades hematológicas, tal como, anemia.

En otro estudio, Davis y Robson (2016) observaron que los AINE's clásicos causan mayor riesgo de presentar hemorragia gastrointestinal mientras que los selectivos para COX-2 aumentan la probabilidad de los episodios CV. Además, Bindu *et al.*, (2020) observó que el uso de estos fármacos trae consigo el efecto citotóxico subyacente en varios órganos, principalmente en seis órganos esenciales para la vida, entre ellos, los intestinos, hígado, corazón, riñones, tracto respiratorio y cerebro. En los intestinos, los AINE's disminuyen la producción de mucosa gástrica y la función de barrera de la mucosa gástrica, debido a que probablemente, se inhibe la COX-1. Mientras que en el corazón puede aumentar el riesgo a padecer hipertensión e insuficiencia cardíaca, no obstante, la aspirina puede prevenir la trombosis a dosis bajas. También en el hígado se ven afectados al provocar hepatotoxicidad aguda y crónica, aunque estos casos ocurren en menor medida que las complicaciones gastrointestinales. Así mismo, en los riñones causa la apoptosis celular, otras complicaciones son la glomerulonefritis, hiponatremia e hipercalcemia. En el cerebro, la aspirina puede aumentar el riesgo de hemorragias intracerebral. En el tracto respiratorio puede haber una respuesta exacerbada por la aspirina que provoca enfermedades relacionadas a la inflamación como el asma y rinitis. En otro estudio más reciente, Wirth *et al.* (2024) informó que el uso de AINE's puede conducir a la hipersensibilidad a fármacos, también se relaciona con la toxicidad fetal cuando estos fármacos se toman después de las 24 semanas de gestación.

2.8 Evaluación de la actividad antiinflamatoria *in-vitro*

Algunas estrategias experimental *in-vitro*, han sido desarrolladas para evaluar el efecto antiinflamatorio de diversos tratamientos, entre ellos compuestos de origen sintético; extractos, fracciones y/o compuestos derivados de plantas, lo que ha contribuido a la descripción del mecanismo de acción. Además, estos ensayos preclínicos permiten establecer si estos nuevos compuestos procedentes de la medicina tradicional y convencional, pueden ser una opción redituable para el tratamiento farmacológico en humanos (Martínez-Rizo *et al.*, 2024). Por otro lado, estos ensayos *in-vitro* permiten

aplicar la opción del remplazo sustituyendo en cierta medida el uso de los animales de experimentación por cultivos celulares. También se han establecidos métodos estándar para evaluar la inflamación utilizando células inmunes o queratinocitos. Estas células se obtienen inicialmente de tejidos para luego cultivarlas, o bien, se adquieren líneas celulares inmortalizadas del mercado para evaluar la inflamación (Pérez-Salas *et al.*, 2023).

Peng *et al.* (2021), recopiló las líneas celulares neuronales empleadas para evaluar el efecto antiinflamatorio en trastornos neurológicos, entre ellas, la línea celular feocromocitoma suprarrenal de rata (PC12), la línea neuroblastoma humana (SH-SY5Y), la línea de neuroblastoma cerebral de ratón (N2a), las células microgliales derivadas de macrófagos de ratón (BV2), las células microgliales derivadas del cerebro del ratón (N9), las líneas de astrocitos humanos (HA) y las células endoteliales microvascular del cerebro humano (HBMEC).

En otro trabajo realizado por Carola *et al.* (2021), se utilizó la línea celular de queratinocitos humanos (HaCaT), caracterizadas por sintetizar la citocina proinflamatoria IL-18, frente al estímulo con la quimiocina CCL22. También emplearon la línea celular de monocitos humanos (THP-1) diferenciadas en macrófagos y estimuladas con LPS para la inducción de COX-2. Ambas líneas celulares permitieron evaluar el efecto antiinflamatorio de *N*-feruloilserotonina de un extracto orgánico de *Centaurea cyanus*.

En el estudio de Sivinski *et al.* (2020), se empleó la línea celular RAW-Blue derivada de macrófagos murinos RAW 264.7 y estimuladas con LPS para determinar el efecto antiinflamatorio de los componentes de los alimentos, como el ácido láurico.

Esta última línea celular, puede reconocer moléculas de LPS a través del TLR4 de su superficie, activando la vía NF- κ B y la consiguiente producción de citocinas proinflamatorias. Dicha vía, se puede evaluar gracias a la modificación genética de las RAW-Blue, ya que, expresan un gen indicador de fosfatasa alcalina (FA) que se activa con los elementos de respuesta para NF- κ B. Por lo tanto, las RAW-Blue evalúan la respuesta del NF- κ B y la actividad de la FA mediante un ensayo colorimétrico.

(utilizando QUANTI-Blue™) que se mide por absorbancia en un lector de placas (RAW-Blue cells, 2024).

3. Justificación

La inflamación ha sido correlacionada con diversos padecimientos de tipo crónico-degenerativo asociados a los principales problemas de salud que afectan a millones de personas (Pahwa *et al.*, 2023). Asimismo, en México enfermedades como diabetes, EPOC, neumonía, influenza, úlceras, gastritis, obesidad, entre otras, están asociadas a la inflamación, según informes de la SSA (2023) e INEGI (2023, 2024). En estas enfermedades la respuesta inflamatoria de tipo crónico puede generar lesiones graves en órganos y tejidos, resultando en periodos de tratamiento prolongados y aumento en los costos económicos para el paciente y para los sistemas de salud (Wylezinski *et al.*, 2019). Sumado a esto, el tratamiento actual consiste en utilizar fármacos antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos (AINE's) para aliviar la inflamación, sin embargo, presentan limitaciones por los efectos adversos que pueden provocar. De hecho, en diversos estudios se ha reportado que al utilizar con frecuencias fármacos antiinflamatorios causa diversos problemas cardiovasculares, y gastrointestinales (Lanas *et al.*, 2014; Koshi *et al.*, 2022).

En este contexto, resulta de especial interés conocer nuevas alternativas para el tratamiento de la inflamación a partir de plantas que han sido empleadas en la medicina tradicional mexicana. Una de estas plantas es *N. lobata*, utilizada para el tratamiento de padecimientos relacionados a la inflamación, además se ha reportado la presencia de metabolitos que podrían estar relacionados a mitigar el proceso de inflamación. Por lo tanto, se pretende aportar bases científicas de la especie en estudio a beneficio de investigaciones futuras que permitan desarrollar nuevos productos herbolarios con un perfil de seguridad, eficacia, accesible y asequible a la población mexicana.

4. Pregunta de investigación

- ¿Qué tipo de compuestos químicos presentes en los extractos orgánicos de *N. lobata* serán capaces de inhibir la expresión del NF- κ B en el modelo del cultivo celular de las RAW-Blue estimuladas con LPS?

5. Hipótesis

Los extractos orgánicos de las partes aéreas de *Neurolaena lobata* (L.) Cass., ejercerán un efecto inhibitorio sobre la expresión de NF- κ B en las células RAW-Blue al ser estimuladas con LPS, como medida de su capacidad antiinflamatoria, debido a su contenido de ácidos fenólicos y flavonoides.

6. Objetivos

6.1 Objetivo general

- Evaluar el efecto de los extractos orgánicos de *Neurolaena lobata* (L.) Cass., sobre la expresión de NF- κ B en cultivo de células RAW-Blue estimuladas con el agente pro-inflamatorio LPS y cuantificar su contenido metabólico.

6.2 Objetivos específicos

- Obtener extractos de las partes aéreas de *N. lobata* con disolventes de polaridad creciente (*n*-hexano, acetato de etilo y etanol).
- Cuantificar el contenido metabólico de polifenoles y flavonoides totales de los extractos orgánicos de *N. lobata*.
- Medir la capacidad de los extractos orgánicos de *N. lobata* para inhibir la expresión de NF- κ B de las células RAW-Blue estimuladas con LPS, como medida de su efecto antiinflamatorio.
- Comparar el contenido químico de cada uno de los extractos orgánicos de *N. lobata* y asociarlo a la actividad biológica.
- Identificar los compuestos mayoritarios presentes en el extracto orgánico de *N. lobata* con mayor actividad antiinflamatoria.

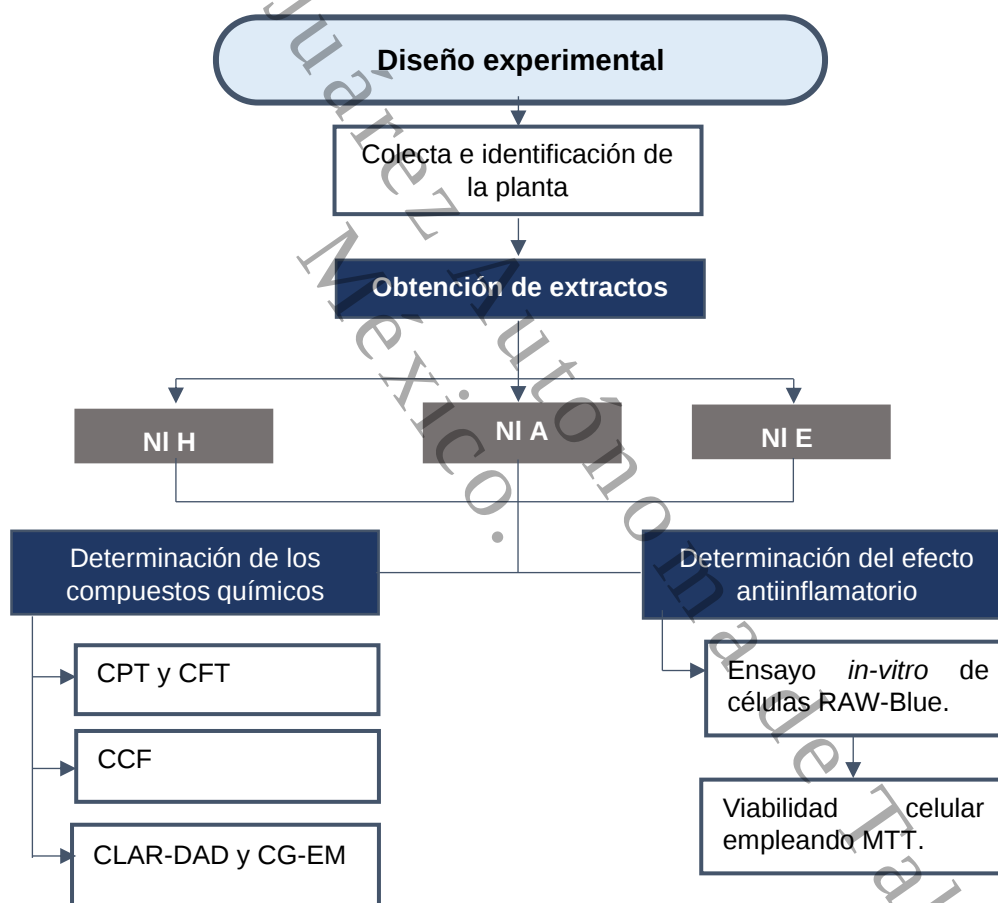
7. Metodología

7.1 Diseño experimental

En el presente estudio, se evaluó la actividad antiinflamatoria de tres extractos de Quina verde en células RAW-Blue, así mismo, se realizaron pruebas cualitativas como cuantitativas para la determinación de los compuestos químicos relacionados con esta actividad. En la figura 10, se observa el diseño experimental seguido en este trabajo de investigación.

Figura 10.

Procedimiento experimental



Nota. NI H, A, E: Extracto hexánico, de acetato de etilo y etanólico, respectivamente. CPT y CFT: cuantificación de polifenoles y flavonoides totales, CCF: cromatografía en capa fina, CLAR-DAD: cromatografía líquida de alta resolución acoplada al detector de arreglo de diodos, CG-EM: cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

En este trabajo experimental, se mantuvieron condiciones adecuadas empleando controles experimentales, además de los grupos de tratamientos conformados por los extractos de *N. lobata*. De acuerdo con la definición de variables de Kaliyadan y Kulkarni (2019), se manejó como variable dependiente la inhibición de la expresión de NF- κ B ante el estímulo de LPS, como medida del efecto antiinflamatorio provocado por el fármaco control (indometacina) y los tratamientos derivados de *N. lobata*.

7.2 Colecta e identificación de *N. lobata*

Se recolectaron plantas silvestres de *Neurolaena lobata* (L.) Cass., (Familia Asteraceae) en el jardín botánico “El Jardín de Dios”, de la localidad: Ejido Zunú y Patastal Km.15, Tacotalpa, Tabasco (altitud 20 msnm, latitud 17° 28' 29.7" norte y longitud 92° 48' 40.1" oeste). Posteriormente, un ejemplar con número de registro 37114 fue identificado por la Dra. Nelly del Carmen Jiménez Pérez, Curadora de la Colección de Plantas Vasculares Herbario UJAT de la División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (DACBiol-UJAT).

7.3 Obtención de los extractos orgánicos de *N. lobata* (L.) Cass.

Se adaptó la metodología descrita por Parédes *et al.* (2019) para la extracción de metabolitos a partir de las partes aéreas (flores, hojas y ramas) de *N. lobata*. El material vegetal fue secado y pulverizado utilizando un molino manual de la marca Estrella®. Posteriormente, se realizaron maceraciones sucesivas de 24 h a temperatura ambiente (28° C) empleando disolventes de polaridad ascendente: *n*-hexano, acetato de etilo y etanol, respectivamente.

El primer macerado fue preparado con 100 g de material vegetal seco y pulverizado, los cuales se mezclaron con 1L de *n*-hexano. Posteriormente, el macerado fue filtrado para separar los residuos sólidos del líquido obtenido. El filtrado fue sometido a un proceso de destilación a presión reducida con el apoyo de un equipo de Rotavapor® R-100 de la marca BUCHI; India. Mientras que el residuo se secó hasta peso constante en el desecador, una vez seco se siguió con acetato de etilo y luego con etanol. Este

procedimiento fue efectuado por triplicado para cada uno de los disolventes. Los extractos obtenidos fueron denominados NI H (*n*-hexano), NI A (acetato de etilo) y NI E (etanol). Además, los extractos fueron conservados a 6°C en un refrigerador (TVC28 Torrey, México) hasta el momento de su evaluación.

7.4 Determinación del Contenido de Flavonoides Totales (CFT)

7.4.1 Curva de calibración con patrón de rutina

Para la evaluación del contenido de flavonoides totales por el método del cloruro de aluminio (AlCl_3), se siguió el procedimiento descrito en el punto 6.3.6 del PROY-NOM-003-SAG/GAN-2016 con algunas modificaciones y se utilizó como patrón a la rutina (Pękal & Pyrzynska, 2014). Se inició preparando una solución patrón de rutina (10 mg de rutina en 10 mL de metanol) de 1000 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. A partir de esta disolución, en tubos de ensayo protegidos de la luz solar, se preparó 2.5 mL de disoluciones diluidas para obtener cinco patrones a distintas concentraciones: 10, 20, 30, 40 y 50 ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$); se tomó respectivamente 25, 50, 75, 100 y 125 (μL). Posteriormente, se agregó 75 μL de nitrato de sodio (NaNO_2) al 5% y se esperó 5 minutos. Luego se añadió 150 μL de cloruro de aluminio (AlCl_3) al 10 % y se esperó 6 minutos. El siguiente paso fue aforar hasta los 2000 μL agua destilada y se agregó 500 μL de hidróxido de sodio (NaOH) 1 M. El volumen final fue de 2500 μL y se realizó la lectura a 510 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Genesys™10S Thermo Fisher Scientific™).

7.4.2 Análisis de los flavonoides en los extractos orgánicos de *N. lobata* (L.) Cass.

Garrido *et al.*, (2013) describió que la medición se realiza contra un blanco, que en este fue metanol. Mientras que los extractos fueron reconstituidos en metanol a una concentración de 1 mg/mL, se tomaron 100 μL de estas y se trataron de igual manera que los patrones de rutina. Finalmente, se leyó por triplicado cada dilución de los extractos orgánicos a 510 nm en un espectrofotómetro UV-Vis. Los resultados se expresaron en mg Eq (equivalentes) rutina/ g extracto de acuerdo con lo indicado en el PROY-NOM-003-SAG/GAN-2016.

7.5 Determinación del Contenido de Polifenoles Totales (CPT)

7.5.1 Curva de calibración con patrón de ácido gálico

Para la determinación de CPT, se siguió el punto 6.3.5 del PROY-NOM-003-SAG/GAN-2016 y se utilizó el método espectrofotométrico de *Folin- Ciocalteu* (FC) descrito por García *et al.* (2020), con algunas modificaciones. Se inició con la preparación de una disolución concentrada de ácido gálico 100 µg/mL. A partir de esta de disolución, en tubos de ensayo protegidos de la luz solar, se prepararon 2 mL de disoluciones diluidas para obtener cinco patrones a distintas concentraciones: 1, 2, 4, 6, 7 (µg/ mL); se tomaron respectivamente 20, 40, 80, 120 y 140 (µL). Seguidamente, fue pipeteado 1480, 1460, 1420, 1380 y 1360 (µL) de agua destilada, respectivamente. Posteriormente, se agregó 250 µL del reactivo de FC y se esperó 6 minutos. Luego, se adicionó 250 µL de carbonato de sodio (Na₂CO₃) al 20 %. El volumen final fue 2000 µL y se leyó a 760 nm en el espectrofotómetro UV-Vis.

7.5.2 Análisis de polifenoles en los extractos orgánicos de *N. lobata* (L.) Cass.

En tubos de ensayo bajo oscuridad, se agregaron 100 µL del extracto y se sometieron al mismo tratamiento que en la curva de calibración. Los extractos fueron reconstituidos en metanol a una concentración de 5 mg/ mL. La prueba se realizó por triplicado a 760 nm para cada análisis, se obtuvo el valor medio de absorbancia y el contenido de compuestos fenólicos totales expresados en mg Eq ácido gálico/g de extracto como indica el PROY-NOM-003-SAG/GAN-2016.

7.6 Identificación química preliminar mediante cromatografía en capa fina (CCF)

Los extractos orgánicos se reconstituyeron con el mismo disolvente de su extracción. Para la prueba de CCF fase normal, se empleó como fase estacionaria sílice gel 60 F₂₅₄ y como fase móvil los disolventes *n*-hexano: acetato de etilo en proporción 95:5, 8:2 y 7:3 (Wagner & Bladt, 1996). Donde los compuestos apolares o menos polares eluyeron más rápido mientras que los compuestos polares quedaban más retenidos. Por otro lado, la CCF fase reversa, permitió observar que los compuestos más polares eluyen más rápido

que los compuestos menos polares, gracias a la RP-18 60 F₂₅₄ s placa de gel sílice (octadecil sílice) modificada y desarrollada en un sistema agua: acetonitrilo a proporción 5:5 (Sjursnes *et al.*, 2014).

Las medidas de las placas fueron de 4 x 2.5 (cm); con ayuda de capilares se colocaron los extractos al comienzo en una línea con separación de 0.5 cm de ancho entre cada extracto. De acuerdo con Wagner & Bladt (1996), después de eludir en el sistema correspondiente, las placas se observaron en lámpara reveladora en UV-254 nm (luz ultravioleta de longitud de onda corta) para detectar sustancias que apagan fluorescencia. En placas de CCF, los compuestos con dobles enlaces C=C en la conjugación, aparecieron como áreas oscuras sobre un fondo fluorescente de color amarillo verdoso. Mientras que luz ultravioleta de longitud de onda larga (UV-365 nm), se detectaron sustancias fluorescentes azules.

Además, como revelador se empleó el reactivo de Komarowsky (KOM) que consiste en 1 ml de ácido sulfúrico etanólico al 50 % y 10 ml de 4-hidroxibenzaldehído metanólico al 2 %. La placa rociada se calentó durante un intervalo de 5-10 min, a 100°C (Wagner & Bladt, 1996).

Para determinar los flavonoides en UV-Vis a 365 nm, se utilizó el revelador que contiene una disolución metanólica de difenilboriloxietilamina (NP) 2-aminoacetyldiphenylborinato al 1% en una disolución etanólica de polietilenglicol-4000 (PEG) al 5% (Wagner & Bladt, 1996).

Otro revelador utilizado fue el sulfato cérico amoniacal (12 g) en ácido sulfúrico concentrado (22 mL). Después de rociar el revelador sobre la placa se calentó en una parrilla de calentamiento a 100°C por 3-5 minutos (Wagner & Bladt, 1996).

7.7 Determinación del perfil químico de los extractos orgánicos de *N. lobata* por CLAR-DAD y CG-EM

Los extractos de acetato de etilo y etanólico se analizaron en un equipo de cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) compuesto por un módulo de separación Waters® 2695 y un detector de arreglo de diodos (DAD) Waters® 2696 para la identificación de

flavonoides. Se realizó en una columna Supelcosil LC-F (4.6 mm × 250 mm, tamaño de partícula 5 µm) para la separación química. La fase ácida móvil consistió en una disolución acuosa de trifluoroacético al 0.5 % (disolvente A) y acetonitrilo (disolvente B). La velocidad de flujo fue de 0.9 ml/min con un volumen de muestra de 10 µL. Los Cromatogramas UV se registraron a 330 nm (Gallegos-García *et al.*, 2022; Siccha & Sabana, 2015).

Por otro lado, el perfil químico del extracto hexánico de *N. lobata* se analizó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) (Agilent 6890). Este producto se preparó en una columna capilar de sílice fundida HP5890 con medidas de 0.25 mm de diámetro por 30 m de largo y 0.25 µm de espesor de la capa de sílice. El CG-EM funcionó en las siguientes condiciones: por 2 min se calentó el horno a 40° C, luego se programó a temperaturas de 40-260 °C por 10 °C/min y al llegar a 260 °C se conservó durante 20 min; para el detector de masas la temperatura de interfase fue a 200 °C con rango de adquisición de masa, 20–550; el inyector y del detector se programaron a temperaturas de 250 °C y 280 °C, respectivamente; se utilizó helio como gas portador con caudal de 1 mL/min; para la inyección *splitless* se tomó 0.1 µL de extracto concentrado al 1%. Finalmente, se hizo una comparación del contenido metabólico obtenido del espectro con datos de la literatura (Gallegos *et al.*, 2022; Adams, 2017).

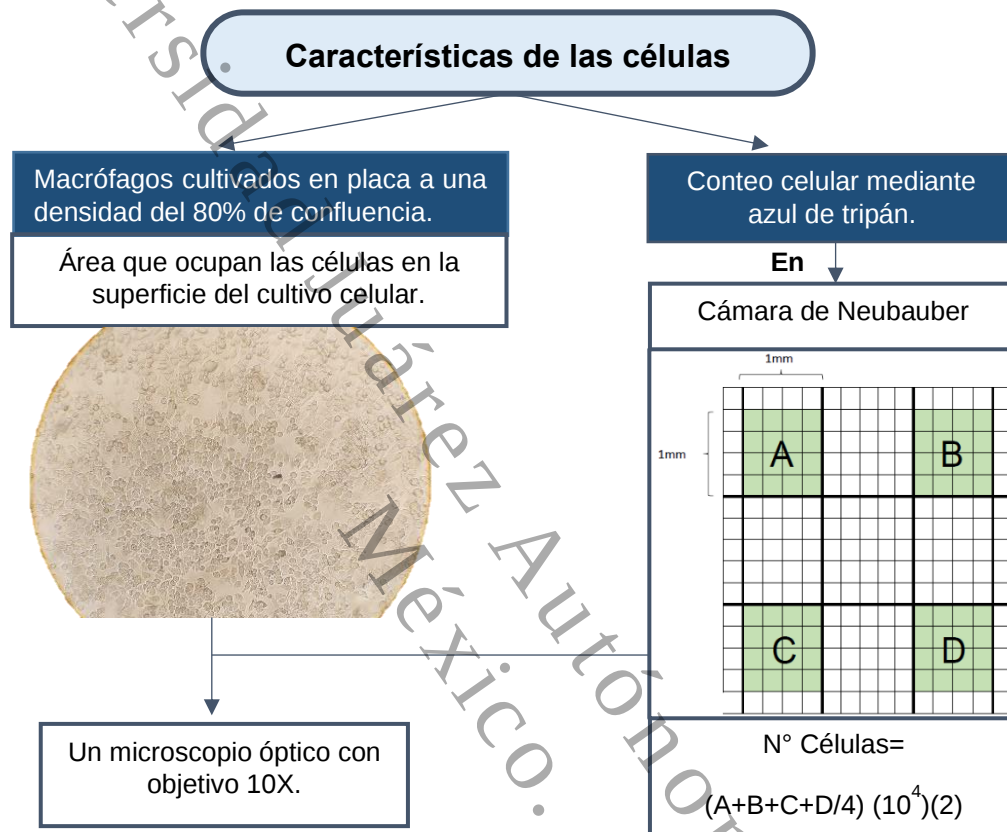
7.8 Cultivo de células RAW-Blue para evaluar la inflamación

Las células RAW-Blue (Cat. No. raw-sp; Invivogen) fueron cultivadas en el Laboratorio de Farmacología y Biología Celular del Centro de Investigación Biomédica del Sur dependiente del Instituto Mexicano del Seguro Social (CIBIS-IMSS), ubicado en Xochitepec, Morelos, durante el periodo de mayo a junio de 2024. Utilizando la expresión de NF-κB en estas células después del estímulo inflamatorio con LPS, se midió el porcentaje de inhibición de este proceso como medida de la respuesta anti-inflamatoria de los tres extractos orgánicos de *Neurolaena lobata* (Quina verde). Para el muestreo, se seleccionó el cultivo con células al 80% de confluencia y con un recuento celular

aproximado de 1×10^6 células/ mL en medio de cultivo, ver figura 11 (Louis & Siegel, 2011; Sivinski *et al.*, 2020).

Figura 11.

Muestreo celular de macrófagos



Nota. Primero se determinó cualitativamente la confluencia celular del 80% y posteriormente se realizó una disolución 1:1 (20 μ L de medio celular: azul de tripán 0.4%) adicionando 20 μ L a la cámara de Neubauer y finalmente se realizó el conteo con la fórmula descrita.

A, B, C y D: son áreas de conteo, 4: es el número de cuadrantes, 10^4 : representa el volumen en los cuatros cuadrantes y 2: es el factor de dilución. Información adaptada de Louis y Siegel (2011); Segeritz y Vallier (2017).

7.9 Evaluación antiinflamatoria *in-vitro* de los extractos de *N. lobata* empleando células RAW-Blue

Para la preparación de los tratamientos de *N. lobata*, NI A y NI E fueron disueltos en 1mL de agua estéril, en condiciones de potabilidad. En el caso de NI H se disolvió en 100 μ L de DMSO y 900 μ L de agua (Timm *et al.*, 2013). Todos los tratamientos fueron filtrados

y aplicados a concentración de 100 y 200 µg/mL en una microplaca de 96 pocillos, que contenían las células macrófagas RAW-Blue.

Como se mencionó, el fármaco de referencia utilizado como control fue la indometacina un antiinflamatorio de tipo AINE's a una concentración de 10 µM, que permitió realizar comparaciones entre la actividad inducida por éste y los tratamientos de *N. lobata*, asimismo se trató de igual forma que los pocillos con extractos. Estos grupos fueron identificados conforme a la definición de control de Moser (2019).

La inflamación fue evaluada conforme a la metodología recomendada por el fabricante InvivoGen (2024) de las células RAW-Blue y por Sivinski *et al.* (2020), con algunas modificaciones.

Primeramente, se descongelaron y se colocaron las células en un cultivo inicial que contenía el medio de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM; Cat. # ME-021, Invitro), 4.5 g/L glucosa, 2mM L-glutamina (Lot. No. RNB66730), suero fetal bovino (SFB) 10% inactivado a 56°C por 30 minutos (SFB; Lot.# 2314116 RP, GIBCO), 100 µg/mL de normocina (Cat. No. ant.nr; Invivogen) y 200 µg/mL de zeocina como antibiótico de selección (Cat. No. ant-zn; Invivogen). Posteriormente, las células se llevaron a centrifugar a 1200 rpm por 5 minutos, luego se descartó el sobrenadante y se resuspendió en un 1 mL de medio DMEM. Después las células se sembraron en frascos de cultivo celular de 75 cm² a 2.5x10⁶ células/mL en medio DMEM, se incubaron a 37°C, CO₂ al 5% hasta alcanzar el 80% de confluencia.

Posteriormente, se decantó el medio, se agregó 1 mL de medio DMEM, se raspó suavemente con un *scraper* sobre la superficie del frasco, se centrifugó a 700 rpm durante 5 minutos y se decantó. Seguidamente, se resuspendió en el medio de crecimiento previamente filtrado, el cual, consistía en DMEM, 4.5 g/L glucosa, 2 mM L-glutamina, 10%, SFB 10% inactivado, bicarbonato 3%, Pen-Strep (100 U/ml-100 µg/ml) y 200 µg/mL de zeocina), este se dejó hasta alcanzar nuevamente el 80% de confluencia. El conteo celular en 1 mL, se realizó con un microscopio con objetivo de 10X, una cámara de Neubauer y empleando azul de tripán (ver figura 11).

Las células fueron sembradas a 1×10^5 células, al agregar 180 μL del medio en cada pocillo de una placa de 96 pocillos (Cat. No. 3603; Corning), se incubaron durante 24 horas a 37°C , CO_2 al 5% para permitir la adherencia. Nuevamente, se cambió el medio de crecimiento por el medio de prueba (este medio no contenía Pen-Strep como en el medio de crecimiento). Posteriormente, se administró 20 μL a dos concentraciones distintas (100 y 200 $\mu\text{g/mL}$) de los tratamientos de *Neurolaena lobata* (NI H, NI A, NI E) y se dejó incubar por 2 horas; cada concentración tenía tres pocillos replicados y como referencia se utilizó indometacina 10 μM . Al paso del tiempo, se agregó 1 $\mu\text{g/mL}$ de polisacárido (LPS) inductor de daño celular y activador de la vía de señalización NF- κB , se incubó el tratamiento + LPS por 24 horas a 37°C , 5% CO_2 .

La respuesta del NF- κB y FA, fue monitoreada con el reactivo de QUANTI-Blue (Cat. No.rep-qb1; Invivogen); se tomaron 50 μL del sobrenadante de las células y fueron adicionados 150 μL de la disolución de QUANTI-Blue, posteriormente se incubaron por 1 h a 37°C y la densidad óptica fue medida a 630 nm utilizando un espectrofotómetro de placas (Multiskan™ GO, Thermo Scientific™, Madrid). El porcentaje de inhibición de NF- κB , se obtuvo con la ecuación 1.

$$\% \text{ Inhibición NF-}\kappa\text{B} = [(DO_C - DO_T) / DO_C] \times 100 \% \quad (1)$$

Donde DO_T = representa la densidad óptica promedio del grupo tratado;

DO_C = es la densidad óptica promedio del grupo control negativo.

7.10 Viabilidad celular por el ensayo de MTT

Para medir la viabilidad celular, se empleó una sal de tetrazolio conocida como MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazolona-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) a una concentración de 5 mg/mL (Sigma-Aldrich Co., Saint Louis, MO, EE. UU.), adicionalmente se mezcló con 1 mL de SFB al 1%; de esta disolución se tomaron 10 μL de MTT, los cuales fueron agregados en cada pozo de una microplaca de 96 pocillos que contenían 150 μL del cultivo celular de las RAW-Blue previamente incubadas con el tratamiento + LPS durante 24 h (Segeritz & Vallier, 2017; Xu *et al.*, 2022).

La placa fue incubada a 37°C en una estufa con agitación constante durante 4 h, seguidamente se decantó el sobrenadante y se agregaron 100 µL de isopropanol, para finalmente medir la absorbancia a 492 nm en un lector de placas descrito anteriormente (Xu *et al.*, 2022). Los resultados son expresados como el porcentaje de viabilidad celular y conforme a lo indicado en la ecuación 2.

$$\% \text{ Viabilidad celular} = (\text{DO}_T / \text{DO}_C) \times 100 \% \quad (2)$$

Donde DO_T es la densidad óptica promedio del grupo experimental;

DO_C = representa la densidad óptica promedio del grupo control de vehículo.

7.11 Análisis estadístico

Los resultados del análisis del contenido de polifenoles y de flavonoides totales fueron expresados como la media $\pm$ error estándar (EE) por triplicado ($n=3$) de cada una de las muestras evaluadas. Mientras que la diferencia significativa estadística fue determinada con el análisis de varianza (ANOVA) de una vía, post-prueba de Tukey con una $p < 0.05$ para la comparación entre los tres extractos. De igual forma, los resultados de la actividad antiinflamatoria, así como la viabilidad celular frente a los extractos, fueron analizados como la media $\pm$ EEM para cada uno, con $n=3$. Para el análisis comparativo entre grupos se empleó la prueba ANOVA de una vía, post-prueba de Tukey con un nivel de significancia estadística de $p < 0.05$. Todos los análisis fueron realizados en el programa estadístico Prism 10.2.3 (GraphPad Software, Inc).

8. Resultados y discusión

8.1 Cuantificación del contenido de polifenoles y flavonoides totales en *N. lobata*

El análisis del contenido de polifenoles totales por el método de *Folin-Ciocalteu*, de los extractos de *N. lobata* (NI H, NI A y NI E), fueron referidos a los mg equivalentes de ácido gálico (AG) por gramo de extracto (mg/ g extracto). El análisis ANOVA, seguido de una prueba de Tukey de los extractos respecto al contenido de polifenoles totales indicaron diferencia estadística entre ellos ($p < 0.0001$). Se mostró que NI E contiene la mayor concentración de este tipo de compuestos con 66.9 ± 6.598 mg Eq AG/g extracto. Por otro lado, el análisis del contenido de flavonoides, expresados como mg equivalentes a rutina por g extracto, mostró que NI E con 241.186 ± 25.150 mg Eq Rutina/ g de extracto, presenta mayor concentración que los otros dos extractos, con una diferencia significativa de $p = 0.003$. En la tabla 1, se muestran los resultados del contenido de estos compuestos químicos en los extractos de Quina verde.

Tabla 1.

Cuantificación de polifenoles y flavonoides totales en *N. lobata*

Extracto	Polifenoles*	Flavonoides**
	[mg Eq AG/ g extracto]	[mg Eq Rutina/ g extracto]
NI H	14.9804 ± 1.019^a	62.674 ± 7.798^a
NI A	24.0189 ± 1.635^a	116.810 ± 18.530^a
NI E	66.9310 ± 6.598^b	241.186 ± 25.150^b

Nota. Los resultados se expresan como la media $\pm$ EE de tres repeticiones para cada muestra. Letras distintas indica diferencia significativa de acuerdo con el análisis de Tukey * ($p < 0.0001$), ** ($p = 0.003$).

Estos hallazgos correlacionan la variabilidad de los compuestos químicos por su afinidad a la polaridad del disolvente de extracción, siendo los compuestos tipos fenólicos y flavonoides los de mayor concentración en disolventes de polaridad alta, semejante a lo observado por Dirar *et al.* (2019).

En relación con otros estudios del género *Neurolaena*, se encontró que Ulubelen *et al.* (1890), identificó 15 flavonoides en un extracto acuoso/metanólico de la especie *N.*

oaxacana. El mismo autor, en otro trabajo (Ulubelen *et al.* 1981), extrajo flavonoides en el mismo tipo de extracto obtenido de las hojas de *N. ventura*.

Para *N. lobata*, Kerr *et al.* (1981), reportó el uso de extractos con polaridad ascendente (diclorometano, acetato de etilo y agua), con lo que se logró identificar la presencia de polifenoles y flavonoides en las partes aéreas de esta especie. En otro estudio, Paredes *et al.* (2019) identificó ácidos fenólicos en tinturas hidroalcohólicas por técnicas cromatografías, tales como CLAR y CCF. Sin embargo, los resultados sugirieron mayor abundancia de flavonoides que polifenoles en extractos de Quina verde.

8.2 Identificación preliminar de los compuestos químicos por CCF

Mediante los colores de cada mancha fue posible examinar grupos o familias de químicos como polifenoles y flavonoides. En el caso de Wagner & Bladt (1996), describen que los flavonoides exhiben manchas de color amarillo oscuro, verde o azul fluorescentes al observarse a 365 nm. Además, si estos compuestos contienen ácidos fenolcarboxílicos o cumarinas, sus manchas aparecerán de color azul fluorescente. De igual manera, al utilizar el revelador NP-PEG se intensificará el color fluorescente característico de su estructura a 365 nm, es decir, flavonoles como la quercetina y sus glicósidos mostrarán colores naranja-amarillo, mientras que flavonas como luteolina y apigenina (asimismo sus glicósidos) exhibirán colores naranja y amarillo-verde, respectivamente. Incluso, los flavonoides 6-hidroxilados, flavonas o chalconas glicosiladas, aparecen como manchas amarillas al observarse en luz visible pero que se apagan a tonos oscuros o marrones al observarse en luz UV (Mohammed, 1996). También es posible identificar manchas de color gris o gris oscuro características de polifenoles y flavonoides al eludirse en sistemas polares (Hechaichi *et al.*, 2023).

Para la identificación preliminar de los extractos de *N. lobata*, se evaluaron diferentes sistemas de elución. En un sistema con proporción 8:2 de *n*-hexano: acetato de etilo, los extractos NI H y NI A exhibieron una mejor separación en la cromatoplaaca observando siete *spots* para NI H (cinco a luz visible, una en UV-254 nm y una en UV-365 nm); asimismo NI A mostró dos manchas con $F_R = 0.28$ y 0.43 en ambas longitudes de onda

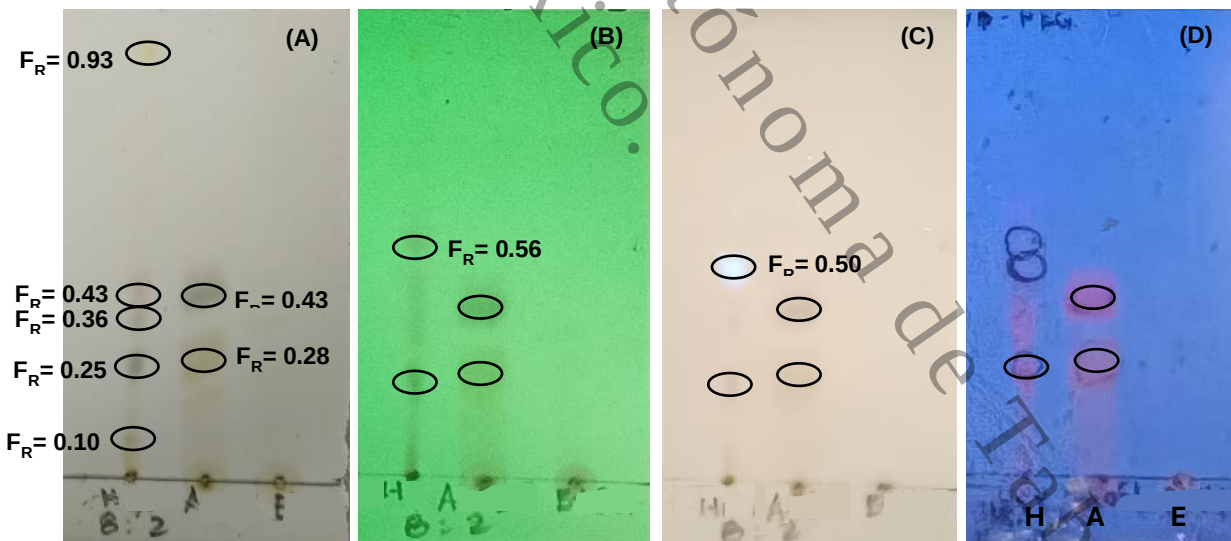
en cámara UV y al ser revelada con el reactivo NP-PEG específico para flavonoides; sin embargo en NI E no se observaron *spots* que eluyeran en estos sistemas probablemente se deba a que el contenido metabólico sea de compuestos con polaridad mayor que el sistema empleado.

En el extracto NI H a luz visible, se presentaron dos compuestos de color amarillo, una mancha verde oliva y dos *spots* marrones. Cabe destacar la aparición de una sexta mancha de color azul fluorescente (un posible ácido fenólico) con un $F_R = 0.50$ al utilizar una cámara UV a longitud larga (365 nm) y otro *spot* de color oscuro a 254 nm. Sin embargo, al revelarse con NP-PEG, el compuesto azul no fue visible en la cámara UV-365 nm (ver figura 12).

Asimismo, NI A exhibió dos manchas a luz visible: una de color amarillo verdoso y otra de un tono gris oscuro. Al observarse estas manchas a 254 nm y 365 nm, mostraron una coloración gris y gris oscuro, respectivamente. Al rociarse con NP-PEG, adquirieron una coloración naranja fluorescente a 365 nm (ver figura 12).

Figura 12.

CCF fase normal



Nota. Placas cromatográficas de los extractos hexánico (H), acetato de etilo (A) y etanólico (E) desarrollados en el sistema hexano: acetato de etilo (8:2). Observadas en (A) visible; (B) 254 nm; (C) 365 nm; (D) 365 nm y revelada con NP-PEG.

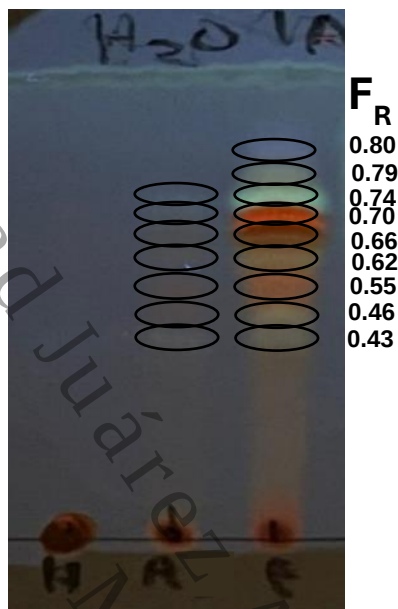
Fotografías obtenidas de datos experimentales, 8 de abril de 2024.

Debido a que NI E no eluyó en el sistema anterior, se repitió la prueba en placas de cromatografía de fase reversa, desarrolladas en un sistema agua: acetonitrilo (5:5). En la figura 13 se muestra la placa fase reversa en la cual se apreció una buena separación de manchas idénticas en colores, así como iguales R_F para NI A y NI E. Sin embargo, NI E mostró un número más elevado de *spots* con intensidades más fuertes, lo que sugiere que se trata de los mismos compuestos químicos en ambos extractos, pero con contenido variado. Por su parte, NI H no se desplazó en la placa de fase reversa por su baja polaridad en el sistema de CCF (sistema polar).

En la muestra NI A se observaron siete bandas cromatográficas de colores marrones, naranjas y verdes. Esta variedad de colores sugiere la presencia de diferentes compuestos tipo flavonoides. De igual manera, se presentaron las mismas coloraciones en los nueve compuestos observados en NI E. Estas manchas reveladas con NP-PEG y examinadas en UV-365 nm, mostraron tonos marrones (griseas y claro), anaranjadas, verde azulado, grises y malva fluorescente. Todas con R_F distintos, por lo que, se sugiere la presencia de compuestos bioactivos diferentes. Marbry *et al.* (1972), propone que las manchas verdes azulado fluorescente puede corresponder a flavonoles libres en 3-OH, y libres o no en 5-OH. Mientras Mohammed (1996), indica que manchas marrones claras son propias de biflavonoides derivados de flavonas glicosilada y raramente sustituidas, asimismo, coloraciones marrones oscuras son características de flavonoles glicosilados. Por su parte, bandas de color malva fluorescente o naranjas opacas corresponden a la presencia de antocianidinas 3-glicósiladas o 3,5-diglicosiladas.

Figura 13.

CCF fase reversa



Nota. Placa de cromatografía fase reversa eluida en agua: acetonitrilo (5:5) reveladas con NP-PEG y observada 365 nm. Extracto hexánico (H), acetato de etilo (A) y etanólico (E).

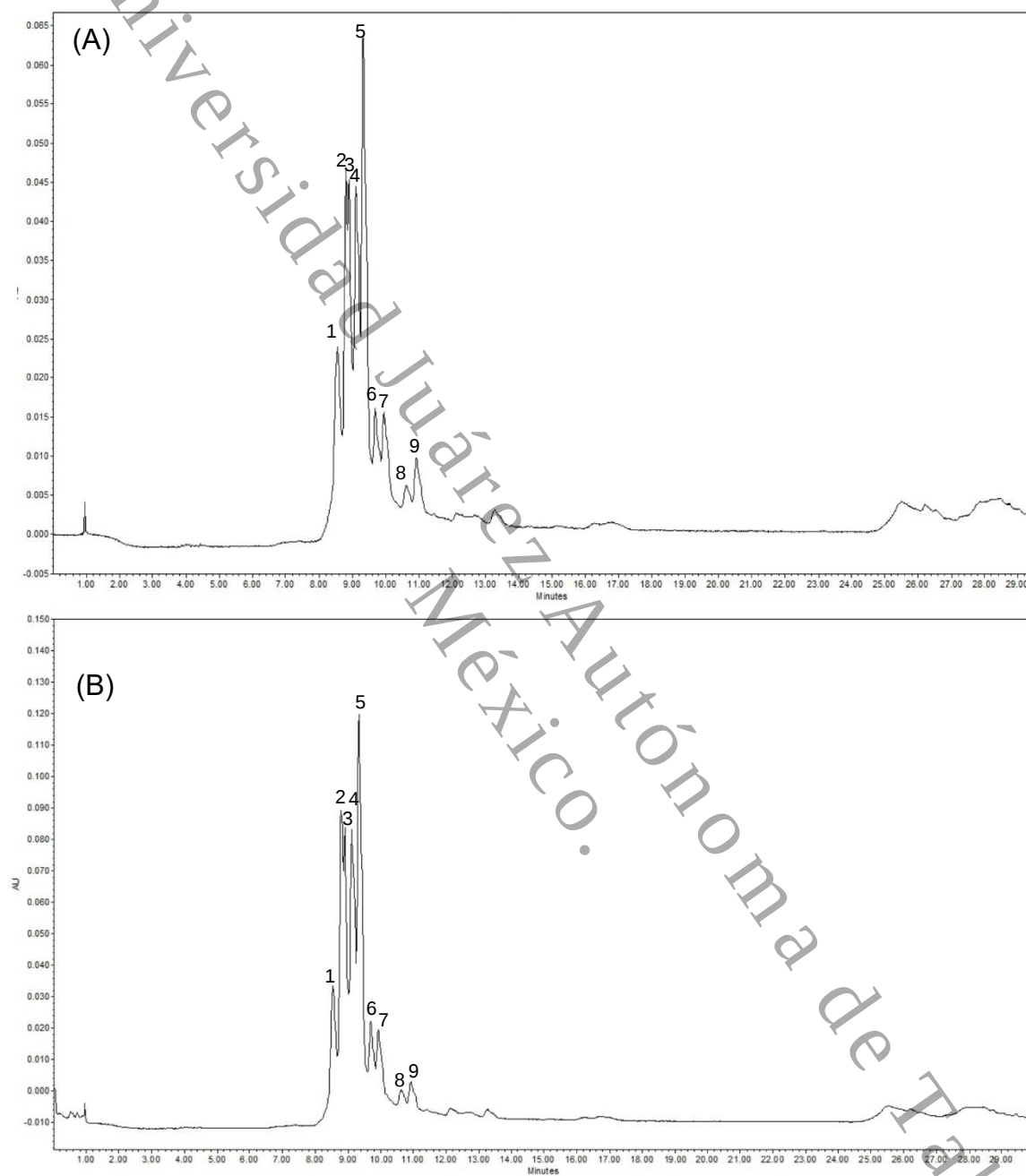
Fotografías obtenidas de datos experimentales, 10 de abril de 2024.

8.3 Perfil metabólico de *Neurolaena lobata* por CLAR-DAD

El análisis por CLAR-DAD permitió identificar nueve picos tanto en NI A como en NI E (ver figura 14), correspondientes a dos compuestos fenólicos y siete flavonoides con t_R entre 8 y 11 min. Además, los tiempos de retención (t_R) de los picos en NI A (figura 14A) y NI E (figura 14B) son similares en ambos cromatogramas. Sin embargo, se detectaron diferencias en las unidades de absorbancia (AU), observando el doble en NI E en comparación con NI A, con lo que se infiere que hay mayor concentración de los compuestos en NI E.

Figura 14.

Cromatogramas de los extractos de mediana y alta polaridad



Nota. El análisis CLAR-DAD a 330 nm, mostró nueve picos máximos de absorción ($\lambda_{\text{máx.}}$) para (A) NI A y (B) NI E, ambos extractos con similares picos y cercanos t_R .

Imágenes obtenidas de datos experimentales

Asimismo, los t_R detectados entre 8 y 11 min sugieren que se tratan de compuestos de polaridad alta en ambos extractos. En la tabla 2, se muestran los t_R y $\lambda_{\text{máx.}}$ de cada pico.

Tabla 2.

Perfil químico de las partes aéreas de *N. lobata* obtenida por CLAR-DAD de los extractos de mediana y alta polaridad.

Pico	Tiempo de retención (min)	Bandas de absorbancia (nm)	Metabolito identificado	Estándar
1	8.533	207.5, 232.1, 324.4	Derivado del ácido clorogénico	Ácido clorogénico (Castillo-Mendoza <i>et al.</i> , 2022)
2	8.783	205.2, 259.2, 358.7	Flavonoide tipo flavonol derivado glicosilado de quercetina	Quercetina (Marbry <i>et al.</i> , 1972).
3	8.9	206.5, 276.9, 351.7	Flavonoide tipo flavona glicosilada de luteolina	Luteolina (Marbry <i>et al.</i> , 1972).
4	9.1	209.9, 234.5, 273.4, 347.0	Flavonoide flavona derivado glicosilado de luteolina	Luteolina (Marbry <i>et al.</i> , 1972).
5	9.333	211.0, 280.5, 335.1	Flavonoide tipo flavona derivado glicosilado de apigenina.	Apigenina (Marbry <i>et al.</i> , 1972).
6	9.7	238.0, 276.9, 336.3	Flavonoides tipo flavona derivado glicosilado de apigenina.	Apigenina (Marbry <i>et al.</i> , 1972).

7	9.933	210.0, 284.0, 336.3	Flavonoides tipo flavona derivado glicosilado de apigenina	Apigenina (Marbry <i>et al.</i> , 1972).
8	10.633	242.7, 330.3	Derivado del ácido elágico	Ácido elágico (Morales-Ferra <i>et al.</i> , 2023)
9	10.933	218.0, 278.1, 352.9	Flavonoide tipo flavonol glicosilado de quercetina.	Quercetina (Marbry <i>et al.</i> , 1972).

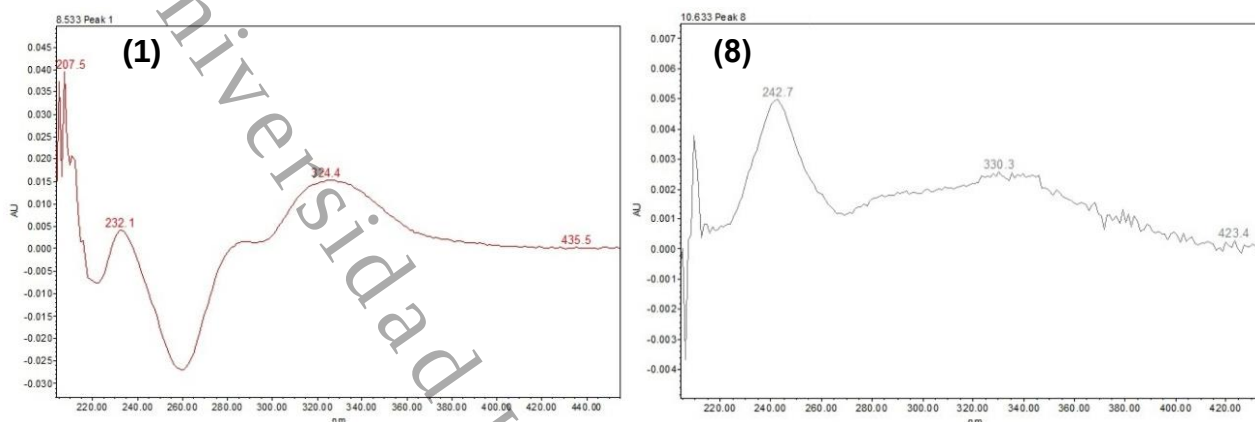
De acuerdo con los datos t_R y las bandas de absorción de los compuestos, permitieron la comparación de los espectros UV de los nueve picos con la información de estándares reportados en la literatura y los estándares de control del Laboratorio de Química Orgánica y Productos Naturales (LQOPN-DACB-UJAT).

De modo que, las longitudes de onda absorbidas en el rango UV de los picos 1 y 8 (ver figura 15) exhibieron semejanza con compuestos de tipo fenólicos. En tanto que el espectro UV del pico 1 mostró un $t_R=8.5$ min, con $\lambda_{\text{máx.}}=232.1$ y 324.4 nm. Este hallazgo fue similar con las ondas de absorción del ácido clorogénico ($\lambda_{\text{máx.}}=236$ y 326 nm) y al $t_R=8.6$ min reportado por Castillo-Mendoza *et al.* (2022), sugiriendo que este metabolito podría ser un derivado del ácido clorogénico.

Mientras que el pico 8 fue registrado a un $t_R=10.6$ min con bandas de absorción ($\lambda_{\text{máx.}}=242.7$ y 330.3 nm) cercanas para el ácido elágico ($\lambda_{\text{máx.}}=254$ y 364 nm) reportado en el trabajo de Morales-Ferra *et al.*, (2023) con t_R de 9.3 min. Por lo anterior, se infiere que el pico 8 se trata de un derivado del ácido elágico.

Figura 15.

Espectro UV-330 nm de ácidos fenólicos



Nota. Pico 1 y 8 de los compuestos identificados por CLAR-DAD.

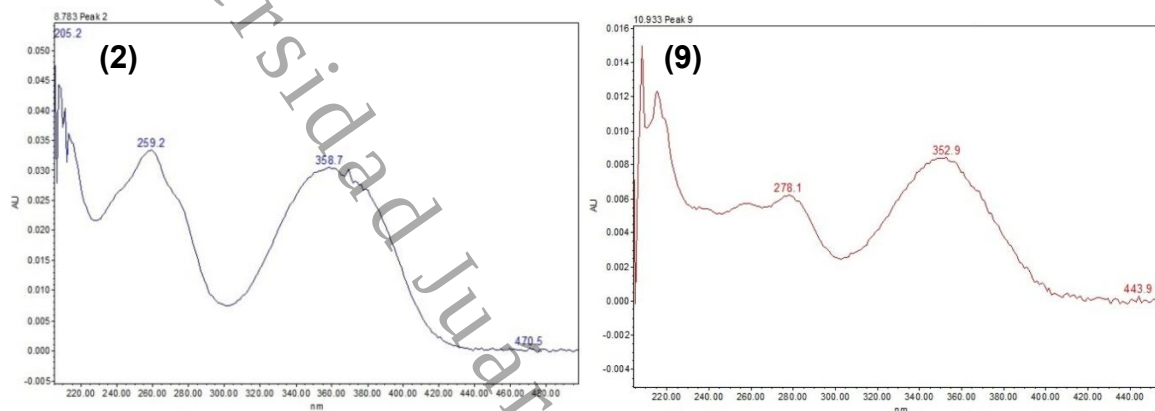
Los picos 2, 3, 4, 5, 6, 7, y 9 fueron identificados como flavonoides de tipo flavonol o flavona, por medio, de sus dos bandas de absorción relacionados al anillo A (banda II con rango $\lambda_{\text{máx.}} = 240\text{-}280\text{ nm}$) y al anillo B (banda I con rango $\lambda_{\text{máx.}} = 300\text{-}380\text{ nm}$) de su estructura química. Cabe destacar que la presencia de glicósidos en la posición 3, 5 o 4' del flavonoide puede provocar el desplazamiento de la banda I hacia longitudes de ondas más cortas (cambio hipsocrómico). Por otro lado, el incremento de grupos hidroxilos (OH) en el anillo A produce un cambio batocrómico (desplazamiento hacia longitudes de ondas más largas) en la banda II y muy ligera en I, esto en comparación con el sistema de identificación de espectros UV planteados por Marbry *et al.* (1972).

Por lo tanto, los picos 2 ($\lambda_{\text{máx.}} = 358\text{ nm}$ en la banda I) y 9 ($\lambda_{\text{máx.}} = 352\text{ nm}$ en la banda I) mostraron absorbancia en las longitudes de ondas compatibles al espectro UV de la quercetina ($\lambda_{\text{máx.}} = 355\text{ nm}$ en la banda I) del trabajo Marbry *et al.* (1972). La banda I de estos compuestos se ubicaron próximos del rango de $\lambda_{\text{máx.}}$ (328- 357 nm) de los flavonoles glicosilados o metilados en la posición 3, mientras que las bandas II ($\lambda_{\text{máx.}} = 259\text{ nm}$ del pico 2 y 278 nm del pico 9) mostraron un desplazamiento batocrómico que se puede deber a la presencia de hidroxilos en el anillo A, por lo cual este análisis permite identificar que se tratan de compuestos del grupo de los flavonoides de tipo flavonol y por el t_R en un sistema de elución polar se infiere que son derivados glicosilados de quercetina (ver figura 16). Lo anterior coincide con lo reportado por Castillo-Mendoza

et al., (2022) donde menciona a dos derivados glicosilados de quercetina (3-O-rutinósido de quercetina y 3-O-glucósido de quercetina) con t_R = 9.07 y 9.3 min.

Figura 16.

Espectro UV-330 nm de flavonoles



Nota. Pico 2 y 9 de metabolitos identificados por CLAR-DAD.

Para los picos 3 ($\lambda_{\text{máx.}}$ = 276.9 , 351.7 nm, t_R = 8.9 min) y 4 ($\lambda_{\text{máx.}}$ =234.5, 347nm, t_R =9.1 min), se encontró similitud con el espectro UV de una flavona nombrada como luteolina ($\lambda_{\text{máx.}}$ =267 y 349 nm) (Mabry *et al.*,1972). Además, concuerda con el t_R = 9.3 min de la 7-O-glicósido de luteolina reportado por Castillo-Mendoza *et al.*, (2022) por lo que se sugirió que se trataban de flavonoides tipo flavona glicosiladas derivados de luteolina (ver figura 17).

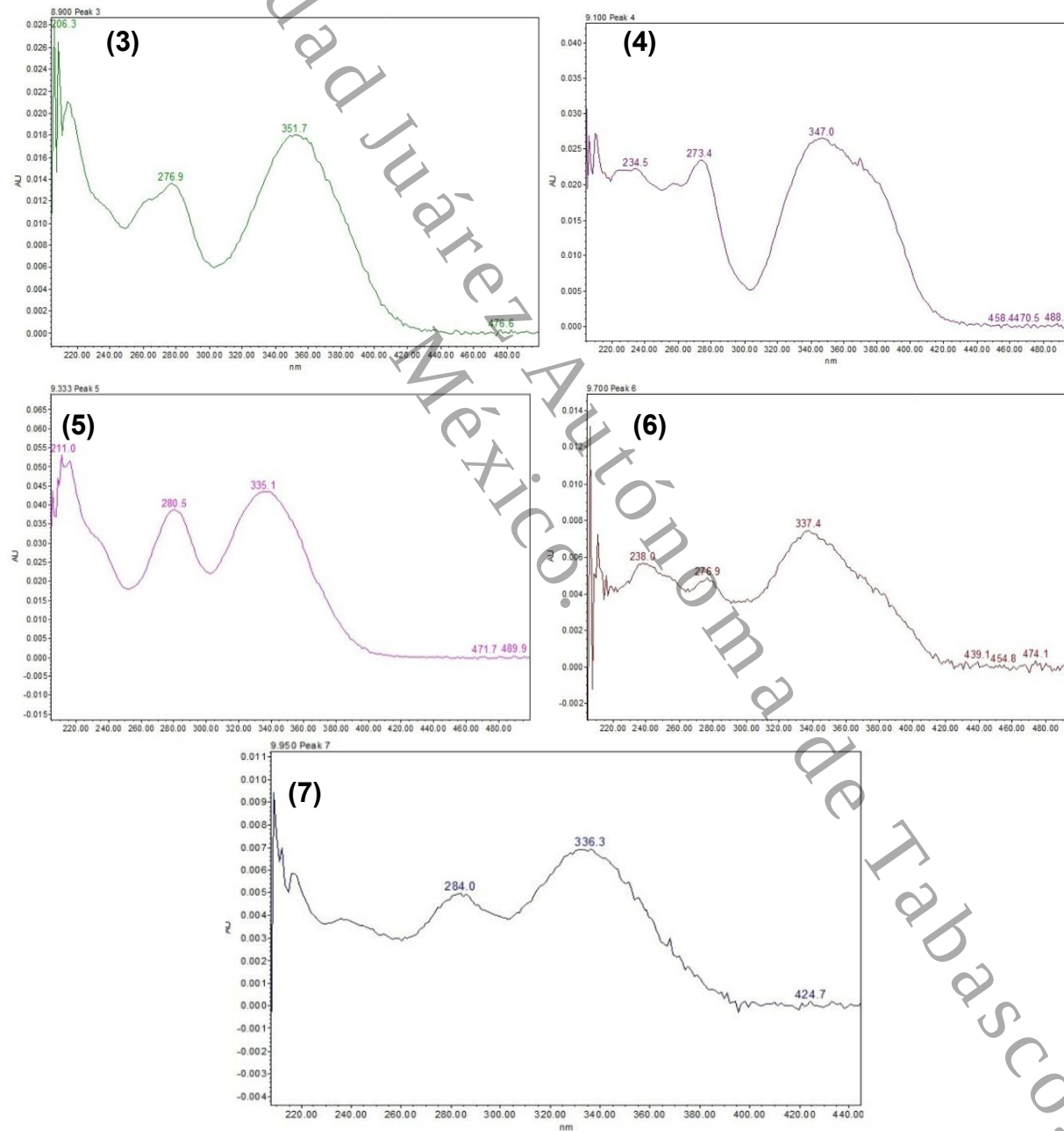
La banda I del pico 5 ($\lambda_{\text{máx.}}$ =335 nm), 6 ($\lambda_{\text{máx.}}$ =336 nm), y 7 ($\lambda_{\text{máx.}}$ =336 nm), se encontraron dentro del rango de la banda I de flavonas (304-358 nm) especialmente próximas a la $\lambda_{\text{máx.}}$ de la apigenina (336 nm) descrita por Mabry *et al.* (1972), por lo tanto, este fue el espectro UV que permitió determinar que probablemente se deba a flavonoides tipo flavona derivado de apigenina (ver figura 17). Los tiempos de retención del pico 5 (9.33 min), 6 (9.33 min) y 7 (9.9 min) fueron muy próximos a un posible glicósido de apigenina (t_R = 8.66 min) identificado por Gallegos-García *et al.*, (2022), lo que sugiere que estos compuestos se encuentran glicosilados.

Estos resultados son de tipo preliminar y para ser específicos del tipo de glicósido presente en estos compuestos, es necesario hacer uso de otras técnicas cromatográficas y espectroscópicas que permitan la caracterización química-estructural de los

compuestos identificados e incluso diferenciar entre isómeros glicosídicos, ya que, CLAR-DAD es un método relativamente adecuado para identificar flavonoides en su forma aglicona y en algunos derivados glicosilados en especial al contar con estándares (Delgado-Povedano *et al.*, 2020).

Figura 17.

Espectros UV-330 nm de flavonas



Nota. Pico 3, 4, 5, 6 y 7 de los metabolitos identificados por CLAR-DAD.

En este sentido, en el trabajo de Kerr *et al.* (1981) se encontraron compuestos derivados glicosilados de luteolina como de quercetina en extractos de mediana y alta polaridad de las partes aéreas de *N. lobata*. En el extracto de acetato de etilo se observó la presencia 6-hidroxiluteolina 7-glucósido (ver figura 3A). Y en el extracto acuoso, se identificó un derivado de quercetina nombrada como quercetagina 7-glucósido (ver figura 3D).

De la misma forma, en un trabajo realizado por Paredes *et al.* (2019), se encontró un flavonoide polar posiblemente glicosilado con $t_R = 10.9$ min en *N. lobata*, lo que infiere que se trata del flavonol derivado glicosilado de quercetina encontrado en el pico 9, puesto que el t_R , es el mismo, además los espectros UV son muy similares. Asimismo, se identificaron dos ácidos fenólicos en el extracto acuoso de *N. lobata*, no obstante, los t_R (24.2 y 34.8 min) indicaron que se trataba de compuestos de menor polaridad, por lo que, no coincidió con los de este estudio donde los t_R de los picos 1 y 8 son inferiores, por ende, se tratan de metabolitos más polares.

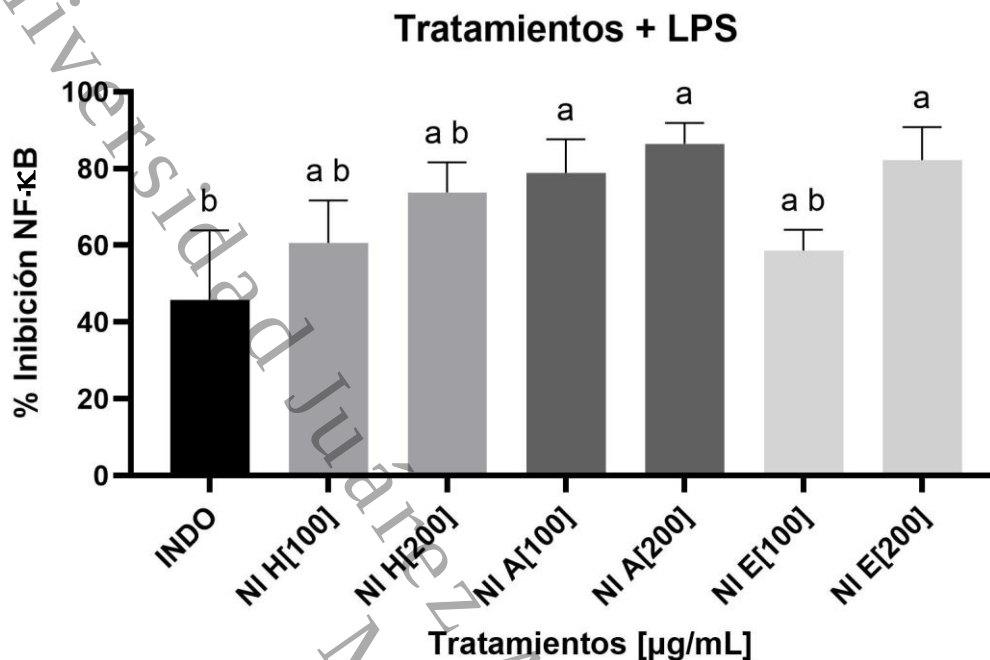
8.4 Evaluación del efecto antiinflamatorio

Los tres extractos de *N. lobata* mostraron una notable capacidad para inhibir la activación de NF- κ B en el modelo de las RAW-Blue. De igual manera, las comparaciones múltiples de Tukey ($p < 0.05$) no revelaron diferencia estadísticamente significativa en el porcentaje de inhibición de la actividad antiinflamatoria entre los tres extractos a las concentraciones probadas, infiriendo un efecto similar.

Sin embargo, NI A [100 μ g/mL], NI A [200 μ g/mL] y NI E [200 μ g/mL] mostraron una inhibición de NF- κ B superior al 80% lo que sugiere un efecto comparable al observado en células macrófagos sin estímulo inflamatorio o al vehículo. En la figura 18 se observa mayor actividad de estas concentraciones en comparación con el fármaco control (indometacina 10 μ M) y las demás concentraciones evaluadas.

Figura 18.

Efecto antiinflamatorio de los extractos de *N. lobata*



Nota. Porcentaje de inhibición NF-κB en células RAW-Blue activadas con LPS y tratadas a dos concentraciones distintas de extractos de *N. lobata* durante 24 h. Los resultados se expresan como la densidad óptica media de los pocillos triplicados de cada muestra y el error estándar de la media (EEM) está representada por las barras de error. ANOVA con post-prueba de Tukey ($p < 0.05$). Letras distintas indican diferencia significancia.

Cabe mencionar, que los flavonoides glicosilados identificados en NI A y NI E podrían diferir en sus fracciones glicosídicas, lo que podría explicar la menor actividad observada para NI E [100 μg/mL] en comparación con NI A.

Por su parte, el modelo celular de las RAW-Blue ha sido recientemente estudiado para evaluar la inflamación, razón que permitió profundizar en la comprensión de los mecanismos moleculares subyacentes al efecto antiinflamatorio de estos extractos. Dado que estas células fueron estimuladas con LPS que es un agente pro-inflamatorio capaz de activar la vía NF-κB, se infiere que los extractos de diferente polaridad de la Quina verde (polifenoles y flavonoides), serán capaces de ejercer un efecto antiinflamatorio en ensayos farmacológicos *in vivo*, y que dicha actividad es responsabilidad de los compuestos presentes en la planta, probablemente al inhibir esta

vía, no permiten la activación del complejo I κ B evitando la translocación del citoplasma al núcleo de los dímeros Rel A y p50, muy similar con el hallazgo de Xu *et al.*, 2022.

El LPS es una molécula reconocida por una proteína transmembrana de las células macrófagos llamada receptor tipo Toll 4 o TLR4. Este estímulo activa el factor de transcripción NF- κ B que se encuentra en el citoplasma de la célula, entonces, por medio de los procesos de fosforilación y ubiquitinación, permite la translocación de los dímeros de I κ B hacia núcleo para producir citocinas proinflamatorias provenientes de macrófagos como IL-6, IL8 y TNF- α (Lawrence, 2009; Hayden & Ghosh, 2012; Xu *et al.*, 2022). Dado que, en este estudio se utilizaron macrófagos de la línea celular RAW-Blue, las cuales han sido modificadas genéticamente por medio de un plásmido que contiene el gen reportero de fosfatasa alcalina secretada (FAS) que se expresa cuando NF- κ B y FA-1 se une a patrones de consenso de promotores, permitió medir la actividad de la FAS por un cambio de color del medio de rosa a azul utilizando el reactivo de QUANTI-Blue (RAW-Blue cells, 2024; Chaffey *et al.*, 2024). Entre más rosa es el medio tratado con el extracto vegetal indica que el extracto presenta buena inhibición de la vía NF- κ B, y sucede lo contrario para los medios que viran a un color más azul, infiriendo que hay una menor inhibición de la vía.

Además, en este trabajo se relacionó el efecto antiinflamatorio de los extractos de *N. lobata* en macrófagos RAW-Blue activados con LPS, a la presencia de compuestos químicos tipo fenólicos y en su mayoría de flavonoides provenientes de las partes aéreas de la planta en estudio. Puesto que con el análisis por CLAR-DAD, se identificaron dos posibles derivados de ácidos fenólicos, dos flavonoles y cinco flavonas glicosiladas (para detalle observar la tabla 4). Este hallazgo coincide con el papel de los polifenoles, flavonoides y sus derivados en los eventos inflamatorios para modular la producción de citocinas proinflamatorias a través de la inactivación de la vía NF- κ B, por lo que, se ha generado un reciente interés en explorar estos compuestos para el desarrollo de nuevos fármacos antiinflamatorios (Yahfoufi *et al.*, 2018; Ysrafil *et al.*, 2023). Aunque para *N. lobata* se ha reportado el efecto antiinflamatorio asociado a las lactonas sesquiterpénicas, no se encontraron estudios sobre tal efecto en relación con los polifenoles y flavonoides. Sin embargo, es posible encontrar trabajos donde describen

principios químicos de este tipo que podrían estar asociados, como el reportado por Kerr *et al.* (1981), quienes aislaron derivados de quercetina y luteolina en especies de *Neurolaena*, o bien, en el trabajo de Wong (1976; como se cita en Germosén-Robineau, 1995) quien encontró ácido clorogénico en todas las partes de la planta. Mientras que la Organización de los Estados Americanos ([OEA], 1990; como se cita en Germosén-Robineau, 1995) reportaron la presencia de glicósidos y flavonoides para *N. lobata*.

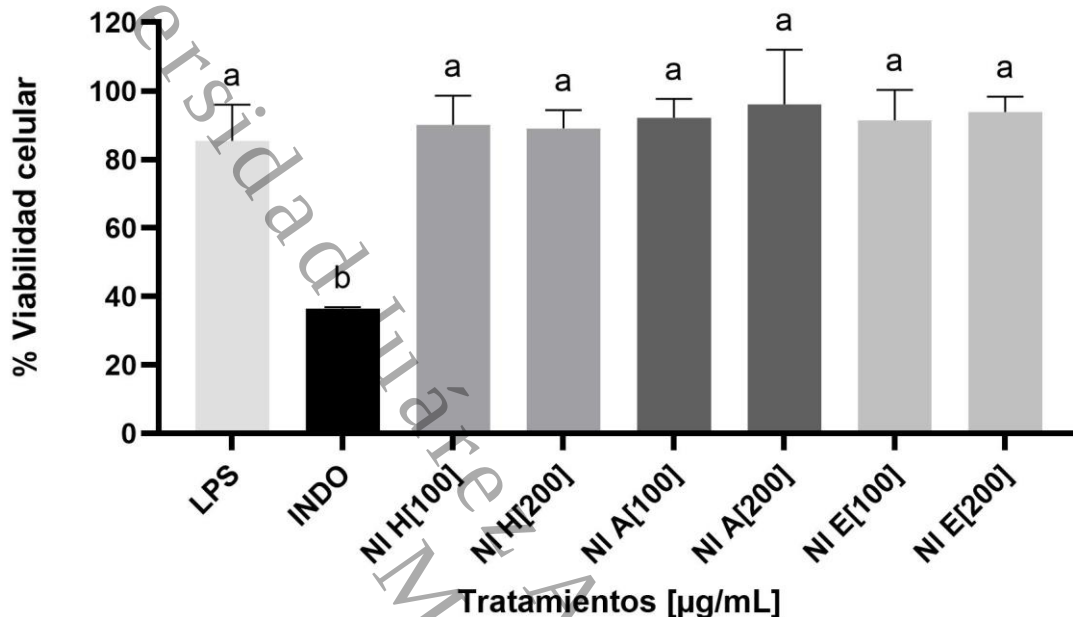
8.5 Viabilidad celular de los extractos de *N. lobata*

Por otro lado, se analizó la viabilidad celular de los tres extractos de la Quina verde para determinar la toxicidad celular mediante el ensayo de MTT. Después de un análisis de Tukey ($p < 0.05$), se identificó que las concentraciones evaluadas de los tres extractos presentan aproximadamente el 90% de viabilidad celular. De igual manera, el control negativo (LPS) mostró una viabilidad celular del 85%, por lo que, se aseguró que este estímulo causó la respuesta inflamatoria sin ejercer el efecto citotóxico. Asimismo, el análisis verificó que el fármaco de referencia presentó mayor actividad de toxicidad que los extractos examinados (ver figura 19). Así, los resultados de este estudio sugieren que los extractos de *N. lobata* producen una menor citotoxicidad que la indometacina.

En este estudio, el porcentaje de viabilidad celular en las RAW-Blue fue un parámetro esencial, ya que permitió evaluar la seguridad de los tratamientos, debido a que los compuestos químicos probados no solo pueden causar efecto benéfico sobre las células si no, causar toxicidad y, por consiguiente, muerte celular (Riss *et al.*, 2016). Agregando a lo anterior, también es posible presentar toxicidad al utilizar productos a base de plantas, aun así, se empleen dosis habituales. Si bien *N. lobata* se describe en la literatura como una planta de baja toxicidad (Gracioso, 1998), se consideró adecuado evaluar la citotoxicidad del extracto a concentraciones comúnmente empleadas en estudios preclínicos (100 y 200 $\mu\text{g/mL}$).

Figura 19.

Viabilidad celular de los extractos de *N. lobata*



Nota. Se determinó la citotoxicidad de las células RAW-Blue al tratarse con LPS+ extractos de *N. lobata*. Los resultados se expresan como la densidad óptica media de los pocillos triplicados y el error estándar de la media (EEM) está representada por las barras de error. ANOVA seguido de una post-prueba de Tukey ($p < 0.05$). Letras distintas indican diferencia significativa.

9. Conclusiones

Se obtuvieron tres extractos orgánicos de las partes aéreas de *Neurolaena lobata* (NI H, NI A y NI E), destacando al extracto NI E por su mayor contenido de flavonoides y polifenoles, seguido de NI A y NI H.

El análisis del perfil químico permitió establecer que no existe diferencia en la diversidad química de los compuestos presentes en NI A y NI E. Sin embargo, un diferenciador es el contenido de estos compuestos observándose un mayor contenido en NI E.

Con respecto al efecto antiinflamatorio, los extractos con mayor porcentaje de inhibición de la vía NF- κ B del cultivo celular de las RAW-Blue activadas con LPS, fueron NI A a 100 y 200 μ g/mL, así como NI E a 200 μ g/mL.

10. Recomendaciones

1. Construir una curva de concentración-respuesta de la actividad antiinflamatoria de los extractos de *Neurolaena lobata* con mayores actividades.
2. Determinar la concentración efectiva 50 (CE 50) de cada extracto para cuantificar la potencia en la inhibición de la respuesta inflamatoria.
3. Fraccionar el extracto más activo responsable del efecto antiinflamatorio.
4. Aislar y caracterizar los compuestos mayoritarios presentes en el extracto activo de *N. lobata*.
5. Evaluar la actividad antiinflamatoria de los metabolitos aislados de *N. lobata*.
6. Diseñar y estandarizar una formulación de un nuevo fitomedicamento con efecto antiinflamatorio a base de *Neurolaena lobata*.

Referencias citadas

- Adams, R. P. (2017). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry* (4.1^a ed.). Allured Publishing
<https://es.scribd.com/document/402371180/ADAMS-Identification-of-Essential-Oil-Components-by-GC-MS-pdf>
- Ahmed, A. U. (2011). An overview of inflammation: mechanism and consequences. *Frontiers in Biology*, 6 (4), 274-281. <https://doi.org/10.1007/s11515-011-1123-9>
- Andrade-Cetto, A., Cruz, E., Cabello-Hernández, C. A., & Cárdenas-Vázquez, R. (2019). Hypoglycemic activity of medicinal plants used among the cakchiquels in Guatemala for the treatment of type 2 diabetes. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 1-7. <https://doi.org/10.1155/2019/2168603>
- Antonelli, M., & Kushner, I. (2017). It's time to redefine inflammation. *The FASEB Journal*, 31 (5), 1787–1791. <https://doi.org/10.1096/fj.201601326r>
- Arulselvan, P., Fard, M. T., Tan, W. S., Gothai, S., Fakurazi, S., Norhaizan, M. E., & Kumar, S. (2016). Role of antioxidants and natural products in inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1-15. <https://doi.org/10.1155/2016/5276130>
- Berger, I., Passreiter, C. M., Cáceres, A., & Kubelka, W. (2001). Antiprotozoal activity of *Neurolaena lobata*. *Phytotherapy Research*, 15 (4), 327-330. <https://doi.org/10.1002/ptr.782>
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana* (2009). Recuperado el 12 marzo de 2023 de, <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=neurolaena-lobata>

- Bindu, S., Mazumder, S., & Bandyopadhyay, U. (2020). Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochemical Pharmacology*, 180, 114147. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114147>
- Carola, C., Salazar, A., Rakers, C., Himbert, F., Do, Q., Bernard, P., & Von Hagen, J. (2021). A Cornflower Extract Containing N-Feruloylserotonin Reduces Inflammation in Human Skin by Neutralizing CCL17 and CCL22 and Inhibiting COX-2 and 5-LOX. *Mediators of Inflammation*, 2021, 1-13. <https://doi.org/10.1155/2021/6652791>
- Castillo-Mendoza, E., Zamilpa, A., González-Cortazar, M., Ble-González, E. A., & Tovar-Sánchez, E. (2022). Chemical Constituents and Their Production in Mexican Oaks (*Q. Rugosa*, *Q. Glabrescens* and *Q. Obtusata*). *Plants*, 11(19), 2610. <https://doi.org/10.3390/plants11192610>
- Cátedra de Sistemática Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (s.f.). Sufrútice. En el *Diccionario de términos botánicos*. Recuperado el 20 junio de 2024 de <https://sistematicavegetal.weebly.com/diccionario-de-botaacutenica-y-glosarios1.html>
- Chaffey, L. E., Roberti, A., Bowman, A., O'Brien, C. J., Som, L., Purvis, G. S., & Greaves, D. R. (2024). Drug repurposing screen identifies novel anti-inflammatory activity of sunitinib in macrophages. *European Journal of Pharmacology*, 969, 176437. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2024.176437>
- Chandrasoma, P., & Taylor, C.R. (Eds.) (1998). La respuesta inflamatoria aguda. *Concise Pathology* (3.^a ed.). The McGraw-Hill Companies. <https://accessphysiotherapy.mhmedical.com/content.aspx?bookid=333§ionid=40013175>
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X., & Zhao, L. (2017). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9 (6), 7204–7218. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208>

- Davis, A., & Robson, J. (2016). The dangers of NSAIDs: look both ways. *British Journal of General Practice*, 66 (645), 172-173. <https://doi.org/10.3399/bjgp16x684433>
- Dayrat, B. (2005). Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85 (3), 407-415. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2005.00503.x>
- Dirar, A., Alsaadi, D., Wada, M., Mohamed, M., Watanabe, T., & Devkota, H. (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>
- Delgado-Povedano, M. M., Villiers, A., Hann, S., & Causon, T. (2020). Identity confirmation of anthocyanins in berries by LC–DAD–IM–QTOFMS. *Electrophoresis*, 42(4), 473-481. <https://doi.org/10.1002/elps.202000274>
- Duchnik, E., Kruk, J., Tuchowska, A., & Marchlewicz, M. (2023). The Impact of Diet and Physical Activity on Psoriasis: A Narrative Review of the Current Evidence. *Nutrients*, 15 (4), 840. <https://doi.org/10.3390/nu15040840>
- Ericson-Neilsen, W., & Kaye, A. D. (2014). Steroids: pharmacology, complications, and practice delivery issues. *Ochsner journal*, 14(2), 203–207. <https://www.ochsnerjournal.org/content/14/2/203>
- Fox, S. I. (2021). Glándulas endocrinas. En *Fisiología humana* (15.^a ed., pp. 316-352). McGraw-Hill.
- Gallegos-García, A. J., Lobato-García, C. E., González-Cortazar, M., Herrera-Ruíz, M., Zamilpa, A., Álvarez-Fitz, P., Pérez-García, M. D., López-Rodríguez, R., Blé-González, E. A., Medrano-Sánchez, E. J., Feldman, M. R., Bugarin, A., & Gómez-Rivera, A. (2022). Preliminary phytochemical profile and bioactivity of Inga Jinicuill Schltdl & Cham. ex G. Don. *Plants*, 11 (6), 794. <https://doi.org/10.3390/plants11060794>

- Garrido, G., Ortiz, M., & Pozo, P. (2013). Fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante de extractos de hojas de *Lampaya medicinalis* F. Phil. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 1 (1), 30-38.
- García M. E., Fernández S. I., & Fuentes L. A. (2020). *Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu*. <http://hdl.handle.net/10251/52056>
- Germolec, D. R., Shipkowski, K. A., Frawley, R. P., & Evans, E. (2018). Markers of inflammation en DeWitt, J., Rockwell, C., & Bowman, C. (Eds.), *Immunotoxicity Testing. Methods in molecular biology*, (Vol. 1803, pp. 57-79. Humana Press, New York, NY https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8549-4_5
- Germosén-Robineau, L. (1995) *Investigación Científica y Uso Popular de Plantas Medicinales en el Caribe. Hacia una farmacopea Caribeña*. Université des Antilles (Ed.), (Tramil-7. pp 420-424). <http://www.manioc.org/recherch/T17003>
- Global Biodiversity Information Facility. (2023). *Neurolaena lobata* (L.) Cass. Recuperado de 20 de mayo de 2023 de <https://www.gbif.org/species/3096775>
- Gonlachanvit, S., Mahayosnond, A., & Kullavanijaya, P. (2008). Effects of chili on postprandial gastrointestinal symptoms in diarrhoea predominant irritable bowel syndrome: evidence for capsaicin-sensitive visceral nociception hypersensitivity. *Neurogastroenterology & Motility*, 21(1), 23-32. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2008.01167.x>
- Gorji, N., Moeini, R., & Memariani, Z. (2018). Almond, hazelnut and walnut, three nuts for neuroprotection in Alzheimer's disease: A neuropharmacological review of their bioactive constituents. *Pharmacological Research*, 129, 115-127. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.12.003>
- Gracioso, J., Hiruma-Lima, C., & Brito, A. S. (2000). Antiulcerogenic effect of a hydroalcoholic extract and its organic fractions of *Neurolaena lobata* (L.) R.Br. *Phytomedicine*, 7 (4), 283-289. [https://doi.org/10.1016/s0944-7113\(00\)80045-8](https://doi.org/10.1016/s0944-7113(00)80045-8)

- Gracioso, J. S., Paulo, M. Q., Lima, C. A. H., & Brito, A. R. M. S. (1998). Antinociceptive Effect in Mice of a Hydroalcoholic Extract of *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. and its Organic Fractions. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 50 (12), 1425-1429. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1998.tb03370.x>
- Hayden, M. S., & Ghosh, S. (2012). NF- κ B, the first quarter-century: remarkable progress and outstanding questions. *Genes & Development*, 26 (3), 203-234. <https://doi.org/10.1101/gad.183434.111>
- Hechaichi, F. Z., Bendif, H., Bensouici, C., Alsalamah, S. A., Zaidi, B., Bouhenna, M. M., Souilah, N., Alghonaim, M. I., Benslama, A., Medjekal, S., Qurtam, A. A., Miara, M. D., & Boufahja, F. (2023). Phytochemicals, Antioxidant and Antimicrobial Potentials and LC-MS Analysis of *Centaurea parviflora* Desf. Extracts. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 28 (5), 2263. <https://doi.org/10.3390/molecules28052263>
- Henson, P. M., Larsen, G. L., Henson, J. E., Newman, S. L., Musson, R. A., & Leslie, C. C. (1984). Resolution of pulmonary inflammation. *Federation proceedings*, 43 (13), 2799–2806.
- Hodgens, A., & Sharman, T. (1 de mayo de 2023) *Corticosteroides*. En StatPearls. Recuperado el 19 de septiembre de 2024 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554612/>
- Institute for Quality and Efficiency in Health Care (2021). *In brief: What is an inflammation?* InformedHealth.org - NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279298/>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (2023). *Estadísticas de Defunciones Registradas (EDR)* 2022. <https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2023/DH/DH2022.pdf>

- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (2024). *Estadísticas de Defunciones Registradas (EDR) de enero a junio de 2023 (preliminar)*. https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2024/EDR/EDR2023_En-Jn.pdf
- InvivoGen. (2024, marzo 4). RAW-Blue™ Cells. <https://www.invivogen.com/raw-blue>
- Josep D., M. (2014) Antiinflamatorios. *Farmacia profesional*, 28 (5).
<https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-antiinflamatorios-X0213932414516582>
- Kaliyadan, F., & Kulkarni, V. (2019). Types of variables, descriptive statistics, and sample size. *Indian Dermatology Online Journal*, 10 (1), 82. https://doi.org/10.4103/idoj.idoj_468_18
- Kawai, T., & Akira, S. (2010). The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nature Immunology*, 11 (5), 373-384. <https://doi.org/10.1038/ni.1863>
- Kerr, K., Mabry, T., & Yoser, S. (1981). 6-Hydroxy- and 6-methoxyflavonoids from *Neurolaena lobata* and *N. macrocephala*. *Phytochemistry*, 20 (4), 791-794. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(81\)85176-x](https://doi.org/10.1016/0031-9422(81)85176-x)
- Klenewietfeld, M., Manzel, A., Titze, J., Kvakan, H., Yosef, N., Linker, R. A., Muller, D. N., & Hafler, D. A. (2013). Sodium chloride drives autoimmune disease by the induction of pathogenic TH17 cells. *Nature*, 496 (7446), 518-522. <https://doi.org/10.1038/nature11868>
- Koshi, E. J., Young, K., Mostales, J. C., Vo, K. B., & Burgess, L. P. (2022). Complications of Corticosteroid Therapy: A Comprehensive Literature Review. *The Journal of Pharmacy Technology*, 38 (6), 360-367. <https://doi.org/10.1177/87551225221116266>

- Kurowska, A., Ziemichód, W., Herbet, M., & Piątkowska-Chmiel, I. (2023). The Role of Diet as a Modulator of the Inflammatory Process in the Neurological Diseases. *Nutrients*, 15(6), 1436. <https://doi.org/10.3390/nu15061436>
- Lajter, I., Vasas, A., Béni, Z., Forgó, P., Binder, M., Bochkov, V. N., Zupkó, I., Krupitza, G., Frisch, R., Kopp, B., & Hohmann, J. (2014). Sesquiterpenes from *Neurolaena lobata* and their antiproliferative and anti-inflammatory activities. *Journal of Natural Products*, 77 (3), 576-582. <https://doi.org/10.1021/np400834c>
- Lanas, Á., Benito, P., Alonso, J., Hernández-Cruz, B., Barón-Esquivias, G., Pérez-Aísa, Á., Calvet, X., García-Llorente, J. F., Gobbo, M., & González-Juanatey, J. R. (2014). Recomendaciones para una prescripción segura de antiinflamatorios no esteroideos: Documento de consenso elaborado por expertos nominados por 3 sociedades científicas (SER-SEC-AEG). *Reumatología Clínica*, 10 (2), 68-84. <https://doi.org/10.1016/j.reuma.2013.10.004>
- Lawrence, T. (2009). The Nuclear Factor NF- κ B Pathway in Inflammation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 1 (6), a001651. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001651>
- Liu, D., Ahmet, A., Ward, L., Krishnamoorthy, P., Mandelcorn, E. D., Leigh, R., Brown, J. P., Cohen, A., & Kim, H. (2013). A practical guide to the monitoring and management of the complications of systemic corticosteroid therapy. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology* 9(1). <https://doi.org/10.1186/1710-1492-9-30>
- Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S. (2017). NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2 (1). <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>
- Louis, K. S., & Siegel, A. C. (2011). Cell Viability Analysis Using Trypan Blue: Manual and Automated Methods. En *Methods in molecular biology* (pp. 7-12). https://doi.org/10.1007/978-1-61779-108-6_2

- Lucas, S. (2016). The Pharmacology of Indomethacin. *Headache The Journal of Head and Face Pain*, 56(2), 436-446. <https://doi.org/10.1111/head.12769>
- Martínez-Rizo, A. B., Fosado-Rodríguez, R., Torres-Romero, J. C., Lara-Riegos, J. C., Ramírez-Camacho, M. A., Herrera, A. L. A., De la Torre, F. E. V., Góngora, E. C., & Arana-Argáez, V. E. (2024). Models in vivo and in vitro for the study of acute and chronic inflammatory activity: A comprehensive review. *International Immunopharmacology*, 135, 112292. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.112292>
- McKinnon, R., Binder, M., Zupkó, I., Afonyushkin, T., Lajter, I., Vasas, A., De Martin, R., Unger, C., Dolznig, H., Díaz, R., Frisch, R., Paßreiter, C. M., Krupitza, G., Hohmann, J., Kopp, B., & Bochkov, V. N. (2014). Pharmacological insight into the anti-inflammatory activity of sesquiterpene lactones from *Neurolaena Lobata* (L.) R.Br. ex Cass. *Phytomedicine*, 21(12), 1695-1701. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2014.07.019>
- Mohammed, I. S. (1996). *Phytochemical studies of flavonoids from polygonum glabrum L of Sudan*. [Tesis de maestría, The Graduate College University of Khartoum] International Nuclear Information System.
- Morales-Ferra, D. L., Zavala-Sánchez, M. Á., Jiménez-Ferrer, E., Trejo-Moreno, C., González-Cortazar, M., Gamboa-Gómez, C. I., Guerrero-Romero, F., & Zamilpa, A. (2023). Chemical Characterization, Antilipidemic Effect and Anti-Obesity Activity of *Ludwigia octovalvis* in a Murine Model of Metabolic Syndrome. *Plants*, 12(13), 2578. <https://doi.org/10.3390/plants12132578>
- Moser, P. (2019). Out of Control? Managing Baseline Variability in Experimental Studies with Control Groups. En *Handbook of experimental pharmacology* (pp. 101-117). https://doi.org/10.1007/164_2019_280
- Nash, D. L., & Williams, L. O. (1976). *Flora of Guatemala*. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.2402>

- Nayak, B. S., Ramlogan, S., Chalapathi Rao, A., & Maharaj, S. (2014). *Neurolaena Lobata* L. promotes wound healing in Sprague Dawley Rats. *International journal of applied & basic medical research*, 4 (2), 106. <https://doi.org/10.4103/2229-516x.136791>
- Nguyen, S. T., Nguyen, H. T., & Truong, K. D. (2020). Comparative cytotoxic effects of methanol, ethanol and DMSO on human cancer cell lines. *Biomedical Research and Therapy*, 7 (7), 3855-3859. <https://doi.org/10.15419/bmrat.v7i7.614>
- Ortega-Gómez, A., Perretti, M., & Soehnlein, O. (2013). Resolution of inflammation: an integrated view. *EMBO Molecular Medicine*, 5 (5), 661-674. <https://doi.org/10.1002/emmm.201202382>
- Pahwa R, Goyal A, & Jialal I. (2023). *Chronic inflammation*. StatPearls - NCBI Bookshelf. Recuperado el 11 de junio de 2023 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493173/>
- Paredes, M. E., Morales, R. E., Lima, W. K., Hu, S., Jurado, A. L. V., Farchi, E., & Prieto, J. M. (2019). Estudios morfoanatomicos y fitoquimicos para el control de calidad de *Neurolaena lobata* (L.) R.Br. ex Cass. (Asteraceae). *Latin American and Caribbean Bulletin of Medicinal and Aromatic Plants*, 18 (3), 277-288. <https://doi.org/10.37360/blacpma.19.18.3.18>
- Passreiter, C. M. (1998). Pyrrolizidine alkaloids from *Neurolaena lobata*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 26 (8), 839-843. [https://doi.org/10.1016/s0305-1978\(98\)00056-8](https://doi.org/10.1016/s0305-1978(98)00056-8)
- Pękal, A., & Pyrzyńska, K. (2014). Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*, 7(9), 1776-1782. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9814-x>
- Peng, Y., Chu, S., Yang, Y., Zhang, Z., Pang, Z., & Chen, N. (2021). Neuroinflammatory in Vitro Cell Culture Models and the Potential Applications for Neurological

Disorders. *Frontiers in Pharmacology*, 12.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2021.671734>

Pérez-Salás, J. L., Moreno-Jiménez, M. R., Rocha-Guzmán, N. E., González-Laredo, R. F., Medina-Torres, L., & Gallegos-Infante, J. A. (2023). In Vitro and Ex Vivo Models for Screening Topical Anti-Inflammatory Drugs. *Scientia Pharmaceutica*, 91(2), 20. <https://doi.org/10.3390/scipharm91020020>

Pober, J. S., & Sessa, W. C. (2014). Inflammation and the blood microvascular system. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7 (1), a016345. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016345>

Punchard, N. A., Whelan, C. J., & Adcock, I. (2004). The Journal of Inflammation. *Journal of Inflammation*, 1(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1476-9255-1-1>

Regueiro, G.J.R., Martínez N.E., López L.C., González R.S., & Corell A.A, (2010) *Inmuología. Biología y patología del sistema inmunitario* (4^a ed.). Editorial Médica Panamericana S. A.

Riss, T. L., Moravec, R. A., Niles, A. L., Duellman, S., Benink, H. A., Worzella, T. J., & Minor, L. (2016, 1 julio). *Cell viability assays*. Assay Guidance Manual - NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK144065/>

Rolnik, A., & Olas, B. (2021). The plants of the Asteraceae family as agents in the protection of human health. *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (6), 3009. <https://doi.org/10.3390/ijms22063009>

Schmid-Schönbein G. W. (2006). Analysis of inflammation. *Annual review of biomedical engineering*, 8, 93–131. <https://doi.org/10.1146/annurev.bioeng.8.061505.095708>

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (2016) *Propóleos, producción y especificaciones para su procesamiento* (PROY-NOM-003-SAG/GAN-2016).

https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5452716&fecha=15/09/2016#gsc.tab=0

Secretaría de Salud (2023). *Dirección General de Epidemiología. Anuario de Morbilidad 1984-2022*. <https://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/anuarios-de-morbilidad-1984-a-2022>

Segeritz, C., & Vallier, L. (2017). Cell culture. En *Elsevier eBooks* (pp. 151-172). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803077-6.00009-6>

Sibila, O., Suarez-Cuartin, G., Rodrigo-Troyano, A., & Anzueto, A. (2017). Corticosteroids and Pneumonia in Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Dual Effect? *Barcelona Respiratory Network*, 1(2). <https://doi.org/10.23866/brnrev.2015-m0010>

Siccha, A.G., & Sabana G. C. (2015). Identificación de fitoconstituyentes y caracterización de flavonoides en las inflorescencias de *Brassica oleracea* L. var. Botrytis “coliflor” por Cromatografía líquida de alta resolución-Espectrometría de masas. *Pharmacencia*, 3 (1). <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/farmabioq/article/view/1043>

Sivinski, S. E., Mamedova, L. K., Rusk, R. A., Elrod, C. C., Swartz, T. H., McGill, J. M., & Bradford, B. J. (2020). Development of an in vitro macrophage screening system on the immunomodulating effects of feed components. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 11 (1). <https://doi.org/10.1186/s40104-020-00497-4>

Sjursnes, B. J., Kvittingen, L., & Schmid, R. (2014). Normal and Reversed-Phase Thin Layer Chromatography of Green Leaf Extracts. *Journal of Chemical Education*, 92 (1), 193-196. <https://doi.org/10.1021/ed400519v>

Tapia, M. J. L. (2010) *Familia Asteraceae*. En Herbario CICY, Unidad de Recursos Naturales Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Desde_Herbario/2010/2010-12-16-Tapia-Asteraceae.pdf

- Timm, M., Saaby, L., Moesby, L., & Hansen, E. W. (2013). Considerations regarding use of solvents in in vitro cell based assays. *Cytotechnology*, 65 (5), 887-894. <https://doi.org/10.1007/s10616-012-9530-6>
- Torres, N. L., Zapata, A., Torres, M., Santana, A., Morales, B., & Martínez, J. L. (2019). Diversidad y usos de las plantas medicinales en Panamá. *Boletín Latinoamericano Y Del Caribe De Plantas Medicinales Y Aromáticas*, 18 (4), 425-434. <http://blacpma.ms-editions.cl/index.php/blacpma/article/view/98>
- Ulubelen, A., Kerr, K. M., & Mabry, T. J. (1980). New 6-hydroxyflavonoids and their methyl ethers and glycosides from *Neurolaena oaxacana*. *Phytochemistry*, 19 (8), 1761-1766. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)83809-1](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)83809-1)
- Ulubelen, A., Kerr, K., & Mabry, T. (1981). Flavonoids of *Neurolaena venturana*. *Planta Medica*, 43 (09), 95-96. <https://doi.org/10.1055/s-2007-971483>
- Valdecasas, A. G., Williams, D., & Wheeler, Q. D. (2007). 'Integrative taxonomy' then and now: a response to Dayrat (2005). *Biological Journal of the Linnean Society*, 93 (1), 211-216. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2007.00919.x>
- Volpe, R., Stefano, P., Massimiliano, M., Francesca, M., Gianluca, S., & Federica, R. (2015). Healthy fats for healthy nutrition. An educational approach in the workplace to regulate food choices and improve prevention of non-communicable diseases. *High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention*, 22 (4), 395-401. <https://doi.org/10.1007/s40292-015-0097-0>
- Wang, N., Liang, H., & Zen, K. (2014). Molecular Mechanisms That Influence the Macrophage M1-M2 Polarization Balance. *Frontiers in Immunology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00614>

- Wagner, H., & Bladt, S. (1996) *Plan Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas*. Editorial Springer.
- Walshe-Roussel, B., Choueiri, C., Saleem, A., Asim, M., Caal, F., Cal, V., Rojas, M. O., Pesek, T., Durst, T., & Arnason, J. T. (2013). Potent anti-inflammatory activity of sesquiterpene lactones from *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. ex Cass., a Q'eqchi' Maya traditional medicine. *Phytochemistry*, 92, 122-127. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.05.004>
- Wirth, T., Lafforgue, P., & Pham, T. (2024). NSAID: Current limits to prescription. *Joint Bone Spine*, 91 (4), 105685. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2023.105685>
- World Flora Online* (2024). Recuperado el 29 de junio, 2024. <https://www.worldfloraonline.org/>
- Wolfender, J., Ndjoko, K., & Hostettmann, K. (2003). Liquid chromatography with ultraviolet absorbance–mass spectrometric detection and with nuclear magnetic resonance spectrometry: a powerful combination for the on-line structural investigation of plant metabolites. *Journal of Chromatography A*, 1000 (1-2), 437-455. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(03\)00303-0](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(03)00303-0)
- Wylezinski, N., Gray, N., Polk, N., Harmata, N., & Spurlock, N. (2019). Illuminating an Invisible Epidemic: A Systemic Review of the Clinical and Economic Benefits of Early Diagnosis and Treatment in Inflammatory Disease and Related Syndromes. *Journal of Clinical Medicine*, 8 (4), 493. <https://doi.org/10.3390/jcm8040493>
- Xu, R., Ma, L., Chen, T., & Wang, J. (2022). Sophorolipid Suppresses LPS-Induced Inflammation in RAW264.7 Cells through the NF- κ B Signaling Pathway. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 27 (15), 5037. <https://doi.org/10.3390/molecules27155037>

Yahfoufi, N., Alsadi, N., Jambi, M., & Matar, C. (2018). The Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Role of Polyphenols. *Nutrients*, 10(11), 1618. <https://doi.org/10.3390/nu10111618>

Ysrafil, Y., Sapiun, Z., Slamet, N. S., Mohamad, F., Hartati, H., Damiti, S. A., Alexandra, F. D., Rahman, S., Masyeni, S., Harapan, H., Mamada, S. S., Emran, T. B., & Nainu, F. (2023). Anti-inflammatory activities of flavonoid derivates. *ADMET & DMPK*. <https://doi.org/10.5599/admet.1918>

Anexo

Abreviaturas

AG: Ácido gálico.

AINE's: Antiinflamatorios no esteroideos.

ANOVA: Análisis de la varianza.

BV2: línea celular derivadas de macrófagos de ratón.

CCF: Cromatografía de capa fina.

CCL2: Ligando 2 de quimiocina con motivo C-C.

CFT: Contenido de flavonoides totales.

CG-EM: Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

CIBIS-IMSS: Centro de investigación Biomédica del Sur dependiente del Instituto Mexicano del Seguro Social.

CLAR-DAD: Cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a detector de diodos.

CLR: receptores de lectina tipo C.

COX: Ciclooxygenasa.

CPT: Contenido de polifenoles totales.

CV: Cardiovascular.

DAMP's: Patrones moleculares asociados al daño.

DMEM: Medio Eagle modificado de Dulbecco.

DMSO: Dimetilsulfóxido.

EEM: Error estándar de la media.

EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

EtOH: Etanol

FA: Fosfatasa alcalina.

FAS: Fosfatasa alcalina secretada

F_R: Factor de retención.

HA: línea celular astrocitos humanos.

HaCaT: células de queratinocitos.

HBMEC: línea celular microvascular endoteliales de cerebro humano.

hs-CRP: proteína C-reactiva de alta sensibilidad

HUVEctert: células endoteliales de vena umbilical humana.

IFN: Interferón.

IL: Interleucina.

INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía.

KOM: Komarowsky

LFA-1: Antígeno 1 asociado a los linfocitos.

LPS: Lipopolisacáridos.

M1: Macrófagos clásicos.

M2: Macrófagos alternativos.

MeOH: Metanol

MTT: Bromuro de tetrazolio azul de tiazolilo.

N2a: células neuroblastoma cerebral de ratón.

N9: células derivadas de cerebro de ratón.

NF- κ B: Factor nuclear de kappa B.

NI A: Extracto de acetato de etilo de *N. lobata*.

NI E: Extracto etanólico de *N. lobata*.

NI H: Extracto hexánico de *N. lobata*.

NLR: Receptores tipo NOD.

NO: Óxido nítrico.

NP-PEG: Difenilboriloxietilamina-Polietilenglicol etanólico.

PAMP's: Patrones de daños asociados a patógenos.

PC12: línea celular feocromocitoma suprarrenal de rata.

Pen-Strep: Penicilina-Estreptomicina.

PRR: Receptores de reconocimientos de patrones.

RAW-Blue: línea celular derivados de macrófagos RAW 264.7 murino.

RLR: receptores RIG.

RMN^{1H}: Resonancia magnética nuclear de protón.

SAC: Síndrome coronario agudo.

SFB: Suero fetal bovino.

SH-SY5Y: línea celular neuroblastoma humano.

SSA: Secretaría de Salud

THP-1: células de leucemia monocítica humana.

TLR: receptores tipo Toll.

TNF: Factor de necrosis tumoral.

t_R: Tiempo de retención.

TRPV1: Receptor potencial transitorio de vaniloide 1

UA: Unidades de absorción.

UV-Vis: espectroscopia ultravioleta-visible.

UV-Vis: Ultravioleta-Visible.

VCAM: Molécula de adhesión de células vasculares.

$\lambda_{\text{máx}}$: Máximos de absorción.

Fórmulas químicas

AlCl₃: Cloruro de aluminio.

CH₂Cl₂: Diclorometano.

CH₃CN: Acetonitrilo.

CH₃SOCH₃: Dimetilsulfóxido.

CO₂: Dióxido de carbono.

H₂O: Agua.

Na₂CO₃: Bicarbonato de sodio

NaNO₂: Nitrato de sodio.

NaOH: Hidróxido de sodio.

Glosario

Aterotrombótico: complicación relacionada con la enfermedad crónica de aterotrombosis caracterizada por la acumulación de lípidos en las paredes de los vasos sanguíneos que obstruyen el flujo sanguíneo.

Diapédesis: proceso en el que los linfocitos T atraviesan los vasos sanguíneos para llegar a los tejidos dañados o infectados.

Exudado: líquido filtrado de los vasos sanguíneos hasta los tejidos del organismo ocasionado por una lesión o un proceso inflamatorio por lo que contiene glóbulos blancos, glóbulos rojos, y proteínas como factores de la coagulación y anticuerpos.

Efecto batocrómico: cambio o desplazamiento de las bandas de absorción de un compuesto hacia longitudes de ondas más largas.

Efecto hipsocrómico: efecto observado cuando las bandas de absorción de un compuesto se desplazan hacia longitudes de ondas más cortas.

Sufrútice: planta con características de un arbusto por sus tallos muy ramificados, sin embargo, presenta características de una hierba en sus ramas y partes superiores.

Tenek: lengua huasteca hablada en el noroeste de San Luis Potosí, como en el noroeste de Veracruz.

Constancia de presentación del trabajo en congresos

Constancia 1.

Constancia del Verano de Investigación Científica UJAT.



UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO
"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"

SECRETARÍA
DE INVESTIGACIÓN,
POSGRADO Y
VINCULACIÓN

LEGADO
UJAT

Otorga la presente

CONSTANCIA

A: Judith Vianey García Morales

Por haber participado en el Tercer Congreso de Resultados y Productos del XIX Verano de la Investigación Científica UJAT en el área de conocimiento: Biología y Química asesorada por el Dr. Abraham Gómez Rivera y el Dr. Ricardo López Rodríguez, realizado a través del Aula Virtual UJAT plataforma Microsoft Teams, los días 27, 28 y 29 de septiembre de 2023.


Dra. Karina Pérez Hernández
Directora de Investigación
SIPyV UJAT

Villahermosa, Tabasco a 29 de septiembre de 2023.

 "Secretaría de Investigación, Posgrado y Vinculación, Sistema de Gestión de Calidad, certificado por American Trust Register, S.C.", Alcance de Certificación (Véase en el Manual de Calidad), Número de certificado ATR 0742 en base a (norma de referencia NMX-CC-9001-IMNC-2015), Vigencia de Certificación (11 de julio de 2026).

ID VIC-3erCONGRESO-2023-0085

QR code

Constancia 2.

Constancia del Congreso Internacional de Química.



Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional	
Título de Tesis:	EFFECTO ANTIINFLAMATORIO DE LOS EXTRACTOS ORGÁNICOS DE <i>Neurolaena lobata</i> (L.) Cass EN CÉLULAS RAW-Blue
Autor(a) o autores(ras) de la Tesis:	García Morales J.V., López Rodríguez R., Herrera Ruiz M.L.
ORCID:	0009-0009-7272-7077
Resumen de la Tesis:	La inflamación es una respuesta fisiológica que forma parte de los mecanismos de defensa del organismo, en etapa crónica puede estar asociada a múltiples enfermedades, entre ellas las de tipo crónico degenerativo. El tratamiento agudo, pero sobre todo crónico de la inflamación consiste en utilizar fármacos del grupo de los no-esteroidales (AINE's) o esteroidales. Entre las limitantes del uso prolongado de estas sustancias resaltan los costos y los efectos adversos. En este contexto, se hace necesaria la búsqueda continua de terapias más eficientes a partir de plantas medicinales debido a su riqueza metabólica. En este estudio, <i>Neurolaena lobata</i> (Asteraceae) conocida como "Quina verde", fue sometida a la extracción consecutiva de sus partes aéreas con <i>n</i>-hexano (NI H) acetato de etilo (NI A) y etanol (NI E). Estos extractos fueron evaluados a 100 y 200 µg/mL en el modelo de células macrófagas RAW-Blue, diseñadas para presentar un gen reportero de fosfatasa alcalina embrionaria inducible por NF-κB/FA-1, y monitorear esta respuesta tras la estimulación receptores de reconocimiento de patrones con lipopolisacárido (LPS). El análisis de cromatografía de capa fina (CCF) y el análisis de cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) de los extractos de NI A y NI E permitieron identificar dos ácidos fenólicos y siete flavonoides, caracterizados por ejercer

	diferentes actividades farmacológicas, como la antiinflamatoria, sugiriendo que el efecto inhibitorio de NF-κB registrado en el cultivo celular RAW-Blue, podría ser debido a la acción de las moléculas identificados en esta investigación, especialmente en el extracto NI A.
Palabras claves de la Tesis:	<i>Neurolaena lobata</i> , polifenoles y flavonoides, vía NF-κB, antiinflamatorio, cultivo de células RAW-Blue.
Referencias citadas:	https://pdf.ac/1DyqKR