



**UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO**  
**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BÁSICAS**



---

---

**ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO DEL EXTRACTO DE  
ACETATO DE ETILO DE *Gliricidia sepium***

**TESIS**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN QUÍMICA  
ORGÁNICA**

PRESENTA

**Q.F.B. LUIS FERNANDO MARTÍNEZ MORALES**

DIRECTOR

**DR. EVER ARQUIMEDES BLÉ GONZALEZ**

CODIRECTOR

**DR. CARLOS ERNESTO LOBATO GARCÍA**

Cunduacán, Tabasco. Mayo 2024

## Declaración de Autoría y Originalidad

En la Ciudad de CUNDUACAN, el día 13 del mes MAYO del año 2024, el que suscribe Luis Fernando Martínez Morales alumna(o) del Programa de Maestría en Ciencias con Orientación en Química Orgánica con número de matrícula 212A18002, adscrito a la DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BÁSICAS, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como autor(a) (es) de la Tesis presentada para la obtención del (título, diploma o grado según sea el caso) Maestro en Ciencias con Orientación en Química Orgánica y titulada ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO DEL EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO DE *Gliricidia sepium* dirigida por Dr. Ever Arquímedes Blé González y Dr. Carlos Ernesto Lobato García.

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 13 de MAYO de 2024.

Nombre y Firma



Luis Fernando Martínez Morales

## Autorización de impresión



División  
Académica  
de Ciencias  
Básicas



DIRECCIÓN

Cunduacán, Tabasco a 07 de mayo de 2024

**Q.F.B. LUIS FERNANDO MARTÍNEZ MORALES  
PASANTE DE MAESTRÍA EN CIENCIAS  
CON ORIENTACIÓN EN QUÍMICA ORGÁNICA  
PRESENTE**

Por medio de la presente me dirijo a Usted para hacer de su conocimiento que proceda a la impresión del trabajo titulado **“ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO DEL EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO DE *Glicidia sepium*”**; en virtud de que reúne los requisitos para el EXAMEN PROFESIONAL y obtener el grado de Maestro en Ciencias con Orientación en Química Orgánica.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

**ATENTAMENTE.**

**DRA. HERMICENDA PÉREZ VIDAL  
DIRECTORA**



C.c.p.- Archivo

DIR'DRAHPV/UP'DRAEAM/jkal

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](http://www.ujat.mx)

## Carta de Cesión de Derechos

Villahermosa, Tabasco a 13 de mayo 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 ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO DEL EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO DE *Gliricidia sepium*. 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



Luis Fernando Martínez Morales

ALUMNO(A) O EGRESADA(O)



Dr. Ever Arquímedes Blé González

DIRECTOR

Dr. Carlos Ernesto Lobato García

DIRECTOR(A) Y CODIRECTOR(A)

## DEDICATORIAS

Primero que nada, darle gracias a la vida, a Dios que me ha permitido llegar hasta donde estoy, además a mis padres, quienes con su apoyo me han dado un buen cobijo para cumplir esta meta, y siempre me han dado todo su animo para que yo pueda realizarme personal y profesionalmente. A mi hermana que con su apoyo y comprensión ha sido siempre un pilar para mi en muchos aspectos, además de que mis sobrinas y ahijadas con sus alegrías ayudaron a esos días de estrés que se presentan durante el curso del posgrado.

A mis Profesores del posgrado que compartieron todo su conocimiento y talento que no solo se debe quedar en la persona, sino que es necesario divulgar todo lo aprendido. Con especial mención al Dr. Ever quien me dio la oportunidad de desarrollar esta investigación además de proporcionar su guía junto con el Dr. Carlos Lobato para la culminación de este proyecto. Aunado a esto un agradecimiento al Dr. Manases y a todo el personal de CIBIS de Morelos por las aperturas y disponibilidad para llevar a cabo la parte mediática de este proyecto.

A mis amigos y personas que no están conmigo quienes realmente conocen la importancia que esto representa para mí.

Por ultimo pero no menos importante al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías por la beca que fue muy importante para el sustento de este proyecto.

## Tabla de contenido

<b>Declaración de Autoría y Originalidad</b> .....	2
<b>Autorización de impresión</b> .....	3
<b>Carta de Cesión de Derechos</b> .....	4
1. ABREVIATURAS .....	8
2. INDICE DE FIGURAS Y TABLAS.....	9
3. INTRODUCCIÓN.....	12
4. GENERALIDADES.....	13
4.1 PRODUCTOS NATURALES Y SU RELEVANCIA.....	13
4.2 COMPUESTOS FENÓLICOS.....	14
4.3 INFLAMACIÓN Y SUSTANCIAS INFLAMATORIAS .....	15
4.4 SUSTANCIAS ANTIINFLAMATORIAS NO ESTEREOIDEAS (AINE'S) .....	16
4.5 FRACCIONAMIENTO CROMATOGRÁFICO .....	18
4.6 CROMATOGRAFÍA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN.....	19
4.7 FAMILIA FABACEAE .....	19
4.8 Género <i>Gliricidia</i> .....	20
4.9 <i>Gliricidia sepium</i> .....	20
5. ANTECEDENTES .....	22
5.1 ESTUDIOS FITOQUIMICOS Y DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA PARA <i>Gliricidia sepium</i> .....	22
6. JUSTIFICACIÓN.....	25
7. HIPOTESIS .....	25
8. OBJETIVOS .....	26
8.1 OBJETIVO GENERAL .....	26
8.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	26
9. METODOLOGÍA.....	27
9.1 COLECTA E IDENTIFICACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.....	27
9.2 PREPARACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.....	27
9.3 PREPARACION DE LOS EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO DE LAS PARTES AEREAS.....	28
9.4 ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC) ...	28
9.5 FRACCIONAMIENTO CROMATOGRÁFICO .....	28

9.6 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA .....	29
9.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	30
9.8 CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS AISLADOS.....	30
10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
10.1 RESUMEN .....	31
10.2 IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	31
10.3 OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS.....	32
10.4 OBTENCIÓN DEL PERFIL CROMATOGRÁFICO.....	32
10.4 FRACCIONAMIENTO CROMATOGRÁFICO .....	35
10.7 AISLAMIENTO DE COMPUESTOS.....	36
10.8 RESONANCIA MAGNÉTICA DE LOS COMPUESTOS AISLADOS .....	41
10.9 EVALUACIÓN ANTIINFLAMATORIA EXTRACTOS Y FRACCIONES .....	55
10.10 EVALUACIÓN ANTIINFLAMATORIA COMPUESTOS AISLADOS.....	57
11. CONCLUSIÓN .....	59
12. PERSPECTIVAS .....	59
13. BIBLIOGRAFÍA.....	60
ANEXO.....	64

## 1. ABREVIATURAS

AINE's: Antiinflamatorios no esteroideos.

CCF: Cromatografía Capa Fina.

FG: Fraccionamiento cromatográfico.

g: gramos

HPLC: High Performance Liquid Chromatography.

h: hora

TPA: 13-Acetato de 12-decanoilforbol.

Nm: nanómetros.

NOM: Norma Oficial Mexicana.

mg: miligramo

min: minutos

## 2. INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Esquema general de la inflamación.....	12
Figura 2. Diagrama de actividades realizadas.....	23
Figura 3. Resumen del estudio químico biodirigido del extracto de acetato de <i>Gliricidia sepium</i> .....	27
Figura 4. Váucher de identificación.....	28
Figura 5. Cromatograma de HPLC del extracto de acetato de etilo de <i>Gliricidia sepium</i> .....	24
Figura 6. Espectrofotometría uv-vis de los compuestos mayoritarios presentes en el extracto.....	29
Figura 7. Cromatografía en capa fina de los extractos de acetato de etilo revelado con sulfato cérico.....	30
Figura 8. Perfil cromatográfico de las reuniones de la Columna 1.....	32
Figura 9. Cromatograma de R7 a 280 nm.....	33
Figura 10. Espectros uv-vis de los compuestos mayoritario.....	33
Figura 11. Cromatograma de GSFCR7-12.....	35
Figura 12. Compuesto aislado de GSFCR7-12.....	35
Figura 13. Cromatograma y espectro uv-vis del compuesto denominado GSFCR7-18 .....	35
Figura 14. Compuesto aislado GSFCR7 15:22.....	36
Figura 15. Cromatografía en Capa Fina de los compuestos aislados.....	37
Figura 16. Espectro de <sup>1</sup> H de ácido melilótico.....	38
Figura 17. Espectro de <sup>13</sup> C de ácido melilótico.....	39

Figura 18. Espectro COSY de ácido melilótico.....	40
Figura 19. Ampliación COSY del ácido melilótico.....	41
Figura 20. Espectro HSQC del ácido melilótico .....	42
Figura 21. Espectro de <sup>1</sup> H de ácido o-cumarico.....	43
Figura 22. Espectro de <sup>13</sup> C de ácido o-cumárico.....	45
Figura 23. Espectro COSY ácido o-cumárico.....	46
Figura 24. Espectro HSQC ácido o-cumárico.....	47
Figura 25. Espectro HMBC ácido o-cumárico.....	48
Figura 26. Porcentaje de Inhibición en modelo de edema auricular por TPA extractos y reuniones.....	52
Figura 27. Porcentaje de Inhibición en modelo de edema auricular por TPA compuestos aislados.....	54
Tabla 1. Compuestos fenólicos comunes en plantas.....	11
Tabla 2. Principales grupos de AINE'S.....	13
Tabla 3. Descripción botánica de la especie <i>Gliricidia sepium</i> .....	16
Tabla 4. Estructuras de los compuestos reportados.....	20
Tabla 5. Perfil cromatográfico del extracto de acetato de etilo.....	30
Tabla 6. Fraccionamiento cromatográfico del extracto de acetato de etilo.....	31
Tabla 7. Resumen cromatográfico de la columna 1.....	31
Tabla 8. Fraccionamiento cromatográfico por fase reversa.....	34
Tabla 9. Resumen de asignación de señales compuesto 1.....	38
Tabla 10. Resumen de asignación de señales compuesto 2.....	46
Tabla 11. Edema de oreja de ratón.....	53

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

### 3. INTRODUCCIÓN

La inflamación es un proceso patológico que tiene muchas implicaciones en diferentes enfermedades ya sea de forma aguda o crónica, es por este motivo el cual ya ha sido ampliamente estudiada, sin embargo, al igual que sus medicamentos de tratamiento estas presentan efectos adversos además de que hoy en día las nuevas tendencias implican que los pacientes o consumidores siguen utilizando el conocimiento empírico o tradicional que se ha llevado en la historia de la sociedad, este es una de las razones por la cual se siguen utilizando plantas medicinales como paliativos a síntomas relacionados con la inflamación.

Los productos naturales han sido de gran importancia a lo largo de la civilización ya que gracias a su uso empírico en la sociedad han logrado ser paliativos a múltiples síntomas y/o enfermedades que han afectado al ser humano. Inclusive hoy en día los productos naturales siguen estando a la vanguardia en lo que concierne a la investigación de nuevos tratamientos farmacológicos para múltiples enfermedades. México, por sus características geográficas alberga muchas especies que han sido y pueden ser investigadas para estos fines, dicho esto la especie *Gliricidia sepium* se puede encontrar en la zona sursureste del país, también conocida como cocoite o matarratón en algunas partes del país.

Se ha encontrado que esta planta tiene actividades como: antiinflamatoria, citotóxica, antiparasitaria, entre otras. (1–3).

En el presente trabajo se busca evaluar las fracciones de este extracto de acetato de etilo en específico, en el modelo de edema auricular por TPA, así como aislar la(s) molécula(s) responsables de dichas actividades.

## 4. GENERALIDADES

### 4.1 PRODUCTOS NATURALES Y SU RELEVANCIA

Los productos naturales representan una gran familia de compuestos químicos producidos por animales marinos, bacterias, hongos y plantas, estos compuestos químicos permiten la interacción entre las especies y la naturaleza. Los productos naturales generan metabolitos primarios y secundarios estos últimos no tienen un rol definido en los procesos fundamentales de la planta o del organismo que los produce sin embargo se ha reportado que cumplen con funciones importantes. Los metabolitos secundarios son producidos en partes específicas del organismo y en una parte del crecimiento de este (4).

Se ha estimado cerca de 75,000 especies vivas a nivel mundial pero solo el 10% se ha utilizado en la medicina tradicional, de este valor solo el 1% al 5% se ha estudiado de manera científica y se conoce su valor terapéutico (5) mientras que, en México, de acuerdo un reporte de la comisión para el conocimiento y uso de la diversidad menciona que el 80% de la población mexicana refiere un uso frecuente de la herbolaria sin embargo solo se han hecho estudios científicos a un 5% del total de especies estimadas con potencial medicinal aproximadamente 4500 especies (6).

A lo largo de la historia y ahora recientemente dentro del diseño de los fármacos se toman en cuenta las estructuras ya conocidas de los productos naturales. Se ha evidenciado entonces el rol que juegan los productos naturales principalmente en el desarrollo de fármacos analgésicos, anticancerígenos, hipoglucemiantes, antibióticos, antimicóticos y antiparasitarios (7).

Hoy en día en las instituciones de salud públicas se están utilizando diferentes aplicaciones de plantas, ya estandarizadas o también llamado cuadro básico de remedios herbolarios para tratar diferentes síntomas como alternativas, y por consiguiente reducir el número de reacciones adversas, incidencias e inconvenientes relacionados a estos fármacos (8).

## 4.2 COMPUESTOS FENÓLICOS

Las plantas sintetizan una gran variedad de productos secundarios entre ellos los que contienen un grupo fenol. Estas sustancias reciben el nombre de compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides y todas ellas derivan de un fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo químicamente, los compuestos fenólicos son un grupo muy amplio que comprende desde moléculas sencillas como los ácidos fenólicos, hasta polímeros complejos como los taninos condensados y los lignanos (9).

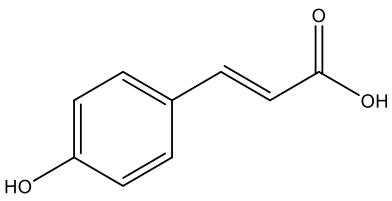
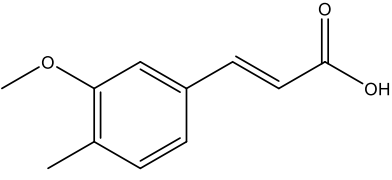
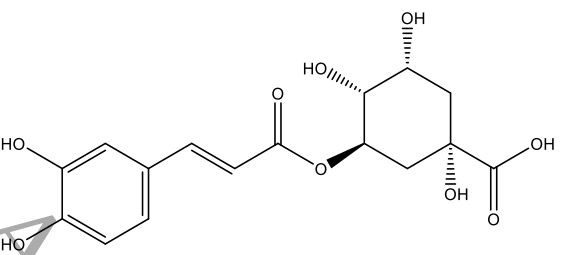
Con respecto a lo que nos menciona el autor los compuestos fenólicos tienen una característica que en su estructura presentan una o varios hidroxilos unidos a estructuras aromáticas o alifáticas (10). Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios esenciales durante el crecimiento y reproducción de las plantas, actúan como agentes protectores a diferentes patógenos, dado que un alto contenido de estos compuestos está relacionado con diferentes actividades biológicas, tales como: antiinflamatoria, antioxidante o antimicrobiana (11).

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios esenciales durante el crecimiento y reproducción de las plantas, actúan como agentes protectores a diferentes patógenos, dado que un alto contenido de estos compuestos está relacionado con diferentes actividades biológicas, tales como: antiinflamatoria, antioxidante o antimicrobiana, algunas de las principales actividades que se tienen de los compuestos fenólicos son: (11)

- Capacidad antioxidante.
- Inhibición de la agregación plaquetaria.
- Disminución del proceso inflamatorio.
- Disminución de la oxidación en lipoproteínas de baja densidad.

En la siguiente tabla se presentan las estructuras de compuestos fenólicos representativos.

Tabla 1 Compuestos fenólicos y derivados comunes presentes en plantas (12).

Compuesto	Estructura
Ácido <i>p</i> -cumárico	
Ácido ferúlico	
Ácido clorogénico	

#### 4.3 INFLAMACIÓN Y SUSTANCIAS INFLAMATORIAS

La inflamación es conocida como un mecanismo de defensa del organismo ante algún daño causado a los tejidos ya sea por patógenos de cualquier origen o por otro tipo de daño ya sea de origen biológico, químico o mecánico. La inflamación es una respuesta que se encarga de reparar el daño producido, sin embargo, este proceso tiene mucho gasto energético para ser llevado a cabo (13).

La inflamación se nos ha presentado como un proceso dañino, cuando realmente es cuando el organismo busca ser reparado, alguno de los síntomas que presenta pueden ser: rubor, calor, dolor, además de que se puede presentar una pérdida de la funcionalidad en donde se lleve a cabo este proceso, en el cual cuando se presenta de forma aguda, este reacciona de forma inmediata contra el agresor, algunas células involucradas son los fagocitos quienes al enfrentarse con el agente patógeno o causante del daño secretan sustancias mediadoras las cuales actúan sobre las células que tienen como consecuencia un aumento en la permeabilidad vascular, logrando así que los leucocitos lleguen al lugar donde se encuentre el

daño para la fagocitosis de los agentes patógenos, una vez terminado este proceso el daño se ha restaurado y todo regresa a la normalidad. Por otra parte cuando la inflamación cursa con una evolución resultado de infecciones persistentes, autoinmunidad, o como continuación de una inflamación aguda por la persistencia del agente lesivo, dando lugar a una inflamación crónica. A diferencia de la inflamación aguda, cuando esta es crónica son las células mononucleares (linfocitos y monocitos) las que se ven involucradas ahora dando a un proceso mucho más tardío que la inflamación aguda. El objetivo de la inflamación es librar al organismo de la causa inicial de agresión celular, sin embargo, cualquiera fuese el cuadro inflamatorio, agudo o crónico, se deben tomar las medidas farmacológicas adecuadas para controlar las secuelas de la inflamación en el organismo, sin interferir con sus efectos benéficos (14).

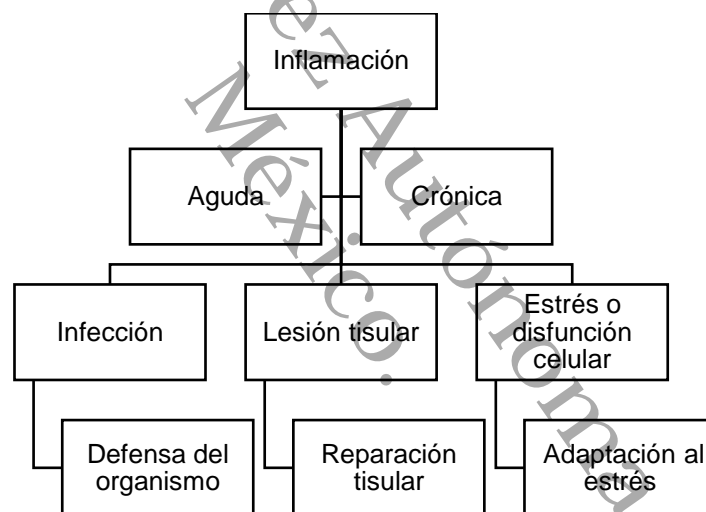


Figura 1 Esquema general de la inflamación. Autoría propia

Las principales sustancias del proceso inflamatorio son: histamina, serotonina, derivados del ácido araquidónico, las cuales son las prostaglandinas, estas se forman gracias a la acción de las enzimas ciclooxygenasas 1 y/o 2 (15).

#### 4.4 SUSTANCIAS ANTIINFLAMATORIAS NO ESTEREOIDEAS (AINE'S)

Los antiinflamatorios no esteroideos son un grupo de fármacos cuya función es reducir la inflamación de tejidos por alguna de las causas que se presentaron anteriormente, ya sea de tipo aguda o crónica, además de que tienen dos

características muy particulares la primera es que poseen una estructura química diferente a los esteroides, la segunda es que su principal mecanismo de acción son inhibir de forma selectiva o no sustancias inflamatorias como las ciclooxygenasas 1 y/o 2 (16).

A continuación, se presenta una tabla de clasificación de los principales grupos antiinflamatorios.

Tabla 2 Principales grupos de AINE'S. Tomado de (16,17)

AINE'S	Salicilatos y derivados	Ácido acetilsalicílico Diflunisal
	Derivados de ácido propiónico	Ibuprofeno Naproxeno
	Derivador enólicos	Piroxicam Meloxicam
	Derivados del ácido antranílico	Diclofenaco Ácido mefenámico
	Derivados de <i>p</i> -aminofenol	Paracetamol

En los productos naturales y a través del su uso tradicional de distintas especies que se han utilizado para este tipo de problemas de salud de cuyo origen puede ser variado, sin embargo, son paliativos para dicho problema, la inflamación. Algunas de las especies más comúnmente utilizada en la sociedad son: Aloe vera (Aloe vera), lavanda (*Lavandula angustifolia*), árnica (*árnica montana*), romero (*Salvia rosmarinus*), jengibre (*Zingiber officinale*) (18).

Estas propiedades antiinflamatorias encontradas en plantas medicinales, les confiere un carácter potencialmente útil para ser empleadas como alternativa al uso de AINE'S, dados los efectos secundarios que pueden presentar estos últimos. De acuerdo con un estudio realizado en el 2018 por Ríos *et al.* Con una población

estudiada de 4553 personas menciona que los siguientes antiinflamatorios no esteroideos como los que más incidencia tienen en cuanto a reportes de reacciones adversas, los cuales son: metamizol, ketorolaco, diclofenaco, paracetamol y naproxeno, a su vez también menciona que los principales síntomas que presentó la población estudiada fueron: erupción cutánea, prurito, edema, dolor abdominal, hipotensión y vómito (19).

Además, que se tiene ya ampliamente estudiado los sistemas que se ven afectados cuando se utilizan de forma inadecuada los AINE'S, los cuales son: gastrointestinal, renal y cardiovascular de acuerdo con la información reportada del Ríos *et. al.* (16).

#### 4.5 FRACCIONAMIENTO CROMATOGRÁFICO

El Fraccionamiento Cromatográfico (FG) es una técnica de separación de mezclas o purificación de sustancias, que permite determinar en qué fracción y en qué cantidad se encuentra el compuesto deseado. La fase móvil es líquida (disolventes) y la fase estacionaria puede ser sólida (sílice gel), la misma que se coloca en un recinto cilíndrico de vidrio en posición vertical (columna de vidrio) provisto de una llave para regular el flujo de la fase móvil, se puede colocar en la parte inferior algodón o lana de vidrio. Para el proceso, se forma una pasta entre la sílice y el solvente dejando sedimentar la sílice, recogiendo el solvente sobrante. La muestra para separar se coloca al inicio de la columna y se agrega lentamente el solvente (o mezcla de solventes) para la separación de la mezcla por diferencia de polaridad. Al descender la fase móvil por la columna produce el desarrollo del cromatograma apareciendo zonas bien definidas que son características de cada uno de los compuestos de la mezcla, el fluido se recoge en fracciones y se realiza un estudio por Cromatografía en Capa Fina (CCF) de cada una. Las fracciones menos polares son las primeras en salir debido a que se retienen por un menor tiempo en el adsorbente, por lo contrario, las sustancias más polares son retenidas durante un mayor tiempo en el adsorbente. La unión de las fracciones se realizará reuniendo a todas las fracciones individuales que contengan las mismas características, es decir, el mismo número de bandas y fluorescencias, en un solo vial bajo un código.

Para la purificación de compuestos se realizan sub-fraccionamientos siguiendo la misma metodología descrita (20).

#### 4.6 CROMATOGRAFÍA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN

Esta técnica se utiliza para la separación, determinación cuantitativa e identificación de compuestos. Muestra niveles de resolución y sensibilidad mayores que la CCF, por lo que es usada para checar la homogeneidad de las muestras aisladas por otras técnicas. Se basa en la cromatografía de elución, la fase móvil es líquida y su función es llevar la muestra a través de la fase estacionaria, que puede ser sólida o una película líquida soportada en un sólido inerte. Las distintas fuerzas químicas y físicas que actúan entre la mezcla a analizar y las dos fases, inmiscibles entre sí, determinan la retención y separación de cada uno de los componentes de la mezcla. Los componentes con mayor afinidad con la fase estacionaria se desplazarán con menor velocidad que aquellos que presentan menor afinidad. Estas diferencias de velocidades dan origen a la separación de los componentes, con tiempos de retención diferentes y característicos para algunos compuestos. Un cromatógrafo líquido de alto rendimiento opera generalmente con cinco instrumentos: reservorio, bomba, dispositivo de inyección, conducciones (columna), detector y registrador (21).

#### 4.7 FAMILIA FABACEAE

Es una familia de distribución cosmopolita. Los árboles son más frecuentes en las regiones tropicales como por ejemplo en la zona sureste del país, abarca desde árboles, arbustos y hierbas perennes o anuales, fácilmente reconocibles por su fruto tipo legumbre en forma de vaina y sus hojas compuestas y estipuladas, (22) así como también, las características que presenta esta familia varían de acuerdo a las condiciones geográficas en las que se encuentre.

Además esta familia tiene reportadas diferentes actividades farmacológicas algunas de estas son: analgésico, antiinflamatorio, antiulceroso, antidiabético, antirreumático, antimicrobiano, citotóxico y antiparasitario (2, 23).

Las características que presenta la especie *Gliricidia sepium* son descritas a continuación.

#### 4.8 Género *Gliricidia*

El género *Gliricidia* está comprendido por 4 especies aceptadas las cuales son:

- *Gliricidia brenningii*
- *Gliricidia maculata*.
- *Gliricidia robusta*
- *Gliricidia sepium*

Estas especies son pertenecientes a la familia de las fabáceas cuyos integrantes tienen una característica en común es que las flores que salen entre abril y mayo atraen a las abejas, además de que en los meses anteriormente mencionados son las etapas de floración (24) mientras que en México la especie que se distribuye en la zona sur sureste del país es la especie *Gliricidia sepium* la cual se describe a continuación.

#### 4.9 *Gliricidia sepium*

Las características de esta especie se resumen en la siguiente tabla:

*Tabla 3 Descripción botánica de la especie Gliricidia sepium. Extraído de Lim (2014) (1,25)*

Botánica	Árbol, arbusto caducifolio, de 2 a 15 m (hasta 20 m) de altura, con un diámetro a la altura del pecho entre 25 y 60 cm, normalmente más pequeño.
Copa	Amplia cobertura del follaje
Hojas	Compuestas, alternas, e imparipinnadas. Miden de 12 a 30 cm de largo (incluyendo el pecíolo). Compuestas por 7 a 25 folíolos opuestos de 3 a 8 cm de largo por 2 a 4 cm de ancho, ovados a elípticos, con el margen entero.
Tronco / Ramas	Tronco un poco torcido. Ramas ascendentes y luego horizontales. La forma del árbol es variable.
Corteza	Externa escamosa a ligeramente fisurada, de color pardo amarillento a pardo grisáceo. Grosor total es de 8 a 10 mm.
Flor	Las flores son rosadas y se agrupan en racimos densos de 10 a 20 cm de largo, situados en las axilas de las hojas caídas. Cada racimo tiene de 15 a 50 flores zigomorfas, de 2 a 3 cm de largo, dulcemente perfumadas. Corola en

	forma de mariposa. Fruto(s). Vainas lineares y dehiscentes a lo largo de 2 suturas, aplanadas, de 10 a 20 cm de largo y 1 a 3 cm de ancho, agudas, péndulas, con nervadura fina, verde limón o pardo claras cuando nuevas y oscuras al madurar. Cada vaina con 3 a 10 semillas.
--	---

En relación con los conocimientos etnobotánicos de *G. sepium*. De acuerdo con un estudio realizado por Quiroz et al, en el año 2017 se analizaron las plantas medicinales que se utilizaban en una zona indígena del estado de Tabasco, donde esta especie se encuentra en la lista de las plantas más usadas y comunes, así como de más fácil acceso (26).

En México, esta planta se ha utilizado como antihistamínico, antipirético, expectorante y diurético, además se utiliza como emplastos para diferentes enfermedades como la fiebre y para diferentes afecciones de la piel, las semillas de dicha especie se han utilizado para intoxicar a roedores pequeños (27).

## 5. ANTECEDENTES

### 5.1 ESTUDIOS FITOQUIMICOS Y DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA PARA *Gliricidia sepium*

De acuerdo con Rastrelli en 1999 extractos orgánicos de esta especie son efectivos contra las termitas de la especie *Glyptotermes dilatatus* (28) las cuales tienen una relevancia en el ámbito de la agricultura.

Estudios presentados por Jose, B y Joji Reddy, L. en el año 2010 analizaron mediante espectrometría de masas los diferentes compuestos que se encuentran en aceites esenciales de las flores y las hojas de partes aéreas de esta planta, algunos de los compuestos más abundantes que se reportaron fueron: cumarinas, hidroquinona, 2-butil-2-hexanol, entre otros (29). Las estructuras de estos compuestos se presentan en la tabla 5.

Akharaiyi, F. C. *et al.*, reportaron en el año 2012 un estudio de los extractos metanólico, etanólico y de éter de petróleo de las hojas de *G. sepium*, encontrando la presencia: alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos, esteroides, fenoles y terpenos, utilizando técnicas cualitativas (30).

Igualmente en el año 2012, se reportó que los extractos etanólicos de *G. sepium* utilizando alícuotas al 5% presentaron actividad ante *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas spp.*, *Salmonella typhi* y *Klebsiella spp.*, obteniendo el mejor resultado contra *E. coli*. (31).

De igual forma un estudio realizado por Kuper K.P. en el año 2014, reportó que el extracto acuoso de *G. sepium* tiene un 76% de actividad antiinflamatoria a las 8 h de la aplicación, utilizando el extracto acuoso a una concentración de 250 mg/Kg utilizando un modelo de edema subplantar (carragenina) y empleando diclofenaco como fármaco de referencia (32).

De acuerdo con un reporte realizado en el año 2018 por Elke Von *et al*, se encontró un compuesto aislado del extracto de etanólico de esta planta, el cual fue un derivado del kaempferol que se denominó oxitrósido, previamente reportado por

Rastrelli et al (2,28), en el año 1999. Así como también se reportó la presencia de vestitol y 4',7-dihidroxi-3'-metoxi-isoflavanona (28). Las estructuras de estos compuestos se presentan en la tabla 5.

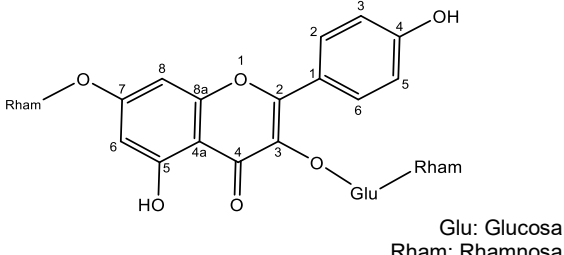
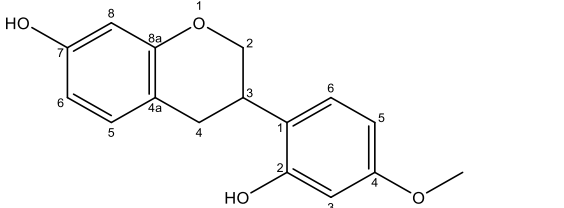
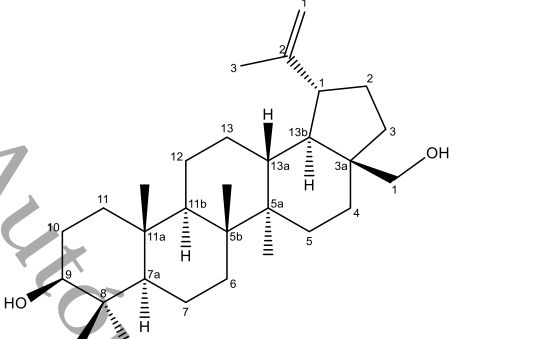
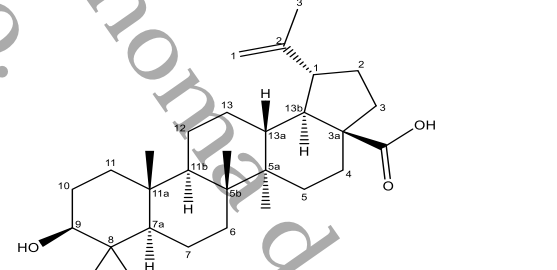
Estudios realizados en el 2019, dentro de las actividades del Cuerpo Académico “Química Orgánica” de la DACB-UJAT, se realizó un para determinar la actividad antiinflamatoria aguda de las hojas de esta especie, encontrándose que el extracto hexánico tuvo un 46.2 % de inhibición de edema, el extracto de acetato de etilo presentó un 66.2 % y el etanólico del 35.8%. Dado estos resultados, se decidió realizar un estudio fitoquímico al extracto que presentó mayor actividad biológica, lográndose el aislamiento de dos compuestos tipo terpenoide: ácido betulínico y betulinol a partir del extracto de acetato de etilo, cuyas estructuras se presentan en la tabla 5. (1).

De acuerdo con un experimento de Dougdoud *et al.*, se reportó en el año 2019, que *Gliricidia sepium* tiene actividades insecticidas contra las especies: *Spodoptera frugiperda*, en ese mismo reporte menciona que las cumarinas son los metabolitos responsables de dicha actividad (33).

Por otro lado Umadevi & Abdul en el 2020 reportaron que los aceites esenciales de *Gliricidia sepium* poseen actividad larvívica contra la especie *Aedes aegypti*, teniendo como resultado que a las 24 horas a una dosis de 250 mg/ml se obtiene un porcentaje de mortalidad de 45% (34).

Como puede observarse en la revisión de los antecedentes se encontraron estudios que hacen referencia tanto a estudios fitoquímicos, pruebas de actividad biológica y también al aislamiento de compuestos a partir de extractos bioactivos de *G. sepium*. Sobre esto último, la tabla 5 presenta un resumen de las estructuras de los compuestos previamente reportados para esta planta.

Tabla 4 Estructuras de los compuestos previamente reportados

Compuesto reportado	Estructura
Oxitrosido (2)	 <p style="text-align: right;">Glu: Glucosa Rham: Rhamnosa</p>
Vestitol (28)	
Betulinol (1)	
Ácido betulínico (1)	

## 6. JUSTIFICACIÓN

En un estudio previo se demostró que los extractos orgánicos de *Gliricidia sepium* presentan una actividad antiinflamatoria moderada contra la indometacina, un fármaco de origen no esteroideo, además que se tienen reportados que grupos químicos de esta especie tales como: alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos y cumarinas (25,35), varios de ellos con actividad biológica tales como: antiinflamatorio (1,32), antioxidante(30,31) y antimicrobiano (25,31,36). Por otro lado, su abundancia, fácil acceso y uso en la medicina tradicional en Tabasco (26) y en diferentes zonas del país (27), hacen que sea una especie viable de estudiar, ya que no se encuentra en riesgo de extinción.

Dado los resultados obtenidos en el estudio previo se busca profundizar en el estudio del extracto de polaridad media de forma biodirigida, estableciendo el perfil cromatográfico, llevando a cabo el aislamiento y caracterización de los metabolitos activos.

Además, de acuerdo con el Diario Oficial de la Federación en las instituciones de salud pública, ya se están empleando plantas ampliamente estudiadas como tratamiento alternativo de enfermedades y así evitar reacciones adversas propias de los AINE'S(8,19) se busca la posibilidad que a través de este estudio la especie de *Gliricidia sepium* se pueda contribuir en el proceso para que en un futuro esta pueda llegar a ser considerada para ampliar el catálogo anteriormente mencionado.

## 7. HIPOTESIS

El extracto de acetato de etilo tiene compuestos que son responsables de la actividad antiinflamatoria previamente reportada.

## 8. OBJETIVOS

### 8.1 OBJETIVO GENERAL

- Realizar un estudio químico para establecer su perfil cromatográfico y caracterizar los metabolitos presentes en el extracto de acetato de etilo de la especie *Gliricidia sepium* para evaluar por actividad antiinflamatoria en modelo de TPA.

### 8.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Recolectar e identificar el material vegetal.
- Preparar y obtener la muestra para la obtención del extracto de polaridad media de las hojas de *Gliricidia sepium* empleando un desengrasado previo y acetato de etilo como solvente de elección.
- Realizar el perfil cromatográfico por HPLC del extracto de acetato de etilo.
- Realizar la separación química por técnicas de cromatografía del extracto de acetato de etilo.
- Realizar la actividad biológica del extracto y sus fracciones por modelo de edema auricular en ratón por TPA.
- Identificar los compuestos aislados por Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear Hidrógeno ( $^1\text{H}$ ), Carbono ( $^{13}\text{C}$ ).
- Evaluar el extracto de acetato de etilo y los compuestos aislados de este mismo extracto de una forma biodirigida.

## 9. METODOLOGÍA

En el diagrama que se presenta a continuación se describen de forma general las actividades realizadas.

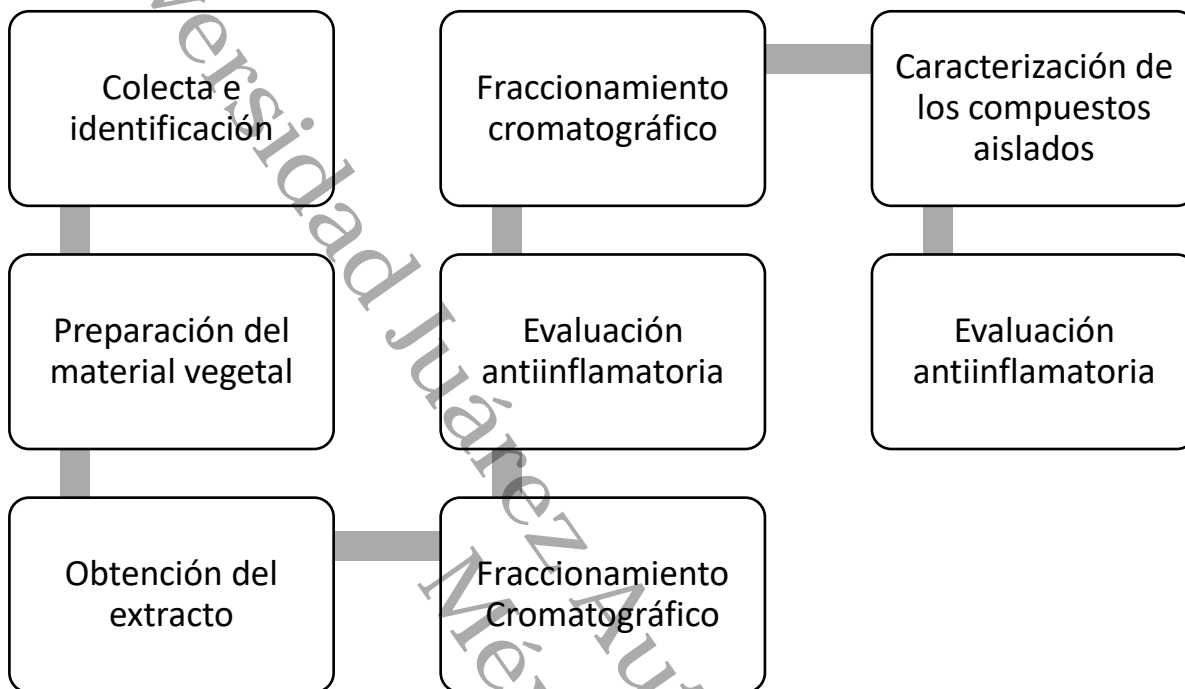


Figura 2 Diagrama de actividades realizadas

### 9.1 COLECTA E IDENTIFICACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

El material se recolectó en el municipio de Centro Tabasco, en el periférico Carlos Pellicer Cámara ( $18.021887^\circ$ ,  $-92.912835^\circ$ ) posteriormente fue identificada por la Dra. Nelly Jiménez Pérez en el herbario de la División Académica de Ciencias Biológicas. La especie fue identificada como *Gliricidia sepium* por la Dra. Nelly del C. Jiménez Pérez. Obteniéndose el número de folio **036229**

### 9.2 PREPARACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

El material vegetal (hojas) se secó en sombra a temperatura ambiente durante 10 días posteriormente se empleó un molino para la reducción del tamaño de partícula. La molienda de material se llevó a cabo en una licuadora marca Hamilton Beach de 700 watts y de 1.2 L de volumen modelo 58148-MXR (20).

### 9.3 PREPARACION DE LOS EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO DE LAS PARTES AEREAS

Se realizó un macerado previo del material previamente identificado, cortado, secado y triturado con hexano como desengrasante para posteriormente repetir el proceso finalmente con acetato de etilo para hacer el estudio químico. Este macerado fue realizado durante 72 horas siendo recuperado cada 24 horas (1).

### 9.4 ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC)

El análisis cromatográfico por HPLC se realizó utilizando un módulo de HPLC Waters 996, equipado con un detector de matriz de fotodiodos y el software EmpowerPro (Waters Corporation, Milford, MA, EE. UU.). La separación química se logró utilizando una columna Supelcosil LC-F (4,6 mm 50 mm), con un tamaño de partícula de 5 $\mu$ m, (Sigma-Aldrich, Bellefonte, PA, EE. UU.). La fase móvil consistió en una solución acuosa de ácido trifluoroacético al 0,5% (disolvente A) y acetonitrilo (disolvente B) en un sistema de gradiente (0-1 min, 0% B; 2-3 min, 5% B; 4-20 min, 30 % B; 21 a 23 minutos, 50% B; 24 a 25 minutos, 80% B; 26 a 27 100% B; 28 a 30 minutos, 0% B). El flujo se mantuvo a 0,9 ml/min. El volumen de inyección fue de 10 $\mu$ L. El detector de matriz de fotodiodos se fijó a una longitud de onda de 280 nm para la identificación de compuestos fenólicos (37).

### 9.5 FRACCIONAMIENTO CROMATOGRÁFICO

Dado los antecedentes realizados en el estudio previo, el extracto de acetato de etilo se sometió a un proceso de fraccionamiento químico mediante la técnica de cromatografía en columna abierta, utilizando como soporte fase normal (gel de sílice, malla 70-230), empleando los eluyentes apropiados y las proporciones adecuadas de extracto para optimizar el proceso de separación.

La separación de las fracciones se monitoreó por cromatografía en capa fina (CCF) para llevar a cabo el seguimiento del fraccionamiento químico, así como para decidir cuales fracciones podían agruparse con base en su contenido químico. Para ello se utilizaron láminas de aluminio con sílica gel 60 RP-18 F254s (105560-Merck KGaA). El análisis de las placas se realizó a través del revelado con lámpara de luz ultravioleta (UV) a 254 y 360 nm (38).

## 9.6 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

El modelo de edema auricular por TPA (13-Acetato de 12-decanoilforbol) fue realizado de acuerdo con la NOM-062-ZOO-1999 Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio” (39). Se formaron grupos de siete ratones de cepa ICR con un peso 35-40 g, que fueron resguardados en los lugares adecuados durante tres semanas con ciclos de 12 h de luz y 12 h de oscuridad con acceso libre a agua y alimentos. Cada grupo correspondió a los tratamientos: 1. TPA (control negativo; 2.5 µg de vehículo disuelto en 20 µL de acetona), 2. indometacina 1mg/10µL de acetona (control positivo) 3. Extracto de acetato de etilo 1mg/10µL 4. R5 1mg/10µL 5. R7.

El procedimiento de administración en la oreja se inició en la etapa de anestesia quirúrgica (pentobarbital sódico 50 mg/Kg vía, ip). La oreja izquierda de cada ratón fue utilizada como control de referencia para todos los tratamientos porque solo 10µL de la solución de acetona al 70% serán aplicados en ambas orejas. Los tratamientos (2,3,4) fueron administrados en ambos lados de la oreja quince minutos antes de la administración de 10µL de TPA. Después de 4 h, los animales fueron sacrificados por dislocación cervical, y después secciones de 6 mm se tomaron de las orejas de cada uno de los ratones en sus respectivos grupos, dichas secciones serán pesadas y la diferencia de peso se determinará. Los resultados se utilizaron para determinar la inhibición del edema inducido por TPA y su porcentaje fue calculado por la fórmula siguiente: (40)

$$\% \text{ inhibición} = (\Delta \text{ peso control} - \Delta \text{ peso tratamiento}) \times 100$$

donde  $\Delta \text{ peso} = Ot - Ont$

$Ot$  = peso de la sección de la oreja tratada

$Ont$  = peso de la sección de la oreja no tratada

## 9.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa SPSS (versión 22.0) software basado en un ANOVA con un nivel de confianza del 95%,  $*p \leq 0.05$ ; y seguido de una prueba de Dunnet  $*p \leq 0.05$  en comparación con el vehículo (control negativo) (40).

## 9.8 CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS AISLADOS

Los espectros de UV se obtuvieron por un Detector de Fotodiodos en serie (Waters 2996) (38), utilizando los rangos de 254 a 380 nm. Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  así como los experimentos bidimensionales de espectroscopía de correlación (COSY), Coherencia heteronuclear cuántica simple (HSQC), Conectividad heteronuclear a enlaces múltiples (HMBC), fueron adquiridos en un equipo Bruker 600 MHz Ascend TM, a una frecuencia de resonancia de 600 y 150 MHz para los núcleos de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  respectivamente. Las muestras fueron disueltas de acuerdo con su solubilidad utilizando cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ), metanol deuterado ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) o dimetilsulfóxido deuterado ( $\text{DMSO-D}_6$ ). Además, se empleó tetrametilsilano (TMS) como estándar interno (41).

Para el análisis e interpretación de los espectros se utilizaron los softwares ACD/Labs Predictors, MestreNova 9.1 y ACD/Procesor 12.0 como simulador teórico para la elucidación estructural de los compuestos.

Las técnicas espectroscópicas de cromatografía líquida de alta resolución y espectrofotometría UV-VIS se realizaron en el Centro de Investigaciones Biomédicas del Sur en Xochitepec, Morelos. Mientras que las técnicas de resonancia magnética nuclear se realizaron en el Centro de Investigación de Ciencia y Tecnología Aplicada de Tabasco de la Universidad Juárez Autónoma del Tabasco.

## 10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 10.1 RESUMEN

La figura 3 presenta un resumen de las etapas realizadas en este trabajo.

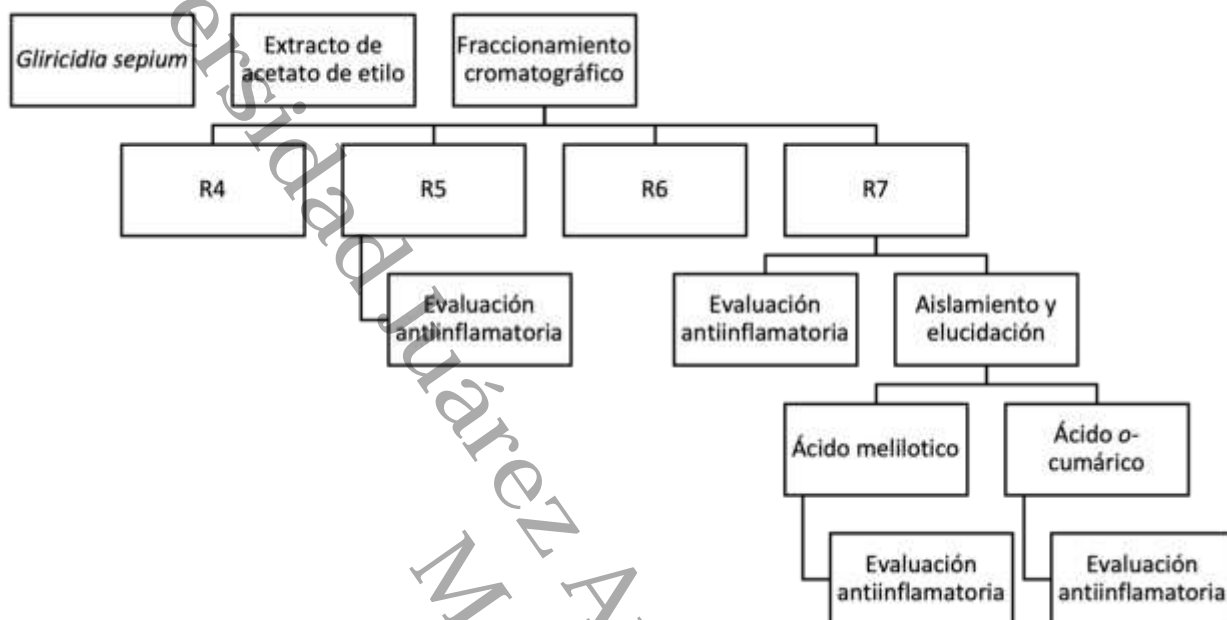


Figura 3 Resumen del estudio químico y biológico del extracto de acetato de etilo de *Gliricidia sepium*

### 10.2 IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA

La identificación taxonómica realizada en el Herbario de la DACBioI-UJAT señaló que la muestra colectada corresponde a la especie *Gliricidia sepium*. La figura 3 muestra el espécimen depositado en el herbario y el vócher de identificación.

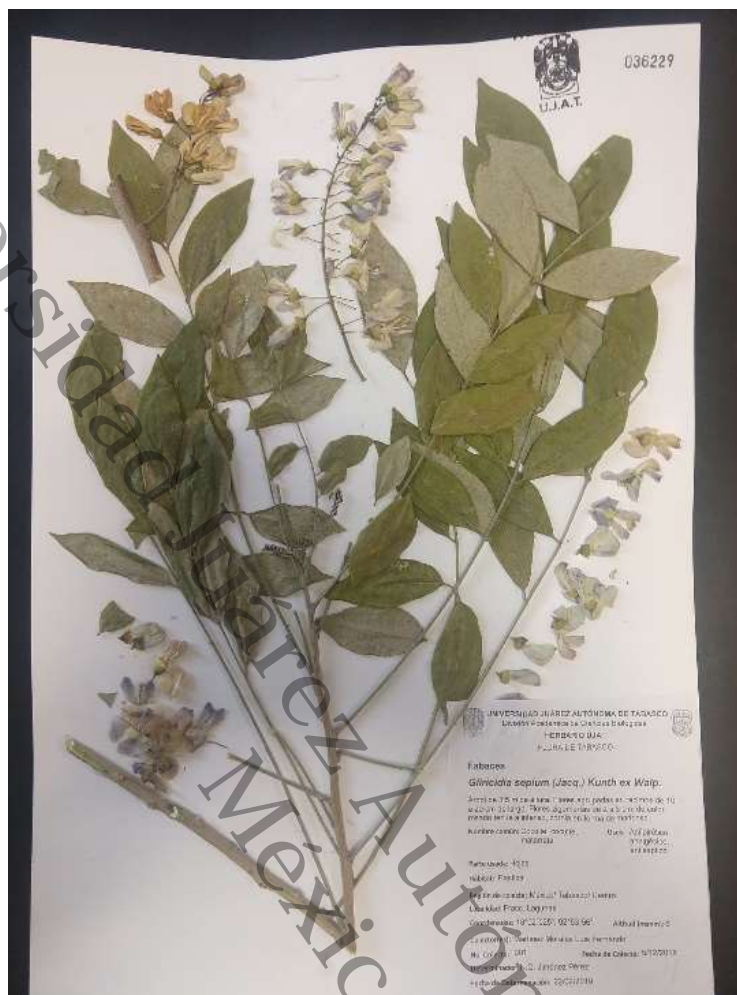


Figura 4 Váucher de identificación de la especie

### 10.3 OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

Una vez seco y reducido el material vegetal a partir de 1,023 g, se procedió al macerado con acetato de etilo durante 72 h recuperando cada 24 h usando un desengrasado previo con hexano durante 24 h. haciendo la concentración del macerado en un equipo de rotavapor a las siguientes condiciones (48 °C y 55-60 rpm). La cantidad del extracto de acetato de etilo obtenido fue de 197.5 g gramos que corresponde a 19.30%.

### 10.4 OBTENCIÓN DEL PERFIL CROMATOGRÁFICO

Una vez obtenido el extracto de acetato de etilo se tomaron 5 mg para ingresarlos al equipo de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), a una concentración de 2 mg/ml y a una longitud de onda de 280 nm. Dando como resultado el siguiente

cromatograma, así como los espectros UV que se encontraron en los compuestos mayoritarios. (Ver figura 1)

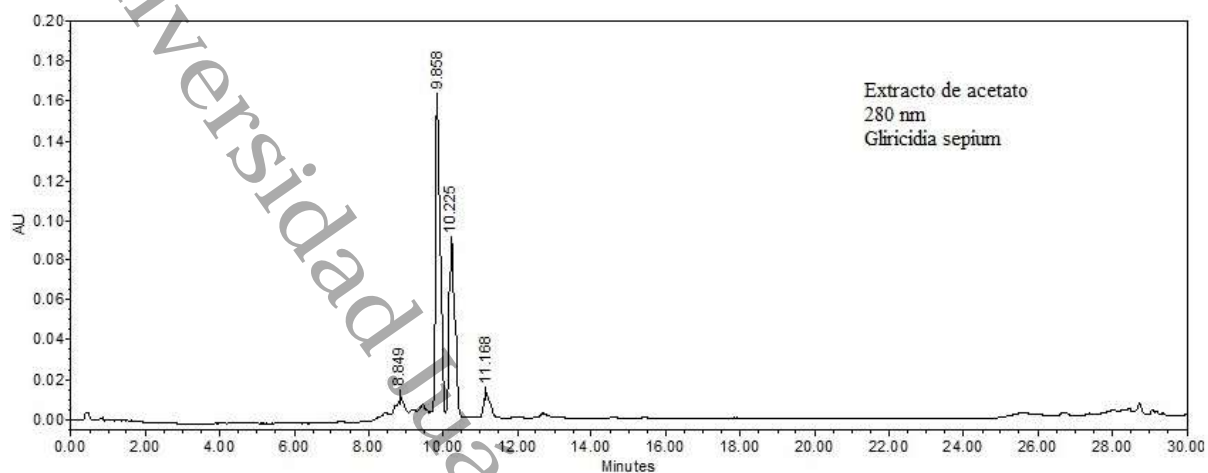


Figura 5 Cromatograma de HPLC. del extracto de Acetato de etilo de *Gliricidia sepium*

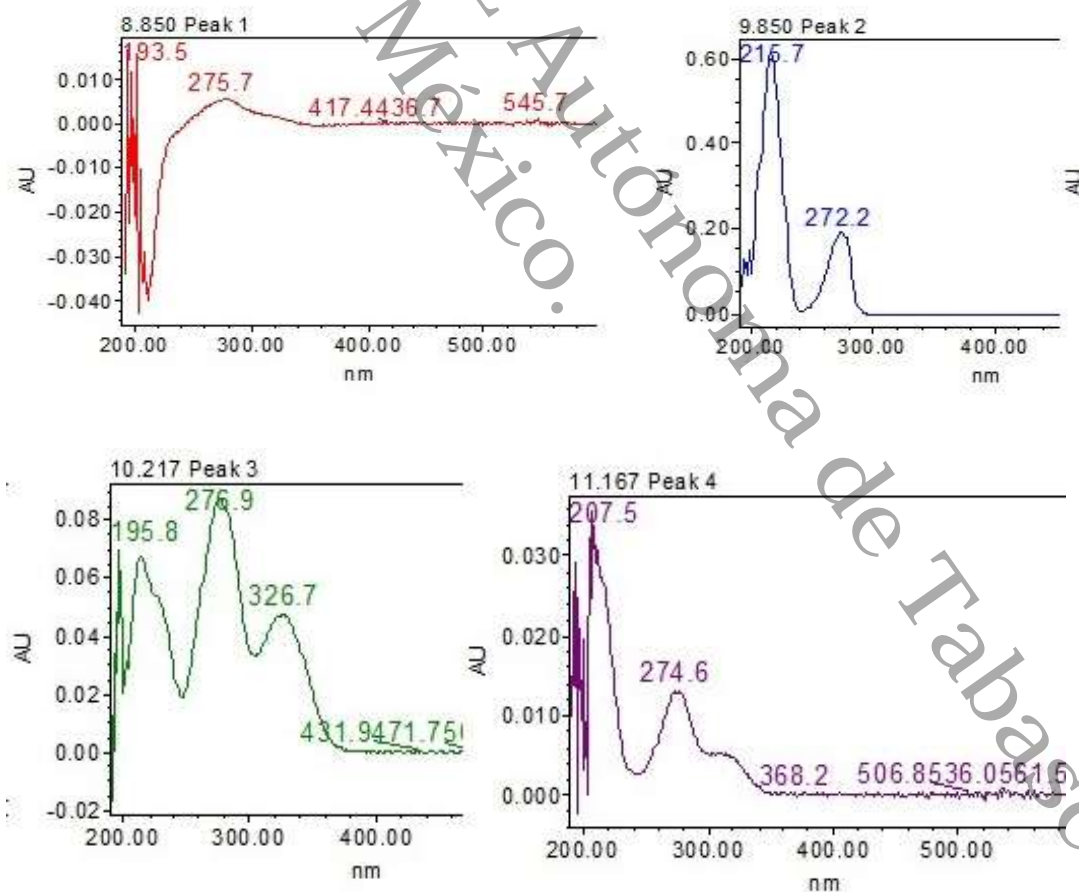


Figura 6 Espectrofotometrías UV-vis de los compuestos mayoritarios presentes en el extracto.

En la siguiente tabla se describen los tiempos de retención de cada pico, así como al grupo químico al que están relacionados.

Tabla 5 Perfil cromatográfico del extracto de acetato de etilo de *G. sepium*

Tiempo de retención (min)	Bandas de absorción (nm) $\lambda_{\text{máx}}$	Compuesto
8.84	193.5, 275.7	Fenoles
9.85	215.7, 272.2	Galatos de metilo
10.21	195.8, 276.9, 326.7	Cromonas
11.16	207.5, 274.6	Cromonas

A su vez se monitoreó por cromatografía en capa fina, en los 2 puntos de aplicación que tienen como simbología (Et) que significa extracto etanólico podemos observar que no posee compuestos poco polares, ya que se utilizó como sistema de elución 70:30 Hexano/Acetato de etilo. Las aplicaciones (Ac) que corresponden al extracto de acetato de etilo podemos observar que hay compuestos que son medianamente polares al sin embargo dado los antecedentes presentados anteriormente y que como revelan en sulfato cérico podemos decir que hay compuestos que poseen un grupo carbonilo, aunado esto la placa cromatográfica presentada nos menciona información para continuar con la parte fundamental en el extracto de acetato de etilo ya que es el extracto principal en el presente trabajo.

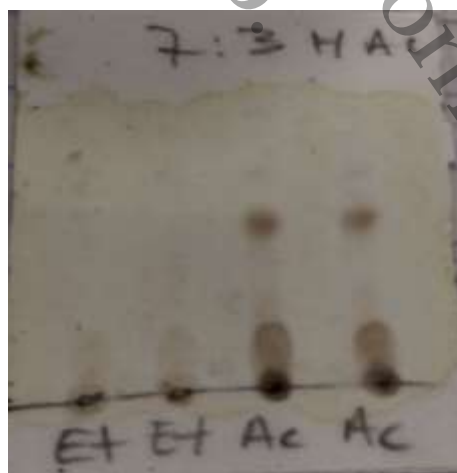


Figura 7 Cromatografía en Capa Fina de los extractos de Acetato de etilo revelado con Sulfato Cérico

#### 10.4 FRACCIONAMIENTO CROMATOGRÁFICO

Se tomaron 33 g del extracto de acetato de etilo adsorbidos en 50 g de sílica de fase normal para una columna de percolación (20 largo x 10 diámetro) la cual fue empaquetada en 150 g de sílica de fase normal, utilizando solventes de polaridad ascendente hexano, acetato y metanol. Como resultado se obtuvieron 43 fracciones, las cuales se les hicieron perfiles cromatográficos en capa fina, para así realizar las reuniones correspondientes para su evaluación antiinflamatoria. Estos resultados se presentan en la siguiente tabla.

*Tabla 6 Fraccionamiento Cromatográfico (Columna 1) del Extracto de Acetato de Etilo*

Sistema	Cantidad de Fracciones	Numero de Fracción
Hexano	5	1-5
Hexano: Acetato (90:10)	5	6-10
Hexano: Acetato (80:20)	5	11-16
Hexano: Acetato (70:30)	5	17-21
Hexano: Acetato (60:40)	5	22-26
Hexano: Acetato (50:50)	5	27-31
Hexano: Acetato (30:70)	5	32-37
Acetato de etilo	5	38-42
Metanol (lavado)	1	43

Una vez realizados los perfiles cromatográficos de estas fracciones se procedió a realizar reuniones, así como la asignación de claves que se presentan a continuación.

*Tabla 7 Resumen Cromatográfico de la Columna 1*

Reunión	Sistema	Clave
1-5	Hexano	GSFC1-R1
6-8	Hexano: Acetato (90:10)	GSFC1-R2
9-12	Hexano: Acetato (90:10)	GSFC1-R3
13-16	Hexano: Acetato (80:20)	GSFC1-R4
<b>17-25</b>	<b>Hexano: Acetato (70:30)</b>	<b>GSFC1-R5</b>
26-31	Hexano: Acetato (50:50)	GSFC1-R6
<b>32-36</b>	<b>Hexano: Acetato (30:70)</b>	<b>GSFC1-R7</b>
37-40	Acetato de etilo	GSFC1-R8
41-42	Acetato de Etilo	GSFC1-R9
43	Metanol	GSFC1-R10



Figura 8 Perfil cromatográfico de las reuniones de la Columna 1; Referencia del extracto de Acetato de Etilo a la derecha de cada placa. 1-5 (Hexano: Acetato, 85:15) 5-10 (95:5, Diclorometano: Metano)

Una vez realizado este perfil cromatográfico en capa fina se cómo se observa en la figura 8 se tomaron 100  $\mu$ L de la reunión 7 por el criterio de rendimiento y pureza química para su análisis de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Una vez analizados dicha reunión por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), se aprecian cuatro compuestos con los tiempos de retención 8.8, 9.8, 10.1, 11.4 minutos, donde los compuestos con tiempo de retención 9.8 y 10.1 son los mayoritarios de la fracción GSFCR7. Posteriormente se llevaron a la evaluación antiinflamatoria bajo el criterio de rendimiento, y composición química monitoreada por cromatografía en capa fina, dado el comportamiento de la espectrofotometría uv-visibles podemos indicar la presencia de polifenoles, los cuales ya se han reportado en dicha especie (35) y tienen pocos estudios bajo este modelo. Dichos compuestos se presentan en la siguiente sección.

#### 10.7 AISLAMIENTO DE COMPUESTOS

Se seleccionó la denominada GSFCR7 por el criterio de que en cromatografía en capa fina era quien presentaba menos impurezas al momento de haberse realizado este monitoreo. En la tabla 9 se presenta el fraccionamiento cromatográfico del compuesto R7.

A continuación, se presenta el cromatograma de una de las fracciones la cual fue GSFC1-R7.

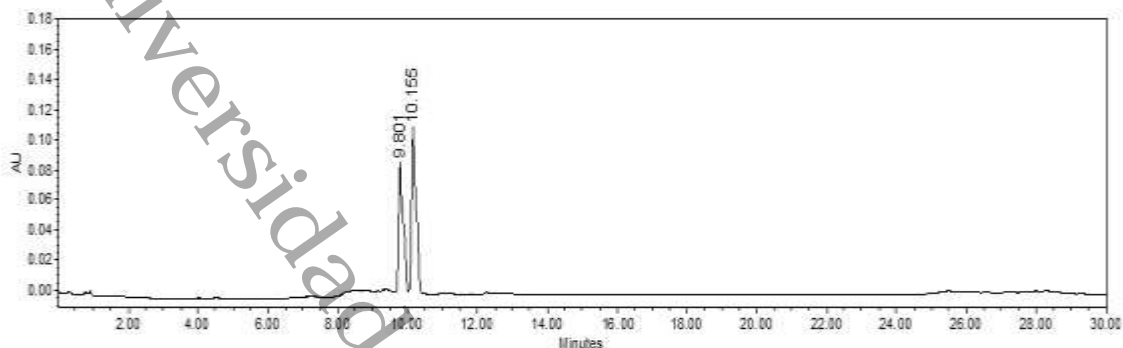


Figura 9 Cromatograma de la reunión R7 a 280 nm

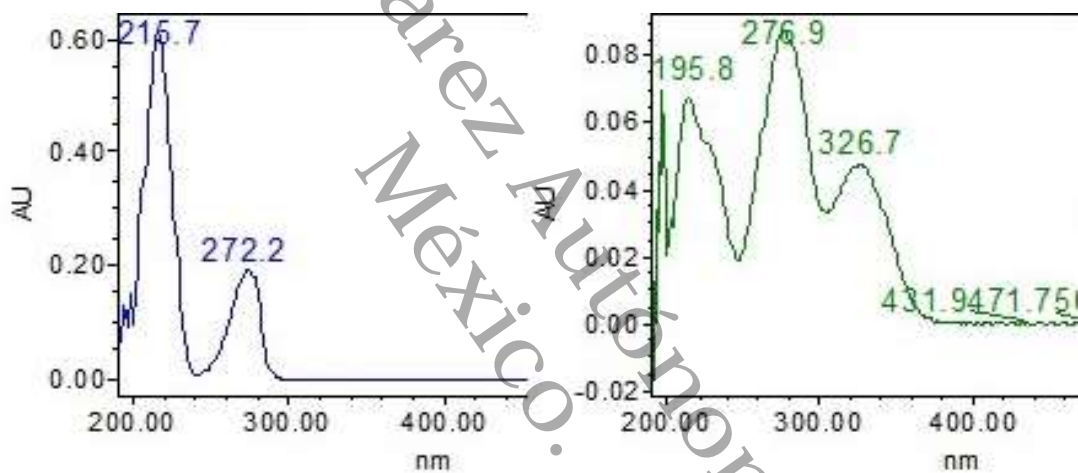


Figura 3 Espectros UV-vis de los compuestos mayoritario en GSFCR7

En este cromatograma podemos apreciar que ya solo se encuentran los compuestos que tienen tiempo de retención de 9.8 ( $\lambda_{\text{máx}}$  215, 272 nm) y 10.1 ( $\lambda_{\text{máx}}$  195, 276, 326 nm) min respectivamente, lo cual nos indica que, de acuerdo con la tabla presentada del extracto en crudo, estos tiempos de retención tienen como posible grupo: derivados de galatos de metilo y cromonas, estos de acuerdo con las características de las bandas de espectrofotometría UV-vis.

Una vez finalizado el proceso mediante cromatografía líquida de alta resolución se procedió a realizar un fraccionamiento cromatográfico por fase reversa que se describe a continuación.

Se obtuvieron 45 fracciones que se presentan a continuación.

*Tabla 8 Fraccionamiento cromatográfico por fase reversa de la fracción 7 (GSFCR7)*

Sistema	Numero de fracción	Observaciones
Agua	1 - 5	
Agua: Acetonitrilo 95:5	6 - 10	Compuesto aislado
Agua: Acetonitrilo 90:10	11 - 15	Compuesto aislado
Agua: Acetonitrilo 85:15	16 - 20	Compuesto aislado
Agua: Acetonitrilo 80:20	21 - 25	Compuesto aislado
Agua: Acetonitrilo 75:25	26 - 30	
Agua: Acetonitrilo 70:30	31 - 35	
Agua Acetonitrilo 65:35	36 - 40	
Agua: Acetonitrilo 60:40	41 - 45	
Agua: Acetonitrilo 50:50	46 - 50	
Metanol	51	

Se obtuvieron dos compuestos aislados de la columna anterior, los cuales se llevaron a Cromatografía líquida de alta resolución, para su perfil, dando como resultado lo siguiente.

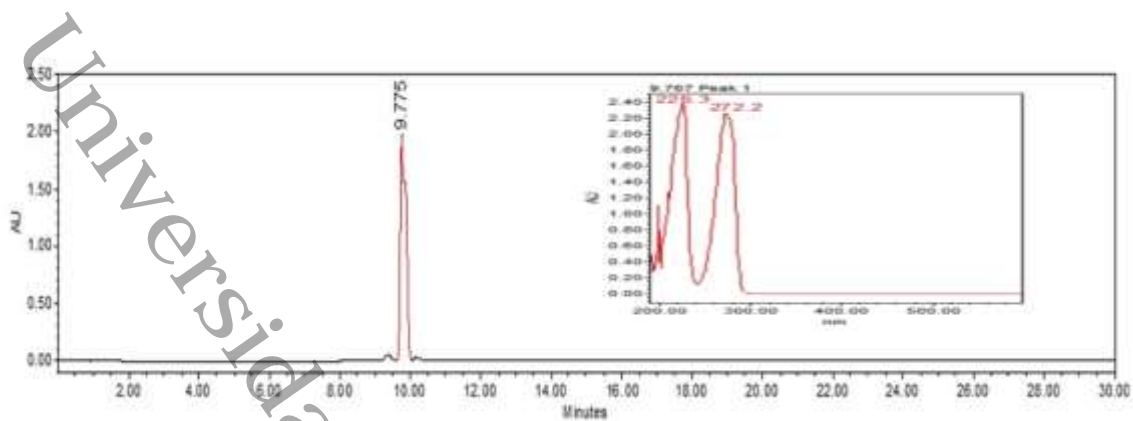


Figura 11 Cromatograma y espectro uv-vis del compuesto denominado GSFCR7-12



Figura 12 Compuesto aislado GSFCR7-12

La característica de este compuesto son las siguientes: son sólidos translúcidos los cuales son solubles en metanol (ver figura 8) y en cromatografía en capa fina de fase reversa solo se aprecia a onda corta.

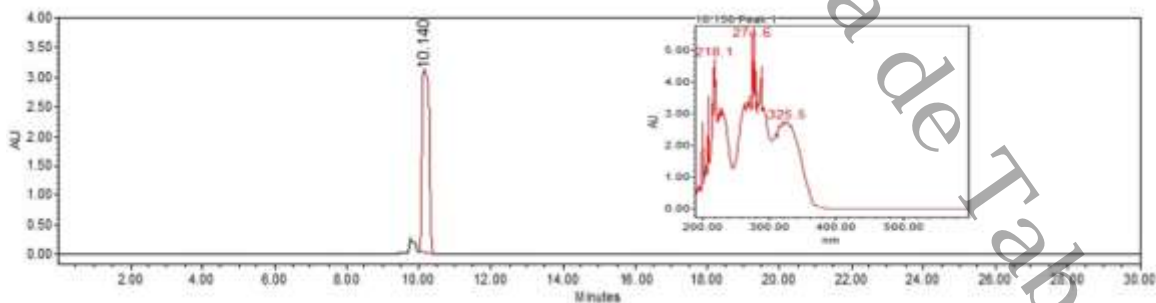
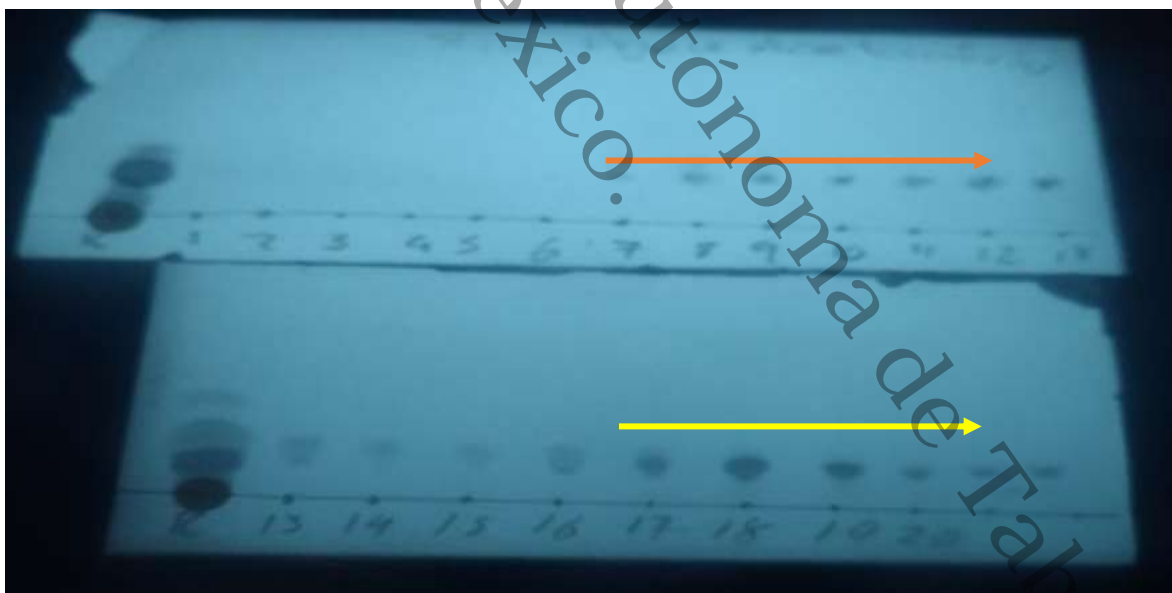


Figura 13 Cromatograma y espectro uv-vis del compuesto denominado GSFCR7-18



Figura 14 Compuesto aislado GSFCR7 15:22

Las características de este compuesto son: cristales pequeños de color amarillo claro los cuales son solubles en metanol, mientras que en la cromatografía en capa de fina de fase reversa se aprecia color azul a onda larga.



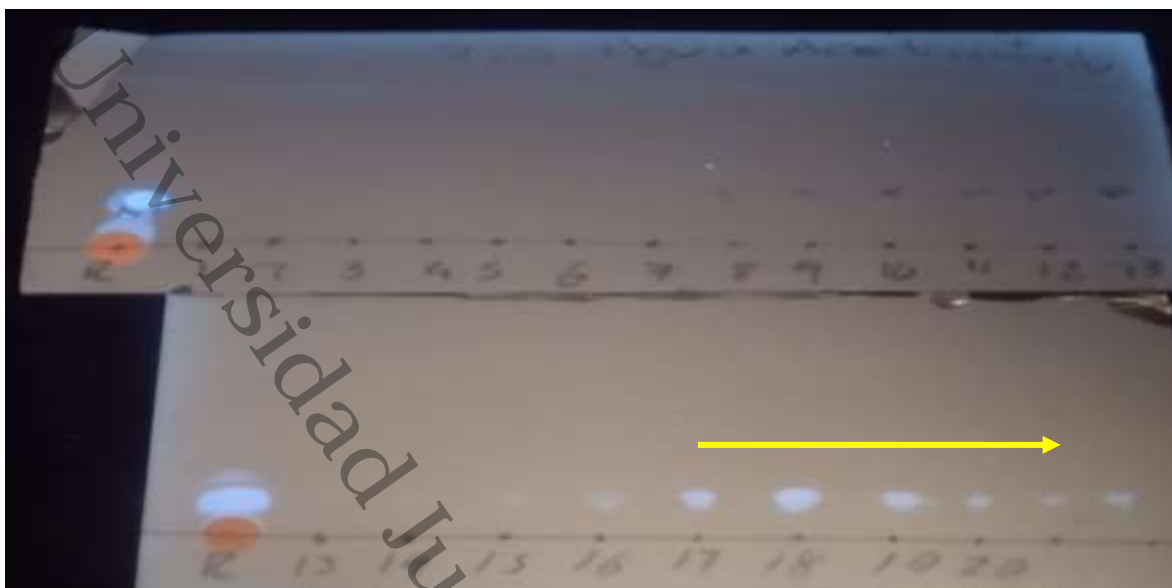


Figura 15 Cromatografía en Capa Fina de los compuestos aislados en onda corta 254 nm (arriba) y onda larga 380 nm (abajo) Fase Reversa Agua y acetonitrilo 70:30

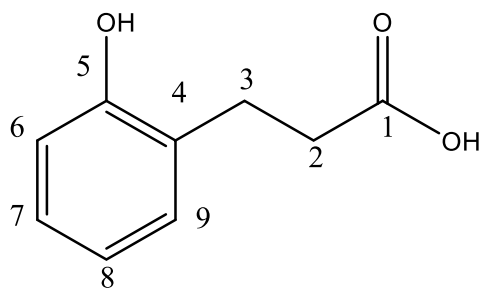
Con respecto a lo que se aisló anteriormente se procedió a realizar la Resonancia Magnética Nuclear con los experimentos que se describieron en la parte de metodología.

#### 10.8 RESONANCIA MAGNETICA DE LOS COMPUESTOS AISLADOS

Después del análisis de RMN de los compuestos aislados GSFCR7-8:13 y GSFCR7-15:22, se logró elucidar que los desplazamientos químicos en carbono 13 corresponden a los siguientes compuestos: ácido melilótico (1) y ácido *o*-cumárico (2). A continuación, se presenta la elucidación estructural realizada para cada uno de los dos compuestos aislados.

Ácido melilótico.

La estructura numerada del ácido melilótico empleada en la asignación de las señales de RMN se muestra en la figura.



Ácido melilótico (1)

En la tabla 10 se muestra un resumen de la asignación de las señales de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , así como las correlaciones homo y heteronucleares encontradas. La discusión correspondiente se presenta más adelante.

Tabla 9. Resumen de la asignación de las señales de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) y  $^{13}\text{C}$  (150 MHz) del compuesto 1. Temperatura ambiente, disolvente  $\text{CD}_3\text{OD}$

Posición	$^{13}\text{C}$ ( $\delta$ ppm)	$^1\text{H}$ ( $\delta$ ppm, m*, J** en Hz)	COSY	HSQC	HMBC
1	177.5	-----	----	-----	H2, H3
2	27.0	2.8 (t, 7.7)	H3,	2.8 (C3)	H3
3	35.0	2.5 (t, 7.7)	H2,	2.5 (C2)	H2,
4	128.2	-----	----	-----	H3, H6, H9
5	156.3	-----	-----	-----	H6, H7, H9
6	115.9	6.73 (dd, J= 8.0, 1.3)	H7	6.73 (C6)	H7,
7	128.1	7.00 (td, J=8.0, 1.8)	H8	7.00 (C7)	H6, H8, H9
8	120.5	7.07 (dd, 7.4, 1.8)	H9	7.07 (C8)	H6, H7, H9
9	130.9	6.73 (dd, 7.4, 1.3)	H8	6.73 (C9)	H3, H7, H8

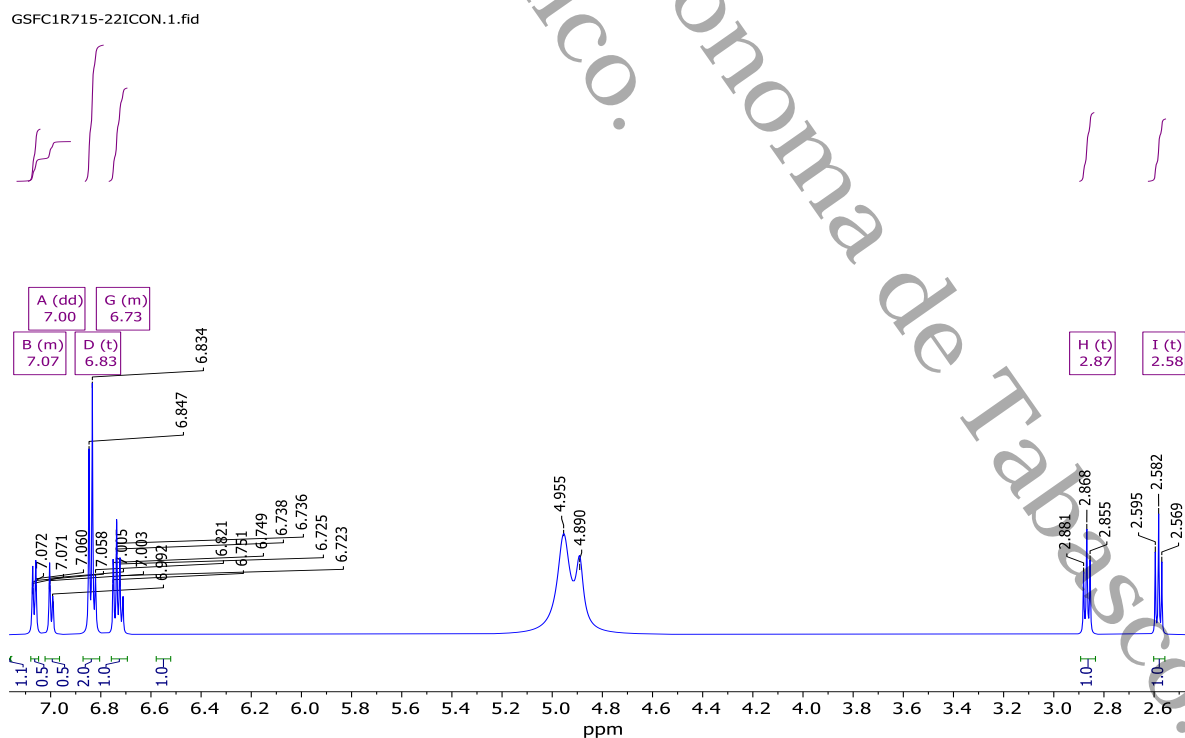
\*m: t= triplete, td=triple de doble, dd=doble de doble.

\*\*J= constante de acoplamiento (Hz)

## Análisis del espectro de RMN de $^1\text{H}$

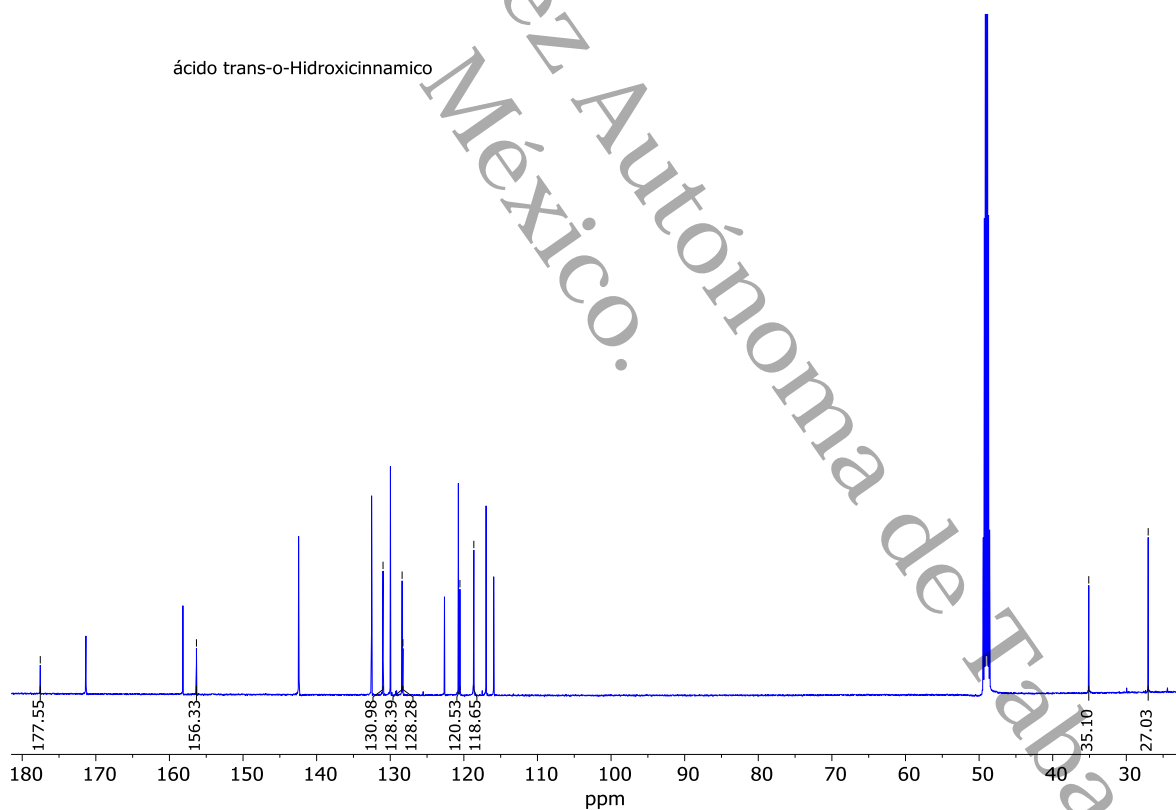
En la posición 9 del anillo aromático tenemos un doble de dobles con un desplazamiento químico de 7.08 ppm con una constante de acoplamiento de 7.2 y 1.8 Hz que corresponde a un hidrógeno en la posición 9 del anillo aromático, mientras que en la posición 7 con un desplazamiento químico de 7.02 ppm tenemos un triple de dobles con una constante de acoplamiento de 7.8 Hz y 1.8 Hz que son constantes de acoplamiento que se encuentran dentro de los parámetros de las posiciones *orto* y *meta* respectivamente. Dentro de los desplazamientos químicos de 6.86 a 6.82 ppm tenemos un multiplete que integra para 2 protones de hidrógeno. En las posiciones 2 y 3 podemos observar desplazamientos químicos de 2.8 y 2.5 ppm respectivamente ambas señales tienen una multiplicidad de triplete con una constante de acoplamiento de 7.7 Hz para ambas señales, las cuales presentan una integración de dos hidrógenos en la posiciones *alfa* y *beta* al carbonilo del ácido carboxílico.

Figura 16 Espectro de hidrógeno



## Análisis del espectro de RMN de $^{13}\text{C}$

Para la señal de la posición 1 localizada en 177.5 ppm, este se encuentra en una zona característica de desplazamientos de los grupos derivados de los carbonilos, en este caso, ácido carboxílico, continuando con las posiciones asignadas las señales correspondientes a los carbonos 2 y 3 se encuentran en 35 y 25 ppm respectivamente se encuentran en una zona del espectro donde se obtienen señales de metilos o carbonos saturados, en las posiciones 4,6,7,8 y 9 presentan desplazamientos químicos característicos de anillos aromáticos, sin embargo el carbono en posición 5 tiene una señal desplazada hacia frecuencias más altas debido a que al tener unido un grupo hidroxilo, este altera su ambiente químico, teniendo como resultado que este se aleje de la zona donde comúnmente se encuentran los carbonos de origen aromático.



## COSY

En el espectro presentado a continuación se pueden analizar las señales relacionadas que se presentan en la tabla de asignación de señales en el experimento el hidrógeno en la posición 2 y 3 están directamente correlacionados a como se puede apreciar en el espectro. Mientras que los hidrógenos en las posiciones de anillos aromáticos también se encuentran correlacionados entre sí por el desplazamiento de señales que tienen en la zona espectral propia de los anillos aromáticos.

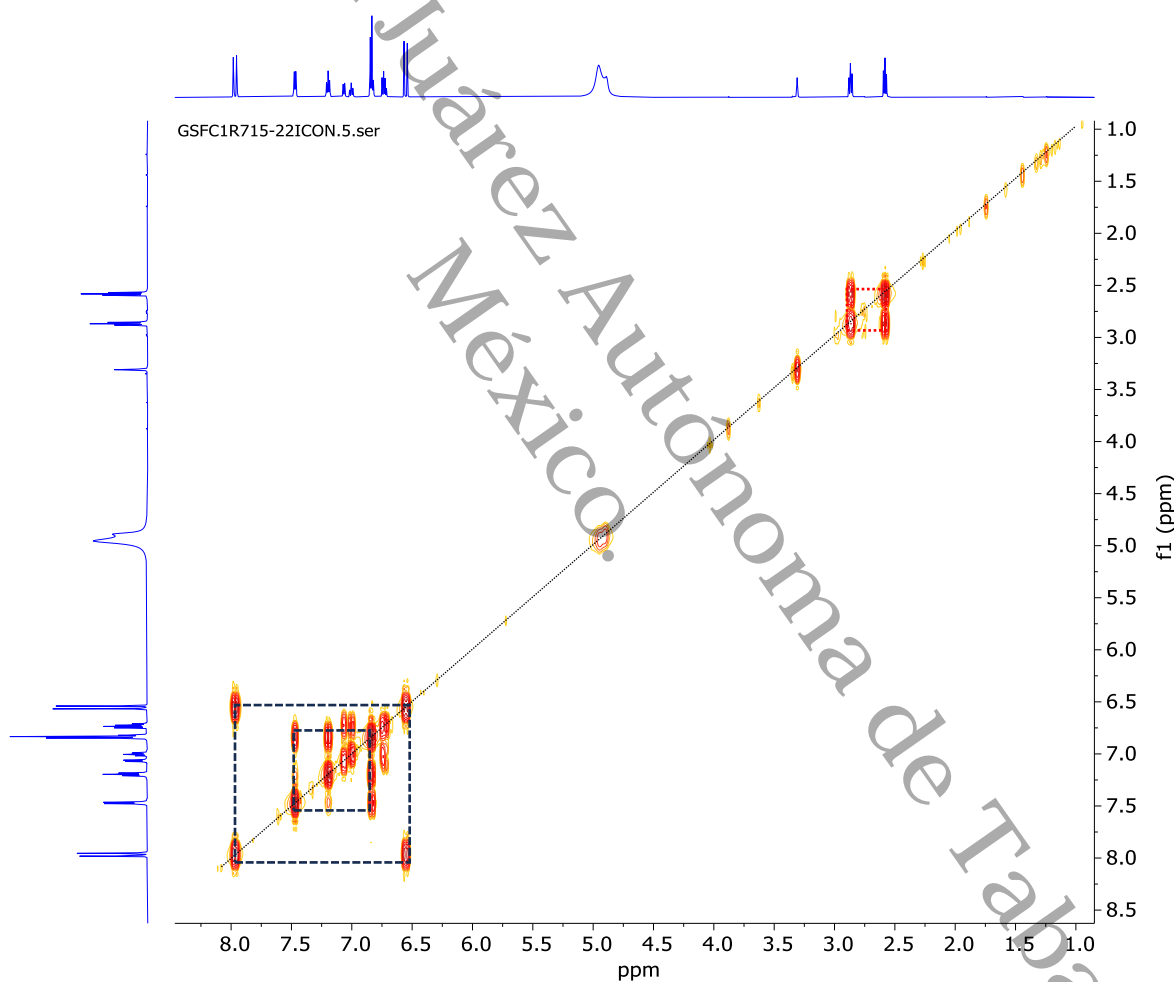


Figura 18 Espectro COSY

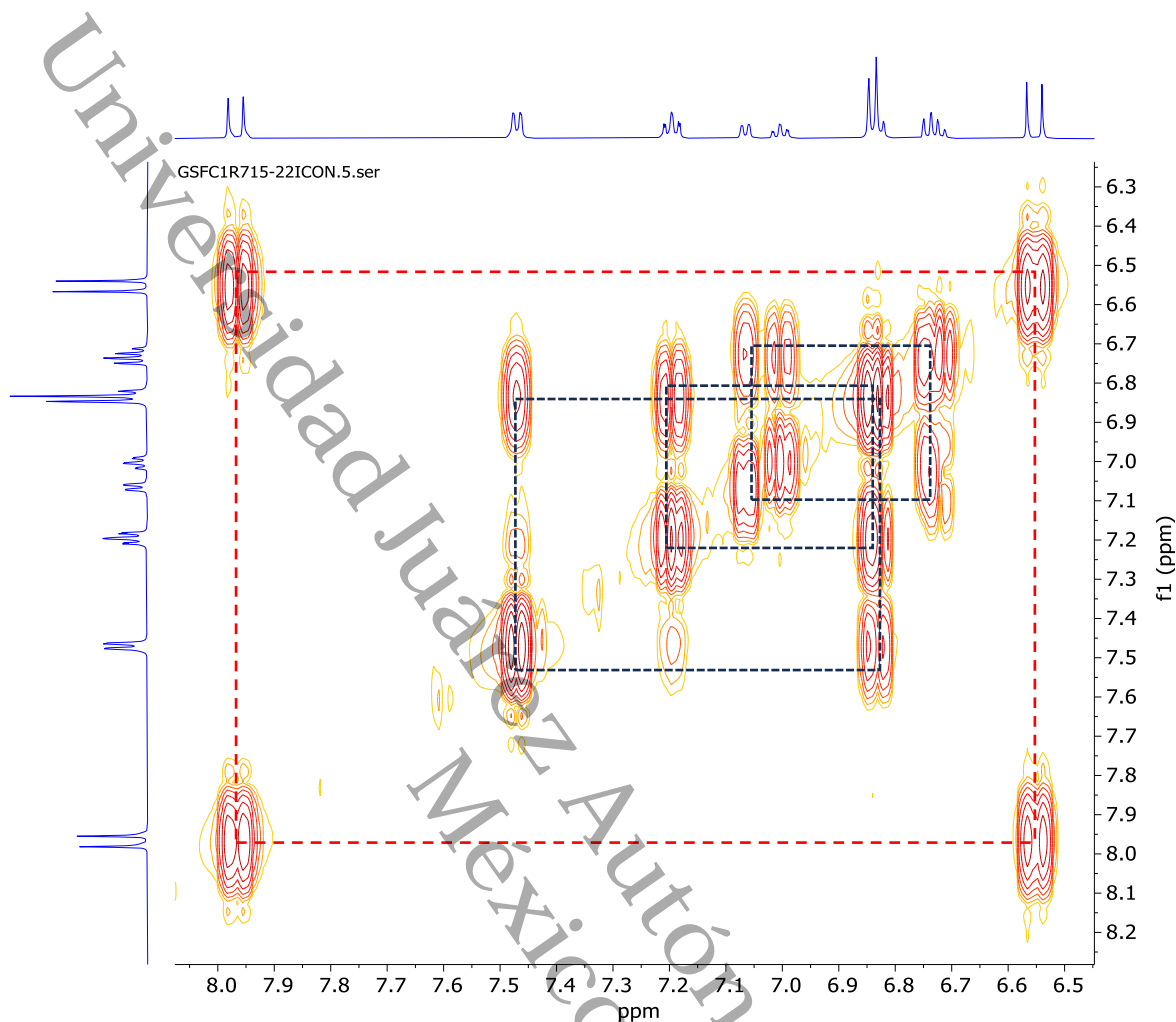


Figura 19 Ampliación del espectro COSY

## HSQC

En la figura 20 se observa que dentro del espectro de HSQC se observa la correlación que se presentan entre los metilos en la posición 2 y 3 así como sus respectivos desplazamientos en hidrógeno las cuales se aprecian en tonos verdes resaltados en el espectro. A su vez se observa que las posiciones 6,7,8,9 también se pueden apreciar en este experimento ya que se correlacionan las señales en las zonas de los anillos aromáticos.

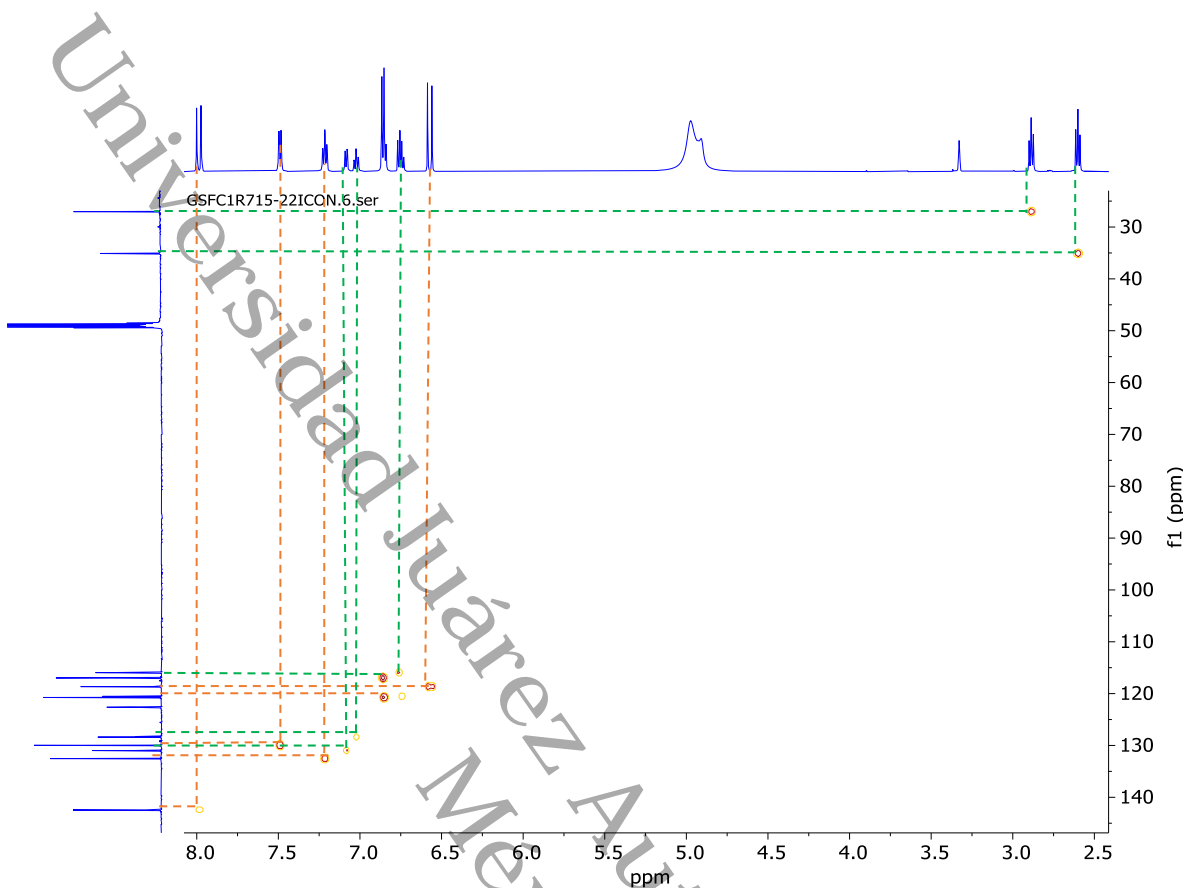


Figura 20 Espectro HSQC

### Análisis del espectro HMBC

Para la señal que tiene un desplazamiento de 2.5 ppm podemos observar en este experimento que tiene correlación con la señal de 27 ppm que corresponde al carbono 3 que es su vecino, podemos observar que también tiene correlación con una señal de 128.2 que corresponde al carbono 4 del anillo aromático, por último, vemos igual una señal de 177.5 correspondiente al ácido carboxílico. Con estos datos podemos confirmar que la señal que tiene un desplazamiento químico de 2.5 ppm corresponde a los hidrógenos del carbono 3, el cual se encuentra unido directamente al ácido carboxílico.

La señal que se encuentra en 2.8 ppm tiene correlación con el carbono que tiene un desplazamiento de 35 ppm que corresponde a la posición 2, de la misma forma se correlaciona con las posiciones 7 y 9 que poseen como desplazamiento químico 128.2 y 130.9 respectivamente. Además de una correlación con el carbono de la posición 5 que tiene un desplazamiento químico de 156.3 ppm. Y por último una

correlación a tres enlaces con el carbono del ácido carboxílico que tiene un desplazamiento químico de 177.5 ppm. Podemos confirmar que el carbono 3 está unido directamente al anillo aromático y al carbono 2.

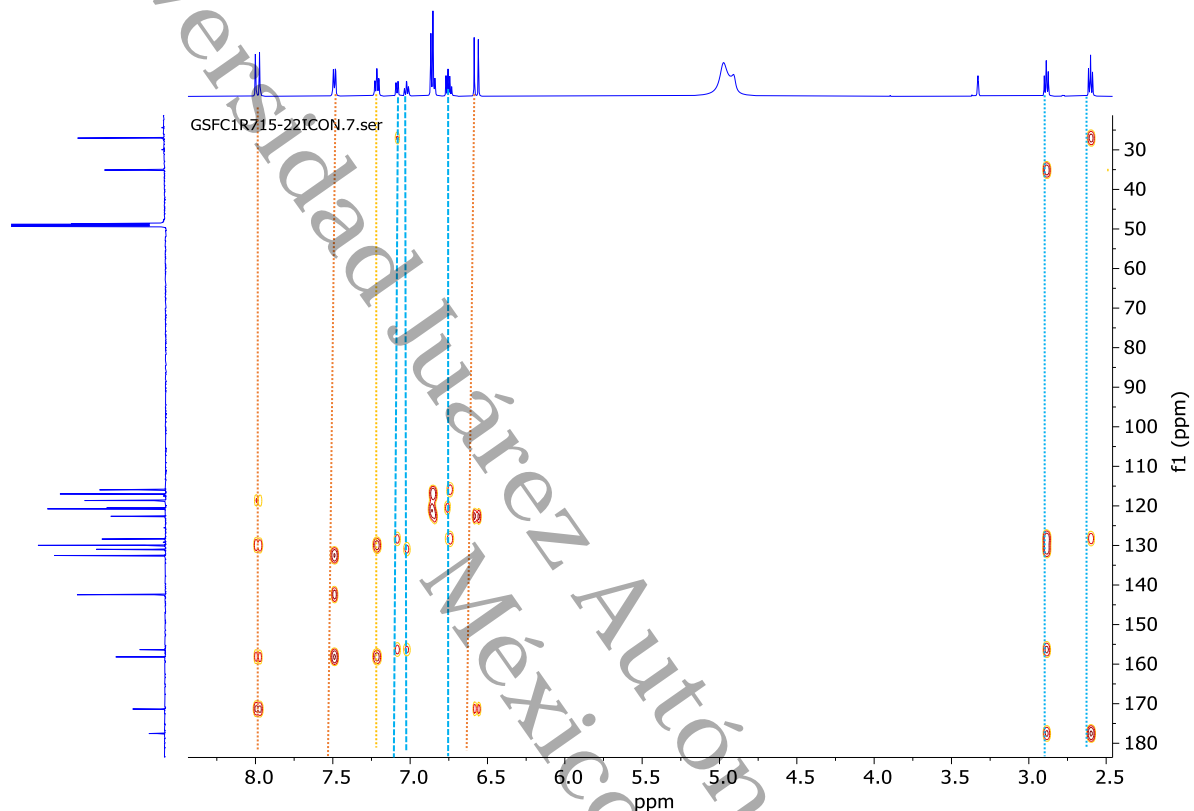
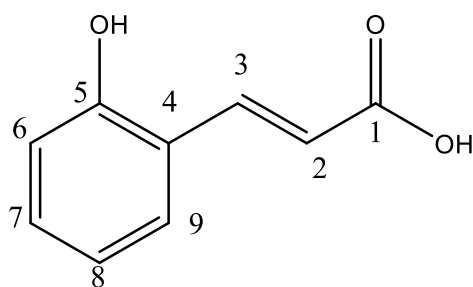


Figura 21 Espectro HMBC



Ácido o-cumárico (2)

Tabla 10. Resumen de la asignación de las señales de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) y  $^{13}\text{C}$  (150 MHz) del compuesto 2. Temperatura ambiente, disolvente  $\text{CD}_3\text{OD}$

Posición	$^{13}\text{C}$ (d ppm) (151 MHz, MeOD)	$^1\text{H}$ (d ppm, m, l) (600 MHz, MeOD)	COSY	HSQC	HMBC ( $^{13}\text{C}$ , $^1\text{H}$ )
1	171.3	-----	----	-----	H2, H3
2	118.6	6.74 (d, 1H, $J=16.1$ Hz)	H3.	6.74 (C2)	H3
3	142.4	7.98 (d, 1 H) $J=16.1$ Hz	H2.	7.98 (C3)	H6, H2,
4	122.1	----			H2, H3, H9
5	158.1	----			H3, H6, H7, H8
6	129.9	7.47 (dd, $J=7.7, 1.8$ Hz)	H7.	7.47 (C6)	H3, H9 , H7, H8
7	116.9	6.84 (d, $J=7.7$ Hz)	H6, H8.	6.84 (C7)	H8, H9
8	120.7	6.84 (d, $J=7.7$ Hz)	H7, H9.	6.84 (C8)	H7, H9

9	132.5	7.20 (m)	H8.	7.20 (C9)	H6, H7, H8
---	-------	----------	-----	-----------	------------

### Ácido cumárico

<sup>1</sup>H

GSFC1R715-22ICON.1.fid

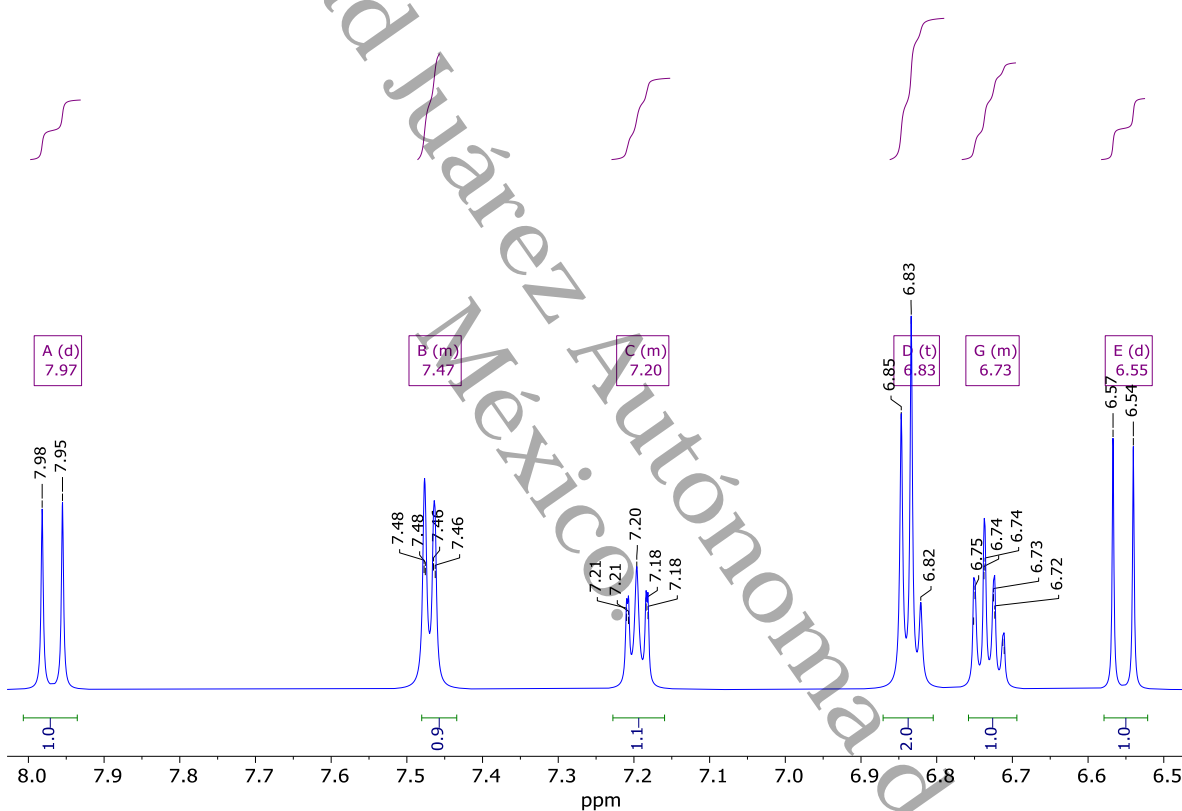


Figura 21 Espectro de hidrógeno

La señal que tiene un desplazamiento químico en 7.98 ppm tenemos un doblete con una constante de acoplamiento de 16.1 Hz este parámetro confirma que tenemos un alqueno en posición trans este hidrogeno beta del doble enlace, observamos que el desplazamiento químico para este hidrogeno se ve afectado por los fenómenos de resonancia que hacen que se desplace a frecuencias más altas en el plano del espectro. para el caso del anillo aromático, tenemos un sistema ABCD dado que tenemos cuatro señales, la primera señal tiene un desplazamiento químico en 7.48

ppm, que nos da un multiplete, en 7.21, 6.83 y 6.89 ppm presentan multipletes los cuales integran para un protón de hidrógeno.

**<sup>13</sup>C**

GSFC1R715-22ICON.3.fid  
ácido trans-*o*-Hidroxicinnámico

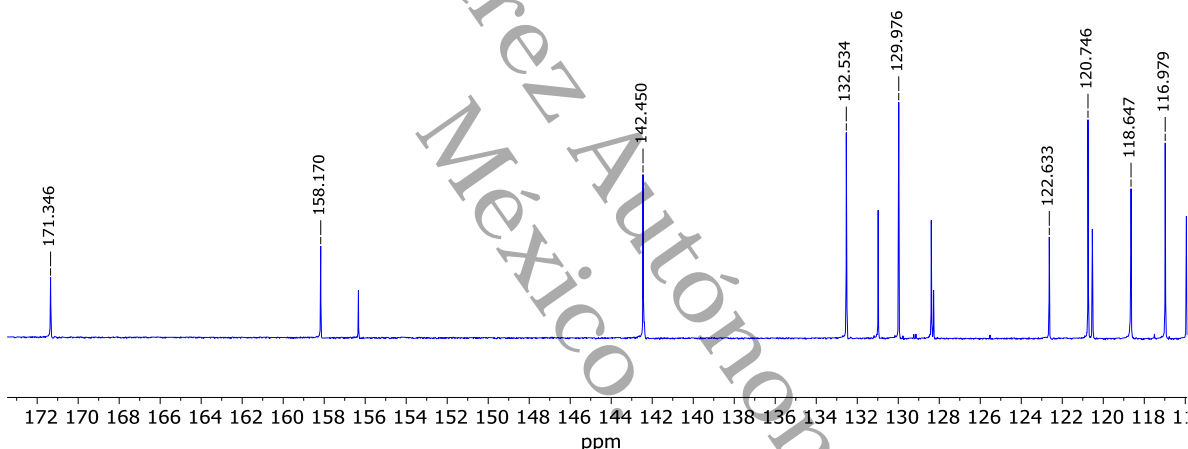


Figura 22 Espectro de Carbono

Para la señal de la posición 1 localizada en 171.3 ppm, este se encuentra en una zona característica de desplazamientos de los grupos derivados de los carbonilos, en este caso, ácido carboxílico, continuando con las posiciones asignadas las señales correspondientes a los carbonos 2 y 3 se encuentran en 118.6 y 142.4 ppm respectivamente se encuentran en una zona del espectro donde se obtienen señales de metilenos o carbonos insaturados, en las posiciones 4,6,7,8 y 9 presentan desplazamientos químicos característicos de anillos aromáticos, sin embargo el carbono en posición 5 tiene una señal desplazada hacia frecuencias más altas debido a que al tener unido un grupo hidroxilo, este altera su ambiente

químico, teniendo como resultado que este se aleje de la zona donde comúnmente se encuentran los carbonos de origen aromático.

## COSY

Podemos observar que los hidrógenos en las posiciones de los anillos aromáticos se encuentran correlacionados, mientras que también podemos observar claramente que los hidrógenos en las posiciones alfa y beta al carbonilo se encuentran directamente en esta posición en las señales cercanas a 8 y 6.7 ppm respectivamente.

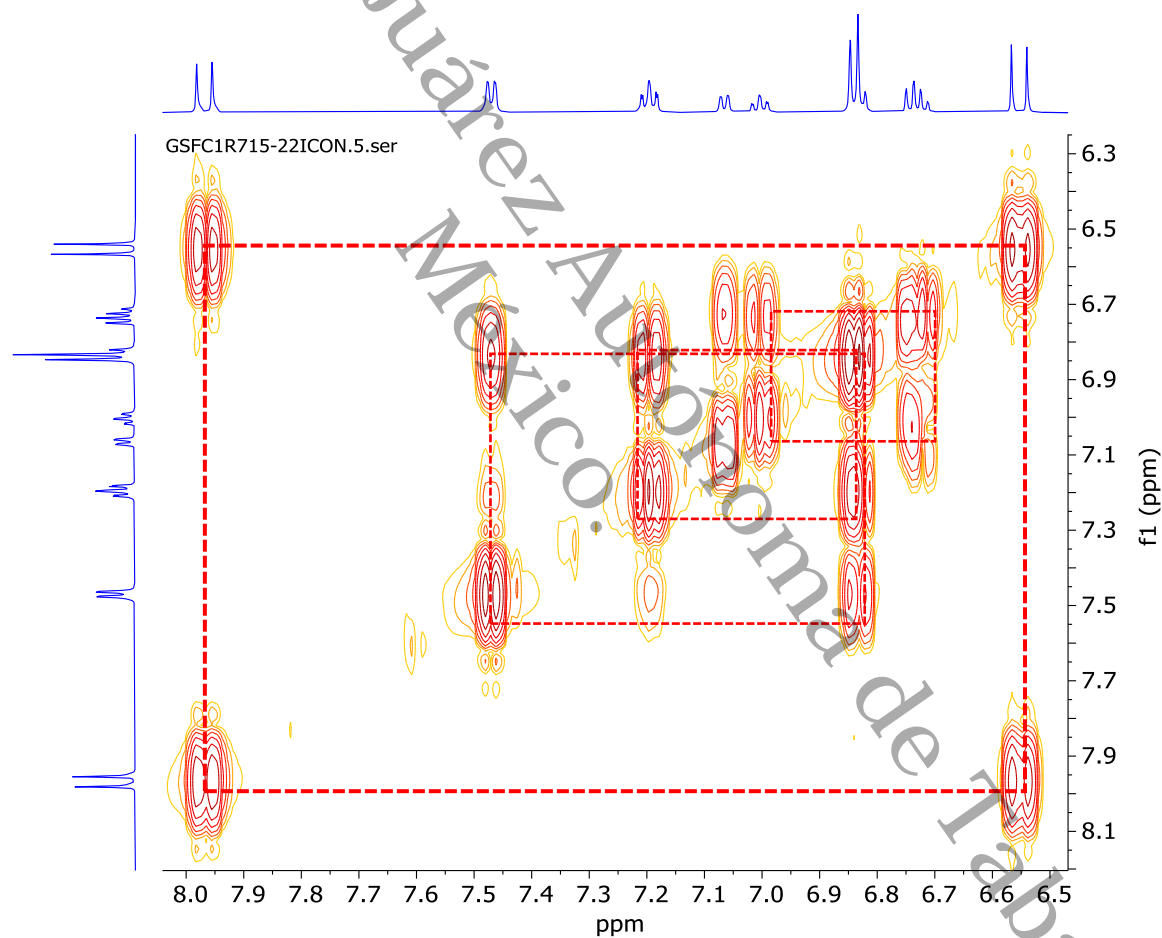


Figura 23 ESPECTRO COSY

## HSQC

En el espectro de HSQC podemos apreciar en las señales pertenecientes al ácido *o*-cumárico señaladas en naranja como se encuentran relacionadas con se aprecian que las señales correspondientes al doble enlace en las posiciones 2 y 3 en 6.7 y 8 ppm respectivamente. Siendo estas las características en este enlace.

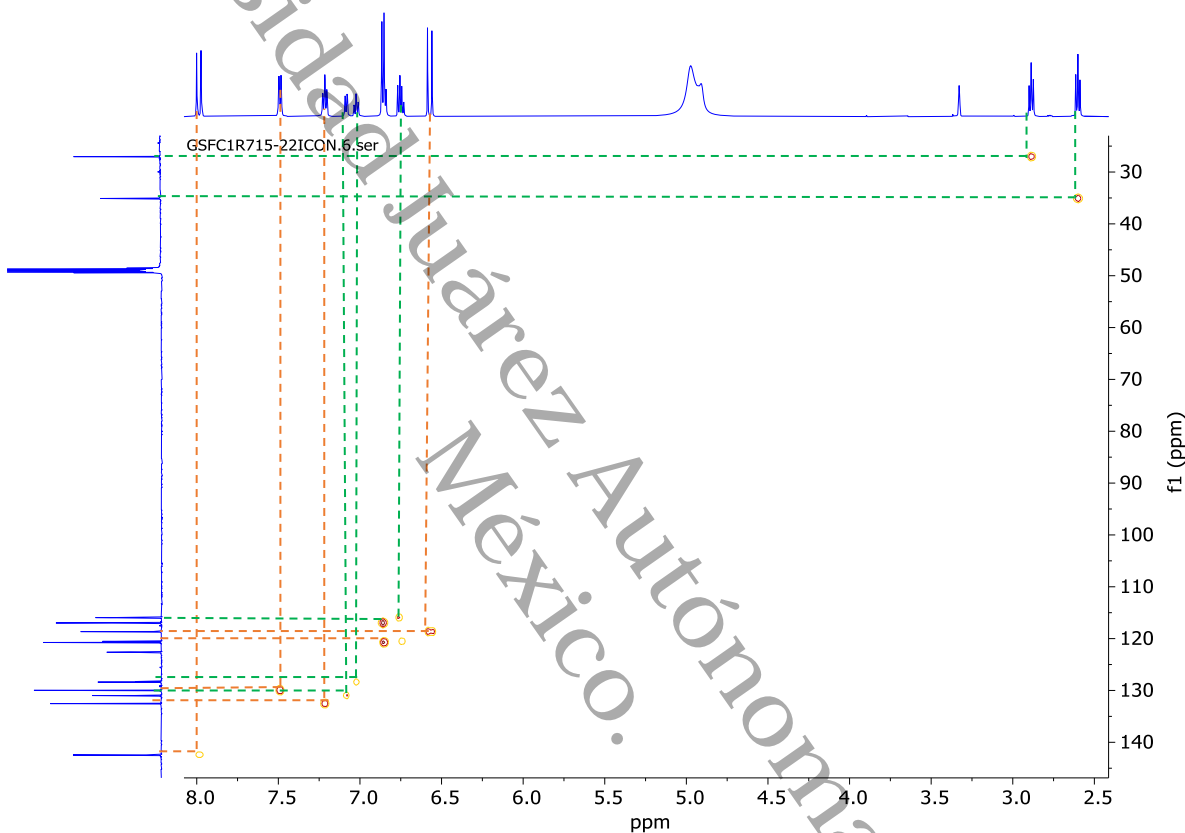


Figura 24 Espectro HSQC

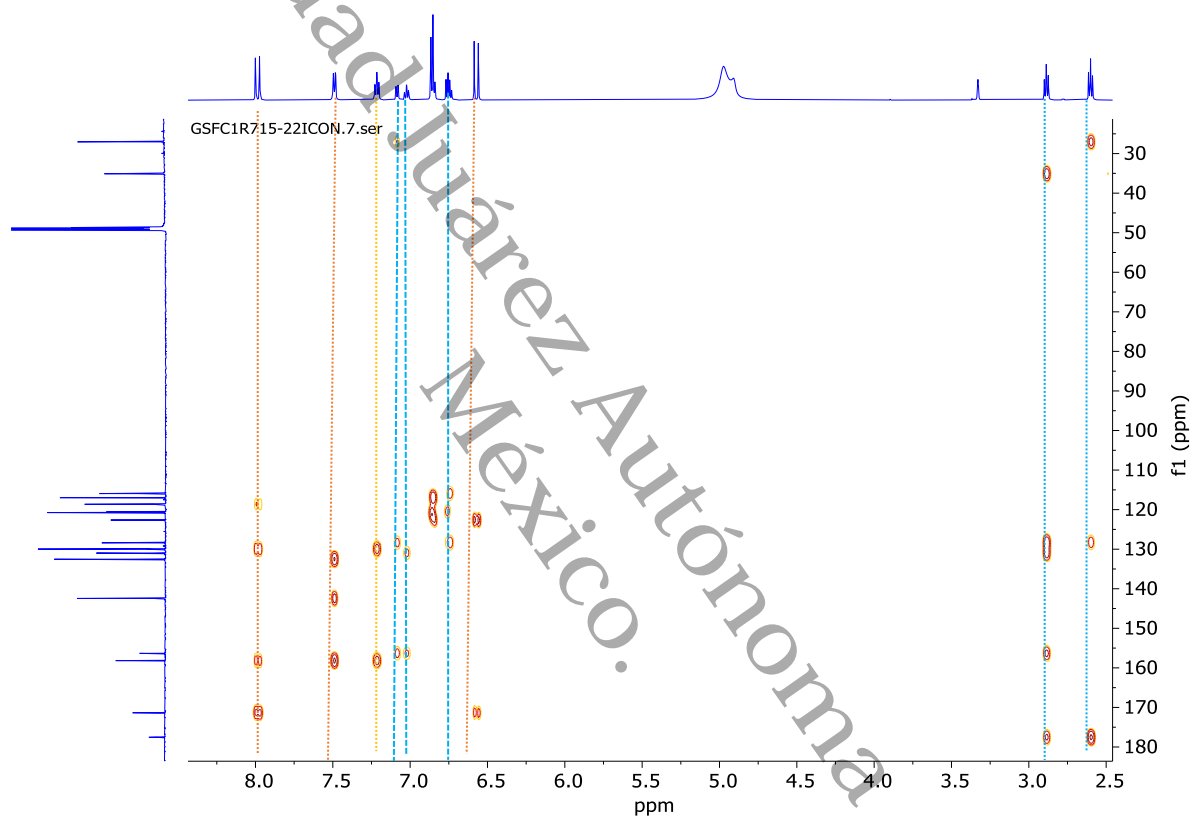
## HMBC

la señal con un desplazamiento químico de 6.7 ppm se observa que tiene correlación a tres enlaces con el carbono de la posición 1 del anillo aromático que tiene un desplazamiento químico de 122.1 ppm, por otra parte, tiene correlación a dos enlaces con el carbono del ácido carboxílico que con una señal en 171.3 ppm.

Para la señal 7.98 ppm tiene una correlación a dos enlaces con el carbono 8 que tiene un desplazamiento químico de 118.6 ppm, además de tener una correlación a

tres enlaces con las posiciones 2 y 6 cuyos desplazamientos químicos son 158.1 y 129.9 ppm respectivamente. Por último, se observa una correlación a tres enlaces con el carbono 9 del ácido carboxílico.

Con la información anterior podemos confirmar que las posiciones 7 y 8 se encuentran directamente unidas además que el carbono 7 está unido al anillo aromático y el carbono 8 está en posición alfa al carbonilo.



Cada una de estas técnicas espectroscópicas, son complementarias entre sí. En muchos casos, no se puede identificar completamente un compuesto desconocido a partir de un solo espectro sin información adicional; sin embargo, con dos o más tipos de espectros diferentes, se puede determinar la estructura.

## 10.9 EVALUACIÓN ANTIINFLAMATORIA EXTRACTOS Y FRACCIONES

Para la evaluación antiinflamatoria se tomaron 5 grupos de ratones con una n=5 los cuales fueron los siguientes:

- Grupo 1: Vehículo.
- Grupo 2: Indometacina.
- Grupo 3: Extracto Acetato de Etilo.
- Grupo 4: GSFC1-R5.
- Grupo 5: GSFC1-R7.

A continuación, se presentan las tablas y las gráficas de la evaluación antiinflamatoria.

Tabla 11 Edema de oreja de Ratón modelo TPA. Dosis 1 mg/ml

Tratamiento (1 mg/ml)	Edema (mg)	Porcentaje de inhibición (%)
TPA	11.025	-----
Indo	1.38	87.4
AcOEt	4.70*	57.4*
R5	6.66*	39.5*
<b>R7</b>	<b>2.40</b>	<b>74.8</b>

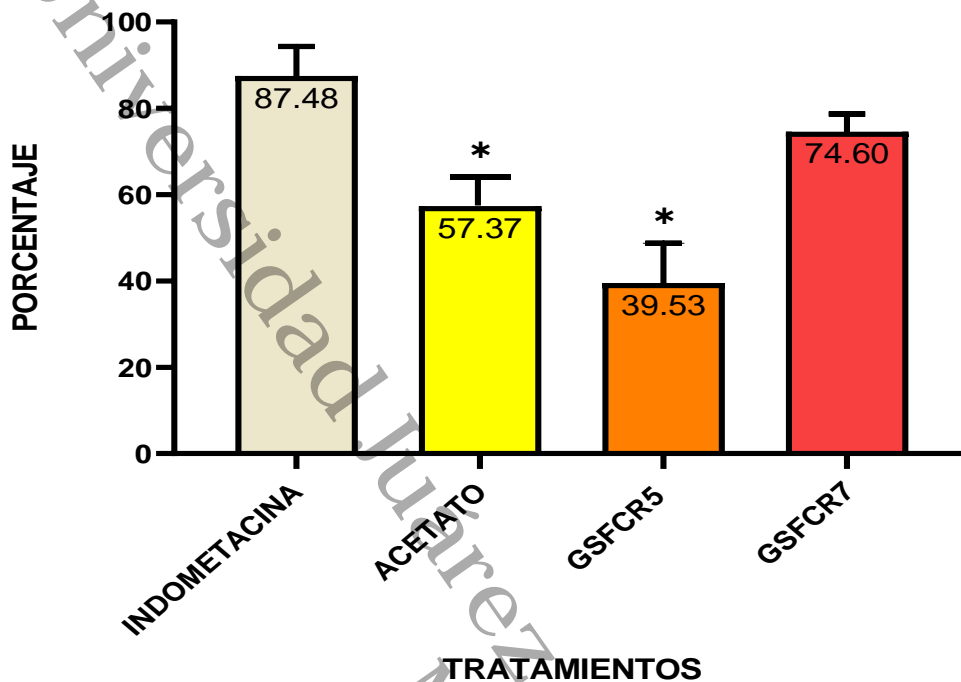


Figura 26 Porcentaje de Inhibición en modelo de edema auricular por TPA. Dosis 1 mg/ml

Dado las características presentadas en el perfil cromatográfico y se hacen de forma presuntiva los ácidos fenólicos presentes en la fracción GSFCR7, este tipo de compuestos ya tienen descritas diferentes actividades relacionadas con la inflamación aguda, sin embargo, el mecanismo más común que presentan estos compuestos químicos de carácter antioxidante debido a la inhibición de las especies reactivas de oxígenos (ROS) que están presentes en los procesos inflamatorios. (42) aunque también dentro de los procesos inflamatorios existen otro tipo de compuestos que pueden verse involucrados dependiendo de donde se lleve a cabo este proceso fisiológico (1,13,14). Posterior a una prueba estadística descrita anteriormente, al no presentar diferencia estadísticamente significativa nos indica que funcional de forma equivalente a nuestro control positivo, por consiguiente, podemos confirmar que la fracción evaluada tiene efectos similares al fármaco control.

## 10.10 EVALUACIÓN ANTIINFLAMATORIA COMPUESTOS AISLADOS

Dado los resultados favorables para la fracción denominada GSFCR7, se prosiguió con la evaluación de los compuestos una vez aislados de esta fracción, es decir el ácido melilótico y el ácido *o*-cumárico

Se tomaron cinco grupos los cuales fueron los siguientes:

- Grupo 1: Vehículo.
- Grupo 2: Indometacina.
- Grupo 3: Extracto Acetato de Etilo.
- Grupo 4: Ácido melilótico.
- Grupo 5: Ácido *o*-cumárico.

A continuación, se presentan las tablas y las gráficas de la evaluación antiinflamatoria.

Tabla 12 Edema de oreja de Ratón

Tratamiento (1 mg/ml)	Edema (mg)	Porcentaje de inhibición (%)
TPA	11.025	
Indo	1.38	87.4
AcOEt	4.70*	57.4*
<b>Ácido <i>o</i>-cumárico</b>	<b>1.44</b>	<b>89.9</b>
<b>Ácido melilótico</b>	<b>2.36</b>	<b>75.7</b>

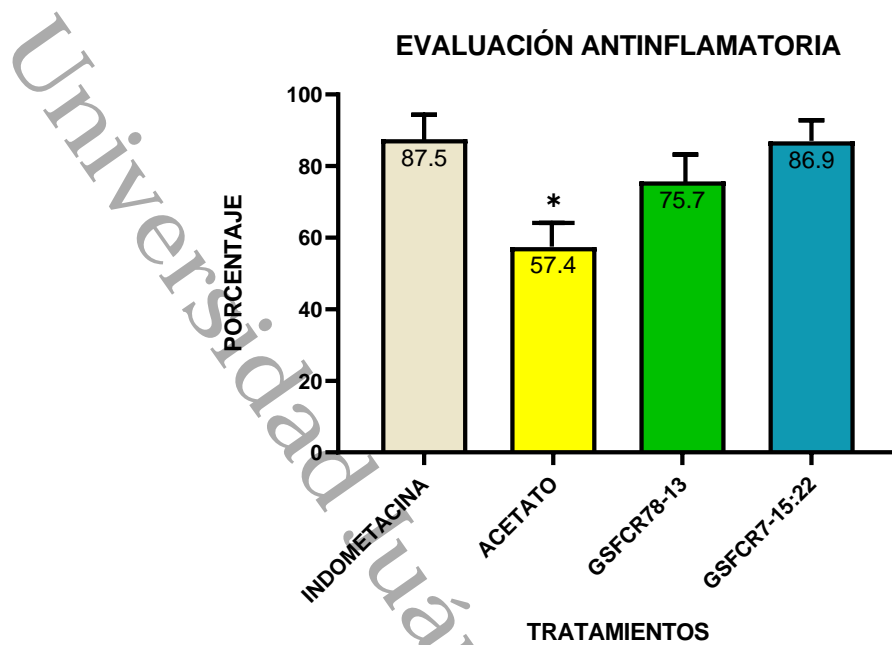


Figura 27 Porcentaje de Inhibición en modelo de edema auricular por TPA. Dosis 1 mg/ml

Dado que estos compuestos aislados, ácido melilótico y ácido *o*-cumárico los cuales son derivados del ácido cinámico, y ya se han reportado en dicha especie (35), sin embargo se tienen pocos estudios donde se presentes que dichos compuestos se han evaluado en este modelo antiinflamatorio, sin embargo en un estudio realizado por Kim & kim (43) presenta que el ácido *o*-cumárico tiene propiedades antiinflamatorias en un modelo de dermatitis, a partir de la característica de las estructuras elucidadas y estas al ser derivadas del ácido cinámico los cuales presentan un potencial antioxidante este puede ser el mecanismo por el cual dicho compuesto puede llevar a cabo su mecanismo de acción, ya que se encuentra relacionado el potencial antioxidante de estos compuestos con el potencial efecto antiinflamatorio que se pueda presentar (44).

Además, podemos observar que después de una prueba estadística nos menciona que estos no presentan una diferencia estadísticamente significativa con el fármaco control de indometacina lo cual nos indica que tiene un efecto similar.

## 11. CONCLUSIÓN

Se evaluó el extracto de acetato de etilo y este tuvo la actividad suficiente para seguir con el estudio de una forma biodirigida con respecto a los antecedentes presentados, así como la reunión más eficiente (R7) llegando a los compuestos responsables de la actividad antiinflamatoria los cuales fueron el ácido *o*-cumárico y el ácido melilótico, los cuales después de un análisis estadístico, no presentan diferencia significativa con respecto al fármaco control. Es decir, dichos compuestos aislados tienen un efecto farmacológico equivalente al fármaco control de indometacina.

Los efectos antiinflamatorios responden a la inflamación aguda, ya que estos compuestos tienen actividades antioxidantes por su naturaleza química, es muy probable que su mecanismo de acción tenga que ver con las especies oxidantes tanto de oxígeno y nitrógeno, así como citocinas relacionadas con este proceso. Por otro lado hay estudios que mencionan que el ácido *o*-cumárico tiene propiedades antioxidantes (45), el cual está muy relacionado con la inflamación aguda.

Finalmente es posible considerar que la especie *Gliricidia sepium* pueda ser considerada en un futuro como parte del cuadro básico de remedios herbolarios que se emplean en instituciones de salud pública.

## 12. PERSPECTIVAS

- Evaluar nuevas actividades farmacológicas para estos compuestos aislados: antimicrobianas, antioxidantes, antihipertensivas, antipiréticas o en modelos de inflamación crónica.
- Estudiar el mecanismo de acción de los compuestos previamente aislados en este trabajo.
- Evaluar los compuestos para nuevos modelos de inflamación aguda y crónica.
- Realizar estudios más profundos para que la especie *Gliricidia sepium* en un futuro pueda llegar a formar parte del catálogo de remedios herbolarios en instituciones de salud pública.

### 13. BIBLIOGRAFÍA

1. Martínez Morales LF. Evaluación antiinflamatoria de extractos totales de *Gliricidia sepium*. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; 2021.
2. Fernex E von S de, Miguel ÁAD, Mora BV de la, Gives PM de, Castillo-Gallegos E, Zamilpa A, et al. Effect of *Gliricidia sepium* leaves intake on larval establishment of *Cooperia punctata* in calves and bio-guided fractionation of bioactive molecules. *Vet Parasitol.* 2018;252:137-41.
3. von Son-de Fernex E, Alonso-Díaz MÁ, Valles-de la Mora B, Mendoza-de Gives P, González-Cortazar M, Zamilpa A. Anthelmintic effect of 2H-chromen-2-one isolated from *Gliricidia sepium* against *Cooperia punctata*. *Exp Parasitol.* 2017;178:1-6.
4. Katz L, Baltz RH. Natural product discovery: past, present, and future. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2016;43(2-3):155-76.
5. Koparde AA, Doijad RC, Magdum CS. Natural products in drug discovery. En: *Pharmacognosy-medicinal plants.* IntechOpen; 2019.
6. CONABIO. Biodiversidad Mexicana. [citado 9 de mayo de 2023]. Plantas medicinales. Disponible en: <https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/medicinal/plantas>
7. Mesa Vanegas AM. Una visión histórica en el desarrollo de fármacos a partir de productos naturales. *Rev Mex Cienc Farm* [Internet]. 2017; Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57956616003>
8. CUADRO BASICO DE MEDICAMENTOS HERBOLARIOS. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN 2018.
9. Quideau S, Deffieux D, Douat-Casassus C, Pouységu L. Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis. *Angew Chem Int Ed.* 17 de enero de 2011;50(3):586-621.
10. Gimeno Creus E. Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *Offarm.* 2004;23(6):80-4.
11. Zárate-Martínez W, González-Morales S, Ramírez-Godina F, Robledo-Olivo A, Juárez-Maldonado A. Effect of phenolic acids on the antioxidant system of tomato plants (*Solanum lycopersicum* Mill.). *Agron Mesoam.* 1 de septiembre de 2021;32(3):854-68.
12. Peñarrieta JM, Tejeda L, Mollinedo P, Vila JL, Bravo JA. Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Rev Boliv Quím.* 2014;31(2):68-81.

13. Aguda I. INFLAMACIÓN AGUDA. 2005;
14. Wendie VHE. Inflamación I. Rev Actual Clínica. 2004;43(1):2261-4.
15. León Regal M, Alvarado Borges A, de Armas García J, Miranda Alvarado L, Varens Cedeño J, Cuesta del Sol J. Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares: cifras alarmantes. Rev Finlay. marzo de 2015;5:47-62.
16. Ruiz A, López Mantecón AM, Grau León I. Antiinflamatorios no esteroideos (AINES).: Consideraciones para su uso estomatológico. Rev Cuba Estomatol. agosto de 2002;39:119-38.
17. Bindu S, Mazumder S, Bandyopadhyay U. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. Biochem Pharmacol. 1 de octubre de 2020;180:114147.
18. comunicacion. Instituto DYN. 2021 [citado 9 de mayo de 2023]. 10 plantas antiinflamatorias para combatir el dolor articular. Disponible en: <https://institutodyn.com/plantas-antiinflamatorias-naturales-potentes/>
19. Rios Quintana R. Descripción y cuantificación de riesgos atribuidos a analgésicos antiinflamatorios no esteroideos no selectivos consumidos por la población mexicana. Med Interna México. 34(2).
20. JIMENEZ LE. Aislamiento, determinación estructural y evaluación de la actividad biológica de los metabolitos secundarios provenientes de Salvia axillaris. [CDMX]: Universidad Nacional Autónoma de México; 2019.
21. Suarez Ospina D, Morales Hernández Y. PRINCIPIOS BÁSICOS DE LA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTO RENDIMIENTO PARA LA SEPARACIÓN Y ANÁLISIS DE MEZCLAS. Semilleros. 2018;4(1).
22. NaturaLista Mexico [Internet]. [citado 5 de septiembre de 2023]. Leguminosas (Familia Fabaceae). Disponible en: <https://www.naturalista.mx/taxa/47122-Fabaceae>
23. Ahmad F, Anwar F, Hira S. Review on medicinal importance of Fabaceae family. Pharmacologyonline. 2016;3:151-7.
24. Search results — The Plant List [Internet]. [citado 23 de julio de 2023]. Disponible en: <http://www.theplantlist.org/tpl/search?q=Gliricidia>
25. Lim T. Gliricidia sepium. En 2014. p. 806-16.
26. Alvarez - Quiroz V, Caso - Barrera L, Aliphath-Fernández M, Galmiche-Tejeda A. Plantas medicinales con propiedades frías y calientes en la cultura Zoque de

- Ayapa, Tabasco , México. Bol Latinoam Caribe Plantas Med Aromáticas. 2017;16(4):428-54.
27. Cacahuananche. En: Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana [Internet]. Biblioteca de la medicina tradicional mexicana; [citado 3 de noviembre de 2022]. Disponible en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=giliricidia-sepium>
  28. Rastrelli L, Caceres A, De Simone F, Aquino R. Studies on the constituents of *Gliricidia sepium* (Leguminosae) leaves and roots: isolation and structure elucidation of new triterpenoid saponins and aromatic compounds. J Agric Food Chem. abril de 1999;47(4):1537-40.
  29. Jose B, Reddy LJ. Evaluation of antibacterial activity of the leaf and flower essential oils of *Gliricidia sepium* from south India. Int J Appl Pharm. 2010;2(2):20-2.
  30. Akharaiyi F, Boboye B, Adetuyi F, others. Antibacterial, phytochemical and antioxidant activities of the leaf extracts of *Gliricidia sepium* and *Spathodea campanulata*. World Appl Sci J. 2012;16(4):523-30.
  31. Abdulaziz AA, Dapar MLG, Manting MME, Torres A, Aranas AT, Mindo RAR, et al. Qualitative evaluation of the antimicrobial, antioxidant, and medicinally important phytochemical constituents of the ethanolic extracts of the leaves of *Gliricidia sepium* (Jacq.). Pharmacophore. 2019;10(4):72-83.
  32. Kumar KP, Naik VS, Chandra VB, Lavanya R, Kumar K, Bhagyasree V, et al. Evaluation of in vitro and in vivo anti-inflammatory activity of aqueous extract of *Gliricidia sepium* flowers in rats. Int J Pharmacogn Phytochem Res. 2014;6(3):477-81.
  33. Dougoud J, Toepfer S, Bateman M, Jenner WH. Efficacy of homemade botanical insecticides based on traditional knowledge. A review. Agron Sustain Dev. 20 de junio de 2019;39(4):37.
  34. A. U, JALEEL A. LARVICIDAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL OF GLIRICIDIA SEPIUM LEAF. Int J Curr Pharm Res. 15 de enero de 2020;12(1):26-7.
  35. Urdaneta L, Sanabria ME, Rodríguez D, de Camacaro MP. Grupos de metabolitos secundarios del extracto etanólico de *Gliricidia sepium* y su potencial antifúngico sobre *Colletotrichum acutatum*. Interciencia. 2013;38(6):449-54.
  36. Wafaey AA, El Hawary SSE, Kirollos F, Abdelhameed MF. An overview on *Gliricidia sepium* in the pharmaceutical aspect: a review article. Egypt J Chem. 2023;66(1):479-96.

37. Delgado Núñez E. Actividad antihelmíntica in vitro de *Prosopis laevigata* contra huevos y larvas infectantes de *Haemonchus contortus*. [Cuernavaca]: Universidad Autónoma del Estado de Morelos; 2020.
38. Medrano Sanchez E. Aislamiento y caracterización de compuestos con actividad antinociceptiva y antiinflamatoria obtenidos a partir de las hojas *Montanoa tomentosa* [Internet]. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; 2020. Disponible en: <https://ri.ujat.mx/handle/20.500.12107/3537>
39. NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN 2001.
40. González-Cortazar M, Salinas-Sánchez DO, Herrera-Ruiz M, Román-Ramos DC, Zamilpa A, Jiménez-Ferrer E, et al. Eupatorin and Salviandulin-A, with Antimicrobial and Anti-Inflammatory Effects from *Salvia lavanduloides* Kunth Leaves. *Plants*. 2022;11(13):1739.
41. Madrigal Jerónimo MA. ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE LAS HOJAS DE *Acalypha arvensis*. [Tabasco]: Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; 2023.
42. Frontela C, Canali R, Virgili F. Empleo de compuestos fenólicos en la dieta para modular la respuesta inflamatoria intestinal. *Gastroenterol Hepatol*. 2010;33(4):307-12.
43. Kim H, Kim SH. o-Coumaric acid attenuates atopic dermatitis-like skin inflammation. *J Immunol*. 2020;204(1 Supplement):147.31-147.31.
44. González-Costa M, González AAP. La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la Medicina en el siglo XXI. *Rev Habanera Cienc Méd* copyrightrdicas. febrero de 2019;18:30-44.
45. Martínez Morales, Ble-González EA, Lobato-García CE. Evaluación antioxidante de Ácido o-cumárico aislado de hojas de *Gliricidia sepium*. 2023;9(24):44-50.

## 14. ANEXO

Artículo publicado en Journal of Basic Sciences derivado de este proyecto.



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco  
División Académica de Ciencias Básicas  
**JOURNAL OF BASIC SCIENCES**  
ISSN: 2448-4997

### Notificación de Aceptación

**Journal of Basic Sciences**  
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco  
División Académica de Ciencias Básicas  
Carretera Cunduacán-Jalpa, Km. 1, A.P. 24  
C.P. 86690  
Cunduacán, Tabasco, México  
Tel.+52(01 914) 3360928  
[jobs@ujat.mx](mailto:jobs@ujat.mx)  
<http://revistas.ujat.mx/index.php/jobs>

**AUTORES:** Luis Fernando Martínez Morales, Ever A. Blé González, Carlos E. Lobato García, Abraham Gómez Rivera, Manasés González Cortazar.

**FECHA:** 10 de marzo de 2023.

**ASUNTO:** Notificación de aceptación de artículo.

Estimados autores, por este medio me permito saludarles con gran afecto.

De acuerdo con los estatutos que rigen la publicación de la revista "Journal of Basic Sciences", con mucho agrado me permito notificarles que el artículo titulado "**Evaluación antioxidante de Ácido o-cumárico aislado de hojas de *Gliciridia sepium***", recibido el 3 de enero del 2023, ha sido **aceptado** para su publicación en nuestra revista, en el Vol. 9, número 24, Enero-Abril 2023, el cual será publicado vía electrónica en el mes de abril del presente.

Agradecemos la valiosa contribución y les invitamos a que continúen colaborando con nuestra revista, en el envío de sus resultados de investigación.

Muy afectuosamente,

**Dr. Ibis Ricardez Vargas**  
Editor en jefe