



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS  
FACULTAD DE FARMACIA



**“Determinación del efecto relajante *ex vivo* de extractos orgánicos obtenidos de las diferentes partes de *Bocconia arborea* de dos colectas diferentes”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADO EN FARMACIA

PRESENTA

ARMANDO DANIEL RAMÍREZ HERNÁNDEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. SAMUEL ENOCH ESTRADA SOTO  
ASESOR TÉCNICO: L.F. MONSERRAT HERNÁNDEZ MORALES

CUERNAVACA, MORELOS 2020

---

*«Las malas hierbas del desierto siguen con vida, pero la flor de primavera florece y se marchita». Qué gracia, qué dignidad, qué tragedia».*

*—Khaled Hosseini*

---



## AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma de Morelos, por brindarme las instalaciones y formación académica otorgada en la licenciatura.

A CONACYT a través del proyecto Ciencia Básica Número A1-S-13540

A CONACYT a través del programa “Ayudantes de Investigadores SNI 3” por la beca otorgada con Número 19322.

A el comité evaluador del proyecto; el Dr. Antonio Monroy Noyola de la Facultad de Farmacia de la UAEM, la Dra. Irene Perea Arango del Centro de Investigación en Biotecnología, UAEM, el Dr. Erick Ayala Calvillo de la Facultad de Farmacia de la UAEM, el Dr. Jorge Armando Moreno Escobar de la Facultad de Farmacia de la UAEM, y la Dra. Angélica Flores Flores del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, por la revisión y comentarios para mejorar el presente proyecto.

A el Dr. Samuel Enoch Estrada Soto, por recibirme en su laboratorio y por dirigir el presente proyecto de investigación.



## DEDICATORIAS

*A mis padres, Concepción y Leonel, ya que sin ellos nunca habría podido llegar hasta donde estoy, y no podría ser la persona que soy hoy.*

*A mis hermanas, Litzy y Michelle por todo el apoyo y amistad que me han brindado toda la vida.*

*A Viviana, gracias por motivarme en los momentos difíciles y acompañarme en este sendero llamado vida.*

*Al Dr. Samuel Enoch Estrada Soto, por aceptarme en su equipo de trabajo, por compartirme de sus conocimientos, sus consejos, e incluso la amistad director-alumno que me brindo, gracias.*

*A Monserrat, por ser mi asesora, y mi amiga, por compartirme tus conocimientos, y por apoyarme en la realización de este proyecto en el modelo “in vitro”. Por todo el empeño, tiempo y paciencia que dedicaste conmigo a este trabajo, gracias.*

*A Gaona, que me apoyo a comenzar este proyecto, me guio cuando mis conocimientos eran muy pocos, y compartió los conocimientos sobre la planta, gracias.*

*A mis amigos de generación, Angie, Andrés, Janneth, Arlette, Omar, Martin, Marisabel, Marcos, Jennyfer Alonso, Jennifer Cadena, y Natalia, gracias por su amistad a lo largo de toda la carrera y el ciclo. Gracias por su apoyo, no sé qué habría hecho sin ustedes.*

*A mis compañeros del L-12 que me aceptaron como su compañero y algunos como su amigo, Diana, Hugo, Marlen, Kenia, Kathia, Omar, Luis, Alma, Male, Catalina, Faby, Dham.*



# ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	5
LISTA DE FIGURAS .....	7
LISTA DE GRÁFICOS .....	8
LISTA DE TABLAS .....	9
RESUMEN.....	10
1. INTRODUCCIÓN.....	12
2. ANTECEDENTES .....	14
2.1 Sistema respiratorio.....	14
2.2 Tráquea.....	15
2.3 Afecciones del sistema respiratorio.....	16
2.4 Asma .....	17
2.4.1 Clasificación del asma .....	17
2.4.2 Fisiopatología del asma.....	18
2.4.3 Epidemiología del asma .....	19
2.4.4 Prevalencia del asma .....	20
2.5 Tratamiento del asma .....	21
2.5.1 Tratamiento no farmacológico.....	21
2.5.2 Tratamiento farmacológico.....	21
2.6 Tratamientos alternativos.....	23
2.7 Familia de las <i>Papaveraceae</i> .....	24
2.8 <i>Bocconia arborea</i> .....	25
2.9 Composición fitoquímica .....	26
3. JUSTIFICACIÓN.....	29
4. HIPÓTESIS .....	31
5. OBJETIVOS .....	32
5.1 Objetivo general .....	32
5.2 Objetivos particulares.....	32
6. METODOLOGÍA.....	33
6.1 Recolección del material vegetal .....	33
6.2 Obtención de los extractos.....	33



6.3	Cromatografía en capa fina de los extractos orgánicos de <i>Bocconia arborea</i>	33
6.4	Pruebas químicas para la identificación de metabolitos secundarios .....	34
6.4.1	Preparación del reactivo: Lieberman-Buchard .....	34
6.4.2	Preparación del reactivo de vainillina al 1%.....	34
6.4.3	Preparación del reactivo: Sulfato cérico (IV).....	35
6.4.4	Preparación del reactivo: Cloruro férrico .....	35
6.4.5	Preparación del reactivo: Dragendorff.....	35
6.5	Evaluaciones farmacológicas .....	35
6.5.1	Animales .....	35
6.5.2	Reactivos .....	36
6.5.3	Obtención de la tráquea.....	36
6.5.4	Sistema de determinación del efecto tráqueo-relajante, registro de datos...	36
6.5.5	Evaluación del sistema tráqueo-relajante.....	37
6.5.6	Evaluación a la $CE_{50}$ .....	38
6.5.6	Análisis estadístico .....	38
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	39
7.1	Obtención de los extractos orgánicos de <i>Bocconia arborea</i> .....	39
7.2	Determinación cualitativa por cromatografía en capa fina (CCF) .....	44
7.3	Determinación cualitativa por pruebas colorimétricas.....	47
7.4	Efecto relajante de tráquea a una concentración establecida .....	50
7.5	Curvas concentración respuesta de los extractos más activos. ....	53
8.	CONCLUSIONES.....	57
9.	PERSPECTIVAS.....	58



## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>µg/mL</b>	Microgramos sobre mililitros
<b>µM</b>	Micromolar
<b>AMPc</b>	Adenosín monofosfato cíclico
<b>AN</b>	Angolina
<b><i>B. arborea</i></b>	<i>Bocconia arborea</i>
<b><i>B. frutescens</i></b>	<i>Bocconia frutescens</i>
<b>CCF</b>	Cromatografía en capa fina
<b>CE</b>	Corteza de enero
<b>CE<sub>50</sub></b>	Concentración efectiva media
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de carbono
<b>DHS</b>	Dihidrosanguinarina
<b>ECRHS</b>	El Estudio Europeo de Salud Respiratoria
<b>ED</b>	Extracto diclorometanico
<b>EDCe</b>	Extracto diclorometanico de corteza de enero
<b>EDe</b>	Extracto diclorometanico de enero
<b>EDFe</b>	Extracto diclorometanico de fruto de enero
<b>EDFo</b>	Extracto diclorometanico de fruto de octubre
<b>EDo</b>	Extracto diclorometanico de octubre
<b>EH</b>	Extracto hexánico
<b>EHe</b>	Extracto hexánico de enero
<b>EHo</b>	Extracto hexánico de octubre
<b>EM</b>	Extracto metanólico



<b>E<sub>max</sub></b>	Efecto máximo
<b>E<sub>Me</sub></b>	Extracto metanólico de enero
<b>E<sub>Mo</sub></b>	Extracto metanólico de octubre
<b>EPOC</b>	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
<b>FE</b>	Fruto de enero
<b>FO</b>	Fruto de octubre
<b>GC-MS</b>	Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas
<b>GINA</b>	Iniciativa Global para el Asma
<b>ICS</b>	Corticosteroides inhalados
<b>ICS-LABA.</b>	Agonistas beta de acción prolongada y corticosteroides inhalados
<b>IgE</b>	Inmunoglobulina E
<b>iNOs</b>	Óxido nítrico-sintasa inducible
<b>ISAAC</b>	Estudio Internacional de Asma y Alergias en la Infancia
<b>NO/sGC</b>	Óxido Nítrico/Guanilato Ciclasa soluble
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxígeno
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>OPS</b>	Organización Panamericana de la Salud
<b>Th2</b>	T helper 2
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>VA</b>	Vías aéreas
<b>v/v</b>	Volumen/Volumen



## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1:** Aparato respiratorio y órganos que lo conforman.

**Figura 2:** Corte transversal de la glándula tiroides, la tráquea y el esófago.

**Figura 3.** Alcaloides identificados por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) en la corteza de *Bocconia arborea*.

**Figura 4:** Estructura química de dihidrosanguinarina y dihidroqueleritrina.

**Figura 5.** Estabilización, sensibilización y evaluación del efecto traqueo-relajante en anillos de tráquea aislada de rata contraídos con carbacol.

**Figura 6.** Estabilización, sensibilización y evaluación del efecto traqueo-relajante en anillos de tráquea aislada de rata contraídos con carbacol a la c50 establecida.

**Figura 7.** Placas comparativas de los diferentes extractos orgánicos de *Bocconia arborea* de las colectas de enero y octubre.

**Figura 8.** Cromatografía en capa fina de los extractos con mayor actividad relajante.

**Figura 9.** Prueba de Lieberman-Buchard sobre los extractos de *Bocconia arborea*.

**Figura 10.** Cromatografía en capa fina de los extractos más activos de *Bocconia arborea*.



## LISTA DE GRÁFICOS

**Gráfica 1.** Porcentaje de rendimiento de los diferentes extractos orgánicos de hoja de *Bocconia arborea*, de las colectas de enero y octubre.

**Gráfica 2.** Porcentaje de rendimiento de los diferentes extractos orgánicos de fruto de *Bocconia arborea*, de las colectas de enero y octubre.

**Gráfica 3.** Porcentaje de rendimiento de los extractos de corteza de *Bocconia arborea*, de las colectas de enero y octubre.

**Gráfica 4.** Evaluación del efecto relajante, en un modelo *ex vivo* de tráquea aislada de rata, de los extractos orgánicos de hoja de *B. arborea*, de las colectas de enero y octubre.

**Gráfica 5.** Evaluación del efecto relajante, en un modelo *ex vivo* de tráquea aislada de rata, de los extractos orgánicos de corteza de *B. arborea*, de las colectas de enero y octubre.

**Gráfica 6.** Evaluación del efecto relajante, en un modelo *ex vivo* de tráquea aislada de rata, de los extractos orgánicos de fruto de *B. arborea*, de las colectas de enero y octubre.

**Gráfica 7.** Efecto traqueorelajante de los extractos orgánicos de *Bocconia arborea* vs Teofilina en anillos de tráquea aislada de rata sobre la contracción inducida por carbacol [ $1\mu\text{M}$ ].

**Gráfica 8.** Efecto relajante de los extractos más activos de *Bocconia arborea* a la CE50 establecida.

**Gráfica 9.** Efecto contráctil inducido por carbacol posterior a la aplicación de los extractos más activos.



## LISTA DE TABLAS

**Tabla 1.** Fármacos utilizados en el tratamiento del asma.

**Tabla 2.** Peso y rendimiento de los extractos orgánicos de *Bocconia arborea*.



## RESUMEN

El asma es una enfermedad respiratoria que se caracteriza por presentarse de manera crónica. Entre sus signos y síntomas se encuentran las sibilancias, la dificultad para respirar, sensación de presión en el pecho y tos, que a su vez se presentan en tiempos variados y de intensidad diferente **(INER, 2017; GINA, 2019)**.

Aunque existe un variado tratamiento farmacológico para el asma, la población se sigue inclinando por el uso de plantas medicinales, y actualmente la medicina tradicional es considerada como una opción importante de repuesta ante las necesidades de atención a la salud en diferentes países de América Latina y el Caribe **(Nigenda, 2001)**. Tal es el caso de la tribu *Bocconieae*. *Bocconia arborea* (*B. arborea*) es una planta perteneciente a esta tribu y a la familia de las papaveráceas, que es utilizada en México para tratar la diabetes, atender problemas de la piel, alivio de jiones y también contrarrestar la picadura de araña **(Monroy-Ortiz & Castillo-España, 2007)**. Asimismo, la población mexicana también usa *B. arborea* como agente antiinflamatorio, y a la especie *Bocconia frutescens* (*B. frutescens*) para tratar úlceras cutáneas, algunas infecciones del tracto respiratorio, y la tuberculosis. **(Yu, 2014)**.

Por lo cual, *B. arborea* ha sido motivo de estudio, en el presente trabajo se obtuvieron los extractos orgánicos de las colectas de enero y octubre, de las diferentes partes aéreas (hoja, corteza y fruto) de *B. arborea*. Dichos extractos fueron evaluados en un modelo *ex vivo* de tráquea aislada de rata, donde los extractos más activos fueron EDCe, EDFe y EDFo, puesto que alcanzaron el 100% de relajación a la  $CE_{50}$   $117 \pm 2.9 \mu\text{g/mL}$  establecida en estudios previos **(Gaona. T. E, 2017)**. Por otro lado, se establecieron las curvas concentración-respuesta de dichos extractos estableciendo al EDCe como el más potente.

Así mismo, se realizaron pruebas cualitativas para observar los metabolitos secundarios presentes en *B. arborea*, donde se observó una similitud entre EDFe, EDFo, por otro lado, se observó que dihidrosanguinarina está presente en los extractos más activos, la cual se cree sea la responsable de la actividad tráqueo-



**“Determinación del efecto relajante *ex vivo* de extractos orgánicos obtenidos de las diferentes partes de *Bocconia arborea* de dos colectas diferentes”**

relajante. Por último, Los resultados obtenidos indican que los extractos de *B. arborea* no son tóxicos en el modelo *ex vivo*, a las dosis empleadas, ya que los tejidos utilizados no perdían su capacidad contráctil al inducirla con un agonista colinérgico, posterior a la evaluación.



## 1. INTRODUCCIÓN

Entre las diferentes afecciones que aquejan a la población mundial, encontramos a las enfermedades respiratorias, las cuales representan un número significativo a nivel mundial, y estas han ido en aumento debido a los cambios geográficos y climáticos en el mundo.

Existen diversas enfermedades que afectan las vías respiratorias, siendo el asma la que presenta mayor prevalencia, la Organización Mundial de la Salud (OMS), estima que hay unos 235 millones de personas con asma a nivel mundial, y que se presenta con mayor frecuencia en niños, no sin descartar que esta enfermedad también afecta a adultos mayores. Asimismo, “The International Study of Asthma and Allergies in Childhood” (ISAAC) reporta que el asma presenta mayor prevalencia entre niños de México y América Latina, por otro lado, en la ciudad de Cuernavaca, Morelos, se ha determinado que la prevalencia es alta a la edad de 13-14 años, y aproximadamente 5.7 % de estos infantes presenta alguno o todos los síntomas de la enfermedad **(Mallol et al., 2010)**.

A pesar de ser una enfermedad con millones de casos, solo a un pequeño porcentaje de los afectados se les brinda los tratamientos y cuidados adecuados que requiere esta afección, el asma a menudo limita de por vida las actividades del paciente, además de que suele presentarse bajo apego al tratamiento, debido a que los medicamentos no siempre están disponibles y tampoco son asequibles para todas las familias **(OMS, 2017)**.

La población aun reconoce a la medicina tradicional como una alternativa y uso de primera mano, para tratar ciertas afecciones o amenizar los síntomas. A nivel mundial, existen 12 países megadiversos, debido a que poseen alrededor del 70% de todas las especies del planeta, entre ellos se encuentra México, ya que posee entre 10-12% de toda la flora y fauna existente en el mundo **(Jiménez, 2014)**, por lo tanto, se le ha situado en el segundo lugar con mayor número de plantas medicinales registradas **(Saavedra, 2018)**. De manera particular, en el estado de Morelos, podemos encontrar gran variedad de especies de plantas que han sido



utilizadas a lo largo de la historia para aliviar diferentes afecciones, como lo son enfermedades gastrointestinales, cardiovasculares y respiratorias, solo por mencionar algunas.

Por ello, es de gran interés estudiar las plantas medicinales presentes en el mundo, en este caso, en México, con la finalidad de encontrar compuestos bioactivos que sirvan como prototipo para el desarrollo de nuevos fármacos con mecanismo de acción novedoso, debido a esto, en el presente trabajo se pretende estudiar a la planta *Bocconia arborea*, y a su vez establecer cómo influye la estación con respecto a la presencia de metabolitos secundarios, como alcaloides que ya han sido reportados, con relación en la actividad farmacológica.



## 2. ANTECEDENTES

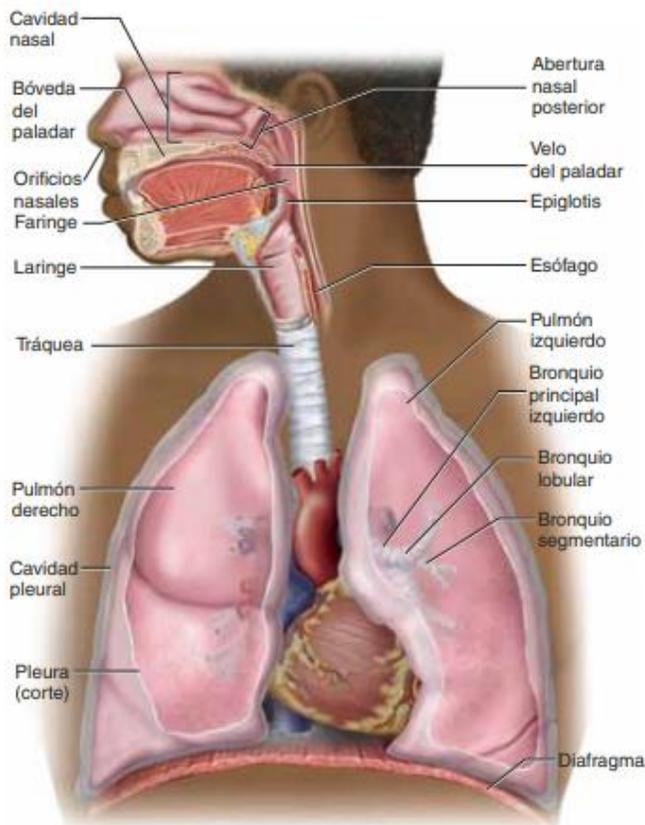
### 2.1 Sistema respiratorio

El aparato respiratorio es un conjunto de órganos que cumplen la función de permitir la entrada y salida de aire del organismo, proveyendo al cuerpo  $O_2$  y expeliendo  $CO_2$ . Este conjunto de órganos también tiene funciones específicas importantes como la fonación, el olfato, la excreción de determinados gases, y la regulación tanto del equilibrio ácido-base, como de la presión sanguínea. Los principales órganos del aparato respiratorio son nariz, faringe, laringe, tráquea, bronquios, y pulmones (Figura 1) **(Cultural Librería Americana, 2004)**.

Estas estructuras no sólo transportan el aire inspirado, también lo filtran, humedecen y entibian antes que llegue a la porción respiratoria de los pulmones.

Para llevar a cabo este objetivo son necesarios los cuatro fenómenos siguientes:

- Movimiento de aire hacia los pulmones y desde ellos (respiración ventilación).
- Intercambio de  $O_2$  del aire inspirado por el  $CO_2$  de la sangre (espiración externa).
- Transporte de  $O_2$  y  $CO_2$  hacia las células y desde ellas (transporte de gases).
- Intercambio de  $CO_2$  por  $O_2$  en la cercanía de las células (respiración interna) **(Gartner L, 2008)**.



**Figura 1:** Aparato respiratorio y órganos que lo conforman. Tomado de (**Cultura Librera Americana, 2004**).

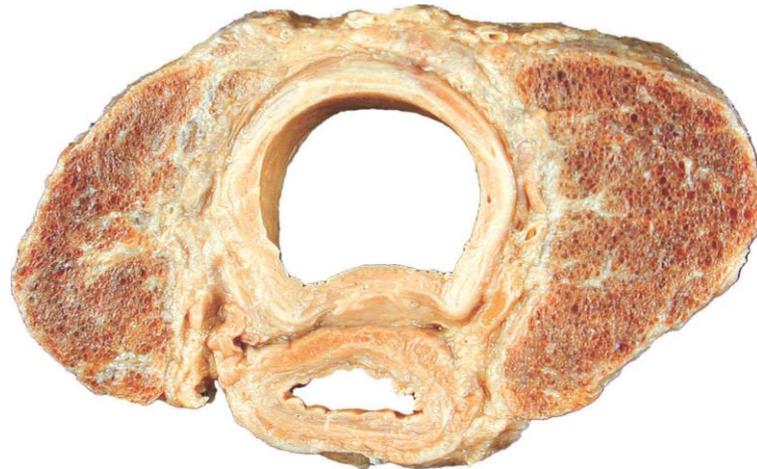
## 2.2 Tráquea

La tráquea, es un conducto aéreo tubular que tiene aproximadamente 12 cm de longitud y 2.5 cm de diámetro. Está compuesto por distintas capas, desde la más profunda a la más superficial: 1) mucosa, 2) submucosa, 3) cartílago hialino y 4) adventicia (tejido conectivo areolar). Endoscópicamente, la tráquea posee una mucosa de color uniforme rosa pálido, la pared posterior puede tener una coloración más intensa (**Álvarez, 2007**).

Posee entre 16 y 20 anillos horizontales incompletos de cartílago hialino, que tiene similitud con la letra C, están apilados unos sobre otros y se mantienen unidos por medio del tejido conectivo denso. Estos anillos cartilaginosos aportan un soporte semirrígido que mantiene la permeabilidad y hace que la pared traqueal no pueda



colapsar hacia adentro y obstruir el paso del aire (Figura 2) (Tortora & Derrickson, 2013).



**Figura 2:** Corte transversal de la glándula tiroides, la tráquea y el esófago, en donde se aprecia desde una vista superior un anillo de tráquea. **Tomado de Principios de anatomía y fisiología (Tortora & Derrickson, 2013).**

### 2.3 Afecciones del sistema respiratorio

El sistema respiratorio descrito anteriormente, es uno de los más afectados de manera recurrente debido a su amplia superficie de contacto y al estar expuesta constantemente a moléculas exógenas. Es importante conocer las complicaciones que este sistema presenta, como lo son las enfermedades respiratorias crónicas, las cuales son la principal causa de muerte prematura de adultos en todas las regiones del mundo. Dichas enfermedades afectan vías respiratorias y otras estructuras de los pulmones (Cruz, 2007).

Entre las más comunes encontramos:

- El asma
- La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)
- Las alergias respiratorias
- Las enfermedades pulmonares de origen laboral



- La hipertensión pulmonar **(OMS, 2004)**.

## 2.4 Asma

Dentro de las enfermedades respiratorias más recurrentes, destaca el asma, la cual es una enfermedad que se caracteriza por presentarse de manera crónica, y que tiene una estrecha relación con la inflamación de las vías aéreas (VA), ocasionando que el músculo liso de las VA se vuelva “inestable” y responda de forma exagerada a estímulos diversos como el aire frío, ejercicio, estrés, inhalación de soluciones hipotónicas, agonistas colinérgicos, e histamina, en donde se produce una disminución del calibre bronquial y dificultando el paso del aire **(INER, 2017)**.

Dentro de los síntomas recurrentes en el asma, se encuentran las sibilancias, la dificultad para respirar, presión en el pecho y tos, que a su vez se presentan en tiempos variados y de intensidad diferente. “The Global Initiative for asthma” (GINA) menciona que el presentar estos síntomas no es pauta suficiente para elaborar un diagnóstico claro de la enfermedad, puesto que también hay que realizar pruebas clínicas, ya que estos síntomas también son frecuentes en otras patologías de las vías respiratorias **(GINA, 2019)**.

Estos síntomas pueden aliviarse con medicación, y algunas veces pueden estar ausentes por días, semanas y hasta meses. El objetivo de dicha medicación es mantener el control de la enfermedad, donde existen dos componentes fundamentales: alcanzar el control adecuado y disminuir el riesgo futuro **(Cortés Rico, 2013)**.

### 2.4.1 Clasificación del asma

El asma puede clasificarse de acuerdo con las características fenotípicas que presentan los pacientes, misma que ha sido establecida por GINA, como:

- Asma alérgica
- Asma no alérgica
- Asma adulta
- Asma con inflamación persistente en las vías aéreas



- Asma del obeso (**GINA, 2019**)

Siendo así, el asma alérgica una de las afecciones más comunes, esta se da ante una respuesta inmune mediada por la inmunoglobulina E (IgE), que produce una inflamación eosinofílica de las vías aéreas. Se ha demostrado que estos pacientes responden bien a los tratamientos con corticosteroides, ya que este grupo de fármacos inhiben la producción de histamina que producen los basófilos y células cebadas, a su vez inhiben la producción de óxido nítrico a través de la inhibición de la óxido nítrico-sintasa inducible (iNOs) e inhiben la bradicinina y por consecuencia el proceso inflamatorio (**Velazquez, 2008**). Sin embargo, existen registros que demuestran que no todos los pacientes asmáticos, responden adecuadamente a los glucocorticoides (**de la Rubia, 2012**).

#### 2.4.2 Fisiopatología del asma

La inflamación crónica del asma aún no se comprende completamente, sin embargo, se cree que inicialmente la exposición a alérgenos promueva este padecimiento, ya que probablemente las células dendríticas inicien la inflamación, puesto que son las reguladoras de los linfocitos T-helper 2 (Th2) que dan origen a la inflamación eosinofílica y también a la formación de IgE por los linfocitos B (**Goodman y Gilman, 1991**).

Las distintas afectaciones que de manera regular se dan en el asma, tales como hiperreactividad bronquial e inflamación crónica de las vías aéreas vienen acompañadas de cambios estructurales en la pared bronquial que agravan estas afecciones, se conoce como remodelamiento de la vía aérea, en donde se lleva a cabo un engrosamiento de la misma y a su vez provoca una disminución permanente de su calibre, es decir, habrá una limitación irreversible al flujo de aire (**Cobos, 2003**).



### 2.4.3 Epidemiología del asma

Para poder conocer la epidemiología del asma, se han realizado distintos estudios poblacionales, entre los más importantes encontramos “El Estudio Europeo de Salud Respiratoria” The European Community Respiratory Health Survey (ECRHS), realizado en adultos y publicado en 1996; y el estudio ISAAC (1996- 1997 enfocado en niños). Dichos estudios comenzaron en la década de los 90 y continúan abiertos aportando información muy valiosa en este ámbito **(Martínez-Moratalla, 1999)**

Algunas de las conclusiones que se han obtenido a partir de los datos de ISAAC y de ECRHS son:

- La ECRHS ha demostrado que existen grandes diferencias en la prevalencia de síntomas respiratorios, asma, respuesta bronquial y sensibilización atópica con altas tasas de prevalencia en Países de habla inglesa y bajas tasas de prevalencia en la región mediterránea (comprendida por Europa meridional, Asia occidental y África) y Europa del Este.
- El estudio de ECRHS también confirma que el asma de los padres es un factor de riesgo considerable para tener asma atópica en la edad adulta. **(Janson, 2001)**
- Así mismo, ISAAC menciona que existe una alta variabilidad en las tasas de prevalencia de asma, rinitis y eccema entre los centros de investigación.
- La contaminación parece desempeñar un papel paradójico puesto que en localidades con mayor contaminación atmosférica la prevalencia de asma no fue mayor, por el contrario, la tendencia es menor.
- El grado de industrialización no se relaciona con la prevalencia de asma; es decir, las tasas de prevalencia obtenidas en América Latina son tan altas como las obtenidas en países industrializados y con alto grado de desarrollo.



- La prevalencia de asma tiene la tendencia a ser mayor en centros localizados en áreas de mayor pobreza dentro de sus respectivos países, lo que sugiere que la condición socioeconómica sería de alto riesgo para tener una mayor prevalencia de asma **(Solis, 2010)**.

En la ciudad de México se creía que tendría una alta prevalencia en asma por sus altos niveles de contaminación, sin embargo; México es el país con menos prevalencia en todo América latina, lo que complica el predecir los factores que causan el asma, al igual que considerar a solo uno de ellos, como el determinante para padecer esta enfermedad **(Del Rio Navarro, 2006)**.

Existe un dato interesante a la hora de diagnosticar el asma, ya que el número es mayor cuando se hace un auto reporte, a diferencia de cuando lo hace un médico, es decir, probablemente las personas confunden ciertos síntomas con la enfermedad, por ejemplo, cuando se padece de alergias estacionales **(Ocampo et al., 2017)**.

#### 2.4.4 Prevalencia del asma

Datos estiman que en 2016 había más de 339 millones de personas con asma en todo el mundo, y de acuerdo con la OMS, en ese mismo año, el asma causó alrededor de 417 918 fallecimientos **(OMS, 2020)**.

La asociación ISAAC ha hecho evidente que esta enfermedad tiene prevalencia en países en vías de desarrollo, por lo cual ha realizado estudios que le han permitido aportar nueva información sobre la prevalencia, severidad, factores de riesgo, entre otros aspectos **(Mallol et al., 2012)**.

Entre los resultados de ISAAC, se obtuvieron datos sobre asma, rinitis y eccema, de países y centros con condiciones sumamente diferentes en cuanto a clima, desarrollo socioeconómico y situación cultural y ambiental. Dicha institución realiza un cuestionario el cual es útil para evaluar la prevalencia y comparar los datos entre las diferentes regiones **(Ocampo et al., 2017)**. Conocer estos datos es fundamental,



debido a que el asma ha aumentado sus números en países industrializados, especialmente en niños y adultos jóvenes (**Lezana, 2006**).

Esta enfermedad es una de las de mayor relevancia ya que consume un elevado porcentaje de recursos sanitarios, tanto en atención primaria como especializada, además de ser una de las principales causas de consulta en urgencias. De igual forma, genera gran impacto en la sociedad, y especialmente en las familias, al ocasionar días escolares perdidos, y disminuir la productividad de los cuidadores por perder días de trabajo durante las crisis de asma del niño (**AM. Sacristán, 2008**).

## 2.5 Tratamiento del asma

Aunque el asma es una enfermedad que no tiene cura, podemos mencionar el tratamiento existente para disminuir la sintomatología. Existen 2 tipos de tratamientos, el farmacológico y no farmacológico (**Larenas-Linnemann, 2017**).

### 2.5.1 Tratamiento no farmacológico

Los pacientes con asma deben de seguir primordialmente el tratamiento no farmacológico, el cual debe incluir la evaluación exhaustiva de los factores de riesgo que deben ser prevenidos para evitar las crisis y/o agravar el asma en los pacientes. Los factores fundamentales para considerar son: el control ambiental, primordialmente en mantener un ambiente intradomiciliario libre de tabaco, humedad e irritantes pulmonares como humo de tráfico e industrias.

además, se debe promover la actividad física regular, adecuándola al estado de salud del paciente, y la misma debe ser individualizada, recomendando actividades poco asmógenas (aeróbicos, yoga, natación, caminar, juegos, entre otros). Por último, recomendamos una nutrición balanceada, enfatizando en el control de la obesidad (**Núñez, 2010**)

### 2.5.2 Tratamiento farmacológico

Examinando el tratamiento farmacológico, GINA lo divide en 3 tipos, los cuales son:



- Tratamiento de rescate: esta clase de fármacos se utilizan cuando el paciente presenta un empeoramiento de los síntomas del asma o bien exacerbaciones. Los más importantes son los broncodilatadores, los cuales son capaces de relajar el músculo liso de las vías aéreas. Estos broncodilatadores a su vez se subdividen de corta y larga duración. De corta duración tenemos al salbutamol, y de larga duración, al salmeterol.
- Medicación a largo plazo: los cuales se utilizan para disminuir la inflamación de las vías aéreas, controlar los síntomas y reducir los futuros posibles riesgos, se trata de los fármacos antiinflamatorios, como lo son los corticoides, antagonistas de leucotrienos y el cromoglicato.
- Terapias añadidas para pacientes con asma severa: estos medicamentos son para pacientes que, incluso teniendo tratamiento de control, aun así, presentan exacerbaciones (**GINA, 2019**).

El uso de medicamentos está dirigido a disminuir el proceso inflamatorio, en casos de crisis, y a evitar la broncoconstricción. Algunos ejemplos son mostrados en la Tabla 1 y son utilizados como se explica en el texto anterior.

**Tabla 1:** Fármacos utilizados en el tratamiento del asma Obtenido y modificado de (**GINA, 2019**)

<b>Fármacos para el tratamiento del asma</b>	
<b>Medicamentos</b>	<b>Acción y uso</b>
<b>Medicamentos de control</b>	
Beclometasona Budesónida Ciclesonida Mometasona Triamcinolona	Son los antiinflamatorios más efectivos en el tratamiento del asma. Estos medicamentos reducen los síntomas, incrementan la función pulmonar,



	mejoran la calidad de vida y reducen el riesgo de futuras exacerbaciones.
<b>Combinación de ICS y <math>\beta</math>2-agonistas de larga duración (ICS-LABA)</b>	
Beclometasona-Formeterol Bunesonida-Formeterol Mometasona-Formeterol	El uso de $\beta$ 2-agonistas junto a los corticosteroides inhalados (ICS) mejoran el funcionamiento pulmonar, reduce los síntomas y las exacerbaciones, ya que en ocasiones la sola terapia de ICS no es suficiente o no logra controlar el asma.
<b>Modificadores de leucotrienos</b>	
Montelukast Pranlukast Zafirlukast Zileutón	Mejoran una parte de la inflamación que se provoca en el asma. Son usados como opción en el tratamiento, especialmente en niños. Si son usados solos, son menos efectivos que los ICS en dosis bajas, e incluso son menos efectivos en combinación con los ICS que los ICS-LABA.
<b>Cromonas</b>	
Cromolin sódico Nedocromilo Sódico	Son antiinflamatorios débiles, menos efectivos que los ICS y requieren formas meticulosas de inhalarse.

## 2.6 Tratamientos alternativos

Además de que existe un variado tratamiento farmacológico, la población se sigue inclinando por el uso de plantas medicinales, y actualmente la medicina tradicional es considerada como una opción relevante de repuesta ante las necesidades de atención a la salud en diferentes países de América Latina y el Caribe, a pesar de que no siempre cuentan con un sustento científico para su uso.



No obstante, ha sido reconocida por organizaciones internacionales de salud como la OMS y la propia Organización Panamericana de la Salud (OPS), quienes han apoyado y promovido políticas enfocadas primordialmente en la atención primaria a la salud **(Nigenda, 2001)**.

La medicina tradicional tiene como base las plantas medicinales, las cuales han servido para mantener la salud e incrementar la calidad de vida del hombre durante cientos de años. Los productos de origen natural han aumentado su uso en las terapias gracias al regreso hacia lo natural que la sociedad ha experimentado de forma general. Además de otros factores, como el descubrimiento de efectos adversos dañinos en fármacos sintéticos, el mejor conocimiento químico, farmacológico y clínico de las drogas, el desarrollo de métodos analíticos que facilitan el control de la calidad, el desarrollo de nuevas formas de preparación y administración de los medicamentos fitoterapéuticos **(Prieto-González, 2004)**.

## 2.7 Familia de las *Papaveraceae*

Una familia importante de plantas es la *Papaveraceae*, ya que actualmente se han reportado alrededor de 5,000 alcaloides presentes en las diferentes plantas de esta familia, además de que se distribuyen principalmente en Angiospermas **(Lombardo, 2009)**. La familia *Papaveracea* cuenta con 44 géneros y unas 770 especies distribuidas por las zonas templadas del planeta y prácticamente ausentes en áreas netamente tropicales **(Aguirre, 2015)**. Algunos géneros tienen especies de importancia económica, tal es el caso de *Papaver somniferum*, que es la principal fuente del opio y sus derivados, como son la morfina, heroína y codeína. Existen otras especies utilizadas en la medicina tradicional como lo son *Bocconia* y *Argemone*, ya que poseen un amplio contenido metabólico **(Diego-Pérez, 2017)**. Ambas especies se les atribuye actividad farmacológica, por ejemplo, *Argemone platyceras* es utilizada en el estado de México para el tratamiento de pulmonía y bronquitis, también se usa para tratar el catarro, dolor de cabeza, de pulmón o de pecho y para problemas dermatológicos **(Fernández, 2005)**. Por otro lado, a *Bocconia frutescens*, se le han reconocido distintas propiedades farmacológicas entre las que se encuentran aliviar la dermatitis infecciosa, como agente



cardiotónico, antihiperpertensivo, antituberculoso, antidiabético, anticancerígeno y también como antiinflamatorio **(López, 2018)**.

Dentro del género *Bocconia* se encuentran nueve especies, entre las más populares y usadas encontramos a *Bocconia arborea* y *Bocconia frutescens*. Estas especies son importantes debido a que poseen distintos tipos de alcaloides, tales como queleritrina, dihidroqueleritrina, dihidrosanguinarina, angolina, 6-metoxidihidrochelerythrina, 6-acetonildihidroqueleritina, queleritridimerina, sanguinarina, oxisanguinarina entre otros, de interés farmacológico **(Pérez et al, 2003; Xuelong, 2014)**.

## **2.8 *Bocconia arborea***

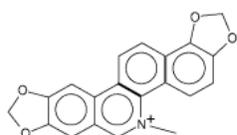
Una planta medicinal importante perteneciente a la familia de las *papaveraceas* es *Bocconia arborea* S. Watson, comúnmente conocida en México como llorasangre o chicalote. Es una planta que se caracteriza por presentarse desde en forma de arbusto hasta árboles de mediano tamaño. En su corteza se presenta un látex color amarillo/rojo que se libera al momento de que estos son cortados siendo una de sus principales características, la de producir látex de distintos colores, tales como blanco, blanquecino, amarillo, amarillo-anaranjado o rojizo. Como uso medicinal, la corteza y sus hojas son hervidas para tratar la diabetes, atender problemas de la piel, alivio de jiones y también contrarrestar la picadura de araña. Se encuentra ampliamente distribuida en México, Centroamérica y Sudamérica **(Villareal, 2016)**.

Dentro del Estado de Morelos también se le conoce como palo amarillo, palo de judas, palo del diablo y palo de toro, esto dependiendo de la zona. El látex color amarillo/rojo antes mencionado se usa para aliviar el dolor ocasionado por estomatitis y abscesos. No obstante, se utiliza para curar padecimientos del riñón y contrarresta el piquete de araña untando en la zona afectada, el agua hervida de la hoja **(Monroy-Ortiz & Castillo-España, 2007)**.

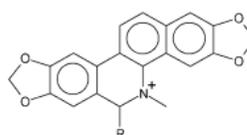


## 2.9 Composición fitoquímica

*B. arborea* ya ha sido caracterizada químicamente por otros autores, y estos refieren a que hay distintos tipos de compuestos químicos, entre los que destacan los alcaloides. Estudios realizados en la planta confirman la presencia de alcaloides benzofenantridínicos en el tronco, raíces, hojas y semillas, a los cuales se les ha asociado actividad antimicrobiana, antioxidante y citotóxica (Figura 3) (Rodríguez, 2006).

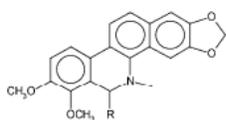


1. Sanguinarine



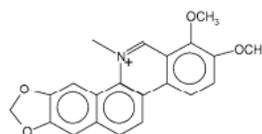
2. Dihydrosanguinarine R = H

3. Oxysanguinarine R = O

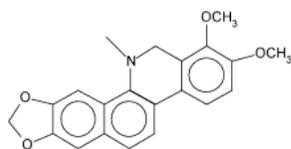


4. 11-Acetyldihydrochelerythrine R = CH<sub>2</sub>COCH<sub>3</sub>

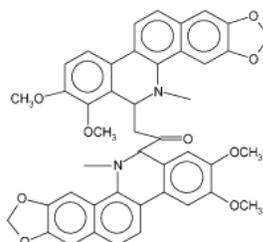
8. Angoline R = OH



5. Dihydrochelerythrine



6. Chelerythrine



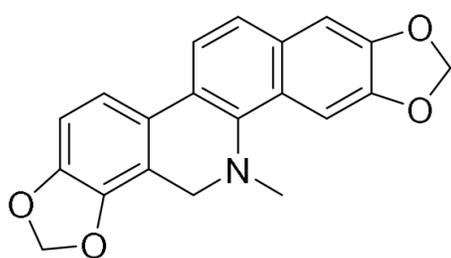
7. Chelerythridimerine

**Figura 3.** Alcaloides identificados por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) en la corteza de *B. arborea* (Perez, 2002).

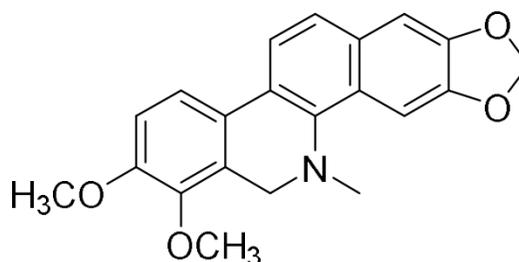


Los alcaloides, son sustancias naturales de gran interés gracias a su actividad terapéutica, los cuales no pueden ser definidos de manera exacta, sin embargo, como lo dice el autor Arango-Acosta pueden definirse como: “Un compuesto orgánico de origen natural (usualmente vegetal), nitrogenado, derivados generalmente de aminoácidos, más o menos básico, de distribución restringida, con propiedades farmacológicas importantes a dosis bajas y que responden a reacciones comunes de precipitación” (Arango-Acosta, 2002).

Moléculas tales como dihidrosanguinarina y dihidroqueleritrina han demostrado poseer actividad antimicrobiana como reportó Navarro V, en 1999, cuya estructura se muestra en la figura 4. Estos constituyentes se presentan de manera abundante en *B. arborea*, de manera específica en el extracto de cloroformo, y se ha demostrado su actividad antimicrobiana en bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, entre otras. Dihidrosanguinarina ha resultado ser el más activo, ya que tuvo actividad inhibitoria en todos los microorganismos de prueba, a excepción de *Pseudomonas aeruginosa*, lo que indica que el compuesto es de amplio espectro.



Dihidrosanguinarina



Dihidroqueleritrina

**Figura 4:** Estructura química de dihidrosanguinarina y dihidroqueleritrina (Navarro, 1999).

Además de la actividad ya antes mencionada, Gaona Tovar E. en 2017, demostró que dicho extracto produce el efecto relajante de la musculatura lisa de la tráquea



a través de diferentes mecanismos, incluyendo un efecto antagonista no competitivo sobre los receptores muscarínicos, la participación de la vía NO/sGC y el aumento de segundos mensajeros como AMPc por la inhibición de la enzima fosfodiesterasa **(Gaona. T. E, 2017)**.

Asimismo, dihidrosanguinarina fue extraído de los extractos hexánico y diclorometánico de *B. arborea*, el cual se obtuvo por precipitación espontánea en un sólido cristalino con forma cuadrada de color blanco y se purificó mediante recristalizaciones con diferentes disolventes orgánicos. Al mismo tiempo, Martínez L. R en 2018 corroboró de manera inequívoca la estructura del alcaloide dihidrosanguinarina (DHS) mediante un análisis por difracción de rayos X **(Martínez, 2018)**.



### 3. JUSTIFICACIÓN.

Este trabajo se justifica en primera instancia, debido a la alta prevalencia del asma en el mundo, siendo de alrededor de 235 millones de personas, y a las múltiples muertes ocasionadas en 2015 (383,000 muertes por asma), las cuales han ido en aumento. Así mismo, también se reporta que el 80% de las muertes por asma se registran con mayor incidencia en países en vías de desarrollo, con lo que nos da indicios que probablemente los fármacos no siempre estén disponibles o que su precio no sea asequible, motivo por el cual se han buscado alternativas para aliviar los síntomas que presentan una o varias patologías, siendo la medicina tradicional el método más empleado hasta la fecha.

Dicha búsqueda es imprescindible, puesto que estas son utilizadas por la población para aliviar los síntomas desde la antigüedad, al igual que es bien sabido que poseen gran variedad de moléculas de interés farmacológico.

Existen gran variedad de plantas usadas para diferentes tipos de afecciones, siendo una de ellas, *Bocconia arborea*, ya que ha sido utilizada en el mundo y en el México, para aliviar distintas enfermedades. Al pertenecer a la familia de las papaveráceas posee gran variedad de moléculas del tipo alcaloide, mismos que han sido de interés, por sus propiedades farmacológicas, destacando a aquellas relacionadas a procesos inflamatorios, como es el caso del asma.

Cabe mencionar, que, en 2017 Gaona Tovar E., determinó el efecto traqueo-relajante de los extractos orgánicos de *B. arborea*, específicamente de la corteza y hojas, estableciendo la presencia de distintos metabolitos de naturaleza alcaloide del tipo benzofenantridina, siguiendo un criterio quimiotaxonómico. Por otro lado, en 2018, Martínez C. L. R., estableció la presencia de dihidrosanguinarina, como uno de los principales metabolitos secundarios presentes en esta especie.

Por ello, siguiendo el criterio quimiotaxonómico, es importante estudiar los demás constituyentes de la planta, como lo son los frutos, y así establecer la posible presencia de alcaloides de naturaleza benzofenantridina. Además de poder



**“Determinación del efecto relajante *ex vivo* de extractos orgánicos obtenidos de las diferentes partes de *Bocconia arborea* de dos colectas diferentes”**

determinar si la época del año afecta a los metabolitos secundarios, y su efecto tráqueo-relajante, siendo de interés en este proyecto el encontrar moléculas con dicha actividad. Asimismo, es importante continuar con la investigación dada la necesidad e interés de encontrar nuevas moléculas con mecanismo de acción novedoso y por ende proporcionar nuevas alternativas para la terapia existente.



#### 4. HIPÓTESIS

Los extractos orgánicos de las diferentes partes aéreas de *Bocconia arborea* colectadas en enero y octubre del 2019, presentarán diferencias en la actividad relajante sobre anillos de tráquea aislada de rata, y por lo tanto tendrán diferencia en el contenido metabólico.



## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

Establecer la colecta que presenta mayor actividad farmacológica en relación con la época del año de su recolección, y del tipo de parte aérea, en un modelo *ex vivo* sobre anillos de tráquea aislada de rata.

### 5.2 Objetivos particulares

1. Obtener los extractos orgánicos (hexánico, diclorometánico y metanólico) de las distintas partes de *Bocconia arborea* (corteza, fruto y hoja) de dos colectas distintas.
2. Determinar el efecto tráqueo-relajante en un modelo *ex vivo* de tráquea aislada de rata de los extractos orgánicos de *Bocconia arborea* de las diferentes partes y colectas.
3. Determinar la presencia de los alcaloides angolina y dihidrosanguinarina de los extractos con mayor actividad farmacológica mostrada, por medio de pruebas colorimétricas.
4. Establecer la colecta con mayor actividad farmacológica en un modelo *ex vivo*.



## 6. METODOLOGÍA

### 6.1 Recolección del material vegetal

La recolección del material vegetal se realizó en enero del 2019 y octubre del mismo año por el Dr. Samuel Enoch Estrada Soto, investigador de la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), en el poblado de Santa María, Ahuacatlán, municipio de Cuernavaca, Morelos.

La identificación taxonómica la realizó la Dra. Irene Perea Arango del Centro de Investigaciones en Biotecnología (CEIB) de la UAEM cuyo Voucher aún se encuentra en trámite. Posteriormente; se realizó la separación del material vegetal en hoja, corteza y fruto, para realizar el proceso de limpieza y desecado, que se llevó a cabo a temperatura ambiente y a la sombra. Una vez seco el material vegetal, se continuo con la molienda en un molino manual.

### 6.2 Obtención de los extractos

Para la obtención de los extractos orgánicos se utilizó la técnica de maceración exhaustiva, en donde se tomaron 82 g de material vegetal previamente molido y seco, de cada una de las partes aéreas (corteza, fruto y hoja), que posteriormente estuvieron en contacto con 300 mL de disolvente orgánico por orden creciente de polaridad (hexano, diclorometano y metanol), por 72 horas y por triplicado. Subsiguientemente, se eliminó el exceso de disolvente de cada extracto mediante presión reducida empleando un rotavapor Heildoph G-3 con bomba de alto vacío.

### 6.3 Cromatografía en capa fina de los extractos orgánicos de *Bocconia arborea*

Para la identificación de los metabolitos responsables de la relajación, se utilizó la cromatografía en capa fina (CCF), en donde se eluyeron los diferentes extractos



orgánicos de hoja, corteza y fruto por separado. Se usó acetona para su aplicación y se utilizó una fase móvil 65:35 Diclorometano-Hexano, revelados en el UV de onda corta y de onda larga.

#### **6.4 Pruebas químicas para la identificación de metabolitos secundarios**

Por otro lado, se realizaron pruebas químicas para determinar la naturaleza de los metabolitos presentes en los extractos orgánicos de las diferentes partes aéreas de las dos colectas diferentes de *B. arborea*, para ello se realizaron placas CCF de los extractos más activos y las referencias de dihidrosanguinarina y angolina, estas eluidas en un sistema de Hexano/Acetato de etilo (65:35). Para las pruebas realizadas se emplearon los reactivos Lieberman-Buchard, vainillina, sulfato cérico (IV), cloruro férrico, y Dragendorff.

##### **6.4.1 Preparación del reactivo: Lieberman-Buchard**

Este reactivo fue preparado mediante la adición de 1 mL de cloroformo y 1 mL de anhídrido acético, manteniéndolo en agitación suave. Posteriormente, el extracto a evaluar fue disuelto en 1 mL de cloroformo y se le agregó el reactivo anteriormente preparado. Se tomó evidencia de la coloración presentada. Finalmente se agregaron 3 gotas de  $H_2SO_4$ , agitando suavemente, y tomando nuevamente evidencia de la coloración, reportando si hubo cambios en la misma.

##### **6.4.2 Preparación del reactivo de vainillina al 1%**

Para realizar esta prueba, el reactivo se preparó en un baño de hielo, disolviendo 1 gr de vainillina en 20 mL de metanol, y agregar lentamente 1 mL de  $H_2SO_4$  concentrado. Finalmente, se aforó a 100 mL. Por la alta inestabilidad de la vainillina, frente a la luz, se almacenó en un frasco ámbar y en refrigeración. La vainillina se utilizó para el revelado de la placa CCF se agrega sobre la placa y por último se calienta en una parrilla.



### 6.4.3 Preparación del reactivo: Sulfato cérico (IV)

La preparación de este reactivo fue pesando 350 mg de hielo, posteriormente se agregaron 12 gr de sulfato cérico. Manteniendo condiciones adecuadas en una campana de extracción, se adiciono lentamente 22.2 mL de ácido sulfúrico, manteniendo en agitación constante después de que el hielo se fundió. Posteriormente, se agregó 15% de ácido sulfúrico. Una vez obtenido el reactivo preparado, este fue agregado en toda la placa CCF y se calentó en una parrilla, hasta que el característico color amarillo del reactivo desapareciera.

### 6.4.4 Preparación del reactivo: Cloruro férrico

La preparación del reactivo consiste en preparar una solución de cloruro férrico al 5%, utilizando metanol como disolvente. El reactivo es agregado en toda la placa CCF y para generar la reacción se llevó a calentar en una parrilla.

### 6.4.5 Preparación del reactivo: Dragendorff

El reactivo fue elaborado, mediante la adición de 8 g de nitrato de bismuto pentahidratado en 20 mL de ácido nítrico al 30%, con una solución de 27.2 g de yoduro de potasio en 50 mL de H<sub>2</sub>O. Dejando reposar por 24 h, finalmente se decantó y aforó a 100 mL. Una vez preparado el reactivo, este fue agregado a la placa CCF.

## 6.5 Evaluaciones farmacológicas

### 6.5.1 Animales

Para la realización de las evaluaciones farmacológicas fueron empleadas ratas macho de la cepa Wistar con un peso de entre 250 y 300 g, alimentadas con Rodent Labs Chow ® y libre acceso de agua en condiciones de bioterio. El estudio se llevó a cabo de acuerdo con las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio, como lo dicta la NORMA Oficial Mexicana NOM-



062-ZOO-1999 (Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio).

### **6.5.2 Reactivos**

Para la realización de la evaluación *ex vivo*, se emplearon los siguientes reactivos: cloruro de carbacol y teofilina adquiridos en Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA).

### **6.5.3 Obtención de la tráquea**

Para la obtención de la tráquea, los animales fueron sacrificados en una cámara saturada con éter etílico, y posteriormente se procedió a realizar la disección. La tráquea fue extraída y cortada en anillos de aproximadamente 3-5 mm, los cuales se colocaron en solución de Ringer-Krebs [NaCl (118 g), glucosa (11.4 g), NaHCO<sub>3</sub> (25 g), KCl (4.7 g), MgSO<sub>4</sub> (1.2 g), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (1.2 g), EDTA (0.026 g), CaCl<sub>2</sub> (2.5 g)], constantemente burbujeados con O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (95%) y a 37 °C para la conservación del tejido.

### **6.5.4 Sistema de determinación del efecto tráqueo-relajante, registro de datos.**

Para determinar el efecto tráqueo-relajante, los anillos de tráquea de rata fueron previamente cortados y limpiados, se colocaron en 10 mL de solución de Ringer-Krebs a pH 7.4, y con un burbujeo constante de carbógeno (O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>, 95:5), la solución se mantuvo a una temperatura constante de 37 °C con un baño recirculador.

Cada anillo se colocó en la cámara de incubación unida, por un lado, con ayuda de un gancho al extremo de la cámara y, por otro lado, a un transductor de fuerza

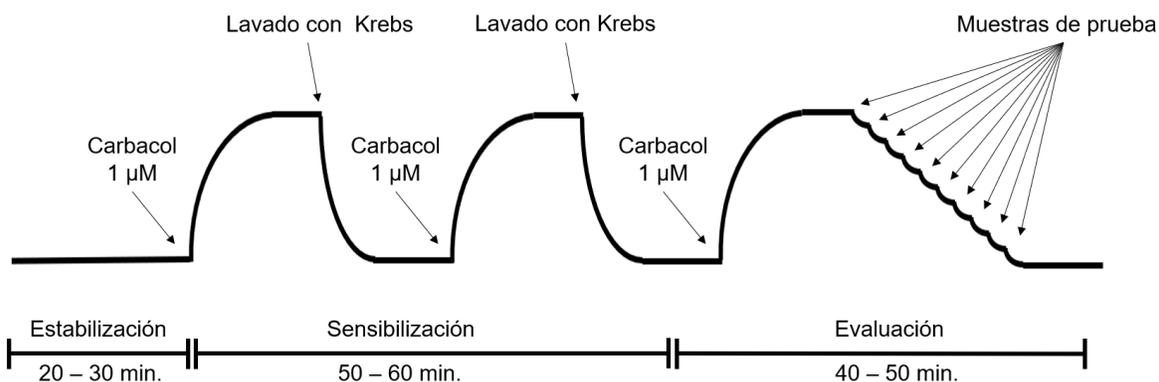


Grass modelo FT 03 el cual emite los registros, posteriormente, los envía a un polígrafo BIOPAC systems UIM 100C.

### 6.5.5 Evaluación del sistema tráqueo-relajante

Los anillos fueron sometidos a una tensión basal de 2 g de fuerza y, se dejó un periodo de estabilización aproximado de 30 min. A continuación, el tejido fue sometido a un proceso de sensibilización durante 15 min con carbacol [1  $\mu$ M] a intervalos de 30 min (por duplicado). Después de cada estimulación, el tejido fue lavado con la solución Ringer-Krebs, para recuperar el nivel basal de la tensión.

El tejido previamente sensibilizado, fue puesto en contacto con las diferentes concentraciones de los extractos de forma acumulativa [3-1000  $\mu$ g/mL] en  $\frac{1}{4}$  de logaritmo (Figura 5). Posteriormente, se construyeron curvas de concentración-respuesta, para llevar a cabo esto se utilizó el programa Origin 8.0.

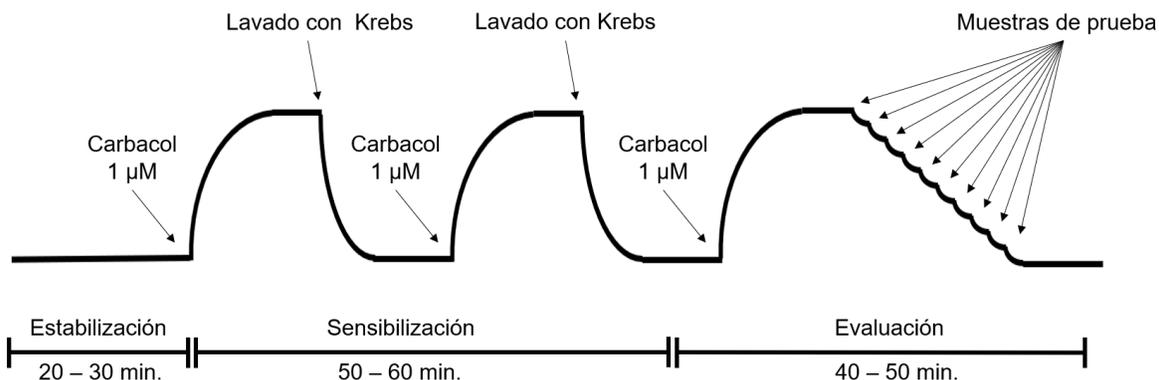


**Figura 5.** Estabilización, sensibilización y evaluación del efecto traqueo-relajante en anillos de tráquea aislada de rata contraídos con carbacol.



### 6.5.6 Evaluación a la CE<sub>50</sub>

Asimismo, se realizó la evaluación de la CE<sub>50</sub>, siguiendo la metodología del punto 6.5.5 (Figura 6) con ligeras modificaciones. Al finalizar, se agregó nuevamente carbacol [1 μM], para corroborar que aún mantenga la capacidad contráctil.



**Figura 6.** Estabilización, sensibilización y evaluación del efecto traqueo-relajante en anillos de tráquea aislada de rata contraídos con carbacol a la ce50 establecida.

### 6.5.6 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos del efecto tráqueo-relajante son expresados como la media de 5 animales  $\pm$  el error estándar de la media. Se utilizó el programa y Origin 8.0 para la realización de las gráficas CE<sub>50</sub>, y para el análisis estadístico GradPad Prism 7.0, estableciendo una diferencia significativa de las medias  $p < 0.05$ .



## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 Obtención de los extractos orgánicos de *Bocconia arborea*

A partir de 82 g del material vegetal seco y molido, se obtuvieron los extractos orgánicos de las diferentes partes aéreas, de sus respectivas colectas de *B. arborea*. En la tabla 1 se presentan los pesos y rendimientos obtenidos en cada maceración, donde podemos establecer que los extractos con mejores rendimientos obtenidos fueron los metanólicos de enero, seguido de los diclorometánicos de octubre, esto para el caso de la hoja y corteza, como se observa en las gráficas 1 y 3. En el caso del fruto, los mejores rendimientos se observan en el extracto hexánicos de enero, seguido del extracto metanólico de enero, mostrado en la gráfica 2.

**Tabla 2.** Peso y rendimiento de los extractos orgánicos de *B. arborea*

<b>Extractos de enero 2019</b>		
<b>Disolvente: Hexano</b>		
<b>Parte de la planta</b>	<b>Peso</b>	<b>Rendimiento</b>
<b>Hoja</b>	<b>1.31 g</b>	<b>1.59 %</b>
<b>Fruto</b>	<b>9.743 g</b>	<b>11.88 %</b>
<b>Corteza</b>	<b>0.668 g</b>	<b>0.814 %</b>
<b>Disolvente: Diclorometano</b>		
<b>Hoja</b>	<b>3.0994 g</b>	<b>3.78 %</b>
<b>Fruto</b>	<b>2.2191 g</b>	<b>2.70 %</b>
<b>Corteza</b>	<b>2.3187 g</b>	<b>2.82 %</b>
<b>Disolvente: Metanol</b>		
<b>Hoja</b>	<b>7.4897 g</b>	<b>9.13 %</b>



“Determinación del efecto relajante *ex vivo* de extractos orgánicos obtenidos de las diferentes partes de *Bocconia arborea* de dos colectas diferentes”

<b>Fruto</b>	<b>8.0914 g</b>	<b>9.86 %</b>
<b>Corteza</b>	<b>6.5362 g</b>	<b>7.96 %</b>

**Extractos de octubre 2019**

**Disolvente: Hexano**

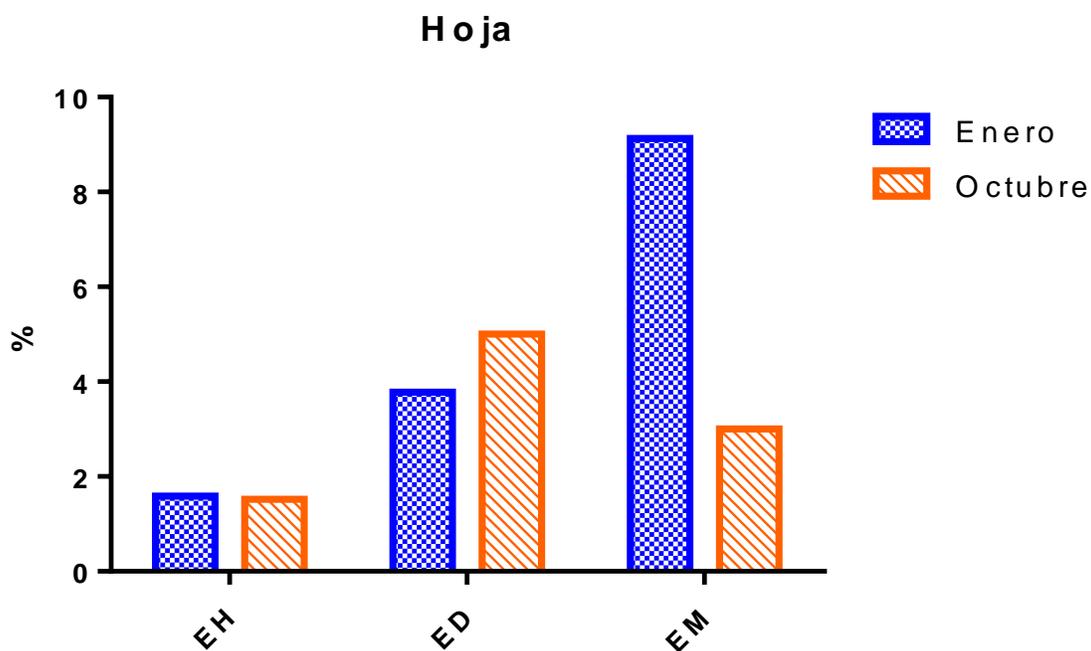
<b>Parte de la planta</b>	<b>Peso (g)</b>	<b>Rendimiento %</b>
<b>Hoja</b>	<b>1.2425 g</b>	<b>1.52 %</b>
<b>Fruto</b>	<b>6.5418 g</b>	<b>7.98 %</b>
<b>Corteza</b>	<b>0.877 g</b>	<b>1.07 %</b>

**Disolvente: Diclorometano**

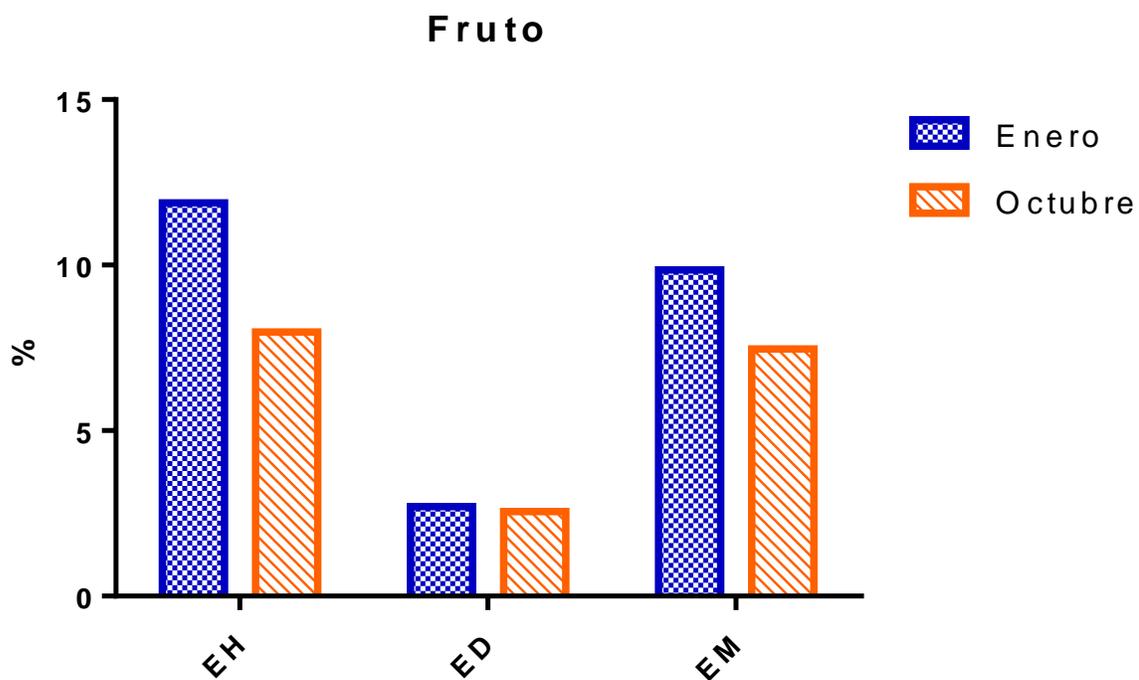
<b>Hoja</b>	<b>1.6209 g</b>	<b>1.98 %</b>
<b>Fruto</b>	<b>2.1042 g</b>	<b>2.56 %</b>
<b>Corteza</b>	<b>2.6325 g</b>	<b>3.21 %</b>

**Disolvente: Metanol**

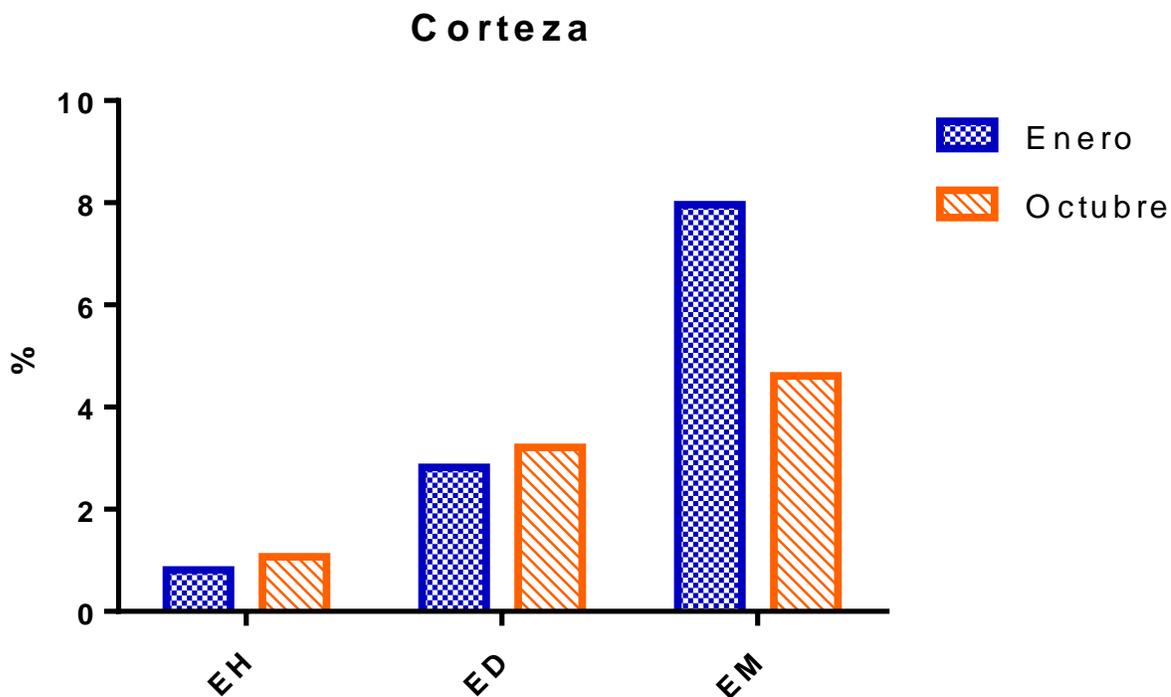
<b>Hoja</b>	<b>4.1044 g</b>	<b>5 %</b>
<b>Fruto</b>	<b>6.133 g</b>	<b>7.47 %</b>
<b>Corteza</b>	<b>3.7816 g</b>	<b>4.61 %</b>



**Gráfica 1.** Porcentaje de rendimiento de los diferentes extractos orgánicos de hoja de *B. arborea*, de las colectas de enero y octubre. EH= extracto hexánico; ED= extracto diclorometánico; EM= extracto metanólico



**Gráfica 2.** Porcentaje de rendimiento de los diferentes extractos orgánicos de fruto de *B. arborea*, de las colectas de enero y octubre. EH= extracto hexánico; ED= extracto diclorometánico; EM= extracto metanólico



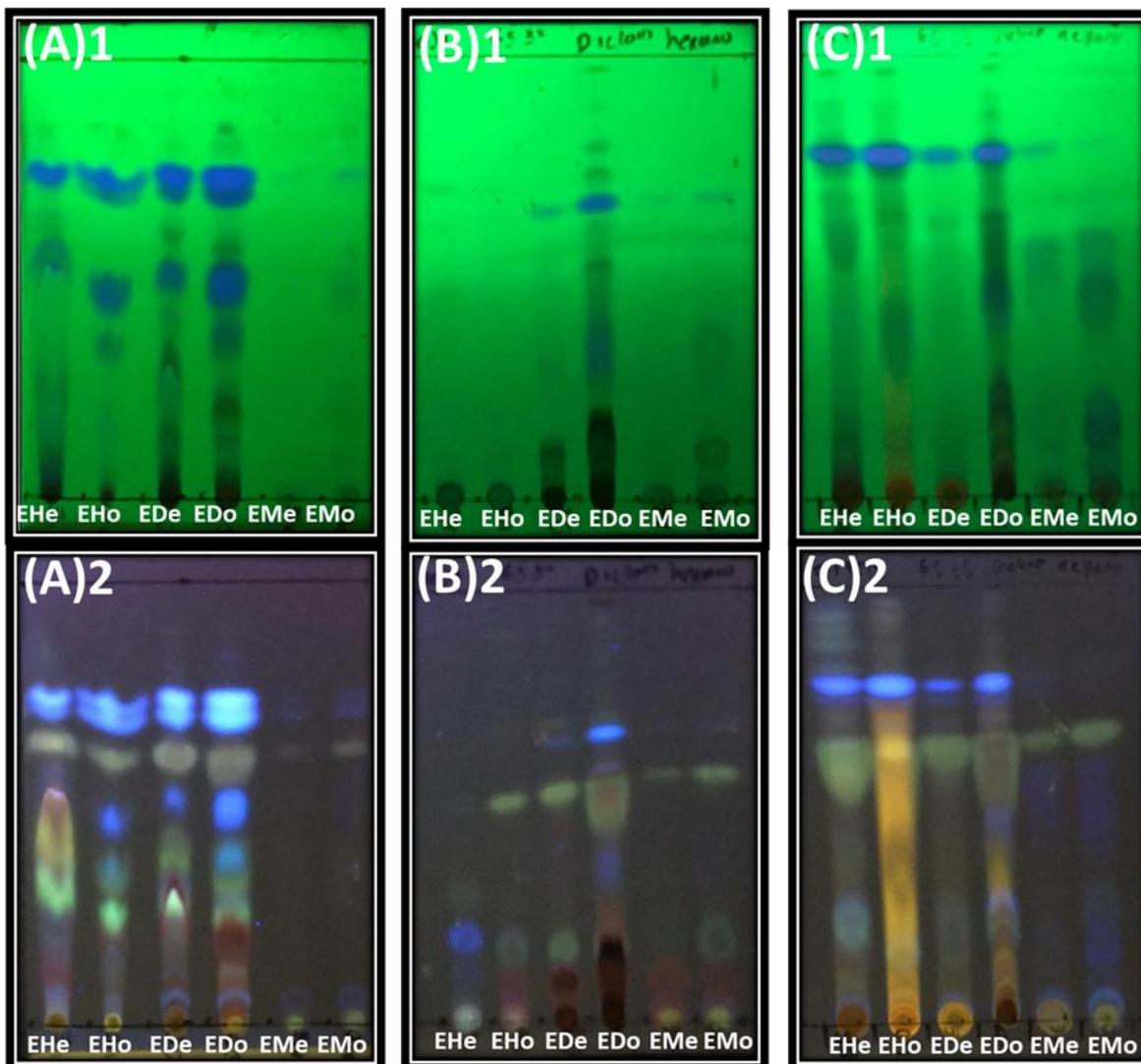
**Gráfica 3.** Porcentaje de rendimiento de los extractos de corteza de *B. arborea*, de las colectas de enero y octubre. EH= extracto hexánico; ED= extracto diclorometánico; EM= extracto metanólico



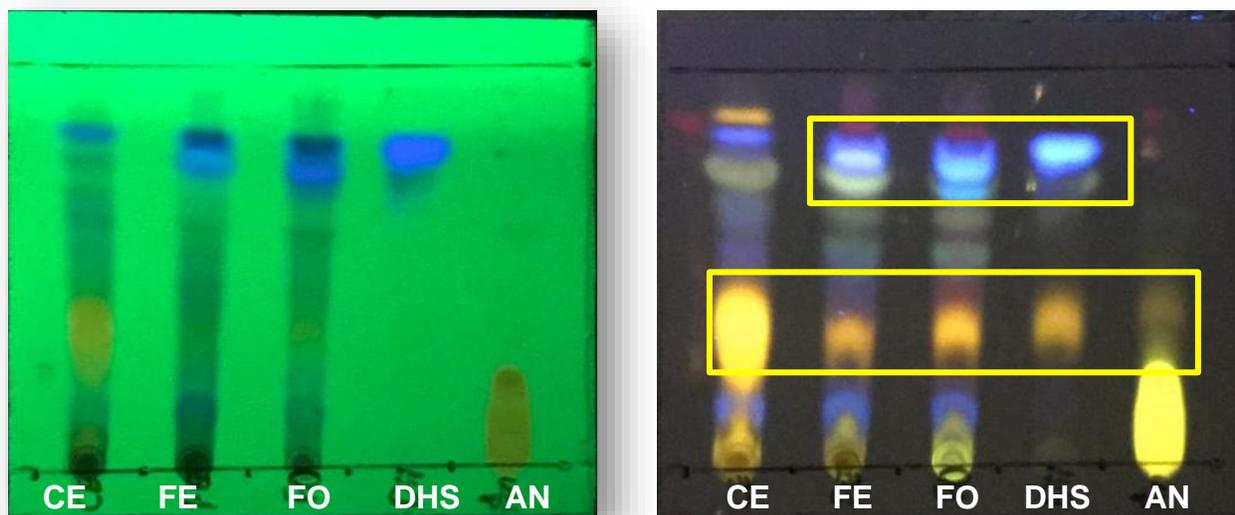
## 7.2 Determinación cualitativa por cromatografía en capa fina (CCF)

Con el fin de monitorear, conocer y comparar el perfil metabólico de cada extracto, se empleó cromatografía en placa fina de los extractos orgánicos de corteza, fruto y hoja, empleando un sistema 65:35 Diclorometano-Hexano v/v, en donde se observa un amplio contenido metabólico, y se logró determinar la variedad y similitud que poseen los extractos como se muestra en la figura 7, donde destaca la poca presencia de metabolitos en todos los extractos metanólicos, lo cual indica que no hay gran variedad de compuestos polares, siendo en su mayoría de baja polaridad. Pese a que existe una amplia similitud cromatográfica, cabe destacar que, si hay diferencia con respecto a la época de colecta como es el caso de los extractos diclorometánicos de hoja, donde se observa una mayor intensidad de las bandas de estos metabolitos en la época de octubre.

Así mismo, en la figura 8 se muestra la CCF de los extractos con mayor actividad traqueorelajante, en donde se comparó con 2 referencias, dihidrosanguinarina (DHS) y angolina (AN), y como se puede observar, ambos extractos de fruto poseen metabolitos que concuerdan con la referencia DHS. Por otro lado, estos extractos no contienen AN, o posiblemente se encuentre en menor proporción.



**Figura 7.** Placas comparativas de los diferentes extractos orgánicos de *B. arborea* de las colectas de enero y octubre, en un sistema de 65-35 Diclorometano-Hexano v/v. **A)** Fruto, **B)** Hoja, y **C)** Corteza, y sus respectivos extractos orgánicos (hexánico, diclorometánico y metanólico), observada a diferentes longitudes de onda, 1 corta, 2 larga. Extracto Hexánico de enero (**EHe**), Extracto Hexánico de octubre (**EHo**), Extracto Diclorometánico de enero (**EDe**), Extracto Diclorometánico de octubre (**EDo**), Extracto Metanólico de enero (**EMe**), Extracto Metanólico de octubre (**EMo**).



**Figura 8.** Cromatografía en capa fina de los extractos con mayor actividad relajante, de *B. arborea*, en un sistema de elución de Diclorometano-Hexano 65:35 v/v. Corteza de Enero (**CE**), Fruto de Enero (**FE**), Fruto de Octubre (**FO**), Dihidrosanguinarina (**DHS**), Angolina (**AN**).

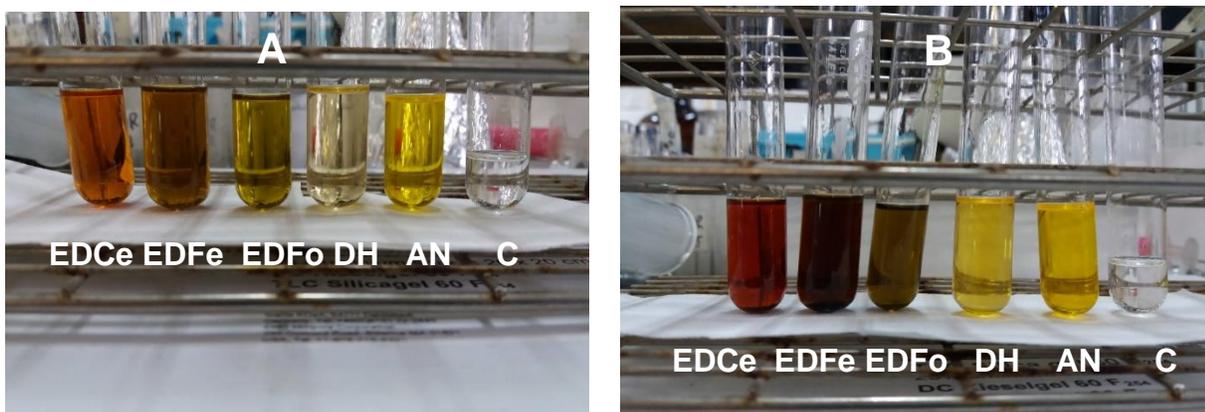


### 7.3 Determinación cualitativa por pruebas colorimétricas

Para la determinación de metabolitos secundarios presentes en *B. arborea* se realizaron distintas pruebas colorimétricas. Entre las que se encuentran:

- Liebermann-Burchard
- Vainillina
- Sulfato cérico (IV)
- Cloruro férrico
- Dragendorff

La prueba de Liebermann-Burchard es empleada para determinar la presencia de compuestos del tipo triterpenoides y esteroides. Como se observa en la figura 9, el cambio de tonalidad fue ligero en todos los extractos, lo que sugiere la posible presencia de triterpenos, pero en una menor proporción. En el caso de los compuestos puros usados como referencia se observa un ligero cambio de color, observándose más opacos los colores, pese a que se trata de estructuras derivadas de alcaloides, estas poseen una estructura base similar a los esteroides, como menciona Rodríguez R., en el 2016, pose estructuras benzofenantridinicas, puede deberse a la presencia de este tipo de estructuras que se observe un ligero cambio en la tonalidad.



**Figura 9.** Prueba de Lieberman-Buchard sobre los extractos de *B. arborea*

En la imagen A) se muestra antes de agregar el ácido sulfúrico concentrado y en la B) posterior a su adición.

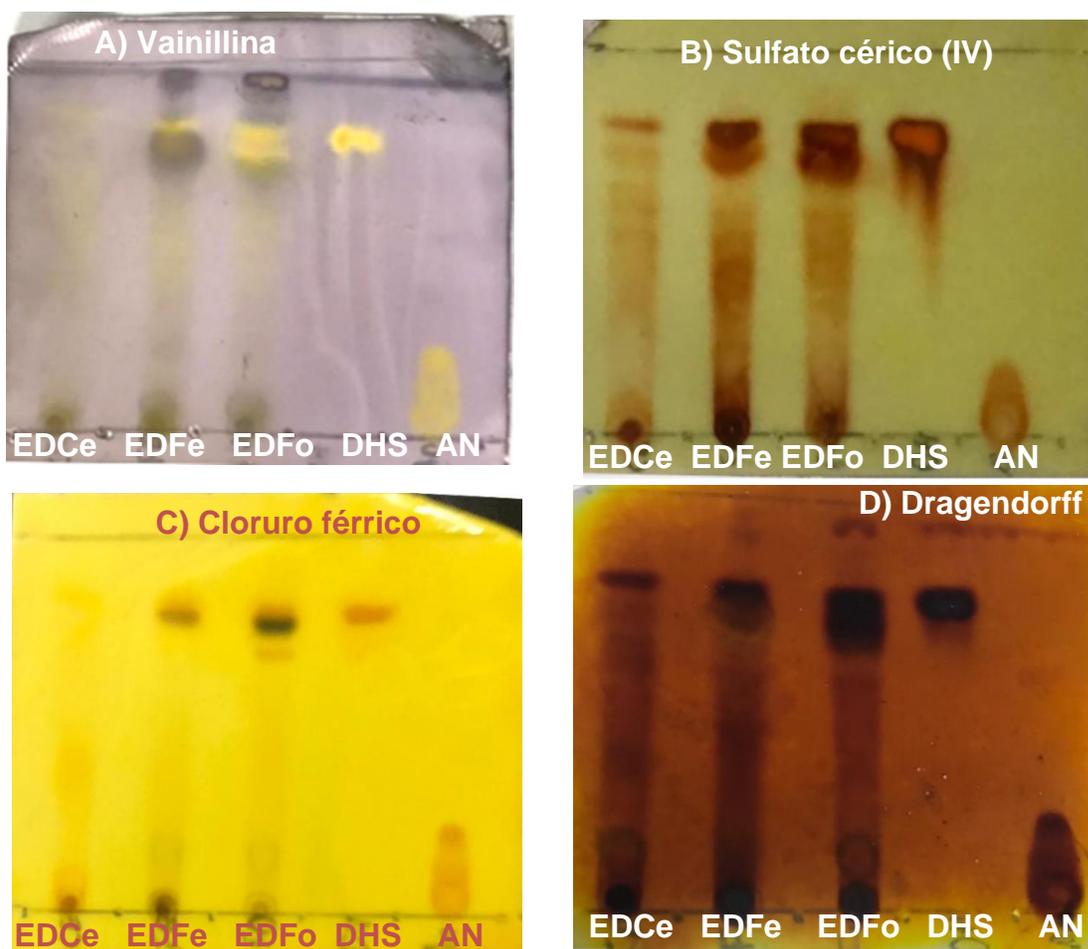


La vainillina es considerada un revelador general, sin embargo, existe evidencia de que revela compuestos tipo terpenos, donde puntos color violeta sobre la placa da positivo para la presencia de estos (**Prado, 2017**), también se considera que revela compuestos oxigenados. Como se observa en la figura 10a, no se observan puntos de tal color, con lo cual se podría descartar la presencia de terpenos, sin embargo, muestra bandas de color amarillo y algunas bandas tenues, que podría tratarse de compuestos que poseen en su estructura nucleófilos y/o compuestos oxigenados, como es el caso de DHS y AN los cuales se observan bandas amarillas.

El Sulfato cérico (IV) es un revelador universal de alcaloides, sin embargo, también se conoce que puede revelar moléculas del tipo índoles (coloración amarilla) y dihidroindoles (coloración roja) (**Avila, 2014**), y como se puede observar en la figura 10b, la placa revelada con sulfato cérico (IV) presenta manchas color rojizas, sin embargo, no podemos concluir que sean exactamente los descritos ya que es un revelador universal.

Así mismo, se realizó la prueba con Cloruro férrico, la cual es una prueba colorimétrica tradicional para fenoles, en donde se forma un complejo coloreado transitorio o permanente que varía entre púrpura, verde o azul, e indica la presencia de un fenol o enol (**Barrera, 2014**). En la placa cromatográfica de la figura 10c, se observan unas pequeñas manchas en EDFe y EDFo que podría indicar la presencia de algunos compuestos que presentan fenol o enol en su estructura.

Por último, se utilizó el reactivo de Dragendorff, donde la presencia de alcaloides se detecta por la formación de un precipitado naranja rojizo (**Barrera, 2014**). En la figura 10d, se observa que en los extractos y en las referencias se forman manchas de color rojizo, que confirmaría la presencia de alcaloides en nuestros extractos.



**Figura 10.** Cromatografía en capa fina de los extractos más activos de *B. arborea* con referencias de DHS y AN reveladas con:

**A)** Vainillina **B)** Sulfato cérico (IV) **C)** Cloruro férrico **D)** Dragendorff



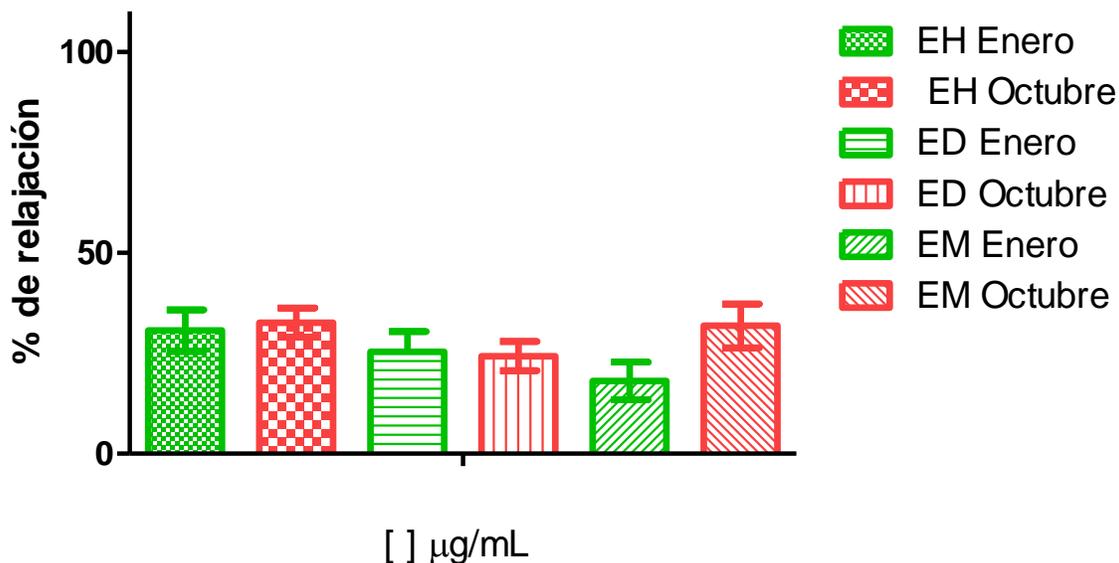
#### 7.4 Efecto relajante de tráquea a una concentración establecida

Una vez obtenidos los extractos orgánicos secos de las diferentes partes aéreas y sus respectivas épocas de colecta, de *B. arborea* se llevó a cabo la evaluación del efecto relajante, en un modelo *ex vivo* en tráquea aislada de rata, a la concentración efectiva media de  $117 \pm 2.9 \mu\text{g/mL}$ , valor que fue tomado de datos establecidos por Gaona Tovar E. en 2017 (**Gaona. T. E, 2017**).

Los extractos orgánicos de hoja no muestran diferencia significativa entre temporadas, ni por parte aérea evaluada. Por otro lado, es significativo destacar que el efecto mostrado a esta concentración establecida no es mayor del 40%, como se observa en la gráfica 4. Dicho esto, podemos inferir que las hojas carecen de metabolitos secundarios con efecto relajante de tráquea a esta concentración establecida.



### Hoja de *B. arborea*



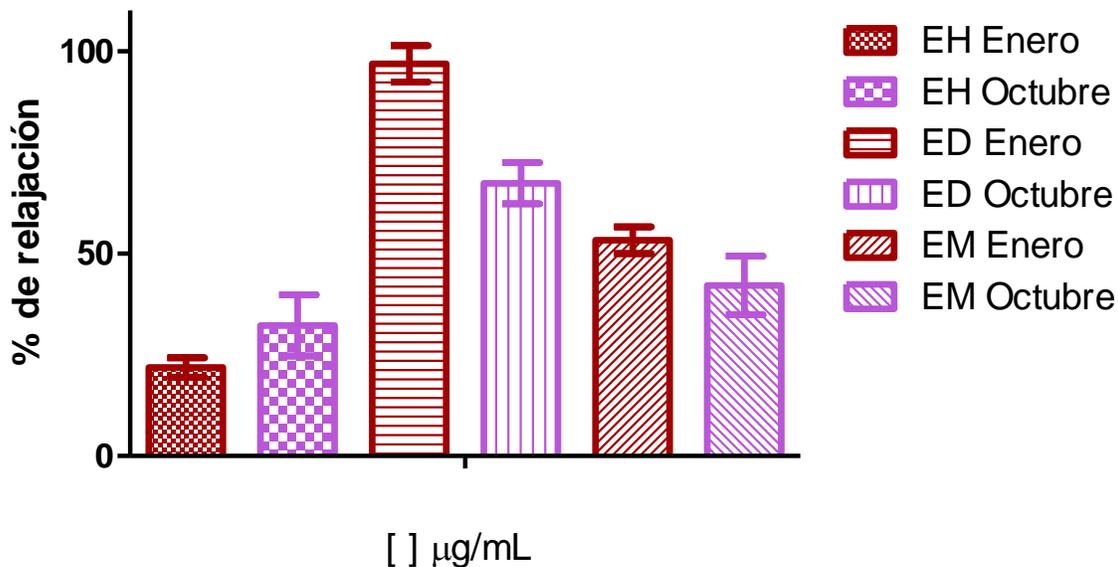
**Gráfica 4.** Evaluación del efecto relajante, en un modelo *ex vivo* de tráquea aislada de rata, de los extractos orgánicos de hoja de *B. arborea*, de las colectas de enero y octubre, a la  $CE_{50}$  de  $117 \pm 2.9 \mu\text{g/mL}$ . EH= extracto hexánico; ED= extracto diclorometánico; EM= extracto metanólico

ANOVA de una vía, con comparativa de Bonferroni de los extractos de octubre con respecto a los de enero, de cada disolvente orgánico.

Para el caso de los extractos orgánicos de corteza, mostrados en la gráfica 5, podemos observar que los extractos, tanto hexánicos como metanólicos, no presentan diferencia estadísticamente significativa, con respecto a la época de su colecta. Por otro lado, los extractos diclorometánicos si presentan diferencia, siendo así, que la colecta de enero resultó ser más eficaz, en relación con la época de octubre, así como con los demás extractos orgánicos, ya que presenta un 100% de relajación a la  $CE_{50}$  evaluada.



### Corteza de *B. arborea*



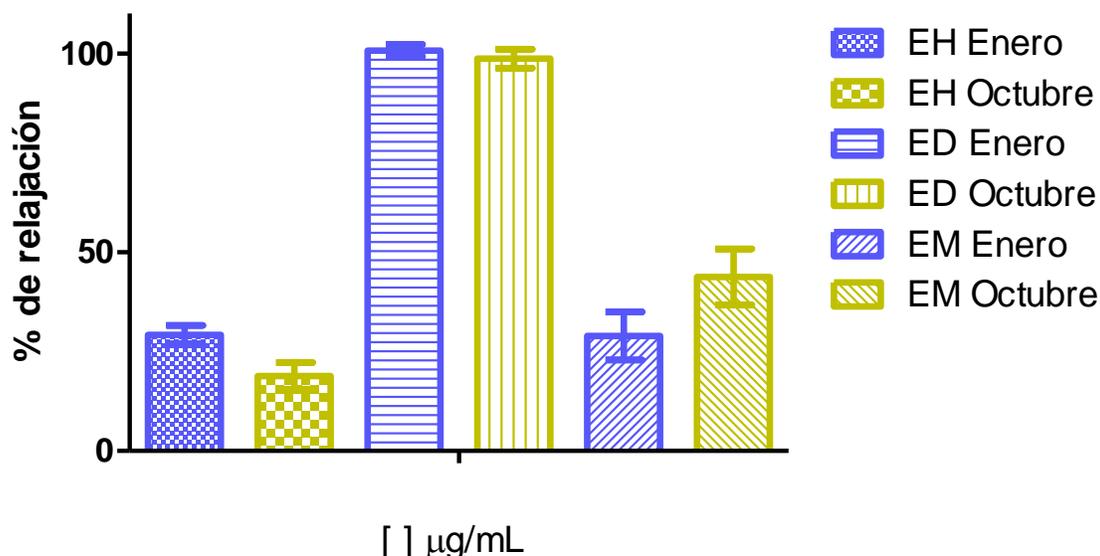
**Gráfica 5.** Evaluación del efecto relajante, en un modelo *ex vivo* de tráquea aislada de rata, de los extractos orgánicos de corteza de *B. arborea*, de las colectas de enero y octubre, a la  $CE_{50}$  de  $117 \pm 2.9 \mu\text{g/mL}$ . EH= extracto hexánico; ED= extracto diclorometánico; EM= extracto metanólico

ANOVA de una vía, con comparativa de Bonferroni de los extractos de octubre con respecto a los de enero, de cada disolvente orgánico

Por último, como se observa en la gráfica 6, los extractos de fruto presentan diferencia estadísticamente significativa dependiendo del disolvente empleado, sin embargo, la época de colecta no modifica su efecto. Siendo así que, los extractos diclorometánicos, generan el 100% de relajación a la concentración establecida previamente.



### Fruto de *B. arborea*



**Gráfica 6.** Evaluación del efecto relajante, en un modelo *ex vivo* de tráquea aislada de rata, de los extractos orgánicos de fruto de *B. arborea*, de las colectas de enero y octubre, a la  $CE_{50}$  de  $117 \pm 2.9 \mu\text{g/mL}$ . EH= extracto hexánico; ED= extracto diclorometánico; EM= extracto metanólico

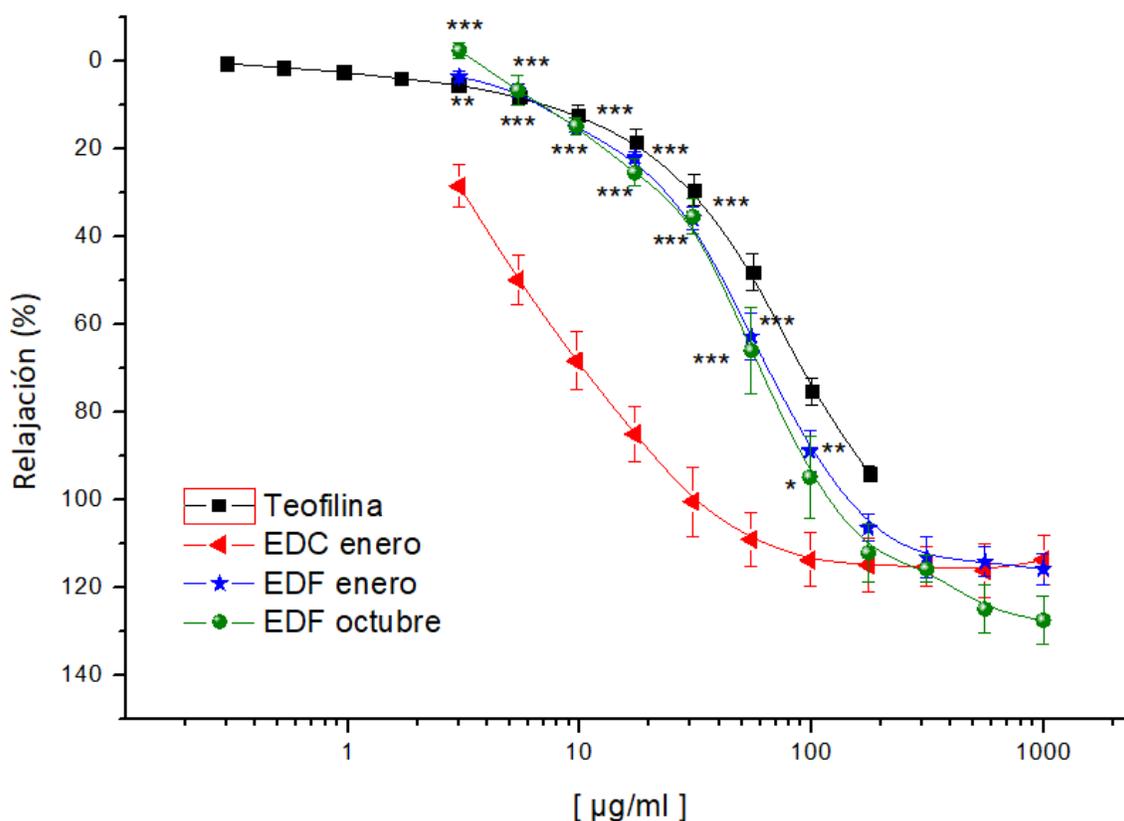
ANOVA de una vía, con comparativa de Bonferroni de los extractos de octubre con respecto a los de enero, de cada disolvente orgánico

### 7.5 Curvas concentración respuesta de los extractos más activos.

Con la finalidad de comparar de manera cuantitativa los extractos que presentaron mayor actividad en el ensayo previamente descrito, se evaluaron los extractos diclorometánicos de corteza de la colecta de enero (EDCe), y diclorometánicos de fruto de ambas colectas (EDFe y EDFo, respectivamente), en el modelo *ex vivo* de tráquea aislada de rata, y para ello se realizaron curvas concentración respuesta de relajación, teniendo como referencia a teofilina, el cual es un fármaco empleado para amenizar los síntomas presentados en asma.



Los resultados obtenidos se muestran en la gráfica 7, donde podemos observar que los tres extractos evaluados presentan un Emax del 100%, siendo mayor al presentado por el control teofilina (Emax = 94.07 ± 1.79 %), sin embargo, el EDFe (Emax = 115.87 ± 3.55 %, CE<sub>50</sub> = 41.68 ± 2.65 µg/mL) y el EDFo (Emax = 127.54 ± 5.48 %, CE<sub>50</sub> = 40.14 ± 3.99 µg/mL) no presentan diferencia significativa entre ellos, no obstante estos si presentan diferencia significativa con respecto al EDCe (Emax = 113.75 ± 5.78 %, CE<sub>50</sub> = 5.52 ± 5.59 µg/mL), destacando este último como el más potente. En esta misma gráfica podemos observar que los EDF de ambas colectas, presentan un efecto similar a teofilina (CE<sub>50</sub> = 53.01 ± 3.64 µg/mL), resultando ser ligeramente menos potente que los EDF de ambas colectas, por otro lado, el EDCe resultó ser 10 veces más potente que teofilina y los otros dos extractos.



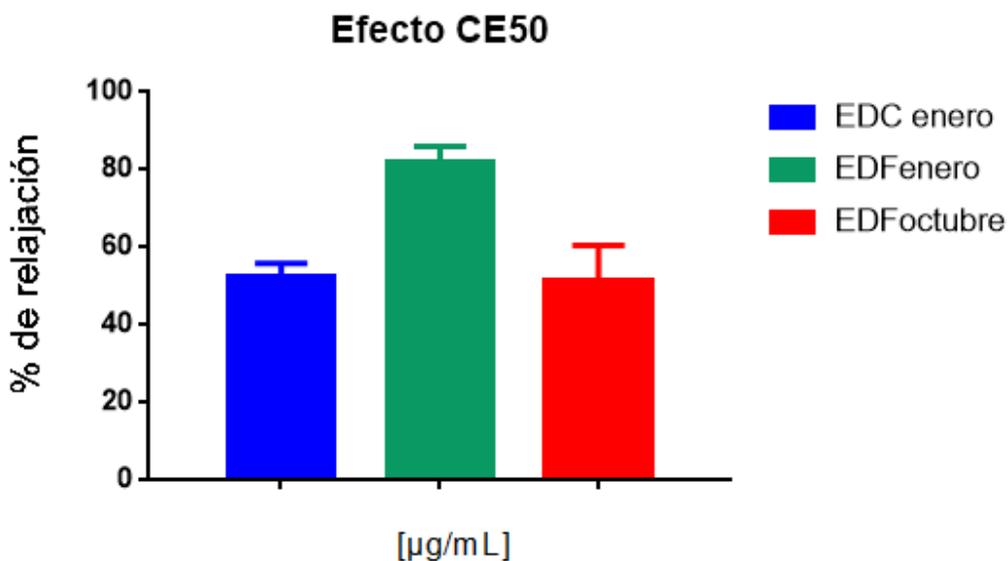
**Gráfica 7.** Efecto traqueorelajante de los extractos orgánicos de *B. arborea* vs Teofilina en anillos de tráquea aislada de rata sobre la contracción inducida por carbacol [1µM].

ANOVA de dos vías con comparativa de Bonferroni del extracto de corteza de enero con respecto a los de fruto de ambas colectas.

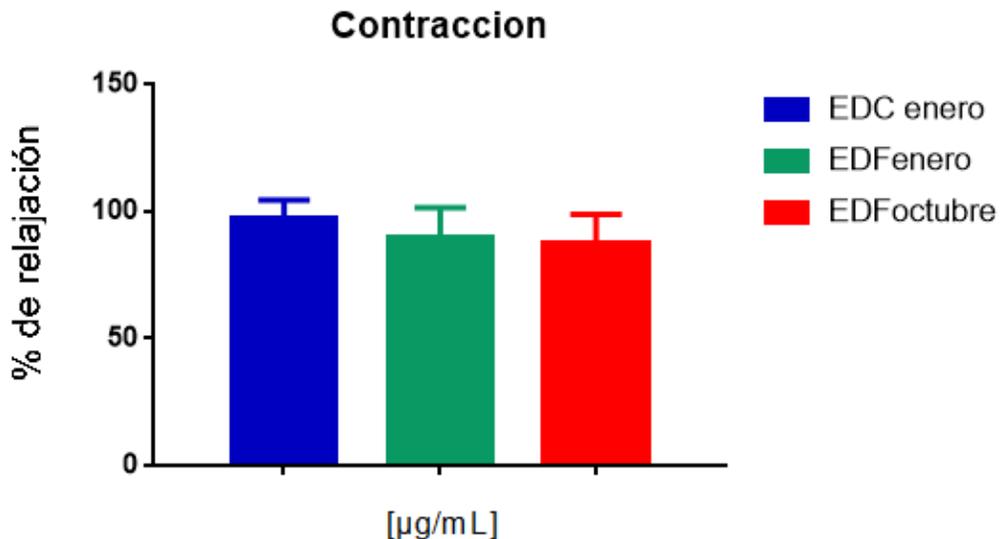


Debido al comportamiento obtenido de las curvas concentración respuesta, los extractos de fruto presentan efecto similar a la teofilina, esto sugiere que posiblemente posean un mecanismo de acción semejante a este fármaco, el cual actúa como inhibidor de la fosfodiesterasa, bloqueador del receptor de adenosina y activador de histona desacetilasa (**Wishart, 2018**). Aunado a esto, Gaona T.E. menciona que los extractos de corteza presentan mecanismo de acción basado en la inhibición de las enzimas fosfodiesterasas, el cual podría ser el mecanismo funcional que sigan los extractos de fruto del presente trabajo (**Gaona. T. E, 2017**)

Una vez determinadas las curvas concentración respuesta de los extractos más activos, se realizó una segunda medición de dicha actividad para poder corroborar la toxicidad de los extractos a su  $CE_{50}$  establecida en el ensayo descrito anteriormente, es decir, comprobar que el efecto relajante es inducido por las propiedades de los extractos, y no debido a que generen la muerte del tejido en el sistema *in vitro*. En la gráfica 8, se observa el efecto relajante a la  $CE_{50}$  de cada uno de los extractos, y en la gráfica 9, se observa el efecto contráctil inducido por carbacol, posterior al inducir el efecto relajante por parte de la  $CE_{50}$  de los extractos, lo que nos indica que los extractos no dañan el tejido puesto que sigue activo y es capaz de responder de la misma manera.



**Gráfica 8.** Efecto relajante de los extractos más activos de *B. arborea* a la CE<sub>50</sub> establecida.



**Gráfica 9.** Efecto contráctil inducido por carbacol posterior a la aplicación de los extractos más activos.



## 8. CONCLUSIONES

El estudio fitoquímico preliminar nos permitió establecer que la época de colecta afecta la proporción de metabolitos secundarios presentes en cada una de las partes aéreas, siendo mayoritaria en la época de octubre, sin embargo, esto no se ve reflejado en el efecto relajante en tráquea, ya que solo los EDC presentan diferencia con respecto a la temporada de colecta, siendo más eficaz la colecta de enero.

Por otra parte, existe diferencia en el contenido metabólico en relación con la parte aérea, siendo que la corteza conserva mayor contenido de metabolitos, seguido del fruto, y por último las hojas. Lo anterior se ve reflejado en las evaluaciones *ex vivo* a la  $CE_{50}$  de  $117 \pm 2.9 \mu\text{g/mL}$  establecida en estudios previos, siendo el EDCe el más potente, seguido de los EDF de ambas colectas que presentaron el mismo efecto.

Los extractos más activos demostraron tener la presencia de Dihidrosanguinarina, considerando a este como uno de los principales compuestos responsables de la actividad tráqueo-relajante, sin embargo, también posee otros compuestos de tipo alcaloide, fenoles y/o compuestos oxigenados, los cuáles no pueden ser descartados como responsables de la actividad relajante.

Adicionalmente, se corroboró que no hay daño al tejido por parte de los extractos que resultaron más activos al evaluarse en su respectiva  $CE_{50}$  en el modelo de evaluación establecido, y que el efecto es inherente a su actividad farmacológica.

Por último, pese a que el EDCe resultó ser el más activo, es de importancia considerar prioritarios a los EDF, ya que la obtención del material vegetal es más fácil y menos destructivo que la obtención de la corteza.



## 9. PERSPECTIVAS

1. Determinar el mecanismo de acción funcional de los extractos orgánicos que resultaron más activos
2. Determinar el perfil fitoquímico de los extractos que resultaron más activos y obtener los compuestos bioactivos responsables de la actividad.
3. Realizar estudios toxicológicos tanto de los extractos más activos, así como de los alcaloides mayoritarios de *Bocconia arborea*.
4. Determinar el efecto antiasmático en un modelo *in vivo* de hiperreactividad bronquial en cobayos.



## 10. Bibliografía

- Aguirre, O. E. (2015). Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Bocconia frutescens* L.(Papaveraceae). *REVISTA de Tecnología*, 14(2), 21-36.
- Álvarez, P. D. (2007). *BRONCOSCOPIA DIAGNÓSTICA Y TERAPÉUTICA*. Madrid: © NEUMOMADRID.
- AM. Sacristán, M. ( 2008). Características del asma infantil en Atención Primaria. Mejora del seguimiento. *Asociación Española de Pediatría de Atención Primaria*, pp. 593-601.
- Arango-Acosta, G. J. (Noviembre de 2002). *Alcaloides y compuestos nitrogenados*. Medellín, Colombia : Universidad de Antioquia .
- Avila, D. A. (2014). *Desarrollo de un método espectrofotométrico para la detección de alcaloides pirrolizidínicos (Pas) en mieles y polen de plantas melíferas de la península de Yucatán*.
- Barrera, C. A. (2014). Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie *raputia heptaphylla* (rutaceae). *Elementos*, 4(4), 31-39.
- Becerra, M. H. (2009). Epidemiología del asma. *Neumología y Cirugía de Tórax*, 91-97.
- Cobos, N. (2003). Asma: del síntoma al remodelamiento. *An Pediatr*, 89-96.
- Cortés Rico, O. (2013). Tratamiento del asma. *Pediatría Atención Primaria*, 15, 97-103.
- Cruz, A. A. (2007). *Global surveillance, prevention and control of chronic respiratory diseases: a comprehensive approach*. . World Health Organization.
- Cultural Librería Americana. (2004). *Anatomía y fisiología del cuerpo humano*. Buenos Aires, Argentina: Grupo CLASA.
- de la Rubia, S. G. (2012). Asma: concepto, fisiopatología, diagnóstico y clasificación. *PediatríaIntegral*, 117.
- Del Rio Navarro, B. (2006). Asthma prevalence in children living in north Mexico City. *OceanSide Publications, Inc*, 334-340.
- Diego-Pérez, N. (2017). *Flora de Guerrero no. 78 : Papaveraceae ; Primulaceae* . Mexico, D.F: Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de ciencias.
- Fernández, V. J. (2005). *ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO DE LA ACTIVIDAD ANTIASMÁTICA DE Argemone platyceras*. Mexico, CDMX: UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA.
- Flores-Morales, V. H. (2014). Análisis fitoquímico preliminar del extracto hexánico de hojas de *Hemiphylacus novogalicianus*, una especie endémica de México. *Investigación y Ciencia*, 22(63), 18-23.



**“Determinación del efecto relajante *ex vivo* de extractos orgánicos obtenidos de las diferentes partes de *Bocconia arborea* de dos colectas diferentes”**

- Gaona. T. E. (2017). *DETERMINACIÓN DEL EFECTO RELAJANTE DE LOS EXTRACTOS ORGÁNICOS DE Bocconia arborea EN UN MODELO ex vivo DE TRÁQUEA AISLADA DE RATA*. Cuernavaca, Morelos.
- Gartner L, H. J. (2008). *Texto Atlas de Histología*. Mexico: Mc. Graw Hill –Interamericana 3ª Ed.
- GINA. (2019). Obtenido de Global Strategy For Asthma Management And Prevention: Available from : <https://ginasthma.org/>
- Global initiative for Asthma. (2019). *Global Strategy for Asthma Management and Prevention*. Obtenido de Available from: [www.ginasthma.org](http://www.ginasthma.org)
- Goodman y Gilman. (1991). En A. G. Gilman, *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Médica Panamericana,.
- INER. (8 de Agosto de 2017). *Gobierno de Mexico*. Obtenido de [http://iner.salud.gob.mx/interna/hiperreactividad\\_bronquial.html](http://iner.salud.gob.mx/interna/hiperreactividad_bronquial.html)
- Janson, C. A. (2001). The European Community Respiratory Health Survey: what are the main results so far? European Community Respiratory Health Survey II. *The European respiratory journal*, 18(3), 598.
- Jiménez, C. L. (2014). México país megadiverso y la relevancia de las áreas naturales protegidas. *Investigación y Ciencia*, pp. 16-22.
- Katzung, B. G. (2017). En *Farmacología básica y clínica*. McGraw-Hill Interamericana.
- Larenas-Linnemann, D. E. (2017). Guía mexicana de asma. *Asociación mexicana de Neumología y Cirugía de Torax*.
- Lezana, V. &. (2006). Consideraciones epidemiológicas del asma en Latinoamérica. *Neumología pediátrica*, 45-48.
- Linnemann, D. L. (2009). Tratamiento del asma. *Neumología y Cirugía de Tórax*, 68(S2), S149-S162.
- Lombardo, M. C. (2009). Plantas medicinales con alcaloides en la provincia de Jaén. *Boletín del Instituto de Estudios Giennenses*, 125-163.
- López, G. S. (2018). *Los alcaloides de Bocconia frutescens L. y su actividad contra hongos fitopatógenos*. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, Mexico: Instituto en Ciencias Biológicas- Licenciatura en Biología-UNICACH).
- Mallol et al. (2010). Regional Variation in Asthma Symptom Prevalence in Latin American. *Journal of Asthma*, 644-650.
- Mallol et al. (2012). The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase Three: A global synthesis. *Elsevier Doyma*, 73-85.



**“Determinación del efecto relajante *ex vivo* de extractos orgánicos obtenidos de las diferentes partes de *Bocconia arborea* de dos colectas diferentes”**

- Martínez, C. L. (2018). *DETERMINACIÓN DE LOS EFECTOS ANTIDIABÉTICO Y TOXICOLÓGICO DE LOS EXTRACTOS ORGÁNICOS DE Bocconia arborea EN MODELOS MURINOS*. Cuernavaca, Morelos.
- Martínez-Moratalla, J. A. (1999). Estudio Europeo del Asma. Identificación y tratamiento de individuos con criterios epidemiológicos de asma en adultos jóvenes de cinco áreas españolas. *Archivos de Bronconeumología*, 223-228.
- Monroy-Ortiz, C., & Castillo-España, P. (2007). *Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos*. Cuernavaca, Morelos, Mexico.
- Navarro, V. (1999). Two antimicrobial alkaloids from *Bocconia arborea*. *Journal of ethnopharmacology*, 223–226.
- Nigenda, G. (2001). La práctica de la medicina tradicional en América Latina y el Caribe: el dilema entre regulación y tolerancia. *Salud pública de méxico*, 43, 41-51.
- Núñez, M. E. (2010). Tratamiento no farmacológico del asma bronquial. *Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría*, 73(3), 20-25.
- Ocampo et al. (2017). Prevalencia del asma en América Latina. Mirada crítica a partir del ISAAC y otros estudios. *Rev Alerg Mex*, 64(2):188-197.
- OMS. (2004). *Organizacion Mundial de la Salud*. Obtenido de [https://www.who.int/respiratory/about\\_topic/es/](https://www.who.int/respiratory/about_topic/es/)
- OMS. (Agosto de 2017). *Organizacion Mundial de la Salud*. Obtenido de <https://www.who.int/features/factfiles/asthma/es/>
- OMS. (20 de mayo de 2020). *Organizacion mundial de la salud*. Obtenido de [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/asthma#:~:text=Datos%20y%20cifras,todo%20el%20mundo%20\(1\).](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/asthma#:~:text=Datos%20y%20cifras,todo%20el%20mundo%20(1).)
- Pérez et al. (2003). Actividad antioxidante de los alcaloides de *Bocconia arborea*. Estudio sobre. *Ars Pharmaceutica (Internet)*, 44(1), 5-21.
- Perez, G. R. (2002). Identification of Benzophenanthridine alkaloids from *Bocconia arborea* by gas chromatography-mass spectrometry. *Phytochemical Analysis*, 177–180.
- Prado, G. P. (2017). Determinación de metabolitos secundarios por cromatografía en capa delgada a especies con uso etnomedicinal como estrategia pedagógica en el aula de clase. *REVISTA DE LA ASOCIACION COLOMBIANA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS*, 1(29), 30-37.
- Prieto-González, S. (2004). Actualidad de la medicina tradicional herbolaria. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 19-36.



**“Determinación del efecto relajante *ex vivo* de extractos orgánicos obtenidos de las diferentes partes de *Bocconia arborea* de dos colectas diferentes”**

- Rodriguez, F. (2006). *Caracterización estructural de alcaloides de Bocconia arborea y sesquiterpenos de Perezia sp. Estructura de un nuevo cicloaducto derivado de la perezona*. Mexico, CDMX: Ciencias Químicas UNAM.
- Saavedra, D. (13 de Diciembre de 2018). *Gaceta UNAM*. Obtenido de <http://www.gaceta.unam.mx/mexico-segundo-lugar-en-plantas-medicinales/>
- Solis, I. P. (2010). *EPIDEMIOLOGÍA DEL ASMA EN MÉXICO*. México, CDMX: UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.
- Tortora, G. J., & Derrickson, B. (2013). El aparato respiratorio. En *Principios de anatomía y fisiología*. Mexico, D.F: Editorial medica panamericana S.A.
- Velazquez, L. (2008). *Farmacología Basica y Clínica*. Buenos Aires, Madrid: Panamericana.
- Villareal, E. R. (2016). *Arboles de Minatitlan, Colima*. Colima, Mexico.
- Wishart, D. S. (2018). DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018. . *Nucleic acids research*, 46(D1), D1074-D1082.
- Xuelong, Y. e. (2014). Alkaloids from the Tribe Bocconieae (Papaveraceae): A Chemical and Biological Review. *Molecules*, 13042-13060.
- Yu, X. G. (2014). Alkaloids from the tribe Bocconieae (Papaveraceae): A chemical and biological review. *Molecules*, 19(9), 13042-13060.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA  
SECRETARIA DE DOCENCIA  
JEFATURA DE LA LICENCIATURA

**Fecha: 18 de noviembre de 2020**  
**Asunto: VOTOS APROBATORIOS**  
**Medio de Notificación: Electrónica**  
**Folio: FF/D/SD/JLF/0189/2020**

**DRA. DULCE MARIA ARIAS ATAIDE**  
**DIRECTORA DE SERVICIOS ESCOLARES**  
**U.A.E.M**  
**PRESENTE**

Los suscritos catedráticos de la Facultad de Farmacia, dependiente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, se dirigen a Usted con el fin de comunicarle que, después de haber revisado el trabajo de tesis “**Determinación del efecto relajante *ex vivo* de extractos orgánicos obtenidos de las diferentes partes de *Bocconia arborea* de dos colectas diferentes**” presentada por el pasante de la carrera de Licenciado en Farmacia. **C. Armando Daniel Ramírez Hernández, (20161011880)**, consideramos que reúne todos los requisitos que exige un trabajo de esta especie, por lo que hacemos saber nuestro **VOTO APROBATORIO**.

Jurado	Firma
Dr. Antonio Monroy Noyola	_____
Dra. Irene Perea Arango	_____
Dr. Erick Ayala Calvillo	_____
Dr. Jorge Armando Moreno Escobar	_____
Dra. Angélica Flores Flores	_____



**ATENTAMENTE**  
**“POR UNA HUMANIDAD CULTA”**

\_\_\_\_\_  
**M.P.D. Reyna América Serrano López**  
**Secretaria de Docencia**

Cp Archivo  
Cp. Bdm

Av. Universidad 1001 Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México.  
C.P. 62210 Tel. 777 329 7000 Ext. 3365



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**REYNA AMERICA SERRANO LOPEZ** | Fecha:2020-11-18 18:35:33 | Firmante

fe+XvwA922h+YF6+gSgbv0a1cCbCwVSqF/1Odl0DSb1elhT7Mu3Yan8iM93lvqWfofKyGPrpGG+ZTON6NgqqSCb/m0O/+cW8fV6Uyh8fUNvlGM+dnauaWT7II3t+XlvYPL7wMCqI FTiiFk+c7MnkJi6HiUTEUDru/OH9cpsQRapL2SE9c9o5bNemd/f6HTPZ3NwZKP/7mkvyj2s01/6IB3WcmK5GFIDD4/fVz3eiyIX+G10JU7v8Fz4TL5yM+1K5jzDCjPnRNO314kgIk22h NPj6ogmKUL70SX71HvQRwWcub7/BIXXIQCkirbVI5cD5fL2DOqYS8ISgDoQmrglwg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[u4O0sD](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/OU5QqCnZYd4h0SIVOXwLZa681tjmFhZ9>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**ANTONIO MONROY NOYOLA | Fecha:2020-11-19 21:09:11 | Firmante**

NgsGApesPucC0tLJtlPrUdCpMoB1EBS9sJLZDIxc27N8pBOsc9vNDPXDl+BUjwZR6fbcQTmAfMK0mtMwV6zvOx4vqitLDU7jiLJYppXXIRCZhtH1ToZis2FkFJ8L/Os0kGejdf83Ba6ljs0zeFRU4A9BF4+ZT7uBLin+ow7m1a1au1SM624LiSpXeWekyskDWBduFJRPTZwi7D40x9z7iKMQlkbzasdCDyVq2uWR1rP2JLwR26Zbe8TjOq+yLkQD51h8PAQkY46ZJN8xA67HWJzVt5eZYTfEq4HqY0mMvXkUXIXJaiQxw6chUcl2+Ri5inPKq/zn/UzSZOGg==

**ANGELICA FLORES FLORES | Fecha:2020-11-20 10:29:08 | Firmante**

ABclaaKGvcBwubalThGrdDKKWzvxYRjYU9wHpid09JrbLN8NYdFFZMXtW4EOg64fd1XkztFeO2Us7qKxm0acfLoXSA+LuHY/5qcXWRZcjyvcgi+dCM4M5NdwIeLoD+mhZfUViHZbDGsUfekgDfJcc7Nqh9JNWNVcto0o6lzZaOZKIh2llce8KWY4iKldRJ0Z911+p3rYGFmM1pNP8s1/rnhKzuPwo/yR8g+BKxHdlzpm9EHau2el8E3pSH2mcGguxu/ay2JctL5ExbdyLTPC3B7m7lBqIvHcgs0WAzpuPVEYyjlVHcvKAGdQIEs3FxO6nqoV7/RLua0BkQ==

**ERICK AYALA CALVILLO | Fecha:2020-11-20 12:28:54 | Firmante**

h8thOB1Kh8Tjc82HIBVSI0oTuGskuRcSfmK3CkowrPvjSXmTA74cOK/iG+ocqrVNsQXPlk0t7Lm5OnPfUuGdf5+7jQ30evw1Hz+z26CQIM9jouzBUEvx4CL7mHjR4y5zyJ/PEk+YdoUh5MdlPNKDcfwfyfpcBLHe3HzrJ2SVDCgPv061d5oJEPwm0ddb1y5zsvDGcmSa/zsEeQW+ZJHoYatLe11RiB8knBQu8ztCl8wIbe76RFtg5TLlclEQIsRBcbv88nEH0S04u1VyVWwsk0baeVxuQqkUEJonbM0H12ihbVBDKgpsX+ah8HoOFnag9YtDxfEheBSDXtm0qexvpw==

**IRENE DE LA CONCEPCION PEREA ARANGO | Fecha:2020-11-20 13:21:16 | Firmante**

QB8U/ghpyl7p6Jut4D8Lynn1ooGnRSPQUsD0x+Ub5TQRHl8kSrtJFJQqyHwTVP0vh9g4Xk/dCetFXR3nS7kv7ol3y7rS/H4NN/KW8NQ8u0gS1x5UWENoycgcutl+SSkqQO/q6lC99sxBklcpeAuJLM4iUWSIndGXYq5a0ZBN/uhhFpl5+W2u76j5bH2zSiDUxgMCmvz4ljZS18LO6LpYZYMSSuBqWgfXQZbG/xxo8NeJatl/IIV+yIebXrCML5WH3wZhAYuY1g/gX+AVUqWdCtJpubEmDMME45JNGBVmlJuYcYLNTVAwQ1plb2VWlzbWPMbCPTt9eLi8XCacFZFfw==

**JORGE ARMANDO MORENO ESCOBAR | Fecha:2020-11-23 01:14:57 | Firmante**

zi2NWXd04CWRHIYXR+ZNca+tG8r07zcllUa+KH0ebdyuRgiYABVaCp//RrHCBtWFRMFmwKJg1o1TBI8q0eovyYLzD2CWvOgnZJtXz+CixH7wo1uvVT2Q/LqpEbiZdOm8Y+8WhAWwPOhuwcX49tcEkjg9UmUwlmou43UJ0UaoZCEYV/sGcWUJAc58Dh+isRmFrGZNV1F6krdyTJXpaEXHm2TxqrP++dsS2shE0bm86LGNZXMhMBFaG2zHyxBECrc2UaSPrdlqBQCYAa1Y4I2jzLLGgSY4J2E+rUxFOJrUMInXLC9RVwrJzVUctUgqyDLgnVAfOz1imUzfKOSNqJ1PsQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



NOtZh

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/ACvcRkpH3RizGs5wzVe2s3DQ1U6XRHn6>

